Bac Sciences et Technologies de Laboratoire

SUJET D'EXAMEN (SESSION OFFICIELLE)

Biochimie, biologie et biotechnologies - Session 2022

Sujet de l'examen national tel que publié pour la session indiquée. Source : sujets nationaux publiés par le ministère chargé de l'examen et les services académiques. Document mis à disposition par FormaV pour la révision.

Toutes les annales et leurs corrigés : https://bacstl.fr/annales-sujets-et-corriges

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2022

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

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 collège » est autorisé.

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce document comporte 13 pages numérotées de 1/13 à 13/13.

Le candidat traite les questions selon les consignes en page 2.

Choix laissés aux candidats
Session 2022

L'évaluation porte sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.
Les questions du sujet mobilisent ces compétences et permettent de les évaluer.
Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter est proposé au candidat.

Compétence *C1 :
Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par un astérisque **Q1*, Q11*, Q14* et Q17***.

Compétence C2 :
Les questions **Q2, Q4 et Q16** sont obligatoires.

Compétence **C3 :
Le candidat choisit quatre questions parmi les cinq questions identifiées par deux astérisques **Q5**, Q8**, Q9**, Q13** et Q15****.

Compétence ***C4 :
Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par trois astérisques **Q3***, Q6***, Q7*** et Q10****.

Compétence C5 :
Les questions **Q12 et Q18** sont obligatoires.

Les astérisques identifient les compétences pour lesquelles un choix est proposé au candidat dans le tableau ci-dessous et chaque question concernée dans le sujet.

COMPÉTENCES ÉVALUÉES					
***C1**	**C2**	****C3**	*****C4**	**C5**	**C6**
Analyser un document scientifique ou technologique	Effectuer des calculs nécessaires pour exploiter les documents	Interpréter des données de biochimie, de biologie ou de biotechnologie	Argumenter pour étayer un raisonnement scientifique	Rédiger ou élaborer une synthèse en mobilisant les concepts scientifiques et technologiques	Communiquer à l'écrit à l'aide d'une syntaxe claire et d'un vocabulaire scientifique ou technologique adapté
3 points	**3 point**	**5 points**	**3 points**	**5 points**	**1 point**

BACTÉRIE PRÉDATRICE : UN BIOAGENT ANTIMICROBIEN

Les bactéries prédatrices sont présentes principalement dans les sols, les eaux fluviales ou le tube digestif des mammifères, où elles participent à la régulation des populations bactériennes. Par leur capacité à détruire d'autres bactéries, ces agents biologiques constituent une alternative prometteuse à l'utilisation d'antibiotiques et ouvrent la voie à des applications dans les domaines de la médecine et des biotechnologies.
Ceci est en partie le cas pour un groupe remarquable de prédateurs bactériens nommé *Bdellovibrio* et organismes apparentés, connu sous l'acronyme anglo-saxon BALOs pour *Bdellovibrio And Like Organisms.*

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

Cette étude a pour objet de présenter les propriétés antibactériennes de *Bdellovibrio bacteriovorus* et ses applications potentielles.

- Dans un premier temps, la voie de prédation est caractérisée et les conditions d'une application thérapeutique de cette prédation sont envisagées.
- Dans un second temps, les molécules sécrétées par *B. bacteriovorus* sont mises en évidence en vue d'une utilisation pour la désinfection du matériel médical.

1. UTILISATION DES BALOs PAR ACTION DIRECTE À DES FINS THÉRAPEUTIQUES

Chez les microorganismes, la prédation par action directe est une forme de parasitisme.

1.1 Étude du spectre de prédation de *B. bacteriovorus*

Le but de l'étude est de déterminer le spectre d'action de *B. bacteriovorus* dans le cadre d'une activité de prédation.
Le **document 1** présente le cycle de prédation de *B. bacteriovorus.*

Q1*. C1 Montrer que la bactérie *B. bacteriovorus* est un parasite.

Le **document 2** présente les courbes de croissance d'une bactérie à Gram positif, *Staphylococcus aureus,* en présence ou en absence de prédateur *B. bacteriovorus*.

Q2. C2 Argumenter le choix d'une représentation semi-logarithmique et estimer approximativement le temps de génération.

