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 SUPÉRIEUR

BIOTECHNOLOGIES

U41 Microbiologie et génie fermentaire

SESSION 2019

DUREE DE L'EPREUVE : 2h
COEFFICIENT : 1

<u>Matériel autorisé</u> :

Dictionnaire anglais/français
Tout autre matériel est interdit

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.

Banque Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Le microbiote intestinal

L'être humain est une symbiose intime qui associe quelque 50 000 milliards de cellules et, au moins, autant de bactéries. Ces micro-organismes constituent une partie du microbiote composé également d'archées, champignons, levures, virus, dont la plus grande communauté est hébergée dans l'intestin.
Comme le microbiote se met en place dès la naissance et continue d'évoluer en fonction de l'alimentation de l'hôte, l'idée a alors émergé que le régime alimentaire et la prise de probiotiques pouvaient moduler le microbiote intestinal pour prévenir les dysbioses (déséquilibres du microbiote).

1. Effet de l'antibiothérapie sur l'équilibre du microbiote (6 points)

De nombreux patients entrant à l'hôpital avec une flore intestinale normale diversifiée subissent des traitements antibiotiques qui appauvrissent celle-ci. Le **document 1** présente quatre structures chimiques de molécules de la famille des béta-lactamines.

1.1. Identifier et reproduire sur la copie la structure chimique commune aux béta-lactamines.

Il existe différentes modalités de résistance aux antibiotiques. Le **document 2** en présente quelques exemples.

1.2. Dégager et expliquer les principes des trois modalités de résistance illustrées dans le document. Proposer un quatrième mécanisme de résistance.

Certaines bactéries possèdent dans leur génome le gène *bla* codant une béta-lactamase.

1.3. En s'appuyant sur les réponses précédentes, rappeler le mécanisme de résistance mis en jeu dans ce cas.

La bactérie *Clostridium difficile*, résistante à de nombreux antibiotiques, colonise l'intestin, provoquant des colites avec diarrhées, vomissement et fièvre. *Clostridium difficile* est un bacille Gram positif capable de sporuler. Le **document 3** présente une analyse comparée des caractéristiques de la cellule végétative et de l'endospore.

1.4. Repérer les arguments montrant que l'endospore est une forme de dormance cellulaire.

Le **document 4** rappelle les cibles moléculaires principales des antibiotiques.

1.5. Expliquer en quoi l'endospore participe à la résistance de *Clostridium difficile* aux antibiotiques.

1.6. Rédiger une synthèse expliquant comment une administration d'antibiotiques peut conduire à un déséquilibre du microbiote par *Clostridium difficile*.

2. Effet protecteur de *Bifidobacterium longum* sur les cellules intestinales (4 points)

Afin de pallier au déséquilibre du microbiote causé par une antibiothérapie, des probiotiques peuvent être administrés. Des études s'appuient sur l'utilisation de *Bifidobacterium longum* pour limiter les effets cytopathogènes engendrés par les toxines produites par *Clostridium difficile*.

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

La technique xCELLigence® utilisée pour mesurer la viabilité des cellules est décrite dans le **document 5**.

2.1. Expliquer la notion de « *cell index* ». Repérer la relation existant entre une diminution du « *cell index* » et la viabilité des cellules.

Des surnageants de culture de *C. difficile* contenant des toxines sont mis en présence ou non de *Bifidobacterium longum* pendant 48h. Après centrifugation, le surnageant résultant de ce traitement est ajouté à une culture de cellules épithéliales intestinales humaines. Les résultats obtenus par la technique xCELLigence® sont présentés dans le **document 6**.

2.2. Analyser l'expérience de façon globale en comparant notamment les valeurs de cell index à 22h. Conclure sur l'effet de *Bifidobacterium longum* sur les cellules intestinales.

3. Production de *Bifidobacterium* (8 points)

Compte tenu des effets protecteurs de la présence de *Bifidobacterium longum* dans le microbiote intestinal, la production à grande échelle de ces bactéries intéresse certaines industries.
Le **document 7** présente des expériences de fermentation en batch avec ou sans maintien de pH, réalisées avec une culture de *Bifidobacterium longum* ATCC 15707, en milieu MRS classique (**document 8**) ou MRS – WP supplémenté en lactosérum.

3.1. Caractériser le milieu MRS. En déduire le type trophique de *Bifidobacterium longum.*

3.2. Réaliser un schéma légendé du bioréacteur sur lequel figure les éléments permettant le maintien du pH.

3.3. Calculer les productivités volumiques horaires totales (PVHT) en acide lactique et en acide acétique dans le milieu MRS ajusté à pH 5,5. Préciser le type de fermentation mise en jeu au cours de ce batch.

