

# Brevet de technicien supérieur

## Bioanalyses et contrôles

Sujets et corrigés  
Sessions 2020 - 2021



UPBM Édition  
Publications de l'UPBM



# **ANNALES**

# **BTS BIOANALYSES**

# **ET CONTRÔLES**

**Sessions 2020 et 2021**

**Avec éléments de corrigés**

Nous remercions monsieur Sylvain ANDRÉ (IA-IPR de biotechnologies - génie biologique) pour la transmission des sujets ainsi que les professeurs de l'enseignement technologique et général qui ont participé à la collecte des sujets, aux relectures et propositions de corrigés notamment Jean-Noël JOFFIN et Lydie NOSSEREAU, mais aussi Bruno DURAND, Bertrand TOKARSKI, Christine GAUFICHON-CHARRIER, Frank VALLÉE, Christine BENAYOUN et Claudine WALTHER.

Merci également à Monsieur Antoine GAUDIN qui a réalisé la couverture.

|                                                                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Éditions UPBM-ÉDILION<br>Lycée de la Martinière<br>Avenue Andreï Sakharov<br>69339 Lyon Cedex 9<br><a href="http://www.upbm.org">http:// www.upbm.org</a> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Sujets avec correctifs et corrections collectés et mis en page par Nathalie GERAULT.

Photographies de couverture :

1<sup>ère</sup> page : activité fête de la science 2020 en laboratoire de microbiologie ; photographie de Bruno Durand – Lycée Jean Moulin Angers.

4<sup>ème</sup> page : rotor de centrifugeuse ; photographie d'Antoine GAUDIN

## RÈGLEMENT D'EXAMEN

|                                                                                    |        |           | Voie scolaire, apprentissage, formation professionnelle continue dans les établissements publics, privés non habilités, enseignement à distance et candidats justifiant de 3 ans d'expérience professionnelle | Formation professionnelle continue dans les établissements publics habilités |                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Épreuves                                                                           | Unités | Coef      | Type d'épreuve                                                                                                                                                                                                | Durée                                                                        | Forme                                             |
| <b>E1 Anglais</b>                                                                  | U10    | <b>2</b>  | CCF : 2 épreuves en fin de deuxième année                                                                                                                                                                     |                                                                              | 2 situations d'évaluation                         |
| <b>E2 Mathématiques et Sciences physiques et chimiques</b>                         |        | <b>5</b>  |                                                                                                                                                                                                               | 4 h                                                                          |                                                   |
| Sous-épreuve de mathématiques                                                      | U21    | 2         | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 2 h                                                                          |                                                   |
| Sous épreuve de sciences physiques et chimiques                                    | U22    | 3         | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 2 h                                                                          |                                                   |
| <b>E3 Biochimie, biologie et technologies d'analyse</b>                            |        | <b>9</b>  |                                                                                                                                                                                                               | 8 h                                                                          |                                                   |
| Sous-épreuve de biochimie et technologies d'analyse                                | U31    | 3         | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 3 h                                                                          |                                                   |
| Sous épreuve de microbiologie et technologies d'analyse                            | U32    | 3         | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 3 h                                                                          |                                                   |
| Sous épreuve de biologie cellulaire et moléculaire (BCM) et technologies d'analyse | U33    | 3         | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 2 h                                                                          |                                                   |
| <b>E4 Sciences et technologies bio-industrielles (STBI)</b>                        | U40    | <b>3</b>  | Écrit                                                                                                                                                                                                         | 2 h                                                                          |                                                   |
| <b>E5 Techniques d'analyses et de contrôles et opérations unitaires</b>            |        | <b>10</b> |                                                                                                                                                                                                               | 2 x 12 h maxi                                                                |                                                   |
| Sous-épreuve de techniques de biochimie                                            | U51    | 4         | CCF<br>2 épreuves en fin de première et deuxième année                                                                                                                                                        | 4 h maxi                                                                     | 2 situations d'évaluation pratique en laboratoire |
| Sous épreuve de techniques de microbiologie                                        | U52    | 4         | CCF<br>2 épreuves en fin de première et deuxième année                                                                                                                                                        | 6 h maxi                                                                     | 2 situations d'évaluation pratique en laboratoire |
| Sous épreuve de techniques de biologie cellulaire et moléculaire                   | U53    | 2         | CCF<br>2 épreuves en fin de première et deuxième année                                                                                                                                                        | 3 h maxi                                                                     | 2 situations d'évaluation pratique en laboratoire |
| <b>E6 Soutenance de projet</b>                                                     | U60    | <b>4</b>  | Oral                                                                                                                                                                                                          | 45 min                                                                       |                                                   |
| <b>Épreuve facultative (*) : langue vivante étrangère</b>                          | UF1    | <b>1</b>  | Oral                                                                                                                                                                                                          | 20 min                                                                       |                                                   |
| <b>Épreuve facultative (*) : engagement étudiant</b>                               | UF2    | <b>1</b>  | Oral                                                                                                                                                                                                          | 20 min                                                                       |                                                   |

En 2021 : rattrapage : épreuves de connaissances et compétences générales et professionnelles (CCG et CCP) : 2 oraux de 20 min.

(\*) points au-dessus de la moyenne

# Table des matières

|                                                                                                          |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>SESSION 2020 - Sujets</b> .....                                                                       | <b>1</b>   |
| <b>Sujet de mathématiques 2020</b> .....                                                                 | <b>2</b>   |
| <b>Sujet de sciences physiques et chimiques 2020</b> .....                                               | <b>6</b>   |
| <b>Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2020</b> .....                                           | <b>13</b>  |
| <b>Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2020</b> .....                                       | <b>22</b>  |
| <b>Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2020</b> .....               | <b>32</b>  |
| <b>Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2020</b> .....                                     | <b>38</b>  |
| <b>SESSION 2021 - Sujets</b> .....                                                                       | <b>47</b>  |
| <b>Sujet de mathématiques 2021</b> .....                                                                 | <b>48</b>  |
| <b>Sujet de sciences physiques et chimiques 2021</b> .....                                               | <b>52</b>  |
| <b>Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2021</b> .....                                           | <b>56</b>  |
| <b>Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2021</b> .....                                       | <b>65</b>  |
| <b>Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2021</b> .....               | <b>72</b>  |
| <b>Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2021</b> .....                                     | <b>80</b>  |
| <b>SESSION 2020 - Éléments de corrigé</b> .....                                                          | <b>87</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de mathématiques 2020</b> .....                                                   | <b>88</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2020</b> .....                                 | <b>90</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2020</b> .....                          | <b>93</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2020</b> .....                      | <b>96</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de BCM et de technologies d'analyse 2020</b> .....                                | <b>98</b>  |
| <b>Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2020</b> .....                       | <b>100</b> |
| <b>SESSION 2021 - Éléments de corrigé</b> .....                                                          | <b>103</b> |
| <b>Éléments de corrigé de mathématiques 2021</b> .....                                                   | <b>104</b> |
| <b>Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2021</b> .....                                 | <b>107</b> |
| <b>Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2021</b> .....                          | <b>109</b> |
| <b>Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2021</b> .....                      | <b>112</b> |
| <b>Éléments de corrigé de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2021</b> ..... | <b>114</b> |
| <b>Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2021</b> .....                       | <b>116</b> |



# **SESSION 2020 - Sujets**

# Sujet de mathématiques 2020

La calculatrice est autorisée

## EXERCICE 1 (12 points)

Les parties A, B et C peuvent être traitées de manière indépendante.

### A. Évolution de la population de poissons au fil des mois dans certains aquariums

Les deux questions suivantes sont des QCM (questionnaire à choix multiples). Dans chaque question, une seule proposition est correcte. Indiquer la bonne proposition. Aucune justification n'est demandée.

1. Dans un aquarium, il y a initialement 10 poissons.

On admet que la population de poissons augmente de 30 % chaque mois.

Quel est le nombre de poissons au bout de 5 mois ? Le résultat a été arrondi à l'unité.

- a. 12      b. 50      c. 160      d. 37

2. Dans un aquarium, au temps  $t = 0$ , on compte 10 poissons.

On modélise le nombre de poissons présents dans l'aquarium par une fonction  $g$ . On admet que la fonction  $g$  est la solution de l'équation différentielle  $y' + 0,3y = 0$  vérifiant la condition initiale  $g(0) = 10$ . Alors  $g$  est définie par :

- a.  $g(t) = 10e^{0,3t}$       b.  $g(t) = 10e^{-0,3t}$       c.  $g(t) = 10 + e^{0,3t}$       d.  $g(t) = 10 + e^{-0,3t}$

### B. Étude statistique

On cherche à évaluer l'effet d'un pesticide que l'on peut trouver dans les rivières, sur la diminution de la fertilité d'une population de poissons. Pour cela un laboratoire va disposer de huit aquariums, contenant chacun dix poissons de la même espèce et de l'eau avec différentes quantités de ce pesticide. Au bout d'un mois on relève le nombre total d'œufs pondus par les poissons des différents aquariums et on obtient les résultats suivants :

| Numéro de l'aquarium                           | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6  | 7  | 8  |
|------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|
| Concentration en pesticide (en mg/L) ( $x_i$ ) | 0   | 1   | 4   | 5   | 6   | 7  | 8  | 10 |
| Nombre d'œufs pondus dans le mois ( $N_i$ )    | 249 | 248 | 246 | 230 | 130 | 50 | 40 | 35 |

Un ajustement affine ne semblant pas approprié, on effectue le changement de variable :

$$y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$$

- Compléter le tableau en annexe à rendre avec la copie. On arrondira les résultats à  $10^{-2}$ .
- À l'aide de la calculatrice, déterminer le coefficient de corrélation linéaire de la série statistique  $(x_i ; y_i)$ . Arrondir à  $10^{-3}$ . Interpréter le résultat.
- À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement de la série statistique  $(x_i ; y_i)$  par la méthode des moindres carrés sous la forme  $y = ax + b$ . On arrondira  $a$  et  $b$  à  $10^{-3}$ .
- On note  $N(x)$  la fonction modélisant le nombre d'œufs pondus dans un aquarium en un mois, en fonction de la concentration  $x$  en pesticide (en mg/l).

- a. En s'aidant du changement de variables  $y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$ , vérifier que  $N(x)$  est solution de l'équation  $\frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x-5,905}$

- b. En déduire que l'expression de la fonction  $N$  est :

$$N(x) = \frac{250}{1 + e^{0,857x-5,905}}$$



## C. Étude de la fonction

On considère la fonction  $f$  définie sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$  par :

$$f(x) = \frac{250}{1 + 0,003 e^{0,9x}}$$

1. Calculer  $\lim_{x \rightarrow \infty} f(x)$ .

2.

a. Vérifier que tout  $x$  appartenant à  $[0 ; +\infty[$ ,  $f'(x) = \frac{-0,675 e^{0,9x}}{(1+0,003 e^{0,9x})^2}$

b. Étudier le signe de  $f'(x)$  et donner le sens de variation de  $f$  sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ .

3. Tracer, dans le repère fourni en annexe, la courbe représentative de la fonction  $f$ .

Pour la suite, on admet que la fonction  $f$  modélise le nombre d'œufs pondus par mois dans un aquarium, en fonction de la concentration  $x$  en pesticide (en mg/l) sur l'intervalle  $[0 ; 50]$ .

4. La concentration efficace médiane notée CE50 est la concentration qui correspond à une diminution de 50 % du nombre d'œufs pondus par mois par rapport à une eau sans pesticide. Déterminer cette concentration CE50 à  $10^{-1}$  près. Expliquer votre démarche.

5. Une primitive  $F$  de  $f$  est calculée par un logiciel de calcul formel :

$$F(x) = \frac{2500}{9} \ln(e^{-0,9x} + 0,003)$$

Estimer, à l'unité près, le nombre moyen d'œufs pondus par mois, pour des concentrations en pesticide comprises entre 4 et 6 mg/l.

On rappelle que la valeur moyenne d'une fonction  $f$  sur un intervalle  $[a ; b]$  est :

$$\frac{1}{b-a} \int_a^b f(x) dx.$$

## EXERCICE 2 (8 points)

Les parties A, B et C peuvent être traitées de manière indépendante.

### A. Étude du taux d'hémoglobine chez la femme en France

L'anémie se définit par un taux d'hémoglobine dans le sang inférieur aux valeurs normales. Une femme est en anémie lorsque son taux d'hémoglobine est inférieur ou égal à 12 g/dl.

Une femme est en polyglobulie si son taux d'hémoglobine est supérieur ou égal à 16 g/dl.

Soit  $T$  la variable aléatoire qui, à chaque femme de la population française, associe son taux d'hémoglobine en grammes par décilitre (g/dl). On admet que  $T$  suit la loi normale d'espérance  $\mu = 14$  et d'écart type  $\sigma = 1,15$ .

- Déterminer la probabilité qu'une femme choisie au hasard dans la population française soit en anémie. On arrondira le résultat à  $10^{-3}$ .
- En déduire, sans utiliser la calculatrice, la probabilité qu'une femme choisie au hasard dans la population française soit en polyglobulie. Expliquer votre démarche. On pourra s'aider d'un schéma.

### B. Prévisions d'erreurs d'analyses

Un laboratoire procède à 300 analyses de taux d'hémoglobine chaque mois. On suppose que la probabilité qu'une analyse soit erronée est 0,005.

On note  $X$  la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 300 analyses, associe le nombre d'analyses erronées de cet échantillon. On suppose que la constitution d'un tel échantillon peut être assimilée à un tirage avec remise de 300 analyses.

1. Quelle loi suit la variable aléatoire  $X$  ? En préciser les paramètres.
2. Un tableur fournit les résultats suivants :

En utilisant cet extrait, déterminer en arrondissant les valeurs demandées à  $10^{-2}$  :

- a. la probabilité qu'aucune des 300 analyses de l'échantillon ne soit erronée.
- b.  $P(2 \leq X \leq 4)$ . Interpréter le résultat dans le contexte de l'exercice.

| 1  | $k$ | $P(X = k)$   |
|----|-----|--------------|
| 2  | 0   | 0,2222922    |
| 3  | 1   | 0,335113869  |
| 4  | 2   | 0,251756399  |
| 5  | 3   | 0,125667348  |
| 6  | 4   | 0,046888445  |
| 7  | 5   | 0,013948723  |
| 8  | 6   | 0,00344529   |
| 9  | 7   | 0,000727358  |
| 10 | 8   | 0,000133867  |
| 11 | 9   | 2,18253 E-05 |

### C. Délai des résultats des analyses du taux d'hémoglobine

Un laboratoire qui pratique des analyses affirme que le délai moyen pour fournir les résultats d'une analyse du taux d'hémoglobine est de 60 minutes.

On souhaite tester cette hypothèse à l'aide d'un test bilatéral au seuil de confiance de 95 %. On note  $m$  le délai moyen pour fournir le résultat d'une analyse et on définit les hypothèses nulle et alternative suivantes :

$H_0$  «  $m = 60$  » et  $H_1$  «  $m \neq 60$  ».

Soit  $\bar{Y}$  la variable aléatoire qui à tout échantillon de 100 analyses associe le délai moyen pour fournir les résultats de ces analyses.

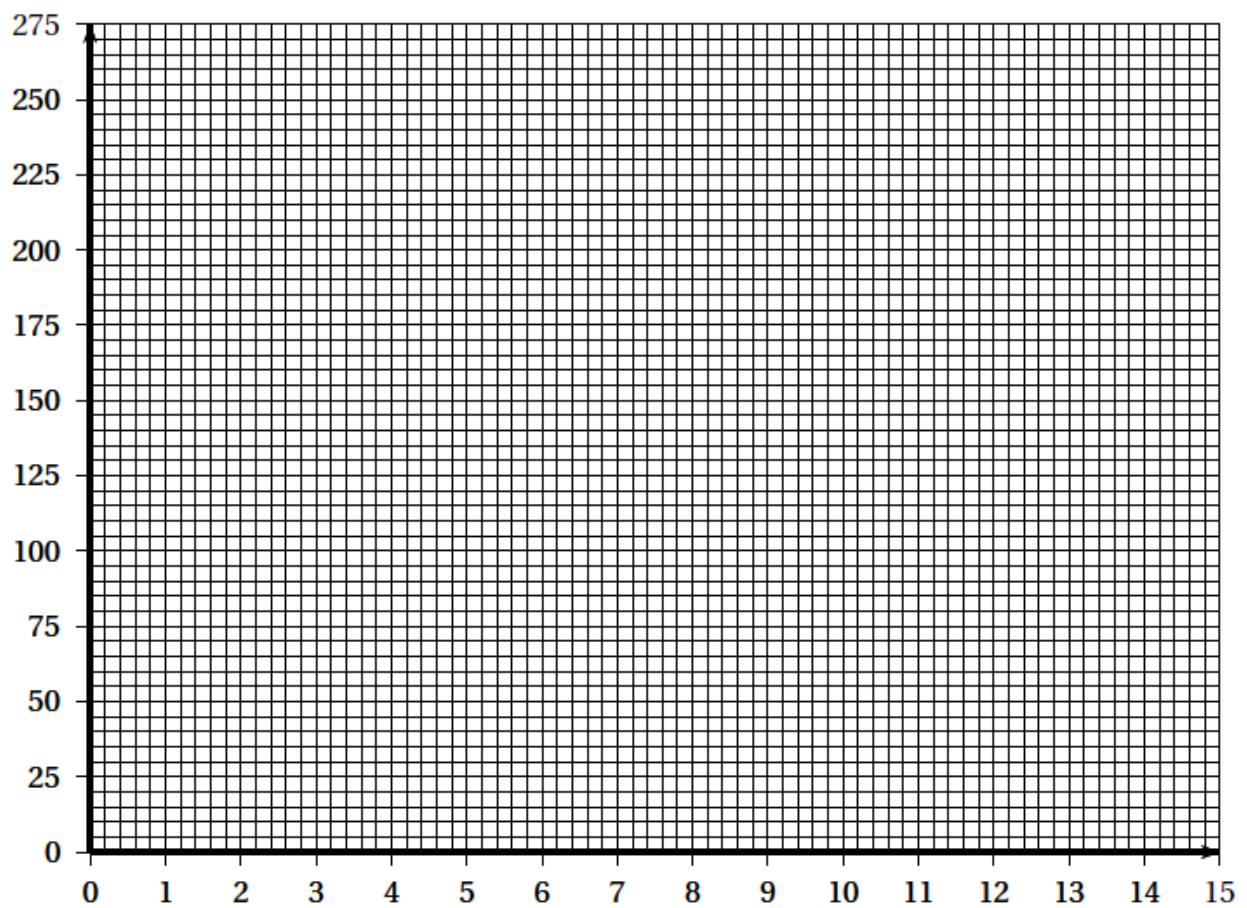
On admet que  $\bar{Y}$  suit la loi normale d'espérance  $m$  et d'écart type 1,5.

Donc sous l'hypothèse «  $H_0$  est vraie »,  $\bar{Y}$  suit la loi normale d'espérance 60 et d'écart type 1,5.

1. Déterminer l'arrondi au centième du nombre réel  $h$  vérifiant  $P(60 - h \leq \bar{Y} \leq 60 + h) = 0,95$ .
2. Énoncer la règle de décision du test.
3. On prélève un échantillon de 100 analyses et on trouve un délai moyen pour fournir les résultats de  $\bar{Y} = 62,5$  minutes. Que peut-on en conclure ?

**Annexe à rendre avec la copie****Exercice 1 - Partie A - Question 1**

| Concentration en pesticide<br>(en mg/L) ( $x_i$ ) | 0    | 1   | 4   | 5   | 6    | 7  | 8  | 10 |
|---------------------------------------------------|------|-----|-----|-----|------|----|----|----|
| Nombre d'œufs pondus dans<br>le mois ( $N_i$ )    | 249  | 248 | 246 | 230 | 130  | 50 | 40 | 35 |
| $y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$          | 5,52 |     |     |     | 0,08 |    |    |    |

**Exercice 1 - Partie C - Question 3**

# Sujet de sciences physiques et chimiques 2020

*Matériel autorisé : L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé. La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante de l'appréciation des copies.*

## A. À propos de l'élément calcium (7 points)

Le calcium est le cinquième élément le plus abondant de la croûte terrestre (plus de 3 %). Il a une importance capitale pour l'organisme humain puisqu'il joue un rôle essentiel dans la formation des os, des dents, dans les échanges cellulaires ainsi que dans les contractions musculaires.

Son déficit peut entraîner des problèmes de croissance ou de l'ostéoporose, mais son excès provoque l'apparition de calculs rénaux et une probable augmentation du risque cardiovasculaire.

Les apports nutritionnels en calcium recommandés par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentation Environnement Travail sont de 900 mg par jour pour un adulte de poids moyen en bonne santé.

*D'après le site wikipedia.org*

Le but de cet exercice est d'étudier la détermination par spectroscopie d'émission atomique la concentration en élément calcium dans une eau minérale, qui constitue une source d'apport courante pour l'organisme.

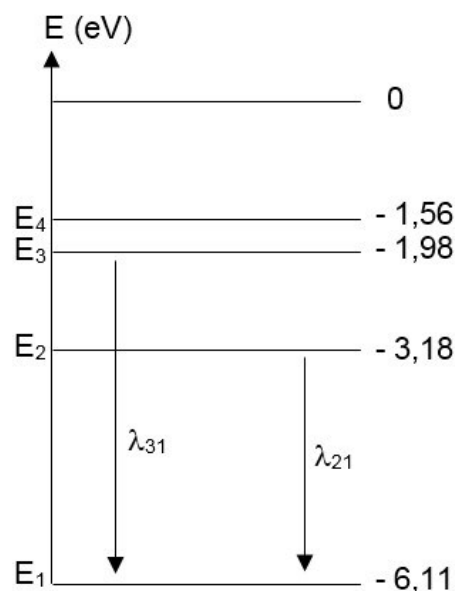
### Données :

- Numéro atomique du calcium  $Z = 20$
- Constante de Planck :  $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
- Célérité de la lumière dans le vide  $c = 3,00 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$
- $1 \text{ eV} = 1,60 \cdot 10^{-19} \text{ J}$
- L'étiquette de l'eau minérale indique une concentration de  $145 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  en ions  $\text{Ca}^{2+}$

Le diagramme ci-contre représente les 4 premiers niveaux d'énergie exprimés en électron-volts (eV) de l'atome de calcium.

On rappelle que la longueur d'onde d'un photon émis d'un niveau d'énergie  $E_{\text{haut}}$  à un niveau d'énergie  $E_{\text{bas}}$  est donnée par

$$E_{\text{haut}} - E_{\text{bas}} = \frac{hc}{\lambda}$$



### A.1. Généralités sur l'absorption ou l'émission de photon par le calcium

**A.1.1.** Donner la structure électronique du calcium.

**A.1.2.** Montrer que la longueur d'onde  $\lambda_{31}$  du photon émis par un atome de calcium lorsqu'il passe du niveau d'énergie  $E_3$  à  $E_1$  est de 301 nm.

**A.1.3.** Déterminer si une radiation de longueur d'onde 589 nm peut être absorbée par un atome de calcium pris dans son état fondamental. Justifier.

### A.2. Analyse d'une eau minérale par photométrie de flamme

Un spectromètre de flamme permet de faire passer dans un état excité les éléments chimiques contenus dans une solution qui aura été vaporisée. Le retour à l'état fondamental des électrons de la couche externe s'effectue avec émission de photons. La lumière émise est dispersée puis filtrée afin de sélectionner une bande étroite de longueurs d'onde parmi celles émises. L'intensité lumineuse est mesurée à l'aide d'un détecteur relié à un afficheur.

On a préparé plusieurs solutions étalons de concentration  $C$  en élément calcium. On a relevé l'intensité lumineuse  $L$  (en unité arbitraire) correspondant à chaque solution, pour la bande de longueurs d'onde centrée sur celle correspondant à la transition du niveau  $E_2$  au niveau  $E_1$ ,  $\lambda_{21} = 424 \text{ nm}$ . Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

| Solution n°               | 1 | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|---------------------------|---|------|------|------|------|------|
| C (mg · L <sup>-1</sup> ) | 0 | 50,0 | 100  | 150  | 200  | 250  |
| L (unité arbitraire)      | 0 | 19,1 | 40,6 | 61,0 | 79,8 | 99,6 |

**A.2.1.** Au vu des résultats présentés dans le tableau, indiquer la relation mathématique à laquelle on peut s'attendre entre les grandeurs physiques  $L$  et  $C$ . Justifier la réponse.

**A.2.2.** À l'aide de la calculatrice ou d'une construction graphique, déterminer l'équation de la droite modélisant la fonction  $L = f(C)$ .

**A.2.3.** L'échantillon d'eau minérale donne une intensité lumineuse  $L = 57,3$ . Déterminer sa concentration en calcium. Discuter de la conformité de la concentration en calcium indiquée sur l'étiquette de la bouteille.

## B. Observation des conidies (10 points)

Les moisissures par l'intermédiaire des spores qu'elles produisent, les conidies, peuvent entraîner des effets indésirables sur le feuillage des plantes. Ces conidies engendrent de petites taches foliaires de 4 à 5 mm de diamètre à centre gris nécrosé et à bordure rouge. Ces taches se multiplient et provoquent le dessèchement complet des limbes, en commençant par les feuilles de la couronne extérieure et jusqu'à l'anéantissement de l'ensemble du feuillage de la culture. La disparition du feuillage et les repousses formées par la plante en réaction à la maladie provoquent d'importantes pertes en poids et en sucre.[...] Ce champignon étant systémique, il suffit d'une seule conidie germant sur une feuille pour contaminer toute la plante.[...]

*Extrait de la section pathologie de l'INRA*

Pour surveiller les taches dues aux conidies sur les feuilles de betterave, un technicien réalise une étude régulière au microscope.

Dès l'apparition de taches caractéristiques de 2  $\mu\text{m}$  de diamètre, l'alerte est donnée.

### Fiche technique du microscope utilisé :

|                                   |                                                                   |    |     |     |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----|-----|-----|
| Objectifs L <sub>1</sub>          | Diamètre 8,0 mm                                                   |    |     |     |
|                                   | Grandissement $ \gamma_1 $                                        | X4 | X10 | X40 |
|                                   | Distance focale $f'_1$ en mm                                      | 40 | 16  | 4   |
| Oculaire L <sub>2</sub>           | Grossissement $G_2$ : X10                                         |    |     |     |
|                                   | Distance focale $f'_2$ en mm : 25                                 |    |     |     |
| Intervalle optique                | $\Delta = F'_1F'_2 = 160 \text{ mm}$                              |    |     |     |
| Grossissement commercial          | $G = \frac{ \gamma_1  \cdot d_m}{f'_2} =  \gamma_1  \cdot G_2$    |    |     |     |
| Ouverture numérique de l'objectif | $n \times \sin U = 0,70$ pour une observation dans l'air à 500 nm |    |     |     |

**B.1.** Déterminer la position de l'image intermédiaire A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> de l'objet AB donnée par l'objectif L<sub>1</sub> pour qu'un observateur puisse utiliser le microscope sans accommodation (un raisonnement sans calcul est demandé).

**B.2.** Faire un schéma sans souci d'échelle du microscope permettant ce fonctionnement.

**B.3.** Déterminer  $\alpha$ , l'angle sous lequel on observe l'objet (une tache de conidies de  $2\text{ }\mu\text{m}$  de diamètre) à l'œil nu au punctum proximum. On rappelle que par convention, la distance minimale  $d_m$  de vision distincte pour l'œil normal vaut  $25\text{ cm}$ .

**B.4.** L'angle  $\alpha'$  sous lequel on distingue nettement cette tache de conidies à travers le microscope est égal à  $4 \cdot 10^{-4}\text{ rad}$ . Calculer le grossissement commercial du microscope.

**B.5.** Déterminer un objectif permettant au moins un tel grossissement.

**B.6.** La diffraction de la lumière à travers l'objectif limite l'utilisation du microscope.

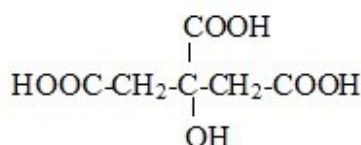
On définit le pouvoir de résolution du microscope :  $\varepsilon = \frac{0,6 \times \lambda}{n \times \sin U}$ . Il faut que la taille de l'objet soit plus grande que  $\varepsilon$  pour être observable.

**B.6.1.** Calculer  $\varepsilon$  pour une longueur d'onde  $\lambda$  égale à  $500\text{ nm}$ . En déduire si les taches dues aux conidies sont observables au microscope quand elles atteignent la taille correspondant au seuil d'alerte.

**B.6.2.** Les endospores provoquent des troubles semblables à ceux des conidies. Justifier pourquoi il est nécessaire, lors de l'observation d'endospores de taille  $0,3\text{ }\mu\text{m}$ , de les immerger dans de l'huile ( $n_{\text{huile}} = 1,52$  à  $500\text{ nm}$ ).

## C. Dosage de l'acide citrique dans la limonade (10 points)

La limonade est une boisson très sucrée. Une canette de  $33\text{ cL}$  contient l'équivalent de sept morceaux de sucre de  $4\text{ g}$ . Cette saveur sucrée est toutefois atténuée par la présence de l'acide citrique, un triacide noté  $\text{H}_3\text{A}$ . Cette partie a pour objectif d'étudier un dosage de l'acide citrique contenu dans une limonade.



**C.1.** Recopier la formule ci-dessus, puis entourer tous les groupes caractéristiques de l'acide citrique et nommer les fonctions correspondantes.

Afin de doser l'acide citrique de la limonade, le mode opératoire suivant est utilisé : « À l'aide d'une trompe à eau, dégazer environ  $80\text{ mL}$  de limonade en créant une dépression au-dessus du liquide constamment agité, pendant une dizaine de minutes. Prélever alors  $50,0\text{ mL}$  de limonade et les verser dans un Erlenmeyer. Effectuer le dosage par les ions hydroxyde ( $\text{HO}^-$ ) de la solution d'hydroxyde de sodium à  $0,10\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . »

**C.2.** Préciser le matériel à utiliser pour prélever  $50,0\text{ mL}$  de limonade.

Une simulation du suivi pH-métrique de ce dosage a permis d'obtenir la courbe du **DOCUMENT-RÉPONSE 1**, à rendre avec la copie.

Les diagrammes de distribution des différentes espèces :  $\text{H}_3\text{A}$ ,  $\text{H}_2\text{A}^-$ ,  $\text{HA}^{2-}$  et  $\text{A}^{3-}$  y sont également représentés.

**C.3.** Identifier sur le **DOCUMENT-RÉPONSE 1** les espèces correspondant respectivement aux courbes 1, 2, 3 et 4.

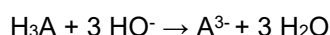
Les valeurs des  $\text{pK}_a$  des trois couples sont données dans le tableau ci-dessous :

| $\text{H}_3\text{A} / \text{H}_2\text{A}^-$ | $\text{H}_2\text{A}^- / \text{HA}^{2-}$ | $\text{HA}^{2-} / \text{A}^{3-}$ |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------|
| 3,1                                         | 4,7                                     | 6,4                              |

**C.4.** Retrouver les valeurs de  $\text{pK}_a$  des trois couples sur le **DOCUMENT-RÉPONSE 1**, en justifiant la démarche à l'aide de la courbe de pH et des diagrammes de distribution des différentes espèces chimiques.

On rappelle la relation  $\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{Base conjuguée}]}{[\text{acide conjugué}]}$

L'équation de la réaction de dosage du triacide par la solution d'hydroxyde sodium est :



**C.5.** Déterminer graphiquement les valeurs du volume et du pH à l'équivalence.

**C.6.** Calculer la concentration en acide citrique qui a été choisie pour cette simulation.

On donne, pour les indicateurs colorés suivants, les zones de virage et les couleurs des formes acides et basiques.

| Indicateur          | Teinte acide | Zone de virage | Teinte basique |
|---------------------|--------------|----------------|----------------|
| Hélianthine         | rouge        | 3,2 – 4,4      | jaune          |
| Bleu de bromothymol | jaune        | 6,0 – 7,6      | bleu           |
| Paranitrophénol     | incolore     | 5,4 – 6,6      | jaune          |
| Bleu de thymol      | jaune        | 8,0 – 9,6      | bleu           |

**C.7.** Justifier que le titrage de l'acide citrique peut être suivi par colorimétrie. Identifier un indicateur coloré utilisable pour ce dosage.