Q3*.** C4 Argumenter le fait que la bactérie Gram positif, *Staphylococcus aureus,* est résistante à l'action de *B. bacteriovorus.*

Le **document 3** présente une expérience de prédation de *B. bacteriovorus* réalisée sur six souches bactériennes Gram négatif.
Un test appelé « contrôle de prédation » est réalisé avec *A. baumanii*, bactérie Gram négatif pour laquelle *B. bacteriovorus* est une bactérie prédatrice.

Q4. C2 Établir les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques pour déterminer la concentration bactérienne de l'espèce *A. baumanii* à partir des atténuances fournies dans le **document 3**. Calculer le facteur de diminution de la concentration bactérienne en présence de *B. bacteriovorus*, considéré comme étant le facteur de diminution maximal.

Une procédure opératoire identique est réalisée sur cinq autres souches de bactéries Gram négatif.

Q5.** **C3** Analyser les résultats pour montrer l'effet de *B. bacteriovorus* sur la croissance des bactéries Gram négatif testées.

Q6*.** **C4** Formuler, à l'aide de l'ensemble des expériences effectuées, une hypothèse sur le spectre de prédation par action directe des bactéries BALOs.

1.2 Recherche d'une immunité spécifique contre les BALOs

Certaines bactéries pathogènes peuvent devenir résistantes à l'action des antibiotiques. Les BALOs pourraient être utilisées comme bioagent antimicrobien pour éliminer ces bactéries par attaque directe. Pour cela, il faut vérifier que les BALOs ne sont pas immunogènes.

Afin d'estimer l'immunité développée contre les BALOs dans la population humaine, les anticorps anti-BALOs ont été dosés dans 25 sérums d'individus ayant été en contact avec ces bactéries. La procédure opératoire et les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Parallèlement à la recherche d'anticorps anti-BALOs, les anticorps dirigés contre la toxine tétanique sont également dosés. En effet, cette toxine est immunogène et utilisée pour la vaccination anti-tétanique qui est obligatoire.

Q7*.** **C4** Proposer une explication à la présence d'anticorps anti-tétaniques dans les 25 sérums testés.

Q8.** **C3** Représenter, en utilisant les symboles du **document 4**, l'édifice moléculaire obtenu à l'issue de la technique ELISA dans chacune des deux cupules pour un sérum contenant des anticorps anti-BALOs.

Q9.** **C3** Analyser les résultats obtenus afin de conclure sur l'immunogénicité des BALOs.

Q10*.** **C4** En s'appuyant sur l'ensemble des résultats, émettre une hypothèse sur la possibilité d'utiliser les BALOs comme alternative à l'utilisation d'antibiotiques.

2. ACTIVITE ANTIBACTÉRIENNE DES BALOs PAR ACTION INDIRECTE

En milieu hospitalier, les biofilms se formant sur du matériel médical ont été identifiés comme des sources potentielles d'infection nosocomiale. Un biofilm est une communauté complexe de microorganismes se développant dans une matrice. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles ou d'échapper à des attaques antimicrobiennes.
Le traitement du matériel médical par des produits antibactériens détruisant ces biofilms est donc nécessaire. Les molécules sécrétées par les BALOs sont testées pour leur action dirigée contre les biofilms.

2.1 Étude de la dégradation d'un biofilm de Staphylococcus aureus soumis aux BALOs

Le **document 5** présente la quantification d'un biofilm formé par la bactérie *Staphylococcus aureus* soumis à la présence de molécules sécrétées par la bactérie prédatrice *B. bacteriovorus*.

Q11*. **C1** Analyser le document pour en déduire l'effet des molécules secrétées par *B. bacteriovorus* sur le biofilm bactérien.

Q12. **C5** Comparer les procédures opératoires des expériences présentées dans les **documents 2 et 5** pour préciser l'action de *B. bacteriovorus* sur la bactérie *Staphylococcus aureus*.

2.2 Caractérisation des molécules de *B.bacteriovorus* actives sur des biofilms bactériens

Les biofilms bactériens sont attachés aux surfaces grâce à une matrice polymérique extracellulaire composée notamment de protéines et de glucides.
Après culture de *B. bacteriovorus*, le surnageant a été récupéré et purifié pour obtenir deux fractions protéiques. L'activité protéasique de ces fractions a été testée. Les résultats sont présentés dans le **document 6**.