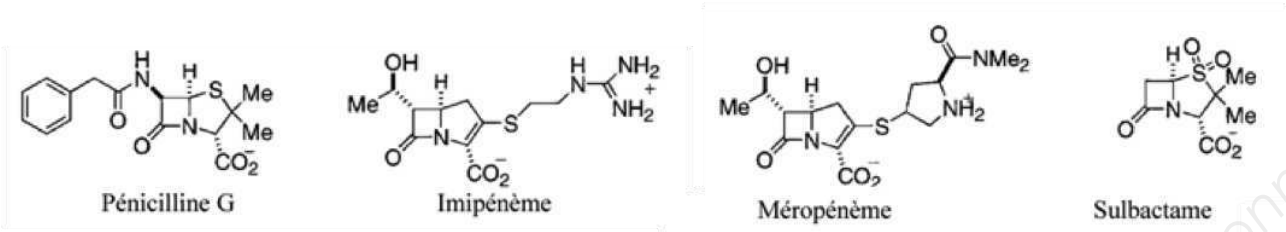
3.4. Calculer le rendement de croissance total $R_{X/S}$ dans le milieu MRS ajusté à pH 5,5.

3.5. Synthétiser les données pertinentes sous forme de tableau. Argumenter le choix des conditions de culture pour une production optimale de *Bifidobacterium longum*.

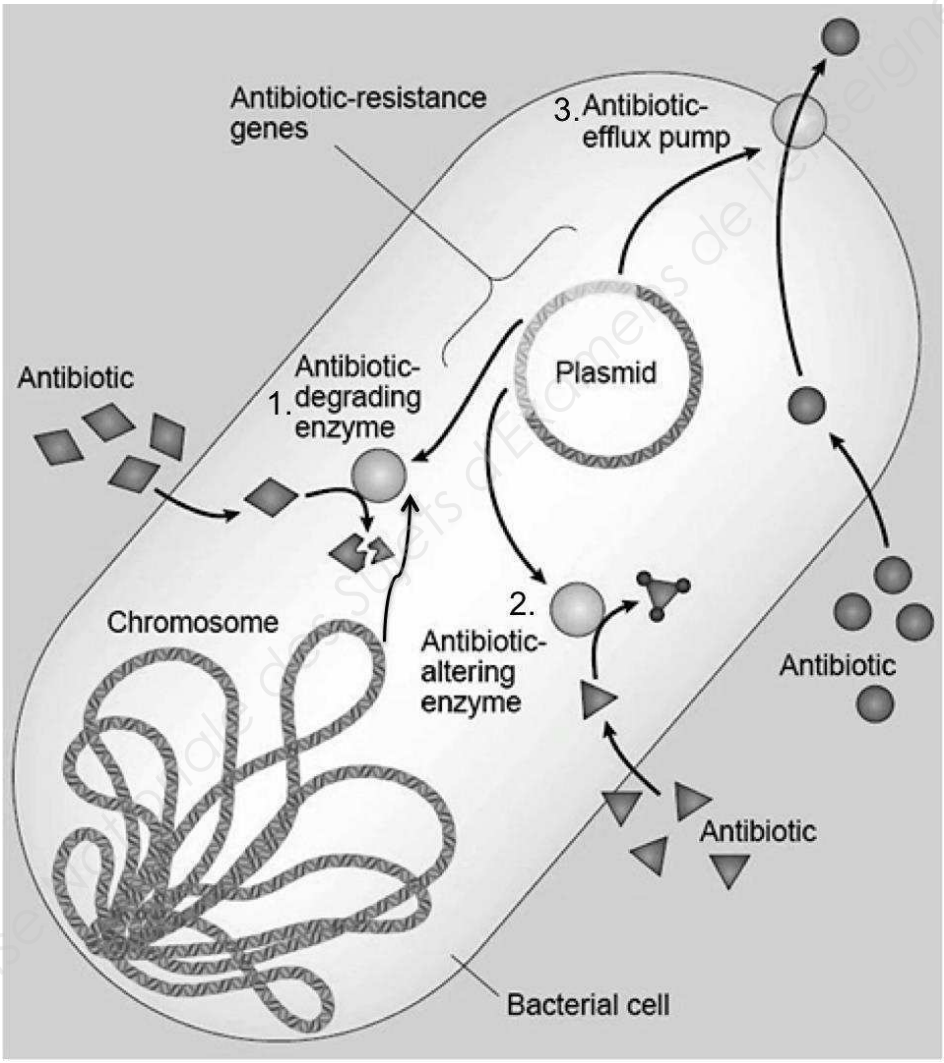
Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

