

---

---

**ANNALES  
2022**

---

---

**BACCALAURÉAT  
SCIENCES  
ET TECHNOLOGIES  
DE LABORATOIRE**

**SPÉCIALITÉ  
« BIOTECHNOLOGIES »**

---

---

Éditions UPBM-ÉDILION

Les annales du baccalauréat technologique de **Sciences et Technologies de Laboratoire** spécialité **Biotechnologies Session 2022** ont été réalisées par **Catherine Bardiaux**, professeure au Lycée H. d'Urfé, Saint Étienne.

Merci à **Yannick Chapuis** et à **Olivier Bleuez** (professeurs au Lycée H. d'Urfé, Saint Étienne), pour les corrections des épreuves de spécialité de Sciences Physiques et Mathématiques.

La distribution des annales est assurée par l'équipe pédagogique de Biotechnologies du Lycée Dautry (Limoges).

Des erreurs se sont, sans aucun doute, glissées dans les textes. Veuillez-nous en excuser et n'hésitez pas à nous les signaler. Des correctifs pourront alors être diffusés sur le site UPBM (<http://www.upbm.org>).

### **Illustration de couverture :**

Antibiogramme par la méthode de diffusion.

Comparaison de deux méthodes de détermination de la CMI de l'Ampicilline :

- détermination indirecte de la CMI par la méthode standardisée par l'EUCAST\* utilisant un disque imprégné avec une concentration standard en antibiotique ;
- détermination directe de la CMI par utilisation d'une bandelette contenant un gradient prédéfini et continu de 15 concentrations d'antibiotique.

Photo de **Cédric Civel**, réalisée dans le cadre d'une activité technologique de BTS ABM (deuxième année).

\*EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**Illustration de quatrième de couverture :** Symbole représentant au niveau mondial la lutte contre la menace liée à la résistance aux antibiotiques, créé lors d'un concours lancé en 2020, à l'occasion de la célébration de la journée européenne d'information sur les antibiotiques (EAAD) à Stockholm, action conjointe européenne sur la résistance aux antimicrobiens et les infections liées aux soins (EU-JAMRAI).

Le symbole représente deux cœurs, rouge et blanc qui en s'assemblant, forment des capsules d'antibiotiques et/ou un pansement. Tout le monde peut fabriquer et porter ce symbole afin de sensibiliser à la cause de la résistance aux antibiotiques.



<https://eu-jamrai.eu/antibiotic-resistance-symbol/>

---

**Éditions UPBM – ÉDILION Lycée La Martinière – Duchère**

**Avenue Andreï Sakharov – 69338 LYON Cedex 9**

## TABLE DES MATIÈRES

<b>RÈGLEMENT DU BACCALAURÉAT</b> .....	4
<b>COEFFICIENTS ET DURÉES DES ÉPREUVES</b> .....	4
ÉPREUVES TERMINALES POUR LA SESSION DU BAC 2023 .....	4
CONTRÔLE CONTINU POUR LA SESSION DU BAC 2023.....	5
RÉPARTITION DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC À PARTIR DE LA SESSION 2023 (source UPBM).....	5
CALENDRIER DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC À PARTIR DE LA SESSION 2023 (source UPBM).....	6
<b>ARRÊTÉS ET NOTES DE SERVICE</b> .....	6
ÉPREUVES TERMINALES.....	6
CONTRÔLE CONTINU .....	6
ATTESTATION DE LANGUES VIVANTES EN FIN DE CYCLE TERMINAL.....	7
LIVRET SCOLAIRE.....	7
ÉPREUVES DU SECOND GROUPE .....	7
MENTIONS .....	8
ÉPREUVES DE REMPLACEMENT (OU « ÉPREUVES DE SEPTEMBRE ») .....	8
<b>DÉFINITIONS DES ÉPREUVES DE LA SÉRIE STL</b> .....	8
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Biochimie-Biologie-Biotechnologie.....	8
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Physique Chimie et Mathématiques .....	11
DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Épreuve orale terminale du « Grand Oral » .....	13
<b>SUJETS DES ÉPREUVES ÉCRITES DE LA SESSION 2022</b> .....	16
PHILOSOPHIE Métropole - Réunion - Mayotte .....	16
PHILOSOPHIE Centres étrangers groupe 1 .....	18
PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES SUJET 1 – Métropole - MAI 2022 .....	20
PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES SUJET 2 – Mayotte – Amérique du Nord - Pays du groupe 1 .....	35
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 1 - SEPTEMBRE 2021.....	47
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 2 - SEPTEMBRE 2021.....	60
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 3 – Métropole - Antilles - Guyane - MAI 2022.....	71
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 4 – Polynésie – MAI 2022..	84
<b>BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES ECE</b> .....	94
SUJET 1.....	94
SUJET 2.....	104
SUJET 3.....	110
SUJET 4.....	119
<b>ÉPREUVES ORALES de contrôle du second groupe d'épreuves</b> .....	128
<b>ÉLÉMENTS DE CORRECTION</b> .....	132
SUJET 1 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES.....	133
SUJET 2 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES.....	141
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 1 – Septembre 2021.....	149
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 2 - Septembre 2021 .....	155
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 3 – Mét. Ant. G. Mai 2022 ..	161
BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES SUJET 4 – Polynésie Mai 2022 ....	169
<b>PUBLICATIONS DE L'UPBM</b> .....	176
<b>INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES</b> .....	177

## RÈGLEMENT DU BACCALAURÉAT

La liste des épreuves de la série STL, leurs coefficients, nature et durée sont fixés par :

- l'arrêté du 16 juillet 2018 relatif aux épreuves du baccalauréat technologique à compter de la session 2021 ;
- l'arrêté du 22 juillet 2019 relatif à la nature et à la durée des épreuves terminales du baccalauréat général et du baccalauréat technologique à compter de la session 2021.

Les tableaux pour la série STL (sciences et technologies de laboratoire) indiquent pour chaque épreuve à l'examen, son intitulé, sa nature, sa durée et son coefficient. Les chiffres placés à gauche des intitulés correspondent à la numérotation des épreuves pour l'inscription à l'examen.

L'évaluation au baccalauréat général et technologique repose sur des épreuves terminales (60 % de la note finale) et, pour les candidats scolarisés dans des établissements publics ou privés sous contrat, sur la prise en compte des résultats qu'ils ont obtenus dans les enseignements obligatoires ne faisant pas l'objet d'épreuves terminales en classes de première et de terminale (40 % de la note finale). Cette prise en compte du contrôle continu a pour objectif de valoriser le travail régulier des élèves et de limiter le nombre d'épreuves à la fin de l'année de terminale. Les candidats ne suivant aucune scolarité ainsi que ceux inscrits dans un établissement privé hors contrat ou au CNED en scolarité libre passent des évaluations ponctuelles en lieu et place de ce contrôle continu, dans les enseignements correspondants.

## COEFFICIENTS ET DURÉES DES ÉPREUVES

### ÉPREUVES TERMINALES POUR LA SESSION DU BAC 2023

Intitulé de l'épreuve	Coefficient	Nature de l'épreuve	Durée
<b>Épreuves anticipées</b>			
1. Français	5	écrite	4 h
2. Français	5	orale	20 min
<b>Épreuves finales</b>			
3. Philosophie	4	écrite	4 h
4. Épreuve orale terminale (Grand Oral)	14	orale	20 min
5. Épreuves de spécialité			
Biochimie biologie biotechnologie	16	écrite + pratique	3 h + 3 h
Physique-chimie et Mathématiques	16	écrite	3 h

## CONTRÔLE CONTINU POUR LA SESSION DU BAC 2023

Les 40 % de la note du baccalauréat évaluent les **enseignements obligatoires ne faisant pas l'objet d'épreuves terminales**. Ils sont calculés à partir des résultats obtenus en classe (moyenne des moyennes trimestrielles ou semestrielles de l'élève pour la classe de première et/ou de terminale) pendant les deux années du cycle terminal.

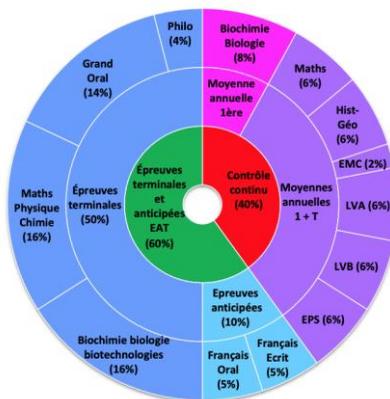
Enseignement	Coef. Première	Coef. Terminale	Coef. bac
Biochimie-Biologie	8	-	8
Mathématiques	3	3	6
Histoire-Géographie	3	3	6
EMC	1	1	2
Langue vivante A (dont ETLV) <sup>1</sup>	3	3	6
Langue vivante B	3	3	6
EPS	CCF <sup>2</sup>		6

<sup>1</sup> Dans la voie technologique, les élèves comptent au titre de leurs enseignements obligatoires un enseignement technologique en langue vivante (ETLV), qu'ils peuvent choisir de faire porter sur leur langue vivante A ou sur leur langue vivante B. La moyenne annuelle de leurs résultats en ETLV est intégrée au calcul de la moyenne annuelle dans la langue vivante concernée. La note attribuée à l'interrogation orale en ETLV est prise en compte sans pondération, dans le calcul de la moyenne de langue vivante concernée, pour la classe de terminale.

<sup>2</sup> moyenne des notes obtenues par l'élève aux évaluations certificatives prévues dans le cadre du contrôle en cours de formation (CCF).

## RÉPARTITION DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC À PARTIR DE LA SESSION 2023 (source UPBM)

[https://www.upbm.org/etablissements-formations/panorama-des-  
formations/formations-secondaires/677-bac-stl-biotechnologies](https://www.upbm.org/etablissements-formations/panorama-des-formations/formations-secondaires/677-bac-stl-biotechnologies) :



# CALENDRIER DES ÉPREUVES ET COEFFICIENTS DU BAC À PARTIR DE LA SESSION 2023 (source UPBM)

<https://www.upbm.org/etablissements-formations/panorama-des-formations/formations-secondaires/677-bac-stl-biotechnologies>

		Périodes d'évaluation						
		Classe de première STL-Biotech			Classe de terminale STL-Biotech			
		1 <sup>er</sup> trimestre	2 <sup>ème</sup> trimestre	3 <sup>ème</sup> trimestre	1 <sup>er</sup> trimestre	2 <sup>ème</sup> trimestre	3 <sup>ème</sup> trimestre	
Épreuves anticipées en 1 <sup>ère</sup> et finales en terminale	60 %	10 %	Français écrit et oral (2 x 5 %) (épreuves anticipées de 1 <sup>ère</sup> )					
		16 %	Physique Chimie Mathématiques					
		16 %	Biochimie Biologie Biotechnologies					
		4 %	Philosophie					
		14 %	Grand Oral = Épreuve orale terminale de 20 minutes préparée pendant le cycle terminal et portant sur un projet adossé à l'enseignement de spécialité Biochimie Biologie Biotechnologies					

## ARRÊTÉS ET NOTES DE SERVICE

### ÉPREUVES TERMINALES

#### Français (épreuve écrite et orale)

Note de service du 23-7-2020 (NOR : MENE2019442N), BO spécial n°6 du 31 juillet 2020.

#### Philosophie

Note de service n°2020-004 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Biochimie-Biologie-Biotechnologies

Note de service n°2020-014 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Physique-chimie et Mathématiques

Note de service n°2020-014 du 11 février 2020, BO spécial n°2 du 13 février 2020.

#### Épreuve orale terminale dite du Grand Oral

Note de service du 27-7-2021 (NOR : MENE2121379N), BO n°31 du 26 Août 2021.

### CONTRÔLE CONTINU

Arrêté du 16 juillet 2018 relatif aux modalités d'organisation du contrôle continu pour l'évaluation des enseignements dispensés dans les classes conduisant au baccalauréat général et au baccalauréat technologique.

Note de service du 28-7-2021 (NOR : MENE2121270N), BO n°30 du 29 juillet 2021.

## **ATTESTATION DE LANGUES VIVANTES EN FIN DE CYCLE TERMINAL**

Note de service du 28-7-2021 (NOR : MENE2121270N), BO n°30 du 29 juillet 2021

Chaque candidat au baccalauréat, quel que soit son statut, ses modalités de passation et le résultat obtenu à l'examen, bénéficie d'une attestation de langues vivantes. Cette attestation indique le niveau atteint par le candidat en langue vivante A et en langue vivante B, et précise ce niveau pour chacune des activités langagières, au regard du cadre européen commun de référence pour les langues (CECRL).

Le niveau indiqué dans l'attestation est déterminé par le résultat obtenu à une évaluation organisée par les professeurs de langue vivante A et de langue vivante B à l'intention de leurs élèves en fin de cycle terminal.

Cette évaluation comprend quatre parties, de poids égal dans le résultat global du candidat, visant à évaluer les quatre activités langagières définies par le CECRL. La partie dédiée à l'évaluation des compétences du candidat en expression orale en continu et en interaction prend la forme d'une interrogation orale.

Pour les candidats scolaires de la voie technologique, dans la langue vivante sur laquelle l'élève a choisi de faire porter l'enseignement technologique en langue vivante (ETLV), l'interrogation orale prévue pour l'évaluation des compétences du candidat en expression orale en continu et en interaction, porte sur cet enseignement.

### **LIVRET SCOLAIRE**

Arrêté du 04 mars 2020, BOEN n°18 du 30 avril 2020.

Le livret scolaire constitue un outil d'aide à la décision pour le jury du baccalauréat. Sa consultation a lieu lors des délibérations qui suivent le premier et le second groupe d'épreuve.

Les moyennes annuelles pour chaque enseignement renseignées dans le livret scolaire sont prises en compte, au titre du contrôle continu, dans la note du candidat à l'examen du baccalauréat.

### **ÉPREUVES DU SECOND GROUPE**

**(« oraux de rattrapage » ou « épreuves de contrôle »)**

Le second groupe d'épreuves auquel sont autorisés à se présenter les candidats ayant obtenu, à l'issue du premier groupe d'épreuves, une note moyenne au moins égale à 8 et inférieure à 10 est constitué d'épreuves orales de contrôle.

Après communication de ses notes, le candidat choisit deux disciplines au maximum parmi celles qui ont fait l'objet d'épreuves écrites obligatoires du premier groupe, anticipées ou non.

La note de chaque épreuve de contrôle est affectée du même coefficient que celui de l'épreuve correspondante du premier groupe. Seule la meilleure note obtenue par le candidat au premier ou au deuxième groupe d'épreuves est prise en compte par le jury. Le candidat est reçu s'il obtient au moins, à l'issue de ces oraux, une note moyenne de 10/20 à l'ensemble des épreuves. Un certificat de fin d'études secondaires (C.F.E.S.) est délivré aux candidats ajournés à l'issue des épreuves du second groupe.

## **MENTIONS**

Les mentions « assez bien » (AB), « bien » (B), « très bien » (TB) et « très bien avec les félicitations du jury » ne sont attribuées qu'aux candidats obtenant le baccalauréat au premier groupe d'épreuves, en fonction de la moyenne obtenue.

La règle est la suivante :

Mention AB : moyenne supérieure ou égale à 12 et inférieure à 14

Mention B : moyenne supérieure ou égale à 14 et inférieure à 16

Mention TB : moyenne supérieure ou égale à 16 et inférieure à 18 ;

Mention TB avec félicitations du jury : moyenne supérieure ou égale à 18.

## **ÉPREUVES DE REMPLACEMENT (OU « ÉPREUVES DE SEPTEMBRE »)**

Les candidats qui, pour cause de force majeure dûment constatée, n'ont pu passer, au cours ou à la fin de l'année scolaire, tout ou partie des épreuves terminales du premier groupe, pourront être autorisés par le recteur, à se présenter uniquement aux épreuves de remplacement organisées au début de l'année scolaire suivante (soit dès le mois de septembre suivant).

La session de remplacement ne comporte pas d'épreuves d'éducation physique et sportive, ni d'évaluations communes, ni d'épreuves ou parties d'épreuves organisées dans les établissements publics ou privés sous contrat en dehors de la session organisée à la fin de l'année scolaire.

## **DÉFINITIONS DES ÉPREUVES DE LA SÉRIE STL**

### **DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Biochimie-Biologie-Biotechnologie**

L'enseignement de biochimie-biologie-biotechnologie en classe de terminale s'ancre dans la démarche scientifique expérimentale au laboratoire et doit permettre d'acquérir les concepts clés scientifiques et technologiques en lien avec les activités expérimentales. Cette épreuve a pour objectif de valider la maîtrise des compétences scientifiques et technologiques acquises.

L'épreuve prend appui sur les programmes de biochimie-biologie et de biotechnologie de la classe de première définis dans l'arrêté du 17 janvier 2019 paru au BOEN spécial n° 1 du 22 janvier 2019 et sur le programme de biochimie-biologie-biotechnologie de la classe de terminale défini dans l'arrêté du 19 juillet 2019 paru au BOEN spécial n° 8 du 25 juillet 2019.

L'épreuve de Biochimie-biologie-biotechnologie comporte deux parties :

- une partie écrite, notée sur 20 points, coefficient 7 ;
- une partie pratique d'évaluation des compétences expérimentales, notée sur 20 points, coefficient 9.

### Partie écrite

Durée : 3 heures

Coefficient 7

#### Objectifs

L'épreuve permet d'évaluer l'ensemble des compétences scientifiques et technologiques et la maîtrise des concepts clés du programme en s'appuyant sur un contexte de biotechnologie.

Cette partie écrite de l'épreuve permet ainsi d'évaluer les compétences suivantes :

- **analyser un document** scientifique ou technologique pour en extraire les informations ou les concepts clés ;
- **effectuer les calculs** nécessaires à l'exploitation des documents ;
- **interpréter des données** de biochimie, de biologie ou de biotechnologie ;
- **argumenter** pour valider un choix technique, étayer un raisonnement scientifique ou répondre à une problématique de biotechnologie ;
- **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.

#### Structure

L'épreuve comporte deux parties.

**La première partie**, d'une durée indicative de 2 heures 30, se présente sous forme de questionnements scientifiques et technologiques en appui sur 6 à 9 documents d'une demi-page à une page maximum chacun. Les réponses permettent de mobiliser les savoir-faire et concepts-clés de biochimie, de biologie et de biotechnologie y compris des compétences mathématiques liées au traitement de données chiffrées expérimentales, en intégrant la dimension métrologique. Le questionnement conduit le candidat à analyser et interpréter des documents scientifiques et technologiques. L'énoncé amène le candidat à répondre à une problématique concernant l'application des propriétés du vivant dans un des domaines des biotechnologies.

**La deuxième partie**, d'une durée indicative de 30 minutes, se présente sous forme d'une question de synthèse qui permet d'évaluer la capacité à construire un raisonnement et à rédiger des arguments dans un paragraphe

court. La réflexion personnelle menée par le candidat peut être de nature scientifique ou technologique en lien avec la problématique étudiée dans la première partie. Cette synthèse peut également porter sur une question sociétale en lien avec la problématique de la première partie. Cette partie mobilise une réflexion critique ainsi que des capacités rédactionnelles et de synthèse, elle s'appuie éventuellement sur un document d'actualité.

## **Partie pratique d'évaluation des compétences expérimentales**

Durée : 3 heures

Coefficient 9

### **Objectifs**

L'épreuve permet d'évaluer le niveau de maîtrise des compétences expérimentales suivantes :

- **analyser une procédure opératoire pour identifier les sources d'erreurs**, de choisir le matériel adapté ;
- **analyser une procédure opératoire pour identifier les dangers**, évaluer les risques afin de choisir les mesures de prévention ;
- **réaliser chaque manipulation en autonomie**, en intégrant les mesures de prévention ;
- **effectuer les calculs et exploiter les indications** de mesure, à l'aide des outils numériques ;
- **exprimer les résultats expérimentaux** en intégrant la dimension métrologique ;
- **interpréter les observations** qualitatives ou les résultats quantitatifs.

### **Organisation**

Une banque nationale de supports d'évaluation des compétences expérimentales portant sur les acquis de l'ensemble du cycle terminal est constituée ; seize sujets sont retenus par session. En fonction des équipements disponibles dans les lycées, les sujets sont ensuite choisis en nombre nécessaire par l'établissement parmi les seize retenus pour la session.

La date de chaque sujet d'évaluation des compétences expérimentales est fixée par un calendrier national.

Le candidat tire au sort le jour et l'heure de son passage. Les sujets sont différents d'une demi-journée à l'autre.

Un examinateur évalue au maximum quatre candidats, et huit candidats au maximum sont évalués en parallèle dans un même laboratoire. L'examinateur ne peut pas examiner les candidats qui sont les élèves de sa classe de l'année en cours.

### **Évaluation**

Les professeurs examinateurs disposent d'une grille d'observation au nom de chaque candidat. Cette grille sert de support à l'évaluation du candidat. Elle porte la note qui lui est attribuée sur 20 points et un commentaire qualitatif.

## Épreuve orale de contrôle (oral second groupe)

Temps de préparation : 20 minutes

Durée : 20 minutes

(exposé 10 minutes suivi d'un entretien de 10 minutes avec le jury)

L'épreuve doit permettre d'évaluer la capacité du candidat à présenter à l'oral ses acquis scientifiques et technologiques. Elle a lieu dans un laboratoire de biotechnologies pour pouvoir interroger le candidat sur le choix et l'utilisation du matériel expérimental. Des résultats expérimentaux à exploiter, éventuellement à l'aide d'un calcul, peuvent également être proposés au candidat, sans qu'il ne réalise lui-même de manipulation.

Le candidat tire au sort un sujet portant sur le programme de spécialité de terminale, comportant une question scientifique et une question technologique liée aux activités expérimentales au laboratoire. Il les traite en s'appuyant sur un ou plusieurs documents, du matériel de laboratoire, et éventuellement des résultats expérimentaux.

### DÉFINITION DE L'ÉPREUVE : Physique Chimie et Mathématiques

#### Épreuve écrite

Durée : 3 heures

Coefficient 16

### Objectifs

L'épreuve permet d'évaluer l'acquisition par les candidats des notions, contenus, capacités exigibles et compétences figurant au programme de l'enseignement de spécialité de physique-chimie et mathématiques de la classe de première défini dans l'arrêté du 17 janvier 2019 paru au BOEN spécial n° 1 du 22 janvier 2019 et de la classe de terminale défini dans l'arrêté du 19 juillet 2019 paru au BOEN spécial n° 8 du 25 juillet 2019.

Les notions du programme de physique-chimie et mathématiques enseignées en classe de première et non approfondies en classe de terminale, ainsi que les contenus et capacités attendues figurant au programme de l'enseignement commun de mathématiques du cycle terminal, sont mobilisables.

L'épreuve permet d'évaluer le degré d'atteinte par les candidats des objectifs de formation suivants :

- **mobiliser ses connaissances** en situation ;
- **mettre en œuvre une démarche** de résolution de problème ;
- **mener des raisonnements** ;
- **analyser et exploiter des résultats** expérimentaux ;
- **avoir une attitude critique** face aux résultats obtenus ;
- **communiquer à l'écrit.**

## **Structure**

Le sujet comporte de trois à cinq exercices indépendants les uns des autres abordant des domaines différents du programme.

L'un au moins des exercices propose l'étude d'une situation où les mathématiques et la physique-chimie interagissent et se complètent pour apporter chacune son éclairage. Les autres exercices permettent d'évaluer les connaissances et les compétences propres à chacune des disciplines qui composent l'enseignement de spécialité de physique-chimie et mathématiques.

Les sujets traités en physique-chimie lors de cette épreuve portent sur des situations contextualisées en prenant appui sur des applications scientifiques et technologiques contemporaines ; à ce titre, ils peuvent contenir en nombre limité des documents à analyser ou des données expérimentales à exploiter.

Les sujets traités en mathématiques peuvent porter sur des situations contextualisées ou sur des situations internes aux mathématiques.

Le sujet précise si l'usage de la calculatrice, dans les conditions précisées par les textes en vigueur, est autorisé.

## **Notation**

Cette épreuve est notée sur 20 points. Le barème est construit de manière à attribuer 6 points à l'évaluation des compétences propres aux mathématiques et 14 points pour celles propres à la physique-chimie.

L'épreuve est corrigée par un professeur de mathématiques pour les compétences propres aux mathématiques et un professeur de physique-chimie pour les compétences propres à la physique-chimie.

## **Épreuve orale de contrôle (oral second groupe)**

Temps de préparation : 30 minutes      Durée : 30 minutes

L'épreuve consiste en un entretien entre le candidat et deux examinateurs, un professeur de physique-chimie et un professeur de mathématiques.

Le candidat tire au sort un sujet comportant trois questions : deux questions portent la totalité de la partie de physique-chimie du programme du cycle terminal et une question sur la totalité de la partie de mathématiques du programme du cycle terminal. Les exercices permettent d'évaluer sa capacité à mobiliser ses connaissances en situation et son aptitude à raisonner, démontrer, calculer, argumenter, analyser des résultats expérimentaux et exercer son esprit critique.

Cette épreuve a lieu dans une salle comportant du matériel de physique-chimie afin que des questions puissent être posées sur le matériel expérimental et son utilisation, sans que le candidat soit conduit à manipuler.

En cas de besoin, un moyen de calcul (calculatrice ou ordinateur) est fourni au candidat.

**DÉFINITION DE L'ÉPREUVE :**  
**Épreuve orale terminale dite épreuve du « Grand Oral »**

Durée : 20 min préparation + 20 min épreuve

Coefficient : 14

**Finalité de l'épreuve**

L'épreuve permet au candidat de montrer sa capacité à prendre la parole en public de façon claire et convaincante. Elle lui permet aussi de mettre les savoirs qu'il a acquis, particulièrement dans ses enseignements de spécialité, au service d'une argumentation, et de montrer comment ces savoirs ont nourri son projet de poursuite d'études, voire son projet professionnel.

**Évaluation de l'épreuve**

L'épreuve est notée sur 20 points.

Le jury valorise la solidité des connaissances du candidat, sa capacité à argumenter et à relier les savoirs, son esprit critique, la précision de son expression, la clarté de son propos, son engagement dans sa parole, sa force de conviction.

**Format et déroulement de l'épreuve**

**Premier temps : présentation d'une question (5 minutes)**

Au début de l'épreuve, le candidat présente au jury deux questions.

Ces questions s'appuient sur l'enseignement de spécialité pour lequel le programme prévoit la réalisation d'une étude approfondie. Les candidats scolarisés peuvent avoir préparé cette étude individuellement ou avec d'autres élèves. Cette étude approfondie correspond, dans certaines séries, au projet réalisé pendant l'année.

Les questions présentées par le candidat lui permettent de construire une argumentation pour définir les enjeux de son étude, la mettre en perspective, analyser la démarche engagée au service de sa réalisation ou expliciter la stratégie adoptée et les choix opérés en termes d'outils et de méthodes.

Les questions sont transmises au jury par le candidat sur une feuille, signée par le professeur de la spécialité concernée et portant le cachet de l'établissement d'origine du candidat.

Le jury choisit une des deux questions. Le candidat dispose de 20 minutes de préparation pour mettre en ordre ses idées et réaliser, s'il le souhaite, un support. Pour son exposé, le candidat dispose du support qu'il a préparé.

Le candidat explique pourquoi il a choisi de préparer cette question pendant sa formation, puis il la développe et y répond.

Le jury évalue les capacités argumentatives et les qualités oratoires du candidat.

### **Deuxième temps : échange avec le candidat (10 min)**

Le jury interroge ensuite le candidat pour l'amener à préciser et à approfondir sa pensée. Cette interrogation peut porter sur toute partie du programme du cycle terminal des enseignements de spécialité de la série dans laquelle le candidat est inscrit, en lien avec le premier temps de l'épreuve qui lui-même s'adosse à ces enseignements.

Ce temps d'échange permet d'évaluer la solidité des connaissances du candidat et ses capacités argumentatives.

### **Troisième temps : échange sur le projet d'orientation du candidat (5 min)**

Le candidat explique en quoi la question traitée éclaire son projet de poursuite d'études, voire son projet professionnel. Il expose les différentes étapes de la maturation de son projet (rencontres, engagements, stages, mobilité internationale, intérêt pour les enseignements communs, choix de ses spécialités, etc.) et la manière dont il souhaite le mener après le baccalauréat.

Le jury mesure la capacité du candidat à conduire et exprimer une réflexion personnelle témoignant de sa curiosité intellectuelle et de son aptitude à exprimer ses motivations.

Le candidat effectue sa présentation du premier temps debout, sauf aménagements pour les candidats à besoins spécifiques. Pour les deuxième et troisième temps de l'épreuve, le candidat est assis ou debout selon son choix.

### **Composition du jury**

Le jury est composé de deux professeurs de disciplines différentes, dont l'un représente l'enseignement de spécialité du candidat pour lequel le programme prévoit la réalisation d'un projet propre à la série, et l'autre représente un autre enseignement de la série (enseignement de spécialité ou l'un des enseignements communs), ou est professeur-documentaliste. Ils contribuent ensemble à l'évaluation globale du candidat.

# SUJETS

# 2022

# SUJETS DES ÉPREUVES ÉCRITES DE LA SESSION 2022

## PHILOSOPHIE MÉTROPOLE - RÉUNION - MAYOTTE

*Durée : 4 heures – Coefficient 2*

*Le candidat devait traiter l'un des trois sujets suivants, au choix.*

### Sujet 1

La liberté consiste-t-elle à n'obéir à personne ?

### Sujet 2

Est-il juste de défendre ses droits par tous les moyens ?

### Sujet 3

**Expliquer le texte suivant :**

Si je pouvais m'assurer qu'un témoin a bien vu, et qu'il a voulu me dire vrai, son témoignage pour moi deviendrait infaillible<sup>1</sup> : ce n'est qu'à proportion des degrés de cette double assurance que croît<sup>2</sup> ma persuasion ; elle ne s'élèvera jamais jusqu'à une pleine démonstration, tant que le témoignage sera unique, et que je considérerai le témoin en particulier ; parce que quelques connaissances que j'ai du cœur humain, je ne le connaîtrai jamais assez parfaitement pour en deviner les divers caprices, et tous les ressorts mystérieux qui le font mouvoir. Mais ce que je chercherais en vain dans un témoignage, je le trouve dans le concours de plusieurs témoignages, parce que l'humanité s'y peint ; je puis<sup>3</sup>, en conséquence des lois que suivent les esprits, assurer que la seule vérité a pu réunir tant de personnes, dont les intérêts sont si divers, et les passions si opposées. L'erreur a différentes formes, selon le tour d'esprit des hommes, selon les préjugés de religion et d'éducation dans lesquels ils sont nourris : si donc je les vois, malgré cette prodigieuse variété de préjugés qui différencient si fort les nations, se réunir dans la déposition d'un même fait, je ne dois nullement douter de sa réalité. Plus vous me prouvez que les passions qui gouvernent les hommes sont bizarres, capricieuses, et déraisonnables, plus vous serez éloquents à m'exagérer la multiplicité d'erreurs que font naître tant de préjugés différents ; et plus vous me confirmerez, à votre grand étonnement, dans la persuasion où je suis, qu'il n'y a que la vérité qui puisse faire parler de la même manière tant d'hommes d'un caractère opposé.

DIDEROT, *Encyclopédie* (1751-1772).

---

<sup>1</sup> « infaillible » : absolument certain

<sup>2</sup> « croît » : augmente

<sup>3</sup> « je puis » : je peux

### *Rédaction de la copie*

*Le candidat a le choix entre deux manières de rédiger l'explication de texte. Il peut :*

- soit répondre dans l'ordre, de manière précise et développée, aux questions posées (option n°1);*
- soit suivre le développement de son choix (option n°2).*

*Il indique son option de rédaction (option n°1 ou option n°2) au début de sa copie.*

## **Questions de l'option n°1**

### **A. Éléments d'analyse :**

Que désigne la « double assurance » ? En quoi permet-elle d'augmenter la persuasion ?

Pourquoi un seul témoignage ne suffit-il pas pour établir la vérité ?

Pourquoi l'erreur prend-elle différentes formes ?

Expliquez : « il n'y a que la vérité qui puisse faire parler de la même manière tant d'hommes d'un caractère opposé ».

### **B. Éléments de synthèse :**

1. Quelle est la question à laquelle l'auteur tente de répondre ici ?
2. Dégagez les différents moments de l'argumentation.
3. En vous appuyant sur les éléments précédents, dégagez l'idée principale du texte.

### **C. Commentaire :**

1. Qu'est-ce qui nous empêche de faire confiance à un témoin ?
2. Des témoignages concordants suffisent-ils à établir la vérité ?

# PHILOSOPHIE CENTRES ÉTRANGERS GROUPE 1

*Durée : 4 heures – Coefficient 2*

*Le candidat devait traiter l'un des trois sujets suivants, au choix.*

## **Sujet 1**

Faut-il préférer le naturel à l'artificiel ?

## **Sujet 2**

Suffit-il de connaître la vérité pour nous débarrasser de nos préjugés ?

## **Sujet 3**

### **Expliquer le texte suivant :**

Nous avons dit que les lois étaient des institutions particulières et précises du législateur ; et les mœurs<sup>1</sup> et les manières, des institutions de la nation en général. De là il suit que lorsqu'on veut changer les mœurs et les manières, il ne faut pas les changer par les lois : cela paraîtrait trop tyrannique ; il vaut mieux les changer par d'autres mœurs et d'autres manières.

Ainsi lorsqu'un prince veut faire de grands changements dans sa nation, il faut qu'il réforme par les lois ce qui est établi par les lois, et qu'il change par les manières ce qui est établi par les manières : et c'est une très mauvaise politique de changer par les lois ce qui doit être changé par les manières. La loi qui obligeait les Moscovites<sup>2</sup> à se faire couper la barbe et les habits, et la violence de Pierre I<sup>er</sup><sup>3</sup>, qui faisait tailler jusqu'aux genoux les longues robes de ceux qui entraient dans les villes, étaient tyranniques. Il y a des moyens pour empêcher les crimes : ce sont les peines ; il y en a pour faire changer les manières : ce sont les exemples.

MONTESQUIEU, *De l'Esprit des lois I* (1748).

---

<sup>1</sup> « mœurs » : habitudes, coutumes, manières de vivre

<sup>2</sup> « Moscovites » : habitants de Moscou

<sup>3</sup> « Pierre I<sup>er</sup> » : Empereur de Russie (1672-1725)

### *Rédaction de la copie*

*Le candidat a le choix entre deux manières de rédiger l'explication de texte. Il peut :*

*- soit répondre dans l'ordre, de manière précise et développée, aux questions posées (option n°1);*

*- soit suivre le développement de son choix (option n°2).*

*Il indique son option de rédaction (option n°1 ou option n°2) au début de sa copie.*

## **Questions de l'option n°1**

### **A. Éléments d'analyse :**

Montesquieu distingue le « législateur » de la « nation en général ». Comment expliquez-vous la différence entre les deux ?

Selon le texte, en quoi les lois de Pierre Ier en Russie sont-elles « tyranniques » ?

Quelle est la différence que le texte établit entre l'usage des « peines » et l'usage des « exemples » ? Expliquez en illustrant votre propos par des exemples précis.

### **B. Éléments de synthèse :**

1. Quelle est la question à laquelle l'auteur tente ici de répondre ?
2. Dégagez les différents moments de l'argumentation.
3. En vous appuyant sur les éléments précédents, dégagez l'idée principale du texte.

### **C. Commentaire :**

1. Diriez-vous, avec Montesquieu, que les manières de vivre ne doivent pas être changées par les lois ?
2. Sur quoi un changement des manières de vivre pourrait-il prendre appui ?

# PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES

## SUJET 1 – MÉTROPOLE - MAI 2022

Durée : 3 heures – Coefficient 16

L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collège », est autorisé.

PHYSIQUE-CHIMIE.....14/20 points  
MATHÉMATIQUES.....6/20 points

Le candidat devait être attentif aux consignes contenues dans le sujet pour traiter les quatre exercices.

### EXERCICE 1 commun à tous les candidats (4 points) (physique-chimie et mathématiques)

Lorsqu'un objet est lâché dans un fluide (air, eau, etc.), il subit, outre son poids et la poussée d'Archimède, des forces de frottement fluide. La modélisation de ces forces de frottement fluide conduit à considérer que :

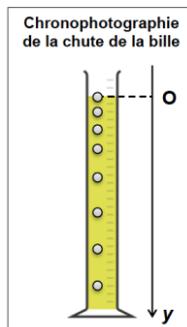
- lorsque la vitesse de l'objet  $v$  est « faible », l'intensité des forces de frottement fluide est proportionnelle à  $v$  ;
- lorsque la vitesse de l'objet  $v$  est « élevée », l'intensité des forces de frottement fluide est proportionnelle à  $v^2$ .

Dans cet exercice, on se propose d'étudier expérimentalement le modèle des forces de frottement fluide dans le cas des faibles vitesses.

#### Étude expérimentale

On filme, à l'aide d'une webcam réglée à 50 images par seconde, la chute d'une bille d'acier dans l'huile d'olive contenue dans une éprouvette graduée. La bille est lâchée sans vitesse initiale par un électroaimant dans le référentiel terrestre supposé galiléen.

La vidéo est ensuite analysée image par image à l'aide d'un logiciel approprié qui permet de repérer la position instantanée du centre G de la bille suivant un axe (Oy) vertical orienté vers le bas.



La vitesse instantanée à un instant  $t_i$  est alors approchée par la vitesse moyenne entre les instants  $t_i$  et  $t_{i+1}$ . L'évolution, au cours du temps, de la valeur expérimentale de la vitesse  $v$  de la bille est représentée sur le **document réponse DR1, à rendre avec la copie**.

Données :

Intensité de la pesanteur :  $g = 9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$

Masse de la bille :  $m = 4,1 \text{ g}$

Rayon de la bille :  $R = 5,0 \text{ mm}$

Masse volumique de l'huile à  $20^\circ\text{C}$  :  $\rho_{\text{huile}} = 920 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$

Viscosité de l'huile à  $20^\circ\text{C}$  :  $\eta = 0,39 \text{ Pa} \cdot \text{s}$

Volume d'une sphère :  $V = \frac{4}{3} \pi \times R^3$

1. Déterminer graphiquement, en ajoutant les traits de construction utiles sur le **document réponse DR1, à rendre avec la copie** :

- la valeur de la vitesse limite  $v_{\text{lim}}$  atteinte par la bille ;
- le temps caractéristique  $\tau$  d'évolution de la vitesse.

### Étude théorique du mouvement de la bille

On étudie le mouvement du système « bille », plongée dans l'huile, dans le référentiel terrestre supposé galiléen. Lors de sa chute, la bille est soumise à plusieurs actions mécaniques :

- son poids  $\vec{P}$  ;
- la poussée d'Archimède, notée  $\vec{\Pi}$ , de sens contraire à celui du poids et d'expression  $\vec{\Pi} = -\rho_{\text{huile}} \cdot V_{\text{im}} \cdot \vec{g}$  où  $\rho_{\text{huile}}$  est la masse volumique de l'huile en  $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $V_{\text{im}}$  le volume immergé de l'objet en  $\text{m}^3$  et  $g$  l'intensité de la pesanteur en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$  ;
- la force de frottement  $\vec{f}$  de l'huile sur la bille, que l'on suppose ici proportionnelle à la vitesse de chute de la bille avec  $\vec{f} = -6\pi \cdot \eta \cdot R \cdot \vec{v}$  où  $\eta$  est la viscosité de l'huile en  $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ,  $R$  le rayon de la bille en  $\text{m}$  et  $v$  la vitesse de la bille en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ .

2. Écrire l'expression vectorielle de la seconde loi de Newton appliquée au système « bille ».

3. Par projection de l'expression vectorielle de la seconde loi de Newton sur l'axe  $(Oy)$ , établir l'équation différentielle vérifiée par la vitesse  $v$  de la bille. Écrire cette équation différentielle sous la forme  $\frac{dv}{dt} = A \times v + B$  et exprimer les coefficients  $A$  et  $B$  en fonction de  $m$ ,  $g$ ,  $\rho_{\text{huile}}$ ,  $\eta$  et  $R$ .

**4.** À l'aide des données, poser explicitement les calculs qui permettraient de déterminer la valeur numérique du coefficient  $A$  en  $\text{s}^{-1}$  et celle du coefficient  $B$  en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ . Les applications numériques ne sont pas à réaliser.