Q13.** **C3** Valider la procédure opératoire réalisée à l'aide des deux témoins.

Q14*. **C1** Analyser les résultats obtenus avec les fractions protéiques 1 et 2 pour conclure sur l'activité protéasique de chaque extrait.

Q15.** **C3** Proposer une hypothèse quant à l'effet des fractions protéiques sur le biofilm.

Les vitesses initiales d'hydrolyse sont déterminées selon la procédure présentée dans le **document 7**.

Q16. **C2** Établir les équations aux unités et aux valeurs numériques afin de calculer la valeur de la vitesse initiale d'hydrolyse pour la fraction protéique 1.

Q17*. **C1** Identifier la fraction protéique la plus adaptée pour lutter contre les biofilms bactériens, en expliquant la démarche suivie.

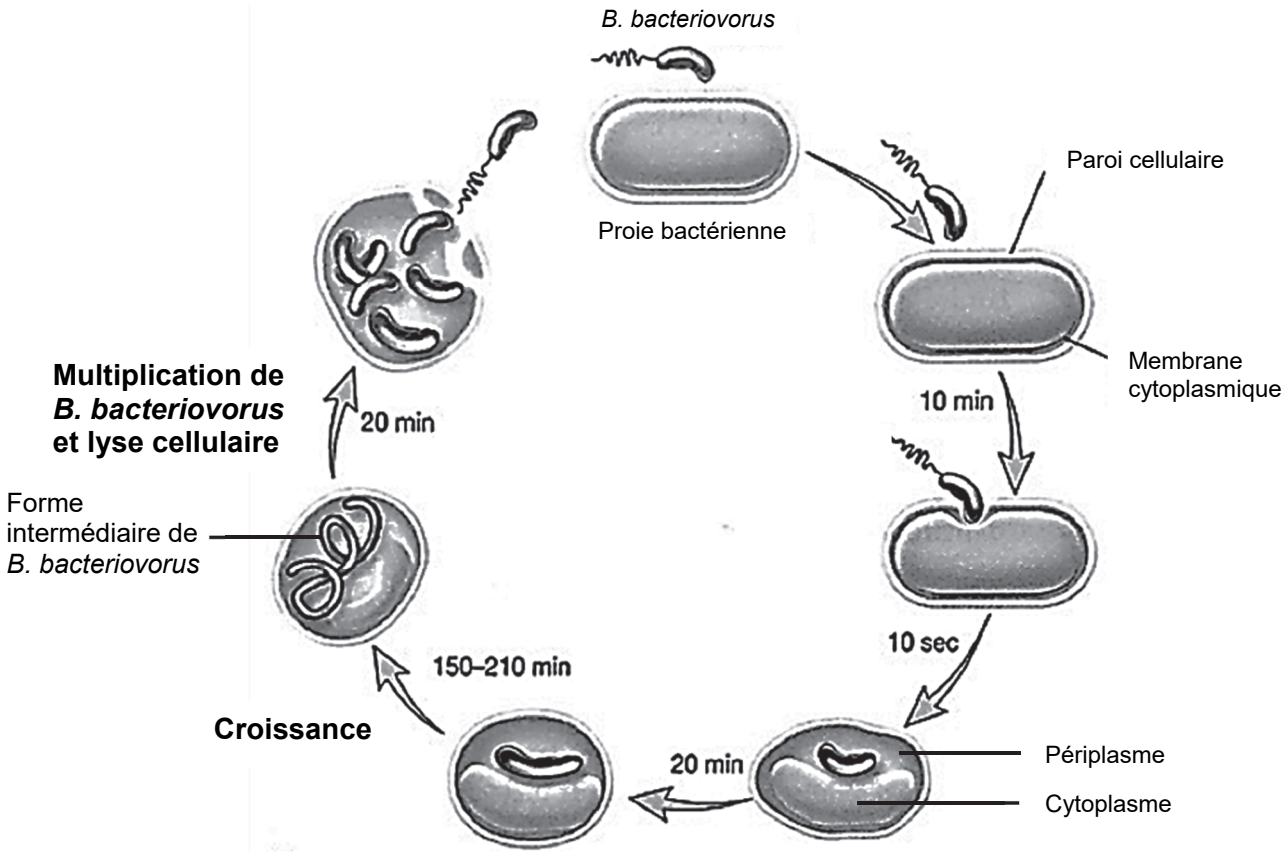
Partie 2 – Question de synthèse (durée indicative 30 min)

