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

SESSION 2013

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00

COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé : dictionnaire français/anglais.

Tout autre matériel est interdit.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8.

Production de nisine par *Lactococcus lactis*

La nisine est une bactériocine, de nature protéique produite par *Lactococcus lactis ssp. lactis*. Elle présente des propriétés bactéricides et/ou bacteriostatiques.
La nisine inhibe la synthèse de la paroi des bactéries à Gram positif et empêche la germination des spores chez de nombreux *Bacillus*.
La nisine est utilisée dans les industries de transformation des fromages, viandes, boissons comme conservateur alimentaire (E234).
La production de cet additif ne peut pas être réalisée par voie chimique mais seulement par voie microbiologique.

1. Caractéristiques physiologiques et métaboliques de *Lactococcus lactis* (7 points)

1.1. *Lactococcus lactis* : agent probiotique

Les informations sur *Lactococcus lactis* sont présentées dans le **document 1**.

1.1.1. Représenter, sous la forme d'un schéma simple, le constituant principal de la paroi de *Lactococcus lactis*.

1.1.2. Préciser les types trophiques énergétique et carboné de cette bactérie. Justifier la réponse.

1.1.3. Préciser une condition de culture particulière de *Lactococccus lactis*.

1.2. *Lactococcus lactis* : bactérie homofermentaire

1.2.1. Expliquer la différence entre les fermentations homolactique et hétérolactique.

1.2.2. Proposer les légendes 1 à 3 du **document 2**. Ecrire la formule de la molécule 4.

1.2.3. Préciser, à l'aide du **document 1**, la localisation et les conditions de réalisation des voies métaboliques 1 et 2 du **document 2**.

1.3. Culture sur milieu MRS

Le milieu MRS est un milieu adapté pour la croissance des bactéries lactiques. Il peut être utilisé pour la production de nisine.

1.3.1. Indiquer le rôle des constituants soulignés et préciser la nature du milieu MRS présenté dans le **document 3**.

1.3.2. *Lactococcus* est un micro-organisme poly-auxotrophe. Expliquer ce terme.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

2. Optimisation des paramètres de croissance de *Lactococcus lactis* pour la production de nisine (10,5 points)

2.1. Procédé de fermentation en discontinu

La production de nisine est réalisée en bioréacteur de laboratoire, en milieu complexe, non aéré, sous agitation à 100 rpm et sans régulation du pH dans un premier temps, pour établir son influence sur les paramètres d'état du micro-organisme. Puis, dans un second temps, la production de nisine est effectuée dans les mêmes conditions expérimentales, mais en mettant en œuvre une régulation pH. Les **documents 4A** et **4B** présentent les profils de fermentation avec et sans régulation du pH.

2.1.1. Expliquer, à l'aide d'un schéma, le fonctionnement de la boucle de régulation de pH mise en jeu pour cette culture de *Lactococcus lactis*.

2.1.2. Analyser, dans le **document 4A**, la variation de biomasse, la consommation de saccharose (*sucrose*) et la variation du pH.

2.1.3. Émettre une hypothèse pouvant expliquer l'arrêt de croissance à 8 h alors qu'il reste environ 4 $g \cdot L^{-1}$ de saccharose.

2.1.4. Calculer, lors d'une production sans régulation de pH, le rendement de production global final exprimé en g de nisine produite par g de saccharose consommé.

Donnée : 10^6 UI de nisine correspondent à 1 g de nisine brute.

2.1.5. Calculer, à l'appui du **document 4A**, la productivité volumique horaire finale et la productivité volumique horaire maximale en nisine.

2.1.6. Indiquer à quel moment il faudrait arrêter la fermentation dans le cadre d'une production industrielle. Justifier la réponse en liens avec les valeurs précédemment calculées.

2.1.7. Discuter de la stabilité de la nisine en présence et en absence de régulation de pH.

2.2. Amélioration de la production de nisine

Les **documents 5A** et **5B** présentent les différentes conditions expérimentales testées et les résultats de l'optimisation de la production de nisine.