Pour établir l'expression de la vitesse de la bille, les données physiques de l'expérience conduisent à résoudre l'équation différentielle (E) :

$$y' = -9y + 8,6.$$

**5.** Déterminer la fonction solution de l'équation différentielle (E) s'annulant en 0.

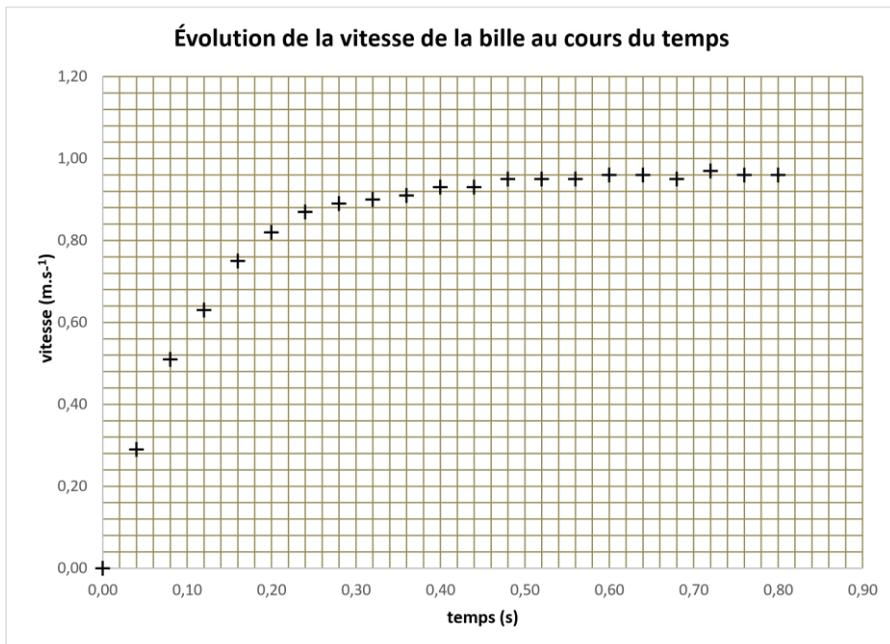
**6.** Montrer que la limite de  $0,96(1 - e^{-9t})$  lorsque  $t$  tend vers  $+\infty$  est égale à 0,96.

Dans le contexte de l'expérience, on prendra, pour exprimer la vitesse de la bille en fonction du temps  $t$ , la fonction  $v$  définie sur  $[0 ; 0,8]$  par  $v(t) = 0,96(1 - e^{-9t})$ . La vitesse de la bille est exprimée en  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$  et le temps  $t$  est exprimé en secondes.

**7.** Expliquer en quoi la comparaison de la valeur obtenue à la question 6 aux résultats de l'étude expérimentale fournit un argument en faveur du choix du modèle des forces de frottement fluide effectué en début d'exercice.

## Document réponse DR1 – EXERCICE 1 (question 1)

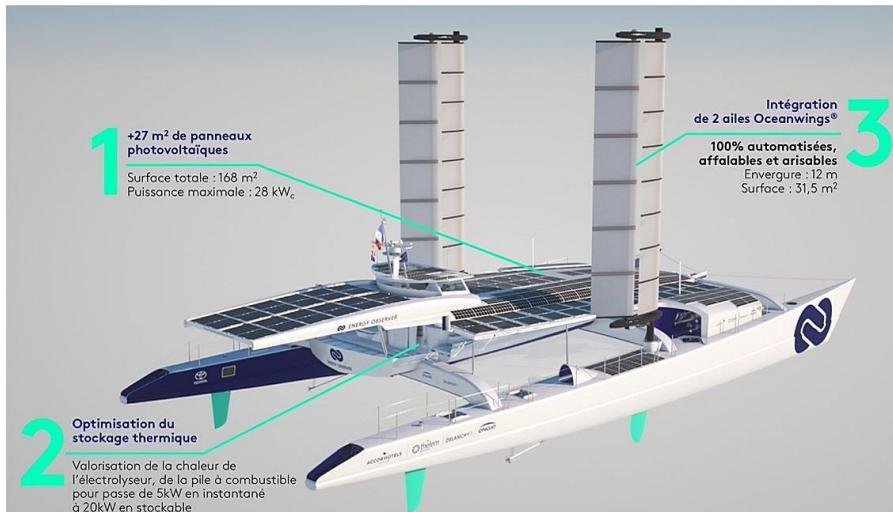
à compléter et à rendre avec la copie :



### EXERCICE 2 commun à tous les candidats (6 points) (physique-chimie)

Energy Observer est le premier navire à hydrogène autonome en énergie, sans émission de gaz à effet de serre ou de particules fines. Ce navire du futur à propulsion fonctionne avec trois sources d'énergie renouvelables (solaire, éolien et hydrien) et deux formes de stockage d'énergie (batteries pour le court terme et dihydrogène pour le long terme). Durant la journée, la propulsion du bateau est assurée grâce à l'énergie solaire. Dès que la nuit tombe et que les batteries atteignent environ 20 % de leur capacité, la pile à combustible démarre automatiquement afin de remonter leur niveau de charge. Cette opération peut être réalisée en moins de deux heures. Ainsi, la vitesse peut être maintenue et les pics de consommation nocturnes respectés (repas, vie à bord, envois de données, eau chaude produite avec la chaleur de la pile).

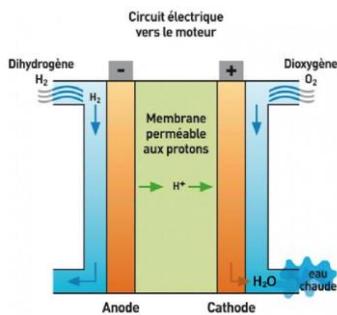
Huit réservoirs de 332 L permettent de stocker un total de 63 kg de dihydrogène, soit l'équivalent en énergie de 230 L d'essence. Ce volume total représente une énergie nette stockée de 1,0 MWh.



Source : d'après <https://www.energy-observer.org/fr/innovations/double-batteries-hydrogene>

Energy observer est équipé d'une pile à hydrogène. Une pile de ce type a été réalisée pour la première fois en laboratoire en 1839 par le britannique William Grove. Plus récemment, elle a été exploitée dans le cadre de la conquête spatiale (missions Apollo, etc.).

Il s'agit d'un générateur électrochimique permettant de transformer directement l'énergie chimique d'un combustible (le dihydrogène,  $H_2$ ) en énergie électrique.



La pile est constituée de deux électrodes (anode et cathode) séparées par une membrane qui bloque le passage des électrons mais laisse circuler les protons.

Source : d'après <https://www.reussir.fr/machinisme/la-pile-combustible-pour-sassurer-contre-les-microcoupures-deelectricite>

### Données :

Couples oxydant-réducteur :  $\text{H}^+_{(\text{aq})} / \text{H}_{2(\text{g})}$  et  $\text{O}_{2(\text{g})} / \text{H}_2\text{O}_{(\text{l})}$ .

Énergie chimique libérée par une mole de dihydrogène lors du fonctionnement de la pile à hydrogène :  $E = 2,4 \times 10^5 \text{ J}$ .

Masse molaire atomique de l'hydrogène :  $1,0 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

$1 \text{ Wh} = 3600 \text{ J}$ .

1. Compléter le schéma du **document réponse DR2, à rendre avec la copie**, en faisant figurer les formes d'énergie qui interviennent.
2. Écrire les équations des réactions électrochimiques ayant lieu à chacune des électrodes. Préciser pour chacune d'elles s'il s'agit d'une oxydation ou d'une réduction.
3. En déduire l'équation de la réaction d'oxydo-réduction modélisant le fonctionnement de la pile à hydrogène.
4. Expliquer en quoi cette pile est considérée comme non polluante.
5. Calculer la quantité de matière de dihydrogène disponible sur Energy Observer lorsque les réservoirs sont pleins.
6. En déduire l'énergie chimique disponible en J puis en Wh.
7. Le rendement de la pile étant égal à 46 %, calculer la quantité d'énergie électrique disponible pour recharger les batteries. Montrer que ce résultat est cohérent avec les indications du **texte de présentation**.

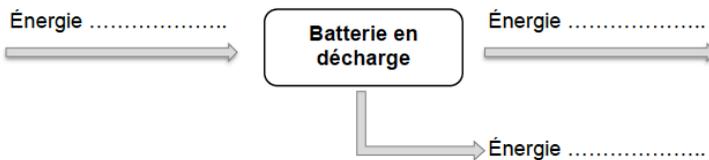
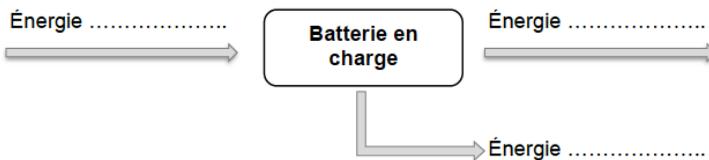
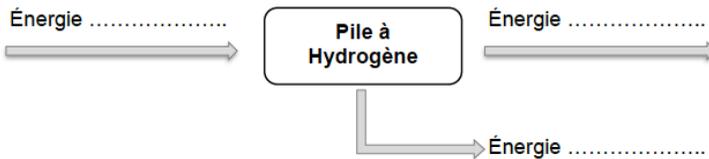
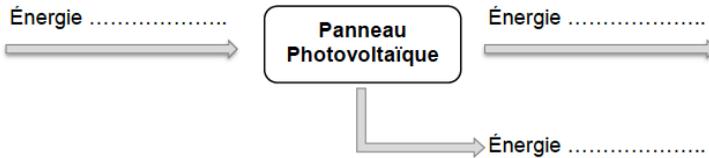
Lors de la traversée Nassau (Bahamas) - Fort de France (Martinique) du 15 au 28 juillet 2020, la pile à hydrogène a fourni une puissance moyenne électrique de 30 kW. La durée totale d'utilisation de la pile au cours de la traversée a été de 24 h. L'énergie électrique totale pouvant être délivrée par cette pile était de 1,0 MWh.

On considèrera dans cette question la pile comme un générateur idéal de tension.

8. Définir ce qu'est un générateur idéal de tension.
9. Calculer l'énergie électrique délivrée par la pile au cours de la traversée.
10. Montrer que l'autonomie de la pile était suffisante pour cette traversée.

**Document réponse DR2 – EXERCICE 2 (question 1) à compléter et à rendre avec la copie :**

Compléter le schéma, en faisant figurer les formes d'énergie qui interviennent (énergie chimique, énergie électrique, énergie lumineuse, énergie thermique).



### EXERCICE 3 commun à tous les candidats (4 points) (mathématiques)

Le sujet demandait le traitement de quatre questions au choix parmi les six questions proposées.

Les questions étaient indépendantes.

Chacune des questions était notée sur 1 point.

Traiter une question supplémentaire ne rapportait aucun point supplémentaire.

#### Question 1 :

Soit la fonction  $f$  définie et dérivable sur  $\mathbb{R}$  par

$$f(x) = (8x - 2)e^{-x}$$

On note  $f'$  sa fonction dérivée.

Déterminer  $f'(x)$  pour tout  $x \in \mathbb{R}$ .

#### Question 2 :

Soit la fonction  $f$  définie sur  $\mathbb{R}$  par

$$f(x) = (8x - 2)e^{-x}$$

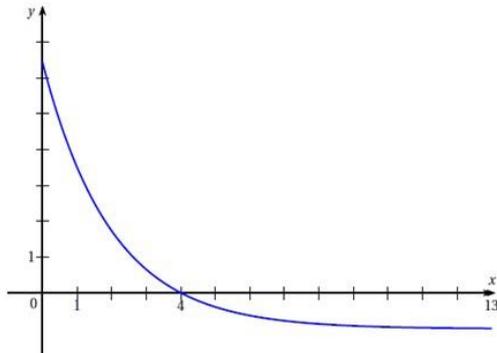
Résoudre  $f(x) = 0$ .

#### Question 3 :

On considère une fonction  $g$  définie et dérivable sur l'intervalle  $[0 ; 13]$ .

On note  $g'$  sa fonction dérivée.

On donne ci-dessous la courbe représentative de la fonction dérivée  $g'$  sur l'intervalle  $[0 ; 13]$ .



Julien affirme que la fonction  $g$  est décroissante sur l'intervalle  $[0 ; 13]$ . Julien a-t-il raison ? Justifier.

**Question 4 :**

Montrer que  $\frac{\ln(\sqrt{8})}{\ln(\sqrt{2})} = 3$ .

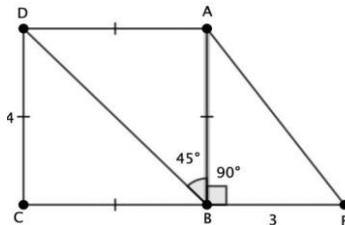
**Question 5 :**

Soit  $f$  la fonction définie et dérivable sur  $\mathbb{R}$  par  $f(x) = e^{6x} - 1$ .

Déterminer la limite de la fonction  $f$  lorsque  $x$  tend vers  $-\infty$ .

**Question 6 :**

ABCD est un carré de côté 4 et ABF est un triangle rectangle en B avec BF=3 comme indiqué sur la figure ci-dessous.



Donner la valeur du produit scalaire  $\vec{BF} \cdot \vec{BD}$

**EXERCICE 4 au choix du candidat (6 points)  
(physique-chimie)**

*Un des exercices : 4-A ou 4-B devait être traité au choix du candidat.*

**EXERCICE 4 A**

**Mots clés : cinétique chimique, réactions acido-basiques**

Apportée au sol, l'urée, de formule  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  doit être transformée en ions ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) puis en ions nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) avant que les plantes ne puissent l'absorber.

Les enzymes uréases du sol sont des vecteurs de ce processus qui comporte une étape d'hydrolyse.

Source : d'après <https://www.yara.fr/fertilisation/pur-nutriments/urease-inhibitors>

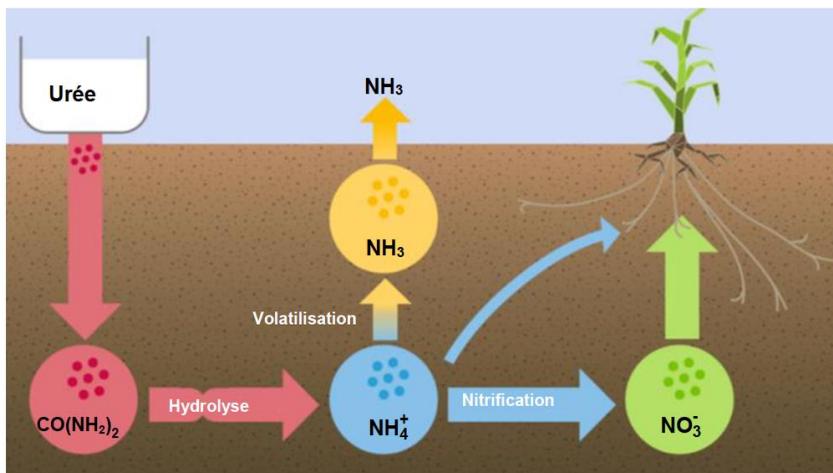
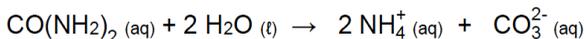


Schéma représentant le processus de transformation de l'urée dans le sol

Source : d'après <https://www.ufarevue.ch/fr/production-vegetale/la-bonne-forme-au-bon-moment>

La réaction d'hydrolyse de l'urée libère des ions ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et carbonate CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> selon l'équation suivante :



L'objectif de cet exercice est d'étudier la cinétique de cette réaction d'hydrolyse de l'urée. On réalise pour cela trois expériences de suivi cinétique de celle-ci, où l'eau est toujours en large excès.

Expérience	Concentration initiale en urée	Température
1	0,10 mol · L <sup>-1</sup>	75 °C
2	0,20 mol · L <sup>-1</sup>	75 °C
3	0,20 mol · L <sup>-1</sup>	95 °C

Les courbes tracées grâce à ces expériences sont présentées dans le **document réponse DR3, à rendre avec la copie.**

1. Définir le temps de demi-réaction.

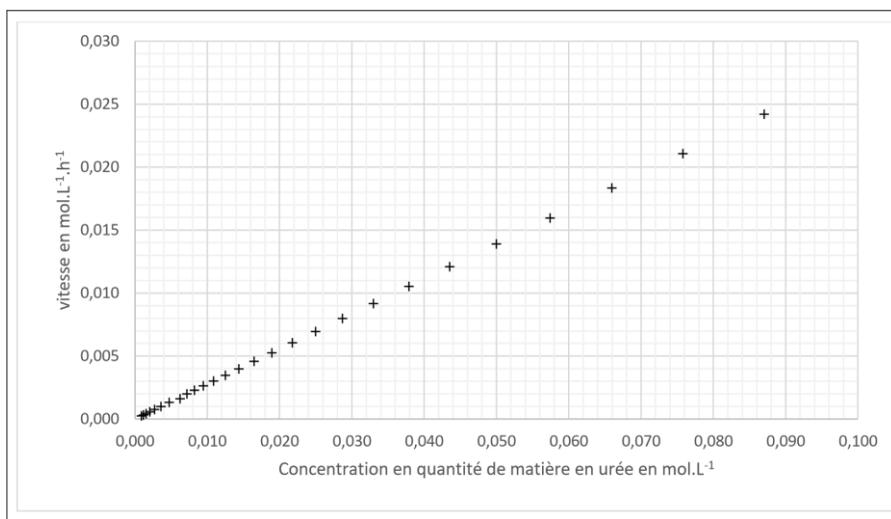
2. À l'aide des courbes du **document réponse DR3, à rendre avec la copie**, déterminer graphiquement la valeur du temps de demi-réaction pour chacune des trois expériences. Les traits de construction apparaîtront sur chaque courbe.

3. En déduire l'influence de la concentration initiale en urée sur la durée de la transformation chimique. Justifier.
4. À l'aide des résultats de la question 2, déterminer l'influence de la température sur la durée de la transformation chimique. Justifier.
5. Expliquer pourquoi la température peut être qualifiée de « facteur cinétique ».

On s'intéresse désormais **uniquement à l'expérience 1**.

6. Écrire la relation de définition de la vitesse de disparition de l'urée au cours du temps.

La courbe ci-dessous présente l'évolution de la vitesse de disparition de l'urée en fonction de la concentration en urée.



7. À l'aide de la courbe ci-dessus, montrer que la réaction d'hydrolyse de l'urée suit une loi de vitesse d'ordre 1 par rapport à l'urée.
8. À partir de la relation écrite à la **question 6**, établir la loi d'évolution de la concentration en urée au cours du temps en fonction de la constante de vitesse  $k$  et de la concentration initiale en urée notée  $[\text{urée}]_0$ .
9. Déterminer graphiquement la constante de vitesse  $k$  en  $\text{h}^{-1}$ .
10. On reproduit l'expérience 1 en présence d'une enzyme naturellement présente dans les sols : l'uréase. On détermine alors un temps de demi-réaction égal à  $2 \mu\text{s}$ . Indiquer le rôle joué par l'uréase. Expliquer la réponse.

La dissolution de granulés d'urée dans le sol entraîne localement une augmentation temporaire du  $pH$  du sol liée à la formation d'ions hydroxyde  $HO^-$ . L'ion ammonium, lié aux particules du sol, se transforme alors en ammoniac gazeux ( $NH_3$ ) qui s'échappe dans l'atmosphère, augmentant les pertes en élément azote par volatilisation (voir le **schéma représentant le processus de transformation de l'urée dans le sol**).

11. La transformation des ions ammonium  $NH_4^+$  en ammoniac gazeux  $NH_3$  fait intervenir les couples acide-base  $NH_4^+ / NH_3$  et  $H_2O / OH^-$ . Écrire les équations de réactions acido-basiques associées à chacun de ces deux couples acide-base.

12. En déduire l'équation de la réaction modélisant la transformation chimique entre les ions ammonium  $NH_4^+$  et les ions hydroxyde  $OH^-$ .

13. Justifier que cette réaction est bien une réaction acido-basique.

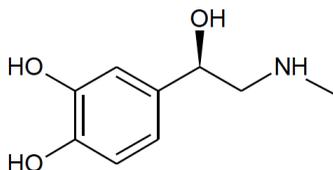
#### EXERCICE 4 B

##### Mots clés : structure spatiale des espèces chimiques, diagramme de prédominance

L'adrénaline est une hormone aussi appelée « épinéphrine » et principalement sécrétée par les glandes surrénales, situées au-dessus des reins. Elle est libérée dans le sang essentiellement en cas d'émotions intenses : la peur, la colère, le stress... C'est la raison pour laquelle elle est parfois surnommée « l'hormone des sensations fortes ». La présence de cette hormone dans le sang déclenche alors toute une série de réactions en chaîne. Les effets sont nombreux et très rapides : augmentation du rythme cardiaque et du pouls, élévation de la pression artérielle, dilatation des bronches et des pupilles, etc. Toutes ces manifestations n'ont qu'un seul but : nous rendre plus alerte et vigilant afin d'affronter le danger à venir.

Source : d'après Le journal des femmes

Formule topologique de la forme naturelle de l'adrénaline :



##### Données :

Numéros atomiques : H (Z = 1), C (Z = 6), N (Z = 7), O (Z = 8).

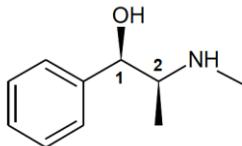
## Étude de la structure de l'adrénaline

1. Sur le **document réponse DR4, à rendre avec la copie**, entourer le groupe caractéristique correspondant à la fonction amine.
2. Sur le **document réponse DR4, à rendre avec la copie**, repérer par un astérisque le (ou les) carbone(s) asymétrique(s). Indiquer si cette molécule est chirale. Justifier.
3. Classer les groupes liés au(x) carbone(s) asymétrique(s) à l'aide des règles de Cahn, Ingold et Prelog en expliquant la démarche suivie.
4. En déduire la configuration absolue (R ou S) de la forme naturelle de la molécule d'adrénaline en expliquant la démarche suivie.
5. Représenter en perspective de Cram un stéréoisomère de la molécule d'adrénaline différent de celui de sa forme naturelle fournie sur la figure précédente. Préciser la relation d'isomérisie qui existe entre ces deux molécules.

## Étude de la structure et des propriétés acido-basiques de l'épinéphrine

La molécule d'éphédrine a une structure voisine de l'adrénaline dont elle renforce l'action.

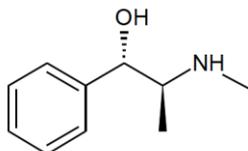
Formule topologique d'une forme naturelle de l'éphédrine (molécule E1) :



La configuration absolue de la molécule E1 est (1R, 2S).

Un stéréoisomère de la molécule E1 est représenté ci-dessous. Il sera noté molécule E2.

Molécule E2 :



6. Indiquer la configuration absolue de la molécule E2.
7. Nommer la relation de stéréoisomérisie existant entre la molécule E1 et la molécule E2. Justifier.

On note à présent B la molécule d'éphédrine et  $BH^+$  son acide conjugué.

Données :

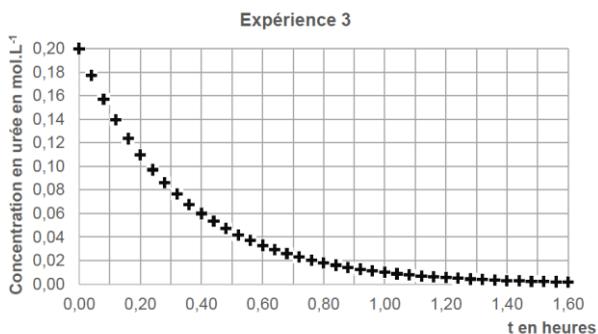
Le  $pK_a$  du couple  $BH^+ / B$  mettant en jeu l'éphédrine est égal à 9,65.

La valeur du  $pH$  du sang est comprise entre 7,32 et 7,42.

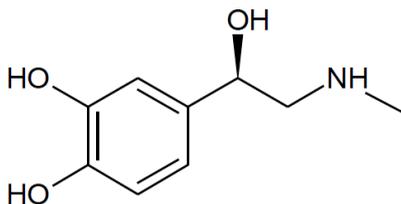
Couples acide-base de l'eau :  $H_3O^+ / H_2O$  et  $H_2O / HO^-$ .

8. Définir une base au sens de Brönsted.
9. Écrire l'équation de réaction de l'éphédrine avec l'eau.
10. Représenter le diagramme de prédominance du couple  $BH^+ / B$ .
11. Indiquer l'espèce prédominante du couple  $BH^+ / B$  dans le sang. Justifier la réponse.

**Document réponse DR3 – EXERCICE 4A (question 2) à compléter et à rendre avec la copie :**



**Document réponse DR3 – EXERCICE 4B (questions 1 et 2) à compléter et à rendre avec la copie :**



# PHYSIQUE CHIMIE, MATHÉMATIQUES

## SUJET 2 – MAYOTTE – AMÉRIQUE DU NORD - PAYS DU GROUPE 1

*Durée : 3 heures – Coefficient 16*  
*L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue », est autorisé.*

**PHYSIQUE-CHIMIE**.....14/20 points  
**MATHÉMATIQUES**.....6/20 points

*Le candidat devait être attentif aux consignes contenues dans le sujet pour traiter les quatre exercices.*

### **EXERCICE 1 commun à tous les candidats (4 points)** **(physique-chimie et mathématiques)**

Découverte en 1892 par S.E. Linder et H. Picton puis développée dans les années 1930 par le chimiste suédois Arne Tiselius (Prix Nobel de chimie en 1948), l'électrophorèse est, avec la chromatographie, la principale technique utilisée pour séparer ou caractériser les espèces ioniques d'intérêt biologique, comme les acides aminés.

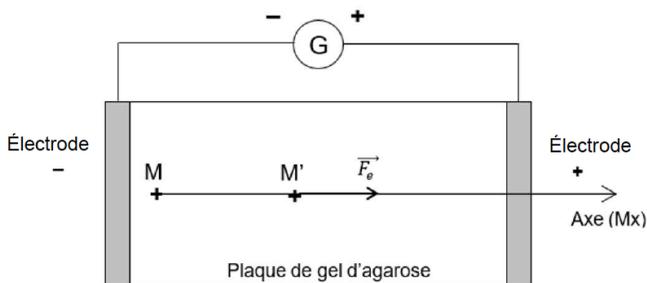


Réalisation d'une électrophorèse au laboratoire

L'objectif de cet exercice est de déterminer la durée de migration nécessaire pour séparer deux acides aminés, l'acide aspartique et l'acide glutamique, par électrophorèse.

#### **PARTIE A – Principe de l'électrophorèse**

Une goutte d'un mélange des deux acides aminés à séparer est déposée (point M de la figure ci-dessous) sur une plaque horizontale recouverte de gel d'agarose et soumise à un champ électrostatique, dont la norme est notée E.



Les acides aminés, sous forme anionique au pH imposé (ion aspartate et ion glutamate), migrent vers l'électrode positive sous l'effet de la force électrostatique, notée  $\vec{F}_e$  et représentée ci-dessus au point M'.

L'action du gel sur les molécules est modélisée par une force de frottement  $\vec{f}$ .

#### Données :

- masse d'un ion aspartate :  $m_{aspart} = 2,12 \times 10^{-25} \text{ kg}$  ;
- masse d'un ion glutamate :  $m_{glutam} = 2,43 \times 10^{-25} \text{ kg}$  ;
- norme de la force électrostatique subie par les ions aspartate et glutamate :  $F_e = e \times E$  avec

$E = 520 \text{ V} \cdot \text{m}^{-1}$  : intensité du champ électrostatique ;

$e = 1,6 \times 10^{-19} \text{ C}$  : valeur absolue de la charge portée par chaque anion d'acide aspartique ou d'acide glutamique.

- expression vectorielle de la force  $\vec{f}$  exercée par le gel :  $\vec{f} = -k \cdot \vec{v}$  avec
  - $k$  le coefficient caractéristique du constituant et du milieu dans lequel s'effectue la migration :
    - pour l'ion aspartate  $k_{aspart} = 2,7 \times 10^{-12} \text{ N} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-1}$  ;
    - pour l'ion glutamate  $k_{glutam} = 3,0 \times 10^{-12} \text{ N} \cdot \text{s} \cdot \text{m}^{-1}$  ;
  - $\vec{v}$  le vecteur vitesse de l'ion concerné.

**A.1.** En justifiant la réponse dans la copie, représenter sur le **DOCUMENT RÉPONSE DR1**, sans souci d'échelle, le vecteur force  $\vec{f}$  modélisant l'action du gel sur les anions au point M'.

**A.2.** Écrire la seconde loi de Newton pour un anion de masse  $m$  et l'appliquer dans le cas de l'électrophorèse considérée.

**A.3.** Projeter la relation vectorielle sur l'axe (Mx) et montrer que la valeur de la vitesse  $v$  de migration de l'anion considéré est solution de l'équation différentielle :

$$\frac{dv}{dt} + \frac{k}{m} \times v = \frac{e \times E}{m}$$

### **PARTIE B – Étude du mouvement de l'ion d'acide aspartique**

Par application numérique, l'équation différentielle ci-dessus peut s'écrire sous la forme :

$$v' = -1,3 \times 10^{13}v + 3,9 \times 10^8$$

où la vitesse  $v$  est exprimée en mètre par seconde ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ) et le temps  $t$  est exprimé en seconde (s).

**B.1.** Déterminer la solution générale  $v$  de cette équation différentielle définie sur  $[0 ; +\infty[$ .

**B.2.** Sachant que  $v(0) = 0$ , montrer que, pour tout  $t \in [0 ; +\infty[$ ,

$$v(t) = 3 \times 10^5(1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t})$$

**B.3.** Justifier que  $\lim_{t \rightarrow +\infty} v(t) = 3 \times 10^{-5}$ .

**B.4.** On note  $t_{90}$  l'instant exprimé en seconde pour lequel la vitesse atteint 90 % de sa vitesse limite. Montrer que  $t_{90} = 1,8 \times 10^{-13}$  arrondi à  $10^{-14}$ .

### **PARTIE C – Détermination de la durée de migration**

Les résultats précédents montrent que le régime stationnaire est atteint quasi instantanément, si bien que l'on peut considérer que les constituants du mélange se déplacent suivant un mouvement rectiligne uniforme avec une vitesse constante égale à :

$$v_{lim} = \frac{e \times E}{k}$$

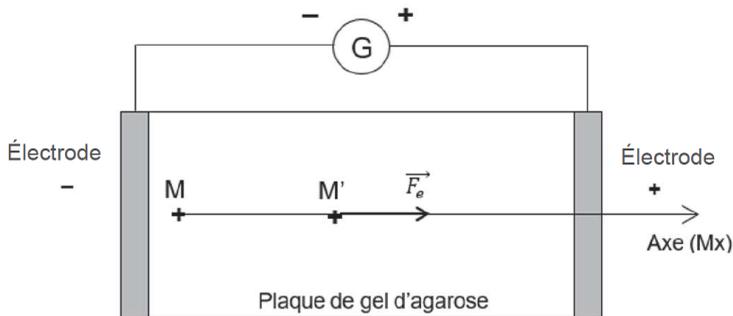
**C.1.** Comparer la vitesse limite de migration des ions glutamate et des ions aspartate.

En fin d'électrophorèse, les taches sont révélées sous lumière ultraviolette. On admet qu'une différence de distance de migration d'au moins 5 mm est nécessaire pour distinguer la tache associée au mouvement des ions glutamate et celle associée au mouvement des ions aspartate.

**C.2.** Déterminer la durée minimale de l'électrophorèse et les distances alors parcourues par les ions pour pouvoir distinguer les deux taches correctement. Commenter les valeurs obtenues.

**C.3.** Sur un schéma succinct de la plaque, positionner et identifier les taches obtenues après électrophorèse.

**Document réponse DR1 Principe de l'électrophorèse – EXERCICE 1 (question A1) à compléter et à rendre avec la copie :**



### EXERCICE 2 commun à tous les candidats (6 points) (physique-chimie)

**Donnée :** caractéristique d'un générateur de force électromotrice  $E$  et de résistance interne  $r$  :  $U_{PN} = E - rI$

#### PARTIE A – Étude énergétique

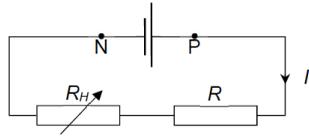
Une lampe de poche est alimentée par une pile plate modélisée par un générateur, de force électromotrice  $E = 4,7 \text{ V}$  et de résistance interne  $r = 1,3 \Omega$ . L'intensité du courant délivré par la pile est  $I = 0,31 \text{ A}$ .

1. Calculer l'énergie électrique, notée  $E_{\text{elec}}$ , reçue par la lampe si elle est allumée pendant deux minutes.
2. Calculer la valeur de l'énergie, notée  $E_{\text{diss}}$ , dissipée par effet Joule à l'intérieur de la pile, pendant deux minutes.
3. Identifier une conséquence physique liée à l'existence d'une dissipation d'énergie par effet Joule à l'intérieur de la pile.

## PARTIE B – Détermination expérimentale de la valeur de la résistance interne

On se propose de déterminer expérimentalement la valeur de la résistance interne d'une pile.

On réalise pour cela le montage schématisé ci-contre.



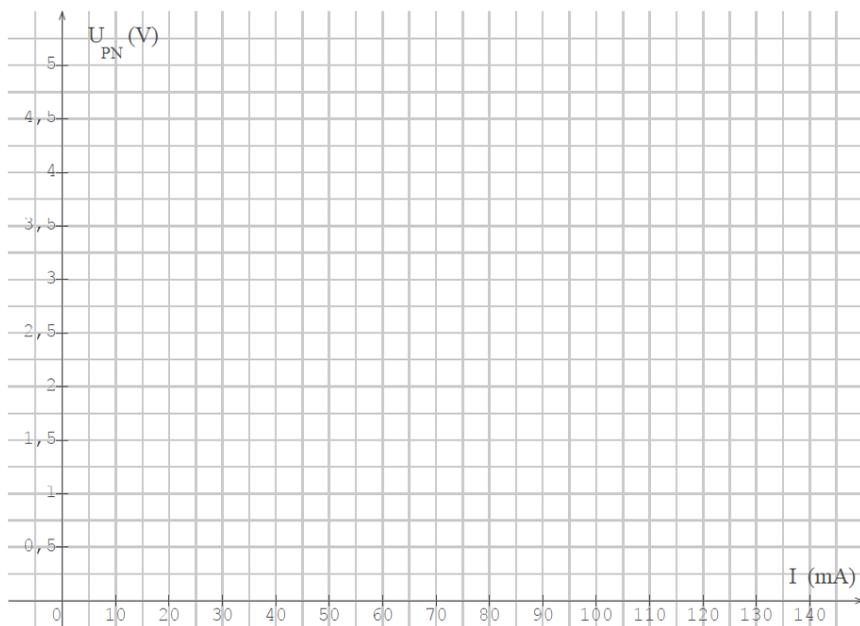
1. Reproduire le schéma précédent sur la copie et le compléter en représentant les appareils de mesure de la tension  $U_{PN}$  aux bornes de la pile et de l'intensité  $I$  du courant électrique circulant dans le circuit. Préciser le sens de branchement des appareils en indiquant leurs bornes V, COM et mA.

Les résultats des mesures effectuées sont compilés dans le tableau ci-dessous.

$I$ (en mA)	0	20	40	60	80	100	120	140
$U_{PN}$ (en V)	4,3	4,1	3,9	3,8	3,6	3,5	3,3	3,2

2. Placer les points expérimentaux sur le **document réponse DR2 à rendre avec la copie**, avec  $U_{PN}$  en ordonnée et  $I$  en abscisse.
3. Déterminer la valeur de la résistance interne  $r$  de la pile.
4. Selon le fabricant, la valeur de la résistance interne de la pile est de  $7,4 \Omega$ . Proposer une cause possible pour expliquer cette différence.

**Document réponse DR2 Détermination expérimentale de la valeur de la résistance interne – EXERCICE 2 (question 2) à compléter et à rendre avec la copie :**



### **EXERCICE 3 commun à tous les candidats (4 points) (mathématiques)**

*Le sujet demandait le traitement de quatre questions au choix parmi les six questions proposées.*

Dans cet exercice, on s'intéresse à l'énergie stockée dans la batterie d'un téléphone portable. Cette grandeur s'exprime en  $\text{kW} \cdot \text{h}$ . Lorsque la batterie est totalement chargée, l'énergie stockée vaut  $0,715 \text{ kW} \cdot \text{h}$ .

Lors du branchement de la batterie vide sur une borne de recharge, l'énergie stockée dans la batterie (en  $\text{kW} \cdot \text{h}$ ) en fonction du temps  $t$  (en heure) est modélisée par une fonction  $f$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par :

$$f(t) = ae^{-t} + b \text{ où } a \text{ et } b \text{ sont deux réels à déterminer.}$$

**Question 1 :**

1a. Sachant que  $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 0,715$ , déterminer la valeur de  $b$ .

1b. Sachant que  $f(0) = 0$ , déterminer la valeur de  $a$ .

Dans les questions suivantes, on admet que pour tout nombre réel  $t \geq 0$  :

$$f(t) = -0,715 e^t + 0,715$$

**Question 2 :**

Montrer que pour tout nombre réel  $t \geq 0$ ,  $f(t) < 0,715$ .

**Question 3 :**

3a. Déterminer la fonction dérivée  $f'$  de la fonction  $f$ .

3b. En déduire le sens de variation de la fonction  $f$  sur  $[0 ; +\infty[$ .

**Question 4 :**

La durée de demi-charge est le temps nécessaire pour charger à 50% une batterie qui était vide au départ. Déterminer la durée de demi-charge de la batterie de ce téléphone en minute et seconde, arrondie à la seconde.

**Question 5 :**

On considère la fonction en langage Python suivante :

```
from math import exp
def temps(pourcentage):
    t=0
    y=0
    while y < pourcentage*0.715:
        t = t+1/60
        y = - 0.715*exp(-t)+0.715
    return(t)
```

Que renvoie l'exécution de l'instruction `temps(0.15)` ? Interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.

**Question 6 :**

On considère la fonction  $F$  définie sur  $[0 ; +\infty[$  par  $F(t) = 0,715 t + 0,715e$

4a. Vérifier que  $F$  est une primitive de  $f$  sur  $[0; +\infty[$ .

4b. On admet que l'énergie stockée moyenne de la batterie sur  $[0 ; 3,5]$  est égale à :

$$m = \frac{1}{3,5} [F(3,5) - F(0)].$$

Cette énergie stockée moyenne est-elle égale à la moitié de l'énergie stockée maximale ? Justifier la réponse.

### EXERCICE 4 au choix du candidat (6 points) (physique-chimie)

*Un des exercices : 4-A ou 4-B devait être traité au choix du candidat.*

#### EXERCICE 4 A – PILE À COMBUSTIBLE

**Mots clés : pile, réactions d'oxydoréduction, quantité d'électricité.**

Une pile à combustible à méthanol direct (technologie DFMC) permet la conversion d'énergie chimique en énergie électrique.

Un réservoir de méthanol, appelé cartouche, fournit le combustible à la pile et la réaction du méthanol avec le dioxygène de l'air génère la circulation du courant électrique.

Cet exercice propose d'étudier les transformations chimiques ayant lieu dans la pile à combustible et envisage son utilisation pour recharger une batterie de bateau.

Données :

volume de méthanol contenu dans une cartouche :  $V = 5,0 \text{ L}$  ;

masse volumique du méthanol :  $\rho_{\text{méthanol}} = 790 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;

masse molaire moléculaire du méthanol :  $M = 32,0 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ;

constante de Faraday :  $F = 9,65 \times 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

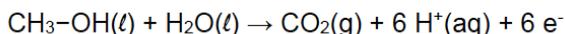
## PARTIE A – Fonctionnement de la pile à combustible à méthanol direct

Les réactifs de la pile à combustible sont le méthanol et le dioxygène O<sub>2</sub> de l'air.

Un schéma de cette pile est fourni **dans le DOCUMENT RÉPONSE DR3 à rendre avec la copie**.

La circulation d'ions H<sup>+</sup> dans la membrane électrolytique permet notamment le maintien de l'électroneutralité à chaque électrode.

À l'électrode 1 se déroule l'oxydation du méthanol modélisée par la demi-équation électrochimique :



**A1.** Justifier que le méthanol est un réducteur et écrire le couple redox concerné.

**A2.** Écrire la demi-équation électrochimique modélisant la transformation chimique qui se déroule à l'électrode 2 et fait intervenir le couple O<sub>2</sub>(g) / H<sub>2</sub>O(ℓ).

