Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR

BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau CCEREN

SESSION 2012

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :
- dictionnaire anglais/français, tout autre matériel est interdit.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 7 pages numérotées de 1/7 à 7/7.

Les bactéries du genre *Pseudomonas* et « genres apparentés »

Le genre *Pseudomonas* correspond à des bacilles à Gram négatif, non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires, chimio-organotrophes et hétérotrophes, aérobies, à métabolisme strictement respiratoire, catalase positive, oxydase positive et ne cultivant pas à un pH inférieur à 4,5.

Les bactéries du genre *Pseudomonas* montrent une grande adaptabilité nutritionnelle leur permettant de jouer un rôle important pour la dégradation des composés organiques dans le sol et les environnements aquatiques.

À la suite d'études de l'ARNr 16S, certaines espèces de *Pseudomonas* ont été reclassées dans les genres *Burkholderia*, *Stenotrophomonas* ...

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

1. Taxonomie des « *Pseudomonas* » (6 points)

La taxonomie permet de caractériser, nommer et organiser en groupes des organismes vivants. Ainsi classés, ils pourront être identifiés.

1.1. Classification

1.1.1. Présenter brièvement une approche possible de classification des micro-organismes.

1.1.2. Donner les critères moléculaires permettant d'affirmer que deux souches appartiennent à la même espèce.

1.2. Identification d'un *Pseudomonas* isolé du sol

Après avoir mis en évidence les caractères morphologiques microscopiques, macroscopiques et la présence éventuelle d'une oxydase, l'identification de l'espèce d'un *Pseudomonas* peut être menée après ensemencement d'une galerie miniaturisée API 20 NE.

Document 1 : Extraits de la notice API 20 NE.

1.2.1. Citer deux avantages d'utiliser une galerie miniaturisée par rapport à une « macrogalerie ».

La galerie API 20 NE comporte entre autres 12 microtubes inoculés avec un milieu ensemencé par la suspension de la souche à identifier.

1.2.2. Citer le type de voie métabolique globale mis en évidence. Justifier la réponse en précisant l'origine de la source de carbone et en indiquant les rôles des constituants du milieu d'inoculation dont les noms sont soulignés (**document 1**).

1.2.3. Expliquer le principe de lecture de ces tests dans les deux cas possibles.

Après ensemencement et incubation, une souche de *Pseudomonas* isolée du sol donne les résultats consignés dans le **document 2**.

Pseudomonas stuzeri peut alors être identifié.

1.2.4. À l'aide du tableau d'identification, déterminer les deux caractères discriminants de l'espèce *stuzeri* au sein du genre *Pseudomonas*.

1.2.5. À l'aide des **documents 1 et 2**, expliquer le principe du calcul de la probabilité d'identification de l'espèce *Pseudomonas stutzeri*.
Illustrer la réponse en se limitant aux résultats des caractères NO_3 et TRP.

2. Enveloppes cellulaires des bactéries du genre *Pseudomonas* (6 points)

Les *Pseudomonas* sont des bacilles Gram négatifs possédant une membrane cytoplasmique bactérienne et une paroi caractéristique.

2.1. La membrane cytoplasmique

2.1.1. Nommer les principaux composants d'une membrane cytoplasmique bactérienne.

2.1.2. Donner un exemple de rôle nutritionnel et de rôle métabolique de la membrane cytoplasmique d'une bactérie telle que *Pseudomonas*.

2.2. La paroi

La paroi des *Pseudomonas* participe entre autres à la reconnaissance de l'environnement car elle est le support de récepteurs.

2.2.1. Réaliser le schéma légendé de l'organisation macromoléculaire d'une paroi de *Pseudomonas*.

On se propose de localiser les récepteurs pariétaux de *Pseudomonas aeruginosa* pour le bactériophage E79 : des expériences d'adsorption du phage sont menées et les résultats de ces manipulations sont exposées sur le **document 3**.

2.2.2. Sous la forme d'un tableau, indiquer pour chaque souche : son nom, son aspect macroscopique, sa caractéristique pariétale et son comportement vis-à-vis du phage.

2.2.3. Présenter les quatre étapes d'un protocole usuel de titrage d'une suspension phagique, depuis le traitement du prélèvement jusqu'à l'obtention des résultats.

2.2.4. Justifier l'étape de filtration réalisée au cours de la détermination de la concentration en phages non adsorbés.

2.2.5. Analyser les résultats du graphe et les interpréter en localisant précisément les récepteurs pariétaux au bactériophage E79.