2.2.1. Justifier, à l'aide du **document 5A**, l'intérêt de se placer à 30°C.

2.2.2. Expliquer, à l'aide du **document 5B**, l'intérêt de supplémenter les milieux en lait. En déduire les conditions optimales pour la production de nisine.

2.3. Risques d'échec de production de nisine à grande échelle

Sur une culture prolongée en batch, régulée à pH = 6,8, après un pic élevé de biomasse et de nisine à 7 h, une décroissance rapide est observée. Plusieurs hypothèses ont été soulevées, notamment :

- une attaque possible de la souche productrice par un bactériophage externe pendant la fermentation ;
- une induction lytique possible de la souche productrice naturellement lysogène, par des facteurs inconnus.

2.3.1. Nommer et décrire succinctement les étapes de l'infection d'une cellule bactérienne par un bactériophage virulent à ADN.

2.3.2. Citer les principales caractéristiques d'un phage tempéré.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

3. Mode d'action de la nisine (1,5 points)

Le mécanisme d'inhibition de la germination des *Bacillus* par la nisine est encore mal compris. Le **document 6** présente l'étude de l'action de la nisine sur la germination des spores de *Bacillus anthracis*.

3.1. Interpréter les courbes à partir du temps 25 minutes :

- valider l'expérience ;
- indiquer la concentration minimale en nisine inhibant totalement la germination des spores.

3.2. Établir une corrélation entre la concentration en nisine et les observations microscopiques réalisées.

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.

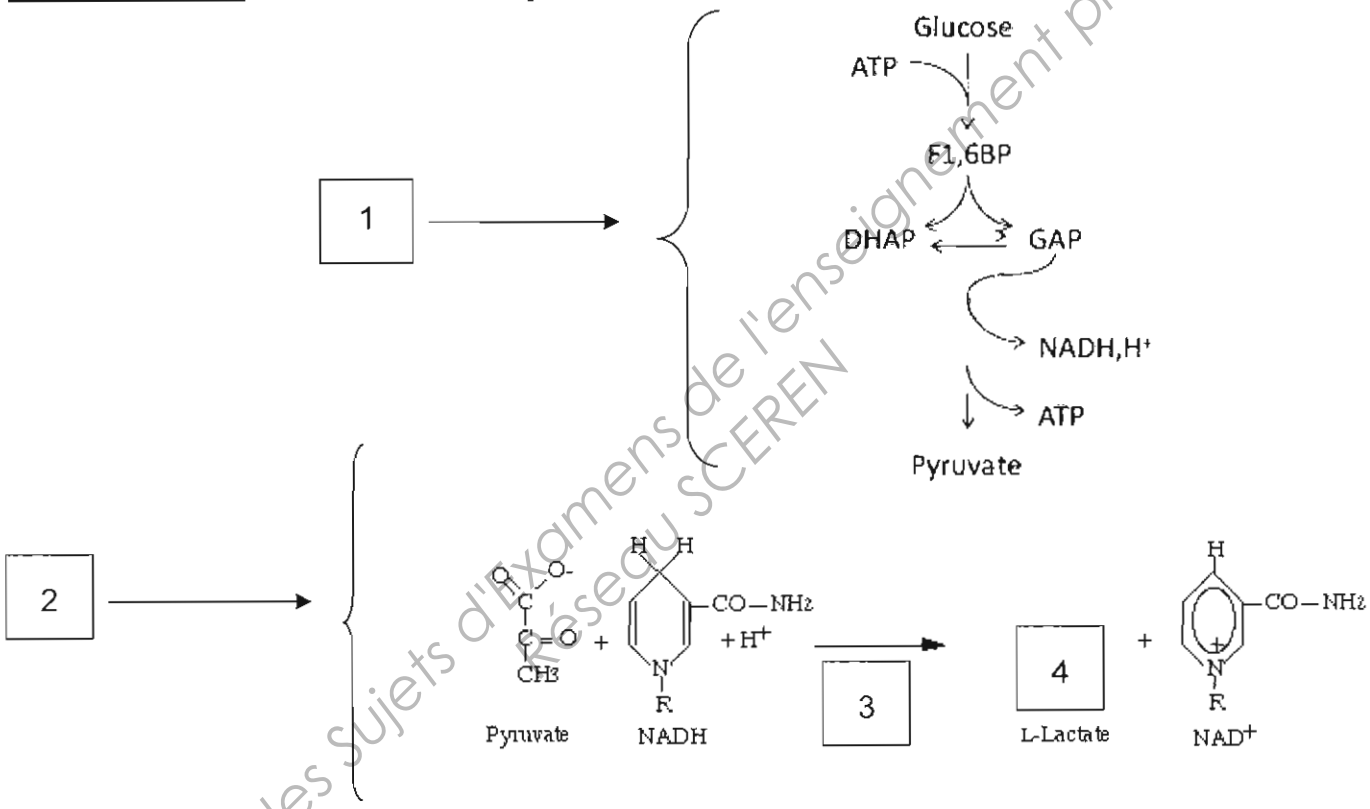
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