## D. Le pentan-3-ol (13 points)

Le pentan-3-ol est un représentant de la famille des alcools. Il sert usuellement de solvant, mais également d'intermédiaire de synthèse en chimie organique.

On se propose d'étudier la synthèse du pentan-3-ol par deux méthodes différentes : hydratation d'un sous-produit de la chimie pétrolière ou réduction d'une cétone.

Données :

- Couple d'oxydo-réduction dont le réducteur est le pentan-3-ol :  $C_5H_{10}O$  /  $C_5H_{12}O$
- Numéros atomiques : H ( $Z=1$ ), C ( $Z=6$ ), O ( $Z=8$ ).

### D.1. Préparation du pentan-3-ol par réduction

Le pentan-3-ol peut être facilement obtenu à partir de la réduction d'une cétone.

- D.1.1.** Écrire la formule semi-développée de la cétone dont la réduction conduit au pentan-3-ol.
- D.1.2.** Nommer cette cétone selon les règles de nomenclature officielle.
- D.1.3.** Écrire la demi-équation électronique de transformation de la cétone en alcool.

On réalise l'hydratation d'un alcène, le pent-2-ène. On place dans un ballon les deux réactifs (pent-2-ène et eau), on ajoute de l'acide sulfurique et on chauffe à reflux pendant 20 minutes. Après lavage et extraction, on recueille un mélange de deux alcools : le pentan-2-ol et le pentan-3-ol, ce dernier en majorité.

### D.2. Stéréochimie

- D.2.1.** Représenter et nommer les deux diastéréoisomères du pent-2-ène.
- D.2.2.** Produits obtenus :
  - D.2.2.1.** Parmi les deux molécules d'alcool, déterminer celle qui est chirale.
  - D.2.2.2.** Nommer le type de stéréoisomérisation mis en jeu.
  - D.2.2.3.** Donner la représentation de Cram des deux stéréoisomères et déterminer pour chacun la configuration absolue R ou S.

### D.3. Réaction d'hydratation

- D.3.1.** Écrire l'équation de la réaction d'hydratation du pent-2-ène.
- D.3.2.** Choisir le (ou les) terme(s) qui caractérisent l'hydratation d'un alcène : substitution – nucléophile – radicalaire – élimination – addition – électrophile
- D.3.3.** Sur le **DOCUMENT-RÉPONSE 2 à rendre avec la copie**, représenter par des flèches les déplacements d'électrons lors des différentes étapes du mécanisme réactionnel.
- D.3.4.** Nommer la nature de l'intermédiaire réactionnel formé dans la première étape du mécanisme réactionnel.

#### D.4. Identifications spectrales

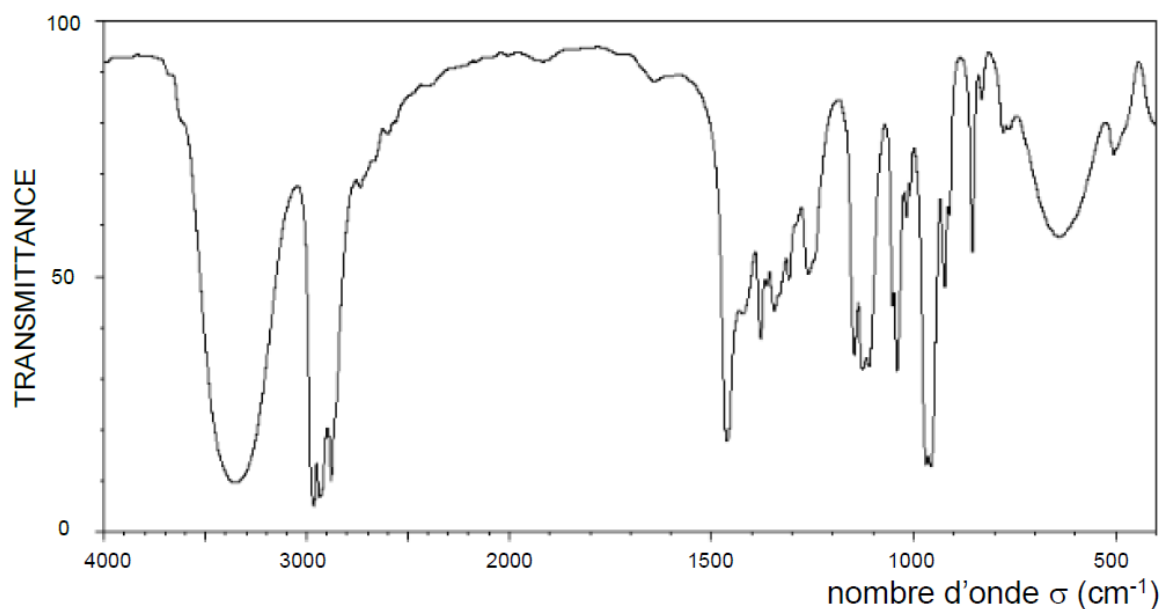
Des spectres infrarouges et RMN ont été réalisés pour l'alcène et les deux alcools.

Le **document 1** fournit les informations relatives aux spectres IR et de RMN  $^1\text{H}$  de l'un d'entre eux.

Le **document 2** fournit les tables de spectroscopie infrarouge et de déplacement chimique des protons.

Identifier en argumentant la molécule concernée parmi les trois.

#### Document 1 : Spectres infrarouge et de RMN $^1\text{H}$



Le spectre de RMN  $^1\text{H}$  de cette espèce chimique présente :

- Un triplet à 0,9 ppm d'intégration 6 H
- Un multiplet à 1,4 ppm d'intégration 4H
- Un singulet à 2,5 ppm d'intégration 1H
- Un quintuplet à 3,3 ppm d'intégration 1H.



**Document 2 :****Table spectroscopie Infrarouge**

Intensité : F : forte, M : moyenne, / : large, f : fine

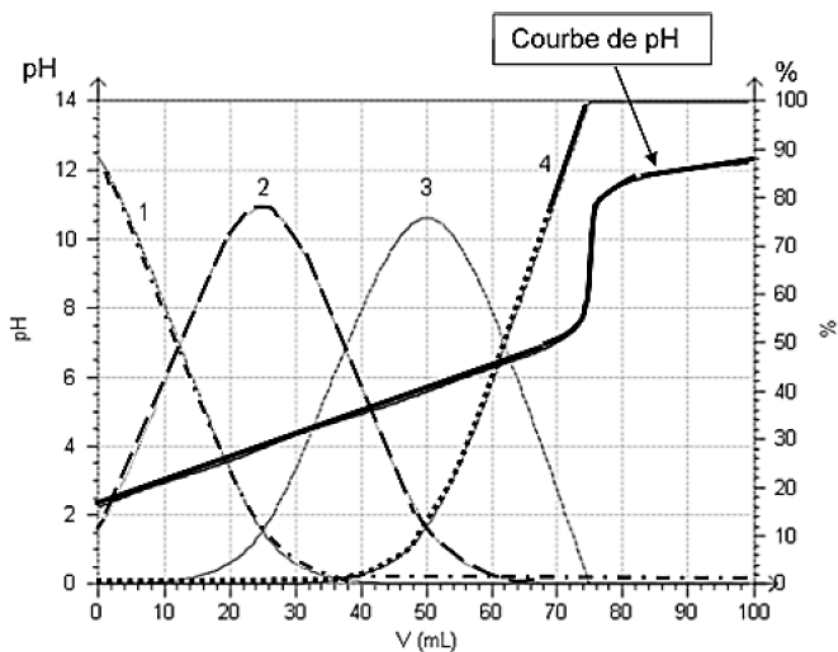
| Groupelement               | Liaison   | $\sigma$ (cm <sup>-1</sup> ) | Intensité |
|----------------------------|-----------|------------------------------|-----------|
| Alcools et phénols         | O-H libre | 3580 - 3650                  | F et f    |
| Alcools et phénols         | O-H lié   | 3200 - 3400                  | F et /    |
| Acides                     | O-H lié   | 2500 - 3200                  | F et /    |
| $\equiv$ C – H alcynes     | C-H       | 3300                         | M f       |
| Aromatiques                | C-H       | 3030 - 3080                  | M         |
| C=CH alcènes               | C-H       | 3000 - 3100                  | M         |
| -CH <sub>3</sub> alcanes   | C-H       | 2800 - 3000                  | F         |
| -CH <sub>2</sub> - alcanes | C-H       | 2800 - 2950                  | F         |
| Aldéhydes                  | C-H       | 2750 - 2900                  | M         |
| Aldéhyde-cétones           | C=O       | 1650 - 1730                  | F         |
| Acides                     | C=O       | 1680 - 1710                  | F         |
| Amides                     | C=O       | 1650 - 1700                  | F         |
| Alcanes                    | C-C       | 1000 - 1250                  | F         |
| Alcènes                    | C=C       | 1625 - 1685                  | M         |
| Aromatiques                | C=C       | 1450 - 1600                  | variable  |
| Amines                     | C-N       | 1220 - 1020                  | M         |
| Esters                     | C-O       | 1300 - 1050                  | F         |
| Acides                     | C-O       | 1300 - 1200                  | F         |
| Alcools tertiaires         | C-O       | 1200 - 1125                  | variable  |
| Alcools secondaires        | C-O       | 1125 - 1085                  | variable  |
| Alcools primaires          | C-O       | 1085 - 1050                  | variable  |

**Table de déplacement chimique des protons en RMN**

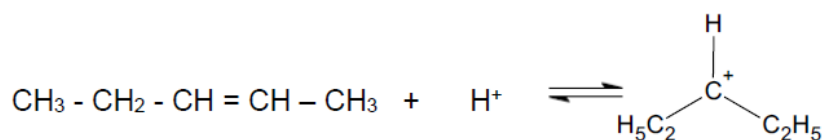
| Types de protons                                                              | $\delta$ (ppm) |
|-------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| R-CH <sub>3</sub>                                                             | 0,8-1,0        |
| R-CH <sub>2</sub> -R'                                                         | 1,2-1,4        |
| R <sub>3</sub> -CH                                                            | 1,4-1,7        |
| C $\equiv$ C-H, Z-CH avec Z : N, C=O ou Br                                    | 2,0-3,5        |
| Ar-CH <sub>3</sub>                                                            | 2,0-2,5        |
| Ar-CH <sub>2</sub> -R                                                         | 2,3-2,8        |
| X-CH avec X : Cl, F ou O                                                      | 3,5-4,5        |
| C=C-H                                                                         | 4,5-7,5        |
| C <sub>aromatique</sub> -H                                                    | 6,5-8,0        |
| H-C=O                                                                         | 9,0-10,0       |
| HO-C=O                                                                        | 9,5-14,0       |
| R-XH avec X : O, N ou S<br>Variable selon température, solvant, concentration | 0,5-16,0       |

**DOCUMENT – RÉPONSE 1 : À RENDRE AVEC LA COPIE**

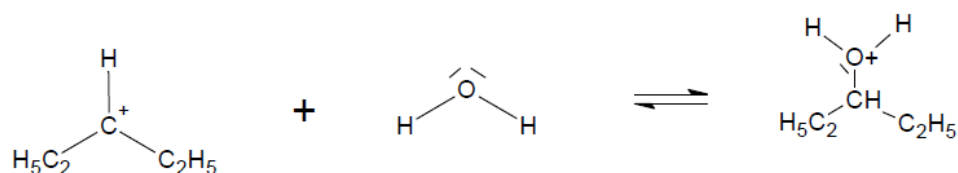
Courbe d'évolution du pH en fonction du volume et diagrammes de distribution des différentes espèces :  $H_3A$ ,  $H_2A^-$ ,  $HA^{2-}$  et  $A^{3-}$ .

**DOCUMENT – RÉPONSE 2 : À RENDRE AVEC LA COPIE**

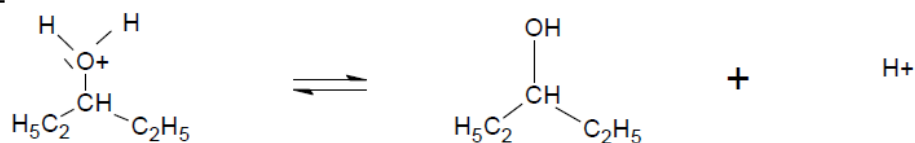
1<sup>ère</sup> étape :



2<sup>nde</sup> étape :



3<sup>ème</sup> étape :



# Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2020

## L'asparaginase : une enzyme aux propriétés anticancéreuses

Le chiffre d'affaires du marché mondial du médicament a été évalué à 913 milliards de dollars pour l'année 2015 par les entreprises du médicament (LEEM). Près du quart de ce chiffre d'affaires provient de principes actifs issus d'organismes vivants (plantes, moisissures, bactéries).

La recherche de molécules naturelles à visée thérapeutique (bioprospection) connaît un véritable essor. Les laboratoires pharmaceutiques extraient les principes actifs, les purifient et les caractérisent.

De nombreuses molécules et macromolécules anticancéreuses naturelles, aux cibles d'action variées sur les métabolismes glucidique et protidique, ont été ainsi découvertes chez les bactéries : l'**asparaginase** en est un exemple.

### 1. Le métabolisme des cellules cancéreuses, une cible pour les traitements chimiothérapeutiques

La multiplication active des cellules cancéreuses se traduit par une consommation d'énergie élevée et une importante synthèse protéique.

#### 1.1. Le métabolisme glucidique

Le **document 1** présente les voies métaboliques qui peuvent être dérégulées dans les cellules cancéreuses, ainsi que les enzymes cibles d'agents thérapeutiques.

Les cellules cancéreuses adoptent un métabolisme anaérobie plus important que les cellules saines, même en présence de dioxygène (effet Warburg).

**Q1.** Identifier les voies de ❶ à ❹.

Repérer les voies métaboliques privilégiées dans une cellule cancéreuse. En déduire la raison pour laquelle les cellules cancéreuses consomment davantage de glucose que les cellules non cancéreuses.

**Q2.** Discuter la pertinence d'utiliser comme agent anticancéreux le 2-désoxy-D-glucose, un analogue structural du glucose qui inhibe la voie ❶.

**Q3.** Expliquer l'intérêt d'inhiber la lactate déshydrogénase par des agents thérapeutiques anticancéreux.

À l'heure actuelle, ces agents ciblant le métabolisme glucidique induisent des effets secondaires toxiques pour les patients car ils ne sont pas spécifiques des cellules cancéreuses. Les effets d'autres agents anti-cancéreux sur le métabolisme protidique sont donc étudiés.

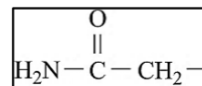
#### 1.2. Le métabolisme protidique comme alternative

Certaines cellules cancéreuses sont incapables de synthétiser de manière endogène leur propre asparagine. Dans le cadre d'une thérapie anticancéreuse, on vise à priver les cellules d'asparagine exogène en utilisant une asparagine amidohydrolase appelée asparaginase (EC 3.5.1.1). Son action est présentée dans le **document 1**.

**Q4.** Établir l'équation bilan de la réaction de transformation de l'asparagine catalysée par l'asparaginase en utilisant les formules semi-développées.

Donnée : formule de la chaîne latérale R de l'asparagine :

R :



**Q5.** Établir la conséquence d'une privation en asparagine exogène sur le métabolisme protidique des cellules saines d'une part et des cellules cancéreuses d'autre part.

En déduire l'intérêt d'utiliser l'asparaginase comme principe actif d'un traitement chimiothérapeutique.

## 2. Une procédure de purification adaptée aux *Bacillus* producteurs d'asparaginase

Actuellement, la production d'asparaginase commerciale utilise des souches d'*Escherichia coli* et d'*Erwinia chrysanthemi*. Les médicaments conçus à partir de ces deux espèces sont hautement immunogènes. La réponse immunitaire peut neutraliser les effets thérapeutiques chez certains patients qui développent alors des résistances à ce traitement.

C'est pourquoi de nombreux laboratoires recherchent de nouvelles sources d'asparaginase.

Les micro-organismes GRAS (*Generally Recognized As Safe*, équivalent pour la FDA étatsunienne du groupe de danger 1), tels que certaines espèces du genre *Bacillus*, sont particulièrement étudiés. Différentes procédures sont mises en œuvre pour obtenir l'enzyme la plus pure et la plus efficace possible afin de l'inclure, en tant que principe actif, dans un médicament à visée anticancéreuse.

### 2.1. Un mode d'obtention dépendant de la localisation de l'asparaginase produite

L'asparaginase est récupérée de façon différente à partir de deux souches de *Bacillus* :

- *Bacillus licheniformis* produit une asparaginase extracellulaire, extraite selon le protocole n° 1 ;
- *Bacillus* PG-03 produit une asparaginase intracellulaire, extraite selon le protocole n° 2.

Les deux protocoles d'obtention de l'enzyme sont décrits dans le **document 2**.

**Q6.** Présenter les étapes des 2 protocoles sous forme d'un logigramme.

Repérer, à l'issue de chaque protocole, la fraction dans laquelle se trouve l'enzyme.

L'asparaginase présente dans les extraits enzymatiques obtenus à partir de la culture de *B. licheniformis* d'une part et de *Bacillus* PG-03 d'autre part, est purifiée selon la démarche présentée dans le **document 3**.

### 2.2. La purification de l'asparaginase extraite de *Bacillus* PG-03

La première étape de cette purification est une chromatographie d'échange d'ions. On utilise la DEAE-Sephacrose® qui est une résine échangeuse d'anions.

Le chromatogramme obtenu à l'issue de cette chromatographie est présenté dans le **document 4**.

**Q7.** Exposer le principe de la chromatographie d'échange d'anions.

Expliquer l'intérêt d'un mode d'élution par gradient.

**Q8.** Indiquer l'information apportée par la mesure de l'absorbance à 280 nm sur chaque fraction.

Justifier les fractions à conserver dans le cadre de cette purification.

Les fractions choisies sont mélangées et constituent un « *pool* » (ensemble des fractions d'intérêt). Ce *pool* est ensuite soumis à une dialyse, puis à une ultrafiltration.

**Q9.** Préciser le rôle de chacune de ces 2 étapes.

### 2.3. La purification de l'asparaginase extraite de *B. licheniformis*

Cette procédure de purification fait appel notamment à une étape supplémentaire de chromatographie par exclusion moléculaire.

**Q10.** Argumenter le choix du domaine de fractionnement du gel d'exclusion Sephadex® G100 pour la purification de l'asparaginase.

Données :

Masse moléculaire moyenne des asparaginases : 135 kDa.

Domaine de fractionnement du gel d'exclusion Sephadex® G-100 : 4 – 150 kDa.

Afin de contrôler la qualité de la procédure de purification, les *pools* obtenus au cours des différentes étapes, sont analysés par SDS-PAGE.

Des éléments du protocole et les résultats sont présentés dans le **document 5**.

**Q11.** Expliquer le rôle de la lyophilisation préalable des *pools*.

Justifier, par le calcul, la nécessité de réaliser cette lyophilisation pour analyser le *pool* Sephadex® G-100.

Calculer le volume de tampon à utiliser pour remettre ce lyophilisat en solution.

**Q12.** Indiquer les rôles du SDS contenu dans la solution de Laemmli et préciser son effet sur les protéines multimériques. Commenter les résultats obtenus et conclure sur la qualité de la purification.

La qualité de la procédure de purification de l'asparaginase de *B. licheniformis* est aussi évaluée

- en déterminant l'activité enzymatique dans chaque fraction par le test présenté dans le **document 6** ;
- en calculant le rendement et l'enrichissement à partir des résultats présentés dans le **document 7**.

**Q13.** Expliquer les rôles respectifs des deux incubations présentes dans le protocole du test et indiquer, pour chacune d'elles, si le temps doit être mesuré précisément.

Expliquer le rôle de l'acide trichloroacétique.

En déduire le nom de la méthode de détermination de l'activité enzymatique.

**Q14.** Définir le rendement final et l'enrichissement final.

Calculer ces 2 grandeurs et commenter les valeurs obtenues.

## 2.4. Deux asparaginases purifiées aux performances inégales

Les paramètres cinétiques des asparaginases purifiées à partir des deux souches de *Bacillus* sont déterminés :

| Souche                        | $K_M$ (mmol·L <sup>-1</sup> ) | $V_{max}$ (μmol·L <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> ) |
|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------|
| <i>Bacillus licheniformis</i> | 0,014                         | 0,067                                                |
| <i>Bacillus PG-03</i>         | 23,8                          | 0,024                                                |

**Q15.** Indiquer l'intérêt de chacun des deux paramètres cinétiques d'une enzyme.

Discuter le choix de l'asparaginase produite par *Bacillus licheniformis* en tenant compte de ses performances, ainsi que des contraintes temporelles et économiques liées aux procédures d'extraction et de purification.

La poursuite de l'étude se fait avec l'asparaginase extraite et purifiée à partir de *Bacillus licheniformis*.

## 3. L'asparaginase de *B. licheniformis* : caractérisation des propriétés physico-chimiques

L'asparaginase purifiée de *Bacillus licheniformis* est déposée sur une colonne d'exclusion Sephacryl® S-200 afin de déterminer précisément sa masse moléculaire.

Les résultats sont présentés dans le **document 8**.

**Q16.** Indiquer la composition de la solution de marqueurs de masses moléculaires et préciser son rôle. Déterminer la masse moléculaire de l'asparaginase.

Comparer ce résultat avec celui obtenu sur le gel SDS-PAGE (*pool*/ Sephadex® G-100) et conclure sur la structure de l'asparaginase.

Dans le cadre d'un projet pharmaceutique, l'asparaginase recherchée doit être efficace, avoir une stabilité et un temps de demi-vie satisfaisants en conditions physiologiques.

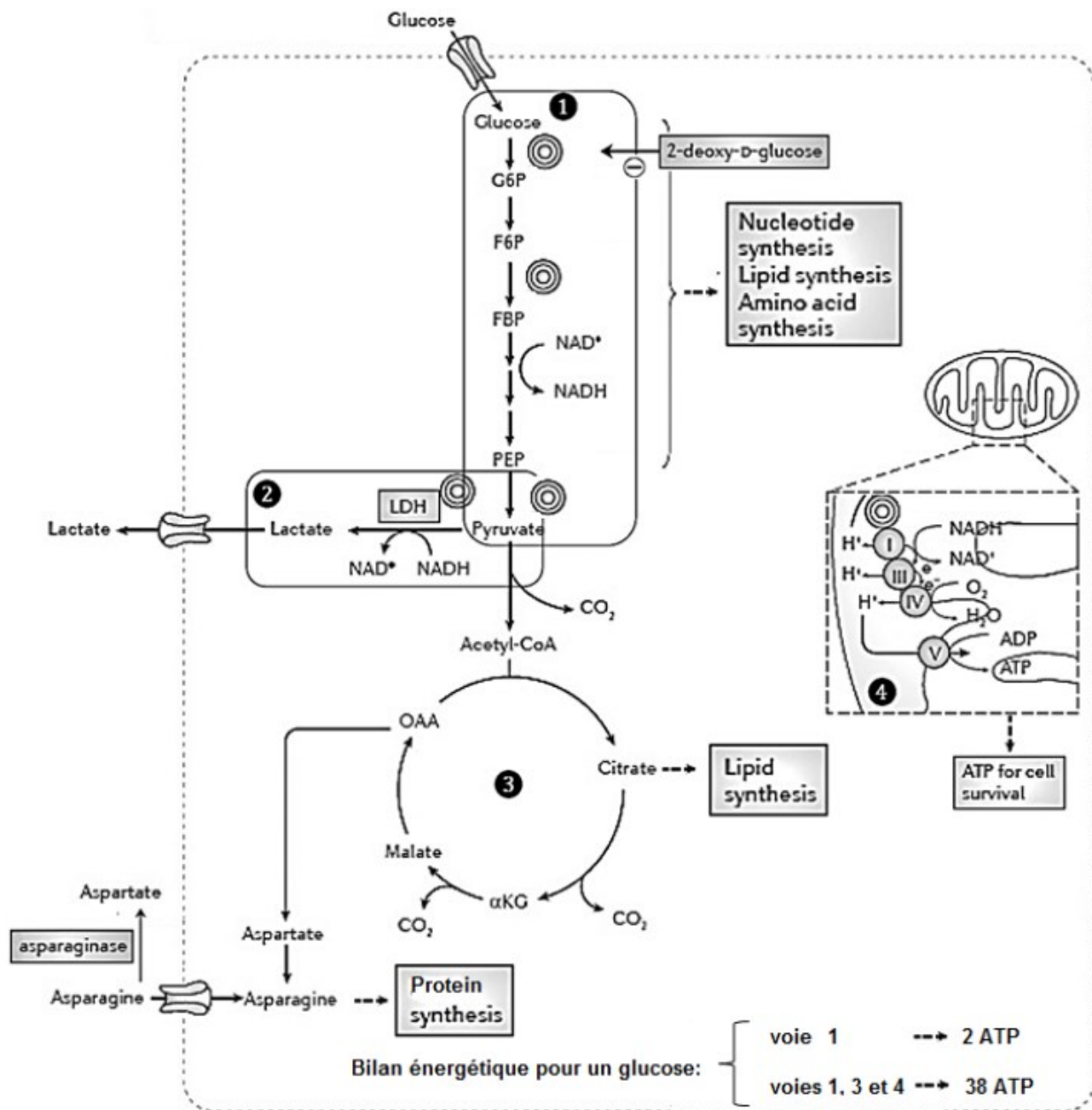
Afin d'évaluer ces paramètres, l'influence de la température et du pH sur l'activité de l'asparaginase est étudiée.

Le **document 9** présente l'activité de l'asparaginase en fonction de la température et du pH.

**Q17.** Déterminer le pH optimum et la température optimale de l'asparaginase.

Discuter de son efficacité dans les conditions physiologiques.

**DOCUMENT N°1 : targeting metabolic enzymes as a strategy to block biosynthesis or induce energy stress.**



The pathways of central carbon metabolism are presented. Some of the metabolic enzymes that are currently being considered as therapeutic targets for cancer are marked with target (shown as a circle in the figure ).

*D'après Vander Heiden (2011)*

**DOCUMENT N°2 : protocoles d'obtention de l'asparaginase.*****Protocole n° 1 : asparaginase extracellulaire de *Bacillus licheniformis****

La production d'asparaginase par *Bacillus licheniformis* est réalisée dans le milieu CzapekDox modifié ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  à  $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{NaCl}$  à  $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ; L-asparagine à  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ; glycérol à  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{MgSO}_4$ , 7  $\text{H}_2\text{O}$  à  $0,2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{CaCl}_2$ , 2  $\text{H}_2\text{O}$  à  $0,005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

Les flasques contenant 50 mL de milieu sont inoculées avec l'inoculum bactérien (2% V/V) (DO de 2,0).

L'incubation est réalisée à  $37^\circ\text{C}$  sous agitation (200 rpm) pendant 24 h.

Le milieu de culture est ensuite filtré.

L'activité enzymatique est mesurée dans le filtrat.

*D'après Mahajan et al. (2014)*

***Protocole n° 2 : asparaginase intracellulaire de *Bacillus* PG-03***

*Bacillus* PG-03 a été initialement isolé à partir de sédiments du Golfe Persique.

Une préculture est réalisée en milieu nutritif puis conservée à  $-20^\circ\text{C}$  dans un milieu contenant 20 % de glycérol.

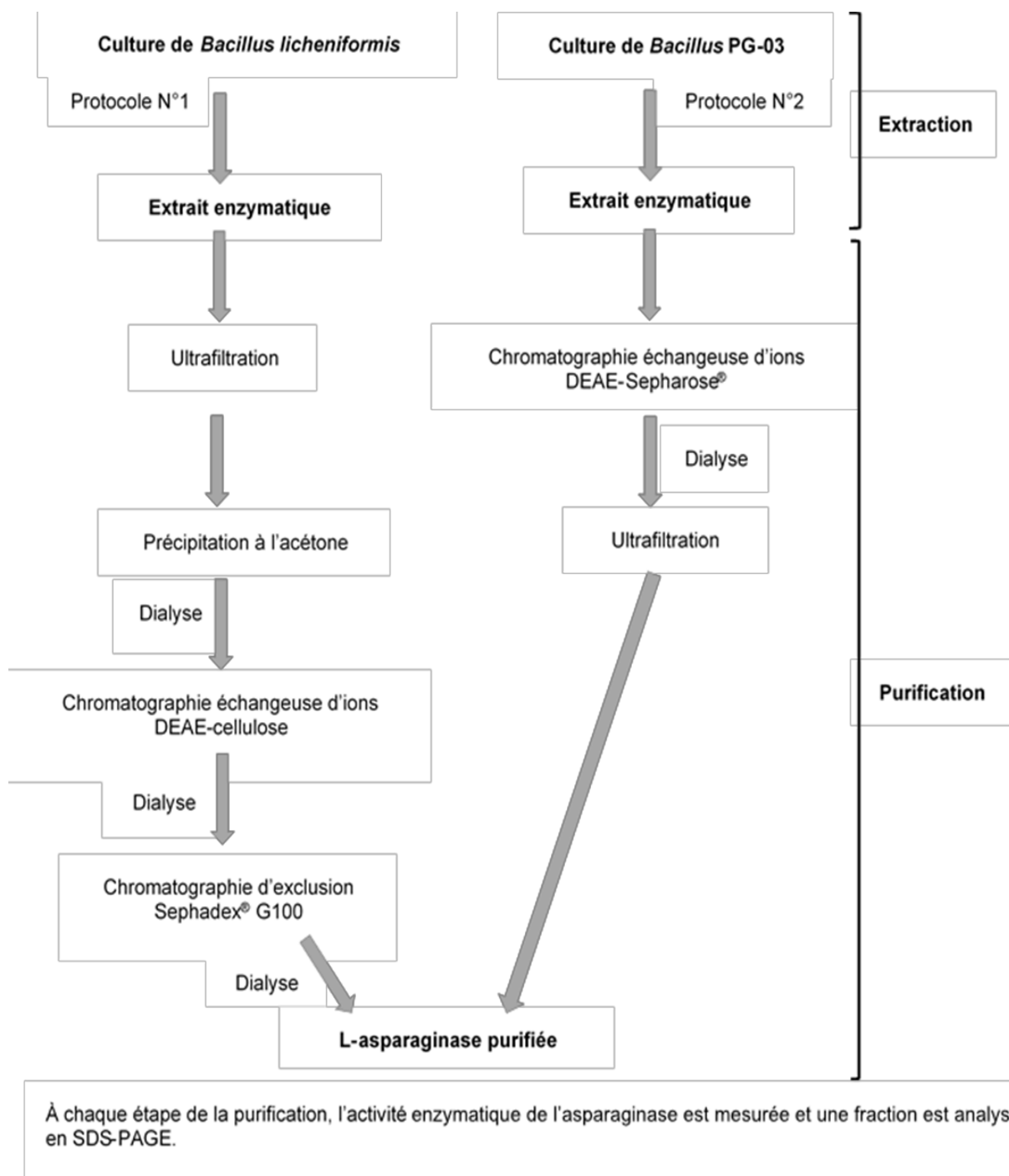
Un flacon de 10 mL de milieu de croissance estensemencé avec un inoculum de cette préculture puis incubé pendant une nuit. Ce pré-enrichissement est transféré dans 100 mL de milieu de culture M9 constitué de : maltose 20 % comme unique source de carbone ;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  à  $6,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  à  $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{NaCl}$  à  $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{CaCl}_2$  à  $0,011 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{MgSO}_4$ , 7  $\text{H}_2\text{O}$  à  $0,12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ; pH 7,0 et incubé à  $37^\circ\text{C}$  sous agitation à 200 rpm pendant 24 heures. La concentration cellulaire est estimée par mesure de la densité optique à 600 nm.