**A3.** À partir des deux demi-équations électrochimiques, montrer que le fonctionnement de la pile à combustible est modélisé par l'équation de réaction :



**A4.** Sur le **DOCUMENT RÉPONSE DR3**, identifier, en justifiant la réponse, l'anode et la cathode et préciser leur polarité. Justifier les réponses dans la copie.

**A5.** Sur le **DOCUMENT RÉPONSE DR3**, indiquer les sens de circulation des électrons et du courant électrique. Justifier les réponses dans la copie.

**A6.** Indiquer sur le **DOCUMENT RÉPONSE DR3**, le sens de circulation des ions H<sup>+</sup> dans la membrane.

## PARTIE B – Autonomie de la pile à combustible

**B1.** Montrer que la quantité de matière de méthanol contenue dans une cartouche est environ égale à  $n_{\text{méthanol}} = 1,2 \times 10 \text{ mol}$ .

**B2.** En s'appuyant sur l'équation de demi-réaction électrochimique se déroulant à l'électrode 1, montrer que, lorsque la totalité du méthanol est

consommée, la quantité de matière d'électrons échangée dans la pile est environ égale à  $n_{e^-} = 7,2 \times 10^2$  mol.

**B3.** Déduire la quantité d'électricité  $Q$  que peut fournir la consommation de la totalité de la cartouche de méthanol.

Il est envisagé d'utiliser la quantité d'électricité de la pile à combustible pour recharger la batterie d'un bateau. Cette batterie, de tension nominale 12 V, est capable de débiter un courant électrique d'intensité supposée constante  $I = 4,2$  A pendant la durée d'utilisation.

**B4.** Déterminer la valeur de la durée maximale pendant laquelle la batterie du bateau pourrait fonctionner après recharge. Expliquer en quoi la valeur obtenue est vraisemblablement surestimée.

## EXERCICE 4 B – ACIDE LACTIQUE

**Mots clés :** représentation spatiale des molécules ; dissociation d'un acide dans l'eau ; diagramme de prédominance

La présence de l'acide lactique dans les muscles lors d'efforts intenses a été constatée pour la première fois en 1808 par le chimiste Jöns Jacob Berzelius.

L'objectif de cet exercice est d'étudier la structure de l'acide lactique et d'identifier l'espèce prédominante sous laquelle se trouve l'acide lactique dans le sang des muscles au cours d'efforts intenses.

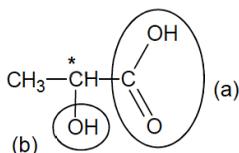
Données :

Numéros atomiques :  $Z(\text{H}) = 1$ ,  $Z(\text{C}) = 6$ ,  $Z(\text{O}) = 8$  ;

Valeur du pH du sang : 7,40

### PARTIE A – Structure de la molécule d'acide lactique

La formule semi-développée de la molécule d'acide lactique est donnée ci-dessous :



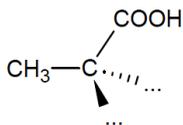
**A1.** Nommer les familles fonctionnelles associées aux groupes caractéristiques (a) et (b).

**A2.** En justifiant votre réponse, donner l'adjectif utilisé pour qualifier l'atome de carbone noté « \* » dans la formule semi-développée donnée ci-dessus.

Des travaux menés depuis la découverte de Jöns Jacob Berzelius ont permis d'établir que l'acide lactique présent dans le sang des muscles lors d'efforts intenses est uniquement sous forme de l'énantiomère de stéréodescripteur S.

**A3.** La molécule d'acide lactique présent dans le sang des muscles est qualifiée de molécule « chirale ». Donner la définition du mot « chirale ».

**A4.** Reproduire sur la copie et compléter la représentation ci-dessous pour représenter le stéréoisomère concerné. Expliquer votre démarche et les règles appliquées.



**A5.** Montrer que l'acide lactique S est chiral.

## PARTIE B – Acide lactique dans le sang

Une masse  $m = 500$  mg d'acide lactique est dissoute dans de l'eau distillée pour obtenir une solution de volume  $V = 100,0$  mL. Le pH de la solution obtenue est mesuré ; la valeur obtenue est :  $pH = 2,6$ .

**Données :**

	Acide lactique
Nom officiel	Acide 2-hydroxypropanoïque
Utilisations	Correcteur d'acidité dans l'industrie agroalimentaire
Masse molaire ( $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	90
Pictogramme de sécurité	
pKa	3,9

**B1.** Montrer que la concentration en quantité de matière  $C_A$  apportée en acide lactique dans la solution préparée vaut  $C_A = 5,6 \cdot 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**B2.** Justifier le caractère acide de l'acide lactique.

**B3.** En déduire la formule semi-développée de l'ion lactate, base conjuguée de l'acide lactique.

**B4.** Écrire l'équation de la réaction acido-basique entre l'acide lactique et l'eau.

**B5.** Montrer que le coefficient de dissociation de l'acide lactique s'écrit :

$$\alpha = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{C_A}$$

**B6.** Calculer  $\alpha$  et justifier que l'acide lactique est un acide faible.

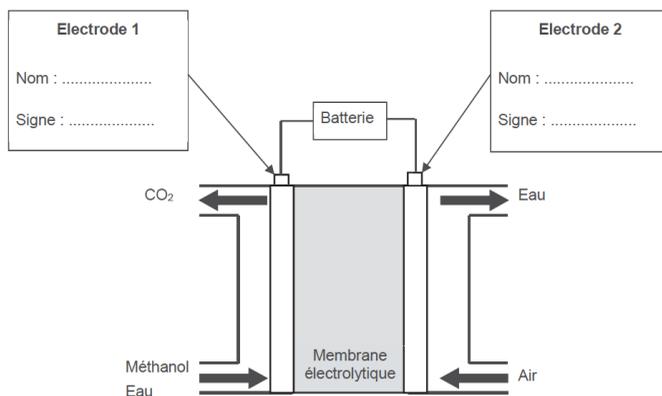
**B7.** Représenter le diagramme de prédominance du couple acide lactique / ion lactate et déduire l'espèce prédominante de l'acide lactique dans la solution préparée.

**B8.** Donner l'expression de la constante d'équilibre acido-basique  $K_A$  du couple acide lactique/ion lactate dans l'eau en fonction des concentrations à l'équilibre des espèces chimiques concernées.

**B9.** À partir de l'expression de  $K_A$ , montrer que le rapport  $\frac{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COO}]_{\text{éq}}}{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}]_{\text{éq}}}$  est environ égal à  $5,0 \times 10^{-2}$ . Vérifier la cohérence de ce résultat avec la réponse formulée à la question **B7**.

**B10.** Conclure quant à l'espèce chimique du couple acide lactique/ion lactate prédominante dans le sang après un effort intense.

**Document réponse DR3 Schéma de la pile à combustible – EXERCICE 4A (questions A4, A5, A6) à compléter et à rendre avec la copie :**



# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## SUJET 1 - SEPTEMBRE 2021

### QUELQUES ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES ET DIAGNOSTIQUES DE LA PANDÉMIE DE COVID-19

*Durée : 3 heures – Coefficient 7*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé*

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

**Les parties essentielles mobilisées dans les sujets sont indiquées ci-dessous :**

**S2.2** Réponse immunitaire innée

**S2.2** Réponse immunitaire adaptative

**T9.2** Amplification d'un fragment d'ADN par une technique de PCR

**S3.1** Propriétés et structure des acides nucléiques

**S1.7** Les enzymes du métabolisme et la régulation

**T8.1** Dosage d'un substrat par une méthode enzymatique en point final

**L1.2.4** Évaluation des résultats expérimentaux

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
<b>3 points</b>	<b>3 points</b>	<b>3 points</b>	<b>5 points</b>	<b>5 points</b>	<b>1 point</b>

Le 9 janvier 2020, la découverte d'un nouveau coronavirus SARS-CoV-2 a été annoncée officiellement par les autorités sanitaires chinoises et l'Organisation Mondiale de la Santé. Le virus SARS-Cov2 est un virus à génome ARN ; il est l'agent responsable d'une nouvelle maladie infectieuse respiratoire appelée COVID-19.

La compréhension des mécanismes à l'origine de la pathologie et le développement des méthodes de diagnostic sont deux enjeux majeurs de la lutte contre la pandémie.

## Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)

Ce sujet vise à expliciter l'intervention du système immunitaire de l'hôte suite à une infection par le SARS-CoV-2 et à étudier différentes méthodes de diagnostic de la maladie COVID-19.

**Des éléments d'étude seront abordés à travers les différentes parties du sujet :**

- 1- Mise en place de la réponse immunitaire de l'hôte lors d'une infection par le SARS-CoV-2 ;
- 2- Diagnostic par qRT-PCR ;
- 3- Dosage de la lactate déshydrogénase (LDH) permettant de mettre en évidence certaines lésions d'organes.

### 1- MISE EN PLACE DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE DE L'HÔTE LORS D'UNE INFECTION PAR LE SARS-COV-2.

Une équipe australienne a publié en 2020 dans la revue *Nature Medicine* une étude mettant en évidence l'implication de certaines cellules du système immunitaire dans la lutte contre le virus SARS-CoV-2. Des résultats expérimentaux issus de cette étude sont présentés dans le **document 1**.

#### 1.1- Sélection des clones d'*Escherichia coli* transformés

**Q1.** (C3) Relever les arguments permettant de montrer que les monocytes sont mobilisés lors d'une infection COVID-19.

**Q2.** (C3) (C3) Montrer que les LT CD4+ et les LT CD8+ sont impliqués dans la réponse dirigée contre le SARS-Cov2.

**Q3.** (C4) Expliquer le mécanisme de la réaction immunitaire adaptative à médiation cellulaire et en présenter l'intérêt dans la lutte antivirale.

L'infection au SARS-CoV-2 mobilise également l'immunité adaptative à médiation humorale induisant l'activation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps.

En avril 2020, la Haute Autorité de Santé (HAS) a recommandé de ne pas effectuer de test sérologique (dosage des anticorps anti-SARS-CoV-2) dans le cadre du diagnostic précoce de l'infection COVID-19, c'est-à-dire au cours des dix premiers jours après l'apparition des symptômes.

**Q4.** (C1) Exploiter le **document 3** pour justifier cette recommandation de l'HAS.

## 2- DIAGNOSTIC PAR RT-qPCR

Le diagnostic précoce représente une des étapes essentielles dans la lutte contre la propagation du SARS-CoV-2.

En France, les individus testés positifs ont été invités :

- à contribuer, avec l'aide de personnels de l'Agence Régionale de Santé, au repérage des personnes « cas-contacts » ;
- à respecter les mesures d'isolement.

La mise en évidence de la présence du virus SARS-CoV-2 dans un prélèvement nasopharyngé s'effectue par RT-qPCR (Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction).

La RT-qPCR en temps réel est une technique fondée sur le principe de la PCR et permettant de quantifier en temps réel un ARN (viral ou non) au sein d'un échantillon biologique grâce à une sonde marquée.

La première étape consiste à synthétiser un brin ADN complémentaire à partir d'un brin d'ARN viral matrice.

Le **document 4** présente le principe de la RT-qPCR.

**Q5.** (C4) Montrer, en argumentant la réponse, que le cycle 2 de l'étape 2 de PCR quantitative en temps réel présente les caractéristiques fondamentales d'une PCR.

Pour effectuer la PCR, un couple d'amorces (sens et anti sens), qui délimitent la séquence à amplifier, sont nécessaires pour initier l'étape de polymérisation.

Le **document 5** présente les caractéristiques des amorces ainsi que les critères permettant de choisir le couple d'amorces le plus adapté pour réaliser la PCR, en particulier la température de fusion ( $T_m$ ) de chaque amorce.

**Q6.** (C4) Montrer, à l'aide d'un schéma, que le couple d'amorces 2 permet d'amplifier la séquence d'ADN. Pour cela, s'appuyer sur la complémentarité des bases et l'orientation des brins.

La température d'hybridation d'une amorce dépend de sa température de fusion ( $T_m$ ). La température de fusion d'un fragment d'ADN double brin correspond à la température pour laquelle 50 % de ce fragment est dissocié sous forme d'ADN simple brin.

**Q7.** (C2) Calculer la  $T_m$  de l'amorce "sens" et en déduire si elle est compatible avec la  $T_m$  de l'amorce "anti sens" qui est égale à 68 °C.

**Q8.** (C4) Argumenter par un calcul le choix de la température de l'étape d'hybridation.

Après un premier cycle de PCR quantitative, un amplicon est obtenu et de la fluorescence est émise selon le mécanisme présenté dans le **document 4**.

**Q9.** (C3) Expliquer l'augmentation de la fluorescence au cours des cycles à partir du cycle 2 de l'étape 2.

Le **document 6** présente les résultats obtenus à l'issue d'une RT-qPCR. La courbe obtenue pour l'échantillon analysé permet, par comparaison avec celles des témoins positif et négatif, de conclure sur la présence ou l'absence d'ARN d'intérêt recherché.

**Q10.** (C4) Expliquer pourquoi aucune fluorescence n'est observée pour la courbe du témoin négatif.

**Q11.** (C3) Conclure quant à la présence d'ARN viral dans l'échantillon analysé et indiquer si le patient est diagnostiqué positif.

### **3- DOSAGE DE LA LDH POUR METTRE EN ÉVIDENCE DES LÉSIONS D'ORGANES CHEZ DES INDIVIDUS PRÉSENTANT UNE FORME GRAVE DE COVID-19**

Une équipe de recherche a recensé les anomalies observées dans les analyses sanguines de patients infectés par le SARS-CoV-2. Une de ces anomalies consiste en l'augmentation de la concentration d'activité catalytique de la lactate déshydrogénase (LDH) dans le plasma. Cette augmentation témoigne de lésions de certains organes du corps humain (rein, cœur, muscles, foie, poumons).

La concentration d'activité catalytique de la LDH peut être dosée dans le plasma.

La méthode utilisée est présentée dans l'extrait de la fiche technique du **document 7**. En cas de lésions rénales ou hépatiques, ou en cas d'embolie pulmonaire, la concentration catalytique de la LDH plasmatique augmente fortement.

**Q12.** (C1) Expliquer comment l'absorbance de la réaction varie au cours du temps.

**Q13.** (C2) À partir de l'équation aux grandeurs fournie dans le **document 7**, établir l'équation aux unités puis l'équation aux valeurs numériques afin de calculer la concentration d'activité catalytique de la LDH dans le plasma du patient hospitalisé.

**Q14.** (C3) Exprimer le résultat de mesure en respectant les règles de métrologie et conclure sur l'état de ce patient.

**Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)**

D'après l'Institut Pasteur, la durée de l'incubation de COVID-19 est en moyenne de 5 jours avant l'apparition de symptômes.

L'infection peut être asymptomatique chez 30 à 60 % des sujets infectés. Certains patients présentant des symptômes développent des formes graves de la maladie qui nécessitent une hospitalisation voire une admission dans un service de réanimation.

Aucun traitement d'efficacité prouvée n'ayant été disponible en novembre 2020, plus de trois milliards de personnes ont été confinées, soit la moitié de la population mondiale. Une stratégie globale utilisant plusieurs types de tests a donc été mise en œuvre.

Le **document 8** présente plusieurs ressources pouvant servir de point d'appui pour réaliser la synthèse.

**Q15.** (C5) Recenser les applications et les caractéristiques des tests présentés, puis argumenter l'intérêt des différents tests chez un patient présentant des symptômes.

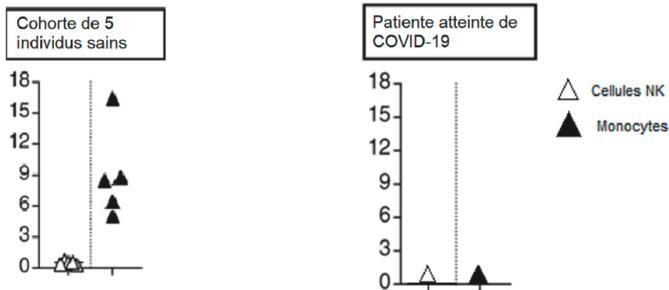
## DOCUMENT 1 : Étude de cas d'une patiente de 47 ans originaire de Wuhan

Source : Nature Medicine, mars 2020

Pour une patiente souffrant de COVID-19, un suivi de sa réponse immunitaire a débuté au septième jour de son hospitalisation (J7).

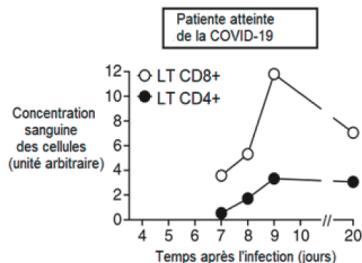
Parallèlement, une cohorte de 5 individus non infectés par le virus (« individus sains ») a aussi été suivie selon les mêmes modalités que la patiente infectée.

### Document 1 a : Dosage de la concentration sanguine en cellules de l'immunité innée à J7



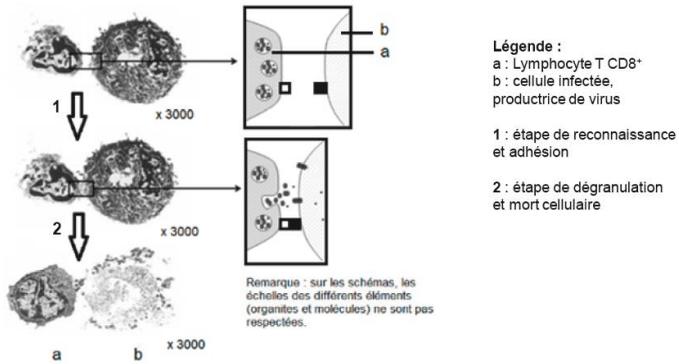
**Données** : les cellules NK (natural killer) et les monocytes sont des cellules sanguines impliquées dans l'immunité innée antivirale. Lors d'une infection, les monocytes sont recrutés sur le site de pénétration de l'antigène et deviennent des macrophages tissulaires. Ils ne sont alors plus détectés dans le sang.

### Document 1 b : Suivi (J7-J20) de la concentration sanguine en cellules de l'immunité adaptative



**Donnée** : Chez un individu non infecté, la concentration sanguine en LT CD4<sup>+</sup> et LT CD8<sup>+</sup> est de l'ordre de 0 à 2 unités arbitraires.

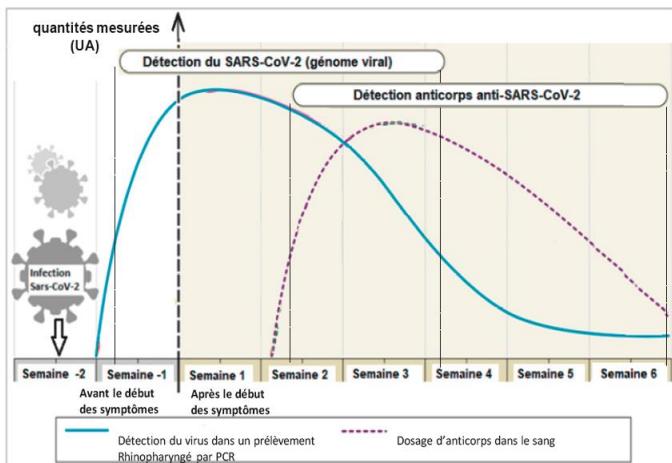
**DOCUMENT 2 : Détail de la phase effectrice de la réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire (observation au MET et schématisation)**



**DOCUMENT 3 : Mesure de la présence du virus SARS-CoV-2 et des anticorps dirigés contre SARS-CoV-2 chez un patient avant et après apparition des symptômes**

Source : adapté de biofutur.eu, la sérologie du coronavirus SARS-CoV-2 responsable du Covid, mai 2020

- Évolution au cours du temps de la concentration en immunoglobulines (Ig anti-SARS-CoV-2) dans le sérum d'un individu infecté par le SARS-CoV-2,
- Évolution de la présence du virus SARS-CoV-2 dans la sphère nasopharyngée de ce même individu.



## **DOCUMENT 4 : Principe de la RT-qPCR en temps réel avec détection des amplicons grâce à une sonde Taqman™**

La RT-qPCR est effectuée à partir de l'ARN génomique du virus extrait et purifié.

Source : adapté de S Bustin et R Mueller, *Clinical Science*, 2020

<b>Étape 1 : rétrotranscription</b>	
<p>5'-----3' ARN</p> <p>transcriptase inverse</p> <p>5'-----3' ADNc-ARN</p> <p>3'-----5' ADNc-ARN</p>	<p>La transcriptase inverse est une enzyme capable de synthétiser un brin d'ADN complémentaire (ADNc) à partir d'un ARN matrice.</p>
<b>Étape 1 : PCR quantitative en temps réel</b>	
<p><b>CYCLE 1</b></p> <p>Dénaturation</p> <p>Hybridation spécifique des amorces et de la sonde TaqMan</p> <p>Polymérisation</p> <p>Emission de fluorescence</p> <p><b>CYCLE 2</b></p> <p>Dénaturation à 90°C</p> <p>Hybridation à 62°C</p> <p>Polymérisation à 72°C</p> <p>Emission de fluorescence</p> <p>Le cycle 2 est répété 15 à 40 fois.</p>	<p>ADN polymérase</p> <p>Amorce</p> <p>Sonde Taqman</p> <p>Rapporteur</p> <p>Extincteur</p> <p>Une sonde TaqMan™, complémentaire d'une séquence ciblée du brin 3'→5' de l'ADN, contient une molécule fluorescente appelée « rapporteur » au niveau de son extrémité 5' et une molécule appelée « extincteur » au niveau de son extrémité 3'.</p> <p>La sonde TaqMan™ est présente en grande quantité dans le mélange réactionnel.</p> <p>Tant que la sonde est intacte, la proximité entre le rapporteur et l'extincteur bloque l'émission de fluorescence du rapporteur.</p> <p>Lors de l'élongation de l'ADN par la Taq polymérase (polymérisation), la sonde est clivée, libérant ainsi le rapporteur qui émet alors de la fluorescence.</p> <p>À chaque cycle de PCR, une sonde TaqMan™ se fixe sur chaque brin d'ADN monocaténaire 3'→5' obtenu à l'issue de l'étape de dénaturation. A chaque cycle de polymérisation, le processus de clivage qui se produit entraîne une augmentation de l'intensité de la fluorescence proportionnelle à la quantité d'amplicons produite.</p>

**DOCUMENT 5 : Séquence des amorces pour l'amplification d'une partie de l'ADN issu de la rétrotranscription de l'ARN viral.**

**Séquence d'ADN à amplifier**

Seules les séquences de chaque brin d'ADN s'hybridant avec les amorces sont représentées. Les séquences internes de l'ADN à amplifier sont représentées par des tirets.

5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG ----- GAAAACCTGGAACACTAAACATAGCA 3'  
3' GCGGTTCCAAGAAGAAGCATTG ----- CTTTGTGACCTTGTGATTTGTATCGT 5'

**Séquence des amorces**

Couples d'amorces proposés	Amorce « sens » L'amorce sens s'hybride sur le brin 3'-5'	Amorce « anti sens » L'amorce sens s'hybride sur le brin 3'-5'
Couple 1	5' GCGGTTCCAAGAAGAAGCATTG 3'	5' CTTTGTGACCTTGTGATTTGTATCGT 3'
Couple 2	5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG 3'	5' TGCTATGTTTAGTGTTCAGTTTTC 3'

Source : adapté de <https://www.sigmaaldrich.com/france/ncov-coronavirus.html>

**Température de fusion (T<sub>m</sub>) :**

Formule de Wallace permettant le calcul de la température de fusion T<sub>m</sub> d'une amorce en degrés Celsius :

$T_m = 2 \times (nA + nT) + 4 \times (nC + nG)$	nA = nombre de nucléotides « A » dans l'amorce nT = nombre de nucléotides « T » dans l'amorce nC = nombre de nucléotides « C » dans l'amorce nG = nombre de nucléotides « G » dans l'amorce
---	--

Les deux amorces doivent avoir une T<sub>m</sub> proche, l'écart entre les deux températures de fusion doit être inférieur ou égal à 2 °C

**Température d'hybridation des amorces (TH) :**

La température d'hybridation TH de l'ADN cible doit être inférieure d'au moins 4 °C au T<sub>m</sub> de chaque amorce.

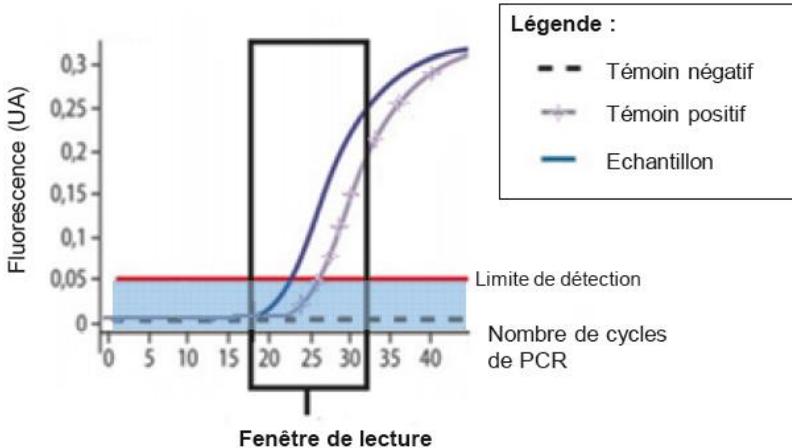
## DOCUMENT 6 : Résultat de la RT-qPCR

Pour qu'un individu soit diagnostiqué positif, l'allure du graphe doit être similaire à celle du témoin positif (courbe sigmoïde) et positionnée à gauche de la courbe obtenue pour le témoin positif (moins de cycles nécessaires pour obtenir la même quantité d'ADN par amplification dans la fenêtre de lecture).

### Évolution de la fluorescence en fonction du nombre de cycles

Conditions expérimentales :

- prélèvement nasopharyngé d'un individu dépisté ;
- témoin positif d'amplification effectué à partir d'ARN du SARS-CoV2 préalablement purifié ;
- témoin négatif sans ARN viral.



Source : adaptée de concours général biotechnologie 2020

Légendes

**Témoin positif** : ARN du virus SARS-CoV-2 purifié et de concentration connue + mix RT-qPCR

**Témoin négatif** : sans ARN du virus SARS-CoV-2 + mix RT-qPCR

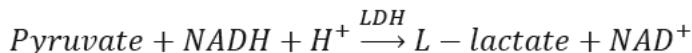
**Échantillon** de l'individu dépisté + mix RT-qPCR

## **DOCUMENT 7 : Extrait de la fiche technique du kit Biolabo LDH (méthode SFBC modifiée)**

Source : adapté de <http://www.biolabo.fr/>

### **Principe**

Le schéma réactionnel est le suivant



Le NADH, H<sup>+</sup> absorbe à 340 nm.

### **Réactifs**

Flacon R1 : Tampon substrat	Tampon Tris pH 7,2 Pyruvate Conservateur	80 mmol · L <sup>-1</sup> 1,6 mmol · L <sup>-1</sup>
Flacon R1 : Coenzyme	NADH NaCl	≥ 20 mmol · L <sup>-1</sup> 200 mmol · L <sup>-1</sup>

Préparation des réactifs : ajouter le contenu du flacon R1 dans le flacon R2.

### **Procédure opératoire**

Porter les réactifs et échantillons à température ambiante.

Introduire dans une cuve thermostatée de 1 cm de trajet optique :

- $V_{\text{réactif}} = 1 \text{ mL}$
- $V_{\text{plasma}} = 20 \text{ } \mu\text{L}$

Mélanger. Après 30 secondes, lire l'absorbance initiale à 340 nm puis toutes les minutes pendant 2 min.

### **Obtention du résultat**

Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute  $\frac{\Delta A}{\Delta t}$

La concentration d'activité catalytique de la LDH dans le plasma, notée  $b_{(\text{LDH}; \text{plasma})}$  est déterminée par le calcul suivant :

$$b_{(\text{LDH}; \text{plasma})} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{\text{NADH}}^{340 \text{ nm}} \times l} \times \frac{V_{\text{réactif}} + V_{\text{plasma}}}{V_{\text{plasma}}} \times 10^6$$

## Données :

Compléments sur des grandeurs de l'équation	$\varepsilon_{NADH}^{340\text{ nm}} = 6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  $l = \text{trajet optique en cm}$ (cuve de trajet optique 1 cm)
Indication de mesure pour le plasma du patient	$\frac{\Delta A}{\Delta t} = 0,125 \text{ min}^{-1}$
Valeurs physiologiques de la concentration d'activité catalytique de la LDH chez l'adulte (à 37 °C).	[200 à 400] $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$
<b>Données métrologiques pour l'expression du résultat de mesure :</b> Résultat de mesure = valeur mesurée retenue $\pm$ incertitude élargie ; le niveau de confiance de l'incertitude élargie est à préciser. L'incertitude élargie ( $U$ ) est calculée en multipliant l'incertitude type composée ( $u_c$ ) par le facteur d'élargissement (par exemple $k=2$ pour un intervalle de confiance, ou niveau de confiance, de 95 %).  $u_c = 30 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$	

## **DOCUMENT 8 : Revue de presse sur la pandémie de COVID-19 du mois de novembre 2020**

### **« Les sérologies : réponses à vos questions »**

*Site internet du Ministère de la santé et des solidarités, publié le 29.05.20*

#### Qu'est-ce qu'un test sérologique ?

Un test sérologique est un test réalisé par prélèvement sanguin.

Il existe plusieurs types de tests sérologiques : les tests automatiques ELISA et les tests rapides. En fonction de la technologie qu'ils utilisent, ils peuvent détecter : soit les IgM, soit les IgG, soit les deux.

Ces tests indiquent si la personne a développé des anticorps contre le coronavirus et a donc contracté la COVID-19, même sans avoir eu de symptômes.

## Pourquoi ne pas directement prescrire des tests sérologiques à tout le monde ?

L'objectif de la période actuelle est d'empêcher la circulation du virus. Il est donc très important de pouvoir détecter la présence du virus chez une personne, afin que celle-ci puisse prendre toutes les précautions pour ne pas le transmettre. En conséquence, le test le plus utile dans la lutte contre l'épidémie est le test virologique par RT-PCR dans la mesure où il permet de dire si oui ou non la personne est porteuse du virus à un instant T.

### « COVID-19 : la HAS positionne les tests antigéniques dans trois situations »

*Communiqué de presse - Mis en ligne le 09 oct. 2020*

La Haute Autorité de Santé a rendu fin septembre un avis favorable à l'utilisation des tests antigéniques sur prélèvement nasopharyngé chez les personnes qui présentent des symptômes de la COVID-19 : fièvre, toux sèche, perte de l'odorat ou du goût, etc. Elle en a précisé les performances requises : une sensibilité minimale supérieure à 80 % et une spécificité minimale supérieure à 99 %.

### **Pour les patients qui ont des symptômes**

Dès lors que le résultat du test RT-PCR ne peut être obtenu dans un délai de 48 h, la HAS recommande de réaliser un test antigénique dans les 4 premiers jours après l'apparition des symptômes.

Compte tenu de l'excellente spécificité de ces tests, elle considère qu'il n'est pas nécessaire de confirmer par un test RT-PCR les tests antigéniques positifs.

Pour les **patients à risque de développer une forme grave de la maladie** (...), la HAS préconise de confirmer par RT-PCR les résultats négatifs obtenus par test antigénique. L'enjeu est de s'assurer de ne pas rater de cas d'infection chez ces patients.

### « Tests du covid-19 : tout ce qu'il faut savoir sur les différentes méthodes existantes »

*Science et vie, publié le 17 septembre 2020*

### **Tests antigéniques : plus rapides... mais moins fiables**

Ils nécessitent également un prélèvement de cellules nasales profondes. Mais, grosse différence avec la PCR : ils détectent des protéines présentes à sa surface du virus, ou antigènes – et non le génome viral. Et ce, *via* un dispositif plus simple, similaire à un test de grossesse. Concrètement, le prélèvement est déposé sur une bandelette qui contient des anticorps capables de fixer spécifiquement les antigènes recherchés.

**BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES**  
**SUJET 2 - SEPTEMBRE 2021**

**DÉVELOPPEMENT D'UNE LESSIVE ÉCOLOGIQUE**  
**CONTENANT UNE PROTÉASE**

*Durée : 3 heures – Coefficient 7*  
*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé*

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

**Les parties essentielles mobilisées dans le sujets sont indiquées ci-dessous :**

**S1.7** Les enzymes du métabolisme et la régulation

**T2.2** Modélisation de la croissance en milieu non renouvelé

**T7.1** Fractionnement d'un mélange hétérogène

**T7.3** Séparation des biomolécules par chromatographie d'exclusion moléculaire dans le but de les purifier

**T8.2** Dosage d'une activité enzymatique ( $z$ ) et de sa concentration d'activité ( $b$ )

**T9.4** Clonage d'un fragment d'ADN

**L1.2.4** Évaluation des résultats expérimentaux

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

Le suivi d'indicateurs environnementaux à l'échelle mondiale révèle une forte dégradation de l'environnement depuis 50 ans.

La pollution d'origine humaine prend plusieurs formes et provient par exemple de l'utilisation de produits ménagers contenant des détergents comme la lessive. Ces détergents peu biodégradables sont retrouvés dans les eaux, le sol et certains organismes vivants.

L'incorporation dans les lessives d'enzymes biodégradables telles que les protéases, lipases et amylases, capables de dégrader les taches de nature alimentaire, permet de diminuer leur contenu en détergent.

<b>Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)</b>
--

Un laboratoire cherche à développer une lessive écologique contenant une protéase issue d'une bactérie.

**Pour cela, plusieurs étapes sont nécessaires :**

- sélectionner une souche bactérienne produisant une protéase efficace et utilisable dans les conditions d'une lessive ;
- réaliser le clonage du gène codant cette protéase pour la produire dans une bactérie facilement cultivable ;
- produire et purifier la protéase.

## **1- OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DE PROTÉASES**

Le laboratoire a testé plusieurs souches bactériennes afin d'en sélectionner une capable de produire une protéase.

Le **document 1** présente l'activité enzymatique de la protéase pour deux souches bactériennes.

**Q1.** (C1) Argumenter le choix de l'espèce bactérienne à sélectionner.

Les deux souches sont mises en culture pour mesurer leurs paramètres de croissance. Les courbes de suivi de croissance sont présentées dans le **document 2**.

**Q2.** (C2) Déterminer la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle pour *Escherichia coli*.

**Q3.** (C3) Argumenter l'espèce bactérienne adaptée pour la production de biomasse.

**Q4.** (C4) Montrer l'intérêt de cloner le gène de la protéase de *Bacillus licheniformis* dans la bactérie *Escherichia coli*.

## 2- AMPLIFICATION ET CLONAGE DU GÈNE D'INTÉRÊT

Le laboratoire de recherche clone le gène codant la protéase de *Bacillus licheniformis* dans une souche d'*Escherichia coli*.

Dans un premier temps, ce gène d'intérêt est amplifié par réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Le fragment d'ADN amplifié par PCR contient le gène d'intérêt encadré par des sites pour les enzymes de restriction *Bam*HI et *Eco*RI.

Ce fragment est ensuite digéré par *Bam*HI et *Eco*RI générant ainsi un insert prêt à être inséré dans un vecteur de clonage.

Le **document 3** présente un schéma simplifié du fragment obtenu après PCR.

**Q5.** (C1) Représenter sur la copie le schéma de l'insert obtenu après coupure du fragment par les deux enzymes de restriction *Bam*HI et *Eco*RI.

Dans un second temps, le vecteur de clonage pUC18 est digéré par ces mêmes enzymes de restriction dont les sites de restriction sont localisés dans le gène LacZ.

Le **document 4** présente un schéma simplifié du vecteur de clonage obtenu après coupure enzymatique.

Dans un troisième temps, l'insert est incubé avec le vecteur de clonage pUC18 digéré en vue de son intégration.

**Q6.** (C3) Montrer, à l'aide d'un schéma, que le fragment d'ADN digéré peut être inséré dans le plasmide.

Les plasmides obtenus sont utilisés pour transformer une souche d'*Escherichia coli* sensible à l'ampicilline et ne fermentant pas le lactose.

La composition du milieu utilisé est fournie dans le **document 5**.

- Les bactéries transformées par le plasmide pUC18 ayant intégré l'insert donnent des colonies blanches sur la gélose LB additionnée d'ampicilline et de X-gal
- Les bactéries transformées par le plasmide pUC18 sans insert donnent des colonies bleues.

**Q7.** (C4) Expliquer, d'après la composition du milieu, la couleur des colonies observée après incubation :

- pour les bactéries ayant intégré le plasmide pUC18 sans insert ;
- pour les bactéries ayant intégré le plasmide pUC18 avec insert. Préciser alors la couleur des colonies à prélever pour la purification.

### 3- PURIFICATION DE LA PROTÉASE PRODUITE PAR LES BACTÉRIES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉES

Les bactéries génétiquement modifiées sont cultivées pour produire la protéase d'intérêt. Le laboratoire met en œuvre un protocole afin d'extraire et de purifier la protéase qui est localisée dans le cytoplasme des bactéries productrices. Un organigramme de ce protocole est présenté dans le **document 6**.

**Q8.** (C4) Argumenter, à l'aide de la localisation de la protéase, le choix des fractions qui sont conservées aux deux premières étapes du protocole de purification.

Le laboratoire cherche à optimiser l'étape 3 du protocole de purification avec différentes concentrations de sulfate d'ammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Le **document 7** présente les résultats de détermination de la concentration d'activité catalytique des extraits enzymatiques dans les fractions C et D en fonction de la teneur en sulfate d'ammonium.

**Q9.** (C4) Argumenter le choix de la teneur en sulfate d'ammonium assurant la précipitation optimale des protéases.

La protéase est une protéine de 30 kDa qui a une charge globale négative, ce qui permet de la purifier selon deux techniques chromatographiques décrites dans le **document 8**.

**Q10.** (C3) Expliquer le principe de la chromatographie d'exclusion ou gel-filtration et en déduire le type de résine Sephadex qui conviendra à la purification de la protéase.

**Q11.** (C1) Argumenter le choix du type de colonne échangeuse d'ions adaptée à la purification de la protéase.

Après la mise en œuvre de chacune des deux techniques, le laboratoire dose les protéines et détermine l'activité enzymatique totale ( $z$ ) de la protéase d'intérêt dans les extraits obtenus. Les résultats obtenus sont présentés dans le **document 9**.

**Q12.** (C2) Calculer les valeurs de l'activité spécifique  $z$  obtenue à l'issue de la mise en œuvre de chacune des techniques chromatographiques.

**Q13.** (C4) Argumenter le choix de la technique de chromatographie permettant de purifier le plus efficacement la protéase.

**Q14.** (C5) Présenter, sous forme d'un organigramme, les choix pris par le laboratoire pour optimiser la production de la protéase afin de développer une lessive écologique.

**Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)**

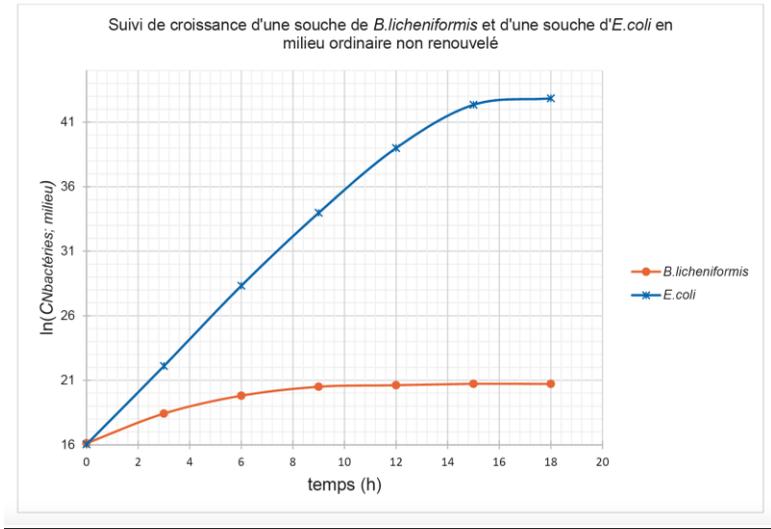
La transformation par un vecteur plasmidique porteur d'un gène d'intérêt n'est pas le seul moyen de modifier l'information génétique d'un organisme. La mutagenèse dirigée par l'utilisation des « ciseaux moléculaires » (CRISPR Cas) permet également de modifier un gène d'intérêt. Ce procédé n'est cependant pas soumis à la même réglementation que celle qui régit les OGM.

**Q15.** (C5) En distinguant les principales caractéristiques des deux procédés de modification d'un gène, proposer des arguments pour expliquer la position du Conseil d'État.