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

<u>Document 1</u> : Structure chimique de quatre molécules de la famille des bêta-lactamines



<u>Document 2</u> : Three bacterial antibiotic resistances

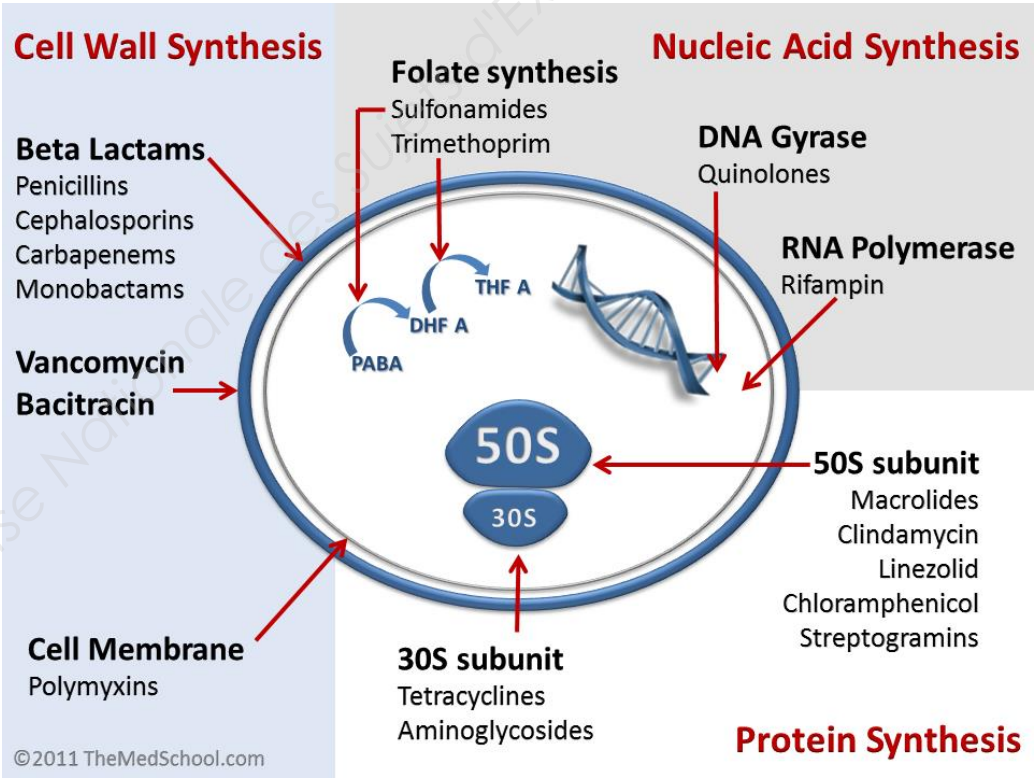


Base nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Document 3 : Comparative composition analysis of vegetative cell vs. endospore

Characteristic	Vegetative cell	Endospore
Structure	Typical gram-positive cell	Thick spore cortex Spore coat Exosporium
Microcospic appearance	Nonrefractile	Refractile
Calcium content	Low	High
Dipicolinic acid	Absent	Present
Water content	High	Low
Cytoplasmic pH	About pH 7	About pH 5,5 – 6,0 in core
Enzyme activity	High	Low
Macromolecular synthesis	Present	Absent
mRNA	Present	Low or absent
Heat resistance	Low	High
Radiation resistance		
Resistance to chemicals and acids		
Resistance to lysosyme		