La biomasse est séparée par centrifugation (8 000 rpm, 10 min,  $4^\circ\text{C}$ ), puis le culot est remis en suspension dans 3 mL de tampon Tris  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 9 contenant 10 % (V/V) de glycérol. Les cellules sont lysées par sonication. Le lysat cellulaire est centrifugé (13 000 rpm, 15 min,  $4^\circ\text{C}$ ).

L'activité enzymatique est mesurée dans le surnageant.

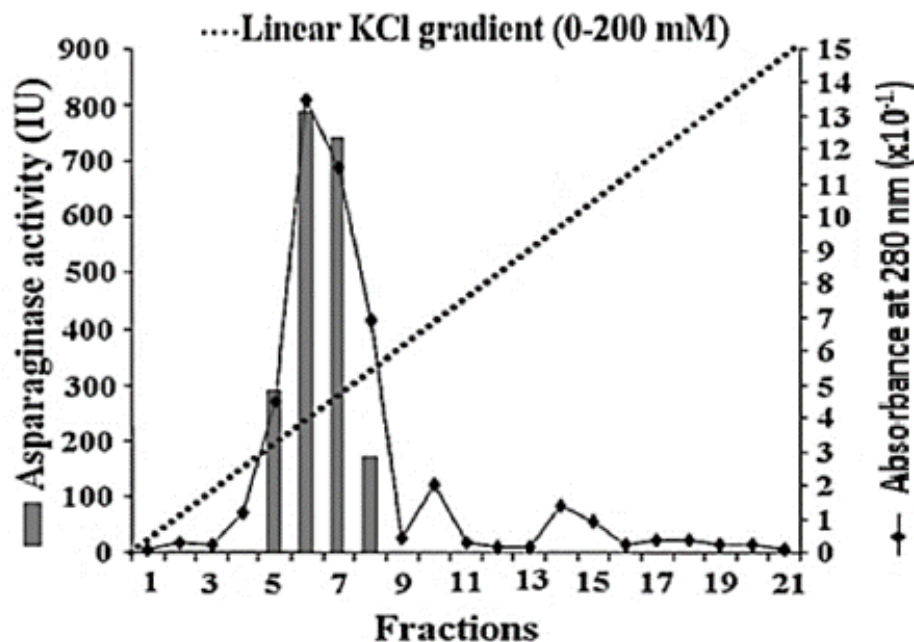
*D'après Rahimzadeh et al. (2016)*

**DOCUMENT N°3 : démarche de purification des asparaginases de *B. licheniformis* et *B. PG-03*.**





**DOCUMENT N°4 : profil d'élution de l'asparaginase extraite de *Bacillus* PG-03 par chromatographie DEAE-Sepharose®.**



The column was pre-equilibrated with 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 9.6) and absorbed protein was eluted with a linear gradient of KCl (0–200 mM) prepared in 0.05 M Tris-HCl buffer (pH 8.6). Each fraction was analyzed for enzymatic activity and protein content.  
 Additional information: « M » = mol·L<sup>-1</sup>

D'après Husain et al. (2016)

**DOCUMENT N°5 : suivi de purification de l'asparaginase de *B. licheniformis* par SDS-PAGE.**

- Traitement préalable du *pool* Sephadex® G-100

Le *pool* Sephadex® G-100 est dialysé :

- $V_{\text{dialysat}} = 20 \text{ mL}$
- $\rho_{(\text{protéines} ; \text{dialysat})} = 0,76 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Le dialysat est lyophilisé puis remis en solution avec un tampon Tris-HCl 50 mmol·L<sup>-1</sup> pH 8,6.

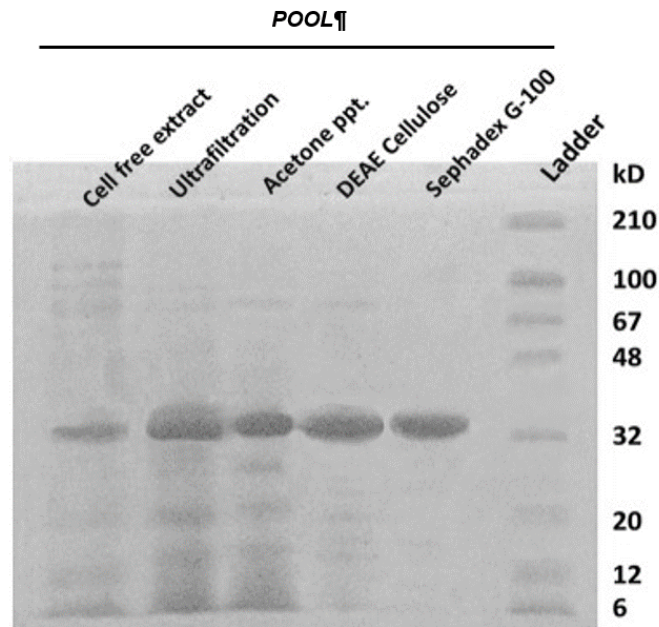
- Préparation des échantillons pour le dépôt en SDS-PAGE
  - Introduire dans un tube :
    - 10  $\mu\text{L}$  du *pool* à analyser,
    - 10  $\mu\text{L}$  de solution de Laemmli.
  - Incuber 5 minutes au bain-marie à 100 °C.
  - Déposer la totalité du volume préparé.

Afin d'obtenir une visualisation correcte des bandes, une quantité de 25 à 50  $\mu\text{g}$  de protéines doit être déposée dans chaque puits.

- Résultats après migration en gel SDS-PAGE 12 %

Les protéines sont dénaturées par la méthode de Laemmli. Une solution de marqueurs de masses moléculaires de 6 à 210 kDa est utilisé (*Ladder*). Les protéines sont révélées par coloration au bleu de Coomassie.

## Suite du document n° 5



*D'après Mahajan et al. (2014)*

### **DOCUMENT N°6 : test de détermination de l'activité de l'asparaginase.**

Il est possible de suivre la réaction catalysée par l'asparaginase par une méthode colorimétrique en dosant l'ammoniaque libéré (méthode de Nessler).

L'ammoniaque réagit en milieu alcalin avec l'iodomercurate (II) de potassium pour former un complexe de couleur orangée.

#### **Réalisation du test :**

100  $\mu\text{L}$  de solution contenant l'asparaginase sont incubés avec 900  $\mu\text{L}$  de tampon Tris pH 8,6 contenant 44  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  d'asparagine. Après 30 min d'incubation à 30 °C, 150  $\mu\text{L}$  d'acide trichloroacétique sont ajoutés. La concentration en ammoniaque est déterminée par ajout de 500  $\mu\text{L}$  de réactif de Nessler et l'absorbance est lue à 436 nm après 10 min d'incubation à température ambiante (stabilité de la coloration 1 heure).

Une unité internationale est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire à la formation d'une micromole d'ammoniaque par minute dans les conditions de l'essai.

Tous les essais sont réalisés en triplicat.

*D'après Belviso et al. (2017)*

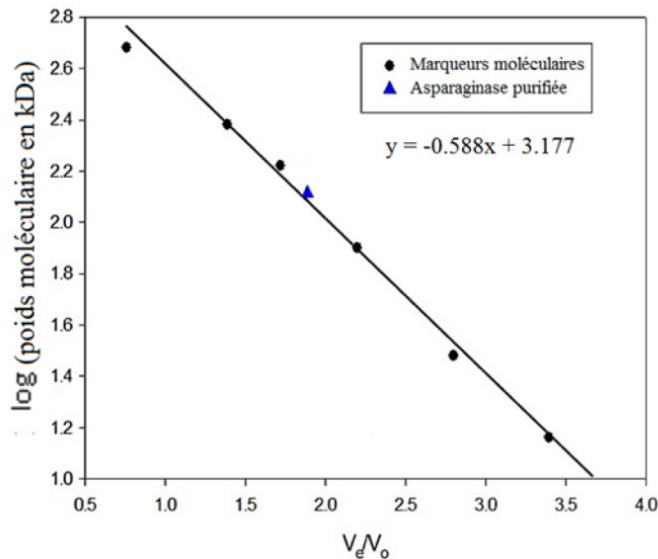
### **DOCUMENT N°7 : suivi de purification de l'asparaginase de *B. licheniformis*.**

| Étape de purification     | Activité enzymatique totale (U) | Masse totale de protéines (mg) |
|---------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Extrait enzymatique       | 32 260                          | 1 396                          |
| Ultrafiltration           | 29 587                          | 862,0                          |
| Précipitation à l'acétone | 24 392                          | 459,0                          |
| DEAE-cellulose            | 15 898                          | 37,90                          |
| Sephadex® G-100           | 10 632                          | 15,25                          |

L'activité totale est déterminée à partir de l'activité de l'asparaginase mesurée par le test décrit précédemment. La masse de protéines est calculée après dosage par la méthode de Bradford.

*D'après Mahajan et al. (2014)*

**DOCUMENT N°8 : analyse par chromatographie de gel filtration Sephacryl® S-200 (haute résolution) de l'asparaginase purifiée de *B. licheniformis*.**



Dans un premier temps, les marqueurs moléculaires sont déposés sur la colonne.

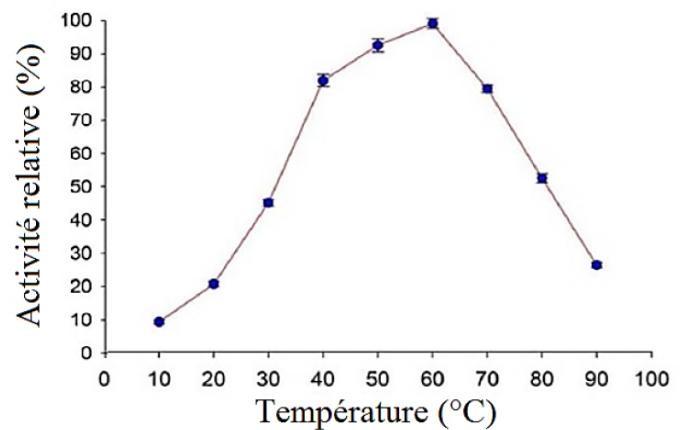
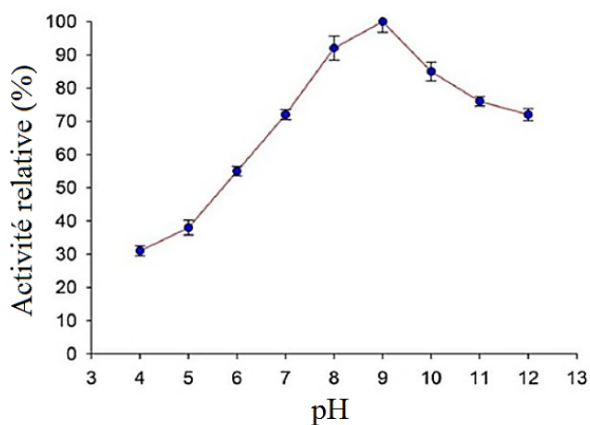
Dans un second temps, l'asparaginase purifiée de *B. licheniformis* est déposée sur la colonne. Le volume d'élution ( $V_e$ ) de chaque protéine et le volume mort ( $V_o$ ) de la colonne sont mesurés.

Pour l'asparaginase :  $V_e/V_o = 1,79$

*D'après Mahajan et al. (2014)*

**DOCUMENT N°9 : activité de l'asparaginase de *B. licheniformis* en fonction de la température et du pH.**

L'activité de l'asparaginase est mesurée dans différentes conditions de pH et de températures.



*D'après Mahajan et al. (2014)*

# Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2020

## La production bioindustrielle de L-lysine

La production mondiale de lysine et d'autres acides aminés est en pleine expansion pour des besoins accrus en alimentation animale et humaine, ainsi qu'en industrie pharmaceutique.

Une usine désire mettre en place une production de L-lysine à l'aide de souches mutantes de *Corynebacterium glutamicum*. Dans cet objectif, le laboratoire de recherche et développement étudie les caractéristiques structurales et métaboliques de nouvelles souches mutantes.

Pour la souche retenue, le développement du projet se poursuit par :

- l'étude des conditions de culture et de croissance,
- des essais de rendement et productivité,
- la mise en place de contrôles en cours de production.

### 1. Caractéristiques structurales et métaboliques des souches productrices

Les corynébactéries sont des bacilles à Gram positif dont la paroi atypique fait l'objet d'une étude approfondie. En effet, la paroi joue un rôle essentiel dans l'excrétion des acides aminés et permet l'identification des souches par chimiotaxonomie.

#### 1.1. Structure et composition de la paroi

Le **document 1** est un modèle de la paroi. On y constate une organisation structurale proche de celle des parois de bactéries Gram - bien que *Corynebacterium* soit un genre Gram +.

**Q1.** Identifier l'élément d'ultrastructure de la paroi rapprochant *Corynebacterium* des bactéries de type Gram -.

**Q2.** Expliquer l'aspect Gram + des corynébactéries après coloration à partir de la structure de leur paroi et du principe de la technique de la coloration de Gram.

#### 1.2. Obtention et identification des souches mutantes

Le laboratoire a mis au point différents mutants par mutagenèse permettant l'amélioration de la souche sauvage.

**Q3.** Proposer une définition de la mutagenèse et nommer un agent physique ou chimique mutagène.

Pour l'identification des souches, le laboratoire dispose d'un spectromètre de masse MALDI-TOF dont le **document 2** présente sous forme schématique le principe décrit dans la notice de l'appareil.

**Q4.** Repérer la nature des molécules à analyser et nommer les grandes étapes de la technique d'identification des souches.

Argumenter le principal intérêt de la technologie MALDI-TOF par rapport aux méthodes traditionnelles d'identification.

Le **document 3** présente le résultat obtenu pour la souche sauvage et pour un mutant. Celui-ci a été obtenu par une mutation entraînant la modification de la régulation de la transcription du gène codant pour une porine.

**Q5.** Analyser les spectres obtenus pour conclure sur la capacité de cette technique à différencier ces deux souches.

#### 1.3. Validation des souches mutantes Eh, Ec et Yram

Parmi les nombreuses souches mutantes, le laboratoire a testé les deux mutants Eh et Ec conçus pour optimiser la production de lysine. Ces mutants sont présentés dans le **document 4**. Le **document 5** schématise la voie de biosynthèse de la lysine.

**Q6.** Expliquer pourquoi chacune des deux mutations génétiques aboutit à la surproduction de lysine.

Le mutant Yram, une autre souche hyperproductrice de lysine, présente une mutation qui augmente l'excrétion de l'acide aminé. L'effet de cette mutation passe par une diminution de la synthèse des acides mycoliques de la mycomembrane présentée dans le **document 1**.

**Q7.** Proposer une hypothèse pour expliquer l'augmentation de l'excrétion de la lysine en s'appuyant sur la structure de la lysine et de la mycomembrane.

## 2. Étude des conditions de croissance de la souche productrice

La souche M finalement retenue pour la bioproduction, est un mutant complexe combinant plusieurs mutations. Son utilisation industrielle nécessite la détermination des paramètres d'état de la croissance dans un milieu synthétique d'étude proche du milieu de production.

### 2.1. Composition du milieu synthétique d'étude

Le **document 6** indique la composition du milieu de Kiss et Stephanopoulos (K-S) couvrant les besoins nutritifs élémentaires et les besoins spécifiques de la souche. Il est utilisé au cours des essais de croissance menés à différentes températures entre 20 °C et 40 °C.

**Q8.** Classer sous forme de tableau les constituants du milieu K-S en deux catégories correspondant aux besoins élémentaires et spécifiques.  
Préciser le rôle de chaque constituant.  
Montrer qu'il s'agit d'un milieu synthétique.

La souche M est cultivée en tenant compte du fait qu'elle est hétérotrophe et auxotrophe.

**Q9.** Proposer une définition de ces deux types trophiques et justifier l'utilisation du milieu K-S.

### 2.2. Essai de croissance du mutant M en milieu non renouvelé

Le **document 7** présente les points expérimentaux de suivi de croissance à pH 7 et 30 °C, dans un milieu agité et aéré pendant une durée de 28 heures en bioréacteur de volume total 2 L.

**Q10.** Déterminer la vitesse spécifique maximale de croissance  $Q_{x_{\text{expo}}}$  et le temps de génération G en exposant la démarche de détermination.

Données :  $\ln 2 = 0,7$  ;  $Q_{x_{\text{expo}}}$  également appelé  $\mu_{x_{\text{expo}}}$ .

**Q11.** La valeur de G calculée étant relativement élevée, proposer, à l'aide du **document 7**, une modification d'un paramètre de culture pour diminuer cette valeur.

## 3. Optimisation du procédé de production de la lysine

Les aptitudes technologiques de la souche M (rendements élevés et bonne séparation de la biomasse) sont testées sur une installation pilote selon un diagramme de production présenté dans le **document 8**.

### 3.1. Étude du procédé de production

Après revivification, une préculture est réalisée dans le milieu de production.

**Q12.** Dégager l'intérêt de la préculture. Rappeler le rôle de la mélasse et préciser l'avantage de son utilisation en production industrielle.

Le **document 9** présente les trois principaux procédés de fermentation industrielle.

**Q13.** Identifier les trois procédés technologiques A, B et C présentés dans le **document 9** en justifiant la réponse.

### 3.2. Analyse des courbes de production

Le **document 10** présente la consommation du saccharose et l'apparition de la L-lysine tout au long du procédé de l'essai pilote.

**Q14.** Calculer la productivité volumique horaire maximale (Pm) et la productivité volumique horaire finale (Pf) en g de lysine · L<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>.

Données : formule générale de la productivité volumique horaire  $P = \frac{\Delta P}{\Delta t}$

avec : P = concentration massique du produit et t = temps

**Q15.** Analyser les courbes et les résultats de productivité pour déduire la durée de fermentation la plus adaptée à une productivité finale optimale.

**Q16.** Calculer le rendement global  $Y_{L/S}$  de conversion du saccharose en lysine en g de lysine·g<sup>-1</sup> de saccharose puis conclure sur l'intérêt de la souche mutée.

*Données :*

$$Y_{L/S} = \frac{[P]_f - [P]_0}{[S]_f - [S]_0}$$

avec :

$[P]_0$  et  $[P]_f$  = concentrations massiques initiale et finale en produit

$[S]_0$  et  $[S]_f$  = concentrations massiques initiale et finale en substrat

Rendement de la souche sauvage dans les conditions de l'étude : 0,088 g de lysine·g<sup>-1</sup> de saccharose.

## 4. Les contrôles en cours de production

La conduite d'un procédé de fabrication se déroulant sur plusieurs jours et utilisant une souche mutante est toujours délicate. La multiplication d'agents de contamination ou de bactéries présentant des mutations réverses sont des incidents causant une baisse de productivité.

L'opérateur de production réalise un isolement du moût extrait du fermenteur. Après incubation, la lecture du milieu montre une abondance de petites colonies bactériennes et quelques grands thalles filamenteux.

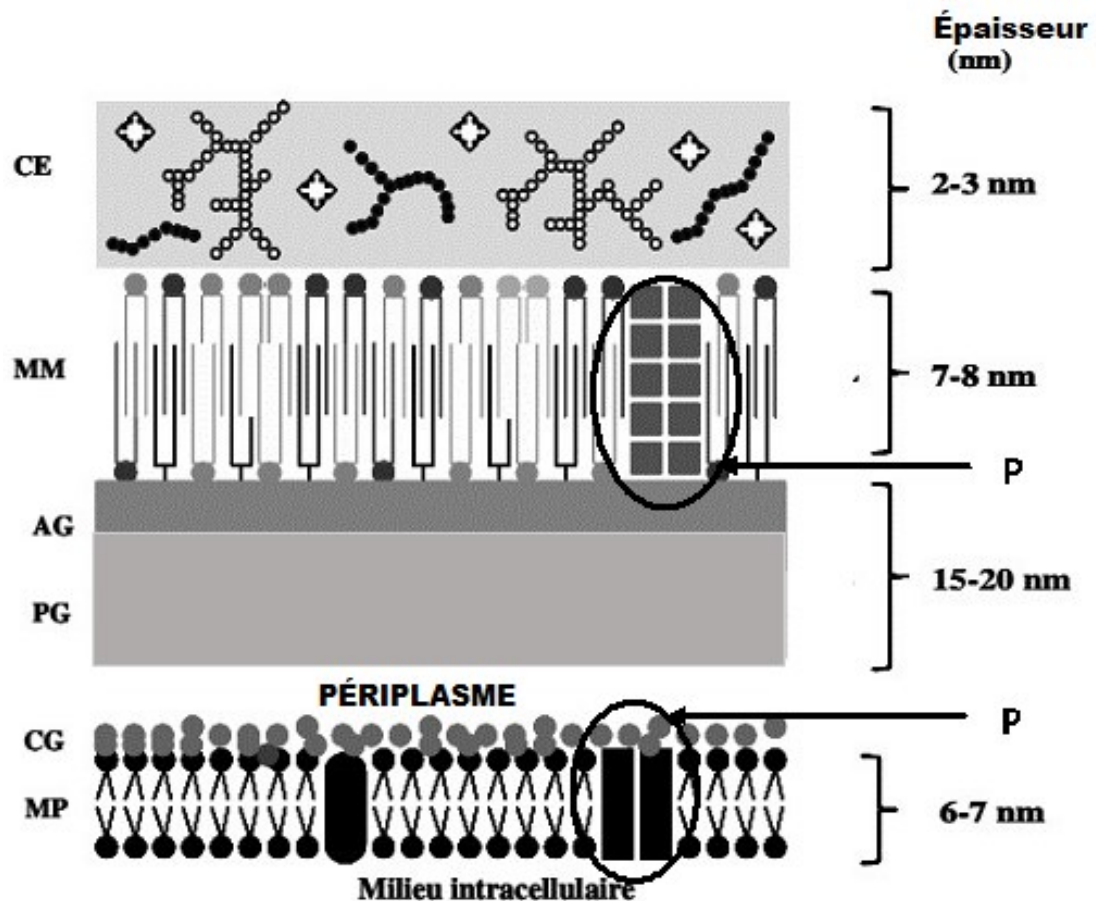
L'examen microscopique d'un thalle a donné le résultat schématisé dans le **document 11**.

**Q17.** Identifier sur la copie les éléments numérotés et préciser le genre de ce mycète.

**Q18.** Proposer une adaptation du milieu K-S permettant d'éliminer le contaminant en cours de production.

Afin de déterminer le taux de mutants réverses, l'opérateur utilise ensuite la technique des répliques présentée dans le **document 12**. Deux répliques sont effectuées, l'une sur milieu K-S (boîte n° 1) et l'autre sur milieu K-S sans homosérine (boîte n° 2). Après incubation, l'opérateur dénombre les colonies de mutants réverses sur la boîte n° 2 et compare avec le nombre de colonies total de la boîte n° 1.

**Q19.** Expliquer pourquoi les mutants réverses sont capables de se développer sur la boîte n° 2. Calculer le taux de révertant en pourcentage pour conclure sur la stabilité de la mutation.

**Document 1 : schéma de la paroi particulière de *Corynebacterium glutamicum***

*Le schéma n'est pas présenté à l'échelle, tenir compte de l'indication de l'épaisseur des couches.*

Légendes :

**MP** = membrane plasmique

**CG** = couche de protéines

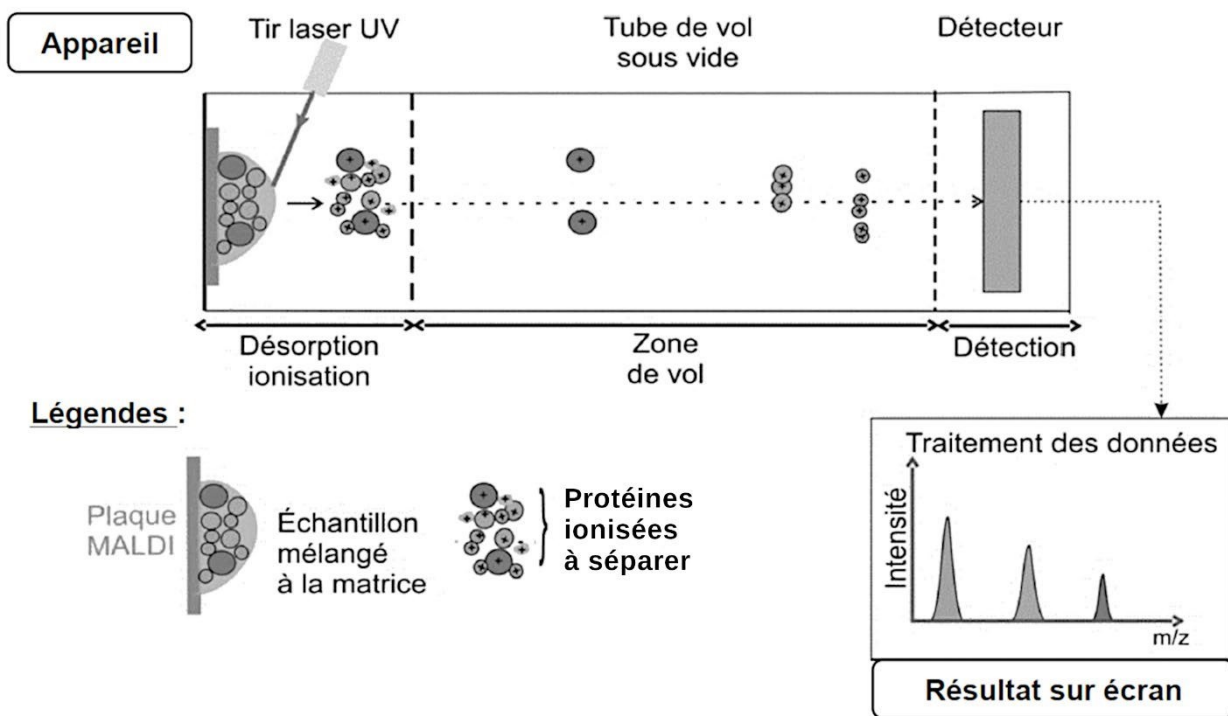
**PG** = peptidoglycane

**AG** = arabinogalactane (enchainements d'oses)

**MM** = mycomembrane hydrophobe (membrane externe contenant des lipides particuliers, les acides mycoliques)

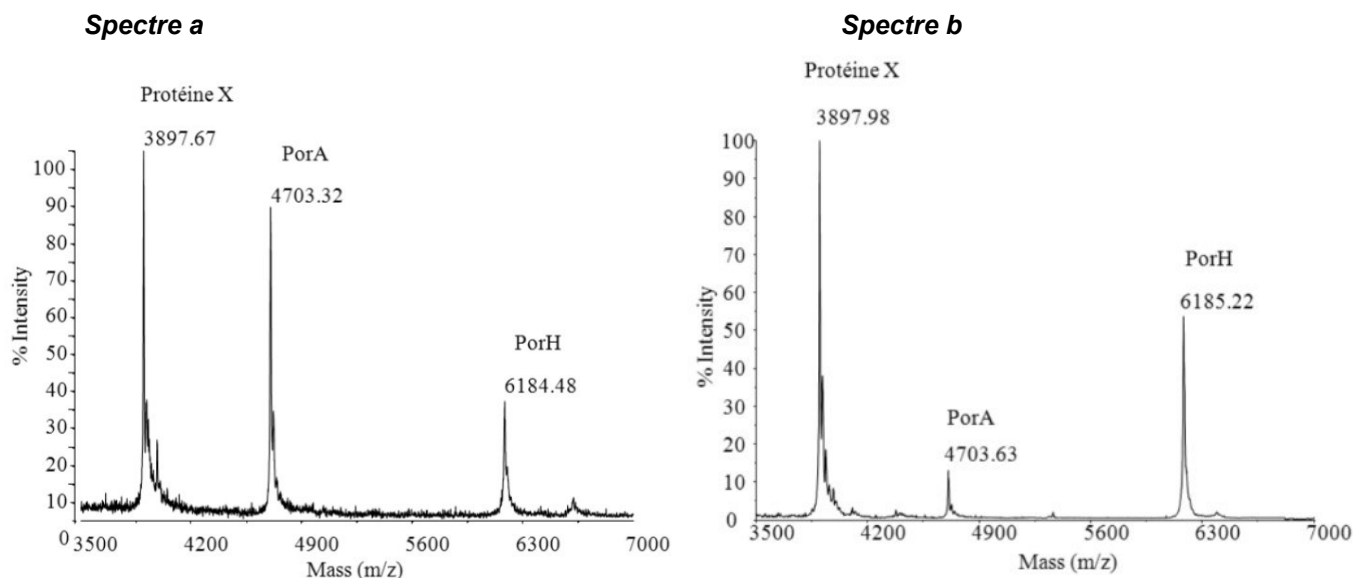
**CE** = couche externe (enchainements d'oses et de protéines)

**P** = porines

**Document 2 : principe de la spectrométrie de masse par MALDI-TOF**

$m/z$  = rapport masse sur charge

The target slide is prepared and introduced to a high-vacuum environment. A precise laser burst ionizes the sample. A "cloud" of proteins is released and accelerated by an electric charge. After passing through the ring electrode, the proteins' Time of Flight is recorded using a formula from the time recorded. Proteins are detected with a sensor to create a spectrum that represents the protein makeup of each sample.