**DOCUMENT 1 : Activité protéasique d'*Escherichia coli* et de *Bacillus licheniformis***

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
Activité enzymatique (en U · mL <sup>-1</sup> )	0,34	4,51

**DOCUMENT 2 : Courbes de croissance des deux souches testées par le laboratoire**



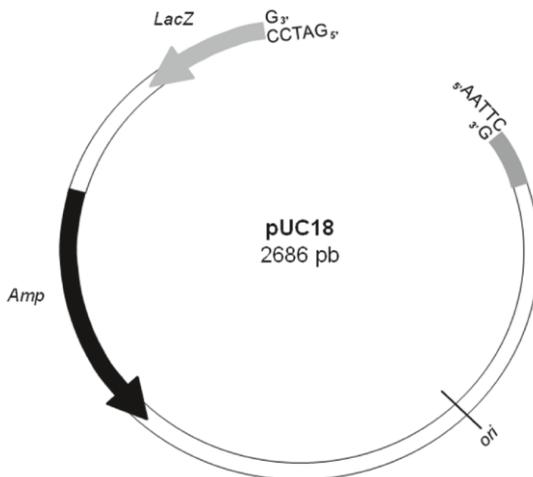
**DOCUMENT 3 : Schéma simplifié du fragment obtenu après PCR**



**Données**

Enzyme de restriction	<i>EcoRI</i>	<i>BamHI</i>
Séquence du site de restriction	5' ... <u>GAATTC</u> ... 3' 3' ... <u>CTTAAG</u> ... 5'	5' ... <u>GGATCC</u> ... 3' 3' ... <u>CCTAGG</u> ... 5'

**DOCUMENT 4 : Schéma simplifié du plasmide pUC18 digéré par les enzymes de restriction *Bam*H I/et *Eco*R I**



*Amp* : gène de résistance à l'antibiotique ampicilline

*LacZ* : gène de la  $\beta$ -galactosidase

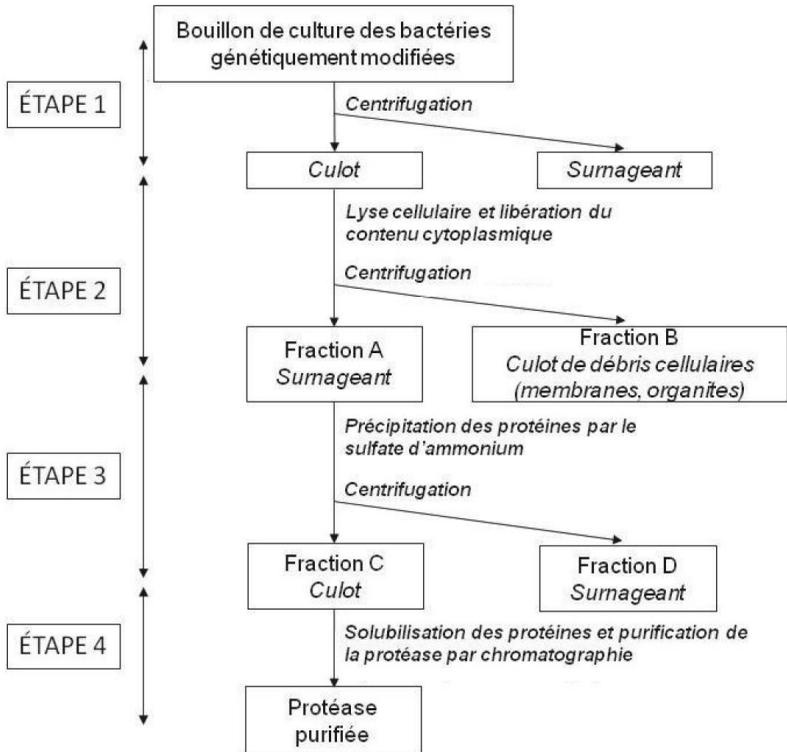
*ori* : origine de réplication

pb : paires de bases nucléotidiques

**DOCUMENT 5 : Composition du milieu LB additionné d'ampicilline et de X-gal**

Composants	Concentration en masse (en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Rôles
Tryptone	10	Source d'oligopeptides et d'acides aminés
Extrait de levure	5	Source de facteurs de croissance
NaCl	10	Maintien de la pression osmotique
Ampicilline	0,1	Antibiotique
X-gal	40	Substrat synthétique dont le produit de dégradation par la $\beta$ -galactosidase est bleu
Agar	15	Gélifiant

**DOCUMENT 6 : Organigramme du protocole d'extraction-purification de la protéase**



**DOCUMENT 7 : Concentration d'activité catalytique de la protéase à l'issue de l'étape 3 du protocole d'extraction-purification**

Teneur en sulfate d'ammonium (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (%)	Concentration d'activité catalytique (en U · mL <sup>-1</sup> d'extrait enzymatique)	
	Fraction C	Fraction D
40	15,30	19,58
60	38,40	8,85
80	62,84	Absence

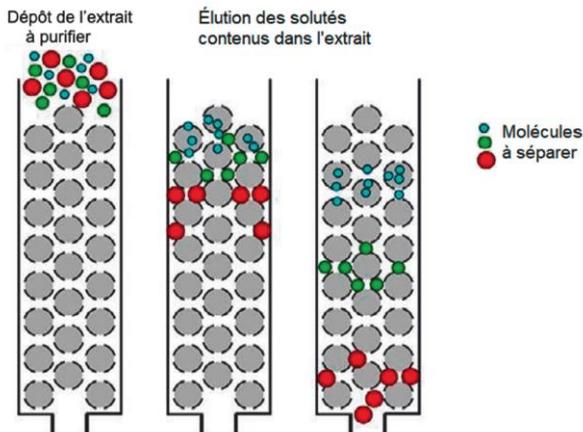
## **DOCUMENT 8 : Concentration d'activité catalytique de la protéase à l'issue de l'étape 3 du protocole d'extraction-purification**

Les techniques chromatographiques permettent de purifier des biomolécules d'intérêt.

Pour purifier les protéines, deux techniques sont particulièrement utilisées :

- La chromatographie d'échange d'ions permet de retenir la protéine en fonction de sa charge. La colonne chromatographique est remplie d'une résine qui peut être chargée positivement (échangeuse d'anions) ou négativement (échangeuse de cations).
- La chromatographie d'exclusion ou de gel-filtration permet de séparer les protéines en fonction de leur masse moléculaire. Le maillage de la résine est choisi en fonction de la masse moléculaire de la protéine d'intérêt à purifier :

Type de résine	Sephadex G10	Sephadex G25	Sephadex G75	Sephadex G100
Intervalle de fractionnement des protéines (en Da)	700	1 000 - 5000	3 000 - 7000	4 000 - 150 000



## **DOCUMENT 9 : Purification de la protéase par deux techniques différentes de chromatographie**

	$m_{\left(\begin{array}{l} \text{protéines totales ;} \\ \text{volume sol enzymatique} \end{array}\right)}$ ( $\mu\text{g}$ )	$z_{\left(\begin{array}{l} \text{protéase ;} \\ \text{volume sol enzymatique} \end{array}\right)}$ (U)
Protéines purifiées par chromatographie par gel filtration	3,22	680
Protéines purifiées par chromatographie échangeuse d'ions	0,66	522

### **Données**

$m$  = masse de protéines obtenue dans la fraction étudiée

$z$  = activité enzymatique totale en protéase pour l'ensemble de la fraction

$z_{sp}$  = activité spécifique : activité enzymatique totale rapportée à une masse de protéines

$$z_{sp(\text{protéase ; sol enzymatique})} = \frac{z_{(\text{protéase ; volume sol enzymatique})}}{m_{(\text{protéines totales ; vol sol enzymatique})}}$$

## **DOCUMENT 10 : Documentation à propos de la réglementation encadrant les modifications génétiques chez les organismes vivants**

### **Réglementation sur les OGM obtenus par transgénèse**

*D'après le manuel du Haut Conseil des Biotechnologies sur l'utilisation confinée d'OGM, consulté sur le site internet du 3RB, esst-inrs.fr*

La réglementation sur les OGM concerne actuellement plusieurs techniques de modification génétique comprenant notamment les techniques de recombinaison de l'acide nucléique par insertion, injection de molécules d'ADN ou d'ARN produites en dehors d'un organisme. La fusion de cellules est également considérée comme un OGM.

Toutes ces techniques aboutissent à l'incorporation d'une information génétique étrangère dans un hôte dans lequel elle n'est pas présente à l'état naturel. C'est la raison pour laquelle leur utilisation est contrôlée.

En effet, la réglementation est apparue nécessaire après l'émergence de risques réels ou supposés pour la santé et l'environnement.

## **Mutagenèse dirigée grâce au système CRIPR-Cas9**

*D'après Sciences et Avenir, septembre 2020*

La mutagenèse désigne un ensemble de techniques destinées à obtenir des mutations génétiques chez un organisme vivant. Elle consiste à introduire dans la cellule un matériel génétique étranger pour y provoquer une mutation recherchée sans que le matériel génétique introduit ne demeure à long terme dans l'organisme.

CRISPR-Cas9, découverte chez les bactéries, est une machine moléculaire qui cible un endroit précis du génome et coupe l'ADN. Les biologistes utilisent aujourd'hui ces "ciseaux moléculaires" pour corriger des gènes défectueux. Cette méthode pourrait corriger des maladies génétiques comme la myopathie de Duchenne. La méthode n'est cependant pas exempte de risques comme la genèse des mutations indésirables ou encore la survenue de cancers (d'après *Nature Medicine*)

## **Pour le conseil d'État, les organismes obtenus par mutagenèse doivent respecter la réglementation OGM**

*D'après : Conseil d'État (conseil-etat.fr), février 2020*

Le Conseil d'État juge que les organismes obtenus au moyen des techniques de mutagenèse développées depuis l'adoption de la directive de 2001 doivent être soumis aux obligations imposées aux OGM. Il précise que tel est le cas non seulement de la mutagenèse dirigée mais aussi de la mutagenèse aléatoire in vitro, utilisée notamment pour rendre tolérantes aux herbicides des plantes comme le tournesol ou le colza. En revanche, les variétés obtenues au moyen de techniques plus anciennes, dont la sécurité est avérée depuis longtemps, ne sont pas soumises à ces obligations.

**DÉMARCHE D'IDENTIFICATION D'UN AGENT PATHOGÈNE**

*Durée : 3 heures – Coefficient 7*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé*

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

En raison de la crise sanitaire, des aménagements ont été exceptionnellement proposés pour cette session 2022. L'évaluation portait sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.

Les questions du sujet mobilisaient ces compétences et permettaient de les évaluer. Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter était proposé au candidat.

**Compétence \*C1 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par un astérisque **Q1\***, **Q3\***, **Q8\*** et **Q12\***.

**Compétence C2 :**

Les questions **Q6** et **Q10** sont obligatoires.

**Compétence \*\*C3 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par deux astérisques **Q4\*\***, **Q11\*\***, **Q13\*\*** et **Q14\*\***.

**Compétence \*\*\*C4 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par trois astérisques **Q2\*\*\***, **Q5\*\*\***, **Q7\*\*\*** et **Q9\*\*\***.

**Compétence C5 :**

Les questions **Q15** et **Q16** 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.

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

En France, plus de 8 000 cas de méningites sont recensés chaque année. Une méningite est une inflammation des membranes appelées méninges qui enveloppent le cerveau et la moelle épinière et qui délimitent une cavité dans laquelle se trouve le liquide céphalorachidien (LCR). En cas de méningite, le LCR, normalement stérile et acellulaire, est contaminé par un agent infectieux, virus ou bactérie.

Un patient se présente aux services des urgences avec les symptômes caractéristiques d'une méningite : une raideur de la nuque associée à une forte fièvre ainsi qu'une photophobie (sensibilité oculaire à la lumière). La méningite nécessite la mise en place d'un traitement rapide, faute de quoi elle peut provoquer des séquelles neurologiques graves, voire le décès du patient.

L'identification de l'agent biologique responsable de la maladie est indispensable, d'une part, pour traiter le patient et, d'autre part, pour mettre en place les mesures de prévention visant à limiter la propagation de la maladie.

<b>Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)</b>
--

L'objectif de cette étude est de procéder à l'identification de l'agent pathogène responsable de la méningite du patient.

Pour cela, plusieurs étapes sont nécessaires :

1. Identification de la nature de l'agent infectieux, bactérie ou virus, par dosage enzymatique du lactate ;

2. Identification du genre responsable de l'infection grâce à la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) pour un diagnostic précoce ;
3. Identification du sérotype responsable de l'infection grâce à la technique de MAT (Microscopic Agglutination Test ou Test Microscopique d'Agglutination) pour un diagnostic plus précis.

## 1. DOSAGE ENZYMATIQUE DU LACTATE

Lors du diagnostic d'une méningite, il faut identifier l'agent responsable de la pathologie afin de choisir un traitement adapté.

	Éléments présents dans le LCR	Traitement
Infection virale	Génome viral ou particules virales	Antiviraux
Infection bactérienne	Bactéries ou métabolites bactériens	Antibiothérapie

Le dosage enzymatique du lactate dans le LCR est un test rapide qui permet de distinguer l'origine de la méningite, virale ou bactérienne. Le **document 1** rappelle, sous forme d'un schéma, les deux principales voies métaboliques énergétiques des bactéries pathogènes.

**Q1\***. (C1) Sachant que le LCR contient peu de dioxygène, identifier la voie métabolique utilisée par des bactéries localisées dans le LCR.

**Q2\*\*\***. (C4) Argumenter l'intérêt du dosage du lactate pour identifier la nature de l'agent pathogène.

Le **document 2** présente un extrait de la documentation technique fournie avec le coffret de dosage enzymatique du lactate.

**Q3\***. (C1) Établir l'équation de la réaction principale et indicatrice à partir du principe exposé dans le **document 2** et en déduire le sens d'évolution de l'absorbance.

Les mesures d'absorbance effectuées sur la solution étalon de contrôle permettent d'obtenir une concentration :

$$c_{(\text{lactate ; étalon contrôle})} = 0,92 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

**Q4\*\*.** (C3) Exploiter les résultats obtenus pour la solution de contrôle et conclure sur l'acceptabilité des résultats en s'appuyant sur le **document 2**.

Une méningite bactérienne est caractérisée par une concentration en lactate dans le LCR supérieure à  $3,20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Q5\*\*\*.** (C4) Argumenter la nécessité d'effectuer une dilution au  $1/10^e$  de l'échantillon en cas de suspicion d'une méningite bactérienne.

L'analyse permet d'obtenir les résultats présentés dans le **document 2**.

**Q6.** (C2) Calculer la valeur de la concentration en quantité de matière obtenue.

**Q7\*\*\*.** (C4) Argumenter alors le type de traitement que le médecin pourrait administrer au patient.

## **2. IDENTIFICATION PAR PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) DU GENRE BACTÉRIEN RESPONSABLE DE L'INFECTION**

Le médecin informe le laboratoire que le patient ne répond pas au traitement de première intention et qu'il suspecte une méningite à leptospire. Cette méningite moins fréquente répond bien à un autre traitement antibiotique à base d'amoxicilline. Il demande alors de rechercher la bactérie dans le liquide céphalo-rachidien par PCR.

C'est le gène de virulence *lfb1* de leptospire qui est recherché. Pour cela, des amorces spécifiques (L1 et L2) de ce gène sont utilisées.

Le **document 3** présente le principe de la recherche de leptospire par PCR.

**Q8\*.** (C1) Analyser le schéma pour nommer chacune des étapes A, B et C de la PCR, en expliquant le rôle de la température.

**Q9\*\*\*.** (C4) Argumenter, parmi les deux propositions, le choix du couple d'amorces L1/L2 utilisé pour amplifier la séquence du gène de virulence de leptospire.

**Q10.** (C2) Montrer par le calcul que la taille du fragment d'ADN amplifié est de 331 paires de bases.

Les échantillons obtenus après PCR sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose. Le **document 4** présente le plan de dépôt des échantillons.

**Q11\*\*.** (C3) Reproduire et compléter le schéma de l'électrophorégramme attendu pour les puits 2, 3 et 4, sachant que le patient est infecté par leptospire. Indiquer sur le schéma le sens de migration et la position des électrodes.

### **3. IDENTIFICATION PAR TEST MICROSCOPIQUE D'AGGLUTINATION DE LA SOUCHE BACTÉRIENNE RESPONSABLE DE L'INFECTION**

Une fois la présence d'une bactérie du genre *Leptospira* confirmée par PCR, un laboratoire de référence est sollicité pour réaliser une analyse plus approfondie dans un cadre de recherche pour identifier le sérotype de la bactérie infectieuse grâce aux anticorps du patient.

Pour cela, le laboratoire de référence réalise un test de MAT (Test Microscopique d'Agglutination) dont le principe et les résultats sont présentés dans le **document 5**.

**Q12\*.** (C1) Expliquer le rôle du témoin d'efficacité à partir de sa composition.

**Q13\*\*.** (C3) Réaliser un schéma annoté de l'édifice moléculaire présent dans le puits du témoin d'efficacité.

**Q14\*\*.** (C3) Analyser les résultats obtenus pour les témoins puis les résultats obtenus avec les différentes souches de leptospire et proposer une conclusion quant au sérotype de la souche incriminée.

**Q15.** (C5) Rassembler l'ensemble des résultats sous forme de logigramme pour présenter la démarche de cette étude.

<b>Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)</b>
---

Le patient atteint de leptospirose a été traité avec des antibiotiques dont l'un est l'amoxicilline. Il existe, par ailleurs, un vaccin qui est proposé uniquement aux personnes exerçant des professions à risque, comme les agents de propreté urbaine et les pompiers-plongeurs.

Le **document 6** présente trois ressources :

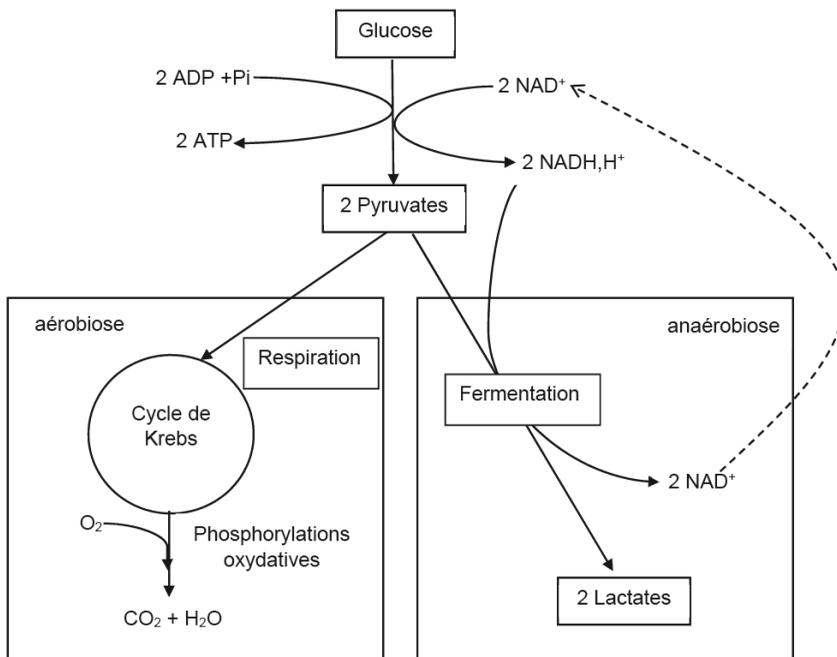
- Un communiqué de presse de l'HAS présentant les arguments en faveur d'une obligation vaccinale contre Sars-Cov2 pour les professionnels de santé ;
- Une présentation des enjeux de santé publique liés à la leptospirose ;
- Une présentation des moyens de lutte contre cette maladie.

**Q16.** (C5) Présenter les arguments qui permettent d'expliquer pourquoi en France le vaccin contre la leptospirose n'est pas obligatoire.

### DOCUMENT 1 : Métabolisme énergétique de bactéries pathogènes

Contrairement aux virus, les bactéries disposent d'une activité métabolique propre et peuvent ainsi produire l'énergie dont elles ont besoin.

Les bactéries produisent leur énergie sous forme d'ATP à partir du glucose selon deux voies métaboliques principales, la fermentation et la respiration.



## DOCUMENT 2 : Extrait de la fiche technique du dosage enzymatique du lactate.

Source : Notice du kit enzymatique de dosage de l'acide L-lactique - <https://biosentec.fr/>

### a- Principe

Réaction principale et indicatrice : Le dosage du lactate est basé, dans un premier temps, sur son oxydation en pyruvate grâce à l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) et en présence du coenzyme NAD<sup>+</sup>. L'absorbance est mesurée à 340 nm.

Réaction auxiliaire : Dans un deuxième temps, pour que la réaction indicatrice soit totale, le pyruvate obtenu réagit avec du glutamate pour former de l'alanine et du 2-oxoglutarate en présence de l'enzyme glutamate pyruvate transférase (GPT).

Limites de validité du dosage :  $c_{(\text{lactate}; \text{échantillon})} = (0,30 - 2,22) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

### b- Procédure

Réaliser une dilution préalable au 1/10<sup>e</sup> de l'échantillon biologique clair (plasma, LCR...).

	Blanc	Essai	Contrôle
Solution tampon pH 10	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Solution de NAD <sup>+</sup>	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL
Solution de GPT 1100 U	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL
Eau	1,0 mL	0,9 mL	0,9 mL
Échantillon dilué	0	0,1 mL	0
Solution de contrôle à 1,2 mmol·L <sup>-1</sup>	0	0	0,1 mL
Agiter et lire l'absorbance à 340 nm	A1	A1	A1
Solution de LDH 3800 U	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL
Agiter et lire l'absorbance à 340 nm après 30 min d'incubation	A2	A2	A2

### c- Résultat du dosage du lactate

		Blanc	Essai
Absorbances mesurées à 340 nm	A 1	0,058	0,061
	A 2	0,059	0,683

Calcul

$$c_{(\text{Lactate}; \text{échantillon})} = 0,645 \times \Delta A \times Fd$$

Fd = facteur de dilution

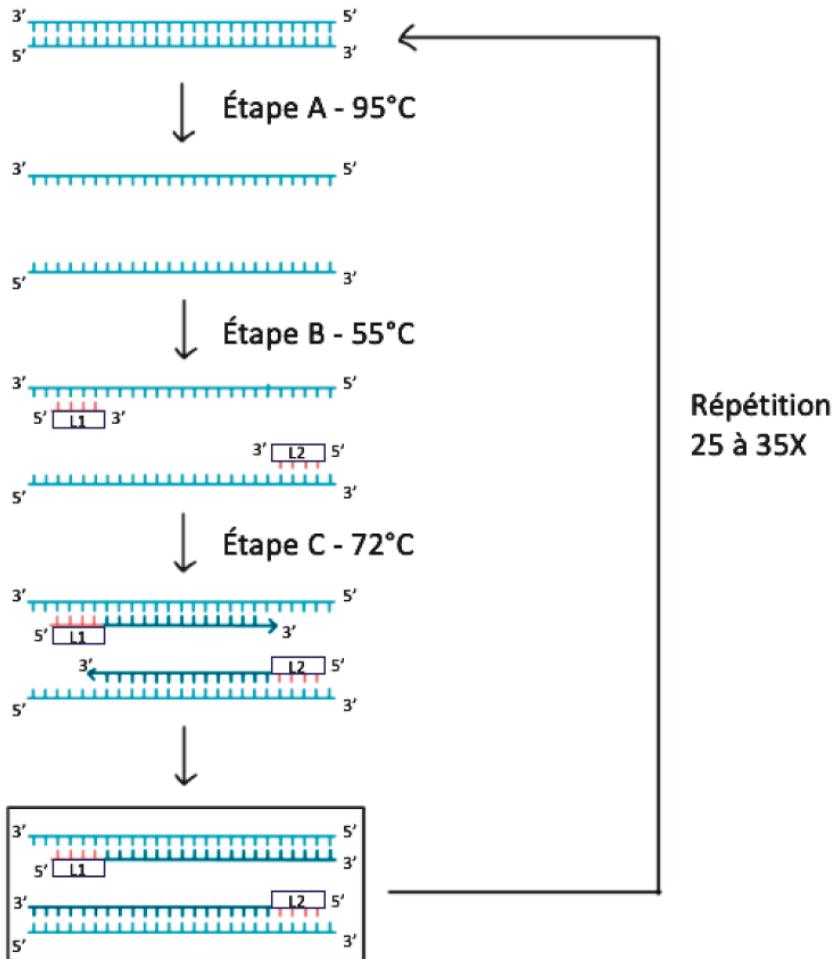
Les réactifs du coffret doivent être validés par le dosage de l'étalon de contrôle.

Limites d'acceptabilité du contrôle : (0,86 - 1,47) mmol · L<sup>-1</sup>

## DOCUMENT 3 : Recherche de leptospire par PCR

### a- Principe de la PCR dans la recherche de leptospire

Source : [khanacademy.org](http://khanacademy.org)



## b- Séquence amplifiée du gène *lfb1* et amorces utilisées

La séquence est donnée dans le sens 5' vers 3'. La position des amorces L1 et L2 est indiquée en gras et souligné :

```
1   AACTAACGCT GGC GCGCGT CTTAAACATG CAAGTCAAGC GGAGTAGCAA TACTCAGCGG
61  CGAACGGGTG AGTAACACGT GGGTAATCTT CCTCTGAGTC TGGGATAACT TTCCGAAAGC
121 GAAGCTAATA CTGGATGGTC CCGAGAGATC ATAAGATTTT TCGGGTAAAG ATTTATTGCT
181 CGGAGATGAG CCCGCGTCCG ATTAGCTAGT TGGTGAGGTA AAGGCTCACC AAGGCGACGA
241 TCGGTAGCCG GCCTGAGAGG GTGTTGCGCC ACAATGGAAC TGAGACACGG TCCATACTCC
301 TACGGGAGGC AGCAGTTAAG AATCTTGCTC AATGGGGGGA ACCTGAAGC AGCGACGCCG
361 CGTGAACGAT GAAGGCTTC GGATTGTAAA GTTCAGTAAG CAGGGAAAAA TAAGCAGCAA
```

Couple A	Amorce L1	5' CTCAGCGGCGAACG 3'
	Amorce L2	5' CGATGAAGGTCTTCGGA 3'
Couple B	Amorce L1	5' CTCAGCGGCGAACG 3'
	Amorce L2	5' TCCGAAGACCTTCATCG 3'

## DOCUMENT 4 : Résultats de l'électrophorèse en gel d'agarose des produits d'amplification par PCR

### a - Plan de dépôt

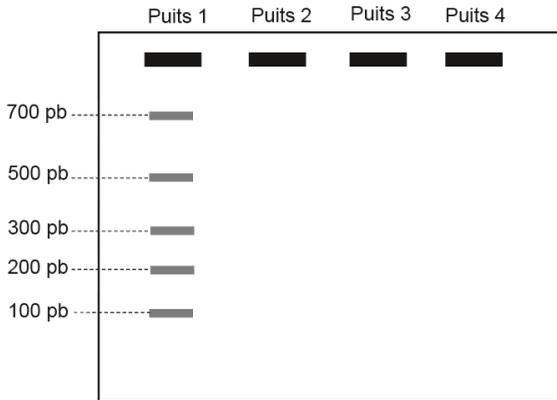
Puits 1 : Dépôt d'un marqueur de taille moléculaire contenant des fragments d'ADN de 100, 200, 300, 500 et 700 paires de bases (pb).

Puits 2 : Dépôt à partir du tube « témoin positif » dans lequel a été réalisée la PCR en présence du mélange réactionnel et de l'ADN d'une souche de leptospire contenant le gène recherché.

Puits 3 : Dépôt à partir du tube « témoin négatif » dans lequel a été réalisée la PCR en présence du mélange réactionnel sans ADN matrice.

Puits 4 : Dépôt à partir du tube « patient » dans lequel a été réalisée la PCR en présence du mélange réactionnel et du LCR du patient.

## b - Schéma de l'électrophorégramme après migration à reporter et compléter



### DOCUMENT 5 : Recherche d'anticorps par un test Microscopique d'Agglutination

#### a - Principe

Cette technique consiste à incuber le sérum du patient avec différentes souches de leptospire, afin d'identifier le sérotype de *Leptospira*. L'agglutination est visualisée à l'aide d'un microscope à fond noir.

#### b - Procédure opératoire

Un prélèvement sanguin est centrifugé pendant 15 minutes à 3000 rpm. Le surnageant, sérum à tester, est récupéré.

#### Réactifs

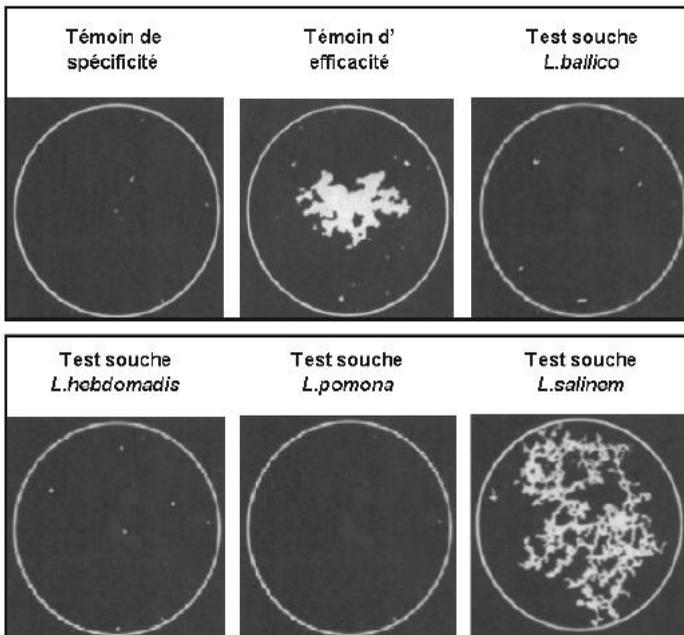
- suspensions bactériennes de *Leptospira* de différents sérotypes ;
- sérum ne contenant pas d'anticorps spécifique anti-*Leptospira* ;
- solution d'anticorps dirigée contre le genre *Leptospira* et reconnaissant tous les sérotypes.

Dans un puits de microplaque à fond plat introduire :

	Témoin de spécificité	Témoin d'efficacité	Échantillon
Sérum sans anticorps anti- <i>Leptospira</i> (µL)	50		
Anticorps anti- <i>Leptospira</i> (µL)		50	
Sérum à tester contenant les anticorps du patient (µL)			50
Suspension bactérienne de <i>Leptospira</i> (µL) de concentration = $2 \cdot 10^8$ cellules·mL <sup>-1</sup> Le sérotype bactérien utilisé est, selon le puits : - <i>L. ballico</i> - <i>L. hebdomadis</i> - <i>L. pomona</i> - <i>L. salinem</i>	50	50	50
Agitation douce pendant 2 heures à 30 °C			
Observation au microscope à fond noir au grossissement x400			

### c - Résultats

Un résultat est dit positif lorsqu'un grand agglutinat blanc apparaît dans le champ d'observation étudié.



Source : Adapté de MARGA et al., *Current Protocols in Microbiology*, 2014

## **DOCUMENT 6 : Obligation vaccinale contre Sars-Cov2 pour les professionnels au contact de personnes vulnérables**

*Communiqué de presse de l'HAS du 16 juillet 2021*

Décider de rendre obligatoire une vaccination nécessite, outre d'avoir des connaissances étayées sur l'efficacité et la sûreté des vaccins, de faire la balance entre plusieurs droits fondamentaux (la liberté de choix, préservation des personnes, droit à la santé) et des considérations impérieuses de santé publique qui sont nécessaires pour justifier de telles obligations (analyse de la situation sanitaire, de la dynamique de l'épidémie et surtout de l'efficacité attendue de la mesure).

La haute autorité de la santé (HAS) prend notamment en considération :

- L'évolution défavorable du contexte épidémique : diffusion rapide d'un ou de plusieurs variants, augmentation préoccupante du nombre de cas (...)
- L'efficacité des vaccins à ARNm (...) sur la prévention des formes graves de Covid-19 vis-à-vis des différents variants circulants en France (...)
- Le niveau insuffisant de la couverture vaccinale des professionnels au contact des plus âgés et des professionnels exerçant en établissement de santé (...)
- Les risques liés à la contamination des professionnels au contact des personnes vulnérables (...)

### **La leptospirose, maladie émergente**

*Adapté du site Santé Publique France*

La leptospirose est une zoonose émergente dans le monde, y compris en Europe. Elle est responsable de 1 million de contaminations dans le monde et de 60 000 décès. Elle reste largement sous-estimée du fait de l'absence de symptômes spécifiques et d'un manque de sensibilisation au sein de la communauté médicale. La France est un des pays industrialisés qui a l'incidence la plus élevée (incidence annuelle comprise entre 0,5 et 1 cas sur 100 000 habitants). La leptospirose est endémique dans de nombreux départements et collectivités d'outre-mer, où son incidence peut être 50 fois plus élevée qu'en France métropolitaine.

Les bactéries responsables de la maladie appartiennent au genre *Leptospira* qui comprend 22 espèces, dont 10 d'entre elles sont pathogènes. La plupart des cas sont sporadiques, dus à un contact entre une muqueuse lésée et un animal infecté ou une eau contaminée. Il n'y a pas de transmission inter-humaine de la maladie, contrairement à d'autres méningites très

contagieuses comme les méningites à méningocoques. Les professions en contact avec des eaux contaminées ou des animaux ainsi que les personnes pratiquant régulièrement des loisirs nautiques constituent une population à risque. Cependant, un certain nombre de mesures de prévention sont susceptibles de diminuer le risque d'exposition en particulier les équipements de protection individuel.

## **Lutte contre la leptospirose**

*Adapté du site Vaccination INFO Service.fr*

Le vaccin contre la leptospirose en France est uniquement efficace contre le sérotype *Icterohemorrhagiae*, qui est responsable d'environ 30 % des cas de leptospiroses depuis une dizaine d'années en métropole. Ce vaccin est proposé aux populations à risque et non obligatoire contrairement aux vaccins contre des souches responsables d'autres méningites comme *Haemophilus influenzae* de type B et les méningocoques C. Le schéma vaccinal proposé est très lourd avec 3 injections initiales puis des rappels tous les 2 ans. Un traitement antibiotique existe, il est efficace sur tous les sérotypes et sur les formes graves de la maladie, à condition d'être pris précocement. On peut par exemple utiliser AMOXICILLINE BIOGARAN® qui est un antibiotique à large spectre (qui a un effet bactériostatique ou bactéricide sur de très nombreuses bactéries). Le principe actif est l'amoxicilline, qui appartient à un groupe de médicaments appelés « pénicillines ».

**BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES**  
**SUJET 4 – Polynésie – MAI 2022**

**LA RUMINOCOCCINE C1 CONTRE LA RÉSISTANCE AUX  
ANTIBIOTIQUES**

*Durée : 3 heures – Coefficient 7*

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé*

L'évaluation s'effectue par compétences. Les compétences sont indiquées entre parenthèses au niveau de chaque question et mobilisent des concepts et savoir-faire indiqués dans les programmes.

En raison de la crise sanitaire, des aménagements ont été exceptionnellement proposés pour cette session 2022. L'évaluation portait sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.

Les questions du sujet mobilisaient ces compétences et permettaient de les évaluer. Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter était proposé au candidat.

**Compétence \*C1 :**

Le candidat choisit deux questions parmi les trois questions identifiées par un astérisque **Q1\***, **Q4\***, et **Q15\***.

**Compétence C2 :**

Les questions **Q2**, **Q7** et **Q8** sont obligatoires.

**Compétence \*\*C3 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par deux astérisques **Q5\*\***, **Q9\*\***, **Q11\*\*** et **Q13\*\***.

**Compétence \*\*\*C4 :**

Le candidat choisit trois questions parmi les quatre questions identifiées par trois astérisques **Q3\*\*\***, **Q6\*\*\***, **Q12\*\*\*** et **Q14\*\*\***.

**Compétence C5 :**

Les questions **Q10** et **Q16** 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	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Élaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit
<b>3 points</b>	<b>3 points</b>	<b>3 points</b>	<b>5 points</b>	<b>5 points</b>	<b>1 point</b>

« L'Organisation Mondiale de la Santé alerte sur le fait que la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques risque de provoquer la mort de 10 millions de personnes par an à l'horizon 2050. Différents types de molécules sont étudiés afin de proposer de nouveaux médicaments. La classe des bactériocines, peptides antimicrobiens produits par des bactéries, est une piste de recherche. » (Source : CNRS, octobre 2019)

La ruminococcine C1 (RumC1) est un peptide antimicrobien naturellement produit par *Ruminococcus gnavus*, bactérie présente dans le microbiote intestinal de 90 % des individus sains. Ce peptide pourrait constituer une piste de traitement.

In vivo, cette molécule est produite en très petite quantité. Pour l'étudier et tester sa possible utilisation thérapeutique contre des infections bactériennes du tube digestif, des chercheurs ont mis au point un procédé de production *in vitro* du peptide RumC1.

<b>Partie I : Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2h30)</b>
--

La production du peptide RumC1 et l'étude de son possible effet thérapeutique se déroulent en 5 étapes :

- vérification des conditions de culture de la souche productrice ;
- transformation de la souche et sélection de clones bactériens recombinés ;
- extraction et purification du peptide RumC1 ;
- vérification de l'effet antibactérien *in vitro* du peptide RumC1 ;
- étude de l'utilisation possible du peptide RumC1 comme traitement thérapeutique.

## 1. VÉRIFICATION DES CONDITIONS DE CULTURE DE LA SOUCHE PRODUCTRICE

Les chercheurs souhaitent développer un procédé optimisé pour la production du peptide RumC1. Pour cela, ils étudient d'une part la culture directe d'une souche de *Ruminococcus gnavus* (*R. gnavus*) produisant naturellement le peptide et, d'autre part, la culture d'une souche d'*Escherichia coli* (*E. coli*) pouvant produire le peptide après transformation génétique.

Les critères de choix de la stratégie sont les suivants :

- culture facile à mettre en œuvre au laboratoire ;
- coût minimum du milieu de culture ;
- vitesse spécifique de croissance élevée.

Le **document 1** présente les conditions de culture des deux souches bactériennes.

**Q1\***. (C1) Comparer les milieux et les paramètres d'incubation des deux souches bactériennes et présenter l'intérêt de produire RumC1 par *E. coli*.

**Q2**. (C2) Déterminer la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle ( $\mu_{expo}$ ) pour *E. coli*.

**Q3\*\*\***. (C4) Argumenter en faveur du choix de la bactérie *E. coli* pour la production de RumC1.

## 2. TRANSFORMATION DE LA BACTÉRIE *E. COLI*

Pour produire le peptide RumC1 dans la souche *E. coli* sélectionnée, il faut :

- amplifier la séquence codant le gène *rumC1* à partir de l'ADN génomique de la bactérie *Ruminococcus gnavus*. Cette séquence portera, de part et d'autre, un site de restriction *SmaI* ;
- digérer le plasmide pETM-40 et la séquence amplifiée du gène *rumC1* par l'enzyme de restriction *SmaI* ;
- insérer le gène *rumC1* dans le plasmide pETM-40 ;
- transformer les bactéries *E. coli* par le plasmide pETM-40 recombiné.

Le **document 2** présente la carte du plasmide natif pETM-40.

**Q4\***. (C4) Réaliser un schéma simplifié et annoté du plasmide recombiné avec le gène *rumC1* issu de l'étape d'amplification.

**Q5\*\***. (C3). Expliquer le principe de sélection des bactéries transformées à l'aide du gène de résistance à la kanamycine présent sur le plasmide pETM-40.

Sur un milieu de culture utilisé pour sélectionner les bactéries transformées, on observe après culture deux types de colonies : fluorescentes et non fluorescentes.

**Q6\*\*\*.** (C4) Montrer que les colonies non fluorescentes sont celles qui peuvent être utilisées pour la poursuite du processus de production du peptide RumC1.

### **3. EXTRACTION, PURIFICATION ET QUANTIFICATION DU PEPTIDE RumC1 OBTENU**

Afin d'obtenir une quantité importante de peptide RumC1, les bactéries *E. coli* recombinées sont mises en culture. Le peptide RumC1 est ensuite extrait des bactéries, purifié et quantifié.

Le **document 3** présente le dosage de RumC1 par la méthode du biuret. Le volume de fraction purifiée contenant le peptide RumC1 est de 30 mL.

