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

ÉPREUVE E5. UNITÉ U52
Techniques de microbiologie
2ER JOUR

ACTIVITÉ PECTINOLYTIQUE DE *BACILLUS SUBTILIS*

1 - Vérification de l'appartenance de la souche test à l'espèce *Bacillus subtilis* (26 points)

1.1 - Matériel et réactifs

- Solution de lugol.
- Solution $HgCl_2$ disponible sur le lieu d'utilisation à préciser par le centre.
- Solution d'hydroxyde de sodium à 16%.
- Solution d'α-naphtol dans l'éthanol.
- Solution d'Ehrlich Kovacs.
- Solution pour la révélation des nitrates.
- Gants et lunettes.

1.2 - Protocole opératoire

Lire la galerie ensemencée le 1er jour. Ajouter les réactifs nécessaires.

Pour révéler la présence d'une gélatinase, ajouter la solution de $HgCl_2$, en respectant les consignes de sécurité données en **annexe 1**.

1.3 - Compte-rendu.

Donner la liste des caractères révélés.

Vérifier l'appartenance de la souche test à l'espèce *Bacillus subtilis* en utilisant le tableau des *Bacillus* du groupe 1 donné en **annexe 2**.

2 - Mise en évidence de l'activité pectinolytique de *Bacillus subtilis* (12 points)

L'acétate de cuivre précipite le polymère non dégradé. Un halo translucide sur fond bleu apparaît donc autour des puits contenants des pectinases.

Verser 5 mL de la solution d'acétate de cuivre saturée à 10% sur les boîtes gélosées au polygalacturonate. Laisser en contact pendant 2 minutes. Puis rejeter l'excès d'acétate de cuivre dans un container prévu à cet effet.

Effectuer la lecture après 5 minutes.

Conclure.

3 - Production de pectinases par *Bacillus subtilis* (42 points)

3.1 - Vérification de la croissance de la souche

Exploiter les résultats du dénombrement. Effectuer le calcul en utilisant la formule normalisée AFNOR ci-dessous :

$$N = \frac{\Sigma c}{V\,(n_1 + 0{,}1 \times n_2)\,d}$$

. N : nombre d'UFC par ml,
. Σ c : somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues,
. n_1 : nombre de boîtes retenues à la première dilution,
. n_2 : nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution,
. d : taux de dilution de la première dilution,
. V : volume de l'inoculum.

Conclure.

3.2 - Amélioration de la production de pectinases par *Bacillus subtilis*

Rappel :

Un des moyens pour améliorer le rendement de production des pectinases est de construire une souche hyper productrice par mutagénèse dirigée.

Le plasmide intégratif utilisé est porteur du caractère de résistance au chloramphénicol. Les *Bacillus* sont naturellement sensibles aux antibiotiques de la famille des phénicols (chloramphénicol, thiamphénicol).

On se propose de vérifier la persistance du plasmide dans la souche de *Bacillus subtilis* mutée à partir de la culture présentée sur gélose ordinaire.

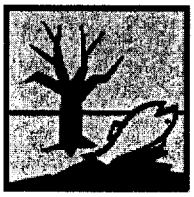
Effectuer la lecture de la gélose Mueller Hinton.

Conclure.

ANNEXE 1 : Fiche de sécurité du mercure (II) chlorure $HgCl_2$



T+ - Très toxique



N - Dangereux pour l'environnement

R28 : très toxique en cas d'ingestion
R34 : provoque des brûlures
R24 : toxique par contact avec la peau

S37 : porter des gants
S39 : porter un appareil de protection des yeux/du visage
S61 : éviter rejet dans l'environnement

ANNEXE 2 :

Tableau des caractères biochimiques de quelques *Bacillus* du groupe 1

Caractères / Souches	*B.megaterium*	*B.cereus*	*B.subtilis*
Type respiratoire	Aérobie strict	Aéro anaérobie	Aérobie strict
Glucose	+	+	+
Gaz en glucose	-	-	-
VP	-	+	+
Uréase	d	+/-	-
Indole	-	-	-
Nitrates	+/-	+	+
Hydrolyse de l'amidon	+	+	+
Gélatinase	+	+	+
Lécithinase	-	+	-
Hydrolyse de la caséine	+	+	+

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

2ème JOUR

Durée de l'épreuve : 1 H45

Épreuve E5 - Unité U52

Techniques de microbiologie

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.

Pour une bonne réalisation de l'épreuve, une gestion optimale du temps imparti est nécessaire en fonction des temps d'incubation. Le candidat prendra soin de bien lire l'ensemble du sujet avant de commencer les manipulations.

