

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2024

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Jeudi 12 septembre 2024

Durée de l'épreuve : **3 heures**

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue » est autorisé.*

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce document comporte 10 pages numérotées de 1/10 à 10/10.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
4 points	3 points	3 points	4 points	5 points	1 point

BIORESTAURATION D'UNE FRESQUE MURALE

Les microorganismes ont longtemps été considérés comme des agents de biodétérioration de diverses œuvres d'art telles que des fresques, des tableaux ou des statues. Cependant, depuis quelques années, il a été démontré que certaines bactéries pouvaient, à l'inverse, jouer un rôle important dans la biorestauration des ouvrages d'art. Diverses souches bactériennes sont étudiées pour leur capacité à nettoyer des peintures murales ou à éliminer des dépôts insolubles sans détériorer l'œuvre.

Partie I – Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2 h 30)

Au cimetière de Pise, en Italie, une fresque endommagée par des bombardements lors de la seconde guerre mondiale a été détachée pour être restaurée. Afin de la stabiliser, une colle de poisson a été appliquée sur toute sa surface. La fresque est restée stockée pendant 20 ans ce qui a entraîné une imprégnation irréversible de la colle de poisson utilisée.

Une équipe de chercheurs italiens a été mandatée pour mettre en place une biorestauration de la fresque. Certaines souches de *Pseudomonas* sont connues pour posséder des enzymes capables de dégrader des matières organiques telles que celles qui constituent la colle animale.

Pour cela, l'équipe souhaite sélectionner la souche de *Pseudomonas* la plus efficace pour dégrader la colle animale. L'étude se déroule en trois étapes :

- étude de la capacité des souches bactériennes à utiliser la colle de poisson pour leur croissance ;
- comparaison des vitesses spécifiques de croissance en phase exponentielle des souches sélectionnées en présence de colle de poisson ;
- étude de la toxicité de la colle de poisson sur les souches sélectionnées.

1. ÉTUDE DE LA CAPACITÉ DES SOUCHES BACTÉRIENNES À UTILISER LA COLLE DE POISSON POUR LEUR CROISSANCE

L'équipe de chercheurs a testé cinq souches différentes de *Pseudomonas*. L'objectif est de déterminer quelles souches sont capables d'utiliser la colle animale comme source unique de carbone et d'énergie.

Le **document 1** présente la fiche technique du test de croissance effectué ainsi que les résultats obtenus.

Q1. ☐ C1 Expliquer la signification de l'apparition d'un trouble dans le test effectué.

Q2. ☐ C3 Interpréter les résultats obtenus dans le « tube 1 » et le « tube 2 » de la souche *P. cepacia* à l'aide de la composition du milieu de culture.

Q3. ☐ C3 Interpréter les résultats obtenus dans le « tube 3 » de la souche *P. cepacia*.

Q4. ☐ C4 Argumenter sur le choix de poursuivre l'étude à partir des espèces *Pseudomonas cepacia* et *Pseudomonas stutzeri*.

Le **document 2** présente les sources d'erreur potentielles lors de la réalisation des tests de croissance.

Q5. [C4] Choisir deux éléments à partir des documents 1 et 2 et expliquer comment ils pourraient conduire à un résultat erroné.

2. COMPARAISON DE LA VITESSE SPÉCIFIQUE DE CROISSANCE DES SOUCHES SÉLECTIONNÉES

Dans cette partie, l'équipe italienne souhaite déterminer la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle pour les souches sélectionnées capables de dégrader la colle animale dans des conditions de culture proches des conditions environnementales.

Le **document 3** présente le suivi de croissance de la souche *Pseudomonas stutzeri* en présence de colle animale.

Q6. [C1] Déterminer graphiquement les temps de début et de fin de la phase exponentielle de croissance pour *P. stutzeri*.

Q7. [C2] Calculer la vitesse spécifique de croissance μ_{expo} de *P. stutzeri*.

La vitesse spécifique de croissance de *P. cepacia* a été mesurée dans les mêmes conditions expérimentales : elle est égale à $0,15 \text{ h}^{-1}$.