**Q7.** (C2) Calculer la concentration en masse de peptide RumC1 dans la fraction purifiée ( $\rho_{\text{Rum C1}}; \text{fraction purifiée}$ ) à l'aide de l'équation aux valeurs numériques.

**Q8.** (C2) En déduire la masse de peptide RumC1 dans la fraction purifiée.

**Q9\*\*.** (C3) Conclure sur l'efficacité de la stratégie de production du peptide RumC1 choisie par les chercheurs.

**Q10.** (C5) Présenter, sous la forme d'un logigramme, les différentes étapes de la démarche suivie par les chercheurs pour produire le peptide RumC1 à partir des bactéries transformées.

### **4. VÉRIFICATION DE L'EFFET ANTIBACTÉRIEN DU PEPTIDE RumC1 SUR DIFFÉRENTES SOUCHES BACTÉRIENNES**

L'étude présentée dans le **document 4** évalue l'effet antibactérien de RumC1 sur différentes souches bactériennes.

**Q11\*\*.** (C3) Déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de RumC1 pour les différentes souches testées et en déduire les souches sur lesquelles la molécule présente une activité antimicrobienne.

Les agents antibactériens peuvent être classés en deux catégories en fonction de leur spectre d'action : spectre large ou spectre étroit.

Les agents antibactériens à spectre large agissent à la fois sur les bactéries Gram + et les bactéries Gram -.

**Q12\*\*\*.** (C4) Argumenter la catégorie à laquelle le spectre d'action du peptide RumC1 peut être associé.

## 5. ÉTUDE DE L'UTILISATION POSSIBLE *IN VIVO* DU PEPTIDE RumC1 EN THÉRAPEUTIQUE

L'existence de propriétés antibactériennes de RumC1 permet d'envisager son utilisation en thérapeutique humaine dans le cadre d'infections du tube digestif. Pour permettre son utilisation, il faut vérifier deux aspects :

- l'absence de toxicité pour le patient ;
- l'activité effective de RumC1 dans le tube digestif.

L'effet toxique de RumC1 a été étudié sur différents types de cellules (intestinales et gastriques) et les résultats sont présentés dans le **document 5**.

**Q13\*\*.** (C3) Interpréter les résultats présentés dans le **document 5**.

L'activité du peptide RumC1 après exposition à différents pH et enzymes digestives a été testée pour évaluer son efficacité antimicrobienne lors de son passage dans différents organes de l'appareil digestif.

Le **document 6** présente des éléments nécessaires à la compréhension d'une étude menée sur l'activité antimicrobienne du peptide RumC1 dans des conditions similaires à celles du tube digestif.

**Q14\*\*\*.** (C4) Argumenter le choix des conditions expérimentales de chaque expérience présentée dans le **document 6**.

**Q15\*.** (C1) Analyser les résultats présentés dans le **document 6** et conclure.

<b>Partie II : Question de synthèse (durée indicative 30 min)</b>
---

L'antibiorésistance est un phénomène mondial préoccupant en constante augmentation. Le **document 7** présente trois ressources portant sur l'antibiorésistance dans les élevages ainsi que sur des actions gouvernementales ou européennes mises en place pour lutter contre ce phénomène.

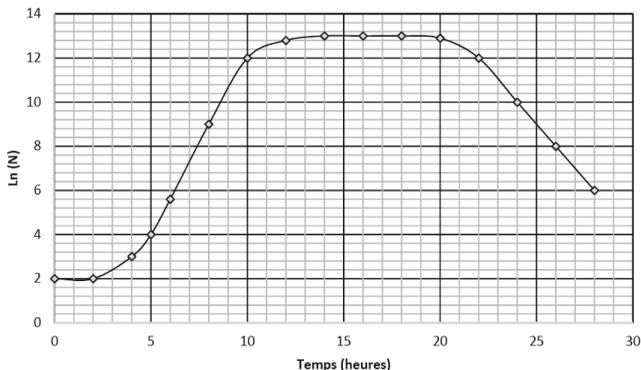
**Q16.** (C5) Montrer l'intérêt de la mise en place d'une nouvelle réglementation sur l'utilisation des antibiotiques dans les élevages pour limiter le phénomène d'antibiorésistance.

## DOCUMENT 1 : Étude des conditions de culture de *R. gnavus* et *E. coli*

### a- Milieux de culture et paramètre d'incubation :

Souches bactériennes	Milieu de culture utilisé	Paramètres d'incubation	Vitesse spécifique de croissance $\mu_{\text{expo}}$ (h <sup>-1</sup> )
<i>E. coli</i>	<b>Bouillon LB :</b> Peptones tryptique-soja (10 g) Extrait de levure (5 g) Chlorure de sodium (10 g) Eau distillée (qsp 1 L) <b>Coût du milieu: 1,20 €/Litre</b>	Culture en aérobie 37 °C	À déterminer
<i>R. gnavus</i>	<b>Bouillon Schaedler :</b> Peptones tryptique-soja (10 g) Peptones de viande (5 g) Extrait de levure (5 g) Glucose (5 g) Tampon Tris (0,75 g) : limite les variations de pH Cystéine (0,4 g) : agent réducteur consommant l'O <sub>2</sub> Hémine (0,01 g) : facteur de croissance Chlorure de sodium (1,7 g) Eau distillée (qsp 1 L) <b>Coût du milieu : 4,90 €/Litre</b>	Culture en anaérobie 37 °C	1,0

### b- Courbe de croissance d'*E. coli* :

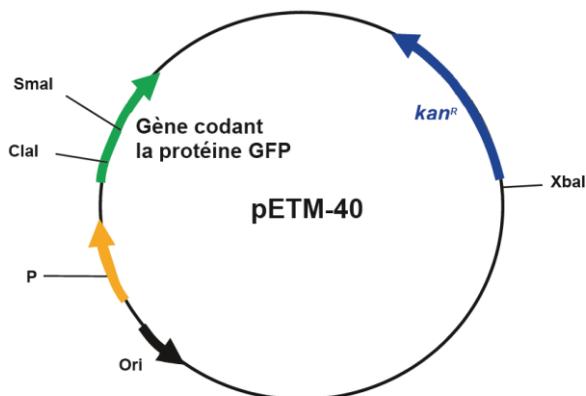


Donnée : La vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle  $\mu_{\text{expo}}$  peut être déterminée par l'équation aux grandeurs suivante :

$$\mu_{\text{expo}} = \frac{\ln(N_2) - \ln(N_1)}{t_2 - t_1} \text{ avec } N : \text{concentration en nombre de bactéries par mL}$$

## DOCUMENT 2 : Carte de restriction simplifiée du plasmide pETM-40

D'après www.embl.de



Ce plasmide comporte :

- un gène de résistance à la kanamycine : *kan<sup>R</sup>* ;
- des sites de restriction enzymatique (XbaI, ClaI, SmaI) ;
- une origine de réplication : Ori ;
- un gène codant la protéine GFP (Green Fluorescent Protein) qui est une protéine fluorescente ;
- un promoteur : P

## DOCUMENT 3 : Dosage du peptide Rum C1 dans la fraction purifiée par la méthode de Biuret

### a- Principe

En milieu alcalin, les liaisons peptidiques des protéines forment avec les ions  $\text{Cu}^{2+}$  du réactif de Gornall un complexe coloré en violet dont l'absorption, mesurée à 540 nm, est proportionnelle à la concentration en protéines. La limite de linéarité de la méthode est de  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### b- Procédure opératoire

	Blanc réactif	Étalon	Échantillon
Volume de solution étalon à $5,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (mL)	0	1	0
Volume de fraction purifiée de RumC1 (mL)	0	0	1
Volume d'eau physiologique (mL)	1	0	0
Volume de réactif de Gornall (mL) 	2	2	2
Absorbance à 540 nm (après 30 minutes)	0	0,313	0,387

### c- Équation aux grandeurs

$$\rho_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} = \frac{\rho_{(\text{protéines}; \text{solution étalon})} \times A_{\text{Étalon}}}{A_{\text{Étalon}}}$$

## DOCUMENT 4 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de RumC1 sur différentes souches bactériennes

La CMI (concentration minimale inhibitrice) est définie comme la concentration la plus faible en agent antibactérien inhibant totalement la croissance à l'œïl nu après 24 h à 48 h d'incubation à 37 °C.

Les CMI sont déterminées par une technique en microplaque en milieu liquide pour différentes souches bactériennes.

Le peptide antimicrobien RumC1 a été ajouté dans les cupules d'une microplaque à des concentrations finales allant jusqu'à 100  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Les résultats observés sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Pour être qualifiée de molécule à propriété antibactérienne vis-à-vis d'une souche donnée, la CMI doit être inférieure ou égale à 25  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

$C_{(\text{RumC1})}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,56	0,8	0,4	0,2	0,0
<b>Souches testées</b>											
<i>Clostridium difficile</i> (Gram +)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i> (Gram +)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram -)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella enterica</i> (Gram -)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram +)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

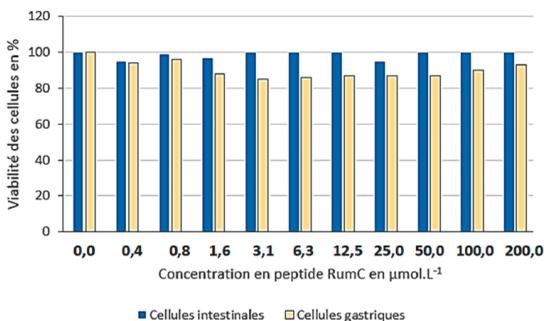
+ : croissance de la souche après 24 h à 48 h d'incubation à 37 °C

- : absence de croissance de la souche après 24 h à 48 h d'incubation à 37 °C

## **DOCUMENT 5 : Étude de l'effet toxique de RumC1**

*adapté de Steve Chiumento, thèse de doctorat, octobre 2019*

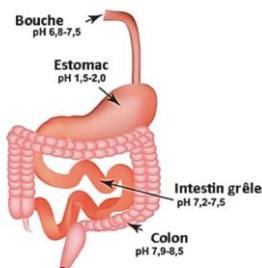
Des cellules sont mises en culture en présence de concentration croissante en peptide RumC1 et d'un réactif qui fluoresce lors de la lyse cellulaire permettant d'en déduire le pourcentage de viabilité.



**Donnée** : On considère qu'au-delà de 80 %, la survie des cellules est satisfaisante.

## DOCUMENT 6 : Étude de l'activité antimicrobienne de RumC1 dans des conditions similaires à celles du tube digestif

### a- Conditions physico-chimiques dans les organes du tube digestif



**Donnée** : La pepsine est une enzyme sécrétée dans l'estomac. La pancréatine est un mélange d'enzymes sécrétées par le pancréas et libérées dans l'intestin grêle.

### b- Étude de l'impact des conditions physico-chimiques sur l'activité antimicrobienne de RumC1

	Enzymes	pH	Température (° C)	Durée d'incubation (heures)	Activité antimicrobienne résiduelle du peptide RumC1
Expérience 1	Pepsine	2,0	37	2	100 %
Expérience 2	Pancréatine	7,3	37	2	100 %

## DOCUMENT 7 : Données sur l'antibiorésistance et les actions gouvernementales ou européennes s'y rapportant

L'Organisation Mondiale de la Santé alerte sur le fait que l'usage excessif des antibiotiques [en élevage] accélère l'apparition de résistances.

*D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, [www.who.int](http://www.who.int)*

**Nouvelle réglementation européenne sur le recours aux antibiotiques dans les élevages. Le Parlement européen limite le recours aux antibiotiques.**

*D'après AFP et [web-agri.fr](http://web-agri.fr), octobre 2018*

Le Parlement européen a adopté une nouvelle législation visant à limiter fortement le recours aux antibiotiques dans les élevages afin d'exclure les bactéries résistantes de l'alimentation humaine. [...]

Les médicaments vétérinaires ne doivent en aucun cas servir à améliorer la performance ou à compenser le non-respect de bonnes pratiques d'élevage,

affirme la nouvelle législation. Adoptée à une très large majorité, elle doit entrer en vigueur trois ans après sa promulgation, soit fin 2021 ou début 2022. [...]

Cette nouvelle législation confie aussi à la Commission Européenne le pouvoir de sélectionner les antimicrobiens qui devront être uniquement réservés aux traitements humains. Les denrées alimentaires importées devront par ailleurs respecter les normes de l'UE et les antibiotiques ne pas être utilisés pour favoriser la croissance des animaux d'élevage.

### **L'antibiorésistance, un problème commun à l'être humain et à l'animal.**

*D'après Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, novembre 2013*

L'apparition de résistance à un antibiotique a pour conséquence d'affaiblir l'efficacité de l'antibiotique dans le traitement des infections dues à la bactérie résistante chez l'animal ou l'être humain. Cette résistance peut se propager dans l'environnement, être transmise à d'autres bactéries, être à l'origine de résistances croisées à d'autres antibiotiques. [...] Le risque existe à la fois pour la santé animale et pour la santé humaine. Nous serions face à un problème de santé animale car nous ne disposerions pas de traitements efficaces pour lutter contre ces bactéries. Le problème peut alors devenir un problème de santé humaine par voie de contamination alimentaire ou par contact direct avec les animaux contaminés par des bactéries résistantes.

### **Plan Écoantibio : une stratégie pour lutter contre l'antibiorésistance.**

*D'après ANSES, rapport annuel, novembre 2020*

Le plan Écoantibio est un plan pluriannuel mis en place par le ministère en charge de l'agriculture pour lutter contre l'antibiorésistance.

Le nouveau plan Écoantibio 2017-2021 vise à maintenir dans la durée la tendance à la baisse de l'exposition des animaux aux antibiotiques. La baisse initiée depuis 2011 se poursuit et l'exposition globale des animaux a diminué de 10,9 % entre 2018 et 2019. L'exposition aux antibiotiques d'importance critique a diminué de 86,0 % pour les fluoroquinolones et de 94,1 % pour les céphalosporines de dernières générations par rapport à 2013. Cette diminution de l'exposition concerne toutes les espèces d'animaux d'élevage. Ces antibiotiques, dits « critiques », sont considérés comme particulièrement importants en médecine humaine car ils constituent une alternative et parfois la seule alternative aux antibiotiques auxquels les bactéries sont devenues résistantes pour le traitement de maladies infectieuses chez l'être humain. Pour préserver leur efficacité, le recours à ces traitements doit être limité et pertinent. C'est pourquoi leur usage en médecine vétérinaire fait l'objet d'une surveillance.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Évaluation des compétences expérimentales

### SUJET 1

Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9  
L'usage de la calculatrice est autorisé

#### CONTRÔLES AU COURS DE LA FERMENTATION D'UN VIN BIOLOGIQUE

Les viticulteurs se tournent actuellement de plus en plus vers l'agriculture biologique. Les vins biologiques peuvent être obtenus à partir de raisins fermentés par la flore naturellement présente sur les baies de raisins lors de la vendange, sans ajout de microorganismes supplémentaires. La fermentation de ce type de vin biologique nécessite un suivi étroit afin de vérifier son bon déroulement. En particulier, il faut s'assurer que les levures naturellement présentes soient suffisamment bien implantées pour réaliser la fermentation alcoolique et pour inhiber le développement de microorganismes contaminants.

Par ailleurs, une acidité volatile trop élevée peut être causée par la présence de la bactérie contaminante *Gluconobacter*. Cette bactérie est capable d'oxyder l'éthanol ou les glucides du vin en acide éthanoinique donnant au vin un goût de vinaigre.

Les indicateurs contrôlés et les critères correspondants sont rassemblés dans le tableau suivant :

Indicateurs	Critères
Concentration en nombre de levures	Population minimale de levures vivantes : $5,0 \cdot 10^7$ cellules $\cdot$ mL <sup>-1</sup>
Acidité volatile du vin	Limite maximale d'acidité volatile : 1,2 g d'acide éthanoinique par litre
Recherche de contaminants	Absence de <i>Gluconobacter</i>

Dans le cadre du suivi d'un vin biologique en début de fermentation, un laboratoire d'œnologie effectue différentes analyses :

- numération des levures vivantes;
- dosage de l'acidité volatile ;
- recherche d'un contaminant.

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La procédure opératoire de la numération des levures vivantes est donnée dans la **fiche technique 1**.

**Q1.** Identifier deux sources d'erreurs qui pourraient compromettre la qualité de la numération.

La procédure opératoire du dosage de l'acidité volatile est donnée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Réaliser le schéma du montage expérimental permettant le dosage de l'acidité volatile du distillat « D ». Ce schéma précisera le nom des réactifs et des solutions employées ainsi que le matériel de pipetage adapté au prélèvement du distillat « D ».

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier sur la copie un danger éventuel, sa nature, sa voie de transmission ou d'exposition, puis une situation exposant au danger. Proposer, le cas échéant, la ou les mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- NUMÉRATION DES LEVURES VIVANTES**

**M1.** Réaliser la numération des levures vivantes présentes dans l'échantillon « Vin ».

### **2- DOSAGE DE L'ACIDITÉ VOLATILE**

**M2.** Réaliser le dosage de l'acidité volatile du distillat « D ».

### **3. RECHERCHE DE *GLUCONOBACTER***

La recherche de *Gluconobacter* est réalisée par PCR. La procédure opératoire est présentée dans la **fiche technique 3**.

**M3.** Réaliser la préparation des témoins et de l'essai à déposer.

**M4.** Réaliser le dépôt du marqueur de taille et des 3 échantillons sur gel d'agarose.

## **EXPLOITATION DES RÉSULTATS**

### **1. NUMÉRATION DES LEVURES VIVANTES**

**Q4.** Établir l'équation aux valeurs numériques et calculer la concentration en nombre de levures vivantes dans l'échantillon « Vin »  $C_{N(\text{cellules vivantes}; \text{Vin})}$  exprimée en cellules  $\cdot \text{mL}^{-1}$ .

### **2. DOSAGE DE L'ACIDITÉ VOLATILE**

**Q5.** À partir du modèle de mesure fourni, établir les équations aux grandeurs et aux unités de la concentration en quantité de matière d'acide éthanoïque du distillat  $c_{(\text{CH}_3-\text{COOH}; D)}$  exprimée en mol  $\cdot \text{L}^{-1}$ .

→ **Faire valider par l'examineur**

**Q6.** Établir l'équation aux valeurs numériques et calculer  $c_{(\text{CH}_3-\text{COOH}; D)}$  pour chaque essai.

**Q7.** Vérifier la compatibilité métrologique des valeurs obtenues.

**Q8.** Calculer la concentration en masse d'acide éthanoïque dans le vin analysé  $\rho_{(\text{CH}_3-\text{COOH}; \text{vin})}$  exprimée en g  $\cdot \text{L}^{-1}$ .

**Q9.** Exprimer le résultat final de mesure conformément aux règles de métrologie.

### **3. RECHERCHE DE *GLUCONOBACTER***

**Q10.** À partir de l'électrophorégramme fourni, valider la manipulation à l'aide des deux témoins.

**Q11.** Analyser le résultat obtenu pour l'essai de vin.

### **4. CONCLUSION**

**Q12.** À partir des différentes analyses réalisées, conclure sur la qualité de l'échantillon de vin en expliquant le lien éventuel entre les résultats observés.

## DOSSIER TECHNIQUE

### FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Numération des levures vivantes par comptage cellulaire en hématimètre de Malassez.
- **Fiche technique 2** : Dosage de l'acidité volatile.
- **Fiche technique 3** : Recherche de *Gluconobacter* par PCR.

### DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- Fiche technique de la mise en hématimètre.
- Aide-mémoire de métrologie.
- Électrophorégramme obtenu, fourni après réalisation de T3.

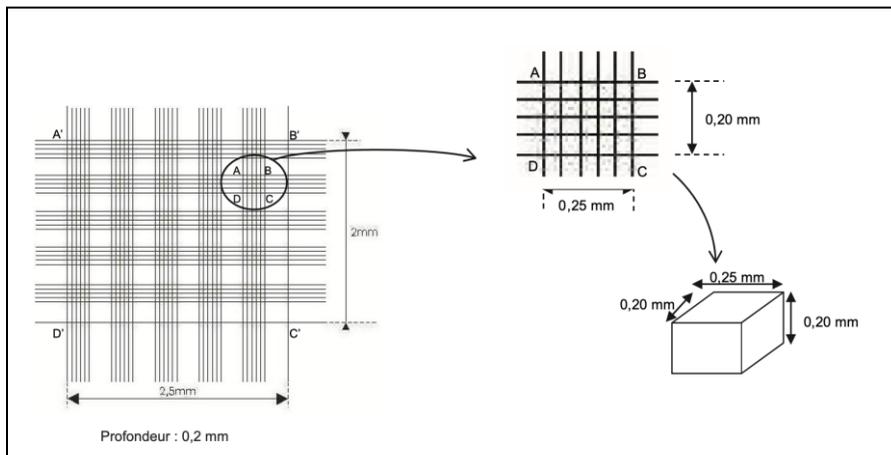
### 1- Principe de la numération des levures vivantes

Le comptage des levures vivantes est réalisé en hématimètre de Malassez en présence d'un colorant vital, le bleu de Funk. Dans ces conditions, les cellules mortes sont colorées en bleu tandis que les cellules vivantes réduisent le bleu de Funk en un dérivé incolore.

### 2- Échantillon et réactifs

- 1 mL d'échantillon de vin noté « Vin » en tube à hémolyse
- 1 mL de bleu de Funk en tube à hémolyse

### 3- Présentation du quadrillage de l'hématimètre de Malassez



Volume de la totalité de la chambre  
de comptage (rectangle A'B'C'D')

$$= 2,5 \times 2 \times 0,2 = 1 \text{ mm}^3 = 1 \text{ }\mu\text{L}$$

Volume d'une unité de comptage  
(rectangle ABCD)

$$= 0,25 \times 0,2 \times 0,2 = 0,01 \text{ }\mu\text{L}$$

### 4- Procédure opératoire

- Diluer l'échantillon de vin au  $\frac{1}{2}$  :

Introduire en tube un volume de 500  $\mu\text{L}$  de bleu de Funk et un volume de 500  $\mu\text{L}$  de l'échantillon « Vin ».

Homogénéiser et attendre 5 minutes.

- Réaliser la mise en hématimètre selon la fiche technique fournie par le centre.
- Vérifier l'homogénéité de la répartition des levures dans le quadrillage à l'objectif x 10.
- Procéder au comptage des levures vivantes à l'objectif x 40 dans un volume ( $V_{\text{comptage}}$ ) correspondant au volume de 6 unités de comptage.

### 5- Règles de comptage

- Pour les cellules chevauchant les limites d'une unité de comptage, ne compter que celles qui chevauchent deux limites sur quatre.
- Compter comme une seule cellule une levure bourgeonnante dont le bourgeon est inférieur à 50 % du volume de la cellule mère. Compter comme deux cellules une levure bourgeonnante dont le bourgeon est supérieur ou égal à 50 % du volume de la cellule mère.

### 6- Données de sécurité

Produit	Identification du danger	Mentions de danger
Bleu de Funk	 <b>ATTENTION</b>	H302 : Nocif en cas d'ingestion H319 : Provoque une sévère irritation des yeux

### 7- Données relatives à l'exploitation

$$C_N (\text{cellules vivantes ; } V_{in}) = \frac{N_{\text{cellules vivantes}}}{V_{\text{comptage}} \times d}$$

Avec :

$C_N$  : concentration en nombre de cellules par mL

$N$  : nombre total de cellules vivantes comptées

$V$  : volume total de comptage en mL

$d$  : dilution éventuelle de l'échantillon

Le résultat est arrondi à 2 chiffres significatifs, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

### 1- Principe du dosage

L'acidité volatile d'un vin correspond à l'acidité apportée par l'ensemble des acides organiques volatiles présents dans le vin. Ils sont produits par certaines levures et bactéries à partir de l'éthanol ou des glucides présents dans le raisin. On considérera que, dans un vin en début de fermentation, l'acidité volatile est exclusivement due à la présence d'acide éthanoïque  $\text{CH}_3\text{-COOH}$ .

Le dosage de l'acidité volatile est réalisé de la manière suivante :

- Distillation complète du vin afin de récupérer l'intégralité de l'acide éthanoïque qu'il contient.
- Dosage de l'acide éthanoïque : il repose sur une réaction acide/base entre l'acide éthanoïque  $\text{CH}_3\text{-COOH}$  et l'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{HO}^-$ ).

Le dosage est réalisé en présence de bleu de thymol qui vire du jaune au vert dès la première goutte d'hydroxyde de sodium en excès.

### 2- Échantillon et réactifs

Une procédure opératoire a permis d'extraire l'acide éthanoïque d'un échantillon de vin : un volume de 50 mL de vin a été distillé pour récupérer un volume de distillat « D » ajusté à 100 mL, contenant la totalité de l'acide éthanoïque de l'échantillon de vin.

- Distillat « D » à doser ;
- Solution d'hydroxyde de sodium  $\text{Na}^+$ ,  $\text{HO}^-$  de concentration :  
 $c_{(\text{HO}^- ; \text{solution NaOH})} = 0,0100 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

### 3- Procédure opératoire du dosage

- Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire :
  - $V_D = 10,0 \text{ mL}$  de distillat « D » ;
  - Environ 10 mL d'eau déminéralisée ;
  - Quelques gouttes de bleu de thymol (valeur fournie par le centre).
- Verser à la burette la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'au virage au vert de l'indicateur coloré bleu de thymol.
- Noter les deux volumes,  $V_{\text{éqNaOH}}$  obtenus à l'équivalence.

#### 4- Données relatives à l'exploitation

##### Modèle de mesure

$$c_{(CH_3COOH ; D)} \times V_D = c_{(HO^- ; solution NaOH)} \times V_{\text{éqNaOH}}$$

##### Données métrologiques

- Écart type de répétabilité :  $s_r = 0,0004 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
- Concentration en masse d'acide éthanoïque dans le vin :

$$\rho_{(CH_3COOH ; vin)} = c_{(CH_3COOH ; D)} \times M_{CH_3COOH} \times \frac{100}{50}$$

- Masse molaire de l'acide éthanoïque :  $M_{CH_3COOH} = 60,05 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Incertitude type composée :  $u_c = 0,026 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un facteur d'élargissement  $k = 2$  correspondant à un intervalle de confiance de 95 %.

## 1- Principe

L'ADN génomique des micro-organismes présents dans le vin à analyser est extrait par une méthode chimique. Puis, un fragment de 460 pb (paires de bases), appartenant au gène *GOX*, spécifique à *Gluconobacter*, est amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction).

La PCR permet d'obtenir une quantité importante de ce fragment d'ADN afin de pouvoir le détecter et de déterminer si l'échantillon de vin en cours de fermentation est contaminé par la bactérie *Gluconobacter*.

La présence d'ADN amplifié est détectée par électrophorèse en gel d'agarose. L'électrophorèse en gel d'agarose est une technique permettant de séparer et d'estimer la taille des molécules d'ADN par comparaison avec un marqueur de taille.

Placées dans un champ électrique, les molécules d'ADN migrent en fonction de leur taille. Une coloration après migration permet la mise en évidence des fragments d'ADN sous lumière ultraviolette (UV).

## 2- Conditions opératoires

### 2.1- Extraction d'ADN (déjà réalisée)

L'ADN des micro-organismes présents dans 10 mL de l'échantillon « Vin » est extrait par méthode chimique.

### 2.2- Amplification du gène *GOX* par PCR (déjà réalisée)

Le témoin d'amplification est un témoin d'efficacité en présence d'un ADN de référence. Il atteste du bon déroulement de la PCR.

#### - Composition des mélanges réactionnels

Réactifs	Témoin d'amplification (T1)	Témoin de non contamination (T2)	Essai (E)
Volume d'eau ultra-pure (µL)	35	36	35
Volume de tampon de réaction 5X (µL)	10	10	10
Volume de mélanges d'amorces 1 et 2 (µL)	2	2	2
Volume de dNTP (µL)	1	1	1
Volume d'ADN extrait du vin « V » (µL)	0	0	1
Volume d'ADN chromosomique extrait à partir d'une culture de <i>Gluconobacter</i> (µL)	1	0	0
Volume d'ADN polymérase thermorésistante ( <i>Taq pol</i> ) (µL)	1	1	1
Volume final dans le tube à PCR (µL)	50	50	50

### - Programmation du thermocycleur

Les trois étapes sont répétées trente fois :

- étape 1 : 30 secondes à 95 °C,
- étape 2 : 10 secondes à 52 °C,
- étape 3 : 60 secondes à 72 °C.

### **2.3- Détection du gène GOX par électrophorèse en gel d'agarose à 1,2 %**

#### - Échantillons et réactifs

- Les tubes issus de la PCR réalisée sur les deux témoins (tubes notés T1 et T2) et l'essai (tube noté E) ;
- Tampon de charge « TC » en microtube ;
- Marqueur de taille « M » en microtube.

#### - Préparation des témoins et de l'essai à déposer :

- Ajouter un volume de 10 µL de tampon de charge dans chaque tube issu de la PCR.
- Homogénéiser par aspiration - refoulement.

#### - Sur le gel d'agarose fourni, déposer :

- Un volume de 10 µL de marqueur de taille prêt à l'emploi ;
- Un volume de 10 µL pour les témoins et l'essai.
- La migration et la révélation du gel d'agarose sous UV seront réalisées par l'examineur.

### SUJET 2

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9*

*L'usage de la calculatrice est autorisé*

#### **CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE LORS DE LA FABRICATION ARTISANALE D'UNE BIÈRE**

Lors de la fabrication d'une bière de Noël dans une brasserie artisanale, chaque hiver, un artisan constate des dysfonctionnements dans le processus de fermentation : le taux d'alcool obtenu est notamment inférieur à celui attendu.

Au cours de ce processus de fabrication, l'amidon contenu dans l'orge est hydrolysé par l'action des enzymes de la céréale, en divers glucides dont le maltose et le glucose. Cette étape permet d'obtenir le moût de fermentation. Il est ensuiteensemencé par des levures à  $J_0$ .

Le maltose, contenu dans le moût de fermentation, est hydrolysé en glucose qui est ensuite fermenté en éthanol par les levures. Cette étape, qui se déroule dans une cuve non thermostatée, est appelée fermentation alcoolique. Elle dure de 3 à 10 jours et se fait préférentiellement entre 15 et 25 °C. Cette condition est nécessaire au développement des levures.

Après l'ajout des levures, pour suivre la qualité du processus de fermentation alcoolique d'un lot de bière, des prélèvements sont effectués dans la cuve à différents temps ( $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ ) et confiés pour analyse à un laboratoire.

Les contrôles de qualité nécessitent de :

- vérifier la pureté des prélèvements en  $J_0$  et  $J_8$  ;
- contrôler la présence de glucides par chromatographie sur couche mince (CCM) en  $J_0$  et  $J_8$  ;
- suivre la croissance de la souche de levures à quatre étapes :  $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ .

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La procédure opératoire de réalisation d'une chromatographie sur couche mince est donnée dans la **fiche technique 1**.

**Q1.** Réaliser un schéma légendé à taille réelle de la chromatoplaque en faisant apparaître la ligne de dépôt. En lien avec ce schéma, identifier une source d'erreur.

La procédure opératoire de suivi de la croissance des levures est donnée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Repérer un point critique de la manipulation permettant la mesure de l'atténuation.

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, en précisant sa nature, la voie d'exposition ou de transmission et une situation exposant au danger. Proposer si nécessaire la (les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- CONTRÔLE DE PURETÉ DES PRÉLÈVEMENTS ISSUS DE LA FERMENTATION**

**M1.** Réaliser un état frais et son observation microscopique sur le prélèvement J<sub>0</sub>.

→ **Présenter un champ microscopique à l'examineur.**

**M2.** Réaliser un isolement du prélèvement J<sub>0</sub> sur gélose Sabouraud. Puis effectuer la lecture du contrôle de pureté des deux géloses Sabouraud fournies (J<sub>0</sub> et J<sub>8</sub>).

## **2- MISE EN ÉVIDENCE DES GLUCIDES PAR CCM**

**M3.** Réaliser la chromatographie sur couche mince des prélèvements  $J_0$  et  $J_8$ . Puis effectuer la lecture de la chromatoplaque (couleur des spots, d, D).

## **3. SUIVI DE LA CROISSANCE DES LEVURES**

**M4.** Réaliser la mesure de l'atténuation des prélèvements  $J_0$ ,  $J_2$ ,  $J_4$  et  $J_8$ .

# EXPLOITATION DES RÉSULTATS

## **1- CONTRÔLE DE PURETÉ DES PRÉLÈVEMENTS ISSUS DE LA FERMENTATION**

**Q4.** Interpréter vos observations de l'état frais, et conclure sur l'éventuel contaminant de la bière.

**Q5.** Interpréter les résultats de l'observation des géloses ensemencées et conclure sur une éventuelle contamination dans la cuve de fermentation, entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **2- MISE EN ÉVIDENCE DES GLUCIDES PAR CCM**

L'exploitation de la CCM est présentée dans le **document 1**.

**Q6.** À l'aide du **document 1**, calculer les rapports frontaux  $R_f$ .

**Q7.** Interpréter les résultats obtenus.

**Q8.** Conclure, en argumentant votre réponse, sur l'utilisation des glucides par les levures entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **3. SUIVI DE LA CROISSANCE DES LEVURES**

Le **document 2** présente les données de suivi de croissance des levures.

**Q9.** Calculer la concentration en nombre de levures,  $C_N$  (levures ; moût) en levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

**Q10.** Exprimer chaque résultat conformément aux règles de métrologie.

**Q11.** Conclure sur la croissance des levures entre  $J_0$  et  $J_8$ .

## **4. CONCLUSION**

**Q12.** En considérant les conditions de fabrication et l'ensemble des résultats, expliquer l'insuffisance du taux d'alcool obtenu au cours de cette fabrication.

## DOSSIER TECHNIQUE

### FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Chromatographie sur couche mince
- **Fiche technique 2** : Mesure de la croissance des levures

### DOCUMENTS

- **Document 1** : Exploitation d'une CCM : détermination d'un rapport frontal
- **Document 2** : Données de suivi de croissance des levures

### DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- **Fiche technique** : Réalisation d'un état frais
- Aide-mémoire de métrologie

### 1- Matériel et réactifs

- Cuve saturée par la phase mobile (solvant de migration) ;
- Plaque de silice (dimensions fournies par le centre d'examen) ;
- Réactif révélateur ;
- Thermoventilateur ;
- Étuve à 100 °C ;
- Matériel de dépôt ;
- Deux solutions témoins de glucides : glucose (« G ») ; maltose (« M ») ;
- Échantillons  $J_0$  et  $J_8$ .

### 2. Identification des dangers

Produits	Identification du danger	Mentions d'avertissement	Mentions de danger
Solvant de migration		Danger	H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
Réactif révélateur		Danger	H225 : Liquide et vapeurs très inflammables. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H335 : Peut irriter les voies respiratoires.

### 3. Procédure opératoire

*Remarque : les étapes de c à h sont réalisées sous hotte ventilée*

- a) À l'aide d'un crayon à papier, préparer la plaque de la manière suivante :
  - identifier la plaque,
  - tracer une ligne de dépôt à 1,5 cm du bord inférieur,
  - effectuer un premier et un dernier dépôt à au moins 0,5 cm du bord latéral.
- b) Réaliser les dépôts des deux solutions témoins choisies et des deux échantillons  $J_0$  et  $J_8$ , en séchant entre chaque dépôt.
- c) Introduire délicatement la plaque dans la cuve de migration.
- d) Laisser migrer la phase mobile jusqu'à environ 1 cm du haut de la plaque.
- e) Matérialiser par un trait au crayon le front du solvant.
- f) Sécher la plaque.
- g) Appliquer le réactif révélateur sur la plaque.
- h) Révéler l'apparition des spots en plaçant la plaque à l'étuve à 100 °C ou à l'aide du thermoventilateur.

**DOCUMENT 1****Exploitation d'une CCM  
Détermination d'un rapport frontal**

Le rapport frontal est calculé pour chaque molécule ayant été révélée par le chromatogramme :

- mesurer  $d$  correspondant à la distance en cm parcourue par la molécule ;
- mesurer  $D$  correspondant à la distance en cm parcourue par le solvant ;
- calculer  $R_f$  selon l'équation aux grandeurs suivantes :

$$R_f = \frac{d}{D}$$

Remarque : le  $R_f$  s'exprime avec 2 chiffres significatifs.

**FICHE TECHNIQUE 2****Mesure de la croissance des levures****Procédure opératoire :**

- Homogénéiser l'échantillon.
- Transférer 1 mL d'échantillon « moût de fermentation » en microcuve.
- Mesurer l'atténuation à 600 nm contre le blanc approprié.

L'atténuation est proportionnelle à la concentration en nombre de levures, lorsqu'elle est inférieure à 0,700.

**DOCUMENT 2****Données de suivi de croissance des levures**

Relation de correspondance : 1 unité d'atténuation à 600 nm correspond à  $1,0 \cdot 10^6$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>.

**Données métrologiques :**

Incertitude-type composée :  $u_c = 0,25 \cdot 10^5$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> avec un facteur d'élargissement  $k = 2$  correspondant à un intervalle de confiance de 95 %.

Une croissance satisfaisante est obtenue lorsque la concentration en nombre de levures augmente d'au moins  $10^5$  levures  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> en un jour.

**SUJET 3**

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9*

*L'usage de la calculatrice est autorisé*

**MISE AU POINT D'UN PANSEMENT À BASE DE MIEL  
THÉRAPEUTIQUE**

L'activité antiseptique, cicatrisante et anti-inflammatoire des miels est connue et exploitée de manière empirique depuis l'antiquité. L'activité antiseptique est liée, en particulier, à la présence de peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Le peroxyde d'hydrogène est produit par oxydation du glucose présent dans le miel grâce à la glucose oxydase (GOD), enzyme sécrétée par l'abeille.



Ainsi, le miel délivre en continu une petite concentration d' $\text{H}_2\text{O}_2$  dont l'effet bactéricide a été démontré.

Un laboratoire de recherche pharmaceutique travaille sur la mise au point d'un type de pansements antiseptiques à base de miel thérapeutique pour une utilisation dans les services hospitaliers. Les travaux du laboratoire portent sur :

- l'étude de l'activité antibactérienne totale du miel ;
- la détermination de l'activité de la GOD du miel, reflet de la production d' $\text{H}_2\text{O}_2$  ;
- la vérification de la qualité microbiologique du miel, car sa stérilisation est exclue pour préserver l'activité de la GOD.

Le miel est souvent pâteux. Il doit subir une dissolution pour faciliter sa manipulation. Pour cela, 1 g de miel a été dissous dans 9 mL d'eau physiologique stérile. La solution obtenue est notée « M ».

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

*L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.*

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La **fiche technique 1** fournit la procédure opératoire de l'étude de l'activité antibactérienne totale du miel.

**Q1.** Analyser la **fiche technique 1** pour mettre en évidence deux sources d'erreurs possibles liées à cette manipulation.

L'activité de la GOD, reflet de la production d' $\text{H}_2\text{O}_2$  du miel, est déterminée par une méthode cinétique à deux points, dont la procédure opératoire est présentée dans la **fiche technique 2**.

**Q2.** Déterminer la longueur d'onde optimale pour la détermination de l'activité de la GOD du miel.

**Q3.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, sa nature, sa voie d'exposition ou de transmission, puis une situation exposante. Proposer le cas échéant la (ou les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE TOTALE DU MIEL**

**M1.** Mettre en œuvre la procédure décrite dans la **fiche technique 1**.

→ **Appeler l'examineur pour obtenir les tubes après incubation.**

Procéder à la lecture des tubesensemencés et incubés fournies.

### **2. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA GOD DU MIEL**

**M2.** Procéder à la détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD dans la solution «  $\text{M}_{\text{GOD}}$  », par la méthode « deux points ».

### 3. VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU MIEL

La vérification de la qualité microbiologique du miel thérapeutique est présentée dans la **fiche technique 3**.

**M3.** Réaliser la recherche d'un contaminant microbiologique à partir du bouillon « M enrichi ». Une boîte obtenue après 48 h d'incubation à 37 °C est fournie par l'examineur. Réaliser la lecture macroscopique de la gélose Baird Parker fournie.

## EXPLOITATION DES RÉSULTATS

### 1- ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE TOTALE DU MIEL

**Q4.** Analyser les témoins permettant de valider la technique.

**Q5.** Déterminer le facteur de dilution de la solution « M » dans les tubes 4 et 5. Compléter le tableau de la **fiche technique 1** (à rendre avec la copie).