Document 1 : *Lactococcus lactis* et production de nisine

Web Review of Todar's Online Textbook of Bacteriology. "The Good, the Bad, and the Deadly". (SCIENCE Magazine- June 4, 2004 - Vol 304 : p. 1421).

Lactococcus lactis is a strictly fermentative microbe classified informally as a Lactic Acid Bacterium because it ferments milk sugar (lactose) to lactic acid. *Lactococci* are typically spherical or ovoid cells, about 1.2µm by 1.5µm, occurring in pairs and short chains. They are Gram-positive, non motile, and do not form spores. *Lactococcus lactis* produces lactic acid, D L or DL. 5 to 10 % of CO_2, can stimulate Lactococci growth. *[…]*
Hence, they are found normally in milk and *Lactococcus lactis* subspecie, *lactis* is essential in manufacture of many varieties of cheese and other fermented milk products.

Document 2 : Voie métabolique



Document 3 : Composition du milieu MRS (BIOKAR)

FORMULE – TYPE (pour 1 litre de milieu)

Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales

- Peptones végétales	20,00 g
- Extrait autolytique de levure	5,00 g
- Glucose	20,00 g
- Tween 80	1,08 g
- Phosphate dipotassique	2,00 g
- Acétate de sodium	5,00 g
- Citrate d'ammonium	2,00 g
- Sulfate de magnésium	0,20 g
- Sulfate de manganèse	0,05 g