Q8. [C4] Argumenter le choix de la souche à privilégier, à ce stade, pour être appliquée sur la fresque.

3. ÉTUDE DE LA TOXICITÉ DE LA COLLE DE POISSON SUR LES SOUCHES SÉLECTIONNÉES

Pour étudier la toxicité de la colle de poisson, les chercheurs italiens déterminent le taux de mortalité des souches sélectionnées après 24 h de culture en présence de colle de poisson. La mortalité est évaluée par le dosage de l'activité enzymatique de la LDH (lactate déshydrogénase) dans le surnageant des suspensions bactériennes. Le taux de survie est ensuite déterminé.

Le **document 4** présente le principe, le protocole et le matériel du dosage de la LDH.

Q9. [C1] Écrire l'équation de la réaction catalysée par la LDH.

Q10. [C4] Argumenter le choix d'une longueur d'onde de 340 nm pour les mesures d'absorbance.

Q11. [C4] Argumenter l'intérêt de mesurer l'activité de la LDH dans le surnageant de culture pour évaluer le taux de survie des bactéries.

Le dosage de la LDH est un dosage par cinétique en continu.

Q12. [C1] Relever, dans la fiche technique, deux caractéristiques indispensables pour la réalisation du dosage par cinétique en continu.

Q13. [C4] Proposer une hypothèse quant au choix, pour le dosage de la LDH, d'une lyse des bactéries par sonication pour le contrôle, plutôt que par chauffage à 70 °C.

Le **document 5** présente les résultats de suivi des cinétiques en continu des trois surnageants préparés.

Q14. [C2] Calculer la vitesse initiale de la réaction catalysée par la LDH dans le surnageant du contrôle.

Q15. [C3] Expliquer la diminution d'absorbance observée pour la courbe correspondant au contrôle.

Q16. [C2] Vérifier par le calcul que le taux de survie de *P. cepacia* est de 60 %.

Q17. [C3] Conclure sur la toxicité de la colle sur les deux souches.

4. BILAN

Q18. [C5] Réaliser un schéma ou un organigramme afin de présenter les étapes et les résultats de la démarche de sélection d'une souche bactérienne pour restaurer une fresque. Conclure quant à la souche la plus adaptée pour la restauration de la fresque.

Partie II – Question de synthèse (durée indicative 30 minutes)

L'utilisation de microorganismes dans les domaines de l'agro-alimentaire et de la santé est connue depuis de nombreuses années.

Plus récemment, les biotechnologies se sont beaucoup développées et des innovations scientifiques ont fait leur apparition. Ainsi, l'utilisation de bactéries dans la restauration d'œuvres d'art commence à se répandre. Plusieurs études sont menées en Italie et en Espagne pour favoriser l'usage de bactéries dans la restauration d'œuvres d'art endommagées.

Le **document 6** présente des articles qui décrivent l'usage de bactéries dans la biorestauration d'œuvres d'art.

Q19. [C5] Rédiger une synthèse permettant de mettre en avant les avantages de l'utilisation de bactéries pour la restauration d'œuvres d'art, ainsi que les contraintes éventuelles pour une utilisation généralisée.

DOCUMENT 1 : Fiche technique du test de croissance pour les 5 souches et résultats obtenus

1. Principe

Cette technique permet de mettre en évidence la capacité d'une bactérie à assimiler un substrat carboné comme unique source de carbone et d'énergie.

2. Matériel et milieu

- Un milieu synthétique M9 (ne contient aucune source de carbone et d'énergie)
- Une solution de glucose à 5 g·L⁻¹
- Une solution de colle animale
- 5 souches de *Pseudomonas* :
 - *P. cepacia* ;
 - *P. testosteroni* ;
 - *P. fluorescens* ;
 - *P. flavescens* ;
 - *P. stutzeri*.

3. Mode opératoire

Pour chaque souche :

- préparer 10 mL d'une suspension bactérienne à 0,5 Mac Farland en milieu minimum M9 ;
- dans un tube à hémolyse stérile, noté « tube 1 », verser 3 mL de cette suspension ;
- dans un autre tube à hémolyse stérile, noté « tube 2 », verser 2 mL de la suspension et ajouter 1 mL de solution de glucose ;
- dans un dernier tube à hémolyse stérile, noté « tube 3 », verser 2 mL de la suspension et ajouter 1 mL de solution de colle animale ;
- incuber 24 h à 20 °C.