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

3. Croissance et métabolisme (7 points)

Les bactéries du genre *Pseudomonas* et certains genres apparentés dégradent les glucides comme source de carbone et d'énergie en utilisant un métabolisme dit « respiratoire ».

3.1. Nommer les différentes voies empruntées au cours de ce métabolisme énergétique, et préciser le donneur initial et l'accepteur final d'électrons.
Expliquer en quoi chacune de ces voies est énergétique en en précisant le mécanisme biochimique.

Le **document 4** présente les résultats de la croissance d'une souche de *Stenotrophomonas maltophilia* dans un milieu synthétique contenant du glucose et du lactose comme unique source de carbone et d'énergie, en conditions aérobies. La vitesse spécifique de croissance pendant la phase de consommation du glucose est $\mu_{expo\ glu} \approx 0{,}9\ h^{-1}$ et celle du lactose est $\mu_{expo\ lac} \approx 0{,}3\ h^{-1}$.

3.2. Analyser en détail les courbes du graphe et nommer le phénomène observé en l'expliquant.

3.3. Expliciter le calcul de μ_{expo} (ou Q_{Xexpo}).

3.4. Commenter les valeurs des vitesses spécifiques de croissance.

La souche ne cultive pas en anaérobiose, lorsque l'air est remplacé par du diazote. Par contre des résultats similaires à ceux du **document 4** sont obtenus en travaillant en anaérobiose et en ajoutant du nitrate de potassium (KNO_3) dans le milieu.

3.5. Indiquer le(s) changement(s) métabolique(s) permettant d'expliquer ces résultats.

3.6. Démontrer que ces résultats sont compatibles avec ceux des microtubes NO_3, GLU, GLUa et pNPG présentés dans l'extrait du tableau d'identification API 20 NE (**document 1**).

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (1 point)
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1 : Extraits de la notice API 20 NE

API 20 NE est un système standardisé combinant 8 tests conventionnels (réduction des nitrates, formation d'indole à partir du tryptophane, fermentation du glucose, arginine dihydrolase, uréase, esculinase, gélatinase et β-galactosidase) et 12 tests d'assimilation (glucose, arabinose, mannose, mannitol, N-acétyl-glucosamine, maltose, gluconate, caprate, adipate, malate, citrate et phényl-acétate) pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* ...).

Composition du milieu AUX Medium permettant l'ensemencement des 12 tests d'assimilation

AUX Medium 7 mL pH final : 7,0 - 7,2	**Sulfate d'ammonium**	2,0 g
	Agar	1,5 g
	Base minérale	82,8 mg
	Amino-acides	250,0 mg
	Vitamines	35,9 mg
	Tampon phosphate 0,04 mol.L^{-1} pH = 7,1	qsp 1000 mL

Extrait du tableau d'identification (% de réactions positives après 24-48 heures à 30°C)

API 20 NE	NO_3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	pNPG	GLUa	ARAa	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADIa	MLTa	CITa	PACa	OX
Pseudomonas aeruginosa	96	0	0	80	20	1	92	1	99	1	1	89	84	1	97	98	91	98	99	1	98
Pseudomonas fluorescens	27	0	0	80	1	1	39	1	99	71	97	89	85	1	99	99	10	99	99	16	99
Pseudomonas mendocina	100	0	0	94	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	99	100	0	100	100	0	100
Pseudomonas putida	3	0	1	88	1	0	0	1	99	56	57	5	2	1	97	99	1	100	99	58	99
Pseudomonas stuzeri	94	0	0	1	1	0	1	0	98	1	10	67	0	75	87	87	1	99	85	1	100
Burkholderia cepacia	39	0	24	1	1	46	70	72	100	75	99	96	99	8	97	99	93	100	99	99	91
Burkholderia pseudomallei	100	0	0	98	0	5	100	0	100	0	99	100	100	0	100	100	99	100	99	94	100
Stenotrophomonas maltophilia	37	1	0	0	0	96	99	87	84	3	95	2	98	99	2	1	0	99	98	0	7

NO_3 : réduction des nitrates, TRP : formation d'indole à partir du tryptophane, GLU : fermentation du glucose, ADH : arginine dihydrolase, URE : uréase, ESC : esculinase, GEL : gélatinase et pNPG : (p-nitrophényl-β-D-galactopyranoside) β-galactosidase.