**Q6.** Déterminer le plus grand facteur de dilution de la solution « M » permettant d'inhiber la croissance bactérienne. Argumenter la réponse.

### 2. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA GOD DU MIEL

**Q7.** En s'appuyant sur l'aide-mémoire de métrologie et sur le **document 1**, vérifier l'exactitude de mesure à l'aide du contrôle.

**Q8.** À partir des résultats de mesure, déterminer la valeur de  $\left(\frac{\Delta A}{\Delta t}\right)_i$ , reflet de la vitesse initiale de la réaction catalysée par la GOD, obtenue pour la solution « M<sub>GOD</sub> ».

**Q9.** Calculer la valeur du volume de milieu réactionnel  $V_{MR}$  en L.

**Q10.** À l'aide du **document 1**, écrire les équations aux unités, aux valeurs numériques et effectuer le calcul de la concentration d'activité catalytique de la GOD dans la solution « M<sub>GOD</sub> »,  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ .

**Q11.** Convertir  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

**Q12.** Exprimer le résultat de mesure  $b_{(GOD ; solution M_{GOD})}$  conformément aux règles de métrologie.

### 3. VÉRIFICATION DE LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU MIEL

**Q13.** Analyser les résultats de culture obtenus sur la gélose Baird Parker.

#### **4. CONCLUSION**

**Q14.** Indiquer si les propriétés du miel « M » mises en évidence sont intéressantes dans le cadre d'un usage thérapeutique.

### **DOSSIER TECHNIQUE**

#### **FICHES TECHNIQUES**

- **Fiche technique 1** : Étude de l'activité antibactérienne totale du miel.
- **Fiche technique 2** : Détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD du miel.
- **Fiche technique 3** : Vérification de la qualité du miel thérapeutique.

#### **DOCUMENTS**

- **Document 1** : Données d'exploitation de la cinétique de la GOD étudiée par la méthode « deux points ».

#### **DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE**

- Aide-mémoire de métrologie

## À RENDRE AVEC LA COPIE

NOM :

**1- Principe**

L'efficacité antibactérienne totale des miels est testée en pratiquant différentes dilutions de la solution de miel pour déterminer le facteur de dilution le plus fort permettant d'inhiber une croissance bactérienne.

**2. Matériel et réactifs**

- Inoculum d'une souche de référence de classe 1 noté « INO » ;
- 5 tubes à hémolyse stériles ;
- 5 mL de bouillon ordinaire stérile noté « BO » ;
- 3 mL de solution de miel dissous «M» ;
- Matériel usuel de laboratoire.

**3. Procédure opératoire**

Gamme de dilutions de la solution de miel « M » :

Tubes	1	2	3	4	5
Volume de bouillon ordinaire stérile (mL)	1	0	1	1	1
Volume de solution « M » (mL)	0	1	1	1	1
Volume redistribué (mL)				1	1
Volume d'inoculum (mL)	1	1	1	1	1
Facteur de dilution finale de la solution « M »		2	4		

1 mL à éliminer

Incuber après homogénéisation 24 h à 37 °C.

**4. Interprétation**

Le miel ayant la plus grande efficacité antibactérienne totale est celui qui inhibe la croissance bactérienne en étant le plus dilué.

## 1- Principe de la détermination de la concentration d'activité catalytique de la GOD

La capacité d'un miel à produire du  $H_2O_2$  est déterminée par la mesure de l'activité de la GOD potentiellement présente.

La GOD catalyse l'oxydation du glucose en présence de dioxygène en produisant de l'acide gluconique et du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ . En présence de glucose en excès, une mesure de l'activité catalytique de la GOD est possible selon les réactions suivantes :

<p>glucose oxydase</p> $\text{Glucose} + O_2 \longrightarrow \text{acide gluconique} + H_2O_2$ <p>Le peroxyde d'hydrogène (<math>H_2O_2</math>) formé est dosé selon la réaction suivante :</p> <p style="text-align: center;">peroxydase</p> $2H_2O_2 + \text{phenol} + \text{amino-4 antipyrine} \longrightarrow \text{quinonéimine} + 4 H_2O$	<p><b>Composition du réactif noté « R »</b></p> <p>Tampon phosphate pH 6,6    <math>225 \text{ mmol} \cdot L^{-1}</math></p> <p>Glucose    <math>333 \text{ mmol} \cdot L^{-1}</math></p> <p>Amino-4-antipyrine    <math>0,3 \text{ mmol} \cdot L^{-1}</math></p> <p>Phénol    <math>8,5 \text{ mmol} \cdot L^{-1}</math></p> <p>EDTA    <math>5 \text{ mmol} \cdot L^{-1}</math></p> <p>Peroxydase    <math>\geq 300 \text{ U} \cdot L^{-1}</math></p>
<p>L'activité de la GOD est mesurée grâce à l'apparition d'un chromophore, la quinonéimine dans le milieu réactionnel (MR). L'intensité de la coloration est mesurée par spectrophotométrie.</p> <p>Ci-contre, le spectre d'absorption de la quinonéimine.</p>	

La réaction enzymatique mise en jeu est caractérisée par une période initiale d'environ 7 minutes dans les conditions opératoires proposées.

## 2. Réactifs et matériel : disposés à proximité du spectrophotomètre

- Réactif R (pas de risque chimique associé au réactif R) ;
- Solution de miel, notée «  $M_{GOD}$  » ;
- 1 chronomètre ;
- Matériel usuel de laboratoire.

## 3. Procédure opératoire

- Réaliser une cinétique à deux points directement en macrocuve au spectrophotomètre ;
- Ajouter 2 mL de réactif R ;
- Réaliser le zéro optique ;
- Déclencher la réaction par ajout de 100  $\mu L$  de la solution «  $M_{GOD}$  » ;

- Homogénéiser immédiatement ;
- Mesurer l'absorbance :
  - à **60 secondes** d'incubation à température ambiante ;
  - à **180 secondes** d'incubation dans les mêmes conditions (la mesure se fait à partir de la même cuve).

Un contrôle a été réalisé le matin même dans les mêmes conditions que l'essai.

La valeur mesurée pour le contrôle ainsi que l'intervalle d'acceptabilité sont fournis dans le **document 1**.

<b>FICHE TECHNIQUE 3</b>	<b>Vérification de la qualité microbiologique du miel thérapeutique</b>
--------------------------	---

L'eau disponible dans les miels étant très faible, le développement microbien y est défavorable.

Cependant, certains germes pathogènes peuvent y être présents en faible nombre.

Ce miel étant amené à être appliqué sur des plaies, il doit donc respecter un certain nombre de critères microbiologiques :

- charge microbiologique inférieure à 30 UFC · g<sup>-1</sup> de germes mésophiles ;
- absence de coliformes thermotolérants ;
- absence de germes pathogènes notamment *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

La solution « M » est placée dans un milieu d'enrichissement afin de favoriser la croissance des microorganismes éventuellement présents dans le miel. Après incubation, le bouillon d'enrichissement obtenu est noté « M enrichi ».

### **1- Matériel**

- 1 gélose Baird Parker notée « BP » ;
- 1 râteau ou des billes stériles ;
- Un bouillon d'enrichissement du miel « M » noté « M enrichi ».

### **2. Procédure opératoire**

- Déposer 0,1 mL du bouillon « M enrichi » sur la gélose Baird Parker ;
- Étaler à l'aide de billes ou d'un râteau le volume déposé ;
- Incuber la boîte à l'étuve à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

### 3. Exploitation des résultats

Le milieu Baird Parker est un **milieu sélectif et différentiel**, permettant l'identification de ***S. aureus***.

Caractère observé	Observation	Interprétation	Conclusion
Culture en présence d'inhibiteur	Présence de culture	Bactérie résistante au tellurite de potassium et au chlorure de lithium	Suspicion de <i>Staphylococcus</i>
Recherche de la réduction du tellurite en tellure	Coloration noire ou brune de la colonie	Réduction du tellurite en tellure	Tellurite +
	Pas de coloration noire de la colonie	Pas de réduction du tellurite en tellure	Tellurite -
Recherche d'une lipoprotéinase	Halo transparent autour des colonies	Hydrolyse des lipoprotéines du jaune d'œuf	Lipoprotéinase +
	Pas de halo	Absence d'hydrolyse des lipoprotéines du jaune d'œuf	Lipoprotéinase -

Dans le genre *Staphylococcus*, seuls les *S. aureus* réduisent le tellurite, sécrètent des lipoprotéinases, et parfois des lécithinases (caractérisées par un liseré blanc autour des colonies).

### 4. Interprétation des résultats

Le miel est inutilisable pour un usage thérapeutique dès lors que la présence d'une colonie de *S. aureus* est observée.

Des tests complémentaires devront être réalisés en cas de présence de colonies de *Staphylococcus* autre que *S. aureus*. Dans l'attente des résultats de ces tests, le miel ne pourra pas être utilisé pour un usage thérapeutique.

**Calcul de la concentration d'activité catalytique en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$** 

$$b_{(\text{GOD}; \text{solution } M_{\text{GOD}})} = \left( \frac{\Delta A}{\Delta t} \right)_i \times \frac{1}{\varepsilon_{\text{quinonéimine}} \times \ell} \times \frac{V_{\text{MR}}}{V_{\text{solution } M_{\text{GOD}}}} \times 10^6$$

- $b_{(\text{GOD}; \text{solution } M_1)}$  : concentration d'activité catalytique de la GOD de la solution « M » en  $\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- $\left( \frac{\Delta A}{\Delta t} \right)_i$  : différence d'absorbance par unité de temps (en secondes) pendant la période initiale en  $\text{s}^{-1}$
- $\varepsilon_{\text{quinonéimine}}$  : coefficient linéique d'absorption à pH 7 :  $7\,902 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$
- $\ell$  : longueur du trajet optique ;  $\ell = 1 \text{ cm}$
- $V_{\text{MR}}$  : volume de milieu réactionnel en L
- $V_{\text{solution } M_{\text{GOD}}}$  : volume de solution «  $M_{\text{GOD}}$  » testé en mL

**Valeur mesurée pour le contrôle :**

$$b_{(\text{GOD}; \text{solution}; \text{contrôle})} = 3,46 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$$

**Données métrologiques**

L'intervalle d'acceptabilité pour le contrôle est  $[3,3 - 3,7] \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$

Pour calculer l'incertitude élargie, le facteur d'élargissement choisi est  $k = 2$ , correspondant à un intervalle de confiance de 95 %, et l'incertitude type composée est  $u_c = 0,0025 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

**Données sur les unités :**

L'unité d'activité enzymatique (U) est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour hydrolyser 1  $\mu\text{mole}$  de substrat par minute dans les conditions de l'expérience.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Évaluation des compétences expérimentales

### SUJET 4

*Durée : 3 heures – Coefficient de l'épreuve : 9*  
*L'usage de la calculatrice est autorisé*

#### CONTRÔLE DU PRINCIPE ACTIF D'UN MÉDICAMENT

Le lysozyme est une protéine enzymatique utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Il entre dans la composition de certains médicaments utilisés contre les maux de gorge, comme la Lysopaïne®.

Le principe actif de ce médicament est basé sur sa capacité à lyser les liaisons  $\beta$ 1-4 osidiques du peptidoglycane composant la paroi des bactéries.

Un laboratoire souhaite produire et commercialiser un générique de ce médicament. Pour cela, il doit contrôler le principe actif de son extrait de lysozyme (extrait L) par un dosage de l'activité enzymatique.

Le substrat utilisé pour le test est une suspension d'une souche de *Micrococcus lysodeikticus*. Le laboratoire souhaite produire lui-même ce substrat et doit donc vérifier l'identité de la souche-test.

Pour cela, il réalise :

- la détermination de l'activité enzymatique spécifique ;
- la vérification de l'identité de la souche-test.

Pour être conforme aux exigences de la fabrication du médicament générique, l'activité spécifique du lysozyme doit être supérieure ou égale à  $120 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ .

## RÉFLEXION PRÉLIMINAIRE

***L'ensemble des questions de la réflexion préliminaire doit être validé par l'examineur.***

Le dossier technique présente l'ensemble des fiches techniques et des documents nécessaires à la réalisation de l'épreuve.

La **fiche technique 2** présente la détermination de la concentration de l'activité catalytique du lysozyme dans l'extrait L.

**Q1.** Identifier deux points critiques de la procédure opératoire de la **fiche technique 2** pouvant induire une erreur de mesure. Argumenter la réponse.

**Q2.** À partir du dossier technique, identifier un danger éventuel, en précisant sa nature, la voie d'exposition ou de transmission, et une situation exposant au danger. Proposer, si nécessaire la (les) mesure(s) de prévention adaptée(s).

## RÉALISATION PRATIQUE

*La réalisation pratique doit débuter par une **analyse des risques de l'ensemble des manipulations**. La mise en œuvre, par le candidat, des mesures de prévention appropriées à chaque manipulation est évaluée.*

*L'ordre de la réalisation pratique est laissé à l'initiative du candidat.*

*La réalisation pratique inclura la présentation des indications de mesure et/ou des observations réalisées sur le **cahier de laboratoire fourni**.*

### **1- DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU LYSOZYME**

La **fiche technique 1** présente le dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret.

**M1.** Réaliser le dosage des protéines de l'extrait L.

**M2.** Réaliser la détermination de l'activité du lysozyme de l'extrait L.

### **2. VÉRIFICATION DE L'IDENTITÉ DE LA SOUCHE-TEST**

La souche-test est isolée sur gélose nutritive.

**M3.** Réaliser une coloration de Gram à partir de la souche-test.

→ **Présenter le champ microscopique à un examineur.**

Le **document 1** présente les critères d'identification de différents genres de coques.

**M4.** Effectuer le test enzymatique approprié à partir d'une colonie isolée.

### **1- DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ SPÉCIFIQUE DU LYSOZYME**

#### **1.1- Dosage des protéines par la méthode du biuret**

**Q3.** Écrire les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques et calculer la concentration en masse de protéines de l'extrait L  $\rho_{(\text{protéines}; \text{extrait L})}$  en  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  pour les deux essais.

**Q4.** Vérifier la compatibilité métrologique des valeurs obtenues.

**Q5.** Exprimer la concentration en masse de protéines dans l'extrait L en conformité avec les règles métrologiques.

#### **1.2 Détermination de l'activité enzymatique spécifique du lysozyme**

**Q6.** Établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la variation d'atténuation ( $\Delta D$ ) par minute dans la cuve de mesure. Écrire l'équation aux valeurs numériques puis effectuer le calcul.

→ **Faire valider par l'examineur**

**Q7.** Établir l'équation aux valeurs numériques puis calculer la concentration d'activité catalytique  $b_{(\text{lysozyme}; \text{extrait L})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$  de l'extrait de lysozyme.

L'activité spécifique est un critère de pureté pour les enzymes. Elle s'exprime en nombre d'unités d'activité enzymatique par gramme de protéines.

**Q8.** Écrire l'équation aux unités, aux valeurs numériques puis calculer l'activité spécifique de l'extrait de lysozyme  $z_{sp(\text{extrait L})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$  selon l'équation aux grandeurs suivante :

$$z_{sp(\text{extrait L})} = \frac{b_{(\text{lysozyme}; \text{extrait L})}}{\rho_{(\text{protéines}; \text{extrait L})}}$$

**Q9.** À partir de l'activité spécifique  $z_{sp(\text{extrait L})}$ , préciser si l'extrait L convient à la préparation du médicament générique.

### **2. VÉRIFICATION DE L'IDENTITÉ DE LA SOUCHE-TEST**

**Q10.** Interpréter les résultats de la coloration de Gram et du test enzymatique choisi.

Le **document 2** présente la recherche du type respiratoire à l'aide d'une gélose Viande-Foie (VF).

**Q11.** Compléter cette interprétation après lecture du type respiratoire, à partir de la gélose VF fournie par le centre etensemencée avec la souche test.

**Q12.** Valider ou non l'appartenance de la souche test au genre *Micrococcus*.

# DOSSIER TECHNIQUE

## FICHES TECHNIQUES

- **Fiche technique 1** : Dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret.
- **Fiche technique 2** : Détermination de la concentration d'activité catalytique du lysozyme dans l'extrait L.

## DOCUMENTS

- **Document 1** : Critères d'identification des différents genres de coques.
- **Document 2** : Recherche du type respiratoire à l'aide de la gélose viande-foie (VF).

## DOCUMENTS FOURNIS PAR LE CENTRE

- **Fiche technique** : Frottis et coloration de Gram.
- **Fiche technique** : Recherche de l'oxydase et de la catalase.
- Aide-mémoire de métrologie.

<b>FICHE TECHNIQUE 1</b>	<b>Dosage des protéines dans l'extrait L par la méthode du biuret</b>
--------------------------	---

### Principe

Le dosage des protéines est réalisé selon la technique du biuret.

En milieu alcalin, les protéines qui possèdent au moins 4 liaisons peptidiques forment avec les ions cuivre II ( $\text{Cu}^{2+}$ ) du réactif de Gornall un complexe bleu-violet dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en protéines (la concentration en masse doit être inférieure ou égale à  $10,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

### Réactifs

**Extrait L** : solution de lysozyme à doser ;

**Solution E** : solution étalon d'albumine bovine à  $2,00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;

Eau physiologique ;

Réactif de Gornall en distributeur de 2 mL.

## Procédure opératoire

Introduire directement en macrocuvettes :

	Blanc réactif	Étalon	Essai
Volume d'eau physiologique (mL)	1	-	-
Volume de solution E (mL)	-	1	-
Volume d'extrait L (mL)	-	-	1
Volume de réactif de Gornall (mL)	2	2	2

- Réaliser l'essai en double.
- Homogénéiser.
- Placer 30 minutes à l'obscurité.
- Lire les absorbances à 540 nm contre le blanc.

## Données de sécurité concernant le réactif de Gornall



**Danger**

H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves

## Exploitation des résultats

Modèle de mesure permettant le calcul de la concentration en masse de protéines dans l'extrait L :

$$\frac{\rho(\text{protéines ; extrait L})}{\rho(\text{protéines ; solution étalon})} = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{étalon}}}$$

## Données métrologiques

- Écart-type de répétabilité,  $s_r = 0,03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
- Incertitude-type composée :  $u_c = 0,05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un facteur d'élargissement  $k = 2$ .

### Principe de la mesure

La concentration d'activité catalytique est déterminée en mesurant au cours du temps la diminution de turbidité consécutive à la lyse d'une suspension bactérienne.

La baisse de turbidité est évaluée en mesurant l'atténuation ( $D$ ) à 450 nm (lue comme une absorbance au spectrophotomètre).

L'unité d'activité enzymatique (U) est définie comme étant la quantité d'enzyme qui provoque une diminution de 0,001 unité d'atténuation à 450 nm par minute dans les conditions de l'expérience et à température ambiante, et en utilisant comme substrat une suspension de *Micrococcus lysodeikticus*.

### Réactifs

- **Suspension S** (substrat) : suspension de *Micrococcus lysodeikticus* à  $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  en tampon phosphate de sodium à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2
- **Extrait L** : solution de lysozyme à doser
- **Tampon phosphate de sodium** à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2

### Procédure opératoire

Le zéro du spectrophotomètre sera réalisé avec du tampon phosphate de sodium à  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH = 6,2.

- Homogénéiser la suspension S.
- Dans une macrocuve, introduire 2,90 mL de suspension S.
- Homogénéiser puis relever l'atténuation  $D_1$  à 450 nm.
- Ajouter un volume  $V_e$  égal à 0,1 mL d'extrait L. Homogénéiser. Déclencher le chronomètre.
- Homogénéiser puis relever l'atténuation  $D_2$  après deux minutes exactement.

### Exploitation des résultats

Équation aux grandeurs de la concentration d'activité catalytique  $b_{(\text{lysozyme}; \text{extrait L})}$  en  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$  de l'extrait de lysozyme :

$$b_{(\text{lysozyme}; \text{extrait L})} = \left| \frac{\Delta D}{\Delta t} \right| \times \frac{1}{0,001} \times \frac{1}{V_e} \quad \text{avec } V_e \text{ en mL et } \Delta t \text{ en minutes}$$

<b>DOCUMENT 1</b>	<b>Critères d'identification de différents genres de coques</b>
-------------------	---

Genres Caractères	<i>Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Neisseria</i>
Gram	+	+	+	-
Mode de groupement	Chaînes ou paires	Amas, plans irréguliers	Amas irréguliers ou tétrades	Paires
Test enzymatique	Catalase -	Catalase +	Catalase +	Oxydase +
Type respiratoire	Aéro-anaérobie facultatif	Aéro-anaérobie facultatif	Aérobie strict	Aérobie strict

<b>DOCUMENT 2</b>	<b>Recherche du type respiratoire à l'aide de la gélose viande-foie (VF)</b>
-------------------	--

### 1- Composition de la gélose VF en g · L<sup>-1</sup>

Base viande foie	30
Glucose	2
Agar	6

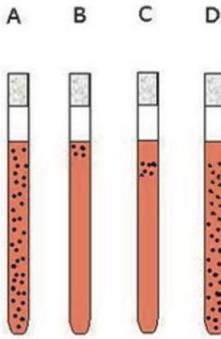
### 2- Principe

Le milieu VF est conditionné en tube fin. Après l'ensemencement, le dioxygène contenu dans l'air pénètre à partir de la surface de la gélose pour former un gradient de dioxygène. Les bactéries cultivent dans la zone où les conditions d'oxygénation leur permettent de vivre et de se multiplier.

### 3- Utilisation

- Régénérer le milieu avant utilisation en le portant pendant 20 minutes à 100 °C pour éliminer les gaz dissous.
- Ensemencement : faire une piqûre centrale puis remonter en spirale.
- Ne pas visser complètement le bouchon.

### 3- Lecture et interprétation de la gélose VF



**A :** Type respiratoire **aéro-anaérobie facultatif**

**B :** Type respiratoire **aérobie stricte**

**C :** Type respiratoire **micro-aérophile**

**D :** Type respiratoire **anaérobie stricte**

Résultats  
après incubation 24 h à 37 °C

On considère que les qualités de justesse et de fidélité des procédures de mesure utilisées ont été étudiées et reconnues.

**1. Vérification de la bonne exécution de la procédure**

Lorsqu'un mesurage est effectué, deux types de vérification sont possibles afin de pouvoir accepter les valeurs mesurées obtenues pour des échantillons inconnus.

On peut effectuer, dans la même série de mesurages :

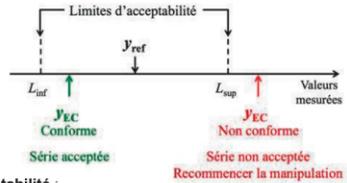
- un essai sur un étalon de contrôle ; la valeur mesurée obtenue est notée  $y_{EC}$ .
- un ou deux essais sur chacun des échantillons à doser.

**1.1 Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle**

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle ( $y_{ref}$ ) ainsi que ses limites d'acceptabilité ( $L_{inf}$  et  $L_{sup}$ ). On recherche si la valeur mesurée ( $y_{EC}$ ) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit :  $L_{inf} \leq y_{EC} \leq L_{sup}$

**Si la valeur mesurée  $y_{EC}$  appartient à l'intervalle d'acceptabilité :**

- la valeur mesurée  $y_{EC}$  est **exacte**, donc **conforme** : l'exécution de la procédure de mesure est satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons inconnus dans la même série sont **acceptées**.

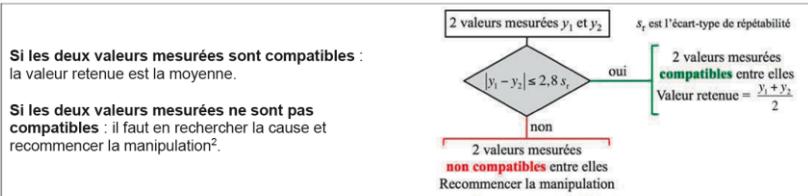


**Si la valeur mesurée  $y_{EC}$  n'appartient pas à l'intervalle d'acceptabilité :**

- la valeur mesurée n'est **pas exacte** donc **non conforme** : l'exécution de la procédure de mesure n'est pas satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées de toute la série **ne sont pas acceptées**, il faut rechercher l'origine de la mauvaise exactitude avant de recommencer la manipulation<sup>1</sup>.

**1.2 Vérification de la compatibilité métrologique dans le cas de deux essais effectués en répétabilité**

Soient deux valeurs mesurées ( $y_1$  et  $y_2$ ) pour un même échantillon et l'écart-type de répétabilité ( $s_r$ ) de la procédure de mesure correspondant à cet échantillon. Le logigramme de compatibilité à appliquer est le suivant :



**Si les deux valeurs mesurées sont compatibles :**  
la valeur retenue est la moyenne.

**Si les deux valeurs mesurées ne sont pas compatibles :** il faut en rechercher la cause et recommencer la manipulation<sup>2</sup>.

**2. Guide pour l'expression du résultat de mesure**

L'incertitude élargie ( $U$ ) est directement donnée avec son niveau de confiance ou calculée en multipliant l'incertitude-type composée ( $u_c$ ) par le facteur d'élargissement  $k$ , par exemple  $k = 2$  pour un niveau de confiance de 95 %.

L'incertitude élargie est ensuite arrondie. Selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2, 3 ou 4 : garder deux chiffres significatifs après arrondissement;
- si le premier chiffre significatif est 5 ou plus : garder un chiffre significatif après arrondissement.

La valeur retenue du résultat est arrondie de la façon suivante : le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.

**Expression du résultat de mesure :**

**Grandeur mesurée (analyse ; système) = (valeur retenue  $\pm U$ ) unité**

1.2. Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de recommencer les manipulations, le candidat poursuivra l'exploitation de ses valeurs mesurées afin d'exprimer un résultat de mesure de façon complète mais en signalant clairement que ce résultat n'est pas « acceptable » au sens métrologique.

# BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES

## Épreuve orale de contrôle du second groupe d'épreuves

*Temps de préparation : 20 minutes*

*Durée épreuve : 20 minutes  
(exposé 10 minutes maximum, suivi d'un entretien avec le jury)*

*Coefficient de l'épreuve : 16*

### DÉFENSES IMMUNITAIRES ANTIBACTÉRIENNES

L'objectif est d'élucider le rôle des anticorps dans l'organisme suite à une infection bactérienne puis d'explorer une technique permettant leur recherche dans le sérum d'un patient.

#### Partie 1. Rôle des anticorps

Lors d'une infection bactérienne, une réaction immunitaire se déclenche entraînant la synthèse d'anticorps par l'organisme.

- Analyser le **document 1** et en déduire le rôle et la propriété principale des anticorps mis en évidence dans les expériences.
- À l'aide du **document 2**, expliquer le rôle des anticorps dans la phagocytose.

#### Partie 2. Recherche et dosage des anticorps dans un sérum au laboratoire

La sérologie est un examen de biologie médicale fondé sur la recherche et le dosage d'anticorps spécifiques dans le sérum afin de poser un diagnostic notamment lors d'infection bactérienne.

Le **document 3** présente le mode opératoire du sérodiagnostic d'une infection bactérienne par la méthode d'immunodiffusion double d'Ouchterlony.

- Établir les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques permettant de calculer la masse d'agar à peser pour préparer 200 mL de gel à 1,5 % (soit 1,5 g d'agar dans 100 mL de gel).
- Effectuer la lecture des témoins à partir de la boîte fournie. Conclure.
- Observer puis interpréter le résultat du patient. Conclure.

Par une méthode immunoenzymatique, le dosage des anticorps spécifiques du patient a donné le résultat brut suivant :

$$C_{(\text{anticorps spécifiques ; sérum du patient})} = 30,56 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$$

- Exprimer correctement le résultat de mesure, sachant que l'incertitude-type composée uc est égale à  $2,5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$  et que le facteur d'élargissement k est égal à 2.

**DOCUMENT 1 : Mise en évidence du rôle et de la propriété principale des anticorps**

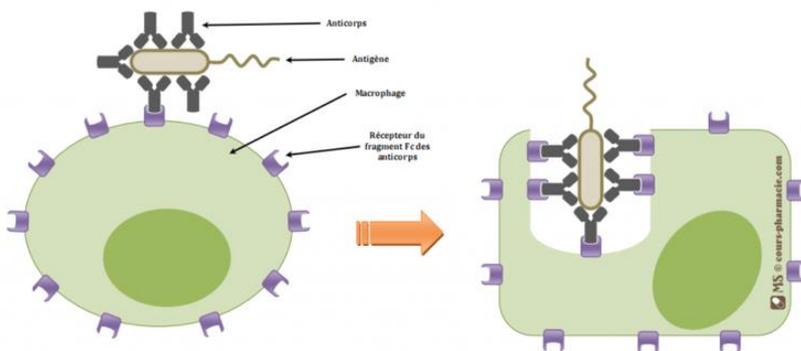
La toxine tétanique est produite par la bactérie *Clostridium tetani*. Elle est mortelle pour la souris.

La toxine botulique est produite par la bactérie *Clostridium botulinum*. Elle est mortelle pour la souris.

Expériences	Observations
On injecte l'anticorps anti-toxine tétanique puis on inocule la bactérie <i>Clostridium tetani</i> à une souris.	La souris survit
On injecte l'anticorps anti-toxine botulique puis on inocule la bactérie <i>Clostridium botulinum</i> à une souris.	La souris meurt

**DOCUMENT 2 : Rôle des anticorps au cours de la phagocytose**

(source : cours-pharmacie.com)



## DOCUMENT 3 : Sérodiagnostic d'une infection bactérienne par méthode d'Ouchterlony

### 1- Réactifs

- 1 boîte de Pétri contenant 5 mL de gel d'agar à 1,5 % dans du tampon PBS (phosphate buffered saline) pH = 7,2 ;
- Solution antigénique bactérienne ;
- Sérum du patient P ;
- Sérum témoin négatif noté S- ;
- Sérum témoin positif noté S+.



### 2- Mode opératoire

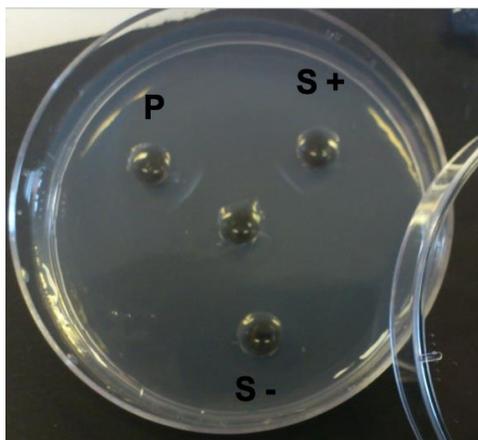
Dans les puits réalisés dans le gel d'agar, sont déposés :  
dans le puits central, 10  $\mu$ L de solution antigénique bactérienne ;  
dans les puits périphériques, 10  $\mu$ L des diverses solutions de sérum.

Placer la boîte en chambre humide, à température ambiante, pendant 48 h.

### À disposition du candidat dans le laboratoire :

Aide-mémoire de métrologie

Boîte de Pétri présentant les résultats du test d'Ouchterlony :



# **ÉLÉMENTS DE CORRECTION 2022**

## ÉLÉMENTS DE CORRECTION

---

---

Ces quelques corrigés, vous sont proposés pour vous aider dans la résolution de certaines épreuves proposées au baccalauréat.

**Ils ne seront d'aucune utilité si vous vous contentez de lire les réponses sans avoir fait l'effort personnel de la réflexion et de la recherche des réponses aux questions posées.**

Ces corrigés ne sont pas des modèles imposés ; d'autres démarches de raisonnement sont possibles.

En particulier pour les questions de synthèse, en seconde partie des sujets de spécialité Biochimie, Biologie et Biotechnologies, les corrigés proposés ne sont que des propositions. D'autres rédactions sont possibles.

Enfin, des imprécisions et/ou des erreurs ont pu se glisser dans les textes, veuillez-nous en excuser.

## SUJET 1 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES ÉLÉMENTS DE CORRECTION

### EXERCICE 1 commun à tous les candidats (4 points) (physique-chimie et mathématiques)

#### Étude expérimentale

1. Détermination graphique de la vitesse limite atteinte par la bille :  
 $v_{lim} = 0,96 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$

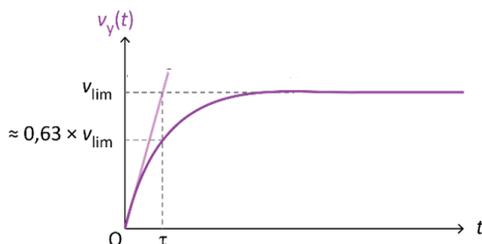
Détermination du temps caractéristique  $\tau$  d'évolution de la vitesse :

**1<sup>ère</sup> méthode** : le temps caractéristique  $\tau$  correspond au temps pour lequel  
 $v = 0,63 v_{lim}$

Cela correspond à  $v = 0,63 \times 0,96 = 0,60 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$

On reporte sur le graphique et on trouve  $\tau = 0,11 \text{ s}$ .

**2<sup>de</sup> méthode** :  $\tau$  correspond à l'abscisse du point d'intersection entre la tangente à la courbe à l'origine et la droite horizontale d'ordonnée  $v_{lim}$ .



#### Étude théorique

2. On applique la seconde loi de Newton à la goutte d'huile dans le référentiel terrestre :

$$\sum \vec{f}_{\text{ext}} = m \times \vec{a} \text{ soit } \vec{P} + \vec{\Pi} + \vec{f} = m \times \vec{a}$$

3. On projette les forces sur l'axe (Oy) vertical orienté vers le bas :

$$\vec{P} (P_y = +m \times g)$$

$$\vec{\Pi} (\Pi_y = -\rho_{huile} \cdot V_{im} \cdot g = -\rho_{huile} \cdot \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 \cdot g)$$

$$\vec{f} (f_y = -6\pi \cdot \eta \cdot R \times v)$$

On projette le vecteur accélération sur l'axe (Oy) :

$$\vec{a} \left( a_y = +a = +\frac{dv}{dt} \right)$$

La projection sur l'axe vertical de la deuxième loi de Newton donne :

$$m \cdot g - \rho_{huile} \cdot \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot R^3 \cdot g + -6\pi \cdot \eta \cdot R \times v = m \frac{dv}{dt}$$

$$\text{soit : } \frac{dv}{dt} = -\frac{6\pi \cdot \eta \cdot R}{m} \times v + g - \frac{4 \cdot \pi \cdot R^3 \cdot g \cdot \rho_{huile}}{3m}$$

Cette équation différentielle peut s'écrire sous la forme  $\frac{dv}{dt} = A \times v + B$  avec :

$$A = -\frac{6\pi \cdot \eta \cdot R}{m} \text{ et } B = g - \frac{4 \cdot \pi \cdot R^3 \cdot g \cdot \rho_{huile}}{3m}$$

4. On remplace par les valeurs de l'énoncé :

$$A = -\frac{6\pi \cdot 0,39 \cdot 5,0 \cdot 10^{-3}}{4,1 \cdot 10^{-3}} \text{ et } B = 9,8 - \frac{4 \cdot \pi \cdot (5,0 \cdot 10^{-3})^3 \cdot 9,8 \cdot 920}{3 \cdot 4,1 \cdot 10^{-3}}$$

Les résultats ne sont pas demandés.

5. L'équation différentielle est de la forme  $y' + ay = b$  avec  $a = -9$  et  $b = 8,6$ . Les solutions générales sont de la forme  $y(t) = Ce^{-9t} - \frac{8,6}{-9}$  avec  $C \in \mathbb{R}$ .

Soit  $y(t) = Ce^{-9t} + \frac{8,6}{9}$  avec  $C \in \mathbb{R}$ .

Notons  $v$  la fonction solution qui s'annule en 0 :

$$v(0) = 0 \Leftrightarrow Ce^{-9 \times 0} + \frac{8,6}{9} = 0 \Leftrightarrow C + \frac{8,6}{9} = 0 \Leftrightarrow C = -\frac{8,6}{9}$$

Donc  $v(t) = -\frac{8,6}{9}e^{-9t} + \frac{8,6}{9}$ , soit  $v(t) = \frac{8,6}{9}(1 - e^{-9t})$ .

6.  $\lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-9t} = 0$  donc  $\lim_{t \rightarrow +\infty} 1 - e^{-9t} = 1 - 0 = 1$ .

Finalement :  $\lim_{t \rightarrow +\infty} 0,96(1 - e^{-9t}) = 0,96 \times 1 = 0,96$ .

## EXERCICE 2 commun à tous les candidats (6 points) (physique-chimie)

1. Chaînes énergétiques :

**Panneau photovoltaïque :**

Énergie *lumineuse* → Énergie *électrique* + Énergie *thermique*

**Pile à hydrogène :**

Énergie *chimique* → Énergie *électrique* + Énergie *thermique*

**Batterie en charge :**

Énergie *électrique* → Énergie *chimique* + Énergie *thermique*

**Batterie en décharge :**

Énergie *chimique* → Énergie *électrique* + Énergie *thermique*

2. À l'anode, le couple oxydant / réducteur est  $H^+(aq) / H_2(g)$

La demi-équation est :  $H_2(g) = 2 H^+(aq) + 2e^-$

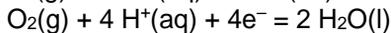
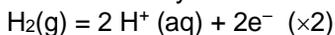
Il s'agit d'une oxydation

À la cathode, le couple oxydant/réducteur est  $O_2(g) / H_2O(l)$

La demi-équation est :  $O_2(g) + 4 H^+(aq) + 4e^- = 2 H_2O(l)$

Il s'agit d'une réduction

3. Équation de la réaction d'oxydoréduction :



Éq. bilan :  **$2 H_2(g) + O_2(g) \rightarrow 2 H_2O(l)$**

4. Il ne se forme que de l'eau au cours de la transformation chimique ayant lieu dans cette pile. On peut donc la considérer comme non polluante.

5. Quantité de matière de dihydrogène :

$$n_{H_2} = \frac{m_{H_2}}{M_{H_2}} = \frac{63 \cdot 10^3}{2,0} = 3,15 \cdot 10^4 \text{ mol}$$

6. On sait qu'une mole de dihydrogène libère une énergie égale à  $E = 2,4 \times 10^5 \text{ J}$ .

Donc  $E_{chimique} = 3,15 \times 10^4 \times 2,4 \times 10^5 = 7,6 \times 10^9 \text{ J} = 2,1 \times 10^6 \text{ Wh} = 2,1 \text{ MWh}$ .

7. Par définition :  $r = \frac{E_{utile}}{E_{fournie}} = \frac{E_{électrique}}{E_{chimique}}$

Donc  $E_{électrique} = r \times E_{chimique} = 0,46 \times 2,1 = 0,97 \text{ MWh}$

Le texte de présentation nous dit que ce volume de dihydrogène représente une énergie de 1,0 MWh, donc le résultat est cohérent :  $0,97 \text{ MWh} \approx 1,0 \text{ MWh}$ .

8. Un générateur idéal de tension délivre une tension constante, quelle que soit l'intensité du courant débitée.

9. La traversée nécessite une énergie égale à :

$$E_{\text{électrique}} = P \times t = 30 \cdot 10^3 \times 24 = 7,2 \cdot 10^5 \text{ Wh} = 0,72 \text{ MWh}$$

10. Cette énergie est inférieure à l'énergie disponible (1,0 MWh) donc l'autonomie est suffisante.

### EXERCICE 3 commun à tous les candidats (4 points) (mathématiques)

1.	$f(x) = u(x)v(x)$ avec $u(x) = 8x - 2$ et $v(x) = e^{-x}$ . $u'(x) = 8 \times 1 - 0 = 8$ et $v'(x) = -1e^{-x} = -e^{-x}$ . Donc $f'(x) = 8 \times e^{-x} + (8x - 2) \times (-e^{-x})$ . Forme factorisée (non demandée) : $f'(x) = e^{-x}(8 - (8x - 2)) = e^{-x}(-8x + 10)$ .
2.	$f(x) = 0 \Leftrightarrow (8x - 2)e^{-x} = 0 \Leftrightarrow 8x - 2 = 0$ ou $e^{-x} = 0$ . $e^{-x} = 0$ n'a pas de solution car $e^{-x} > 0$ pour tout $x \in \mathbb{R}$ . $8x - 2 = 0 \Leftrightarrow 8x = 2 \Leftrightarrow x = \frac{2}{8} = 0,25$ . Donc $f(x) = 0 \Leftrightarrow x = 0,25$ .
3.	La courbe de $g'$ est au-dessus de l'axe des abscisses sur l'intervalle $[0; 4]$ donc, pour tout $x \in [0, 4]$ , $g'(x) \geq 0$ . Donc la fonction $g$ est croissante sur $[0; 4]$ . Julien a donc tort.
4.	$\ln(\sqrt{8}) = \ln\left((\sqrt{2})^3\right) = 3 \ln(\sqrt{2})$ . Donc : $\frac{\ln(\sqrt{8})}{\ln(\sqrt{2})} = \frac{3 \ln(\sqrt{2})}{\ln(\sqrt{2})} = 3.$
5.	$\lim_{x \rightarrow -\infty} e^{6x} = 0$ donc $\lim_{x \rightarrow -\infty} f(x) = 0 - 1 = -1$ .