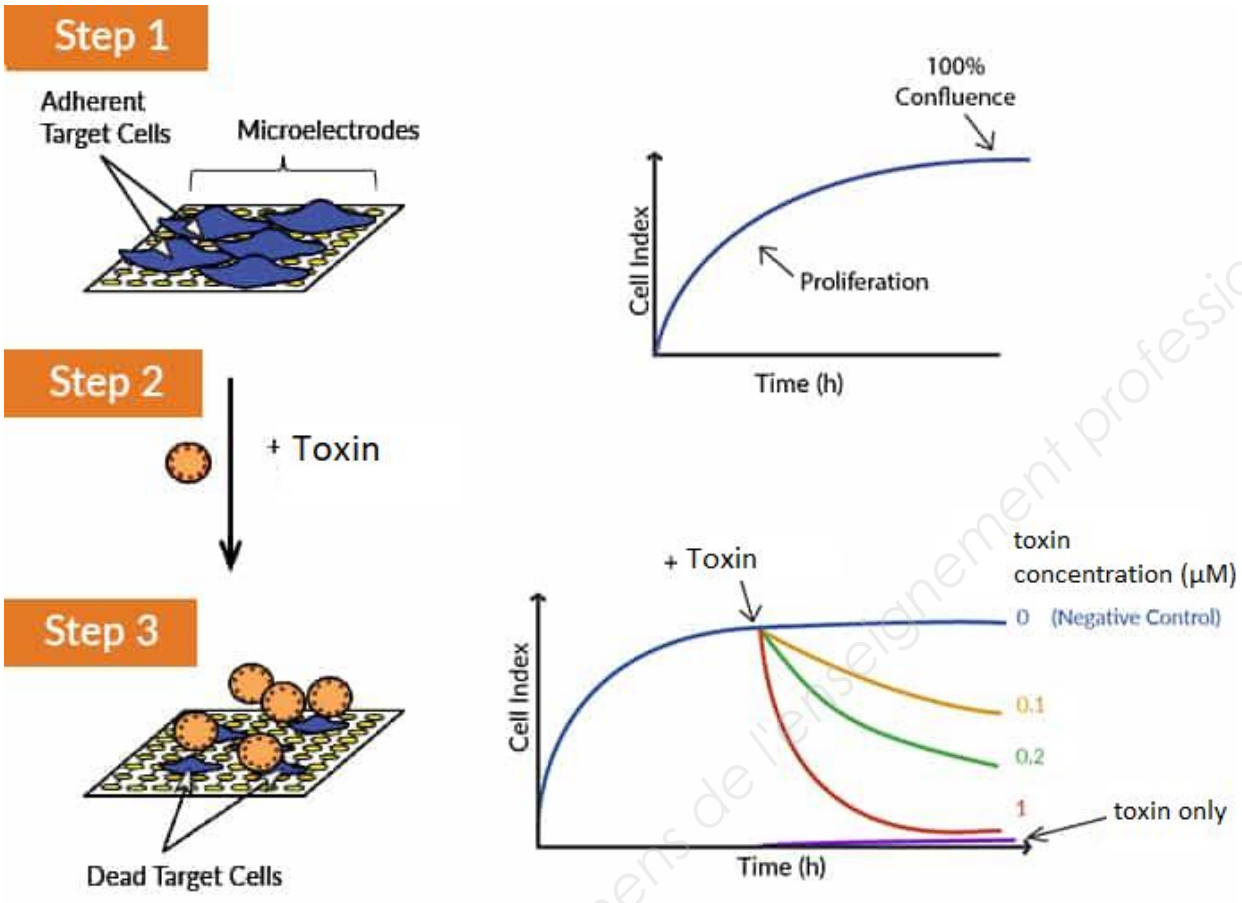
Document 4 : Antibiotics mechanisms of action



https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antibiotics_Mechanisms_of_action.png

Base Nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

<u>Document 5</u> : Principe de la technologie xCELLigence®



ACEA's xCELLigence® Real-Time Cell Analysis (RTCA) instruments utilize gold microelectrodes embedded in the bottom of microtiter wells to non-invasively monitor cell status including cell number, shape/size and attachment. The major distinguishing features of this technology include enhanced sensitivity, the preclusion of labels and, importantly, kinetic measurement of cell health/behavior.