Documents interdits - Calculatrice autorisée

ÉPREUVE E5. UNITÉ U52
Techniques de microbiologie
2ème JOUR

DOSAGE D'UN ANTIBIOTIQUE

1 - Procédure de sélection de la souche bactérienne test (13 points)

Rappels :

- Gamme de dilution d'antibiotique préparée : 5 dilutions successives selon une progression géométrique de raison 1/2, à partir de la solution mère d'amoxicilline à 2,5 $\mu g.mL^{-1}$.
- Préparation des boîtes : 1 mL de chacune des dilutions d'amoxicilline et de la solution mère et 9 mL de gélose Mueller Hinton.
- Souches testées :
  - *Micrococcus luteus* ATCC 9341
  - *Escherichia coli* ATCC 10536
  - *Bacillus subtilis* ATCC 6633

1.1 - Effectuer la lecture des boîtes. Présenter les résultats dans un tableau.

1.2 - Déterminer, en justifiant, la CMI pour chacune des souches testées.

1.3 - Indiquer, en justifiant la réponse, quelle est la souche la mieux adaptée au dosage microbiologique de l'amoxicilline.

2 - Vérification de l'identité de la souche test (22,5 points)

2.1 - Lire la galerie ensemencée et consigner les résultats sur la fiche de galerie distribuée.

➥ **Montrer la galerie accompagnée de la fiche complétée à un examinateur.**

2.2 - Identifier la souche à l'aide du logiciel d'identification.

2.3 - Conclure.

3 - Préparation et contrôle de la suspension bactérienne utilisée pour le dosage (24 points)

3.1 - Effectuer la lecture des boîtes ensemencées. Présenter les résultats dans un tableau.

3.2 - Calculer la concentration bactérienne dans la suspension test en utilisant la formule normalisée AFNOR jointe en **annexe**.

3.3 - Conclure, sachant que la suspension préparée le premier jour devait contenir entre 1.10^8 et 2.10^8 bactéries.mL^{-1}.

4 - Contrôle de la concentration en amoxicilline dans une suspension pharmaceutique buvable (20,5 points)

Rappels :

- Concentrations de la solution étalon et de la solution à contrôler déposées dans les puits : 2, 1 et 0,5 $\mu g.mL^{-1}$.
- Concentration initiale de la solution d'amoxicilline à contrôler (selon le fabricant) : 250 mg pour 5 mL.

4.1 - Mesurer les diamètres d'inhibition obtenus et calculer les diamètres moyens pour chacune des concentrations de la solution étalon et de la solution à contrôler.
Présenter l'ensemble des résultats dans un tableau.

4.2 - À partir des moyennes obtenues, tracer à l'aide de l'outil informatique, sur un même graphe, les courbes : diamètre d'inhibition = f (log de la concentration en amoxicilline), pour la solution étalon et pour la solution à contrôler.

4.3 - Analyser les deux boîtes obtenues : alignement des points, parallélisme et/ou superposition des droites. Interpréter ces résultats et conclure quant au titre de la solution contrôlée.

ANNEXE

NORME AFNOR

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0{,}1\, n_2) \times V \times d}$$

N = Nombre UFC/mL.

$\sum C$ = somme des colonies comptées sur les boîtes choisies.

n_1 = nombre de boîtes comptées à la première dilution.

n_2 = nombre de boîtes comptées à la deuxième dilution.

V = volume inoculum par boîte.

d = première dilution.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

2ème JOUR

Durée de l'épreuve : 1 H15

Épreuve E5 - Unité U52

Techniques de microbiologie

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.

Pour une bonne réalisation de l'épreuve, une gestion optimale du temps imparti est nécessaire en fonction des temps d'incubation. Le candidat prendra soin de bien lire l'ensemble du sujet avant de commencer les manipulations.

Documents interdits - Calculatrice autorisée

ÉPREUVE E5. UNITÉ U52
Techniques de microbiologie
2ER JOUR

CONTRÔLE QUALITÉ AU COURS DE LA FABRICATION DE LA BIÈRE

2 - Dénombrement des levures du moût après inoculation avec la préculture (19 points)

Décrire l'aspect des colonies.

Déterminer le nombre d'UFC par mL de moût.

Préciser si le résultat est en accord avec celui attendu.

Rappel : le nombre de levures doit être, en début de fermentation, compris entre $1,0.10^6$ et $2,0.10^6$.

3 - Vérification de la sélectivité de l'antibiotique du milieu de dénombrement (40 points)

3.2 - Identifier la souche de référence **« R »**.

Indiquer l'indice de typicité et le % identification. Conclure.

3.3 - Comparer la densité des stries obtenues.

Conclure sur l'activité inhibitrice Du chloramphénicol sur la souche **« R »**.

Conclure sur la sélectivité du milieu de dénombrement (gélose ou Rose Bengale + chloramphénicol).

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.