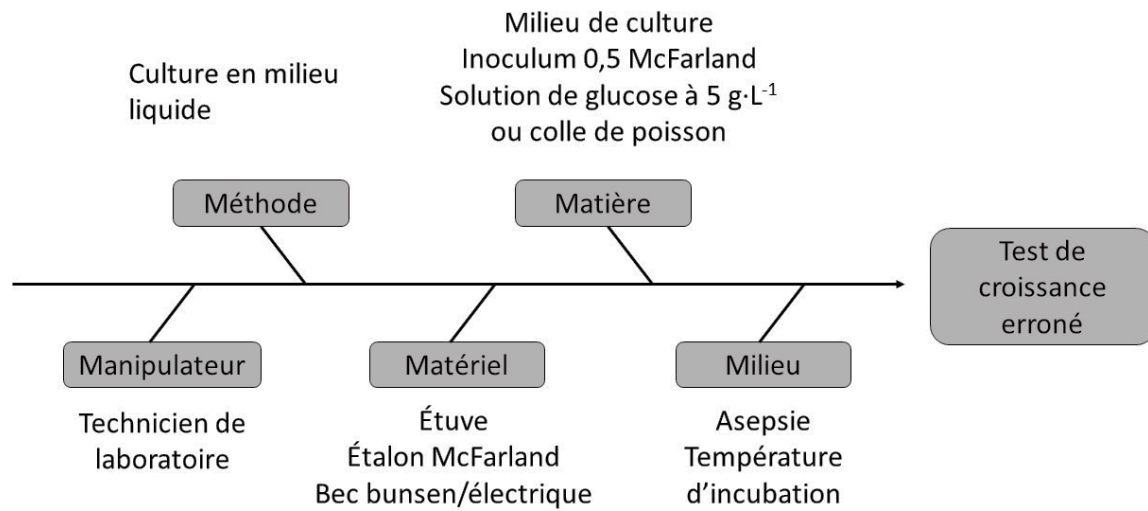
4. Résultats

Conditions		<i>P. cepacia</i>	<i>P. testosteroni</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. flavescens</i>	<i>P. stutzeri</i>
Tube 1	M9 seul	-	-	-	-	-
Tube 2	M9 + glucose	+	+	+	+	+
Tube 3	M9 + colle	+	-	-	-	+

L'absence de trouble est indiquée par le signe « - ».

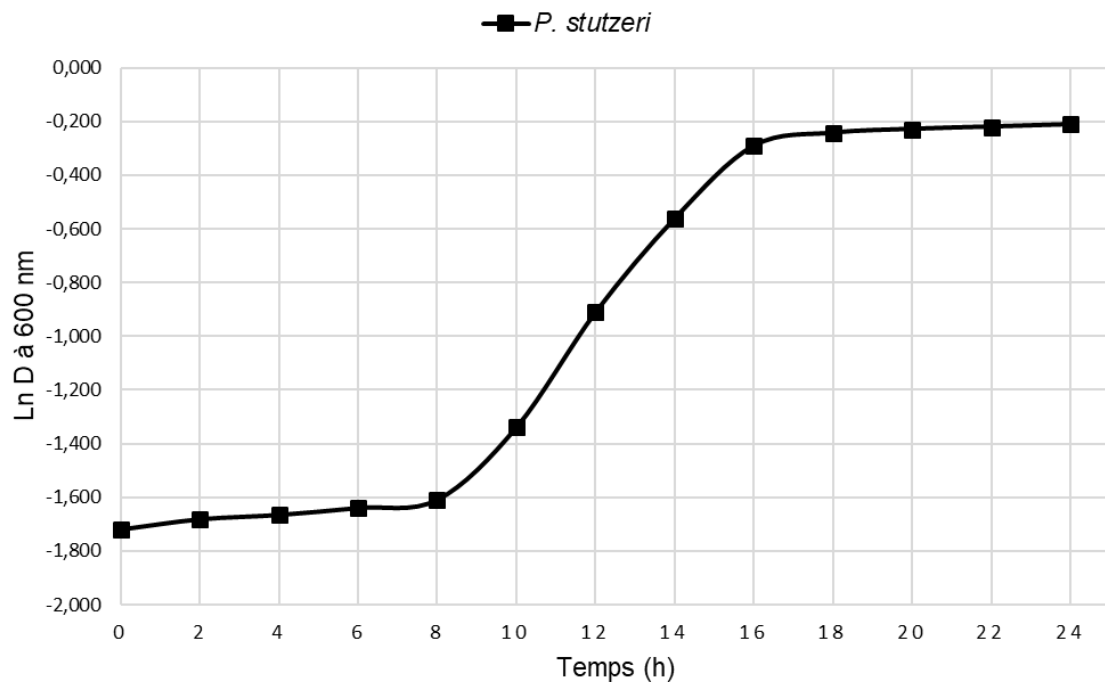
La présence d'un trouble est indiquée par le signe « + ».