6. Par projection orthogonale de  $\overrightarrow{BD}$  sur  $(BF)$  :

$$\overrightarrow{BF} \cdot \overrightarrow{BD} = \overrightarrow{BF} \cdot \overrightarrow{BC} = -BF \times BC = -3 \times 4 = -12.$$

Autre méthode (par la définition) :

$$\overrightarrow{BF} \cdot \overrightarrow{BD} = BF \times BD \times \cos(\widehat{FBD}).$$

On a  $\widehat{FBD} = 90^\circ + 45^\circ = 135^\circ$  donc  $\cos(\widehat{FBD}) = -\frac{\sqrt{2}}{2}$ .

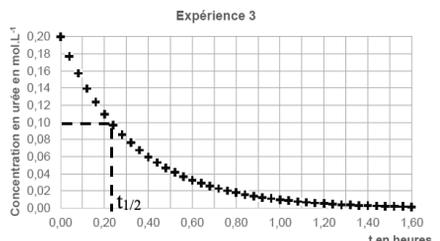
Et  $BD = \sqrt{4^2 + 4^2} = \sqrt{32} = 4\sqrt{2}$ .

Donc  $\overrightarrow{BF} \cdot \overrightarrow{BD} = 3 \times 4\sqrt{2} \times \left(-\frac{\sqrt{2}}{2}\right) = -12.$

**EXERCICE 4 au choix du candidat (6 points)**  
**(physique-chimie)**

**EXERCICE 4 A :**

1. Le temps de demi-réaction noté  $t_{1/2}$  est la durée au bout de laquelle la concentration en urée est égale à la moitié de sa valeur initiale.
2. Pour déterminer il faut trouver le temps  $t$  tel que la concentration en urée =  $C/2$ .



Expérience 1 :  $t_{1/2} = 5h$     Expérience 2 :  $t_{1/2} = 5h$     Expérience 3 :  $t_{1/2} = 0,22 h$

**3.** Pour étudier l'influence de la concentration, il faut se placer à température constante : on compare donc les expériences 1 et 2, car seule la concentration varie.

On remarque que le temps de demi-réaction est le même : la concentration n'a pas d'influence sur la durée de la réaction.

**4.** Pour étudier l'influence de la température, il faut se placer à concentration constante : on compare donc les expériences 2 et 3, car seule la température varie.

On remarque que le temps de demi-réaction est beaucoup plus faible lorsque la température augmente : l'élévation de température permet de diminuer la durée de la réaction.

**5.** Un facteur cinétique est un paramètre qui influe sur la vitesse d'une transformation chimique. La température est donc ici un facteur cinétique.

**6.** 
$$v_{dis(urée)} = -\frac{d[urée]}{dt} = \frac{\Delta[urée]}{\Delta t}$$

**7.** Si la réaction suit une loi de vitesse d'ordre 1, alors on peut écrire  $v_{dis(urée)} = k \times [urée]$ .

La courbe obtenue est une fonction linéaire : il y a proportionnalité entre la vitesse de disparition de l'urée et sa concentration. Il s'agit donc bien d'une loi d'ordre 1 par rapport à l'urée.

**8.** On a :  $v_{dis(urée)} = -\frac{d[urée]}{dt}$  et  $v_{dis(urée)} = k \times [urée]$

On en déduit donc :  $-\frac{d[urée]}{dt} = k \times [urée]$  soit  $\frac{d[urée]}{dt} = -k \times [urée]$

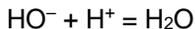
Il s'agit d'une équation différentielle du premier ordre dont la solution est  $[urée] = [urée]_0 \times e^{-kt}$  où  $k$  est la constante de vitesse.

**9.**  $k$  correspond au coefficient directeur de la droite donnant l'évolution de la vitesse de disparition en fonction de la concentration en urée.

$$k = \frac{\Delta v}{\Delta[urée]} = \frac{0,021-0}{0,076-0} = 0,28 \text{ h}^{-1}$$

**10.** L'utilisation de l'uréase permet de réduire le temps de demi-réaction. L'uréase est donc un catalyseur.

11.  $\text{NH}_4^+$  est un acide, il réagit avec les ions hydroxydes  $\text{OH}^-$ .  
Les réactions associées aux deux couples acide-base sont :

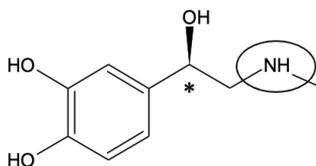


12. L'équation de la réaction est donc :  $\text{NH}_4^+ + \text{HO}^- \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}$

13. Il y a un échange (ou transfert) de protons donc c'est une réaction acide-base.

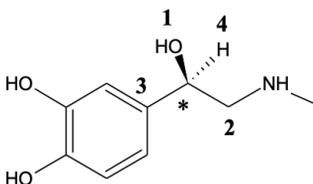
### EXERCICE 4 B :

1. Groupe amino (groupe entouré sur la formule topologique) :

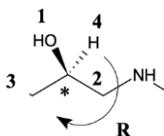


2. La molécule possède un seul atome de carbone asymétrique (\*), c'est donc une molécule chirale.

3. D'après les règles de Cahn, Ingold et Prelog :  $\text{OH} > \text{CH}_2\text{NHCH} > \text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2 > \text{H}$ . Les groupes liés à l'atome de carbone asymétrique sont donc classés comme suit :



4. On tourne dans le sens horaire donc la configuration absolue de l'adrénaline est R.



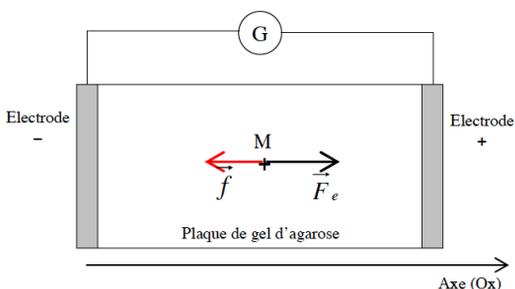


## SUJET 2 PHYSIQUE-CHIMIE / MATHÉMATIQUES ÉLÉMENTS DE CORRECTION

### EXERCICE 1 commun à tous les candidats (4 points) (physique-chimie et mathématiques)

#### Partie A – Principe de l'électrophorèse

**A1.** La force  $\vec{f}$  s'oppose au mouvement des espèces chimiques, elle est donc opposée à  $\vec{F}_e$ .



**A2.** On applique la seconde loi de Newton à un anion de masse  $m$  dans le référentiel terrestre :

$$\Sigma \vec{f}_{ext} = m \times \vec{a} \quad \text{soit} \quad \vec{F}_e + \vec{f} = m \times \vec{a}$$

**A3.** On projette les forces sur l'axe (Ox) horizontal orienté vers la droite :

$$\vec{F}_e (F_e = +e \times E) \quad \vec{f} (f = -k \times v)$$

On projette le vecteur accélération sur l'axe (Ox) :

$$\vec{a} \left( a_x = +a = +\frac{dv}{dt} \right)$$

La projection sur l'axe vertical de la deuxième loi de Newton donne :

$$e \times E - k \times v = m \frac{dv}{dt}$$

d'où après réarrangement et division par  $m$  :

$$\frac{dv}{dt} + \frac{k}{m} \times v = \frac{e \times E}{m}$$

## Partie B – Étude du mouvement de l'ion d'acide aspartique

**B1.** L'équation différentielle est de la forme  $y' = ay + b$  avec  $a = -1,3 \times 10^{13}$  et  $b = 3,9 \times 10^8$ .

Les solutions générales sont de la forme :

$$y(t) = C \times e^{-1,3 \times 10^{13}t} - \frac{3,9 \times 10^8}{-1,3 \times 10^{13}} \text{ avec } C \in \mathbb{R}.$$

Soit  $v(t) = C \times e^{-1,3 \times 10^{13}t} + 3 \times 10^{-5}$  avec  $C \in \mathbb{R}$ .

**B2.** Sachant que  $v(0) = 0$ , on a alors :  $0 = C \times e^{-1,3 \times 10^{13} \times 0} + 3 \times 10^{-5}$  soit  $C = -3 \times 10^{-5}$

La solution de l'équation différentielle est donc :

$$v(t) = 3 \times 10^{-5}(1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t})$$

**B3.** Par propriété :  $\lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-1,3 \times 10^{13}t} = 0$ . Donc  $\lim_{t \rightarrow +\infty} 1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t} = 1 - 0 = 1$ .

Finalement :  $\lim_{t \rightarrow +\infty} 3 \times 10^{-5}(1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t}) = 3 \times 10^{-5} \times 1 = 3 \times 10^{-5}$ .

**B4.** On cherche le temps  $t_{90}$  pour lequel  $v = 0,90 v_{\lim}$   
 $3 \times 10^{-5}(1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t_{90}}) = 0,9 \times 3 \times 10^{-5}$  donc  $(1 - e^{-1,3 \times 10^{13}t_{90}}) = 0,9$   
donc  $e^{-1,3 \times 10^{13}t_{90}} = 0,1$  donc  $t_{90} = \frac{-\ln(0,1)}{1,3 \times 10^{13}} \approx 1,8 \times 10^{-13}$

## Partie C – Détermination de la durée de migration

**C1.**  $k_{ac \text{ glutam}} > k_{ac \text{ aspart}}$  donc la vitesse limite de l'ion glutamate est inférieure à celle de l'ion aspartate.

$$\mathbf{C2.} \quad v_{\lim(ac. \text{ aspart})} = \frac{1,6 \cdot 10^{-19} \times 520}{2,7 \cdot 10^{-12}} = 3,1 \cdot 10^{-5} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$\text{et } v_{\lim(ac. \text{ glutam})} = \frac{1,6 \cdot 10^{-19} \times 520}{3,0 \cdot 10^{-12}} = 2,8 \cdot 10^{-5} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$$

Pendant la durée  $\Delta t$  de l'expérience, la distance parcourue respectivement par les ions aspartate et glutamate s'écrit :

$$d_{ac. \text{ aspart}} = v_{\lim(ac. \text{ aspart})} \times \Delta t \text{ et } d_{ac. \text{ glutam}} = v_{\lim(ac. \text{ glutam})} \times \Delta t$$

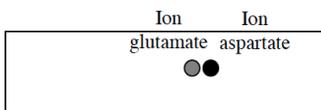
D'après l'énoncé, on veut :

$$d_{ac. \text{ aspart}} - d_{ac. \text{ glutam}} = (v_{\lim(ac. \text{ aspart})} - v_{\lim(ac. \text{ glutam})}) \times \Delta t > 5 \cdot 10^{-3}$$

$$\text{soit } \Delta t > \frac{5 \cdot 10^{-3}}{3,1 \cdot 10^{-5} - 2,8 \cdot 10^{-5}} = 1667 \text{ s} = 28 \text{ min}$$

L'électrophorèse doit durer environ une demi-heure.

**C3.** Positionnement et identification des tâches obtenues après électrophorèse :



## EXERCICE 2 commun à tous les candidats (6 points) (physique-chimie)

### Partie A : Étude énergétique

1. Calcul de l'énergie électrique :

$$E_{elec} = E \times I \times \Delta t = 4,7 \times 0,31 \times 120 = 175 \text{ J}$$

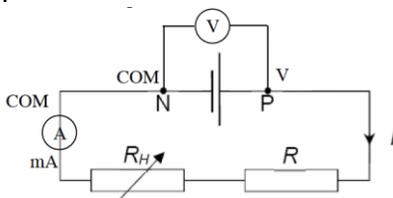
2. Calcul de l'énergie dissipée par effet Joule :

$$E_{diss} = r \times I^2 \times \Delta t = 1,3 \times 0,31^2 \times 120 = 15 \text{ J}$$

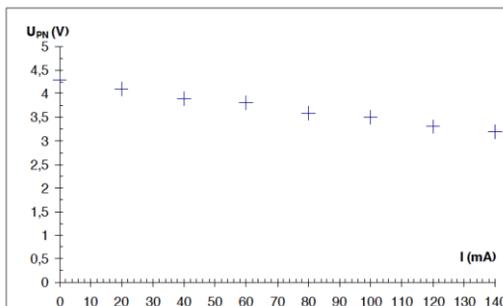
3. Conséquence physique : la pile va chauffer.

### Partie B : Détermination expérimentale de la valeur de la résistance interne

1. Schéma complété :



2.



3. Détermination de la valeur de la résistance interne  $r$  de la pile :  
Le coefficient directeur de la droite correspond à  $-r$ .

$$r = \frac{\Delta U}{\Delta I} = -\frac{3,2 - 4,3}{140 \cdot 10^{-3}} = 7,9 \Omega$$

### EXERCICE 3 commun à tous les candidats (4 points) (mathématiques)

1a.	Par propriété $\lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-t} = 0$ . Donc $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = a \times 0 + b = b$ . Donc $b = 0,715$ .
1b.	$f(0) = 0 \Leftrightarrow a \times e^{-0} + 0,715 = 0 \Leftrightarrow a + 0,715 = 0$ $\Leftrightarrow a = -0,715$ . Donc $f(t) = -0,715e^{-t} + 0,715$ .
2.	Par propriété : pour tout nombre réel $t \geq 0$ , $e^{-t} > 0$ . $e^{-t} > 0 \Leftrightarrow -0,715e^{-t} < 0 \Leftrightarrow -0,715e^{-t} + 0,715 < 0,715$ . Soit $f(t) < 0,715$ .
3.	$f'(t) = -0,715 \times (-e^{-t}) + 0 = -0,715e^{-t}$ . Pour tout $t \in [0; +\infty[$ , $e^{-t} > 0$ donc $-0,715e^{-t} < 0$ . Pour tout $t \in [0; +\infty[$ , $f'(t) < 0$ donc $f$ est décroissante sur $[0; +\infty[$ .
4.	Il s'agit de déterminer $t$ tel que $f(t) = 50\% \times 0,715$ . Ce qui donne : $-0,715e^{-t} + 0,715 = 0,3575 \Leftrightarrow -0,715e^{-t} = -0,3575$ $\Leftrightarrow e^{-t} = \frac{-0,3575}{-0,715} = 0,5$ . Et $e^{-t} = 0,5 \Leftrightarrow -t = \ln(0,5) \Leftrightarrow t = -\ln(0,5)$ . Ce temps est obtenu en heures. $\ln(0,5) \times 3\,600 \approx 2\,495$ . Et $2\,495 = 41 \times 60 + 35$ . Donc le temps cherché est d'environ 41 min 35 s.

<b>5.</b>	<p>Temps(0.15) renvoie 0,1666666 ...</p> <p>Cela correspond à <math>\frac{1}{6}</math> d'heure, soit 10 min.</p> <p>Entre la 10<sup>ème</sup> minute et la 11<sup>ème</sup> minute, le portable atteint 15 % de sa charge totale.</p>
<b>6.</b>	<p><math>F'(t) = 0,715 \times 1 + 0,715 \times (-e^{-t}) = -0,715e^{-t} + 0,715 = f(t)</math>.</p> <p>Donc, par définition, <math>F</math> est une primitive de <math>f</math> sur <math>[0; +\infty[</math>.</p> <p><math>m = \frac{1}{3,5} \times (F(3,5) - F(0)) \approx 0,517</math>.</p> <p>Donc <math>m &gt; 50\% \times 0,715</math>.</p> <p>(Cette énergie est plus élevée puisque qu'elle est associée à un temps de charge plus important que le temps nécessaire (trouvé dans la question 4) pour stocker la moitié de l'énergie.)</p>

### EXERCICE 4 au choix du candidat (6 points) (physique-chimie)

#### EXERCICE 4 A :

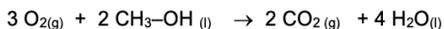
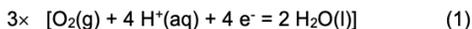
#### Partie A : Fonctionnement de la pile à combustible à méthanol direct

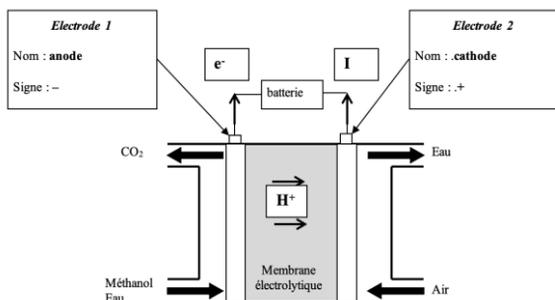
**A1.** Le méthanol libère des électrons, c'est donc un réducteur.

Le couple oxydant/réducteur est  $\text{CO}_2 / \text{CH}_3\text{-OH}$ .



**A3.** Lors d'une réaction d'oxydo-réduction le nombre d'électrons échangés doit être le même donc il faut multiplier la demi-équation (1) par 3 et la demi-équation (2) par 2.





**A4.** À l'électrode 1 se produit une oxydation, c'est donc l'anode.  
 À l'électrode 2 se produit une réduction, c'est donc la cathode.  
 Les électrons quittent l'électrode 1 qui est donc la borne négative et arrivent sur l'électrode 2 qui est la borne positive.

**A5.** Le courant sort de la borne positive de la pile qui est l'électrode (2).  
 Les électrons circulent dans le sens inverse du courant électrique, donc de l'anode vers la cathode.

**A6.** Le rôle de la membrane est de permettre au courant électrique de circuler grâce aux ions  $H^+$ .  
 Les ions  $H^+$  vont au sein de la membrane de l'anode à la cathode.

## Partie B : Autonomie de la pile à combustible

$$B1. n_{\text{méthanol}} = \frac{m_{\text{méthanol}}}{M_{\text{méthanol}}} \text{ avec } m_{\text{méthanol}} = \rho_{\text{méthanol}} \times V$$

$$\text{Donc } n_{\text{méthanol}} = \frac{\rho_{\text{méthanol}} \times V}{M_{\text{méthanol}}}$$

$$\text{Application numérique : } n_{\text{méthanol}} = \frac{790 \times 5,0}{32} = 1,2 \times 10^2 \text{ mol}$$

**B2.** D'après la demi-équation électronique 1 mol de méthanol réagit pour former 6 mol d'électrons.

$$n_{e^-} = 6 \times n_{\text{méthanol}} = 6 \times 1,2 \times 10^2 = 7,2 \times 10^2 \text{ mol}$$

$$B3. Q = n_{e^-} \times F \text{ donc } Q = 7,2 \times 10^2 \times 9,65 \times 10^4 = 6,9 \times 10^7 \text{ C}$$

$$B4. Q = I \times \Delta t \text{ donc } \Delta t = \frac{Q}{I}$$

$$\text{Application numérique : } \Delta t = \frac{6,9 \times 10^7}{4,2} = 1,6 \times 10^7 \text{ s soit environ 200 jours.}$$

Cette valeur est surestimée car on a négligé les pertes par effet Joule.

## EXERCICE 4 B :

### Partie A : Structure de la molécule d'acide lactique

A1. (a) : acide carboxylique (b) : alcool

A2. L'atome de carbone noté « \* » est appelé carbone asymétrique car il est lié à quatre atomes ou groupes d'atomes différents

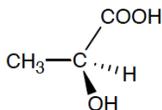
A3. Une molécule chirale n'est pas superposable à son image dans un miroir.

A4. D'après l'énoncé il faut représenter l'énantiomère S.

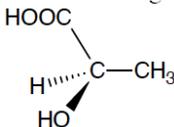
D'après les règles de CIP, le classement des 4 substituants est : OH > COOH > CH<sub>3</sub> > H

En regardant dans l'axe C\*-groupe n°4, il faut effectuer une rotation en sens inverse des aiguilles d'une montre.

L'énantiomère S est donc :



A5. L'image dans un miroir de l'énantiomère S est :



Ces deux molécules ne sont pas superposables, elles sont donc chirales.

### Partie B : Acide lactique dans le sang

B1.  $n_A = \frac{m_A}{M_A} = \frac{0,500}{90} = 5,6 \times 10^{-3} \text{ mol}$

B2. L'acide lactique est susceptible de céder un proton H<sup>+</sup> donc c'est un acide.

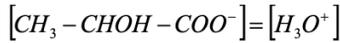
B3. Ion lactate : CH<sub>3</sub>-CHOH-COO<sup>-</sup>



**B5.** Par définition, le coefficient de dissociation est égal à :

$$\alpha = \frac{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-]}{C_A}$$

D'après l'équation de la réaction, on a :



Donc, on a bien :

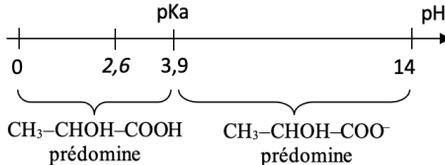
$$\alpha = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{C_A}$$

**B6.**  $[\text{H}_3\text{O}^+] = 10^{-\text{pH}} = 10^{-2,6} = 2,5 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

$$\alpha = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]}{C_A} = \frac{2,5 \times 10^{-3}}{5,6 \times 10^{-2}} = 0,045$$

$\alpha$  est très inférieur à 1 donc l'acide lactique est très peu dissocié. Il s'agit donc d'un acide faible.

**B7.** Diagramme de prédominance :



**B8.**

$$K_A = \frac{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-] \times [\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}]}$$

**B9.** On en déduit que :

$$\frac{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}]} = \frac{K_A}{[\text{H}_3\text{O}^+]} = \frac{10^{-\text{p}K_A}}{10^{-\text{pH}}} = \frac{10^{-3,9}}{10^{-2,6}} = 5,0 \times 10^{-2}$$

La forme basique est minoritaire, conformément au résultat de la question B7.

**B10.** Le pH du sang est égal à 7,4.

D'après le diagramme de prédominance de la question B7, la forme prédominante est la forme basique : CH<sub>3</sub>-CHOH-COO<sup>-</sup>

**QUELQUES ASPECTS PHYSIOPATHOLOGIQUES ET  
DIAGNOSTIQUES DE LA PANDÉMIE DE COVID-19**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1. Mise en place de la réponse immunitaire de l'hôte lors d'une infection par le SARS-Cov-2**

**Q1-. Le document 1a donne les résultats du dosage de la concentration sanguine en cellules de l'immunité innée à J7.**

- Pour les individus sains, les cellules NK sont absentes dans le sang tandis que les monocytes sont présents à des valeurs de 5 à 16 ua.

- Pour la patiente souffrant de COVID-19, les valeurs mesurées en cellules NK et en monocytes sont nulles donc les cellules NK et les monocytes sont absents du sang.

Lors d'une infection, les monocytes sont recrutés sur le site de pénétration de l'antigène et deviennent des macrophages tissulaires. Ils ne sont alors plus détectés dans le sang.

On en déduit que les monocytes sont mobilisés lors d'une infection COVID-19.

**Q2- Le document 1b présente le suivi (J7-J20) de la concentration sanguine en cellules de l'immunité adaptative pour une patiente souffrant de COVID-19.**

- chez un individu non infecté, la concentration sanguine en LT CD4+ et LT CD8+ est de l'ordre de 0 à 2 unités arbitraires.

- 7 jours après l'infection, le taux de LT CD4 + commence à augmenter, passant d'une concentration de 0 à environ 3 ua au bout de 9 jours. Ce taux de 3 ua reste constant jusqu'au 20<sup>ième</sup> jour donc taux supérieur à celui d'une personne non infectée.

- le taux de LT CD8 + commence à augmenter 7 jours après l'infection, passant de 3 ua à 12 ua au bout de 9 jours, puis, le taux diminue jusqu'à 7 ua au 20<sup>ième</sup> jour mais reste toutefois bien supérieur à celui d'une personne non infectée.

Ces 2 types de LT sont donc impliqués dans la réponse immunitaire dirigée contre le virus SARS-CoV-2.

**Q3-** Le document 2 présente le détail de la phase effectrice de la réponse immunitaire adaptative à médiation cellulaire

- dans l'étape de reconnaissance et adhésion :

Un LT CD8+ détecte une cellule infectée présentant le complexe Ag SARS-Cov 2-CMH grâce à son récepteur T → reconnaissance d'épitopes spécifiques du SARS-Cov 2 exprimés à la surface des cellules infectées.

- dans l'étape de dégranulation et mort cellulaire :

La liaison entre récepteur T et Ag SARS-Cov 2-CMH constitue un signal qui déclenche l'exocytose de molécules de perforines stockées dans des vésicules cytoplasmiques. La polymérisation de ces molécules crée des pores dans la membrane qui bouleversent la perméabilité membranaire et entraînent la lyse de la cellule infectée par le virus.

**Intérêt :** reconnaissance spécifique de cellules infectées par le SARS-Cov 2 et élimination de celles-ci avant que ces cellules produisent de nouveaux virus qui infecteraient de nouvelles cellules. La réaction immunitaire adaptative à médiation cellulaire permet donc de lutter contre le virus en empêchant sa multiplication alors même qu'il est caché dans les cellules du soi et donc inaccessible aux anticorps.

**Q4-** Le document 3 présente la mesure de la présence du virus SARS-CoV-2 et des anticorps dirigés contre SARS-CoV-2 chez un patient avant et après apparition des symptômes

- La détection du virus dans un prélèvement rhinopharyngé par PCR peut être faite une semaine avant les 1ers symptômes et jusqu'à un peu plus de trois semaines après les 1ers symptômes.

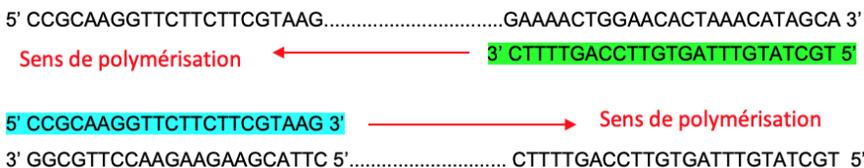
- La libération des Ac commence au début de la 2<sup>ième</sup> semaine après l'apparition des 1<sup>ers</sup> symptômes soit environ au bout de 8 jours mais en quantité trop faible pour être détectables par les tests sérologiques. Leur quantité continue d'augmenter pour atteindre une quantité détectable par les tests sérologiques un peu avant le milieu de la seconde semaine soit 10 jours après les 1<sup>ers</sup> symptômes

Comme le recommande la Haute Autorité de Santé (HAS), il ne faut donc pas effectuer de test sérologique au cours des dix premiers jours après l'apparition des symptômes.

## 2. Mise en place de la réponse immunitaire de l'hôte lors d'une infection par le SARS-Cov-2

**Q5-** Sur le document 4, étape 2, cycle 2, on peut observer les trois étapes : dénaturation de l'ADN à 90°C, hybridation des amorces à 62°C, polymérisation avec synthèse du brin complémentaire par Taq polymérase à 72°C qui sont bien les trois étapes que l'on retrouve dans toute PCR donc ce cycle 2 de l'étape 2 de PCR quantitative en temps réel présente bien les caractéristiques fondamentales d'une PCR.

**Q6-**



**5' CCGCAAGGTTCTTCTTCGTAAG 3'** correspond à l'amorce « sens » du couple d'amorces 2



et correspond donc à l'amorce « anti sens » du couple d'amorces 2.

**Q7-**  $T_{m(\text{amorce sens})} = 2 \times (nA + nT) + 4 \times (nC + nG)$   
 $= 2 \times (4 + 7) + 4 \times (6 + 5) = 22 + 44 = 66 \text{ °C}$

$T_{m(\text{amorce sens})} - T_{m(\text{amorce antisens})} = 68 - 66 = 2 \text{ °C}$  or pour être compatibles entre-elles, un écart de  $T_m$  entre les deux amorces doit être inférieur ou égal à 2°C donc amorces compatibles.

**Q8-** Dans le document 5, on peut lire que la température d'hybridation  $T_H$  de l'ADN cible doit être inférieure d'au moins 4 °C au  $T_m$  de chaque amorce donc on retranche 4 °C à la température de fusion  $T_m$  la plus faible des deux amorces soit  $66 - 4\text{°C} = 62\text{°C}$ .

Pour amorce sens  $66\text{°C} - 62\text{°C} = 4\text{°C}$  donc température d'hybridation validée.

Pour amorce antisens  $68\text{°C} - 62\text{°C} = 6\text{°C} > 4\text{°C}$  donc température est bien inférieure **d'au moins** 4°C au  $T_m$  de l'amorce donc température d'hybridation validée.

**Q9-** À chaque polymérisation (élongation) du brin complémentaire de l'ADN par la Taq polymérase lors de l'étape 2 de chaque cycle, la sonde est **clivée** et il y a **émission de fluorescence** or à chaque cycle un nombre toujours

plus grand de brins d'ADN est polymérisé par la Taq polymérase d'où l'augmentation de fluorescence au cours des cycles.

**Q10-** Dans témoin négatif absence d'ARN viral donc absence de synthèse d'ADNc par RT donc absence de polymérisation par Taq polymérase donc absence de fluorescence.

**Q11-** Dans le document 6 on peut lire que pour qu'un individu soit diagnostiqué positif,

- **l'allure du graphe doit être similaire à celle du témoin positif** (courbe sigmoïde) or l'allure du graphe correspondant à l'échantillon de l'individu dépisté (en bleu) est bien sigmoïde comme l'allure du graphe correspondant au témoin positif donc allure validée ;

- **le graphe doit être positionnée à gauche de la courbe obtenue pour le témoin positif** (moins de cycles nécessaires pour obtenir la même quantité d'ADN par amplification dans la fenêtre de lecture) or le graphe correspondant à l'échantillon de l'individu dépisté (en bleu) est bien à gauche du graphe correspondant au témoin positif donc l'individu est bien positif pour le SARS-Cov 2.

### 3. Dosage de la LDH pour mettre en évidence des lésions d'organes chez des individus présentant une forme grave de COVID-19

**Q12-** Il est possible de suivre la réaction grâce au NADH, H<sup>+</sup> qui absorbe à 340 nm. Celui-ci est un substrat de la réaction, sa quantité diminue donc au cours de la réaction ; l'absorbance va donc diminuer au cours du temps.

**Q13-**

$$b_{(LDH; plasma)} = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon_{NADH}^{340\text{ nm}} \times \ell} \times \frac{V_{réactif} + V_{plasma}}{V_{plasma}} \times 10^6$$

$$\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} = \frac{\text{sans unité}}{\text{min}} \times \frac{1}{\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \times \text{cm}} \times \frac{\text{L}}{\text{L}} \times 10^6$$

$$b_{(LDH; plasma)} = 0,125 \times \frac{1}{6300 \times 1} \times \frac{10^{-3} + 20 \cdot 10^{-6}}{20 \cdot 10^{-6}} \times 10^6$$

$$= 1012 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$$

**Q14-**  $u_c = 30 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$

$$U = u_c \times k = 30 \times 2 = 60 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$$

Donc premier chiffre significatif = 6 donc compris entre 5 et 9 donc on ne garde qu'un seul chiffre significatif.

Attention, **le dernier chiffre significatif de la valeur retenue doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude.**

Le résultat est donc :

$b_{(LDH ; plasma)} = (101 \cdot 10^1 \pm 6 \cdot 10^1) \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un niveau de confiance de 95 %.

On peut aussi s'en rendre compte si on change de sous-multiple d'unité, le résultat devient :

$b_{(LDH ; plasma)} = (1,01 \pm 0,06) \text{mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  avec un niveau de confiance de 95 %.

Ce qu'il faut retenir: **le dernier CS gardé est à la même position décimale que le chiffre sur lequel porte l'incertitude.**

Les valeurs physiologiques de la concentration d'activité catalytique de la LDH chez l'adulte (à 37 °C) sont [200 à 400]  $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$ .

La valeur de la concentration d'activité catalytique de la LDH trouvée =  $(101 \cdot 10^1 \pm 6 \cdot 10^1) \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$  est donc supérieure aux valeurs physiologiques donc cette valeur témoigne de lésions de certains organes du corps humain (rein, cœur, muscles, foie, poumons) chez ce patient.

## Partie II – Question de synthèse

Tests	Applications tests	Caractéristiques tests	Intérêts des différents tests chez un patient asymptomatique
Tests sérologiques	<b>Détection d'IgM ou d'IgG</b> ou les deux par test ELISA ou test rapide donc recherche <b>immunisation</b> contre le coronavirus et donc recherche d'une éventuelle infection par le SARS Cov2 ancienne mais asymptomatique.	Test pratiqué sur prélèvement sanguin et analysé en laboratoire (test ELISA) donc par professionnels.	Aucun. <b>Ne permet pas de dire si la personne est actuellement porteuse du virus</b> et donc susceptible de le transmettre.
Test virologique par RT-PCR	<b>Recherche d'ARN viral</b> et donc de la <b>présence du virus.</b>	Prélèvement par professionnel de santé et analyse par laboratoire donc par professionnels.	<b>Grand intérêt pour confirmer infection par SARS Cov2 et donc préconiser isolement</b> afin d'empêcher la transmission du virus à d'autres personnes. Nécessite toutefois un délai de 48h pour avoir résultat et donc possibilité de transmission du virus dans ces 48h si pas d'isolement de la personne en attendant résultat.
Tests antigéniques	<b>Recherche Ag de surface du virus.</b>	Prélèvement nasopharyngé. Sensibilité minimale > 80% Spécificité minimale > 99%  Test similaire à test de grossesse donc possibilité de faire test chez soi.	Si test réalisé dans les 4 premiers jours après apparition symptômes pas de nécessité de confirmation par RT-PCR donc <b>diagnostic rapide</b> (résultat immédiat) et <b>moins coûteux</b> (non nécessité de main-d'œuvre professionnelle) et <b>donc possibilité d'isolement rapide si test positif.</b> Test semblerait toutefois moins fiable que RT-PCR donc nécessité de confirmer par un test RT-PCR pour personnes symptomatiques à risque de développer forme grave maladie si test négatif.

## **DÉVELOPPEMENT D'UNE LESSIVE ÉCOLOGIQUE CONTENANT UNE PROTÉASE**

### **Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

#### **1- Étude de l'immunogénicité d'un parasite du genre *Plasmodium***

**Q1-** Choix de l'espèce bactérienne à sélectionner :

Le document 1 présente les activités enzymatiques en  $U \cdot mL^{-1}$  des protéases isolées de 2 espèces bactériennes : *E. coli* et *B. licheniformis*.

La protéase de *B. licheniformis* a une activité enzymatique égale à  $4,51 U \cdot mL^{-1}$  et supérieure à l'activité enzymatique de la protéase isolée d'*E. coli* =  $0,34 U \cdot mL^{-1}$ .

Le choix de l'espèce à sélectionner sera donc *B. licheniformis*.

**Q2-** Vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle pour *E. coli* :

Échelle ln X : 1 carré correspond à  $5 / 5 = 1$

Échelle temps : 1 carré correspond à  $2 / 5 = 0,4$  h

$\mu_{expo} = \frac{\ln C_{N2} - \ln C_{N1}}{t_2 - t_1}$ , les points  $\ln C_{N1}$  et  $\ln C_{N2}$  étant pris en phase exponentielle de croissance sur la courbe de croissance d'*E. coli*.

$$\mu_{expo} (E.coli ; milieu ordinaire) = \frac{34 - 22}{9 - 3} = 2,0 \text{ h}^{-1}$$

**Q3-** Le document 2 présente les courbes de croissance d'*E. coli* et de *B. licheniformis* en milieu ordinaire non renouvelé. La pente de la phase exponentielle de la courbe de croissance d'*E. coli* est plus longue et plus forte que celle de *B. licheniformis* donc la croissance d'*E. coli* est bien meilleure en milieu ordinaire non renouvelé que celle de *B. licheniformis*. L'espèce bactérienne la mieux adaptée pour la production de biomasse est donc *E. coli*.

**Q4-** La protéase présentant une meilleure activité enzymatique est celle isolée de *B. licheniformis* et l'espèce bactérienne la mieux adaptée pour la production de biomasse est donc *E. coli*.

Donc le laboratoire a intérêt de cloner le gène de la protéase de *B. licheniformis* dans la bactérie *E. coli* pour obtenir une meilleure production

de biomasse et donc une plus grande quantité de protéase de *B. licheniformis* qui présente une forte activité enzymatique.

## 2- Amplification et clonage du gène d'intérêt

**Q5-** Schéma de l'insert obtenu après coupure du fragment par les deux enzymes de restriction *Bam*HI et *Eco*RI.

Représentation coupures :

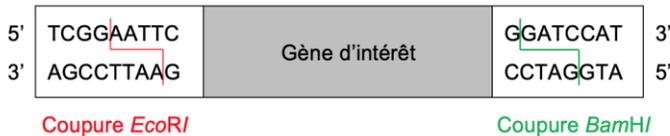
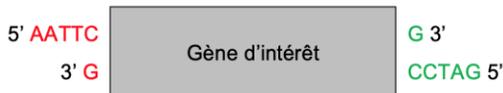
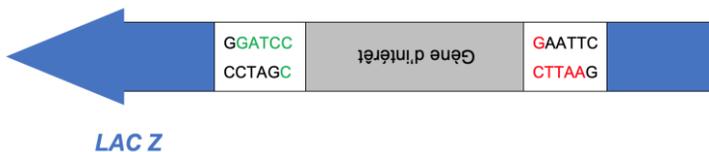


Schéma insert obtenu après coupures :



**Q6-** Insertion fragment d'ADN digéré dans plasmide :



**Q7-** Couleur des colonies observées après incubation :

Dans le document 5, on peut voir que le milieu de culture contient du X-Gal qui est un substrat synthétique dont le produit de dégradation par la  $\beta$ -galactosidase est bleu. Or le gène d'intérêt a été introduit dans le gène codant pour la  $\beta$ -galactosidase donc la  $\beta$ -galactosidase n'est plus fonctionnelle.

Donc après incubation,

- les colonies de bactéries ayant intégré un plasmide pUC18 sans insert seront bleues ( $\beta$ -galactosidase fonctionnelle) ;
- les colonies de bactéries ayant intégré un plasmide pUC18 avec insert seront incolores ( $\beta$ -galactosidase non fonctionnelle suite à l'insertion du gène d'intérêt dans le gène codant pour la  $\beta$ -galactosidase).

Les colonies à prélever pour la purification sont les colonies de bactéries ayant intégré un plasmide pUC18 avec insert (= gène d'intérêt) donc les colonies incolores.

### **3- Purification de la protéase produite par les bactéries génétiquement modifiées**

**Q8-** Étape 1 = centrifugation d'un bouillon de culture de bactéries génétiquement modifiées. Après centrifugation, les bactéries vont se retrouver dans le culot donc on va récupérer le culot.

Étape 2 = on réalise sur le culot bactérien une lyse cellulaire qui va permettre la libération du contenu cytoplasmique or la protéase sécrétée par les bactéries génétiquement modifiées est localisée dans le cytoplasme. On obtient deux fractions :

- la fraction A = surnageant qui contient le contenu cytoplasmique et donc la protéase ;
- la fraction B = culot qui contient les débris cellulaires (membranes, organites...).

Donc on récupère la fraction A qui devrait donc contenir la protéase.

**Q9-** Choix de la teneur en sulfate d'ammonium assurant la précipitation optimale des protéases :

On cherche à purifier la protéases donc a obtenir une concentration d'activité catalytique maximale dans la fraction C récupérée et contenant la protéase purifiée et une absence d'activité catalytique dans la fraction D éliminée. La teneur en sulfate d'ammonium permettant d'obtenir cela est 80 %. Une teneur en sulfate d'ammonium de 80 % va donc permettre d'assurer la précipitation optimale des protéases et donc la purification de la protéase produite par les bactéries génétiquement modifiées.

**Q10-** Principe de la chromatographie d'exclusion ou gel-filtration :

La chromatographie d'exclusion, également appelé tamisage moléculaire ou gel-filtration, vise à séparer les molécules en fonction de leur masse moléculaire, bien que la forme intervienne également.

Le principe consiste à faire migrer l'échantillon contenant la molécule à purifier au milieu de billes poreuses. Les molécules suffisamment petites pour passer par les pores des billes seront ralenties dans leur progression et seront éluées tardivement, alors que les molécules trop grosses pour entrer dans les billes progresseront plus rapidement en passant entre les billes et seront donc éluées en premier.