GLUa : assimilation du glucose, ARA a : assimilation de l'arabinose, MNEa : assimilation du mannose, MANa : assimilation du mannitol, NAGa : assimilation de la N-acétyl-glucosamine, MALa : assimilation du maltose, GNTa : assimilation du gluconate, CAPa : assimilation du caprate, ADIa : assimilation de l'adipate, MLTa : assimilation du malate, CITa : assimilation du citrate et PACa : assimilation du phényl-acétate.

OX : oxydase.

Base nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 2 : Résultats obtenus à partir d'une souche de *Pseudomonas* isolée du sol

NO_3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLUa	ARAa	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADIa	MLTa	CITa	PACa	OX
+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+

Document 3 :

D'après "Identification of the Cell Wall Receptor for Bacteriophage E79 in *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO" (Ken Jarrel and Andrew Kropinski, Journal of Virology, 1977)

MATERIALS AND METHODS

1. Phage and bacterial strains

- **Phage E79** was also obtained from B.W.Holloway.
- *P. aeruginosa* PAO 307, originally obtained from B.W.Holloway and now referred to in this laboratory as ***P. aeruginosa* AK-2**, was used in this study. This strain forms smooth type colonies on agar plates.
- A spontaneous E79-resistant strain, designated ***P. aeruginosa* AK-43**, was derived from AK-2 by plating 0,1 mL of an overnight culture of AK-2 with 0,1 mL of a high-titer E79 lysate (10^{11} PFU/mL). After overnight incubation, a resistant colony was picked and subjected to several single-colony isolations. AK-43 colonies are small and nonspreading and possess a granular consistency typical of LPS-defective (rough) strains.

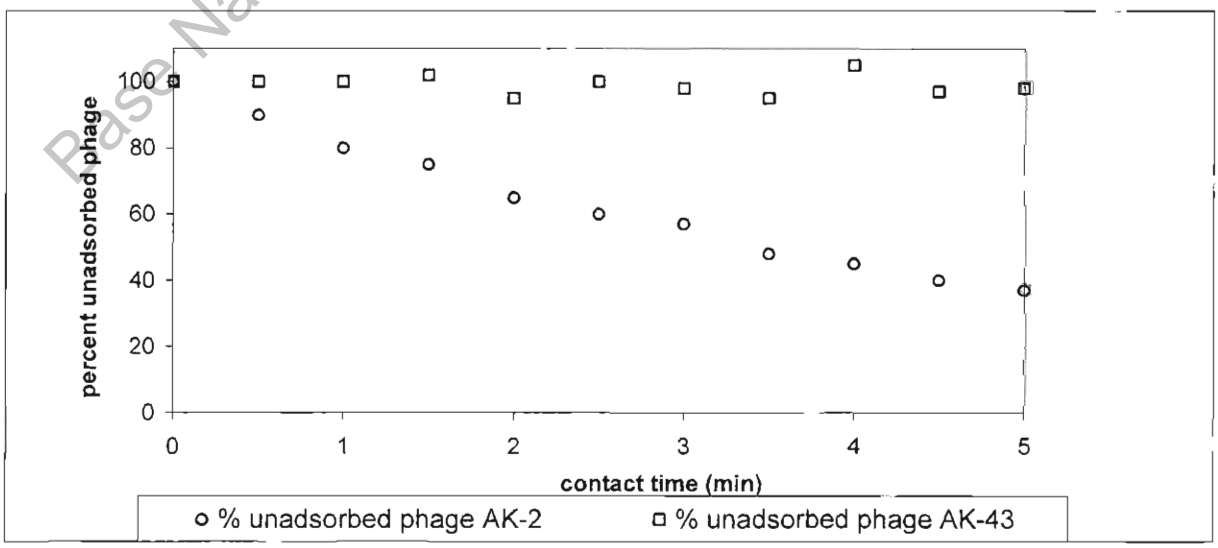
2. Titration of phages

Phage plaque assays were made by the agar overlay technique:
- the top and bottom layers consisted of tryptic soy broth (Difco) containing 0,6 and 1,5 (wt/vol) agar, respectively.
- 200 µL of overnight culture of AK-2 were added to 3 mL of top layer before plating.

3. Determination of unadsorbed phage concentration

- Mix a volume of phage suspension with an appropriate volume of bacterial suspension,
- Incubate at 30°C before sampling, for a specific contact time (from 0 to 5 minutes),
- Filtrate samples on 0,22 µm membrane,
- Determine phage concentration in the filtrate as explained on « **2. Titration of phages** ».