**Document 3 : spectres de masse de la souche sauvage (*spectre a*) et du mutant PorA (*spectre b*) obtenus à partir des extraits protéiques de la mycomembrane**

**Légendes :** Por A = signal de la porine A

Por H = signal de la porine H

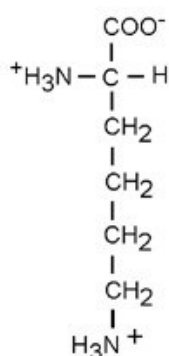


**Document 4 : caractéristiques de deux souches mutantes de *C. glutamicum***

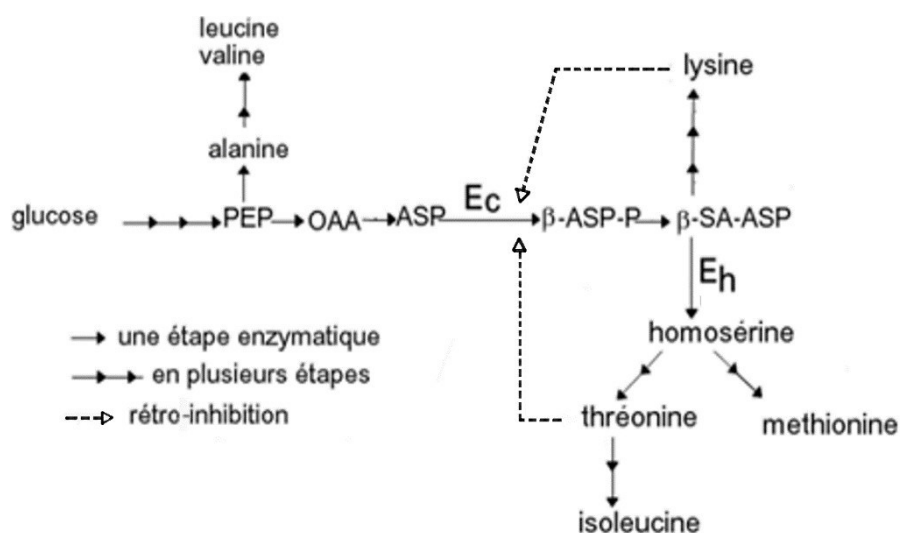
| Mutant    | Mutation génétique                                           | Conséquence fonctionnelle                                 |
|-----------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Souche Eh | Déficiencia du gène de l'enzyme homosérine déshydrogénase Eh | Besoin absolu en homosérine pour la croissance            |
| Souche Ec | Modification du gène de l'enzyme aspartokinase Ec            | Absence de rétro-inhibition par la lysine et la thréonine |

**Document 5 : schéma simplifié de la voie de biosynthèse de la lysine chez *Corynebacterium glutamicum* de type sauvage**

Formule semi-développée de la lysine :



Voie de biosynthèse de la lysine :

**Légendes :**

PEP = phosphoénolpyruvate, OAA = oxaloacétate, ASP = aspartate, ASP-P = aspartyl-phosphate, SA-ASP = semialdéhyde-aspartate

**Ec** = aspartokinase, **Eh** = homosérine déshydrogénase

**Document 6 : composition du milieu d'étude de Kiss et Stephanopoulos (K-S)**

| Constituants                                    | Quantité |
|-------------------------------------------------|----------|
| Glucose                                         | 20 g     |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 15 g     |
| NaCl                                            | 1 g      |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                 | 1 g      |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                 | 8 g      |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O             | 200 mg   |
| Solution ionique (*)                            | 10 mL    |
| L-homosérine                                    | 200 mg   |
| Biotine                                         | 1 mg     |
| Thiamine                                        | 1 mg     |
| H <sub>2</sub> O désionisée                     | Qsp 1 L  |
| pH 7,2                                          |          |

(\*) La solution ionique contient, pour un litre :

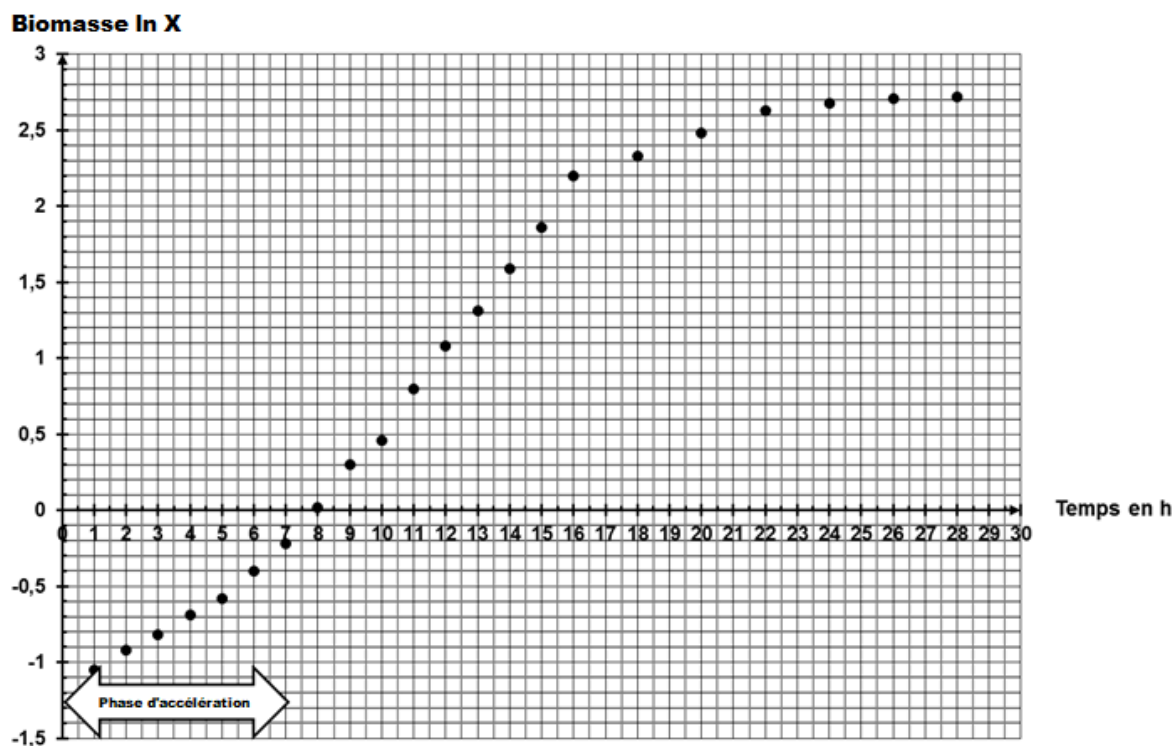
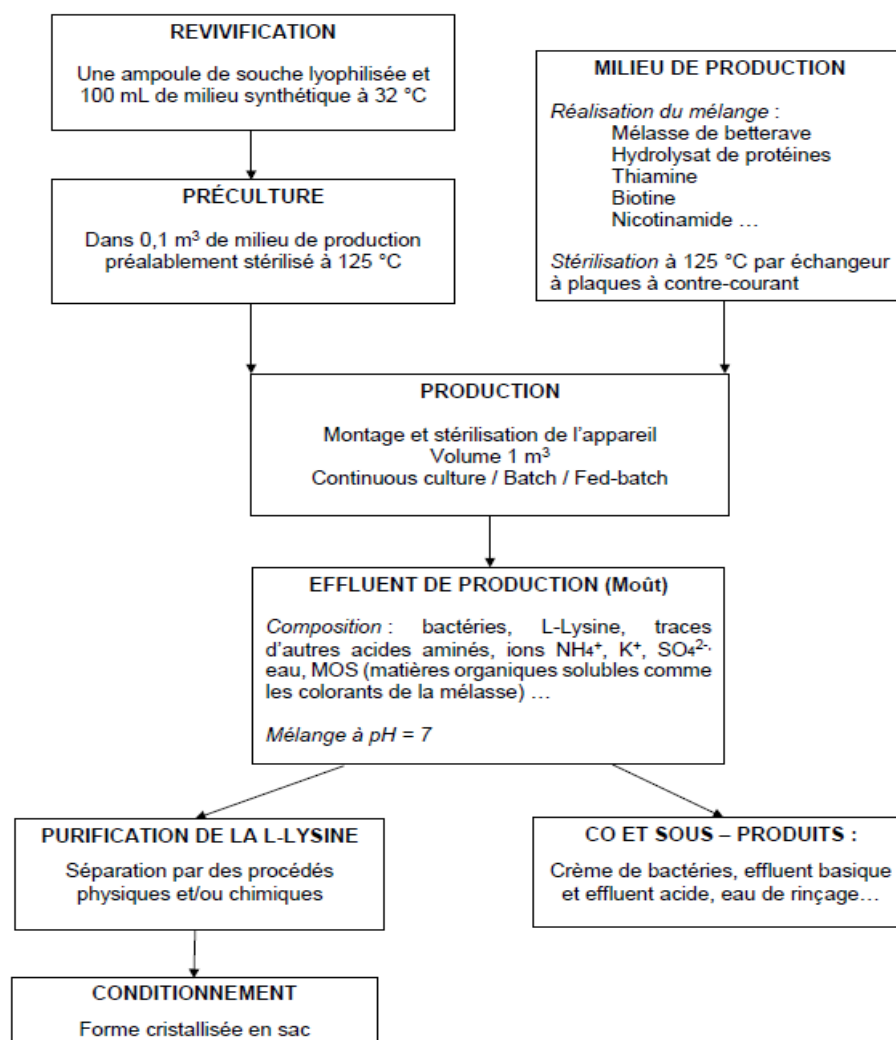
- 200 mg MnSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O
- 200 mg FeCl<sub>3</sub>, 6 H<sub>2</sub>O
- 50 mg ZnSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O
- 20 mg Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, 10 H<sub>2</sub>O
- 20 mg CuCl<sub>2</sub>, 2 H<sub>2</sub>O
- 10 mg (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 4 H<sub>2</sub>O
- 50 mg CaCl<sub>2</sub>, 2 H<sub>2</sub>O
- 25 mg FeSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O

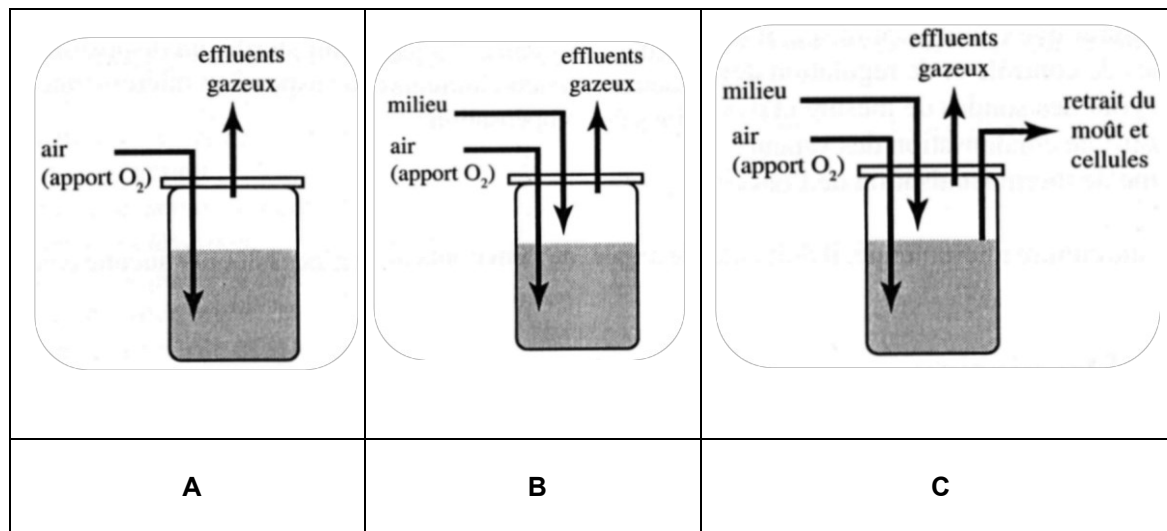
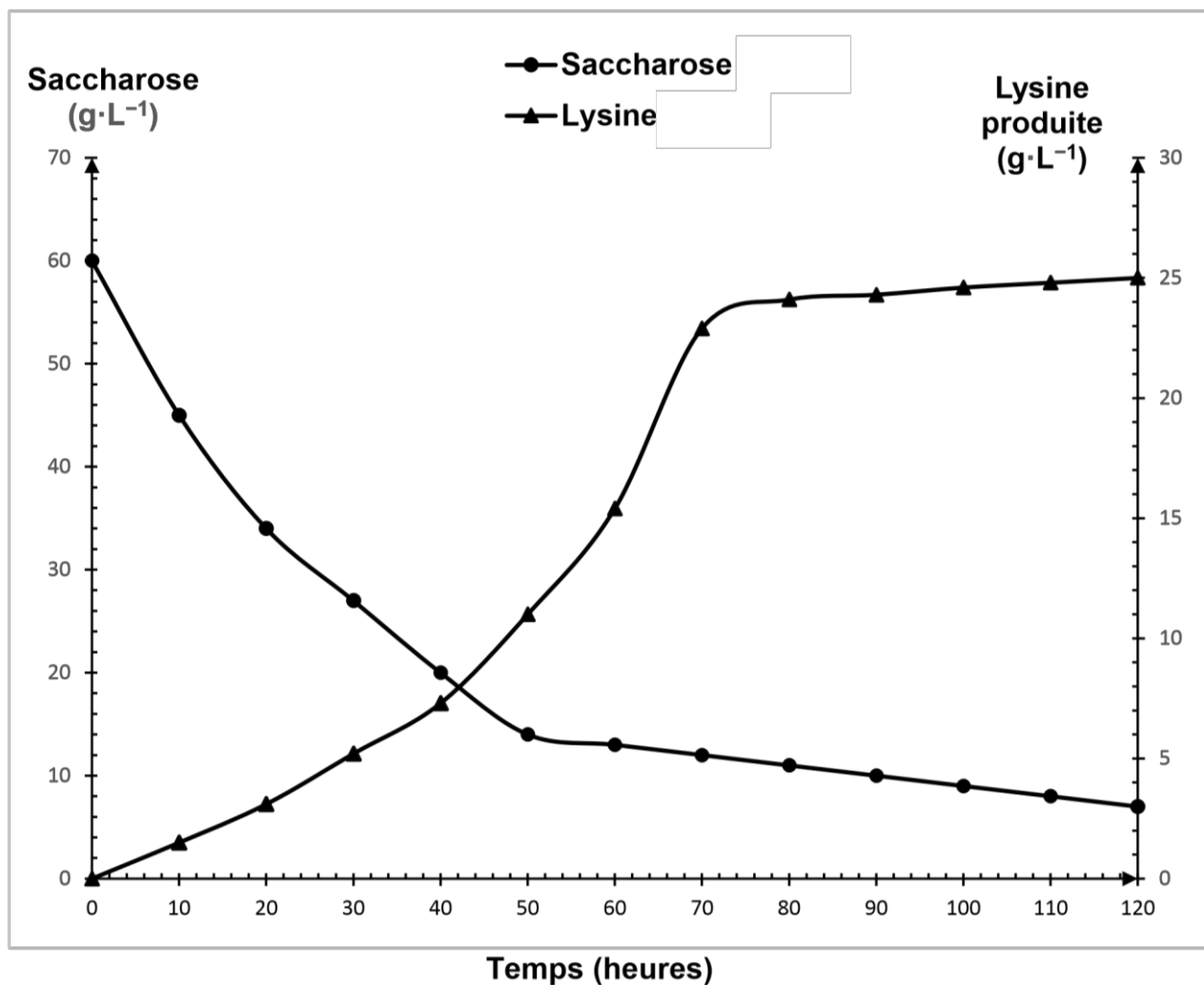
**Document 7 : croissance en bioréacteur batch de 2 L, 50 rpm, 1 vvm d'air, T = 30 °C**

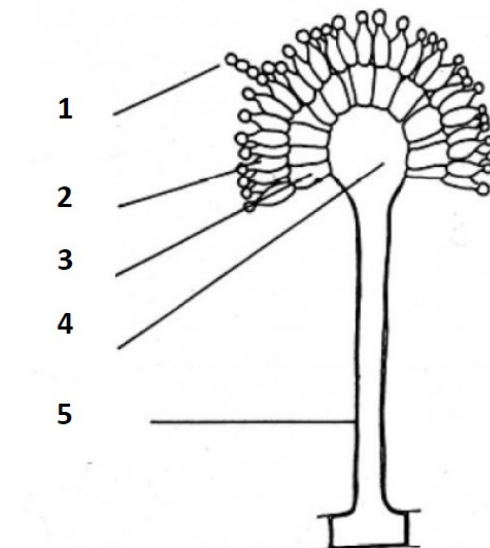
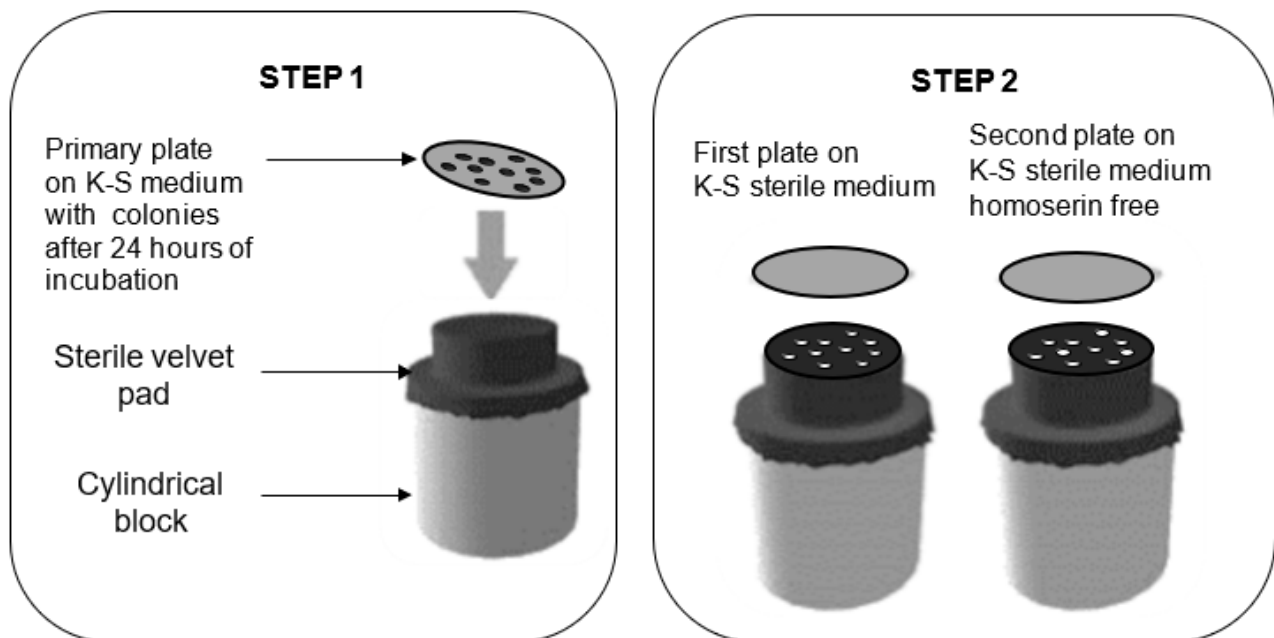
Légendes : rpm : rotations par minute  
vvm : volume par volume par minute

| Temps (h) | Biomasse X (g·L <sup>-1</sup> ) | ln X   | Temps (h) | Biomasse X (g·L <sup>-1</sup> ) | ln X |
|-----------|---------------------------------|--------|-----------|---------------------------------|------|
| 1         | 0,350                           | -1,05  | 12        | 2,94                            | 1,08 |
| 2         | 0,400                           | -0,920 | 13        | 3,70                            | 1,31 |
| 3         | 0,440                           | -0,820 | 14        | 4,90                            | 1,59 |
| 4         | 0,500                           | -0,690 | 15        | 6,42                            | 1,86 |
| 5         | 0,560                           | -0,580 | 16        | 9,02                            | 2,20 |
| 6         | 0,670                           | -0,400 | 18        | 10,3                            | 2,33 |
| 7         | 0,800                           | -0,220 | 20        | 11,9                            | 2,48 |
| 8         | 1,00                            | 0,0200 | 22        | 13,9                            | 2,63 |
| 9         | 1,35                            | 0,300  | 24        | 14,6                            | 2,68 |
| 10        | 1,60                            | 0,460  | 26        | 15,0                            | 2,71 |
| 11        | 2,23                            | 0,800  | 28        | 15,2                            | 2,72 |

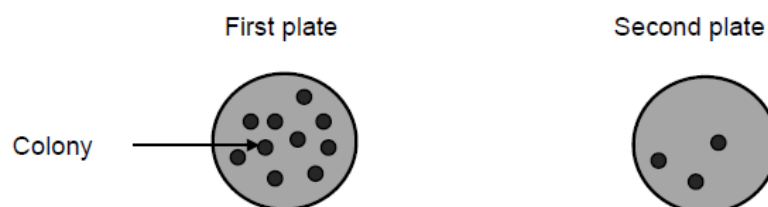
## Suite du document n° 7

**Document 8 : schéma simplifié du diagramme de production**

**Document 9 : schémas des trois procédés technologiques de fermentation****Document 10 : évolution des concentrations de substrat et de produit au cours d'une fermentation en batch**

**Document 11 : aspect schématique du contaminant mycélien****Document 12 : Replica Plating Technique*****Protocol***

- take an imprint of the initially isolated colonies (Primary plate) using the velvet pad
- transfer this imprint onto different media.

***Results***

# Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse 2020

## NOUVELLES STRATÉGIES VACCINALES : INDUCTION D'UNE IMMUNITÉ DES MUQUEUSES

Le virus respiratoire syncytial bovin (BRSV), dont la structure est présentée dans le **document 1**, est responsable de pertes économiques importantes pour la filière bovine. Ce virus est associé à plus de 60 % des maladies respiratoires dans les troupeaux avec des taux de mortalité allant de 2 à 3 % mais atteignant 20 % dans certains cas (*Mapletoft et Al, Clinical And Vaccine Immunology, Jan. 2010, p. 23–35*).

Des études d'immunisations intranasales se révèlent très prometteuses en induisant une immunité protectrice contre ce virus. L'amélioration de l'efficacité des vaccins commerciaux actuels contre le BRSV est un enjeu prioritaire tant au niveau de la santé animale qu'au niveau de la santé humaine.

### 1. Obtention d'une suspension virale titrée

Le **document 1** présente les caractéristiques et la structure du BRSV.

- Q1.** Dégager les caractéristiques structurales principales du BRSV.
- Q2.** Proposer un mécanisme possible de pénétration dans la cellule.
- Q3.** Proposer une hypothèse expliquant la fragilité du virus.

Afin de préparer un vaccin, une multiplication du virus est nécessaire. Un titrage de la suspension virale par mesure d'effet cytopathogène est entrepris, selon les instructions du **document 2**. Les résultats sont présentés dans le **document 3**.

- Q4.** Citer deux exemples d'effets cytopathogènes (ECP) pouvant être observés lors de ce type d'analyse.
- Q5.** Analyser les résultats présentés.  
Déterminer la dilution provoquant 50 % d'effet cytopathogène et calculer le titre de la suspension virale.

### 2. Étude de l'efficacité de préparations vaccinales dans un modèle murin

Les préparations vaccinales combinent la souche virale inactivée, du polyphosphazène (PP) et des oligodésoxynucléotides (CpG) permettant d'augmenter la réponse immunitaire. L'efficacité de ces préparations est évaluée par :

- la proportion de cellules sécrétant l'interféron gamma (IFN- $\gamma$ ), marqueur d'une réponse cytotoxique contre des agents pathogènes intracellulaires, produit par des cellules sécrétrices spécifiques ;
- le dosage des IgA anti BRSV (anticorps présents dans les muqueuses).

L'obtention de ces deux résultats permet donc d'évaluer l'existence d'une réponse immunitaire antivirale efficace au niveau des muqueuses.

La technique ELISpot, décrite dans le **document 4**, est utilisée pour dénombrer les cellules productrices d'IFN- $\gamma$  en réponse à une stimulation par le virus BRSV.

- Q6.** Préciser le rôle de l'étape A2.
- Q7.** Présenter la composition qualitative d'un témoin permettant de dénombrer les éventuelles cellules sécrétant l'IFN- $\gamma$  sans intervention du BRSV.
- Q8.** Réaliser un schéma de l'édifice moléculaire révélé lors de l'étape C6 dans un cas positif.

Le **document 5** présente les résultats obtenus avec des lots de souris immunisées par le virus inactivé (FI-BRSV) additionné d'un ou deux adjuvants parmi le PP et les CPG.

- Q9.** Dégager le rôle du lot de souris « saline ».

**Q10.** Analyser les résultats et conclure sur l'adjuvant ou le mélange d'adjuvants le plus approprié pour induire une réponse immunitaire antivirale au niveau des muqueuses.

Après ces études *in vitro*, on souhaite évaluer *in vivo* la qualité de la protection antivirale due à la préparation vaccinale la plus efficace. Pour ce faire, on compare la quantité de génomes viraux (charge virale) dans des fragments pulmonaires de deux lots de souris contaminées par une souche de virus vivant. Un des deux lots de souris a été préalablement vacciné, l'autre pas.

Cette quantification des génomes est réalisée par RT-PCR quantitative selon les indications du **document 6**.

**Q11.** Nommer l'enzyme responsable de la synthèse de l'ADN complémentaire (l'ADNc) et citer ses caractéristiques essentielles.

**Q12.** Schématiser les événements moléculaires se produisant lors de chaque étape d'un cycle du thermocycleur.

Déduire, en appui sur les propriétés du SYBR Green I, l'étape du cycle où le thermocycleur doit réaliser la mesure de la fluorescence du milieu réactionnel.

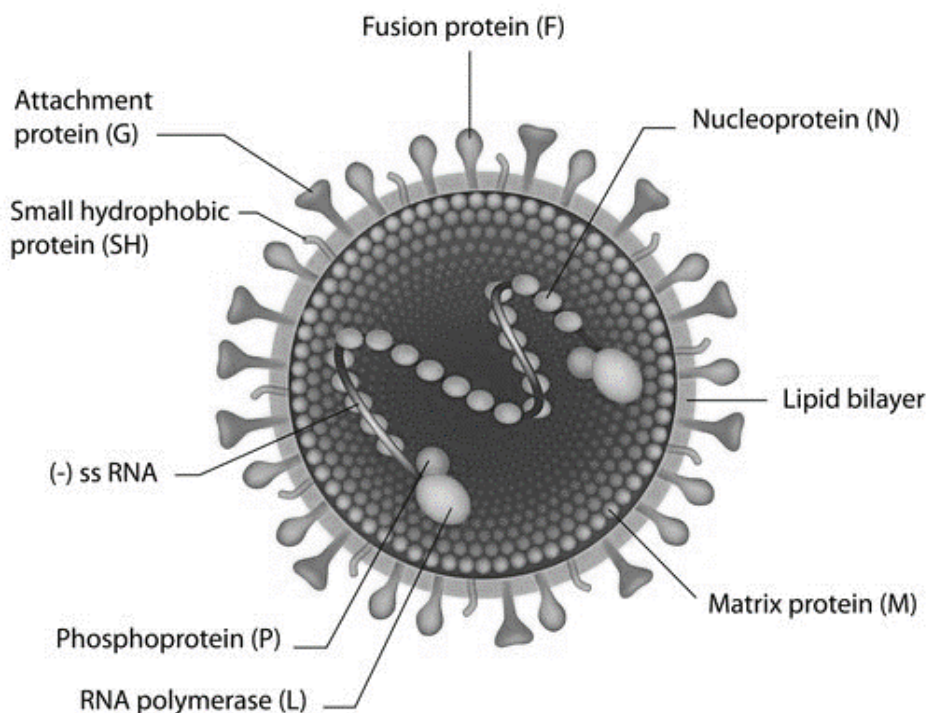
**Q13.** Expliquer pourquoi le Ct est d'autant plus grand que le nombre d'exemplaires initial de la séquence cible est petit.

**Q14.** Analyser les résultats de quantification des génomes et conclure sur la qualité de la protection antivirale *in vivo*.

### **Document 1 : caractéristiques du virus BRSV**

« Le BRSV est un virus très peu résistant dans le milieu extérieur. Il est sensible au pH acide ( $\text{pH} < 4$ ), à l'éther, au chloroforme, à divers détergents tels que le désoxycholate de sodium ainsi qu'à de nombreux solvants apolaires. (...) Cette fragilité du BRSV explique le rôle prépondérant du contact direct dans la transmission, mais aussi la difficulté de l'isoler à partir des prélèvements réalisés pour le diagnostic. ».

*D'après : Aussavy, Thèse ENVT, 2012, Phylogénie du virus respiratoire syncytial bovin : étude comparative du génome de trois pathotypes.*



**Schéma de la structure du BRSV**

*Source : Lung disease news, Patricia Inacio, novembre 2014.*

**Document 2 : détermination du titre d'une suspension virale***Adapté de la norme NF EN 14675***Principe**

Des dilutions de la suspension virale à tester sont mises au contact de cellules en culture.

Après incubation, les effets cytopathogènes (ECP) sont observés.

Le titre de la suspension virale est déterminé à partir de la dilution donnant la dose infectante pour 50 % des cultures cellulaires.

$$\text{Titre} = \frac{10^{-\log_{10}(d_{50})}}{V_{\text{suspension virale par puits}}} \text{ exprimé en unité virale/mL}$$

Donnée :  $\log_{10}(10^a) = a$

**Dilution de la suspension virale**

Des dilutions en série de raison 10 (de  $10^{-2}$  à  $10^{-10}$ ) sont effectuées en milieu de culture à partir de la suspension virale initiale.

**Titrage de virus sur des couches monocellulaires sur plaques de microtitration**

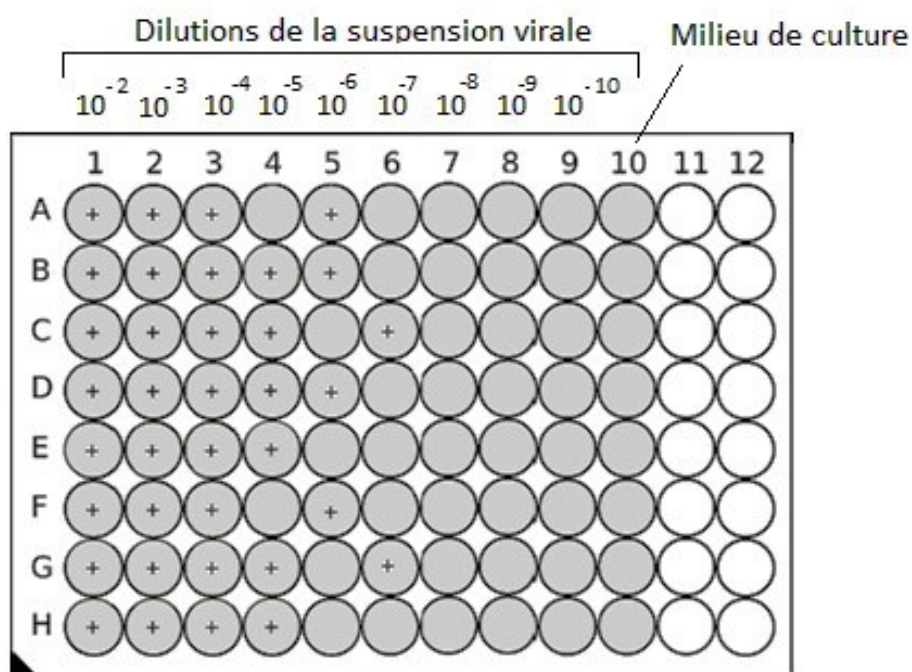
0,1 mL de chaque dilution virale est transféré dans des puits de plaques de microtitration contenant des cellules en culture confluentes (milieu de culture éliminé).

Chaque dilution est testée huit fois par colonne (de A à H). Par exemple, pour la dilution  $10^{-2}$ , 8 tests sont répétés de A1 à H1.

Les huit puits de la colonne 10 recevront 0,1 mL de milieu de culture et serviront de témoin cellulaire.

Après 1 h d'incubation à 37 °C, 0,1 mL de MEM + 2 % de SVF sont ajoutés dans chaque puits.

La multiplication du virus induira un ECP qui peut être lu à l'aide d'un microscope inversé au bout d'un temps d'incubation approprié.

**Document 3 : résultats d'un titrage d'une suspension virale**

Remarque : colonnes 11 et 12 non utilisées

Légendes :

-  Puits avec un tapis cellulaire intact
-  Puits présentant au moins un ECP
-  Puits non utilisés



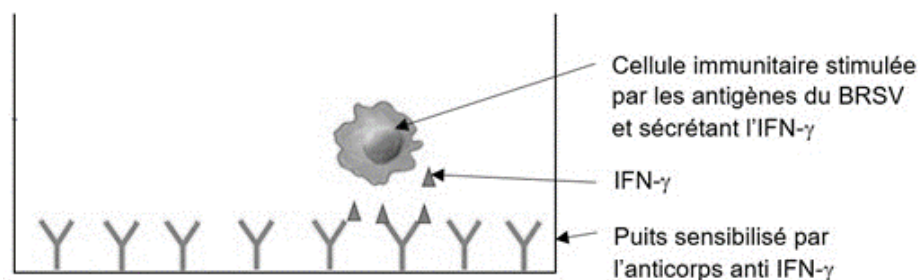
**Document 4 : procédure de numération des cellules sécrétrices d'IFN- $\gamma$  spécifiques du BRSV (tiré du kit « Mouse IFN- $\gamma$  ELISpot<sup>PLUS</sup> (HRP) » MABTECH)**

**A- Préparation des microplaques 96 puits d'ELISpot.**

- 1- Sortir la plaque sensibilisée avec l'anticorps monoclonal AN18 anti-IFN- $\gamma$ , de son emballage stérile et laver 4 fois avec du PBS (200  $\mu$ L/puits).
- 2- Incuber la plaque avec une solution stérile de sérumalbumine à 10 g·L<sup>-1</sup> (200  $\mu$ L/puits). Laisser incuber au moins 30 min à température ambiante.

**B- Incubation des cellules dans la plaque.**

- 1- Vider les puits de la plaque.
- 2- Ajouter la suspension de cellules à tester (106 cellules / puits) et une solution de stimulation antigénique (lysate de cellules infectées par le BRSV).
- 3- Placer les plaques dans une étuve humide à 37 °C et 5 % de CO<sub>2</sub> et laisser incuber pendant 12 à 48 h.