DOCUMENT 2 : Exemples de sources d'erreur lors de la réalisation des tests de croissance



DOCUMENT 3 : Suivi de croissance de *P. stutzeri* en présence de colle animale

Courbe de croissance de *Pseudomonas*



Temps (h)	D	Ln D ₆₀₀ de <i>P. stutzeri</i>
0	0,179	-1,720
2	0,186	-1,682
4	0,189	-1,666
6	0,194	-1,640
8	0,200	-1,609
10	0,262	-1,339
12	0,402	-0,911
14	0,570	-0,562
16	0,747	-0,292
18	0,784	-0,243
20	0,795	-0,229
22	0,802	-0,221
24	0,809	-0,212

Données :

D : Atténuation de la suspension bactérienne mesurée à la longueur d'onde de 600 nm

Calcul de la vitesse spécifique de croissance :
$$\mu_{\text{expo}} = \frac{\text{Ln } D_2 - \text{Ln } D_1}{t_2 - t_1}$$

La vitesse spécifique de croissance est exprimée en h⁻¹.

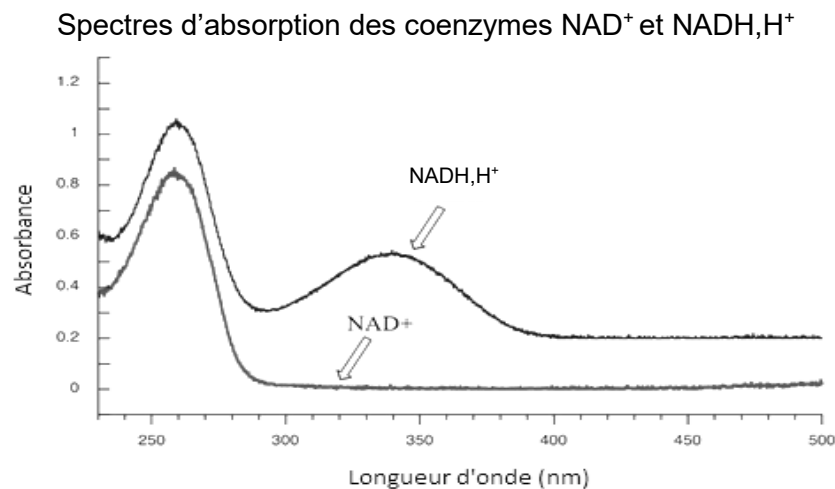
DOCUMENT 4 : Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH)

1. Principe

La LDH (lactate déshydrogénase) est une enzyme intracellulaire présente dans presque toutes les cellules vivantes. Elle réduit une molécule de pyruvate ($C_3H_3O_3^-$) en lactate ($C_3H_5O_3^-$) tout en oxydant une molécule de $NADH, H^+$ en NAD^+ . Lorsque la membrane d'une cellule est détruite, la LDH cytoplasmique est libérée dans le milieu extérieur.

Chez les bactéries du genre *Pseudomonas*, la quantité de LDH cytoplasmique est la même quelle que soit l'espèce.