RESULTS



Adsorption of phage E79 to *P. aeruginosa* strain AK-2 and AK-43.

Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau SCEREN

Document 4 : Etude de la croissance de *Stenotrophomonas maltophilia* en milieu synthétique

Milieu synthétique :

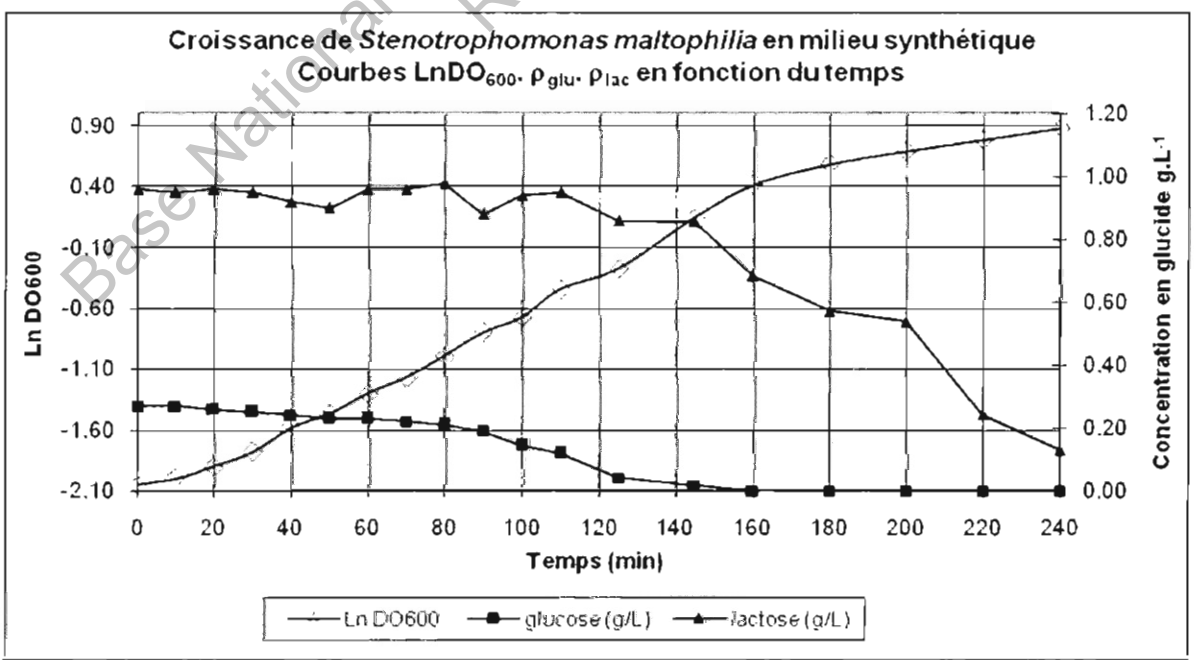
Sulfate d'ammonium	2,0 g
Base minérale	82,8 mg
Amino-acides	250,0 mg
Vitamines	35,9 mg
Glucose	0,3 g
Lactose	1,0 g
Tampon phosphate 0,04 mol.L^{-1} pH = 7,1	qsp 1000 mL
Stérilisation 20 minutes à 120°C, pH final = 7,0-7,2	

Conditions de la croissance : en bioréacteur de 2 L, 200 rpm, 2 vvm d'air, T = 30°C

Tableau de résultats :

Temps (min)	Ln DO_{600}	$\rho_{glucose}$ (g.L^{-1})	$\rho_{lactose}$ (g.L^{-1})
0	- 2,05	0,27	0,96
10	- 2,00	0,27	0,95
20	- 1,90	0,26	0,96
30	- 1,78	0,25	0,95
40	- 1,58	0,24	0,92
50	- 1,47	0,23	0,90
60	- 1,30	0,23	0,96
70	- 1,17	0,22	0,96
80	- 0,99	0,21	0,98
90	- 0,80	0,19	0,88
100	- 0,67	0,14	0,94
110	- 0,45	0,12	0,95
125	- 0,27	0,04	0,86
145	0,15	0,02	0,86
160	0,42	0,00	0,68
180	0,59	0,00	0,57
200	0,69	0,00	0,54
220	0,79	0,00	0,24
240	0,88	0,00	0,13

Graphe :



Base Nationale de l'Enseignement Professionnel
Réseau CEREN

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.