Divers essais chez l'animal et dans la filière agroalimentaire confirment l'intérêt des bactéries prédatrices comme bioagents antibactériens. Néanmoins, des études cliniques chez l'être humain restent nécessaires pour envisager leur utilisation thérapeutique.
D'autres stratégies non médicamenteuses pour remédier à la résistance aux antibiotiques sont utilisées, comme les bactériophages.
Le **document 8** présente des extraits d'articles concernant une stratégie thérapeutique utilisant des bactériophages contre des bactéries pathogènes et la mise sur le marché d'un traitement phagique.

Q18. **C5** Argumenter en faveur et en défaveur de l'utilisation des phages comme traitement thérapeutique antibactérien.

DOCUMENT 1 : Cycle biologique de prédation endobiotique de *Bdellovibrio bacteriovorus*

Adapté de Prescott, Willey, Sherwood, Woolverton : Microbiologie, 4ème édition.



DOCUMENT 2 : Courbe de croissance de *Staphylococcus aureus* en présence ou en absence de *B. bacteriovorus*

Adapté de Monnappa, A., et al. Sci Rep 4, 3811 (2014).

a - Procédure opératoire

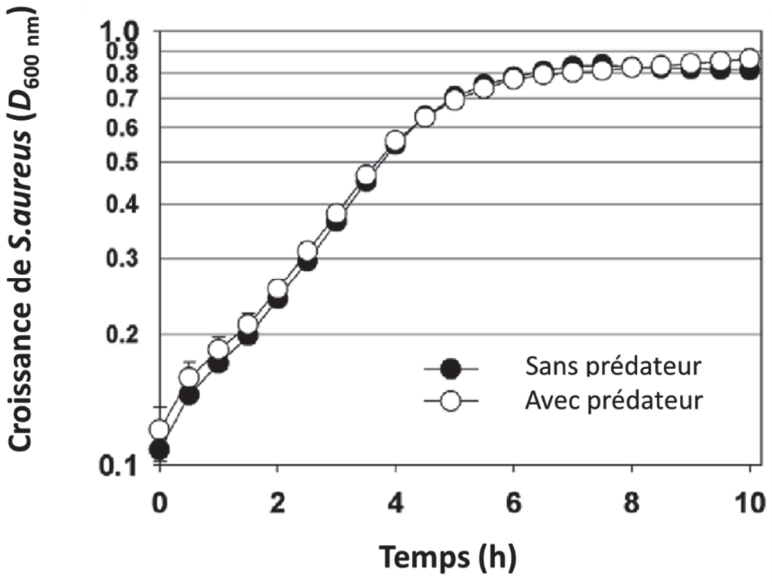
- Croissance sans prédateur : on introduit 0,5 mL d'une préculture de *S.aureus* dans 4,5 mL de milieu de culture.
- Croissance avec prédateur : on introduit 0,5 mL d'une préculture de *S.aureus* et 0,5 mL de la souche prédatrice *B.bacteriovorus* HD100 dans 4 mL de milieu de culture.

Les milieux ensemencés sont incubés 10 h à 30 °C sous agitation.

L'atténuance de chaque culture est mesurée au cours du temps par spectrophotométrie à 600 nm.

b - Résultats

L'axe des ordonnées est en échelle logarithmique.



DOCUMENT 3 : Étude de l'action prédatrice de *B.bacteriovorus*
*Adapté de Monnappa, A., et al. Sci Rep **4,** 3811 (2014).*

a - Procédure opératoire de la mise en œuvre de la prédation par *B. bacteriovorus*

On introduit 0,5 mL d'une préculture de bactérie-cible dans 4 mL de milieu de culture. Le milieu ensemencé est incubé 4 h à 30 °C sous agitation.
Un volume de 0,5 mL de la souche prédatrice *B. bacteriovorus* HD100 est additionné à la culture qui est incubée 8 h supplémentaires.
L'atténuance de la culture est mesurée par un spectrophotomètre à 600 nm.
Un témoin de croissance sans prédateur est réalisé dans les mêmes conditions opératoires.

b - Résultats expérimentaux obtenus pour le contrôle de prédation sur *A. baumanii*