**Schéma illustrant l'étape B3 de la technique ELISpot**

**C- Détection des spots.**

- 1- Éliminer les cellules en vidant la plaque et la rinçant 5 fois avec du PBS (200  $\mu$ L/puits).
  - 2- Ajouter l'anticorps de détection (anticorps monoclonaux anti IFN- $\gamma$  R4-6A biotinylés) à raison de 100  $\mu$ L/puits et incuber 2 heures à température ambiante.
  - 3- Laver la plaque comme en C1.
  - 4- Ajouter le conjugué streptavidine-HRP à raison de 100  $\mu$ L/puits. Incuber pendant 1 heure à température ambiante.
  - 5- Laver la plaque comme en C1.
  - 6- Ajouter 100  $\mu$ L/puits de solution de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) prêt à l'emploi et laisser développer la coloration jusqu'à l'apparition de spots (généralement entre 5 et 30 minutes).
- Remarque :* le TMB est transformé sous l'action de la peroxydase en un produit bleu-noir insoluble en milieu aqueux.
- 7- Arrêter le développement de la coloration par un lavage à l'eau désionisée et laisser sécher la plaque à l'air.
  - 8- Compter les taches dans chaque puits à l'aide d'un lecteur ou par observation en microscopie inversée.

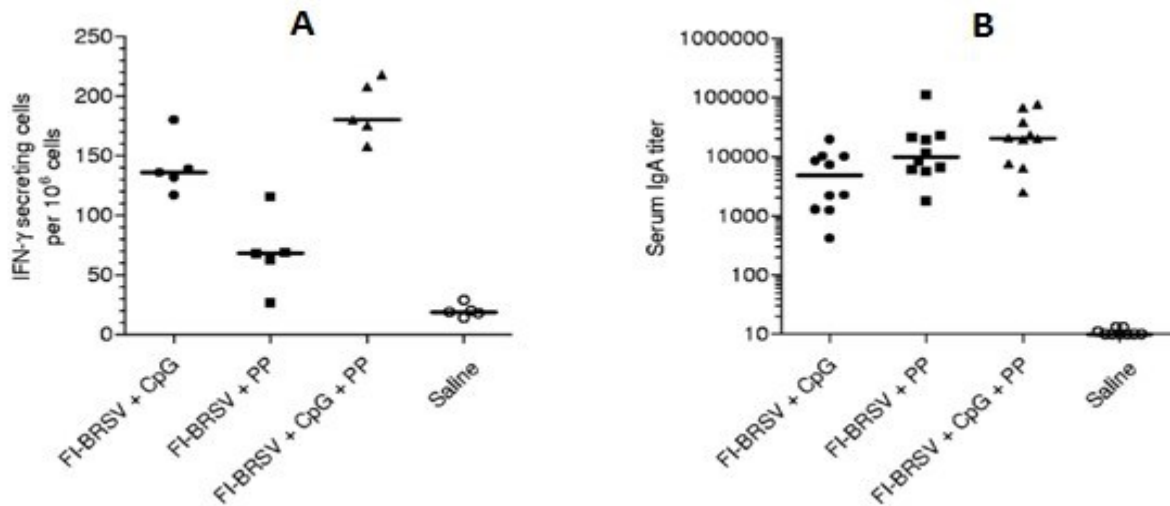
*Remarques :*

- La **streptavidine** est une protéine possédant une affinité haute pour la biotine.
- **HRP** : horseradish peroxidase.

### **Document 5 : comparaison des réponses immunitaires anti-BRSV selon la présence des deux adjuvants utilisés dans la préparation vaccinale**

**A** : proportion de cellules sécrétant de l'interféron  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )

**B** : titre en IgA spécifique du BRSV.



Note : les barres horizontales représentent les moyennes des résultats.

Source : Mapletoft et Al, *Clinical And Vaccine Immunology*, Jan. 2010, p. 23–35

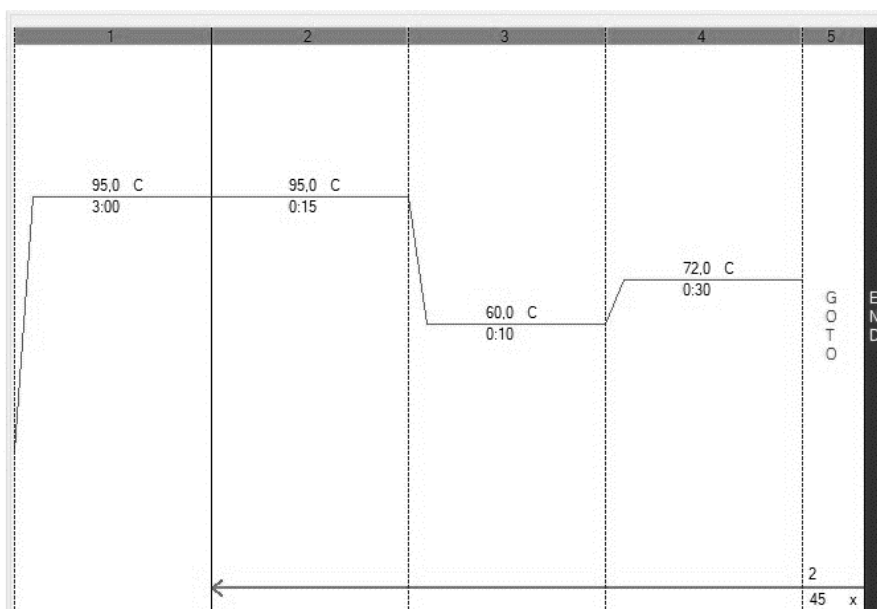
### **Document 6 : quantification des génomes viraux**

**A-** Les étapes :

- 1- Euthanasie des souris et prélèvement des poumons.
- 2- Extraction des ARN des broyats de poumon.
- 3- Synthèse des ADNc.
- 4- Amplification d'une partie du génome viral par PCR quantitative.

**B- PCR quantitative :**

Programme de températures suivi par le thermocycleur :



Suivi en temps réel de l'amplification :

Utilisation du **SYBR Green I** : le SYBR green I est une molécule pouvant se fixer sur tous les types d'acides nucléiques doubles brins. Une fois fixé, il devient un très bon fluorophore. Ainsi, le complexe ADN double brin/SYBR green I absorbe la lumière bleue ( $\lambda_{\text{optimale}} = 497 \text{ nm}$ ) et émet de la lumière verte ( $\lambda_{\text{optimale}} = 520 \text{ nm}$ ).

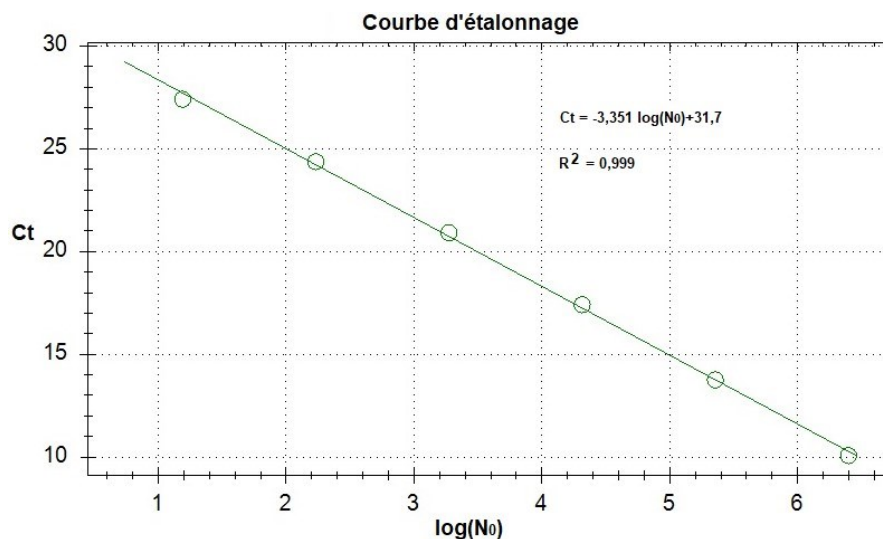
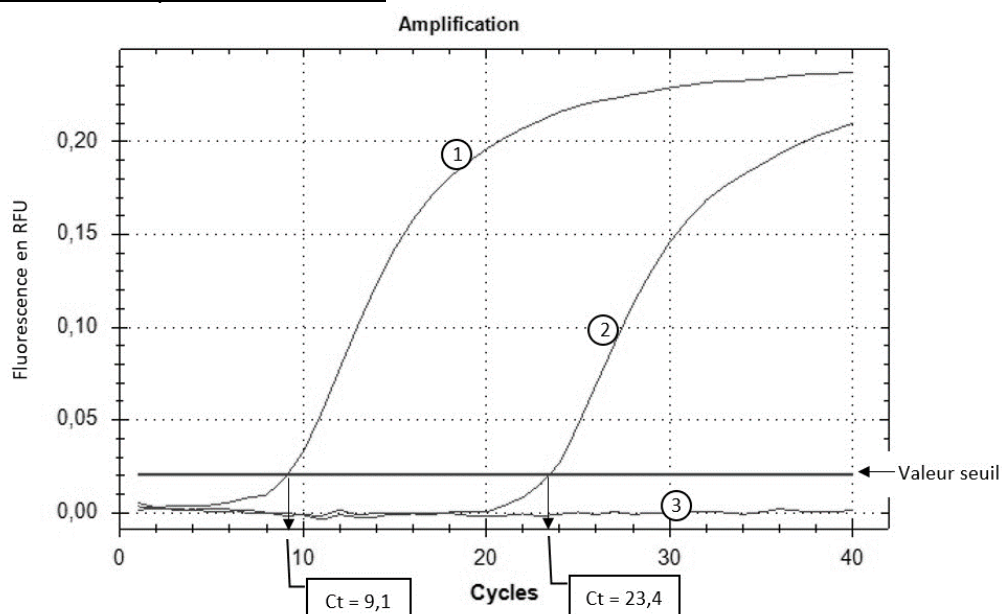
Une mesure de fluorescence est réalisée par le thermocycleur dans le milieu réactionnel à chaque cycle permettant de tracer la courbe d'amplification de l'ADN cible en temps réel.

Courbe d'étalonnage :

Elle est établie grâce à l'amplification d'une série d'étalons d'un gène dont les quantités initiales (**No**) sont croissantes et connues.

L'amplification est réalisée dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser et permet de tracer la courbe d'étalonnage. On établit ainsi la relation entre le **Ct** et le nombre d'exemplaires de la séquence cible présente dans le milieu réactionnel avant amplification (**No**).

Le Ct correspond au nombre de cycles pour lequel la fluorescence émise atteint une valeur seuil supérieure au bruit de fond de l'appareil.

Courbes d'amplification obtenues :

Courbes 1 et 2 : obtenues à partir d'extraits pulmonaires de souris infectées par le virus vivant

- Courbe 1 : souris non vaccinée au préalable.
- Courbe 2 : souris vaccinée avec FI-BRSV + PP+ CpG.

Courbe 3 : obtenue en remplaçant les extraits pulmonaires par de l'eau distillée.

# Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2020

## Valorisation d'un co-produit de l'industrie fromagère : le lactosérum

Le lactosérum représente plus de 85 % du lait au cours de sa transformation en fromage. Dans les pays industrialisés, il est produit en grande quantité et devient une source importante de pollution. Les fromageries ont l'obligation de limiter son rejet dans les effluents car il crée une surcharge polluante qui ne peut pas être absorbée par les stations d'épuration.

Une fromagerie de Savoie fabrique du Beaufort et souhaite obtenir la certification ISO 14001 (Systèmes de management environnemental - Exigences et lignes directrices pour son utilisation). Dans ce but, elle recherche des solutions pour valoriser le lactosérum qu'elle produit.

### 1. Production du lactosérum dans l'industrie fromagère

Deux types de lactosérums, doux et acide, peuvent être produits selon la technologie utilisée. Un lactosérum correspond à la fraction soluble du lait qui se sépare au moment de la formation du caillé.

Le **document 1** présente la composition moyenne du lait de vache et de deux types de lactosérums dérivés.

**Q1.** Repérer le composant du lactosérum le plus concerné quantitativement par le caillage ; en déduire la famille de biomolécules majoritaire du caillé.

Le **document 2** présente deux outils technologiques nécessaires pour la formation de caillés.

**Q2.** Préciser la nature du ou des éléments responsables du caillage dans chacun des outils technologiques présentés.

Expliquer la différence de pH et de concentration en lactose entre les deux lactosérums.

Le Beaufort est un fromage « pressé à pâte cuite ».

**Q3.** Expliquer pourquoi ce type de fabrication produit une quantité importante de lactosérum.

### 2. Impact environnemental du lactosérum

L'impact polluant du lactosérum en sortie de fromagerie peut être mesuré par deux paramètres : la Demande Chimique en Oxygène ou DCO et la Demande Biologique en Oxygène sur 5 jours ou DBO5.

Les définitions de ces paramètres figurent dans le **document 3**.

**Q4.** Indiquer l'intérêt de la détermination de la DBO5.

Expliquer la signification d'un rapport DCO/DBO5 proche de 1.

Le **document 4** compare la DCO et le rapport DCO/DBO5 pour le lactosérum et les eaux usées domestiques.

**Q5.** Analyser l'ensemble des données du tableau puis comparer l'impact de ces deux types d'effluents sur l'environnement.

Pour déterminer la DCO du lactosérum, la fromagerie a confié les analyses à un laboratoire extérieur. Celui-ci a décidé de remplacer la méthode de référence volumétrique par une méthode colorimétrique à l'aide d'un kit rapide.

Deux spécifications de la méthode colorimétrique pour déterminer la DCO sont :

| Gamme de lecture              | Sensibilité           |
|-------------------------------|-----------------------|
| 0 à 15 000 mg·L <sup>-1</sup> | 10 mg·L <sup>-1</sup> |

**Q6.** Préciser la signification de ces deux spécifications. Justifier la nécessité d'une dilution préalable de l'échantillon de lactosérum à réaliser pour l'analyse de la DCO par méthode colorimétrique.

La validation d'une méthode repose sur la comparaison avec la méthode de référence officielle sur une série de mesures, réalisée sur des eaux usées modérément polluées pendant 40 jours. On considère que la méthode de référence est à la fois suffisamment juste et fidèle.

L'entreprise fait appel à un laboratoire externe pour valider la possibilité d'utiliser une méthode colorimétrique rapide, alternative à la méthode colorimétrique classique qui a déjà été validée par comparaison à la méthode de référence officielle volumétrique. Les résultats de l'étude de corrélation ayant permis de valider la méthode colorimétrique classique par comparaison à la méthode de référence volumétrique sont présentés dans le **document 5a**.

Les résultats de l'étude de corrélation de la méthode colorimétrique rapide avec la méthode volumétrique sont présentés dans le **document 5b**.

**Q7.** Identifier le paramètre permettant d'évaluer la fidélité de la méthode que l'on souhaite valider.

Identifier le paramètre permettant d'évaluer la justesse de la méthode que l'on souhaite valider.

Comparer Les valeurs de ces deux paramètres pour la méthode colorimétrique officielle, déjà validée, et pour la méthode colorimétrique rapide.

Argumenter la validation de la méthode colorimétrique rapide.

### 3. Fabrication du lactose à partir du lactosérum

La fromagerie, certifiée ISO 9001 et en démarche de certification ISO 14001, a fait le choix de revendre une partie de son lactosérum à une industrie fabriquant du lactose.

**Q8.** Indiquer la raison principale qui peut inciter une fromagerie à engager cette nouvelle démarche de certification.

Le diagramme de purification du lactose à partir du lactosérum est présenté sur le **document 6**.

**Q9.** Justifier la présence des protéines dans le rétentat à l'issue de l'ultrafiltration.

Le procédé de déminéralisation du lactosérum nécessite une étape d'électrodialyse, puis une étape d'échange d'ions par couplage de deux résines. Le procédé est décrit dans le **document 7**.

**Q10.** Préciser le rôle de chaque résine dans la déminéralisation du lactosérum. Sachant que la résine cationique est une résine sulfonée ( $\text{Res-SO}_3^-$ ,  $\text{H}^+$ ), expliquer la baisse de pH après déminéralisation.

La fromagerie envisage également de vendre une autre partie de son lactosérum à une levurerie locale.

### 4. Production de levures sur milieu au lactosérum

La production de « levure-aliment » s'effectue sur des milieux très variés. Un milieu au lactosérum est un excellent milieu de culture fournissant du lactose comme source de carbone. Ce sont des souches de *Kluyveromyces fragilis* et *lactis*, qui, cultivées dans des conditions optimales, ont le meilleur rendement. Ces cultures sont conduites dans de grands fermenteurs dont le volume peut atteindre plusieurs milliers de litres.

Les schémas du fermenteur utilisé et d'une boucle de régulation d'un paramètre du process sont présentés respectivement dans les **documents 8 et 9**.

**Q11.** Ce fermenteur présente une technologie « air lift ». Discuter l'intérêt de cette technologie pour les levures par comparaison à une agitation mécanique rotative.

**Q12.** Lister les différentes régulations identifiables sur le fermenteur. Puis, à partir du schéma général d'une boucle de régulation, réaliser un schéma équivalent appliqué à l'une des régulations mises en œuvre dans le fermenteur.

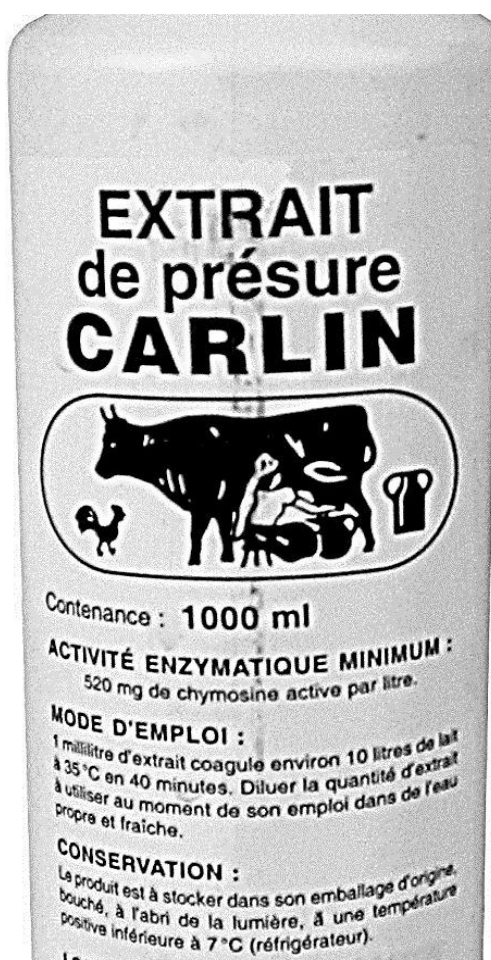
Le **document 10** présente les données permettant le calcul des paramètres de stérilisation. Le lactosérum étant un milieu thermosensible, la température de stérilisation choisie est 111 °C.

**Q13.** Calculer le temps nécessaire lors d'une stérilisation du lactosérum à 121 °C pour réduire la population bactérienne d'un facteur  $10^{12}$ . Déduire la durée de stérilisation permettant d'obtenir la même efficacité stérilisatrice à la température choisie.

**DOCUMENT N°1 : compositions moyennes du lait de vache et des lactosérums doux et acide.**

| Composants                                       | Lait de vache<br>(valeurs moyennes) | Lactosérum acide<br>(valeurs moyennes) | Lactosérum doux<br>(valeurs moyennes) |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| Matière sèche (%)                                | 13                                  | 7                                      | 7                                     |
| Matières azotées totales<br>(g·L <sup>-1</sup> ) | 32                                  | 8                                      | 9                                     |
| Lactose (g·L <sup>-1</sup> )                     | 50                                  | 45                                     | 50                                    |
| Calcium (g·L <sup>-1</sup> )                     | 1,2                                 | 1                                      | 0,5                                   |
| Phosphore (g·L <sup>-1</sup> )                   | 0,9                                 | 1                                      | 0,4                                   |
| pH                                               | 6,7                                 | 4,5                                    | 6,2                                   |

(Institut de l'élevage)

**DOCUMENT N°2 : outils technologiques utilisables pour la fabrication de caillés.****Outil technologique 1**

Suite du document page suivante

**Outil technologique 2**

**Distribué par :**  
**LABORATOIRES HUMEAU**  
Z. A. de Gesvine - 4 rue Képler - B. P. 4125 - 44241 La Chapelle-sur-Erdre Cedex - France  
t : +33 (0)2 40 93 53 53 - f : +33 (0)2 40 93 41 00 - e : info@humeau.com



**CSL**  
CENTRO SPERIMENTALE DEL LATTE



**DESCRIPTION PRODUIT**

## SAP IDC

**Description**

Ferments lactiques concentrés-lyophilisés pour l'ensemencement direct du lait. Culture mixte de souches mésophiles homofermentaires et des streptocoques et lactobacilles aromatiques.

**Composition**

Lactococcus lactis subsp. lactis  
Lactococcus lactis subsp. cremoris  
Streptococcus thermophilus  
Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus  
Lactobacillus helveticus  
Lactobacillus lactis

**Rotation disponible**

SAP IDC 1  
SAP IDC 2

**Applications principales**

SAP IDC est utilisé pour la fabrication de Pâtes pressées, Pâtes pressées cuites, Pecorino.

**Dosage d'utilisation**

|                       |                          |
|-----------------------|--------------------------|
| Pâtes pressées        | 4 Doses 1000/2000 Litres |
| Pâtes pressées cuites | 4 Doses 1000/2000 Litres |
| Pecorino type         | 4 Doses 1000/2000 Litres |

**Conseils d'utilisation**

Sortir de la chambre froide seulement avant l'utilisation. Ajouter directement au lait de fabrication dès que les pales d'agitation de la cuve sont recouvertes de lait. Eviter la formation de mousse et d'air dans le lait pendant le remplissage de la cuve. Recommandation importante: Si le produit forme une masse compacte, il ne doit pas être utilisé

**Température**

La température d'incubation est de 30°C à 42°C selon la durée et la typologie de fabrication. Pour plus d'informations, contacter le service d'assistance technique CSL.

**Dosages disponibles**

4 Doses

Autres conditionnements à façon sont disponibles.

**Conditionnement**

Les sachets sont fabriqués avec un film de trois couches (polyéthylène-aluminium-polyester). Les informations suivantes sont imprimées sur chaque sachet: Nom du produit et rotation  
Nombre de Doses  
N° de Lot  
Best before

**Quantité**

Carton de transport contenant 50 sachets.

**Stockage**

Le produit doit être conservé à t<=+8°C

**Durée de vie**

18 mois après la date de production.

**Propriétés**

SAP IDC est composé essentiellement d'un mélange de souches mésophiles et de Lactobacilles sélectionnées pour obtenir une activité conforme aux temps d'acidification. La production d'arôme est liée à l'activité protéolytique de L. Helveticus, L. Bulgaricus, L. Lactis. Les deux rotations disponibles sont très résistantes et stables au niveau phages. Elles conservent les mêmes caractéristiques techniques.

**OGM:**

SAP IDC n'est pas composé d'organismes génétiquement modifiés.

**Kasher:**

SAP IDC est approuvé Kasher (circle MK)

**Certification:**

ISO 9001 Certifié

Page 1 / 2

CSL 04-10 rev 5

**DOCUMENT N° 3 : définitions des paramètres DCO et DBO5****DCO : Demande Chimique en Oxygène**

*La DCO est la quantité d'oxydants chimiques forts, exprimée en équivalents dioxygène, nécessaire pour oxyder toutes les matières minérales et organiques (biodégradables et non biodégradables) d'une eau.*

**DBO5 : Demande Biologique en Oxygène en 5 jours**

*La DBO5 est la consommation en dioxygène pour oxyder les matières organiques biodégradables de l'eau par des microorganismes au bout de 5 jours. Cette consommation de dioxygène, si elle est massive peut constituer un facteur de pollution et conduire à l'eutrophisation des eaux.*

**DOCUMENT N° 4 : caractéristiques comparées des rejets lactosérum et eaux usées domestiques**

| Type d'effluent        | pH    | DCO (mg·L <sup>-1</sup> ) | DBO5 (mg·L <sup>-1</sup> ) | DCO/DBO5 |
|------------------------|-------|---------------------------|----------------------------|----------|
| Lactosérum             | 4 à 6 | 50 000 à 70 000           | 30 000 à 50 000            | 1,5      |
| Eaux usées domestiques | 7 à 8 | 800                       | 420                        | 1,9      |

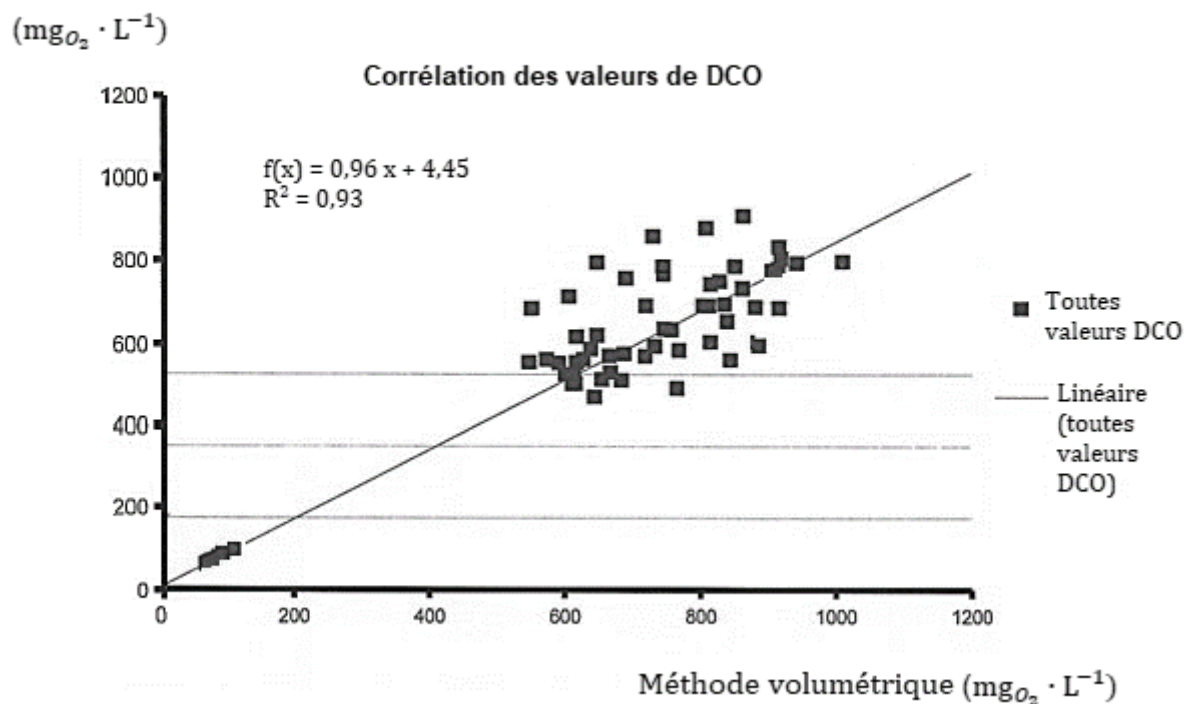
<http://hmf.enseeiht.fr>



# **DOCUMENT N° 5 : corrélation entre les séries de valeurs de DCO obtenues par deux méthodes**

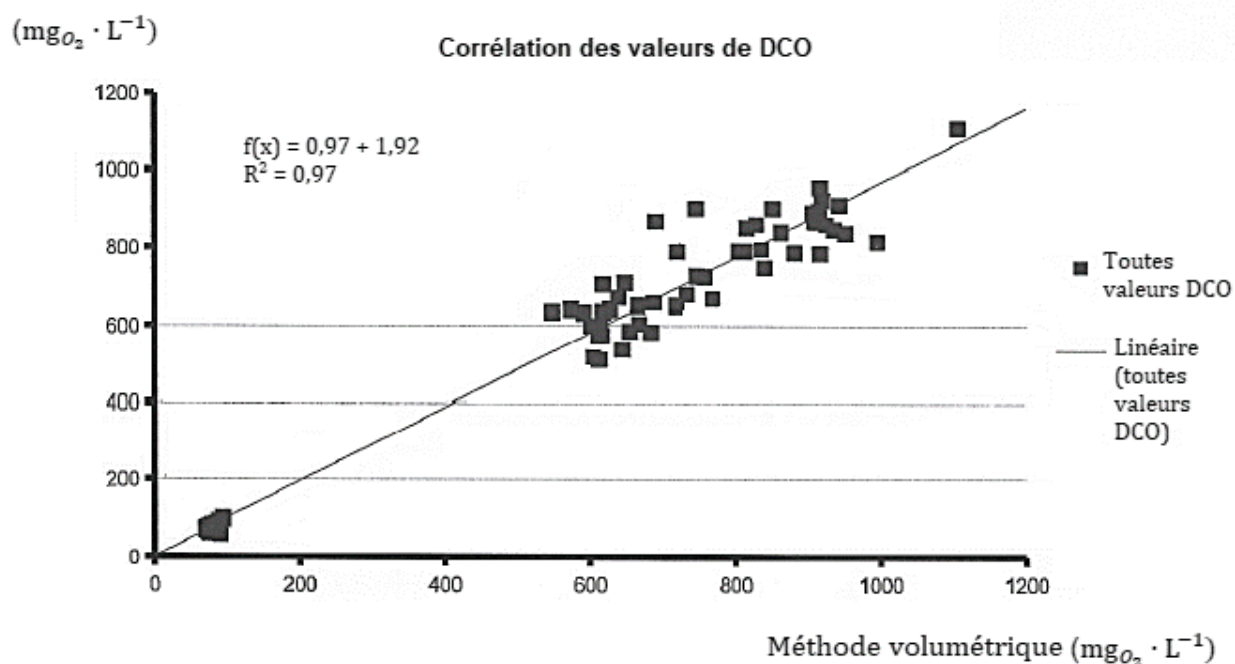
**Figure a : résultats de l'étude réalisée précédemment sur la méthode colorimétrique classique**

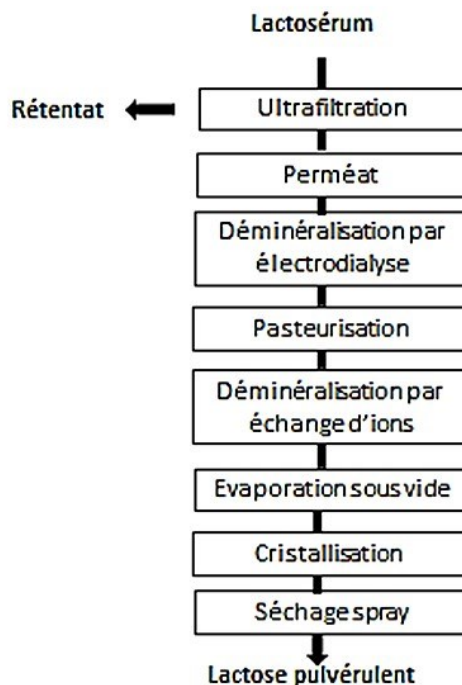
Méthode colorimétrique classique



**Figure b : résultats de l'étude réalisée par le laboratoire extérieur sur la méthode colorimétrique rapide à valider**

Méthode colorimétrique rapide



**DOCUMENT N° 6 : diagramme de fabrication du lactose à partir du lactosérum****DOCUMENT N° 7 : description du procédé de traitement du lactosérum****Extrait portant sur la déminéralisation**

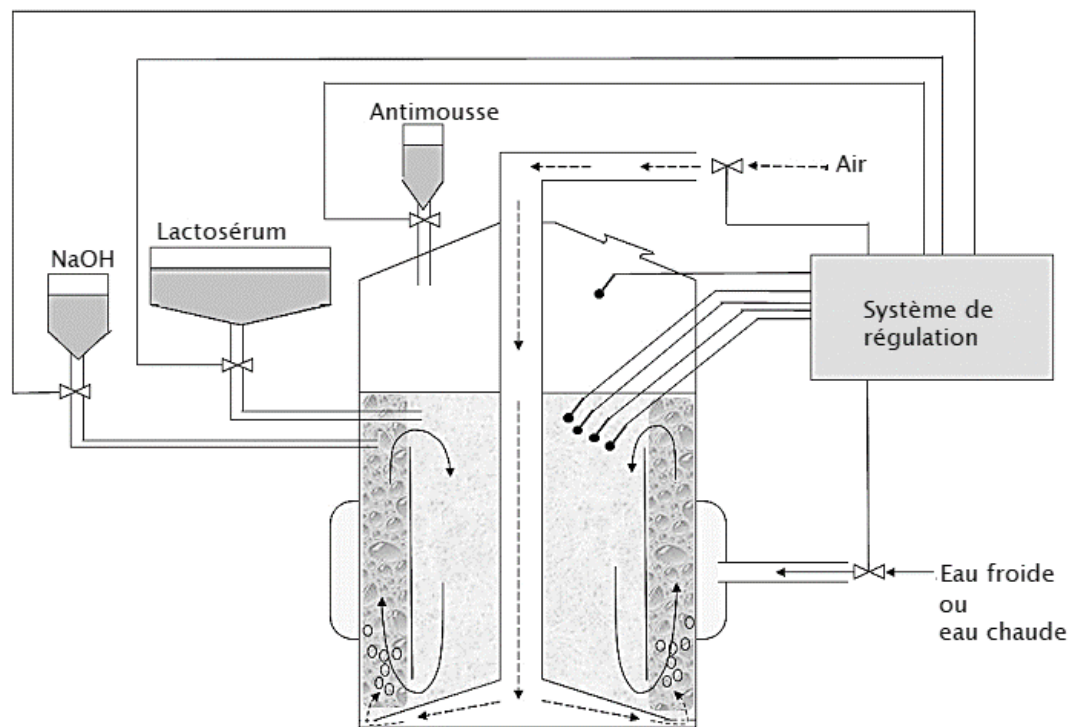
Le lactosérum est traité par électrodialyse, pasteurisé, puis refroidi à 6 °C. On obtient un « lactosérum intermédiaire » qui est ensuite envoyé pendant 2 h sur deux colonnes échangeuses : une résine cationique forte puis une résine anionique faible.