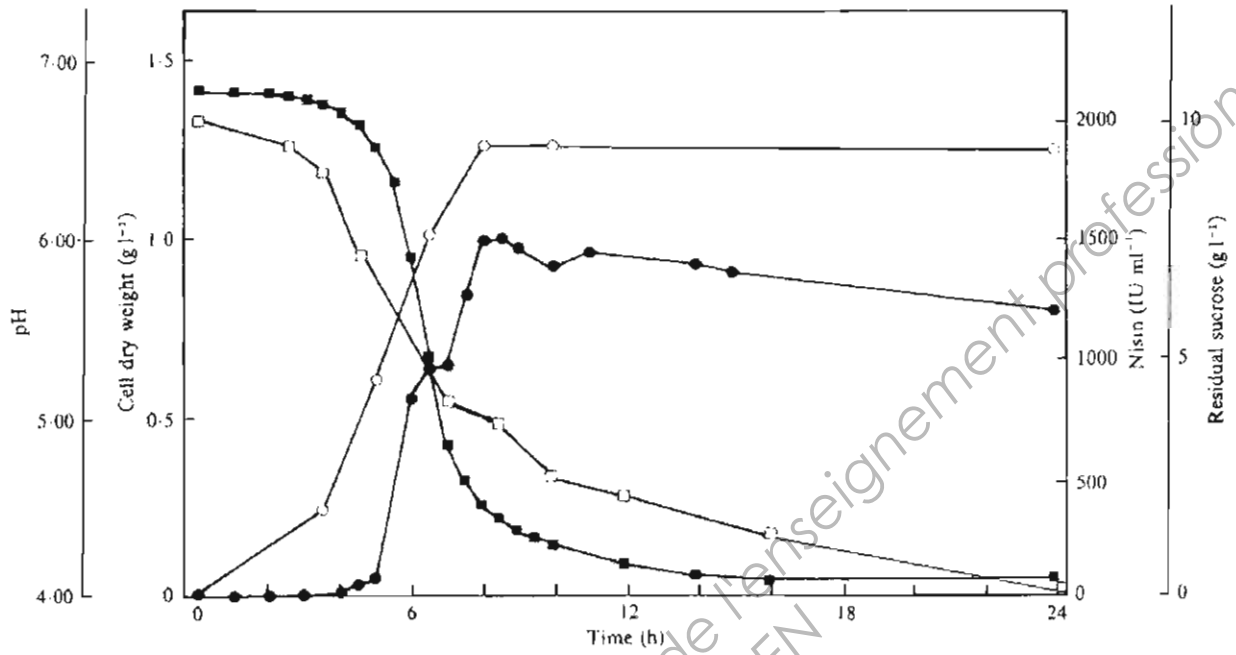
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 6,0 ± 0,5.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

Document 4 : Profil de production de nisine en procédé discontinu en milieu complexe

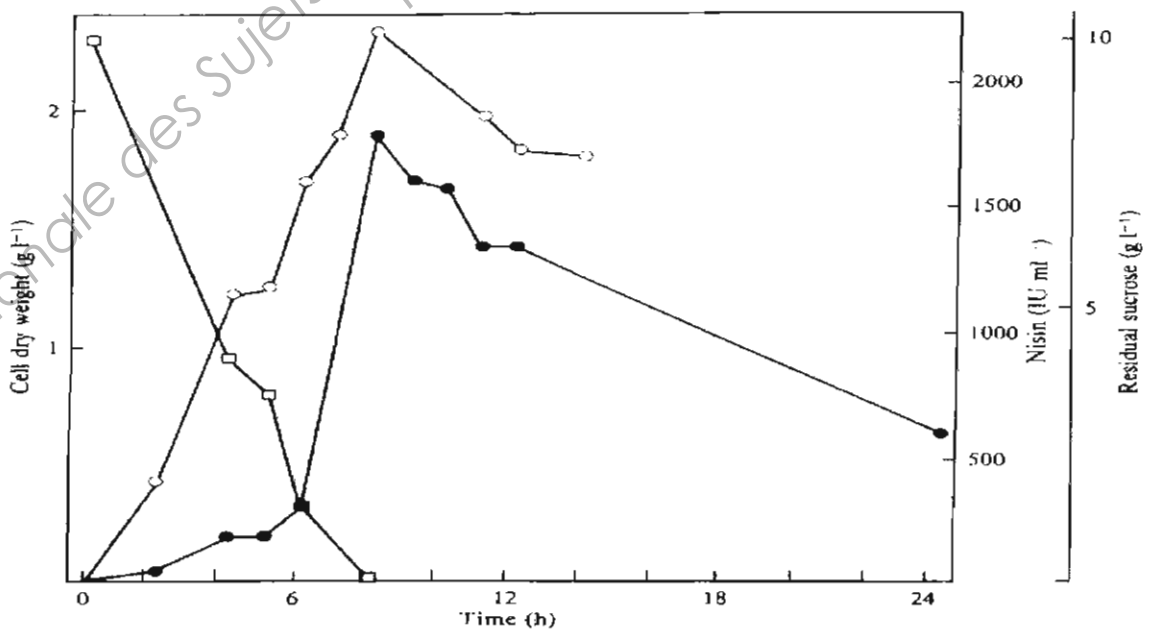
Journal of General Microbiology (1992), vol138, p 571-578