	Croissance sans prédateur	**Croissance + prédateur *B. bacteriovorus***
***D* (600 nm)**	0,700	0,124
$C_{N\ (A.\ baumanii\ ;\ milieu)}$ **(cellules·mL^{-1})**	$8{,}4 \cdot 10^8$	*À déterminer*

Données :
Pour une suspension homogène d'*A. baumanii*, dont l'atténuance à 600 nm est comprise entre 0,050 et 0,800, on estime qu'une unité d'atténuance est égale à $1{,}2 \cdot 10^9$ cellules·mL^{-1}.
On considère que la bactérie *B. bacteriovorus* a un effet de prédation dès lors que la concentration de bactéries est diminuée d'un facteur 2 à l'issue de la mise en œuvre de la procédure opératoire.

c - Résultats expérimentaux obtenus pour le test de prédation sur cinq bactéries Gram négatif

Souches bactériennes Gram négatif	$C_{N\ (bactéries\ ;\ milieu)}$ **(cellules·mL^{-1})**	
	Croissance sans prédateur	**Croissance + prédateur *B. bacteriovorus***
Salmonella enterica	$4{,}4 \cdot 10^8$	$2{,}2 \cdot 10^8$
Yersinia bercovieri	$4{,}7 \cdot 10^8$	$2{,}3 \cdot 10^8$
Yersinia enterocolitica	$4{,}6 \cdot 10^8$	$2{,}3 \cdot 10^8$
Yersinia pseudotuberculosis	$6{,}9 \cdot 10^8$	$3{,}4 \cdot 10^8$
Yersinia rohdei	$5{,}2 \cdot 10^8$	$2{,}2 \cdot 10^8$

DOCUMENT 4 : Dosage des anticorps circulant anti-BALOs dans 25 sérums humains par technique ELISA

Adapté de Raghunathan, D., et al. Sci Rep 9, 4293 (2019)

Le but de l'expérience est de déterminer si les BALOs sont immunogènes. Pour cela, le dosage des anticorps dirigés contre *B. bacteriovorus* éventuellement présents dans le sang est réalisé par méthode ELISA.

a - Procédure opératoire

Sélectionner les antigènes à fixer à la surface de chacune des cupules.

Dans chacune des cupules :

1e étape : Fixation des antigènes sur la cupule

- Déposer 50 µL de solution d'antigène dans la cupule et incuber 24 h.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.

2e étape : Dosage des anticorps

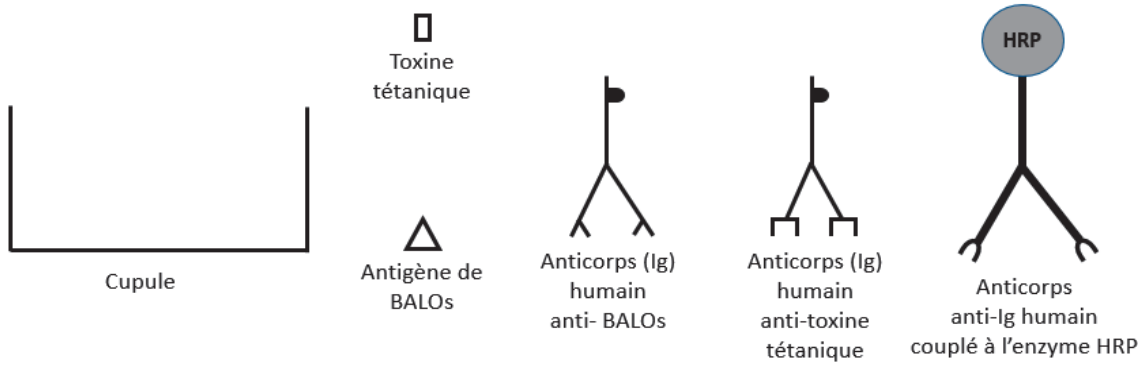
- Ajouter 50 µL de sérum humain dilué au 1/100e en PBS-SAB 1 %.
- Incuber 1,5 h à température ambiante.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.
- Ajouter l'anticorps dirigé contre les immunoglobulines (Ig) humaines, conjugué à l'enzyme HRP dilué au 1/30000e.
- Incuber pendant 1,5 h à température ambiante.
- Laver les cupules 3 fois au PBS-Tween 0,1 %.
- Ajouter le substrat de l'enzyme (TMB).
- Incuber 15 min à température ambiante.
- Ajouter une solution de H_2SO_4 à 1 mol·L^{-1}.
- Lire l'absorbance à 450 nm.