Avant l'étape d'échange d'ions : le « lactosérum intermédiaire » présente  $180 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  d'extrait sec total, son taux de déminéralisation est de 42,8 % par rapport au lactosérum et sa teneur en sels minéraux de  $9,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Parmi les principaux ions présents :  $\text{Na}^+$   $2,8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{Ca}^{2+}$   $0,4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ; phosphates  $\text{PO}_4^{3-}$   $2,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Le pH de ce lactosérum intermédiaire est de 6.

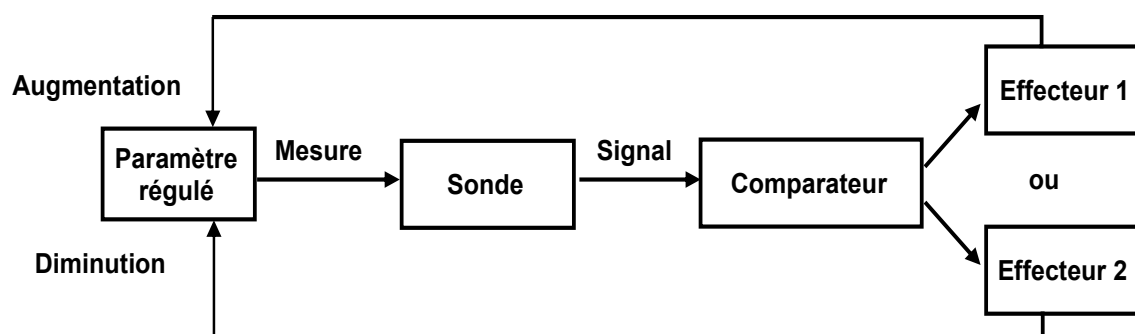
Après l'étape d'échange d'ions : le lactosérum traité obtenu présente  $140,3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  d'extrait sec total, son taux de déminéralisation est de 93,5 % par rapport au lactosérum et sa teneur en sels minéraux de  $0,8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Parmi les principaux ions présents :  $\text{Na}^+$   $0,076 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ;  $\text{Ca}^{2+}$   $0,028 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ; phosphates  $\text{PO}_4^{3-}$   $0,340 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Le pH de ce lactosérum traité est de 4,8.

*Description du procédé (extrait) (brevet google lactosérum déminéralisation)  
<http://www.google.fr/patents/CA1108919A1?cl=fr>*

**DOCUMENT N° 8 : schéma d'un fermenteur type air lift utilisé pour la production de levure aliment sur lactosérum**



**DOCUMENT N° 9 : schéma général d'une boucle de régulation d'un paramètre**



**DOCUMENT N°10 : mise au point de la stérilisation**

On s'appuiera sur les données du micro-organisme de référence : *Clostridium botulinum*

|                                                 |         |
|-------------------------------------------------|---------|
| Température de référence                        | 121 °C  |
| Temps de réduction décimale $D_{121\text{ °C}}$ | 0,2 min |
| Sensibilité thermique Z                         | 10 °C   |

$D_{121\text{ °C}}$  : durée de stérilisation nécessaire pour réduire d'un facteur 10 le nombre spores de *Clostridium botulinum* à 121 °C.

Z : élévation de température nécessaire pour réduire d'un facteur 10 la durée de stérilisation.



# **SESSION 2021 - Sujets**

# Sujet de mathématiques 2021

L'usage de la calculatrice, avec mode examen, est autorisé.

## EXERCICE 1 (10 points)

Une usine agroalimentaire produit de la viande de bœuf hachée. On souhaite évaluer la durée de conservation de la viande de bœuf une fois hachée et conservée dans une chambre froide réglée à 0 °C.

**Les parties A et B peuvent être traitées de manière indépendante.**

### Partie A

Voici le relevé du nombre de germes putréfiants par centimètre carré (cm<sup>2</sup>) tous les cinq jours à la surface d'un échantillon de viande de bœuf hachée conservée dans la chambre froide :

| Nombre de jours de conservation $t_i$                  | 0     | 5     | 10      | 15        | 20         |
|--------------------------------------------------------|-------|-------|---------|-----------|------------|
| Nombre $N_i$ de germes putréfiants par cm <sup>2</sup> | 1 000 | 4 000 | 199 000 | 5 960 000 | 48 600 000 |

- On effectue un changement de logarithmique :  $z_i = \ln(N_i)$ . Compléter le tableau donné en **annexe 1 à rendre avec la copie**. On arrondira les valeurs au dixième.
- À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement du nuage de points  $M_i(t_i ; z_i)$  par la méthode des moindres carrés sous la forme  $z = at + b$ . Les réels  $a$  et  $b$  seront arrondis au centième.
- Sur le graphique **donné en annexe 2 à rendre avec la copie** :
  - Placer les points  $M_i(t_i ; z_i)$ .
  - Tracer la droite D d'équation  $z = 0,6t + 6,4$ .
- On considère que la droite D est une droite d'ajustement du nuage de points  $M_i(t_i ; z_i)$  et que ce modèle reste valable jusqu'au 30<sup>e</sup> jour de conservation dans la chambre froide. Donner une estimation du nombre de germes putréfiants par cm<sup>2</sup> sur l'échantillon de viande hachée si celui-ci était stocké et conservé pendant 25 jours dans la chambre froide. Arrondir au million.

### Partie B

Soit  $f$  la fonction définie sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$  par  $f(t) = 600e^{0,6t}$ .

On admet que la fonction  $f$  modélise le nombre de germes par cm<sup>2</sup> sur la surface de la viande hachée conservée en chambre froide. Plus précisément,  $f(t)$  est le nombre de germes par cm<sup>2</sup> sur la viande hachée après  $t$  jours de conservation dans la chambre froide à 0°C.

- Déterminer la limite de la fonction  $f$  en  $+\infty$  et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
- On note  $f'$  la fonction dérivée de la fonction  $f$ . Calculer  $f'(t)$  pour tout réel  $t$  appartenant à l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ .
- Déterminer le sens de variation de la fonction  $f$  sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$  et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
- On définit le réel  $m$  par  $m = \frac{1}{10-5} \int_5^{10} f(t)dt$ .
  - Sans la calculer, interpréter la valeur du réel  $m$  dans le contexte de l'exercice.
  - Déterminer une primitive de la fonction  $f$  sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ .
  - En déduire que  $m = 200e^6 - 200e^3$ .
- On admet que la viande hachée peut être commercialisée si, lorsqu'elle quitte l'usine, la concentration de germes putréfiants à sa surface est strictement inférieure à 3 000 germes par cm<sup>2</sup>.
  - Résoudre l'inéquation  $f(t) < 3\,000$  sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ .

- b) En déduire si l'usine peut conserver la viande de bœuf hachée produite en chambre froide plus de deux jours avant de la commercialiser.
6. La viande hachée pourra ensuite être vendue à des particuliers tant que le nombre de germes par  $\text{cm}^2$  ne dépasse pas 27 000. On appelle durée limite de consommation le nombre maximal de jours pendant lequel cette viande hachée peut être vendue à des particuliers.
- a) En précisant la démarche employée, donner la valeur numérique affichée par l'algorithme ci-dessous :

```

J ← 0
N ← 600
Tant Que N ≤ 27 000
    J ← J + 1
    N ← 600 * e0,6 * J
Fin Tant Que
Afficher J

```

- b) Interpréter cette valeur dans le contexte de l'exercice.

## EXERCICE 2 (10 points)

Les parties A, B et C peuvent être traitées de manière indépendante.

Pour améliorer l'hygiène de baignade dans un spa, il est possible de traiter l'eau aux ultra-violets (UV).

La lampe UV (Figure 1), placée dans une chambre de désinfection, diffuse des rayons ultra-violets en continu. En passant devant cette lampe, dans le système de filtration, l'eau est désinfectée et débarrassée des micro-organismes.

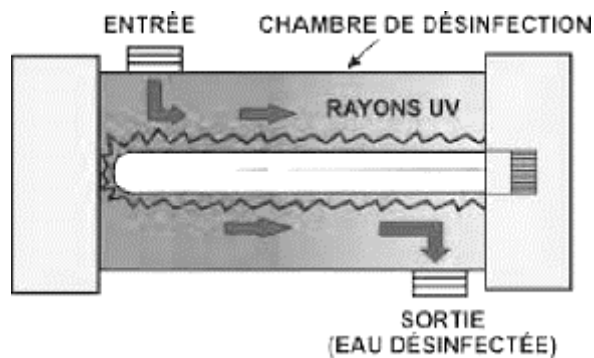


Figure 1 : schéma d'une chambre de désinfection équipée d'une lampe UV

### Partie A

Les résultats seront donnés à  $10^{-3}$  près.

Une étude effectuée sur l'ensemble des spas installés par un fabricant indique que :

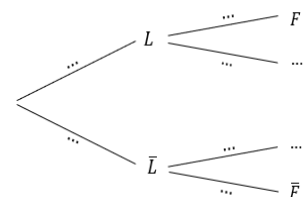
- 40 % des spas sont équipés de lampe UV et, parmi eux, 2 % présentent un problème de filtration ;
- Parmi les spas non-équipés de lampe UV, 15 % présentent un problème de filtration.

On choisit un spa au hasard parmi ceux installés par le fabricant.

On note :

- L l'événement « le spa est équipé d'une lampe UV » ;
- F l'événement « le spa présente un problème de filtration » ;
- $\bar{L}$  et  $\bar{F}$  les événements contraires respectifs des événements L et F.

1. Recopier sur la copie l'arbre pondéré ci-contre et compléter les pointillés.
2. Montrer que la probabilité de l'événement F est égale à 0,098.



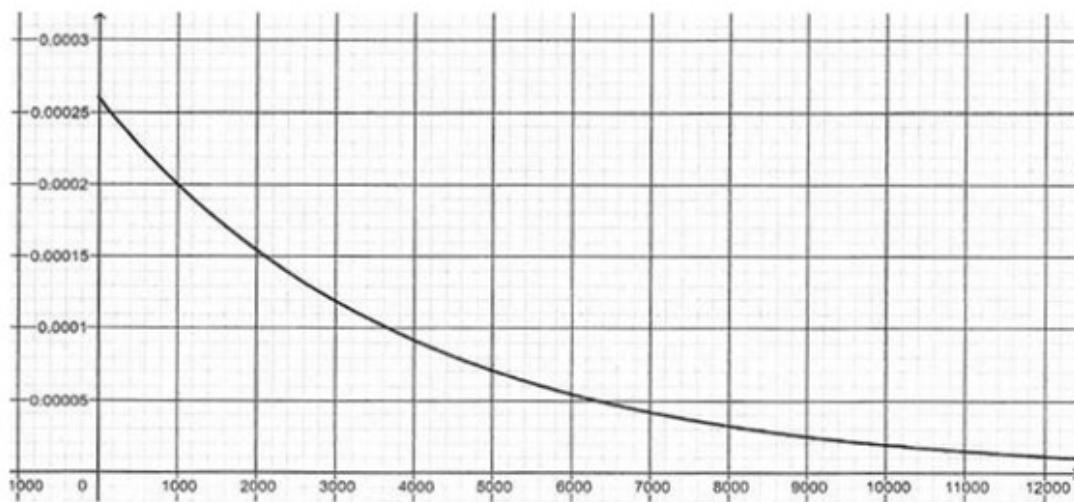
3. Le spa choisi au hasard présente un problème de filtration. Calculer la probabilité que ce spa ne possède pas de lampe UV.
4. Lors d'une opération de maintenance sur un parc de 78 spas installés par le fabricant, un technicien comptabilise 12 spas présentant un problème de filtration.
  - a) Donner une estimation ponctuelle  $f$  de la proportion inconnue  $p$  des spas installés par ce fabricant qui présentent un problème de filtration.
  - b) Déterminer par un intervalle de confiance au seuil de 95 % cette proportion  $p$ .

## Partie B

On s'intéresse désormais à la durée de vie des lampes UV. Celle-ci, exprimée en heures, est une variable aléatoire  $X$  qui suit une loi exponentielle de paramètre  $\lambda$ , où  $\lambda$  est un réel strictement positif. On rappelle que la fonction de densité  $f$  d'une telle variable aléatoire est donnée pour tout réel  $t \geq 0$  par :

$$f(t) = \lambda e^{-\lambda t}.$$

La courbe ci-dessous est la représentation graphique de la fonction de densité  $f$ .



1. À l'aide du graphique, justifier que :  $\lambda = 0,00026$ .
2. On considère la proposition suivante : « en moyenne, une lampe UV tombe en panne au bout de 1 000 heures ». Cette proposition est-elle vraie ? Justifier.
3. Montrer que la probabilité qu'une lampe n'ait pas eu de panne au cours des 500 premières heures est égale à  $e^{-0,13}$ .

## Partie C

Lors de l'utilisation des lampes UV, on constate que la probabilité que la durée d'utilisation d'une lampe UV prise au hasard dépasse 1000 heures est  $p = 0,77$ .

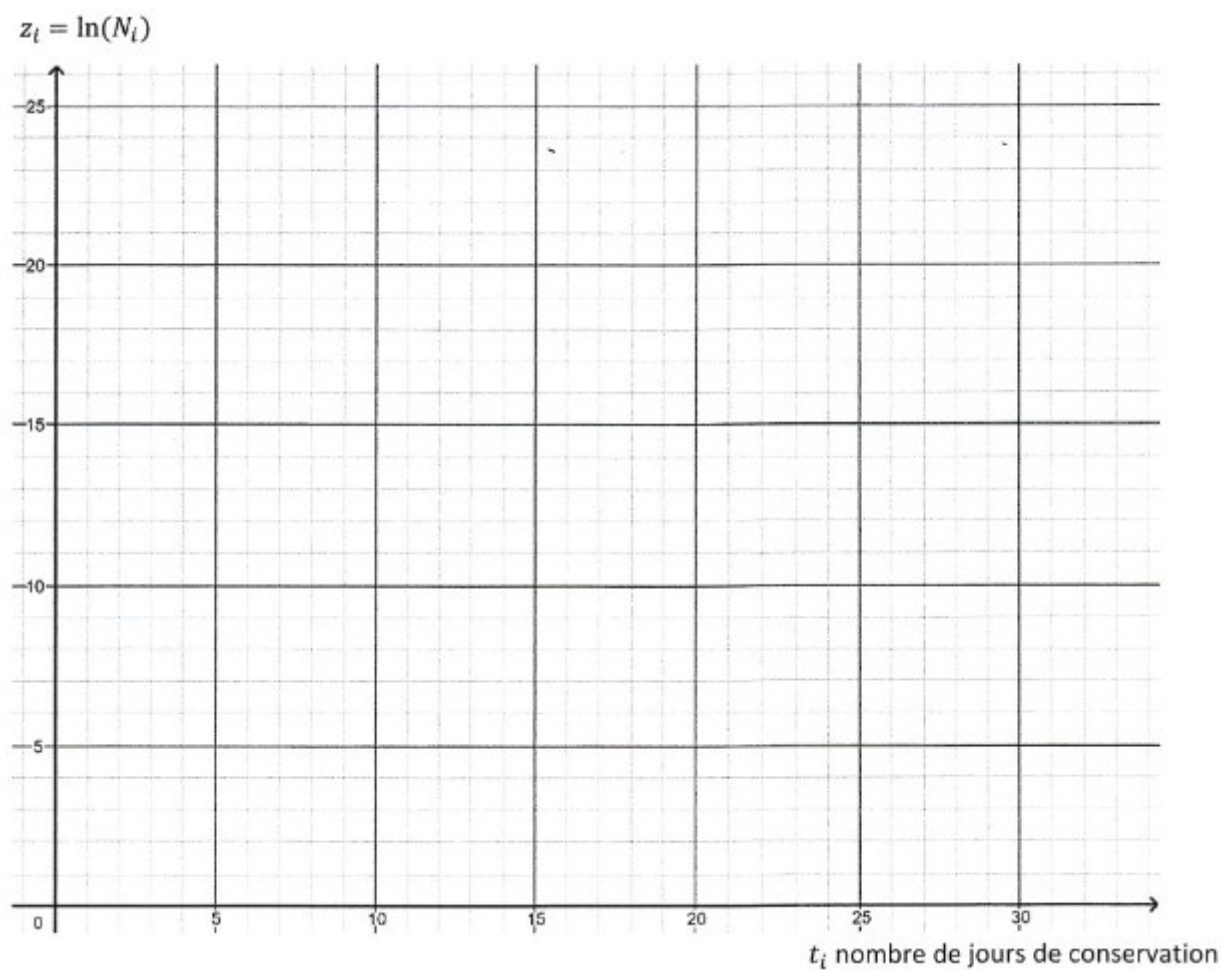
On prélève au hasard un lot de 50 lampes dans la production, jugée suffisamment importante pour assimiler ce choix à un tirage avec remise. On appelle  $Y$  la variable aléatoire qui, à un échantillon de 50 lampes UV de la production, associe le nombre de lampes UV dont la durée d'utilisation dépasse 1000 heures.

1. Justifier que la variable aléatoire  $Y$  suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.
2. Déterminer l'arrondi à  $10^{-3}$  de la probabilité  $P(Y \geq 42)$  et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
3. Calculer l'espérance de la variable aléatoire  $Y$  et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.



**ANNEXE 1 : à rendre avec la copie : Exercice 1 — Partie A — Question 1**

| Nombre de jours de conservation $t$                  | 0     | 5     | 10      | 15        | 20         |
|------------------------------------------------------|-------|-------|---------|-----------|------------|
| Nombre $N_i$ de germes putréfiants par $\text{cm}^2$ | 1 000 | 4 000 | 199 000 | 5 960 000 | 48 600 000 |
| $Z_i = \ln(N_i)$                                     |       |       |         |           |            |

**ANNEXE 2 : à rendre**

# Sujet de sciences physiques et chimiques 2021

Calculatrice avec mode examen autorisée

## Partie A - Des bananes radioactives ! (9,5 points)

De nombreux produits alimentaires présentent une radioactivité naturelle, et en particulier les bananes, du fait du potassium 40 qu'elles contiennent à raison de 0,017 % en masse du total.

Les bananes sont suffisamment radioactives pour être détectées par les détecteurs utilisés par les douanes américaines afin d'identifier des transits potentiellement illégaux de matériaux radioactifs.

Amateurs de bananes, faut-il s'inquiéter ?

Données :

- La période radioactive du potassium 40 est de 1,248 milliard d'années.
- $A = \lambda \times N$  avec  $A$  activité en Bq,  $\lambda$  constante radioactive en  $s^{-1}$ ,  $N$  nombre de noyaux radioactifs dans l'échantillon.
- En moyenne, les bananes émettent une radioactivité naturelle de 130 Bq/kg.
- Caractéristiques de quelques noyaux.

| Noyau   | Potassium 41           | Potassium 40           | Potassium 39           | Calcium 41              | Calcium 40              | Argon 40                |
|---------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Symbole | ${}^{41}_{19}\text{K}$ | ${}^{40}_{19}\text{K}$ | ${}^{39}_{19}\text{K}$ | ${}^{41}_{20}\text{Ca}$ | ${}^{40}_{20}\text{Ca}$ | ${}^{40}_{18}\text{Ar}$ |

1. Donner la composition du noyau de potassium 40.

2. Le potassium 40 se désintègre spontanément selon :  ${}^{40}_{19}\text{K} \rightarrow {}^A_Z\text{X} + {}^0_{-1}\text{e}$

2.1. Identifier le noyau X en précisant les lois de conservation utilisées.

2.2. Donner la définition de la période ou demi-vie d'un noyau radioactif.

2.3. Déterminer le nombre d'années nécessaires pour diviser par 4 l'activité du potassium 40.

3. Une personne consomme chaque jour une banane de 150 g pendant une année complète.

Les effets biologiques des rayonnements dans le corps humain se mesurent en sieverts (Sv). La conversion de l'activité  $A$  de la nourriture ingérée en dose efficace  $E$  reçue par la personne est calculée par  $E = F \times A$  avec  $F$  égal à 6,2 nSv/Bq pour le potassium 40.

3.1. Vérifier que, pour une année, la dose efficace due au potassium 40 reçue par le consommateur de bananes est d'environ 44  $\mu\text{Sv}$ .

La limite de dose efficace annuelle reçue par une personne du public du fait des activités nucléaires est fixée à 1 mSv/an.

3.2. Déterminer le nombre de bananes qu'il faudrait consommer quotidiennement pour atteindre cette limite. Quelle réponse peut-on apporter à la question initiale : « Amateurs de bananes, faut-il s'inquiéter ? » ?

## Partie B - Virus, bactéries, les défis à relever pour l'ostréiculture (12 points)

Les huîtres, cultivées en France depuis des siècles, ont récemment été victimes d'agents pathogènes.

En 2010, un virus de la famille des herpès appelé herpèsvirus a détruit 70 % des huîtres les plus jeunes en deux mois seulement. À l'été 2013, une bactérie a emboîté le pas à l'herpèsvirus : partout en France. *Vibrio aestuarianus* a tué jusqu'à 65 % des huîtres adultes prêtes à la vente.

Du fait du réchauffement climatique, les eaux atteignent des températures qui correspondent à la fenêtre d'activité des herpès, virus ou bactéries.

Les laboratoires ont mené des études afin de comprendre les processus de contamination des huîtres et d'essayer d'adapter les pratiques de culture de la filière pour limiter les surmortalités.

**Un laboratoire dispose d'un microscope classique et se pose la question de la nécessité d'acheter un microscope électronique.**

Données :

- Taille d'une bactérie *Vibrio aestuarianus* :  $AB_b = 3,5 \text{ } \mu\text{m}$
- Taille d'un herpèsvirus :  $AB_v = 150 \text{ nm}$
- Objectifs disponibles sur le microscope X10, X40, X100

| Grandissement | Ouverture numérique $O.N.$ |
|---------------|----------------------------|
| 10            | 0,25                       |
| 40            | 0,65                       |
| 100           | 1,25                       |

- Pour de petits angles  $\alpha$  exprimés en radians, on adopte l'approximation :  $\tan \alpha \approx \alpha$
- Grossissement de l'oculaire utilisé par ce microscope :  $G_{oc} = 10$
- Grossissement commercial  $G_c = |\gamma_{ob}| \times G_{oc} = \frac{\alpha'}{\alpha}$  avec  $\alpha$  diamètre apparent de l'objet vu à l'œil nu,  $\alpha'$  diamètre apparent de l'image vue à travers le microscope et  $|\gamma_{ob}|$  le grandissement absolu de l'objectif
- Pouvoir de résolution de l'œil :  $3 \times 10^{-4} \text{ rad}$
- Pouvoir de résolution du microscope optique ou dimension du plus petit objet observable à travers le microscope avec la longueur d'onde :  $AB_{min} = \frac{0,6 \times \lambda}{O.N.}$
- Pouvoir de résolution d'un microscope électronique  $AB_{min} = 0,3 \text{ nm}$
- Distance minimale de vision distincte pour un œil emmétrope :  $d_m = 25 \text{ cm}$

### 1. Observation à l'œil nu

L'œil du technicien est emmétrope, ce qui signifie qu'il peut voir nettement un objet s'il est situé entre la distance minimale de vision distincte et l'infini. Son œil est ici placé à la distance  $d_m$  de l'objet AB et il voit l'objet AB sous un angle  $\alpha$ , appelé diamètre apparent.

- 1.1. Montrer que  $\alpha$  vaut  $1,4 \times 10^{-5} \text{ rad}$  pour une bactérie *Vibrio aestuarianus*.
- 1.2. Indiquer si cette bactérie est vue à l'œil nu en justifiant à l'aide des données de l'exercice.
- 1.3. Justifier que l'herpèsvirus ne sera pas vu à l'œil nu.

### 2. Observation au microscope en utilisant l'objectif de « X40 »

On règle le microscope afin que l'image définitive observée à travers cet instrument par le technicien soit rejetée à l'infini.

- 2.1. Donner l'intérêt d'un tel réglage.
- 2.2. Préciser si ce réglage convient à tout type d'œil non corrigé.
- 2.3. Déterminer, sans calcul mais en justifiant par une phrase ou un schéma, la position par rapport à l'oculaire de l'image intermédiaire  $A_1B_1$  de l'objet AB formée par l'objectif du microscope.
- 2.4. Calculer le grossissement commercial de ce microscope.
- 2.5. En déduire que l'angle sous lequel sera vu la bactérie *Vibrio aestuarianus* vaut  $5,6 \cdot 10^{-3} \text{ rad}$ .
- 2.6. Indiquer en justifiant si la bactérie est visible à travers ce microscope (sans tenir compte de la limitation du microscope par la diffraction).

### 3. Pouvoir de résolution du microscope

Le pouvoir de résolution du microscope est limité par le phénomène de diffraction. Pour cette raison, l'utilisation de l'objectif « X40 » ne permet pas l'observation de l'herpèsvirus.

- 3.1. Calculer  $AB_{min}$  pour l'objectif « X100 » sous une longueur d'onde de  $500 \text{ nm}$ .
- 3.2. Vérifier que l'utilisation de cet objectif ne permet pas non plus d'observer l'herpèsvirus dans ces conditions.
- 3.3. Indiquer, en utilisant les données de l'exercice, quelle solution adopter au laboratoire afin d'observer l'herpèsvirus.

## Partie C - Les coraux en danger (9,5 points)

La structure physique des récifs coralliens est formée par les polypes des coraux qui réalisent la calcification, c'est-à-dire qu'ils synthétisent un squelette calcaire à partir des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{HCO}_3^-$  de l'eau de mer. Le squelette des coraux est constitué de la superposition organisée de couches de cristaux d'aragonite (une forme de cristallisation du carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$ ) insérés dans une matrice organique.

(<http://www.encyclopedie-environnement.org/vivant/coraux-ingenieurs-oceans-menaces/>).

Une expédition scientifique fait le tour du monde en voilier afin d'étudier les coraux et leur processus de développement. L'objectif de cet exercice est de comprendre l'importance de la qualité de l'eau de mer pour la croissance des coraux et des animaux à coquilles.

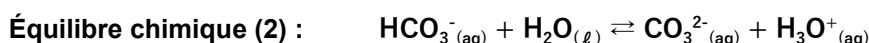
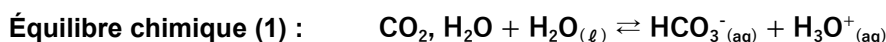
Données :

| Élément chimique                     | H   | C    | N    | O    | Cl   | Ca   |
|--------------------------------------|-----|------|------|------|------|------|
| Masse molaire (g·mol <sup>-1</sup> ) | 1,0 | 12,0 | 14,0 | 16,0 | 35,5 | 40,1 |

|                     |                                                                    |                                                               |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Couple acide / base | CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O / HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> |
| pKa                 | 6,4                                                                | 10,3                                                          |

### 1. Le dioxyde de carbone dissous et les équilibres carboniques

Le dioxyde de carbone rejeté par la faune et la flore est soluble dans l'eau et il peut donner lieu à deux équilibres chimiques lors de sa dissolution dans l'eau de mer.



Le pH optimal pour une eau de mer destinée à une production de coraux est compris entre 8,2 et 8,5.

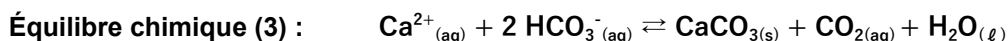
1.1. Représenter, à l'aide des données, le diagramme de prédominance mettant en jeu les espèces chimiques carbonatées (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> ; CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>).

1.2. En déduire l'espèce carbonatée prédominante dans une eau de mer au pH optimal.

1.3. Indiquer, en justifiant, les conséquences de l'acidification de l'eau d'un océan sur la concentration en ions carbonate CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>.

### 2. Squelette calcaire des coraux

Les coraux prélèvent les ions hydrogénocarbonate HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> et les ions calcium Ca<sup>2+</sup> de l'océan. Ils les transforment en cristaux de carbonate de calcium CaCO<sub>3(s)</sub>, qui constitueront l'essentiel de leur squelette carboné, selon la réaction d'équation.



Afin de déterminer rapidement la concentration en ions calcium d'une eau de mer, un titrage colorimétrique peut être effectué par l'ion éthylènediaminetétraacétate (E.D.T.A.) noté Y<sup>4-</sup><sub>(aq)</sub>.

La réaction support du titrage est :  $\text{Ca}^{2+}{}_{(\text{aq})} + \text{Y}^{4-}{}_{(\text{aq})} \rightarrow \text{CaY}^{2-}{}_{(\text{aq})}$

Les ions Ca<sup>2+</sup><sub>(aq)</sub>, Y<sup>4-</sup><sub>(aq)</sub> et CaY<sup>2-</sup><sub>(aq)</sub> sont des ions incolores en solution aqueuse. On ajoute au milieu réactionnel une solution tampon et un indicateur coloré. Dans les conditions de la réaction, seuls les ions calcium sont dosés.

On dose un volume d'eau de mer  $V_{\text{eau}} = 100,0 \text{ mL}$  par une solution d'E.D.T.A. de concentration molaire  $c = 5,00 \times 10^{-2}$ . Le volume de solution d'E.D.T.A. versé pour repérer l'équivalence est  $V_E = 21,2 \text{ mL}$ .