La concentration du $NADH, H^+$ est suivie par spectrophotométrie.



Source du document : <https://chem.libretexts.org/>; Ultraviolet and Visible Spectroscopy

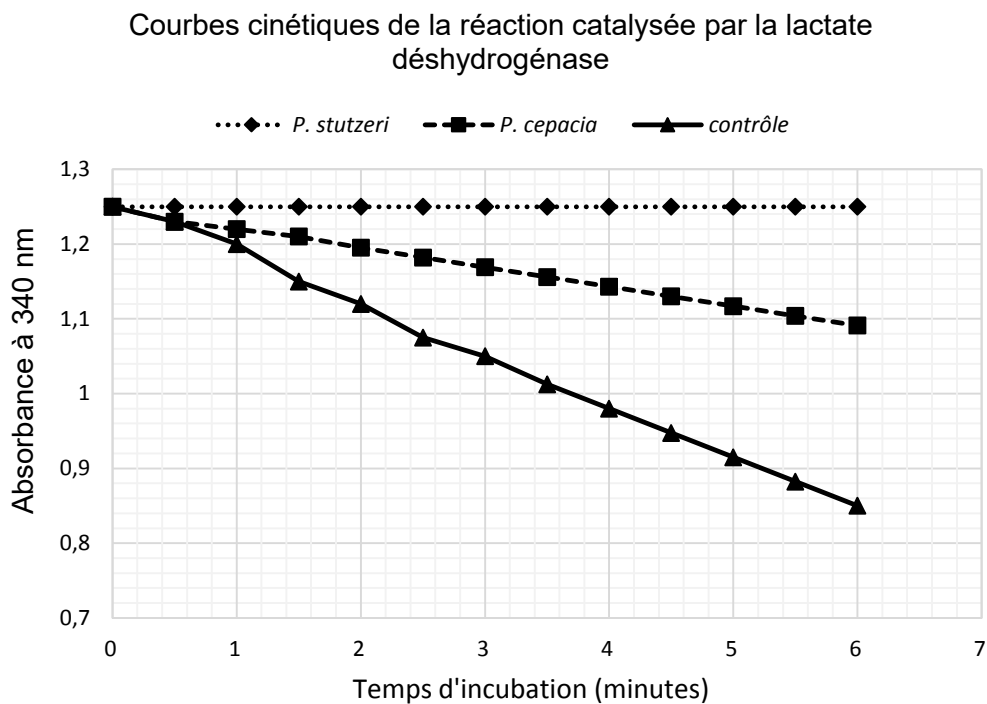
2. Matériel et réactif

- Réactif contenant un mélange de :
 - Tampon phosphate pH 7 ($60 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) ;
 - Pyruvate ($0,2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) ;
 - $NADH, H^+$ ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$).
- Souches à tester en contact depuis 24 h avec la colle animale :
 - Surnageant d'une suspension de *Pseudomonas cepacia* ;
 - Surnageant d'une suspension de *Pseudomonas stutzeri*.
- Contrôle : Surnageant d'une suspension de *Pseudomonas* lysée totalement par sonication, méthode de lyse physique utilisant les ultra-sons pour lyser les bactéries.

3. Protocole

- Réaliser, sur l'air, le zéro du spectrophotomètre thermostaté à 30°C , à la longueur d'onde adéquate.
- Verser dans une cuve 1 mL de réactif, maintenu à 30°C .
- Dans la même cuve, ajouter précisément 100 μL de surnageant de la culture bactérienne, homogénéiser.
- Mesurer immédiatement l'absorbance à la longueur d'onde adéquate, puis toutes les 30 secondes pendant 6 minutes.

DOCUMENT 5 : Résultats des cinétiques en continu de la LDH sur les 3 surnageants



Source du document: « Art-loving bugs: The resurrection of Spinello Aretino from Pisa's cemetery »

Vitesse initiale de la réaction catalysée par une enzyme :

$$v_i = \left| \frac{\Delta A}{\Delta t} \right| = \left| \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \right|$$

La vitesse initiale est exprimée en min^{-1} .