b - Résultats

Antigènes utilisés	Lysat de BALOs	Toxine tétanique
Concentration en anticorps circulants dans 25 sérums humains (µg·mL^{-1})	8	51

Seuil de positivité : 1 µg·mL^{-1}

c - Symboles pouvant être utilisés pour schématiser les édifices moléculaires



DOCUMENT 5 : Effet des molécules sécrétées de *B. bacteriovorus* sur la dégradation d'un biofilm bactérien

*D'après Monnappa, A., et al. Sci Rep **4,** 3811 (2014).*

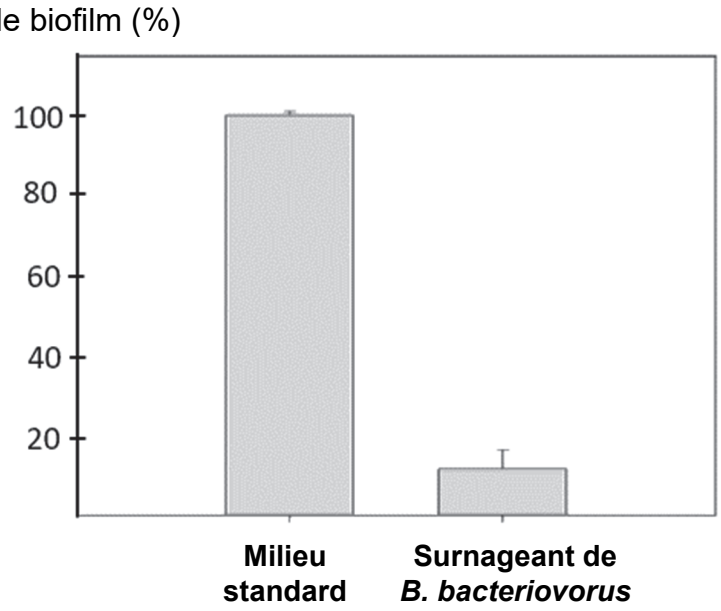
a - Procédure opératoire :

Sur un biofilm de *Staphylococcus aureus* préformé, on fait agir pendant 24 h :

- un milieu de culture standard ("Milieu standard") ;
- ou le surnageant d'une culture de *B. bacteriovorus* (« surnageant de *B. bacteriovorus* ») ne contenant pas de bactéries.

Le biofilm est ensuite coloré au cristal violet. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 560 nm, reflète la quantité de biofilm.

b - Résultats



DOCUMENT 6 : Mise en évidence des propriétés protéasiques des fractions protéiques

*Adapté de Monnappa, A., et al. Sci Rep **4,** 3811 (2014).*

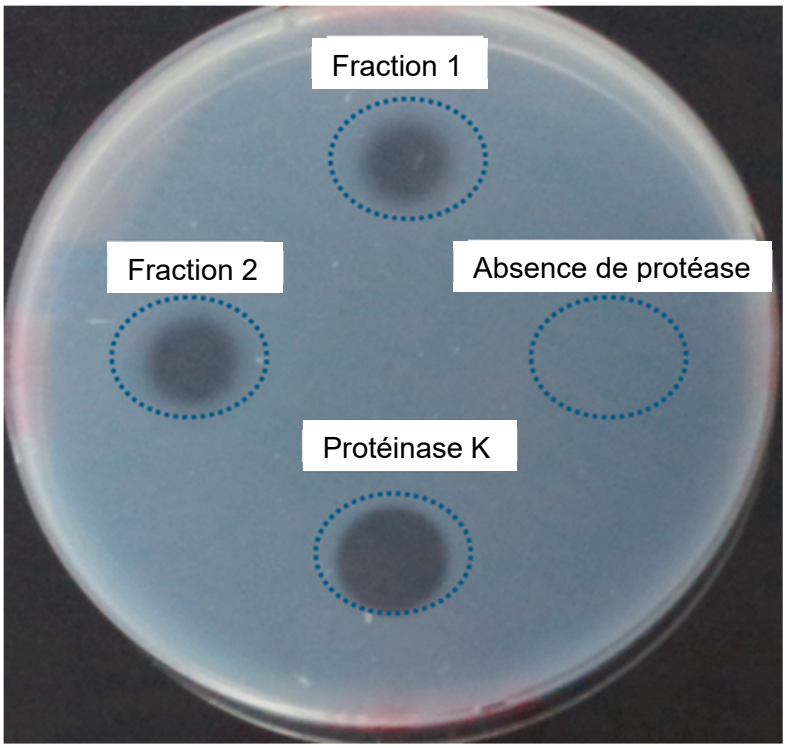
L'activité des protéases est visualisée sur une gélose composée de 1 % d'agar et 1 % de lait écrémé riche en protéines. La dégradation des protéines se traduit par une disparition locale du trouble au niveau de la zone de dépôt.