La taille des pores, déterminé par le maillage de la résine (Sephadex), constitue donc le tamis moléculaire, laissant entrer les petites molécules de sulfate d'ammonium retardées car trajet plus long et excluant les grosses molécules de protéines (protéase) qui vont être rapidement éluées sous l'action de de l'entraînement par la phase mobile.

Le maillage de la résine est donc choisi en fonction de la masse moléculaire de la protéine d'intérêt à purifier. La protéase à purifier a une masse moléculaire de 30 kDa = 30 000 Da donc une taille comprise entre 4 000 et 150 000 Da donc on utilisera une résine Sephadex G100.

**Q11-** Choix du type de colonne échangeuses d'ions adaptée à la purification de la protéase :

Le document 8 indique que la protéine d'échange d'ions permet de retenir la protéine en fonction de sa charge. La protéase est une protéine qui a une charge globalement négative. La colonne chromatographique adaptée à la purification de cette protéase doit donc être remplie d'une résine chargée positivement donc le type de colonne échangeuses d'ions adaptée à la purification de la protéase est une chromatographie échangeuse d'anions.

**Q12-** Calcul des valeurs de l'activité spécifique  $Z_{sp}$  obtenue à l'issue de la mise de chacune des techniques chromatographique :

$$EG : Z_{sp(\text{protéase} ; \text{solution enzymatique})} = \frac{Z(\text{protéase} ; \text{vol. solution enz.})}{m(\text{protéines totales} ; \text{vol. solution enz.})}$$

$$EU : [U \cdot \text{mg}^{-1}] = \left[ \frac{U}{\text{mg}} \right] = \left[ \frac{U}{\mu\text{g} \cdot 10^{-3}} \right]$$

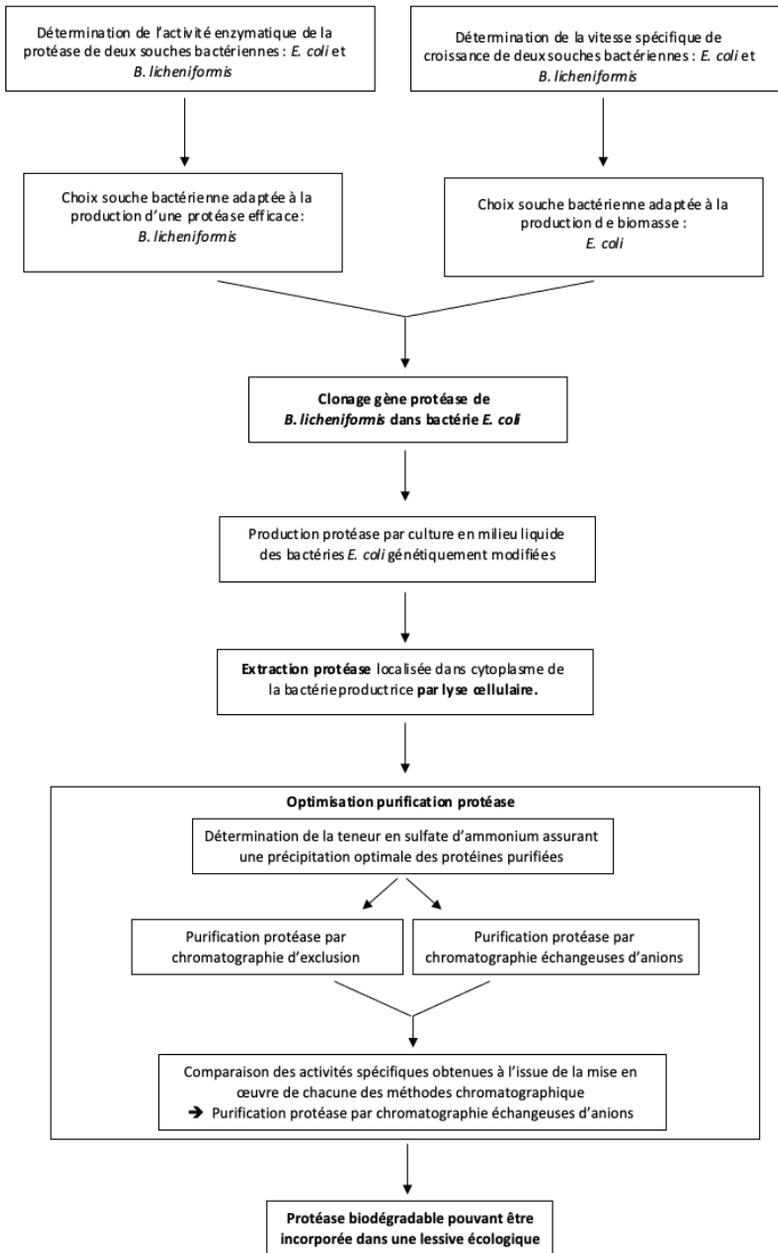
EV après gel filtration :

$$Z_{sp(\text{protéase} ; \text{sol. enz.})_{\text{gel filtration}}} = \frac{680}{3,22 \cdot 10^{-3}} = 2,1 \cdot 10^5 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$$

$$Z_{sp(\text{protéase} ; \text{sol. enz.})_{\text{chromato.échang.ions}}} = \frac{522}{0,66 \cdot 10^{-3}} = 7,9 \cdot 10^5 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$$

**Q13-** Le choix de la technique de chromatographie permettant de purifier le plus efficacement la protéase va se porter sur la technique de chromatographie permettant d'obtenir la plus forte activité spécifique de la protéase purifiée or  $Z_{sp(\text{protéase} ; \text{sol. enz.})_{\text{chromato.échang.ions}}} = 7,9 \cdot 10^5 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$  est supérieure à  $Z_{sp(\text{protéase} ; \text{sol. enz.})_{\text{gel filtration}}} = 2,1 \cdot 10^5 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$  donc on choisira le technique de chromatographie échangeuse d'anions pour purifier efficacement la protéase.

**Q14-** Organigramme des choix pris par le laboratoire pour optimiser la production de la protéase afin de développer une lessive écologique :



## Partie II – Question de synthèse

### Q15-

Comparaison des deux procédés de modifications d'un gène :

	<b>OGM obtenus par transgénèse</b>	<b>Mutagenèse dirigée par système CRISPR-Cas9</b>
Techniques de modification génétique	Modification gène par insertion, injection de molécules d'ADN ou d'ARN produites en dehors d'un organisme. Fusion de cellules.	Introduction dans une cellule d'un matériel génétique étranger pour y provoquer une mutation recherchée sans que le matériel génétique introduit ne demeure à long terme dans l'organisme.
Résultat	Incorporation d'une information génétique étrangère dans un hôte dans lequel elle n'est pas présente à l'état naturel.	Modification de l'information génétique afin de corriger des gènes défectueux à l'origine de maladies génétiques.
Risques	Risques réels ou supposés pour la santé et l'environnement.	Risque de genèse de mutations indésirables et de survenue de cancers.

La réglementation sur les OGM obtenus par transgénèse concerne toutes les techniques aboutissant à l'incorporation d'une information génétique étrangère dans un hôte dans lequel elle n'est pas présente à l'état naturel donc par extension toutes les techniques amenant à une modification de l'information génétique dans un hôte. Cette réglementation a été mise en place suite à l'émergence de risques réels ou supposés pour la santé et l'environnement.

La mutagenèse grâce au système CRISPR-Cas9 consiste à introduire, dans une cellule, un matériel génétique étranger pour provoquer une mutation recherchée. Bien que le matériel génétique introduit ne demeure pas dans l'organisme à long terme, il y a modification de l'information génétique de cellules d'un individu par mutagenèse dirigée. De plus cette méthode n'est pas sans risque : risques d'apparition de mutations indésirables et de développement de cancers.

Ces deux critères : modification de l'information génétique d'un individu + risques réels et supposés pour la santé expliquent la position du Conseil d'État de vouloir soumettre la mutagenèse dirigée, par utilisation du système CRISPR-Cas, à la même réglementation que celle qui régit les OGM.

**BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES**  
**SUJET 3 – Métropole Antilles Guyane Mai 2022 –**  
**Éléments de correction**

**DÉMARCHE D'IDENTIFICATION D'UN AGENT PATHOGÈNE**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1- Dosage enzymatique du lactate**

**Q1-** Le document 1 présente les deux voies métaboliques principales du catabolisme du glucose :

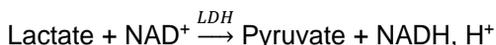
- en aérobiose c'est-à-dire en présence d'O<sub>2</sub> : la respiration avec production de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O ;
- en anaérobiose c'est-à-dire en absence d'O<sub>2</sub> : la fermentation avec production de lactate.

Or le LCR contient peu d'O<sub>2</sub> donc la voie métabolique utilisée par les bactéries contenues dans le LCR est la fermentation.

**Q2-** Dans le document 1, on peut trouver l'information « les bactéries disposent d'une activité métabolique propre et peuvent ainsi produire de l'énergie dont elles ont besoin ». On a vu dans la Q1 que la voie métabolique empruntée par les bactéries pathogènes localisées dans le LCR est la fermentation qui aboutit à la production de lactate donc le dosage du lactate permet d'identifier la nature de l'agent pathogène :

- augmentation anormale de la concentration en lactate dans le LCR est caractéristique d'une infection bactérienne ;
- pas d'augmentation de la concentration en lactate dans le LCR est le signe d'une infection virale.

**Q3-** Réaction principale (réaction dont le substrat est la molécule à doser) et indicatrice (réaction faisant apparaître ou disparaître un produit qui absorbe = chromophore) = oxydation du lactate en pyruvate grâce à la lactate déshydrogénase (LDH) :



La réaction est totalement déplacée vers la production de pyruvate + NADH, H<sup>+</sup> grâce à la réaction auxiliaire qui consomme le pyruvate au fur et à mesure qu'il est produit.

Cette réaction principale (par la consommation du lactate, molécule à doser) produit du NADH, H<sup>+</sup>, molécule qui absorbe (information apportée en cours d'épreuve) donc on a une augmentation de l'absorbance au cours du dosage.

**Q4-**  $c_{(\text{lactate}; \text{étalon contrôle})} = 0,92 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

Limites d'acceptabilité du contrôle :  $(0,86 - 1,47) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

$0,86 < 0,92 < 1,47$  donc  $c_{(\text{lactate}; \text{étalon contrôle})}$  est compris dans les limites d'acceptabilité du contrôle donc résultat contrôle conforme à celui attendu donc la valeur de l'échantillon mesurée dans les mêmes conditions sera acceptée.

**Q5-** Une méningite est caractérisée par  $c_{(\text{lactate}; \text{LCR})} > 3,20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ;

Limites de validité du dosage :

$$c_{(\text{lactate}; \text{échantillon})} = (0,30 - 2,22) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Or  $3,20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 2,22 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  donc il faut prévoir une dilution de l'échantillon.

Pour une dilution de l'échantillon au 1/10, alors on aura, en cas de méningite une valeur de  $c_{(\text{lactate}; \text{échantillon au } 1/10)} > 0,32 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  et  $0,30 < 0,32 < 2,22 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  donc une valeur de  $c_{(\text{lactate}; \text{échantillon au } 1/10)}$  qui entre dans les limites de validité du dosage.

**Q6-** EG :  $c_{(\text{lactate}; \text{échantillon})} = 0,645 \times \Delta A \times Fd$

$$\Delta A = [A_2 - A_1]_{\text{essai}} - [A_2 - A_1]_{\text{blanc}}$$

EV :  $\Delta A = (0,683 - 0,061) - (0,059 - 0,058) = 0,621$

$$c_{(\text{lactate}; \text{échantillon})} = 0,645 \times 0,621 \times 10 = 4,01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Remarque : une dilution préalable de l'échantillon a été réalisée avant le dosage donc  $Fd = 1/d = 10$ .

**Q7-** La concentration en lactate de l'échantillon est de  $4,01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  donc supérieure à  $3,20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  donc augmentation anormale de lactate dans le LCR du patient donc patient présentant une méningite bactérienne donc une antibiothérapie devra être administrée au patient.

## 2- Identification par PCR (Polymerase Chain Reaction) du genre bactérien responsable de l'infection

**Q8-** Étape A : Dénaturation : l'élévation de la température à 95 °C, entraîne la séparation des deux brins complémentaires de l'ADN par rupture des liaisons H entre les bases azotées complémentaires des deux brins. On obtient alors deux molécules d'ADN simple brin.

Étape B : Hybridation des amorces : une diminution de la température à 55 °C favorise une hybridation spécifique des amorces sur les brins matrices.

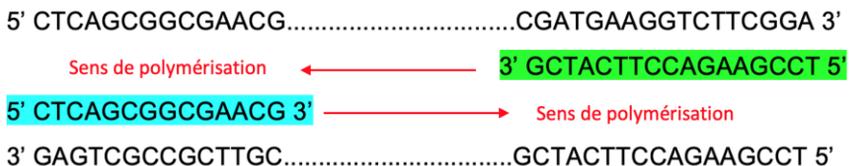
Remarque : Une température plus basse pourrait entraîner une hybridation non seulement de part et d'autre du gène à amplifier mais aussi dans d'autres régions (hybridation non spécifiques) entraînant des amplifications de fragments non voulues.

Étape C : Élongation (ou polymérisation) = synthèse des brins complémentaires des deux brins matrices à partir des amorces. Cette étape se fait à une température de 72 °C qui est une température proche de la température optimale d'activité de la polymérase utilisée pour la PCR (Taq polymérase) = température pour laquelle la polymérase est proche de son maximum d'activité.

**Q9-** Choix du couple d'amorces :

Attention : l'élongation des brins à partir des amorces se fait toujours dans le sens 5'-3'.

La position des amorces est indiquée en gras dans la séquence à amplifier du gène *lfb1* :

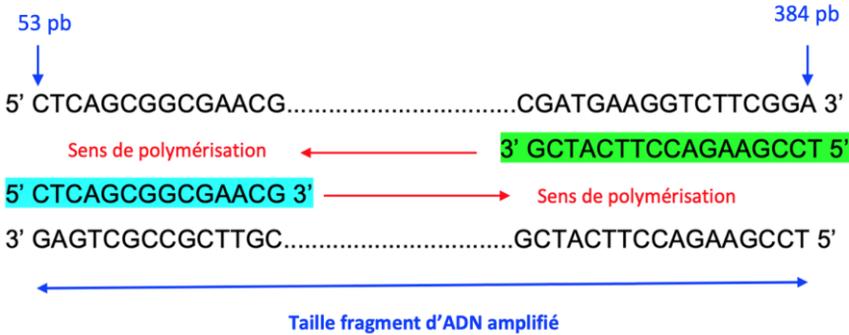


Amorces anti sens : 3' GCTACTTCCAGAAGCCT 5' = L2 du couple B

Amorce sens : 5' CTCAGCGGCGAACG 3' = L1 du couple B

Ce sont donc les amorces du couple B qui seront choisies pour amplifier le gène *lfb1*.

**Q10-**



Taille du fragment amplifié = dernière base de l'amorce antisens (amorce L2) - position de la première base de l'amorce sens (amorce L1) :

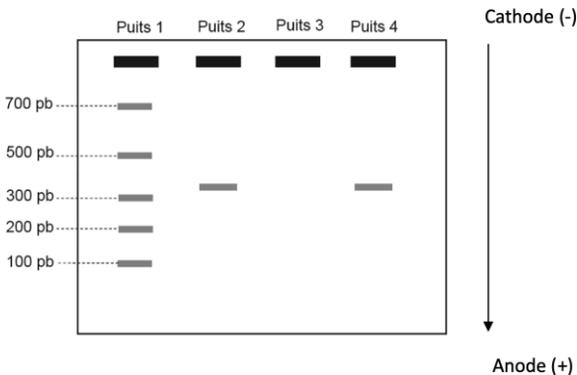
$$384 - 53 = 331 \text{ pb.}$$

**Q11-** Les molécules d'ADN, de par leur groupements phosphates sont chargées négativement donc vont migrer du pôle + (cathode) vers le pôle - (anode).

Dépôt dans puits 2 = témoin positif donc présence d'un fragment ADN du gène *lfb1* amplifié de taille 331 pb donc bande sera localisée à un niveau entre les bandes 300 et 500 pb du marqueur de taille mais plus proche de la bande 300 pb.

Dépôt dans puits 3 = témoin négatif = absence d'ADN matrice donc absence d'amplification d'un fragment ADN du gène *lfb1* donc absence de bande.

Dépôt dans puits 4 = résultat patient infecté par leptospire donc présence d'une bande au même niveau que celle du puits 2 (témoin positif).



### 3- Identification par test microscopique d'agglutination de la souche bactérienne responsable de l'infection

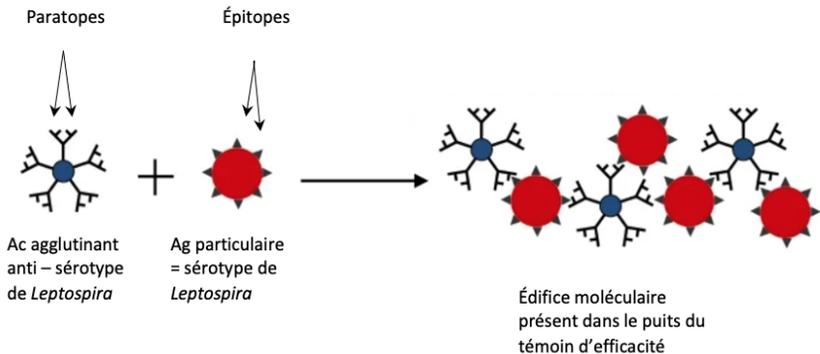
#### Q12- Rôle du témoin d'efficacité :

Ce témoin est composé d'anticorps anti-*Leptospira* et de suspension bactérienne de *Leptospira*. Il permet de vérifier que, dans les conditions opératoires, la réaction antigène – anticorps a bien lieu et peut être détectée.

#### Q13- Schéma de l'édifice moléculaire lors de l'agglutination :

Les paratopes des anticorps anti - *Leptospira* (IgM = anticorps agglutinant) vont se lier à des épitopes antigéniques membranaires de bactéries *Leptospira* = antigènes particuliers pour former un édifice moléculaire visible au microscope.

Les épitopes d'un même antigène particulaire (*Leptospira*) sont spécifiques d'un sérotype de *Leptospira*. On peut ainsi, en utilisant des anticorps complémentaires d'un épitope membranaire spécifique d'un sérotype, identifier le sérotype.



Source : figure modifiée du document Les réaction Antigènes-Anticorps  
A. Salah 19 nov. 2021

<https://fr.slideshare.net/salahabdessemed1/les-ractions-antignes-anticorps>

#### Q14- Analyse des résultats obtenus pour les témoins :

Témoin de spécificité = 50  $\mu$ L de sérum sans anticorps anti-*Leptospira* + 50  $\mu$ L de suspension bactérienne de *Leptospira*. Absence d'anticorps donc résultat attendu est une absence d'agglutinat = résultat observé au microscope donc témoin de spécificité validé.

Témoin d'efficacité = 50 µL de sérum contenant des anticorps anti-*Leptospira* + 50 µL de suspension bactérienne de *Leptospira*. Donc résultat attendu est une présence d'agglutinat blanc = résultat observé au microscope donc témoin d'efficacité validé.

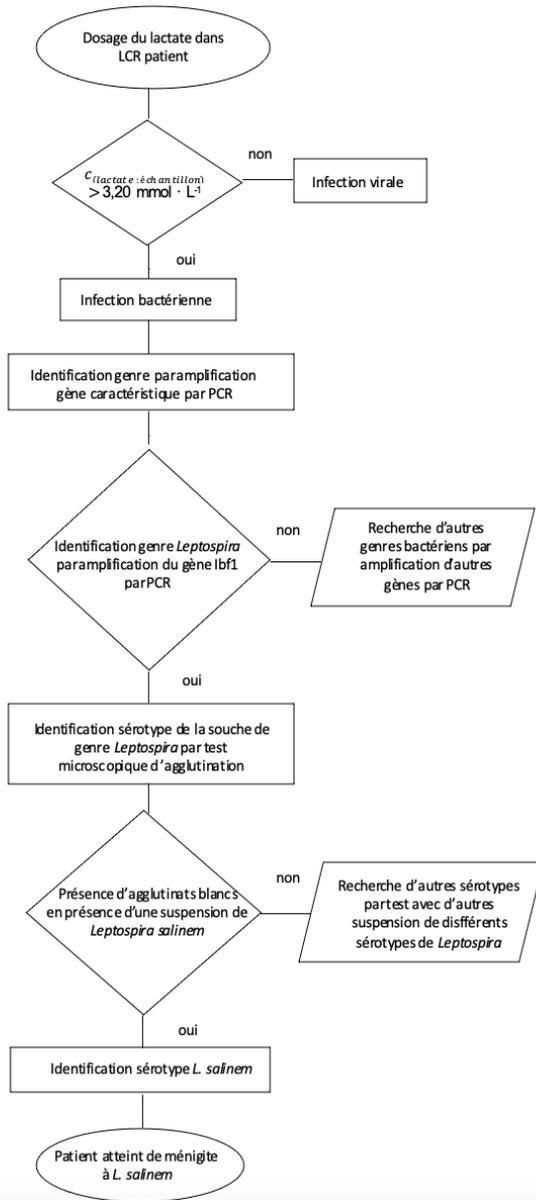
Analyse des résultats obtenus pour les essais :

Test	Observation au microscope	Interprétation	Conclusion
<i>L. ballico</i>	Absence d'agglutinat blanc	Absence de formation d'un complexe Ag-Ac	Absence d'Ac anti <i>L. ballico</i> dans le sérum du patient
<i>L. hebdomadis</i>	Absence d'agglutinat blanc	Absence de formation d'un complexe Ag-Ac	Absence d'Ac anti <i>L. hebdomadis</i> dans le sérum du patient
<i>L. pomona</i>	Absence d'agglutinat blanc	Absence de formation d'un complexe Ag-Ac	Absence d'Ac anti <i>L. pomona</i> dans le sérum du patient
<i>L. salinem</i>	Présence d'agglutinat blanc	Formation d'un complexe Ag-Ac	Présence d'Ac anti <i>L. salinem</i> dans le sérum du patient

Le sérotype de la souche incriminée est donc *L. salinem*.

**Q15-** Logigramme de la démarche d'étude :

Procédure d'identification de *Leptospira* dans le LCR d'un patient



**Arguments permettant d'expliquer pourquoi en France le vaccin contre la leptospirose n'est pas obligatoire :**

La leptospirose est une maladie non contagieuse (la plupart des cas sont sporadiques) contrairement aux méningite à méningocoques. Les risques de contracter une leptospirose sont liés à un contact avec un animal infecté ou avec une eau contaminée donc concernent qu'une seule partie de la population : professions en contact avec des animaux ou avec des eaux contaminées et personnes pratiquant régulièrement une activité nautique. Il existe des équipements de protection individuels (EPI) pour minimiser les risques de contamination pour cette population à risque.

De plus un traitement curatif individuel est efficace.

Enfin cette maladie est due à plusieurs souches pathogènes (10 sérotypes pathogènes). Le traitement antibiotique est efficace contre toutes les souches pathogènes. Par contre le vaccin ne protège que contre une seule souche qui concerne seulement 30 % des cas de leptospiroses et ce vaccin présente un protocole lourd : 3 injections puis 1 tous les 2 ans. Il n'est donc recommandé que pour les personnes à risque professionnel.

Avant de rendre une vaccination obligatoire le HAS doit faire la balance entre liberté individuelle et santé publique. Seulement une partie de la population étant concernée, des EPI permettant de limiter les risques de contamination, un traitement antibiotique efficace permettant de traiter les patients contaminés, un vaccin efficace contre seulement 30% des cas de leptospiroses sont des arguments sur lesquels s'est appuyé le HAS pour ne pas imposer, en France, le vaccin à l'ensemble de la population.

**BIOCHIMIE, BIOLOGIE ET BIOTECHNOLOGIES**  
**SUJET 4 – Polynésie Mai 2022 - Éléments de correction**

**LA RUMINOCOCCINE C1 CONTRE LA RÉSISTANCE AUX  
ANTIBIOTIQUES**

**Partie I – Questionnement scientifique et technologique**

**1- Vérification des conditions de culture de la souche productrice**

**Q1-** Comparaison des milieux :

	<i>E. coli</i>	<i>R. gnavus</i>
Composition	Base nutritive simple	Base nutritive complexe (agent réducteur, facteurs de croissance, ...)
Coût	Peu élevé 1,20 euros / L	Élevé 4,90 euros / L
Paramètres d'incubation	aérobiose	anaérobiose

Les critères de choix de la souche productrice sont :

- culture facile à mettre en œuvre ;
- coût minimum du milieu de culture

Le coût du milieu de culture d'*E. coli* est bien plus faible que celui de *R. gnavus* et la culture d'*E. coli* peut se faire en aérobiose, culture bien plus facile à mettre en œuvre que celle de *R. gnavus* qui nécessite une culture en anaérobiose donc il est plus intéressant de faire produire Rum C1 par *E. coli*.

**Q2-** Détermination de la vitesse spécifique de croissance en phase exponentielle pour *E. coli* :

$$EG : \mu_{\text{expo}(E.coli ; \text{bouillon LB})} = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$$

$$EU : [h^{-1}] = \left[ \frac{SU - SU'}{h - h'} \right]$$

$$EVN : \mu_{\text{expo}(E.coli ; \text{bouillon LB})} = \frac{12 - 4}{10 - 5} = 1,6 \text{ h}^{-1}$$

**Q3-** Le choix de la souche *E. coli* pour produire de Rum C1 doit répondre à trois critères :

- culture facile à mettre en œuvre : culture d'*E. coli* en aérobiose plus facile à mettre en œuvre qu'une culture de *R. gnavus* qui doit se faire en anaérobiose donc critère 1 validé ;
- coût minimum du milieu de culture : coût du milieu LB permettant croissance *E. coli* plus faible que coût du milieu Schaedler permettant croissance de *R. gnavus* donc critère 2 validé ;
- vitesse spécifique de croissance élevée :

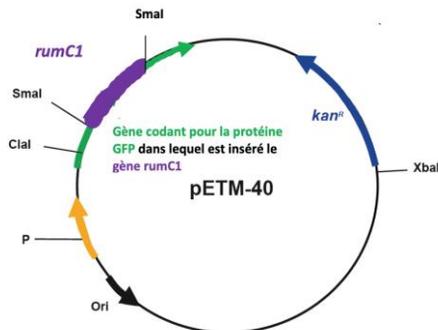
$$\mu_{\text{expo}}(E.\text{coli}; \text{bouillon LB}) = 1,6 \text{ h}^{-1} > \mu_{\text{expo}}(R.\text{gnavus}; \text{bouillon Schaedler}) = 1,0 \text{ h}^{-1}$$

donc critère 3 validé.

Donc *E. coli* répond bien aux trois critères de choix de la souche productrice de RumC1.

## 2- Transformation de la bactérie *E. coli*

**Q4-** Schéma simplifié et annoté du plasmide recombiné avec le gène *rumC1* issu de l'étape d'amplification :



**Q5-** Le plasmide pETM-40 porte un gène de résistance à la kanamycine.

Le principe de sélection de bactéries transformées va donc consister :

- à introduire le plasmide pETM-40, par le mécanisme de transformation, dans des bactéries *E. coli* compétentes et sensibles à la kanamycine,
- à récupérer des colonies d'*E. coli* transformées par le plasmide pETM-40 après croissance sur milieu LB + kanamycine.

Les bactéries transformées par le plasmide pETM-40 porteur du gène de résistance à la kanamycine, recombinées ou non, seront toutes résistantes à la kanamycine et pourront croître sur un milieu LB + kanamycine contrairement aux bactéries non transformées sensibles à la kanamycine.

**Q6-** L'insertion du gène *rumC1* se fait dans le gène codant pour la protéine fluorescente GFP (Green Fluorescent Protein). Les bactéries transformées par un plasmide pETM-40 recombiné ne pourront donc plus synthétiser de GFP et donc seront non fluorescentes. Les colonies non fluorescentes porteuses d'un plasmide recombiné porteur du gène *rumC1* seront donc utilisés pour la poursuite du processus de production du peptide RumC1.

### 3- Extraction, purification et quantification du peptide RumC1 obtenu

**Q7-** Concentration en masse de peptide RumC1 dans la fraction purifiée :

$$\rho_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} = \frac{\rho_{(\text{protéines}; \text{solution étalon})} \times A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{étalon}}}$$
$$\rho_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} = \frac{5 \times 0,387}{0,313} = 6,18 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

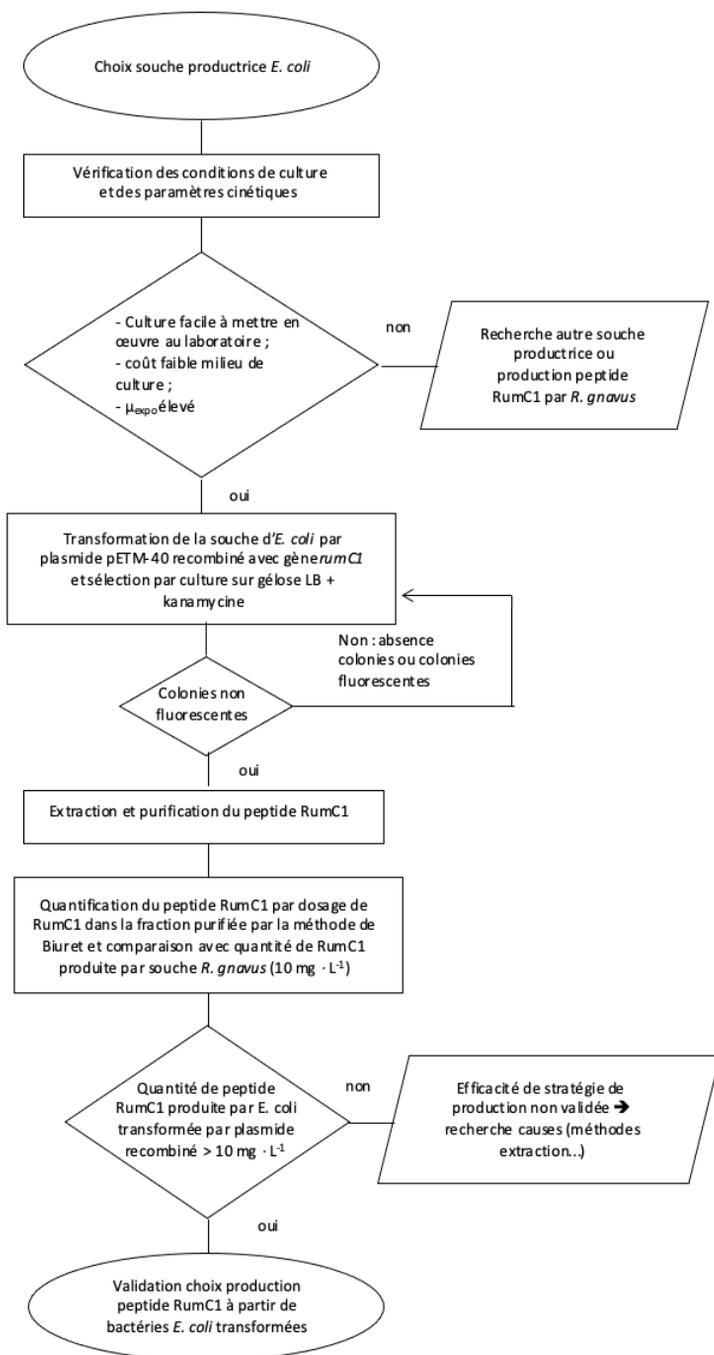
**Q8-** Masse de peptide RumC1 dans la fraction purifiée :

$$m_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} = \rho_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} \times V_{\text{fraction purifiée}}$$
$$m_{(\text{RumC1}; \text{fraction purifiée})} = 6,18 \times 30 \cdot 10^{-3} = 0,1854 \text{ g} = 185,4 \text{ mg}$$

**Q9-** La souche de *R. gnavus* produite dans des conditions expérimentales identiques a permis de produire 10 mg de peptide RumC1. Or la masse de peptide RumC1 produite par la souche *E. coli* transformée par plasmide pETM-40 recombiné avec gène *rumC1* est de 185,4 mg soit un peu plus de 18 fois plus.

Le choix, fait par les chercheurs, de produire le peptide RumC1 par souche d'*E. coli* transformée par plasmide pETM-40 recombiné avec gène *rumC1* plutôt que par la souche d'origine est donc un choix stratégique efficace.

**Q10-** Logigramme des différentes étapes de la démarche suivie par les chercheurs pour produire le peptide RumC1 à partir de bactéries transformées :



#### 4- Vérification de l'effet antibactérien du peptide RumC1 sur différentes souches bactériennes

**Q11-** CMI = concentration minimale inhibitrice = concentration en peptide RumC1 pour laquelle on n'observe pas de croissance visible de la souche bactérienne testée après 24 à 48h d'incubation à 37 °C.

$$CMI_{(\text{RumC1} ; C. \text{difficile})} = 6,25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$CMI_{(\text{RumC1} ; E. \text{faecalis})} = 12,5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$CMI_{(\text{RumC1} ; P. \text{aeruginosa})} > 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$CMI_{(\text{RumC1} ; S. \text{enterica})} > 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$CMI_{(\text{RumC1} ; S. \text{aureus})} = 25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Les souches pour lesquelles RumC1 présente une activité microbienne sont les souches pour lesquelles la CMI est inférieure ou égale à  $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  soit les souches de *C. difficile*, *E. faecalis*, *S. aureus*).

**Q12-** Les souches pour lesquelles RumC1 présente une activité microbienne sont toutes des souches à Gram positif, et RumC1 ne présente pas d'activité antimicrobienne vis-à-vis des souches à Gram négatif testées (*S. enterica* et *P. aeruginosa*) donc le spectre d'activité antimicrobienne de RumC1 semble limité aux bactéries à Gram positif.

**Q13-** Le document 5 présente une étude de l'effet toxique de RumC1 sur différents types de cellules : des cellules intestinales et des cellules gastriques.

Après mise en culture des cellules en absence de peptide RumC1, on observe un % de viabilité de 100 % pour les deux types de cellules intestinales et gastriques donc témoin validé et lecture des essais possible.

Après mise en culture des cellules en présence de concentration croissante en peptide RumC1, on observe :

- pour les cellules intestinales, un % de viabilité variant de 95 à 100 % ;
- pour les cellules gastriques, un % de viabilité variant de 85 à 95 % ;

donc quelle que soit la concentration en peptide RumC1, le pourcentage de viabilité est supérieur à 80 % pour les cellules intestinales comme pour les cellules gastriques donc le peptide Rum C1 ne présente pas d'effet toxique notable sur les cellules gastriques et sur les cellules intestinales.

**Q14-** L'expérience 1 permet l'étude de l'impact d'une enzyme : la pepsine, d'un pH acide de 2,0 et d'une température de 37°C or la pepsine est une enzyme sécrétée par l'estomac, le pH de l'estomac est acide (1,5 à 2,0) et la

température corporelle est de 37°C donc les conditions physico-chimiques étudiées dans expérience 1 simulent celles présentes dans l'estomac.

L'expérience 2 permet l'étude de l'impact d'une enzyme : la pancréatine, d'un pH neutre de 7,3 et d'une température de 37°C or la pancréatine est une enzyme sécrétée par la pancréas et libérée dans l'intestin grêle, le pH de l'intestin grêle est relativement neutre (7,2 à 7,5) et la température corporelle est de 37°C donc les conditions physico-chimiques étudiées dans expérience 2 simulent celles présentes dans l'intestin grêle.

**Q15-** Le document 6 présente les éléments nécessaire à l'étude de l'activité antimicrobienne de RumC1 in vivo (dans des conditions similaires à celles présentes dans le tube digestif) :

Sur le document 6 pour les expériences 1 et 2, on observe que l'activité antimicrobienne résiduelle du peptide Rum C1 est de 100 % donc les conditions physico-chimiques présentes dans l'estomac et l'intestin grêle n'affectent pas l'activité antimicrobienne du peptide Rum C1. De plus on a vu précédemment (Q13) que le peptide Rum C1 n'avait pas d'effet toxique sur les cellules gastriques et les cellules intestinales.

Le peptide Rum C1 peut donc être administré par voie orale et ainsi être utilisée en thérapeutique contre les infections bactériennes à Gram + du tube digestif.

## Partie II – Question de synthèse

### **Intérêt de la mise en place d'une nouvelle réglementation sur l'utilisation des antibiotiques dans les élevages pour limiter le phénomène d'antibiorésistance :**

Les infections dues à des bactéries peuvent être traitées par des antibiotiques en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. L'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques compromet le traitement de ces infections. Cette résistance aux antibiotique peut se propager dans l'environnement, et/ou peut se transmettre par voie de contamination alimentaire ou par contact direct avec les animaux.

L'OMS alerte sur le fait que la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques pourrait provoquer la mort de 10 millions de personnes par an à l'horizon 2050 et que l'usage excessif des antibiotiques, en particulier en élevage, accélère l'apparition de résistance. L'antibiorésistance est donc un problème majeur de santé publique.

Plusieurs mesures ont donc été mis en place pour lutter contre le développement de l'antibiorésistance. Parmi ces mesures, le plan Ecoantibio a permis de faire baisser l'exposition des animaux aux antibiotiques, en particulier aux antibiotiques dits « critiques » qui constituent parfois la seule alternative pour traiter des infections bactériennes chez l'homme pour lesquelles la plupart des antibiotiques sont devenus inefficaces suite à l'apparition d'antibiorésistances. Mais ce plan Ecoantibio est une stratégie développée pour lutter contre l'antibiorésistance mis en place par le ministère en charge de l'agriculture donc uniquement en France.

Il est donc devenu nécessaire d'introduire une nouvelle réglementation européenne pour limiter le développement de cette antibiorésistance par voie de contamination alimentaire ou par contact direct avec les animaux grâce à différentes mesures :

- interdiction d'utiliser des antibiotiques en médecine vétérinaire pour favoriser la croissance des animaux ;
- interdiction d'utiliser (quand une alternative est possible), ou limiter (si aucune autre alternative possible), pour traiter des infections bactériennes en médecine vétérinaire, l'usage d'antibiotiques utilisés pour traiter les infections bactériennes en santé humaine.

La mise en place de cette nouvelle réglementation à partir en début 2022 devrait permettre de limiter le phénomène d'antibiorésistance qui est devenu ces dernières années un problème majeur de santé publique.

## PUBLICATIONS DE L'UPBM

L'UPBM édite d'autres annales et documents pédagogiques. Certains ouvrages épuisés sont disponibles en consultation ou en téléchargement sur le site internet de l'UPBM. <https://boutique.upbm.org>



<b>PUBLICATIONS</b>	<b>Téléchargeables</b>	<b>Disponibles à l'achat</b>
Annales Bac STL Biotechnologies	2013 - 2017	2018 2019 2021
Annales Bac STL Biochimie Génie Biologique	1995 à 2011	-
Sujets BPH Bac ST2S	2009 à 2021	-
BTS Analyses de Biologie Médicale	2001 à 2017	2018-2019 2020-2021
BTS Bio-Analyses et Contrôle	2006 à 2013	2014-2015 ; 2016-2017 2018-2019 ; 2019-2021
BTS Biotechnologies	2003 à 2007	2016-2017 ; 2018-2019 2020-2021
BTS QIAB	2010 à 2019	-
BTS Diététique	-	2000-2002 2003-2006
Livret Prévention du risque chimique au laboratoire	-	OUI
L'Opéron spécial étiquetage des produits chimiques Numéro spécial de la revue « l'Opéron »	-	OUI
Livret Prévention des risques biologiques au laboratoire	-	OUI
Livret Symboles et métrologie	-	OUI
Livret Prélèvement sanguin	-	OUI
Les laboratoires d'enseignement NSB2 Numéro spécial de la revue « l'Opéron »	-	OUI
Planches hématologiques	-	OUI
Annales concours général des lycées	2013 à 2018 2022	-

## INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

---

**Publication UPBM :** UPBM ÉDILION  
Lycée La Martinière – Duchère  
Avenue Andréï Sakharov  
69 338 LYON Cedex 9

**Site internet UPBM :** <https://upbm.org>

(bons de commande en ligne, description des formations, informations sur les séries et les poursuites d'études, ...)

- accueil boutiques <https://boutique.upbm.org>
- annales BTS : <https://boutique.upbm.org/annalesbts/>
- annales Bac STL : <https://boutique.upbm.org/annalesstl/>
- autres publications : <https://boutique.upbm.org/autrespublications/>