Document 4A : Sans régulation pH



Batch fermentation profile of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NIZO 22186 microbial growth and nisin production at uncontrolled pH. Cells were grown in a fermenter containing 5 L nisin production medium with 10 g sucrose·L^{-1} as carbon source.
Cell dry weight (g·L^{-1}), O; volumetric nisin titre (IU·mL^{-1}), ●; residual sucrose concentration (g·L^{-1}), □; pH, ■.

Document 4B : Avec régulation pH = 6,8



Batch fermentation profile of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NIZO 22186 microbial growth and nisin production at controlled ph 6-80. Cells were grown in a fermenter containing 5 L nisin production medium with 10 g sucrose·L^{-1} as carbon source.
Cell dry weight (g·L^{-1}), O; volumetric nisin titre (IU·mL^{-1}), ●; residual sucrose concentration (g·L^{-1}), □.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

Document 5 : Production de nisine par *Lactococcus lactis* dans différentes conditions de culture

Braz. Arch. Biol. Technol. Vol 53 n°1, pp 203-209; jan/feb 2010.

Document 5A : Méthodologie

The influence of various physiochemical parameters on the growth of *Lactococcus lactis sub sp. lactis* was studied at shake flask level. Media optimization (MRS broth) was studied to achieve enhanced growth of the organism and also nisin production. Bioassay of nisin was done with agar diffusion method using *Streptococcus agalactiae* NCIM 2401 as indicator strain. MRS broth (6%, w/v) supplemented with 0.5% (v/v) skimmed milk was found to be the best for nisin production as well as for growth of *L. lactis*. The production of nisin was strongly influenced by the presence of skimmed milk. The production of nisin was affected by the physical parameters and maximum nisin production was at 30°C while the optimal temperature for biomass production was 37°C.

Document 5B : Résultats

Nisin activity, productivity and specific production for every culture, each incubated at 100 rpm/30°C, with *Lactococcus lactis* cultures transferred to fresh media with either MRS or M17 (M17 is a minimal medium), pH was not regulated.

N°	Media composition	Growth conditions	pH at end of culture	Nisin at end of culture ($\mu g \cdot mL^{-1}$)	Specific productivity ($mg \cdot h^{-1} \cdot DCWg^{-1}$)
1	100 % MRS	30°C, 100 RPM	6.15	0.325	0.01
2	100 % M17	30°C, 100 RPM	6.80	0.120	0.01
3	50 % MRS + 0.13 % vitamin solution	30°C, 100 RPM	4.80	231	6.42
4	50 % M17 + 0.13 % vitamin solution	30°C, 100 RPM	6.10	187	5.90
5	25 % MRS + 25 % milk	30°C, 100 RPM	6.10	884	66.10
6	25 % M17 + 25 % milk	30°C, 100 RPM	6.20	408	30.20