Quatre extraits différents sont déposés à la surface d'une gélose au lait :

- Fraction 1 purifiée.
- Fraction 2 purifiée.
- Protéinase K : enzyme de référence hydrolysant les protéines du lait.
- Extrait sans protéase.

La gélose est incubée 24 h à 37 °C.

Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :



DOCUMENT 7 : Détermination des vitesses initiales enzymatiques par la méthode au L-BAPNA

a - Principe

L'activité enzymatique d'une protéase est mesurée par une méthode cinétique en utilisant un substrat chromogène le L-BAPNA (N-benzoyl-arginyl-Lparanitroanilide). Ce substrat est hydrolysé par la protéase selon la réaction suivante :

L-BAPNA + H_20 → L-BA + PNA

Le PNA étant coloré en jaune, son apparition peut être suivie par spectrophotométrie à 405 nm.

b - Procédure opératoire

Réactifs	Cuve essai
L-BAPNA à 1,25 mmol·L^{-1}	1,5 mL
Tampon Tris	0,5 mL
Préincuber à 30 °C pendant 5 minutes	
Régler le zéro du spectrophotomètre thermostaté à 30 °C sur la cuve essai Déclencher la réaction par ajout de la solution de protéase	
Solution de protéase	0,05 mL
Lire les absorbances à 405 nm toutes les 30 secondes pendant 3 minutes	

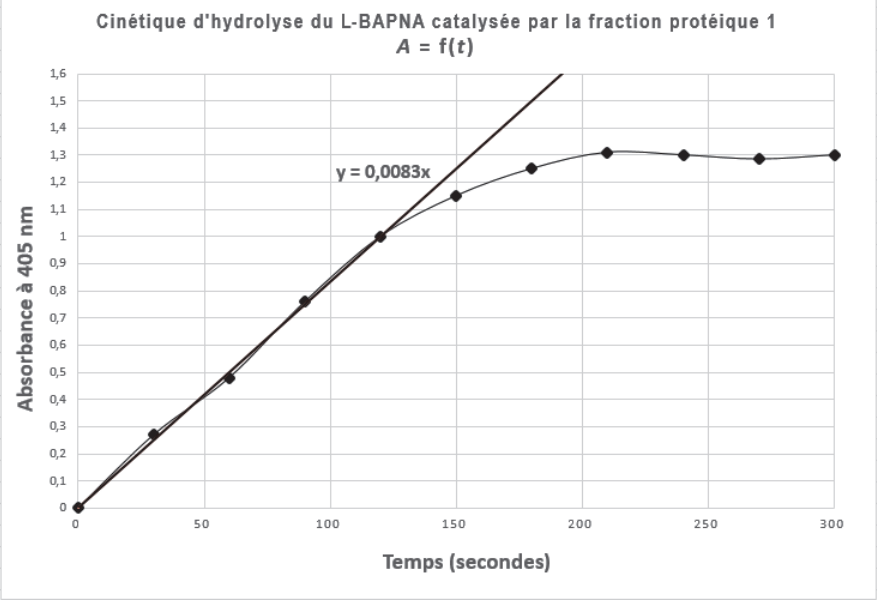
Équation aux grandeurs $v_i = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{\text{PNA à 405 nm}} \times \text{l}}$

avec Longueur des cuves : l = 1 cm

Coefficient d'extinction molaire du PNA à 405 nm : $\varepsilon_{\text{PNA à 405 nm}}$ = 1100 L·mol^{-1}·cm^{-1}

Coefficient directeur de la droite de régression en s^{-1} : $\frac{\Delta A}{\Delta t}$

c - Résultats



La valeur de la vitesse initiale d'hydrolyse pour la fraction protéique 2 est de **3,24·10^{-6} mol·L^{-1}·s^{-1}**.