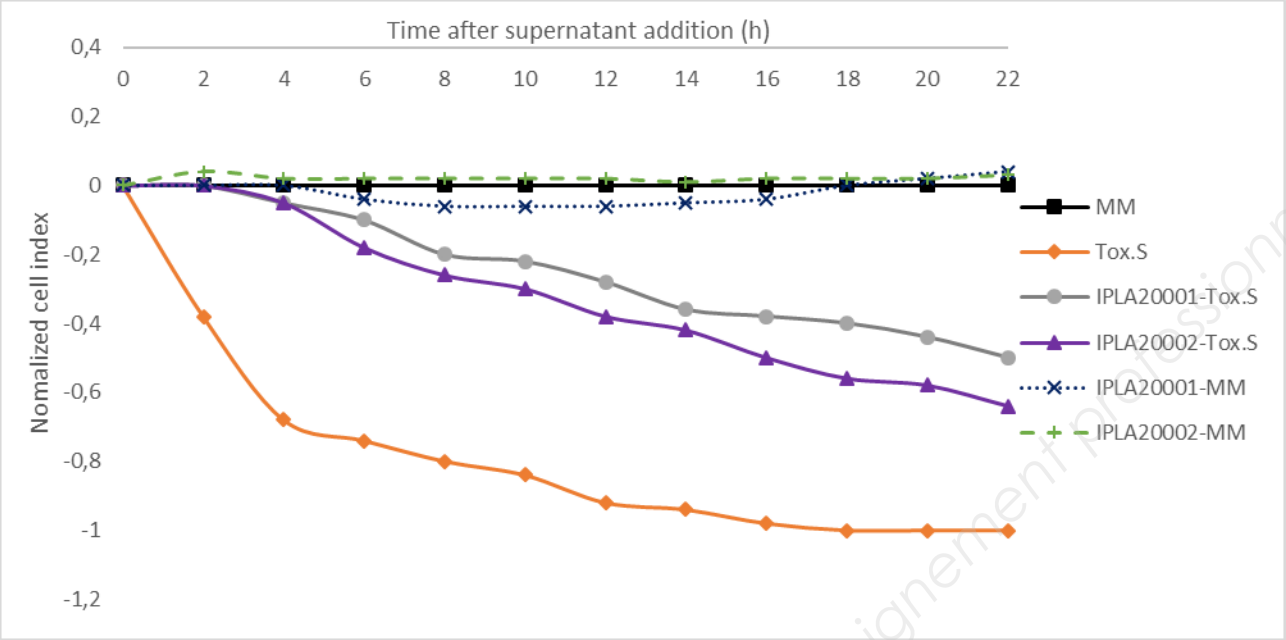
Step 1: Adherent cells (i.e. intestinal cell line) are first seeded in the wells of an electronic microtiter plate (E-Plate®). Adhesion of cells to the gold microelectrodes impedes the flow of electric current between electrodes. This impedance value, plotted as a unitless parameter called "Cell Index", increases as cells proliferate and then plateaus as cells approach 100% confluence.

Step 2: When added subsequently, non-adherent effector cells (i.e. immune cells) or toxic molecules (i.e. C. difficile toxine) in suspension do not cause impedance changes in and of themselves (due to lack of adherence to the gold microelectrodes).

Step 3: If toxines induce the destruction of the target adherent intestinal cells, the corresponding cytolytic activity can be sensitively and precisely detected by a decrease in cell index.

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

<u>Document 6</u> : Effets de l'ajout de différents surnageants sur l'état physiologique de cellules épithéliales intestinales humaines



Normalized Cell Index : Impédance de la condition testée – impédance de la condition contrôle (MM : milieu de culture des cellules épithéliales).

Tox.S	Surnageant d'une culture de *Clostridium difficile* contenant les toxines produites par la souche.
IPLAxxxxx	Référence des souches de *Bidobacterium longum* étudiées.
IPLAxxxxx-Tox.S	Surnageant d'une culture de *Bifidobacterium longum* préalablement incubée avec les surnageants toxiques.
IPLAxxxxx-MM	Surnageant d'une culture de *Bifidobacterium longum* préalablement incubée avec le milieu témoin.

Base Nationale des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel

<u>Document 7</u> : Etude de la production de *B. longum* ATCC 15707 après 12 heures de fermentation en batch avec ou sans contrôle du pH en milieu MRS ou en milieu MRS supplémenté en lactosérum (MRS – WP)

pH Milieu	5,5 MRS	5,5 MRS - WP	Non régulé MRS - WP
Biomasse initiale (cellules*10^7.mL^{-1})	8,0	8,0	8,0
Biomasse finale (cellules*10^9.mL^{-1})	8,7	17,3	3,3
Glucose initial ($g.L^{-1}$)	19,5	19,5	19,5
Glucose final ($g.L^{-1}$)	0	7,5	11,7
Lactose initial ($g.L^{-1}$)	-	20,9	20,9
Lactose final ($g.L^{-1}$)	-	0,4	14,5
Galactose initial ($g.L^{-1}$)	-	1,4	1,4
Galactose final ($g.L^{-1}$)	-	2,0	1,1
Acide lactique produit ($g.L^{-1}$)	7,2	11,8	5,6
Acide acétique produit ($g.L^{-1}$)	8,6	11,3	4,9
PVHT acide lactique ($g.L^{-1}.h^{-1}$)	à déterminer	0,98	0,47
PVHT acide acétique ($g.L^{-1}.h^{-1}$)	à déterminer	0,94	0,41
Rendement biomasse $R_{X/S}$ (cellules*10^5.g^{-1} de glucides consommés)	à déterminer	5,7	2,6

<u>Document 8</u> : Composition du milieu MRS (Man Rogosa Sharpe)

Pour 1 litre de milieu :

- Polypeptone ..... 10,00 g
- Extrait de viande ..... 10,00 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 : 6,4 ± 0,2

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

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.