2.1. Déterminer la concentration molaire en ions calcium Ca<sup>2+</sup> de l'eau de mer analysée.

2.2. En déduire la concentration massique en ions calcium de cette eau de mer.

Pour une bonne croissance des coraux, la teneur en ions calcium a pour valeur optimale  $(430 \pm 10) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

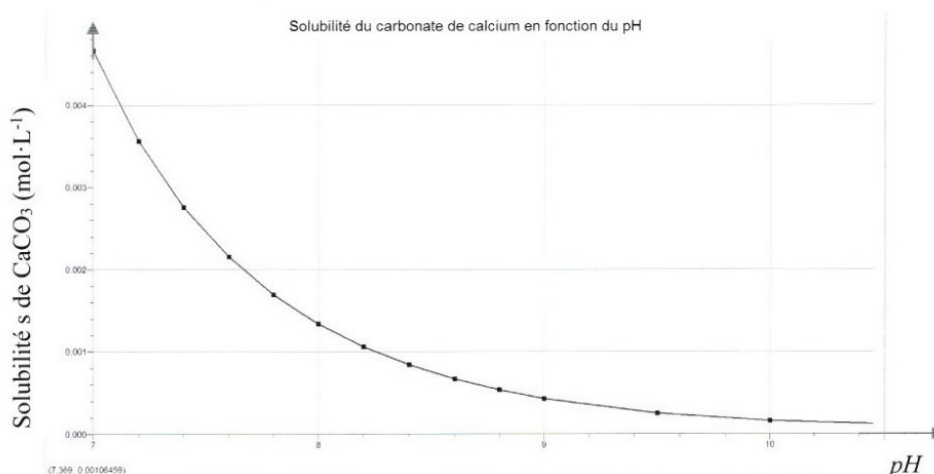
2.3. Indiquer, en justifiant, si les coraux sont dans de bonnes conditions de croissance dans l'eau étudiée.

3. Pour affiner la compréhension du phénomène, il est nécessaire de prendre en compte la solubilité du carbonate de calcium en fonction du pH du milieu. On donne l'équation de dissolution du carbonate de calcium.



3.1. Exprimer le produit de solubilité  $K_s$  de CaCO<sub>3</sub> en fonction des concentrations molaires à l'équilibre en ions calcium et en ions carbonate notés respectivement [Ca<sup>2+</sup>]<sub>eq</sub>, [CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>]<sub>eq</sub>.

La solubilité du carbonate de calcium évolue en fonction du pH selon la courbe ci-dessous :



3.2. En conclusion, expliquer l'effet de l'acidification des océans sur le squelette des coraux.

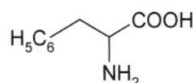
## Partie D – Synthèse de l'aspartame (9 points)

L'aspartame est un dipeptide obtenu par réaction entre deux acides aminés : l'acide aspartique et un dérivé de la phénylalanine. Cette molécule est un édulcorant artificiel découvert en 1965.

### 1. La phénylalanine

La phénylalanine est un acide aminé essentiel. Il est indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, mais ce dernier est incapable de le synthétiser.

La formule de la phénylalanine est :



- 1.1. Recopier la formule de la phénylalanine puis entourer et nommer les groupes fonctionnels présents dans la molécule.
- 1.2. Repérer, par un astérisque\*, le (ou les) atome(s) de carbone asymétrique(s).
- 1.3. Donner les représentations de Cram des deux isomères optiques de la phénylalanine en précisant le type d'isomérisation liant ces deux isomères optiques.

### 2. Synthèse de la phénylalanine

**Étape 1 :** on fait réagir du chlorométhane  $\text{CH}_3\text{Cl}$  sur le benzène  $\text{C}_6\text{H}_6$  en présence d'un catalyseur. Parmi les deux produits de la réaction, on obtient le composé A de formule brute  $\text{C}_7\text{H}_8$ .

2.1. Écrire l'équation de cette réaction en écrivant les molécules en formules semi-développées.

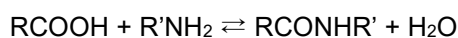
**Étape 2 :** on fait réagir du dichlore  $\text{Cl}_2$  sur le composé A en présence de lumière ultraviolette.

2.2. Écrire l'équation de cette réaction de monochloration.

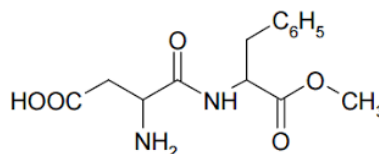
2.3. Choisir un ou plusieurs termes caractérisant la transformation étudiée dans la liste suivante : *addition* — *élimination* — *substitution* - *électrophile* — *nucléophile* — *radicalaire*.

### 3. Synthèse de l'aspartame

L'acide aspartique et un dérivé de la phénylalanine réagissent entre eux pour former l'aspartame. Le groupe carboxyle de l'acide réagit avec le groupe amino du dérivé de la phénylalanine selon l'équation de réaction suivante :



La formule de l'aspartame est :



- 3.1. Recopier la formule de l'aspartame, puis entourer et nommer le groupe caractéristique créé lors de cette réaction.
- 3.2. Déduire de la formule de l'aspartame la formule de l'acide aspartique.

# Sujet de biochimie et technologies d'analyse 2021

## L'entomophagie : des insectes comme alternative à la viande

D'ici 2030, plus de neuf milliards de personnes devront être nourries, ainsi que les milliards d'animaux élevés chaque année. Parmi les réponses possibles à la question de la suffisance alimentaire, la FAO (l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) recommande d'envisager l'élevage d'insectes à grande échelle. Les insectes présentent en effet la possibilité d'être produits en masse avec une empreinte écologique minimale.

On se propose ici de réaliser une analyse quantitative et qualitative des principales biomolécules des larves du ver de farine : le ténébrion meunier ou *Tenebrio molitor*. Ce coléoptère pourrait être consommé sous forme de larves (fraîches ou séchées) ou sous forme de farine alimentaire.

L'ensemble des analyses envisagées est effectué sur la farine complète de *T. molitor* dont le procédé d'obtention est présenté dans le **document 1**. Ces analyses permettront ensuite d'engager une réflexion sur l'intérêt d'incorporer cette farine d'insecte dans l'alimentation humaine.

### 1. Analyse quantitative et qualitative de la teneur en protéines

Le dosage des protéines totales est réalisé par la méthode du biuret sur un échantillon de farine solubilisé dans de l'eau physiologique. La préparation des échantillons et la méthode d'analyse sont présentées dans les **documents 2 et 3**.

**Q1.** Repérer la (les) situations(s) exposante(s) au risque chimique. Argumenter les mesures de prévention à mettre en œuvre.

**Q2.** Sachant que la teneur en protéines pour cet insecte est estimée entre 40 et 50 g pour 100 g de matière sèche (MS), montrer que le volume d'eau physiologique utilisé pour la préparation de S1 permet de réaliser le dosage.

**Q3.** Valider la procédure à partir des résultats obtenus pour le contrôle.

**Q4.** Déterminer la teneur en protéine (en g pour 100 g de MS) de l'échantillon de farine complète testé et comparer le résultat à ceux des aliments proposés.

La quantité totale des protéines n'est pas un critère suffisant pour se prononcer sur l'intérêt nutritionnel d'un aliment.

Il est particulièrement intéressant d'en analyser la composition en acides aminés, et de déterminer la teneur des acides aminés indispensables. Les résultats obtenus pour les larves de *T. molitor* sont présentés dans le **document 4**.

**Q5.** Rappeler la définition d'acide aminé indispensable.

Comparer les résultats obtenus pour *T. molitor* et la viande de bœuf et leur incidence sur la qualité nutritionnelle des deux aliments.

### 2. Détermination de la teneur en glucides

La teneur en glucides assimilables tels que le saccharose, le glucose et le fructose, dans la farine d'insecte *T. molitor* est relativement faible. L'analyse précise de ces teneurs pourrait permettre d'inclure cet aliment dans des régimes pauvres en glucides, pour des personnes diabétiques par exemple.

On étudie donc, par dosage enzymatique, la teneur de ces trois glucides. La procédure est présentée dans le **document 5**.

**Q6.** Expliquer le rôle du réactif de Carrez pour la préparation de l'échantillon de farine S<sub>2</sub>.

**Q7.** Définir et identifier la réaction indicatrice de ce dosage, en précisant le nom du composé absorbant. Présenter les arguments montrant qu'il s'agit d'un dosage enzymatique de substrat en point final.

**Q8.** Écrire l'équation de la réaction d'hydrolyse du saccharose (formules semi-développées cycliques de Haworth attendues). Identifier le réactif du kit permettant cette réaction.

**Q9.** Argumenter en quoi les réactions se déroulant successivement dans la cuve échantillon saccharose permettent le dosage spécifique de ce glucide.

**Q10.** Expliquer l'intérêt du réactif R3 dans la cuve échantillon glucose/fructose. Vérifier par un calcul détaillé le résultat obtenu pour la détermination de la teneur en fructose et conclure.

### 3. Extraction, dosage et étude de la composition en acides gras de la farine de larves de *T. molitor*

Les lipides contenus dans la farine de *T. molitor* sont extraits par l'extracteur de Soxhlet dont le fonctionnement est schématisé sur le **document 6**.

**Q11.** Dégager le principe de l'extraction par le Soxhlet en présence d'éther de pétrole et préciser sur quelle propriété des lipides s'appuie cette extraction. Indiquer où se trouvent les lipides en fin de cycle.

**Q12.** Sachant que l'efficacité d'extraction est de 95 %, calculer la teneur en matière grasse en g pour 100 g de matière sèche et comparer aux valeurs des autres aliments présentés.

La méthode d'analyse de l'extrait lipidique en chromatographie en phase gazeuse ainsi que les résultats obtenus sont présentés dans le **document 7**.

**Q13.** Reporter sur la copie les légendes 1 à 6 du schéma d'une chaîne de chromatographie en phase gazeuse.

**Q14.** Écrire les formules topologiques des acides stéarique et oléique. Expliquer alors pourquoi la température d'ébullition de l'acide oléique est inférieure à celle de l'acide stéarique.

Le **document 8** présente les résultats obtenus à l'issue de l'analyse chromatographique.

**Q15.** Schématiser le chromatogramme attendu (Intensité du signal électrique = f (temps de rétention)) pour les trois acides gras majoritaires lors de l'analyse. Expliquer le raisonnement.

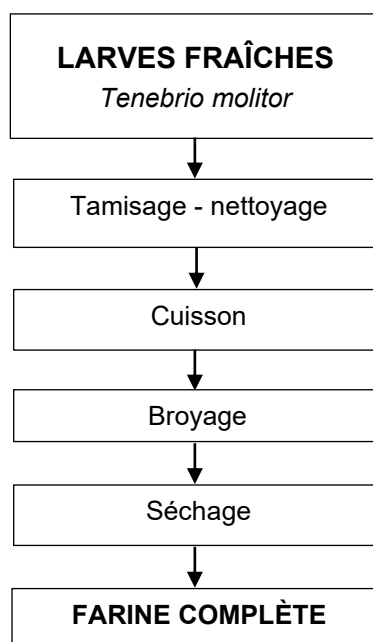
**Q16.** Sachant que parmi les apports nutritionnels conseillés, le rapport  $\omega_6 / \omega_3$  doit être inférieur ou égal à 5, conclure sur la qualité nutritionnelle de la farine de *T. molitor*.

### 4. Bilan

**Q17.** En vue de l'incorporation de farine d'insectes dans l'alimentation humaine, synthétiser sous forme d'un tableau les atouts nutritionnels d'un point de vue quantitatif et qualitatif de la farine de *T. molitor*.

---

#### **Document 1 : préparation des larves pour les analyses biochimiques sur farine complète**



La farine complète contient l'ensemble des nutriments initialement présents dans les larves (lipides, glucides, protides, minéraux...) excepté l'eau.

**Document 2 : dosage des protéines par la méthode spectrophotométrique du biuret***(Extraits adaptés du kit BIOLABO PROTÉINES TOTALES - méthode Biuret Réf : LP87016)***Principe**

Méthode colorimétrique décrite par Gornall et al. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec  $\text{Cu}^{2+}$  en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans l'échantillon, est mesurée à 550 nm. Le réactif de Gornall contient du tartrate double de sodium potassium qui complexent les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline.

**Réactifs**

- **R1 (réactif de Gornall)**

|                     |                          |
|---------------------|--------------------------|
| Hydroxyde de sodium | 370 mmol·L <sup>-1</sup> |
| Tartrate – Na-K     | 10 mmol·L <sup>-1</sup>  |
| Iodure de potassium | 3 mmol·L <sup>-1</sup>   |
| Sulfate de cuivre   | 3 mmol·L <sup>-1</sup>   |

- **R2**

Albumine à 60,0 g·L<sup>-1</sup>

- **Solution de contrôle qualité**

Albumine à 40,0 g·L<sup>-1</sup>**Mode opératoire****1) Préparation de l'échantillon de farine à analyser**

1 g de farine (obtenue selon le document 1) est solubilisé dans 10 mL d'eau physiologique. La solution obtenue est notée S<sub>1</sub>.

**2) Procédure du dosage**

Ramener les réactifs et échantillons à température ambiante.

|                                                                                                                          | Blanc réactif | Étalon       | Contrôle     | Dosage       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| Réactif R1                                                                                                               |               | 1000 µL      | 1000 µL      | 1000 µL      |
| Réactif R2                                                                                                               |               | 20 µL        |              |              |
| Solution de contrôle qualité                                                                                             |               |              | 20 µL        |              |
| Solution échantillon S <sub>1</sub>                                                                                      |               |              |              | 20 µL        |
| Bien mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante. Lire les absorbances à 550 nm contre le blanc réactif. |               |              |              |              |
| <b>A à 550 nm</b>                                                                                                        |               | <b>0,872</b> | <b>0,586</b> | <b>0,702</b> |

**Performances**

Domaine de mesure (concentration de l'échantillon) : entre 7 g·L<sup>-1</sup> et 80 g·L<sup>-1</sup>

Limite de détection : environ 0,1 g·L<sup>-1</sup>

Intervalle d'acceptabilité pour le contrôle [39 - 41] g·L<sup>-1</sup>

Données :

| Teneur en protéines de divers aliments en g pour 100 g de produit sec |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Œuf cru                                                               | 48 |
| Blanc de poulet cuit                                                  | 67 |
| Bavette de bœuf crue                                                  | 72 |
| Lieu noir cru                                                         | 90 |

Source : revue Insecte, 2013 (article de Pierre Feillet)



**Document 3 : extrait de la FDS du réactif de Gornall (fournisseur Roth)****Éléments d'étiquetage****Étiquetage selon le règlement (CE) no 1272/2008 (CLP)****Mention d'avertissement**      **Attention****Pictogramme**

GHS07

**Mentions de danger**

H315 Provoque une irritation cutanée

H319 Provoque une sévère irritation des yeux

H335 Peut irriter les voies respiratoires

**Document 4 : composition comparée en acides aminés indispensables des larves de *T molitor* et de la viande de bœuf**

|               |                                                  |                | Enfant                          | Adulte |
|---------------|--------------------------------------------------|----------------|---------------------------------|--------|
| Acides aminés | Ver de farine                                    | Viande de bœuf | Valeurs recommandées par la FAO |        |
|               | (Valeurs exprimées en g pour 100 g de protéines) |                |                                 |        |
|               | Isoleucine                                       | 4,6            | 5,1                             | 3      |
| Leucine       | 8,6                                              | 7,8            | 6,1                             | 1,9    |
| Lysine        | 5,4                                              | 8,2            | 4,8                             | 1,6    |
| Méthionine    | 1,5                                              | 2,4            | 2,3                             | 1,7    |
| Phénylalanine | 4                                                | 4,2            | 4,1                             | 1,9    |
| Thréonine     | 4                                                | 4,5            | 2,5                             | 0,9    |
| Tryptophane   | 0,6                                              | 4,5            | 0,66                            | NC*    |
| Valine        | 6                                                | 5,3            | 4                               | 0,9    |

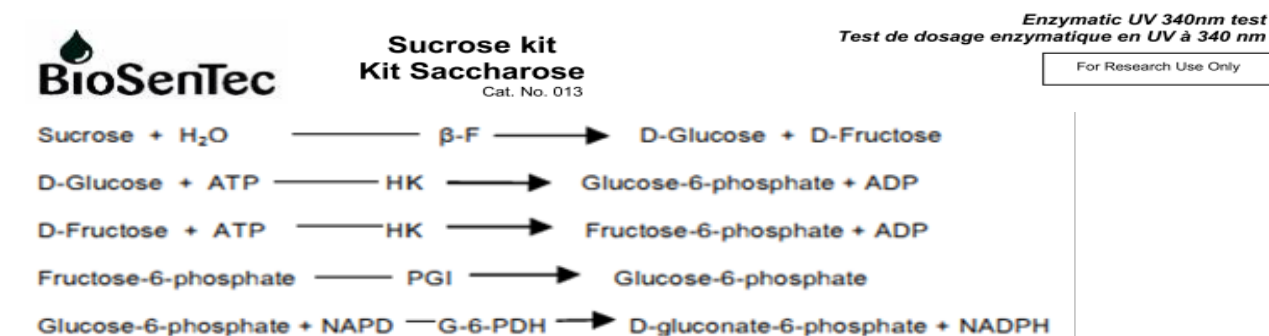
Sources : d'après et adapté de Ravzanaadi et al. *Int. J. Indust. Entomol.* Vol. 25, No. 1, 2012 ;  
rapport d'activité FAO 2013.

## **Document 5 : dosage du saccharose, du glucose et du fructose dans la farine complète de *T. molitor***

### **1) Préparation des échantillons**

1 g de farine complète est solubilisé dans 80 mL d'eau distillée, auxquels on ajoute 10 mL de réactif de Carrez. Après précipitation, la solution est filtrée et le volume de filtrat est complété à 100 mL en fiole jaugée. On obtient la solution S<sub>2</sub>.

### **2) Procédure du dosage**



|                                                     |                                                                            |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| Hydrolysis reagent - RH<br>Réactif d'hydrolyse - RH | 1 x 6.7 mL - Buffer pH 4.6 / $\beta$ -fructosidase ( $\beta$ -F)           |
| R1                                                  | 1 x 30 mL - Buffer H 7.5 / NADP / ATP                                      |
| R2                                                  | 1 x 0,6 mL - Hexokinase / Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (HK / G-6-PDH) |
| R3                                                  | 1 x 0,6 mL - PhosphoGlucosyltransferase (PGI)                              |
| C                                                   | 1 x 2 mL - Control solution<br>- Solution de contrôle                      |

### **Préparation de l'échantillon**

La concentration en D-Glucose / D-Fructose / D-Saccharose dans l'échantillon utilisé pour l'essai doit être comprise entre 0,05 et 0,8 g·L<sup>-1</sup>.

### **Précision**

Dans les conditions de l'essai décrites ci-dessus, la précision de la mesure est de 5 % sur une solution de contrôle.

### **Procédure d'essai**

Longueur d'onde 340 nm / Trajet optique 1 cm / Température 20-37 °C, mesure contre l'eau ou l'air.

|                                      | Saccharose |             | Glucose / Fructose |             |
|--------------------------------------|------------|-------------|--------------------|-------------|
|                                      | Blanc      | Échantillon | Blanc              | Échantillon |
| Réactif d'hydrolyse RH               | 0,2 mL     | 0,2 mL      | 0                  | 0           |
| Échantillon                          | 0          | 0,1 mL      |                    | 0,1 mL      |
| Agiter et attendre 30 min            |            |             |                    |             |
| R1                                   | 1 mL       | 1 mL        | 1 mL               | 1 mL        |
| Eau                                  | 1,8 mL     | 1,7 mL      | 2 mL               | 1,9 mL      |
| Agiter et lire l'absorbance          | A1         | A1          | A1                 | A1          |
| R2                                   | 0,02 mL    | 0,02 mL     | 0,02 mL            | 0,02 mL     |
| Agiter et lire l'absorbance à 15 min | A2         | A2          | A2                 | A2          |
| R3                                   | 0          | 0           | 0,02 mL            | 0,02 mL     |
| Agiter et lire l'absorbance à 15 min | -          | -           | A3                 | A3          |

## Calcul

### Détermination des variations d'absorbance pour le blanc et les essais

- Pour le D-Glucose et le D-Fructose

$$\Delta A_{\text{glucose}} = [A_2 - A_1]_{\text{échantillon}} - [A_2 - A_1]_{\text{blanc}}$$

$$\Delta A_{\text{fructose}} = [A_3 - A_2]_{\text{échantillon}} - [A_3 - A_2]_{\text{blanc}}$$

- Pour le Saccharose

$$\Delta A_{\text{total glucose}} = [A_2 - A_1]_{\text{échantillon}} - [A_2 - A_1]_{\text{blanc}}$$

$$\Delta A_{\text{saccharose}} = \Delta A_{\text{total glucose}} - \Delta A_{\text{glucose}}$$

La concentration pour chaque glucide, en g·L<sup>-1</sup>, est calculée à l'aide de l'équation aux grandeurs suivantes :

$$\rho_{(\text{glucide} ; \text{solution } S_2)} = \frac{V \times M_{\text{glucide}}}{\varepsilon \times l \times v \times 1000} \times \Delta A_{\text{glucide}}$$

Soit, dans les conditions de l'essai :

$$\rho_{(\text{glucose} ; \text{solution } S_2)} = 0,8636 \times \Delta A_{\text{glucose}}$$

$$\rho_{(\text{fructose} ; \text{solution } S_2)} = 0,8693 \times \Delta A_{\text{fructose}}$$

$$\rho_{(\text{saccharose} ; \text{solution } S_2)} = 1,6409 \times \Delta A_{\text{saccharose}}$$

### Donnée :

Le résultat final de la teneur en glucides doit être exprimé en g pour 100 g de matière sèche à l'aide de l'équation aux grandeurs suivantes :

$$W_{(\text{glucide} ; \text{matière sèche de farine})} = \frac{\rho_{(\text{glucide} ; \text{solution } S_2)} \times V_{\text{solution } S_2}}{m_{\text{farine}}} \times 100$$

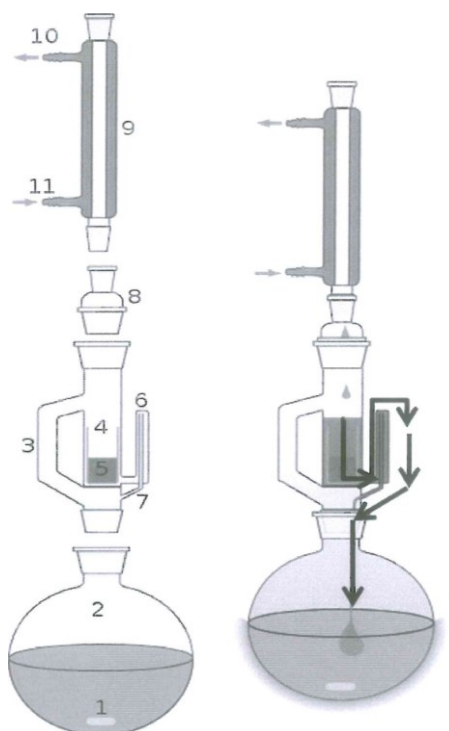
## 3) Résultats expérimentaux

|                | Saccharose |             | Glucose/Fructose |             |
|----------------|------------|-------------|------------------|-------------|
|                | Blanc      | Échantillon | Blanc            | Échantillon |
| A <sub>1</sub> | 0,088      | 0,103       | 0,087            | 0,102       |
| A <sub>2</sub> | 0,103      | 0,121       | 0,105            | 0,122       |
| A <sub>3</sub> | -          | -           | 0,108            | 0,716       |

|                                                                      | Saccharose                                  | Glucose                                     | Fructose |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|----------|
| W <sub>(glucides ; MS de farine de larves)</sub><br>en g/100 g de MS | Inférieure à la limite<br>de quantification | Inférieure à la limite<br>de quantification | 5,1      |

## Document 6 : extraction des lipides de la farine complète

### 1) Représentation schématisée d'un extracteur Soxhlet



- 1 Agitateur magnétique
- 2 Ballon à col rodé contenant l'éther de pétrole
- 3 Retour de distillation (tube d'adduction)
- 4 Corps en verre
- 5 Cartouche en papier filtre dans lequel est placé l'échantillon de farine
- 6 Haut du siphon
- 7 Sortie du siphon
- 8 Adaptateur d'expansion
- 9 Condenseur
- 10 Sortie de l'eau de refroidissement
- 11 Entrée de l'eau de refroidissement

Un siphonage correspond à un cycle d'extraction

### 2) Procédure opératoire

The determination of fat content was performed by extraction using the Soxhlet method with Gerhardt Soxtherm SOX414.

5 grams of dried and homogenized sample, were placed in an extraction thimble and extracted with 150 mL of petroleum ether (program: 70 °C for 120 min, 40 cycles). The extracted sample was then dried at 103 °C and weighed until a constant sample weight was achieved.

### 3) Résultats expérimentaux :

| Masse extraite (en g) |
|-----------------------|
| 1,665                 |

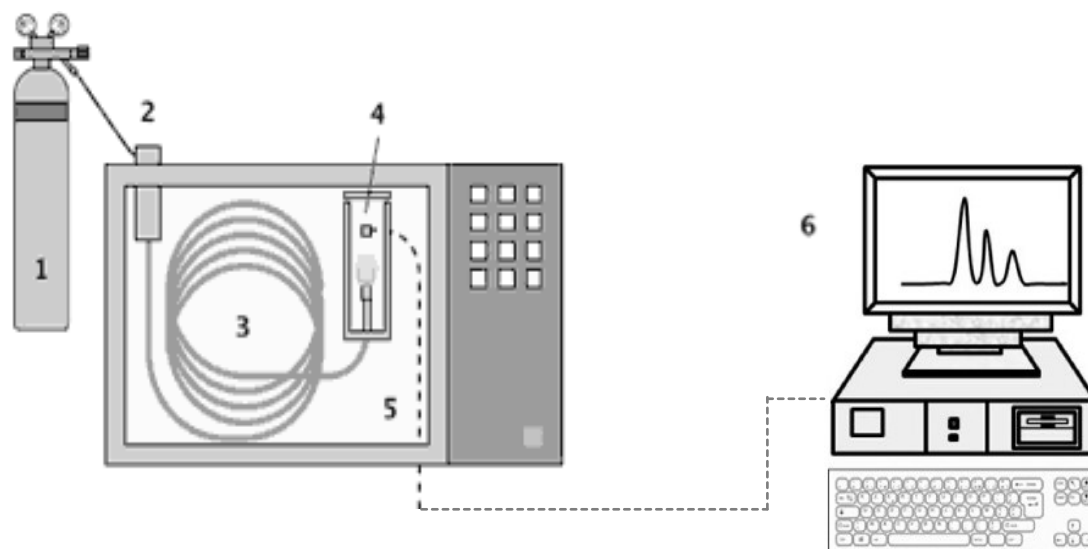
Données :

| Teneur en lipides de divers aliments en g pour 100 g de produit sec |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| Œuf cru                                                             | 40 |
| Blanc de poulet cuit                                                | 7  |
| Bavette de bœuf crue                                                | 12 |
| Lieu noir cru                                                       | 5  |

Source : Insecte, 2013 (article de Pierre Feillet)

**Document 7 : analyse de la composition en acides gras des larves de *T. molitor* par chromatographie en phase gazeuse**

La séparation des acides gras, après méthylation, est réalisée par chromatographie en phase gazeuse.



**Représentation schématique d'une chaîne de chromatographie en phase gazeuse**

Source : d'après filterservices et researchgate.net

**Mode opératoire****1) Préparation des esters méthyliques d'acides gras**

L'extrait obtenu par l'extracteur de Soxhlet subit une transméthylation en milieu alcalin selon la norme ISO 12966-2 : 2011. On obtient un mélange d'acides gras méthylés (esters méthyliques) repris dans l'hexane (V/V).

**2) Caractéristiques du système chromatographique**

Système : Agilent 7890 GC (Agilent Technologies)

Détecteur : ionisation de flamme (FID)

Colonne : Rt®-2560 (100 x 0.25 mm ID x 0.2 µm film) de Restek Corporation - propriété : polaire

Volume injecté : 1 µL (mode split, ratio 20 : 1)

Débit du gaz vecteur (hélium) : 1,2 mL·min<sup>-1</sup>

**3) Conditions de l'analyse**

Température de l'injecteur : 225 °C

Température du détecteur : 250 °C

Température du four :

- 70 °C pendant 2 min
- Gradient de 5 °C·min<sup>-1</sup> jusqu'à 240 °C
- 240 °C pendant 15 min

**Document 8 : analyse du chromatogramme obtenu****Identification des acides gras de l'extrait**

Le profil obtenu est comparé aux temps de rétention obtenus pour un mélange standard d'acides gras dans les mêmes conditions.

**Exploitation quantitative des résultats obtenus**

Le résultat est exprimé en pourcentage par rapport à la quantité totale d'acides gras détectés.

| Acides gras saturés        |         | Acides gras insaturés                           |         |
|----------------------------|---------|-------------------------------------------------|---------|
| Nom                        | %       | Nom                                             | %       |
| Acide myristique (C14 : 0) | 3,05    |                                                 |         |
| Acide palmitique (C16 : 0) | 16,72   | Acide palmitoléique (C16 : 1 $\Delta^9$ )       | 2,67    |
| Acide stéarique (C18 : 0)  | 2,49    | Acide oléique (C18 : 1 $\Delta^9$ )             | 14,32   |
|                            |         | Acide linoléique (C18 : 2 $\Delta^9, 12$ )      | 24,60   |
|                            |         | Acide linolénique (C18 : 3 $\Delta^9, 12, 15$ ) | 35,84   |
|                            |         | Autres                                          | 0,31    |
| Total                      | 22,26 % | Total                                           | 77,74 % |
|                            |         | Dont oméga 3                                    | 46,10   |
|                            |         | Dont oméga 6                                    | 31,64   |

Source : d'après et adapté de Ravzanaadi et al. *Int. J. Indust. Entomol.* Vol. 25, No. 1, 2012.

# Sujet de microbiologie et technologies d'analyse 2021

## TOXI-INFECTION ALIMENTAIRE COLLECTIVE À *Clostridium Perfringens*

*Clostridium perfringens* est une bactérie ubiquitaire largement répandue dans l'environnement, elle est naturellement présente dans le microbiote intestinal de l'homme et des animaux. La bactérie se présente sous forme de bacilles larges, immobiles, à extrémités carrées et à coloration Gram positif, elle produit des spores ce qui lui confère une grande thermorésistance et possède un métabolisme anaérobie strict.

*Clostridium perfringens* est une espèce fréquemment mise en cause dans les intoxications alimentaires, en effet certaines souches produisent une entérotoxine responsable d'entérites nécrosantes.

La recherche de cette bactérie n'est pas concernée par la réglementation européenne n° 1411/2007, cependant son dénombrement peut être réalisé dans le cadre d'une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) avérée lors de la recherche de son origine.

### 1. Caractéristiques microbiologiques de *Clostridium perfringens*

#### 1.2. Le type respiratoire

Comme la majorité des bactéries du genre *Clostridium*, *C. perfringens* se développe uniquement en absence de dioxygène.

**Q1.** Préciser le type respiratoire de cette bactérie. En déduire les voies métaboliques possibles mises en jeu.

La détermination du type respiratoire se fait historiquement par l'ensemencement d'un milieu Viande Foie Glucosé, un extrait de la fiche technique est présenté dans le **document 1**.

**Q2.** Expliquer l'intérêt de l'étape de régénération. Schématiser le résultat attendu pour *Clostridium perfringens* après incubation.

**Q3.** Expliquer l'effet toxique du dioxygène sur le métabolisme cellulaire des bactéries anaérobies strictes.

#### 1.3. La sporulation

La capacité de *C. perfringens* à sporuler joue un rôle important dans son pouvoir pathogène, en effet la sporulation entraîne une thermorésistance mais également la sécrétion de l'entérotoxine. Lorsqu'un aliment contenant de grandes quantités de formes végétatives est ingéré, ces dernières sporulent dans l'intestin et l'entérotoxine est libérée.

Le **document 2** présente l'ultrastructure d'une spore de *C. perfringens*.

**Q4.** Reporter sur la copie les lettres A à C du document 2 et nommer les légendes correspondantes.

**Q5.** Expliquer la thermorésistance de la spore par ses caractéristiques structurales et physicochimiques.

**Q6.** Présenter les conditions amenant une forme végétative à sporuler puis nommer le mécanisme permettant à une spore de passer sous une forme végétative.