Détermination du taux de survie de la souche :

$$\text{Survie} = 1 - \frac{v_{i \text{ souche}}}{v_{i \text{ contrôle}}}$$

Une survie de 1 correspond à un taux de survie de 100 %.

Données :

$$V_{i \text{ P. cepacia}} = 0,026 \text{ min}^{-1}$$

$$V_{i \text{ P. stutzeri}} = 0 \text{ min}^{-1}$$

On considère qu'une vitesse initiale nulle correspond à un taux de survie de 100 %.

DOCUMENT 6 : Extraits d'articles concernant la biorestauration d'œuvres d'art

Nettoyer les œuvres d'art grâce à l'action ... de bactéries ?

D'après Cordis, les résultats de la recherche européennes

Mais qui aurait pu imaginer que les bactéries pourraient être utilisées dans le monde de la restauration d'œuvres d'art ? Eh bien, une équipe d'experts en restauration artistique d'Espagne et d'Italie a démontré avec succès qu'il est possible de nettoyer les œuvres d'art avec des bactéries de manière efficace, soignée et ciblée. Ils ont pu démontrer qu'en plus d'être respectueuses par rapport aux peintures, ces petites créatures le sont également de l'environnement et des restaurateurs. Jusqu'à récemment, les options de restauration étaient souvent l'utilisation de substances chimiques toxiques, agressives ou par érosion de la croûte par des moyens mécaniques dangereux.

Extrait de mise au point de protocole de biorestauration d'œuvre d'art

D'après Bio-Restoration of Mural Paintings Using Viable Cells of P. stutzeri - Abeer Fouad ElHagrassy

Les bactéries *Pseudomonas stutzeri* en bouillon nutritif sont appliquées sur la fresque à l'aide d'un coton imbibé à 35 °C pendant différentes durées. L'efficacité de la bio-restauration est vérifiée en 3 h. À la fin du traitement, les œuvres sont délicatement lavées à l'eau distillée stérile. Une suspension de nanoparticules d'argent est pulvérisée sur les fresques afin de les décontaminer.

En Italie, des statues de Michel-Ange sont nettoyées grâce à des bactéries

D'après RTS culture

À Florence, des statues de Michel-Ange dans la chapelle des Médicis ont reçu récemment une cure de jouvence plutôt innovante. "Nous avons utilisé des microorganismes qui mangent toutes les crasses sans endommager le marbre", explique Monica Bietti, directrice honoraire des Chapelles des Médicis. Un gel contenant des bactéries a été appliqué sur les statues, mais aussi sur un tombeau qui présentait des taches sombres, reliques de l'histoire tragique des Médicis. Cette méthode novatrice est née dans un laboratoire de Rome dans lequel une équipe de chercheuses travaille depuis 15 ans sur l'utilisation des microorganismes dans le domaine de la restauration d'œuvres d'art. Ces bactéries n'occasionnent pas de dégâts aux œuvres, contrairement aux produits nettoyants non sélectifs. "Les bactéries, elles, sont extrêmement sélectives", explique C. Alisi, chercheuse au sein du laboratoire environnement et climat (ENEA).

Pour la restauration des statues de Michel-Ange, les bactéries ont donc été choisies pour dégrader des restes de cire, de colle et des résidus humains. "C'est une bactérie '*Serratia ficaria SH7*', isolée dans une mine en Sardaigne. Elle est capable de digérer les résidus d'origine organique", détaille la scientifique. "Et à Florence, nous les avons appliquées après les avoir affamées."

Le laboratoire a accumulé une banque unique en son genre : 1500 souches de bactéries non-pathogènes, d'enzymes ou de champignons dorment dans des congélateurs à -80 °C. Si les résultats sur le marbre sont convaincants, les bactéries seront bientôt testées sur une œuvre en bois. Et si la technique s'avère efficace, son usage pourrait être rapidement étendu. Actuellement, "les restaurateurs utilisent des solvants qui sont hautement toxiques pour eux", explique M. Romagnoli, professeure de technologie du bois à l'Université de la Tuscia, à Viterbe. "Adopter des techniques de ce genre signifie aussi la création d'une nouvelle filière de la restauration plus écologique", s'enthousiasme donc la spécialiste.