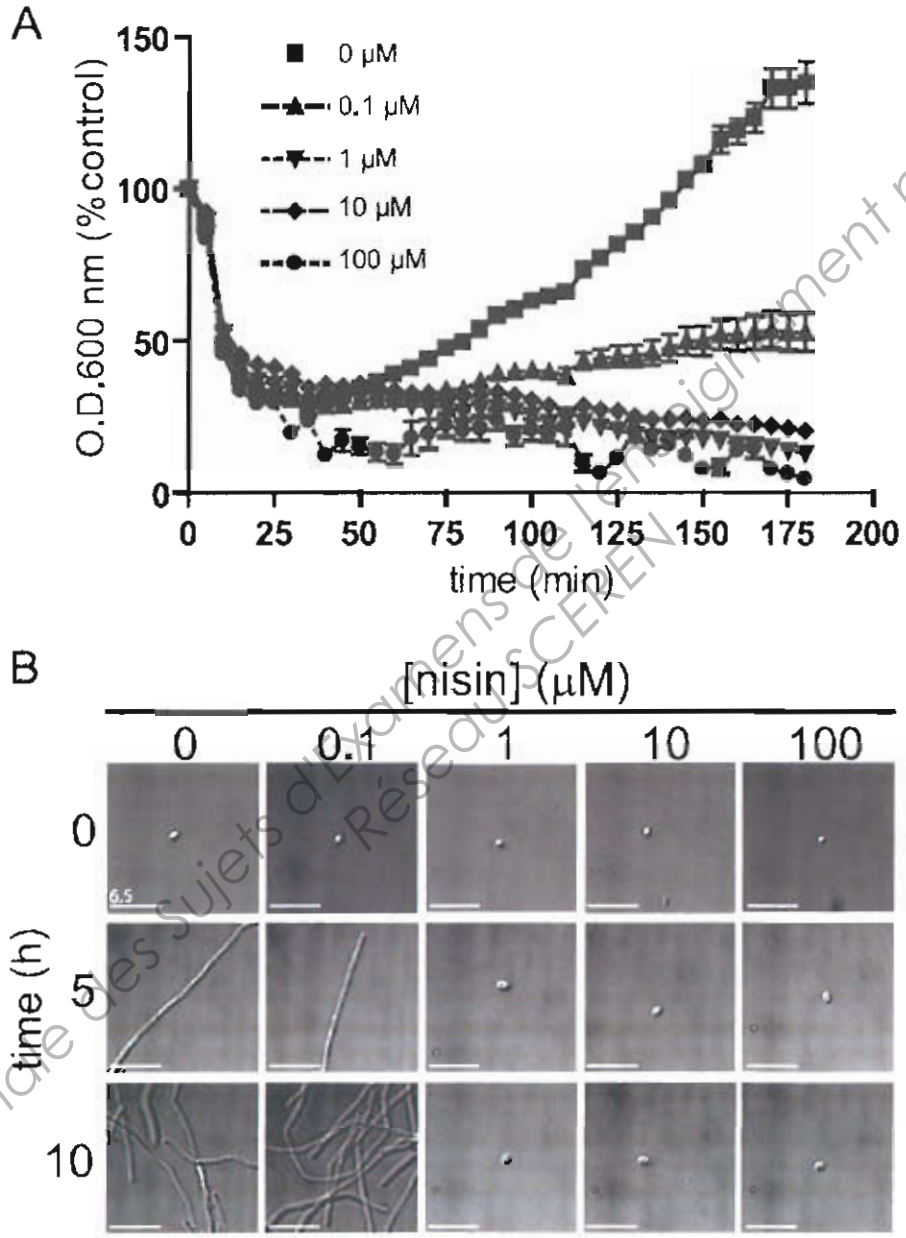
DCW = dry cell weight

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

Document 6 : Étude de l'action de la nisine sur la germination des spores de *Bacillus anthracis*

Antimicrobiol agents and chemotherapy, dec 2008, vol 52 N°12, p 4281-4288

Les 25 premières minutes de l'expérience correspondent aux modifications initiales des spores qui ne sont pas affectées par la présence de nisine.



B. anthracis spores do not develop into vegetative bacilli in the presence of nisin.
(A) The data are expressed as the percentage of OD_{600} at each time point relative to the OD_{600} of each culture at time zero, which was the control in these experiments. The data are expressed as the means of a single experiment conducted in triplicate and are representative of those from three independent experiments. Error bars indicate standard deviations.
(B) At time zero and 5 and 10 h, samples were removed and visualized by DIC microscopy. For each panel, a single spore is shown for clarity but is representative of all other *B. anthracis* spores within that sample. Bars, 6.5 µm. The data are representative of those from three independent experiments.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau SCEREN

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.