DOCUMENT 8 : Extraits d'articles concernant les thérapies antibactériennes

La phagothérapie : médecine d'hier et de demain

Extrait de la note du Sénat n° 24 du mois de mars 2021, Mme Catherine Procaccia.

Les bactériophages, ou "phages", sont les virus naturels des bactéries : ils sont capables de les infecter et de s'y multiplier jusqu'à les tuer, rendant envisageable leur utilisation pour le traitement d'infections bactériennes. Connus notamment en France depuis un siècle, les phages ont rencontré un bref succès avant d'être supplantés par les antibiotiques, plus faciles d'emploi, moins coûteux et capables de cibler un large éventail de bactéries, alors que les phages sont très spécifiques de leur bactérie-cible. […]

La phagothérapie présente théoriquement de nombreux avantages :

- un traitement rapide puisqu'une seule dose peut suffire à détruire une colonie de bactéries ;
- l'absence d'effets secondaires, dans la mesure où la destruction des bactéries-cibles fait aussi disparaître les phages, une fois l'infection bactérienne traitée ;
- une thérapie très ciblée, les phages ne s'attaquant qu'aux bactéries-cibles et ne modifiant pas l'ensemble du microbiome du patient.

Les bactéries résistantes aux antibiotiques

Extrait de la note d'analyse n°299 de Novembre 2012, www.strategie.gouv.fr

Face à l'augmentation des infections à bactéries mutirésistantes, l'intérêt pour les phages se renouvelle ces dernières années. De plus en plus d'études sont menées chez l'animal (en préclinique) et démontrent généralement l'efficacité et l'innocuité de la phagothérapie.

Forts de ces résultats, des essais cliniques se développent chez l'humain, visant à évaluer cette thérapie avec la rigueur des procédures sanitaires actuelles. Trois essais cliniques contrôlés chez l'humain ont été menés jusqu'à présent […]. Dans les trois cas, les traitements se sont révélés efficaces et sans danger, encourageant la poursuite des essais cliniques.

Le développement de ces essais se heurte cependant à des obstacles majeurs : la difficulté de financement en l'absence d'investissement des grands industriels pharmaceutiques et un cadre réglementaire peu clair et inadapté à la phagothérapie. En effet, la législation européenne actuelle inclut les phages dans les médicaments, impliquant de suivre les procédures d'autorisation de mise sur le marché (AMM), longues et coûteuses. Les procédures d'AMM actuelles ne sont adaptées ni au développement "industriel" de cocktails de phages préparés à l'avance, ni à une approche "sur-mesure" à petite échelle, qui consiste à isoler et préparer (en quelques semaines) un phage spécifique de la bactérie du patient. En effet, les procédures d'AMM qui sont conçues pour des médicaments […] ne permettent pas la mise à jour régulière des cocktails de phages que l'on doit adapter en fonction des bactéries […].

Comment se décide une autorisation de mise sur le marché (AMM) ?

Communication du LEEM (les entreprises du médicament) du 24/11/2017

L'AMM est la garantie que le médicament possède un profil de qualité, de sécurité et d'efficacité satisfaisant et qu'il peut être mis à disposition dans des conditions d'utilisations précises.

Le dossier d'AMM comporte plusieurs parties […] :

- La partie Qualité renseigne tous les aspects liés à la fabrication industrielle du médicament : principalement la production des matières premières, du produit fini et les procédures de contrôle mises en place pour garantir une parfaite reproductibilité du procédé de fabrication.
- La partie Sécurité compile les études conduites lors du développement préclinique, c'est-à-dire les données de comportement *in vivo* dans l'organisme non humain du médicament : pharmacologie, toxicologie et pharmacocinétique principalement.
- La partie Efficacité correspond à l'ensemble des résultats des études cliniques, menées sur l'être humain, personne saine et ou malade, qui permettent de définir les conditions exactes de l'utilisation du médicament et d'établir le rapport bénéfice / risque.