#### 1.4. L'entérotoxine CPE (*Clostridium perfringens* enterotoxin)

*C. perfringens* produit et sécrète différentes enzymes et exotoxines dont une entérotoxine responsable d'intoxication alimentaire, qui n'est synthétisée qu'au cours de la sporulation.

**Q7.** Présenter les caractéristiques d'une exotoxine.

Le **document 3** schématise le mode d'action de l'entérotoxine CPE.

**Q8.** Présenter les étapes du mode d'action de cette toxine sur les entérocytes.

## 2. Étude d'un traitement potentiel

*Clostridium perfringens* représente la quatrième cause de TIAC dans les pays industrialisés. Les symptômes causés par l'entérotoxine (CPE) sont des maux de ventre, des vomissements et des diarrhées qui disparaissent spontanément en 24 h à 72 h dans la plupart des cas.

**Q9.** Expliciter chacun des termes de l'expression « toxi-infection alimentaire collective ».

Chez certains patients, des complications peuvent apparaître, c'est le cas chez les jeunes enfants et les personnes âgées. L'entérotoxine de *Clostridium perfringens* (CPE) entraîne une mort importante des cellules intestinales. Dans le but de prévenir ce phénomène, on étudie l'effet de l'addition d'un peptide soluble Cldn1 ou Cldn4, analogues de la partie réceptrice de la protéine membranaire Claudin. Cette étude vise à évaluer leur action protectrice contre la toxine.

L'étude est menée *in vitro* sur des cellules eucaryotes (*enterocyte-like Caco-2 cells*) incubées avec la toxine (CPE) en présence ou en absence du peptide (Cldn1 ou Cldn4). La cytotoxicité est ensuite évaluée. Le **document 4** présente le protocole et les résultats de cette étude.

**Q10.** Repérer les témoins et expliquer leur rôle.

**Q11.** Analyser les résultats obtenus et conclure sur l'action protectrice de ces peptides contre la toxine CPE.

## 3. Contrôles microbiologiques dans une entreprise

Une TIAC a été déclarée dans un restaurant d'entreprise touchant dix personnes. Plusieurs prélèvements sur différents aliments ont été effectués, l'aliment incriminé semble être un jambon cuit. L'entreprise responsable de la commercialisation de ce produit réfléchit à la mise en place d'autocontrôles supplémentaires portant sur des critères microbiologiques de sécurité ou d'hygiène des procédés.

**Q12.** Expliciter les différences entre un critère d'hygiène des procédés et un critère de sécurité.

Le laboratoire opte notamment pour un dénombrement de *Clostridium perfringens* suivant la méthode de référence NF EN ISO 7937 : méthode horizontale pour le dénombrement de *Clostridium perfringens*.

**Q13.** Présenter la notion de « méthode horizontale ».

Le milieu de référence utilisé pour ce dénombrement est la gélose TSC présentée dans le **document 5**.

**Q14.** Préciser le rôle des différents constituants du milieu de culture.

Sur ce milieu, les colonies de *C. perfringens* sont entourées d'un halo noir.

**Q15.** Justifier l'aspect de ces colonies.

Le **document 6** présente les résultats de cette analyse sur 5 unités d'échantillonnage prélevées sur un même lot.

**Q16.** Réaliser un schéma de protocole pour la réalisation de ce dénombrement.

Le **document 7** présente les critères microbiologiques utilisés par l'entreprise. Le mode de calcul est décrit dans le **document 8**.

**Q17.** Calculer la concentration N en *C. perfringens* exprimée en UFC·g<sup>-1</sup> de jambon cuit pour chaque unité d'échantillonnage. Expliciter l'un des calculs réalisés en présentant l'équation aux valeurs numériques.

Présenter l'ensemble des résultats dans un tableau.

Conclure sur la qualité bactériologique du lot en expliquant la démarche.

**Q18.** Proposer au moins deux hypothèses pouvant expliquer l'origine de la contamination éventuelle de ce jambon par *Clostridium perfringens*.

Déterminer l'action corrective la plus adaptée à mettre en place pour chaque hypothèse.



**Document 1 : gélose « viande-foie » glucosée****Principe**

La peptone « viande-foie » favorise la croissance de la plupart des microorganismes et plus spécialement celle des germes anaérobies. Le glucose constitue la source énergétique du développement.

**Formule-type**

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone viande-foie 30,0 g
- Glucose 2,0 g
- Agar-agar bactériologique 6,0 g

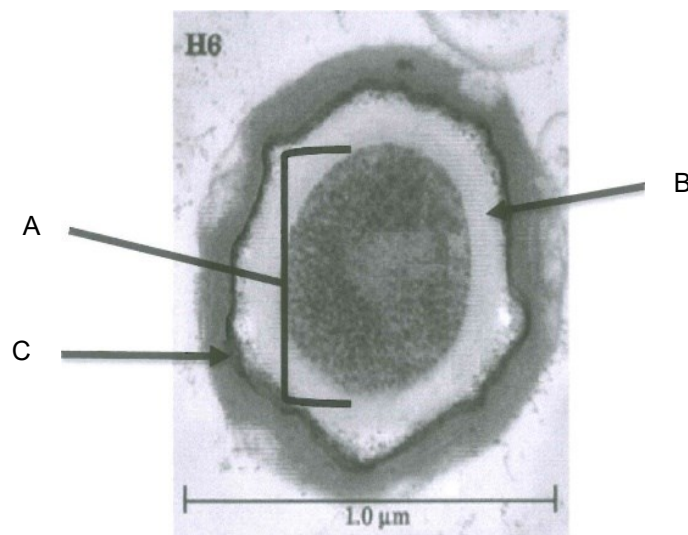
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C :  $7,3 \pm 0,2$ .

**Mode d'emploi**

Recherche du type respiratoire :

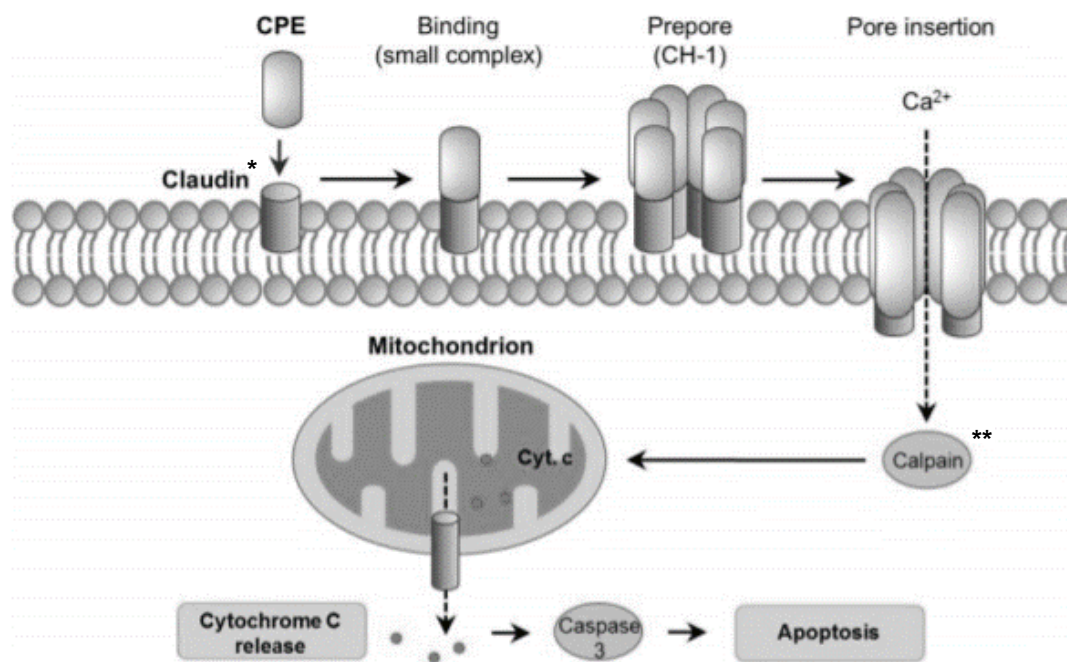
- Régénérer le milieu avant utilisation.
- Plonger l'effilure d'une pipette Pasteur dans la culture à étudier.
- Transférer l'inoculum dans le fond du tube.
- Remonter vers le sommet en exécutant un mouvement hélicoïdal.
- Refroidir la gélose dans un bain d'eau glacée.
- Incuber à la température optimale de croissance.

Source : fiche technique Biokar

**Document 2 : micrographie d'une spore de *C. perfringens***

Contrairement aux spores formées par d'autres espèces, les spores de *C. perfringens* ne possèdent pas d'exosporium.

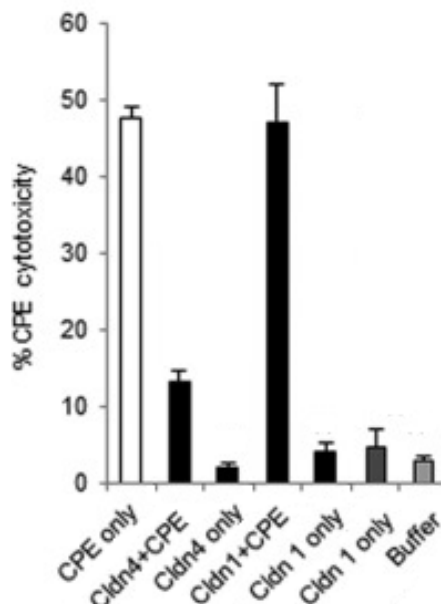
Source : Li et al., 2016

**Document 3 : mode d'action de l'entérotoxine de *C perfringens* (CPE)****Intracellular pathways involved in *C perfringens* enterotoxin (CPE) action. (Extrait du document)**

*Claudins (\*) are cellular receptors for CPE. Initial CPE binding to claudins results in the formation of a small complex. Interaction of six small complexes lead to CPE oligomerization and formation of a pre-pore on the plasma membrane, a large complex named CH-1. Assembly of  $\beta$ -hairpin loops from CPE into a  $\beta$ -barrel permits the insertion of a cation-permeating pore in the plasma membrane. An influx of  $\text{Ca}^{2+}$  occurs, which stimulates the activity of calpains (\*\*), which in turn, leads to caspase-3 activation and apoptosis of the cell.*

Source : Navarro et al., 2018

### **Document 4 : évaluation de l'effet protecteur des peptides contre l'entérotoxine de *C. perfringens* (CPE)**



#### **Effects of direct mixing of CPE with Cldn-1 or -4 peptide on the development of CPE induced cytotoxicity.**

Confluent Caco-2 cells grown on 100 mm<sup>2</sup> cell culture plates were challenged for 1 h with 0.5 µg/ml of CPE alone, with 0.5 µg/ml CPE directly mixed with Cldn-1 or -4 peptide (with the same concentration, no CPE), or with buffer alone.

Cytotoxicity: at the conclusion of this experiment, cytotoxicity was measured using an LDH-release assay.

Results are the averages from 3 independent experiments. The white bar represents CPE treatment, the black bars represent the peptide only, or the peptide incubated with CPE, and the grey bar represents buffer only.

Source : extrait du document Shrestha et al., 2014

### **Document 5 : gélose TSC (tryptone-sulfite-cyclosérine)**

Dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs et de *Clostridium perfringens*

#### **Domaine d'utilisation**

La gélose Tryptone-Sulfite-Cyclosérine (TSC) a été décrite par Harmon pour l'isolement sélectif et le dénombrement de *Clostridium perfringens* dans les eaux et les produits alimentaires. Ce milieu est également recommandé pour le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs dans les denrées d'origine animale. La formule-type répond à la composition définie dans la norme NF EN ISO 7937.

#### **Principe**

Les microorganismes sulfito-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure. La flore contaminante est presque totalement inhibée par la D-cyclosérine qui diminue également la taille des halos noirs se développant autour des colonies.

#### **Formule-type**

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales. Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone..... 15,0 g
- Peptone papaïnique de soja..... 5,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 5,0 g
- Sulfite de sodium ..... 1,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal ..... 1,0 g
- D-cyclosérine ..... 0,4 g
- Agar-agar bactériologique ..... 15,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25 °C : 7,6 ± 0,2.

**Suite du document 5****Mode d'emploi**

- Transférer 1 mL de la suspension mère et de ses dilutions décimales dans les boîtes.
- Couler 15 à 20 mL de milieu complet.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface plane.
- Ajouter une seconde couche de gélose et laisser solidifier.
- Incuber les boîtes en jarre d'anaérobiose pendant  $(20 \pm 2)$  heures à 37 °C en présence d'un mélange gazeux d'hydrogène et de dioxyde de carbone.

**Lecture**

Dénombrer les colonies entourées d'un halo noir dans les boîtes contenant moins de 150 colonies.

Source : d'après fiche technique Biokar

**Document 6 : résultats obtenus pour les 5 unités d'échantillonnage analysées**

Le dénombrement est réalisé sur les suspensions mères préparées à partir des 5 unités d'échantillonnage prélevées sur le lot de jambon cuit.

Chaque suspension mère (SM) a été préparée selon la norme NF EN ISO 6887-1 :

- Peser 25 g d'échantillon.
- Ajouter 225 mL de bouillon Tryptone Sel.
- Homogénéiser.
- Attendre 15 min avant utilisation.

**Résultats**

| Suspension-mère issue de l'unité d'échantillonnage           |         | SM1 | SM2 | SM3 | SM4 | SM5 |
|--------------------------------------------------------------|---------|-----|-----|-----|-----|-----|
| Nombre de colonies caractéristiques de <i>C. perfringens</i> | Boîte 1 | 19  | 15  | 0   | 1   | 20  |
|                                                              | Boîte 2 | 26  | 18  | 2   | 0   | 25  |

**Document 7 : extrait des critères microbiologiques utilisés dans l'entreprise**

| Désignation | Plan d'échantillonnage | <i>Clostridium perfringens</i>                                                                               |
|-------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Jambon cuit | $n = 5$<br>$c = 2$     | $m = 3,0 \cdot 10^1 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$<br>$M = 3,0 \cdot 10^2 \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ |

**Analyse des résultats**

- Qualité satisfaisante si toutes les valeurs observées sont  $m$ .
- Qualité acceptable lorsqu'un nombre de valeurs  $\leq c$  se situent entre  $m$  et  $M$ , et que le reste des valeurs observées est  $< m$ .
- Qualité insatisfaisante lorsqu'une ou plusieurs valeurs observées sont  $> M$  ou lorsqu'un nombre de valeurs  $> c$  se situent entre  $m$  et  $M$ .

**Document 8 : exploitation des résultats d'après la norme AFNOR ISO 7218**

On considère les dilutions ayant donné au moins une boîte contenant plus de 15 colonies. On calcule le nombre  $N$  de micro-organismes suivant la formule :

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

$\sum c$  : nombre total de colonies comptées sur les boîtes retenues

$n_1$  : nombre de boîtes comptées à la dilution retenue la plus faible

$n_2$  : nombre de boîtes comptées à la seconde dilution

$d$  : dilution retenue la plus faible

$V$  : volume d'inoculum

**Cas des petits nombres** : Si les deux boîtes de la dilution la plus faibleensemencées par 1 mL d'échantillon contiennent moins de 15 colonies, on fait la moyenne arithmétique des colonies dénombrées.

Si les deux boîtes de la dilution la plus faible ne contiennent aucune colonie, exprimer le résultat par  $N =$  moins de 1 microorganisme par mL d'échantillon.

**Expression des valeurs mesurées** : les valeurs seront exprimées selon les règles d'arrondissement en vigueur.

# Sujet de biologie cellulaire et moléculaire et technologies d'analyse 2021

---

## TECHNIQUES DE DÉPISTAGES D'UNE INFECTION AU SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 est le nom du coronavirus identifié fin 2019, responsable de la maladie COVID-19 qui s'est propagée à l'échelle mondiale depuis sa découverte.

Les technologies de diagnostic de la COVID-19 sont des outils majeurs pour suivre l'évolution de cette pandémie.

Le dépistage précoce du SARS-CoV-2 est particulièrement important aussi bien en termes de protection individuelle (traitement du patient détecté positif) mais également collective (recherche des « cas contacts »).

Il est d'abord nécessaire d'étudier et de produire ce virus *in vitro* afin d'élaborer des outils diagnostiques.

### 1. SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 est un virus à ARN + simple brin linéaire, la structure du virus est donnée dans le **document 1** et le cycle de multiplication dans le **document 2**.

**Q1.** Nommer la polymérase nécessaire à la réplication du génome viral.

**Q2.** Cette polymérase n'est pas présente dans les particules virales. Expliquer par quel mécanisme est produite cette enzyme.

Dans le but d'obtenir des particules virales, des cellules en culture de la lignée cellulaire Vero sont contaminées par le SARS-CoV-2.

Les cellules Vero sont des cellules épithéliales immortalisées isolées à partir de reins de singe.

Elles sont cultivées en conditions d'adhérence dans un milieu MEM (Minimum Essential Medium) complété de sérum de veau fœtal (SVF).

Lorsqu'elles sont à confluence totale, elles sont repiquées après trypsination selon le mode opératoire donné dans le **document 3**.

**Q3.** Argumenter l'intérêt d'utiliser une lignée cellulaire immortalisée pour la production de particules virales et expliquer le terme de confluence totale.

**Q4.** Exposer les rôles du sérum de veau fœtal en culture cellulaire. Identifier l'effet du SVF mis en jeu dans l'étape 4 du document 3.

### 2. Dépistage par RT-qPCR

Le dépistage est basé sur des manifestations cliniques (symptômes) et des études épidémiologiques (recherche de « cas contacts ») mais le diagnostic est ensuite confirmé par des tests moléculaires.

Le test référence est une méthode de RT-qPCR, dont l'objectif est de rechercher l'ARN viral dans des prélèvements issus de patients. Pour cela, un laboratoire souhaite étudier différents protocoles à partir de clones de cellules Vero infectées par le SARS-CoV-2.

Le **document 4** présente la procédure opératoire de la RT-qPCR, qui fait appel au « *2X reaction buffer* ».

**Q5.** Calculer le volume Y de ce tampon nécessaire afin d'obtenir une concentration finale de 1 X.

La sonde TaqMan est utilisée afin d'obtenir une quantification et une visualisation de la quantité d'amplicons produits en temps réel. Le **document 5** présente le principe de la sonde TaqMan.

**Q6.** Expliquer pourquoi la fluorescence apparaît au cours de l'étape d'élongation.

**Q7.** Proposer la composition qualitative d'un contrôle permettant de vérifier la spécificité des amorces.

L'étape préalable à la quantification des ARN viraux est une extraction des ARN totaux de l'échantillon.

Dans un souci de performance, le laboratoire compare l'efficacité d'extraction des ARN viraux par un kit d'extraction (QIAamp®) avec la méthode au TRIzol®. Le **document 6** présente le protocole simplifié d'un kit QIAamp®.

**Q8.** Justifier l'intérêt des conditions opératoires soulignées pour les étapes notées (1), (2) et (3) dans ce protocole.

Le **document 7** présente les résultats de RT-qPCR obtenus après l'extraction des ARN viraux d'une solution étalon à l'aide des 2 méthodes : kit QIAamp® et méthode au TRIzol®.

**Q9.** Analyser les résultats de la RT-qPCR puis en déduire si l'une des deux méthodes d'extraction est plus performante que l'autre.

### 3. Dépistage du SARS-CoV-2 par TDR

Le test RT-qPCR reste la référence en termes de dépistage du SARS-CoV-2, cependant le temps nécessaire entre l'arrivée du prélèvement et le résultat donné au patient peut aller de deux jours à une semaine. De plus, cette méthode nécessite à la fois un équipement spécifique (thermocycleur) et des réactifs coûteux, ce qui constitue également un inconvénient.

Une entreprise pharmaceutique a donc mis au point un test de dépistage rapide (TDR) qui permet de mettre en évidence les protéines virales de la nucléocapside, et fournit un résultat en 10 minutes.

Le **document 8**, présente le principe du test de dépistage rapide par immunochromatographie à fluorescence.

Le réactif fixé au niveau de la bande « test » est constitué d'anticorps monoclonaux.

**Q10.** Indiquer l'intérêt d'utiliser des anticorps monoclonaux comme réactifs par rapport à des anticorps polyclonaux.

**Q11.** Décrire par un schéma légendé l'édifice moléculaire présent sur la bande « test » dans le cas d'un échantillon qui contient le virus SARS-CoV-2.

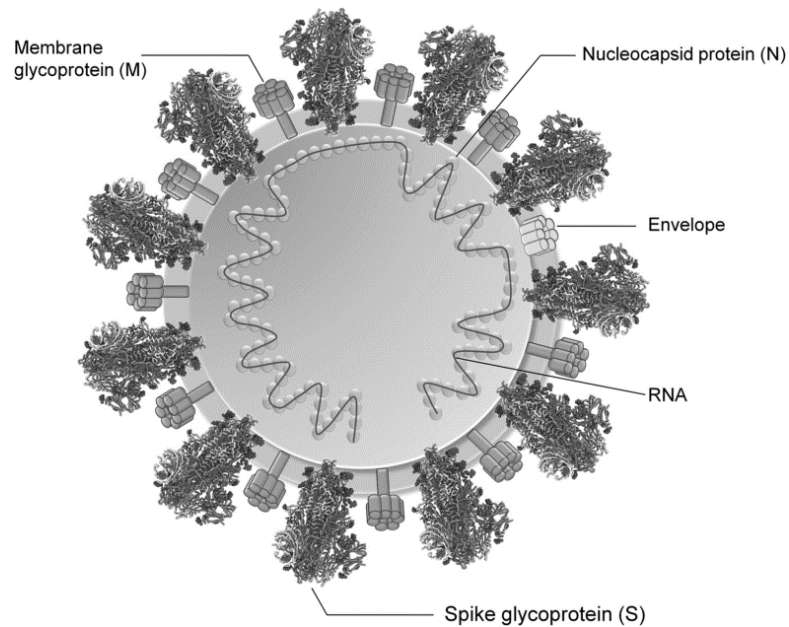
**Q12.** La bande « contrôle » doit toujours apparaître fluorescente. Exposer l'intérêt de ce contrôle.

Le laboratoire a ensuite comparé son test de dépistage rapide à la méthode de référence, considérée dans le cadre de l'étude comme ne produisant pas de faux positifs ni de faux négatifs.

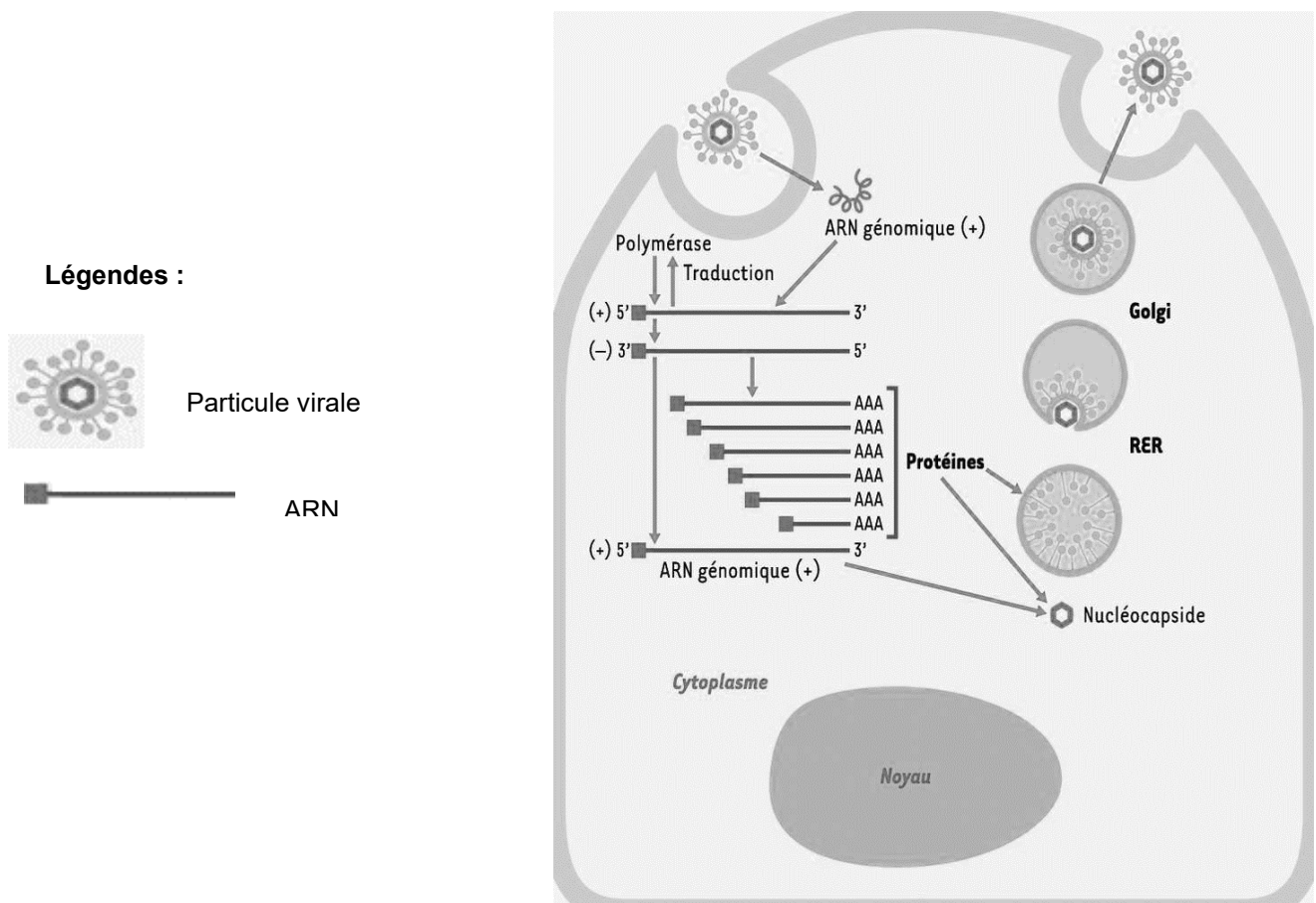
Pour cela, les échantillons prélevés dans 7 centres hospitaliers différents, provenant de 239 patients suspectés d'être atteints de la COVID-19 ont été étudiés par RT-qPCR et par test TDR. Le **document 9** montre les résultats de cette étude.

**Q13.** Déterminer les nombres de faux positifs et de faux négatifs obtenus en TDR par rapport à la méthode de référence.

**Q14.** Discuter le choix d'utilisation du TDR à grande échelle en exposant les avantages et inconvénients de cette technique.

**Document 1 : structure du SARS-CoV-2**

Source : *Morphology, Genome Organization, Replication, and Pathogenesis of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)*, S Kumar et coll., avril 2020.

**Document 2 : cycle viral du SARS-CoV-2**

Source : d'après <https://cdn.futura-sciences.com>



**Document 3 : repiquage des cellules Vero en flacon de 25 cm<sup>2</sup>**

1. Éliminer le milieu de culture usagé.
2. Laver la surface du tapis cellulaire avec du tampon PBS stérile sans calcium.
3. Inonder la surface du tapis cellulaire avec 1 mL de trypsine-EDTA. Incuber à 37 °C pendant 5 minutes maximum.
4. Ajouter 4 mL de milieu MEM + SVF.
5. Prélever 1 mL de suspension cellulaire et le transférer dans un nouveau flacon.
6. Compléter à 5 mL avec du milieu MEM + SVF.
7. Incuber le nouveau flacon de culture à 37 °C sous 5 % de CO<sub>2</sub>.

**Document 4 : procédure opératoire de la RT-qPCR**

A 25 µL reaction contained:

- 5 µL of RNA,
- Y µl of 2 X reaction buffer (containing 0.4 mM of each deoxyribonucleotides triphosphates (dNTP) and 3.2 mM magnesium sulphate),
- 1 µl of reverse transcriptase / Taq polymerase mixture from the kit,
- 0.4 µL of a 50 mM magnesium sulphate solution,
- 1.5 µL of a 10 µM Primer and probe stock solutions,
- Water.

Thermal cycling was performed at 55 °C for 10 min for reverse transcription, followed by 95 °C for 3 min and then 45 cycles of 95 °C for 15 s, 58 °C for 30 s.

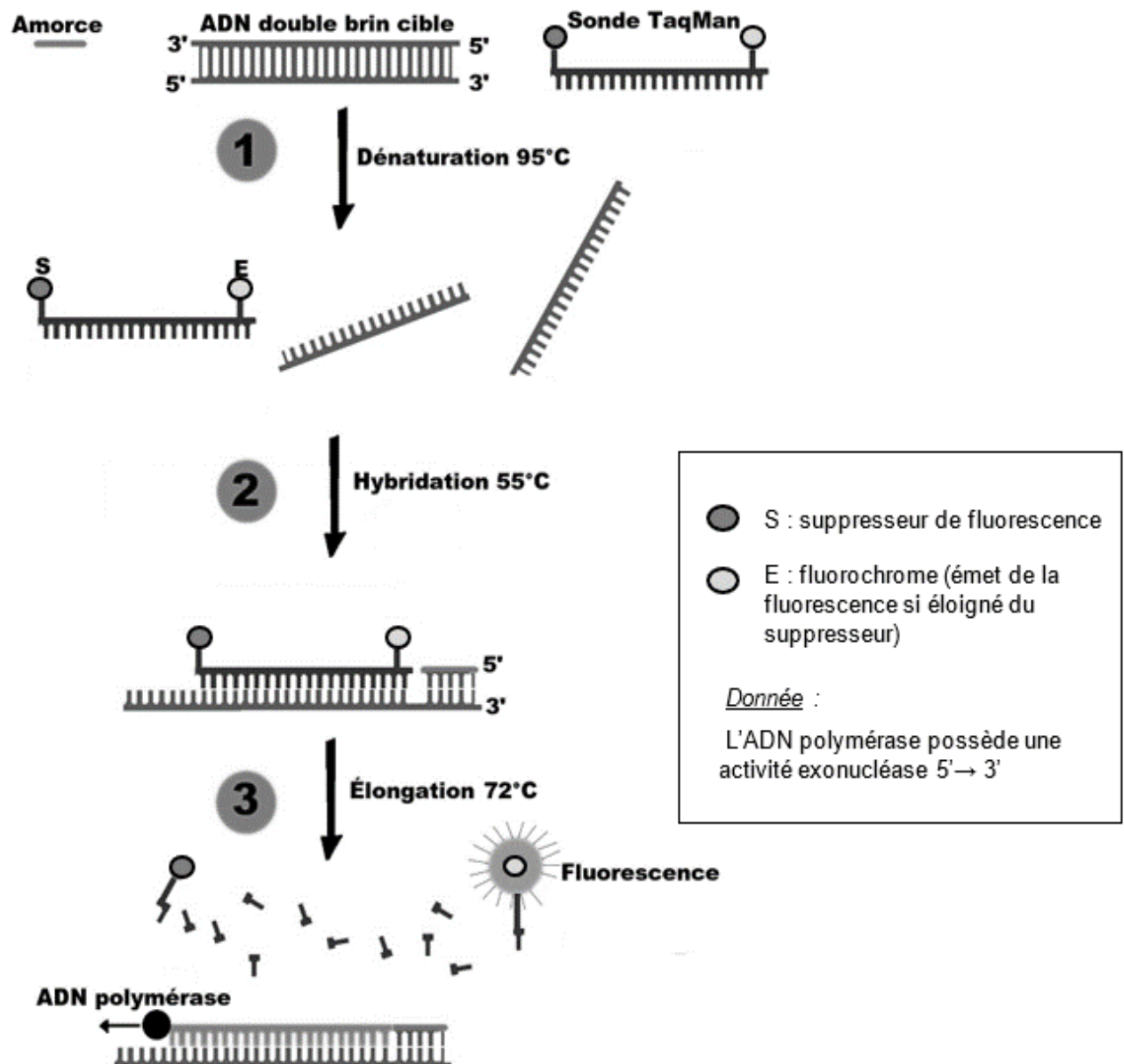
**Données :**

primer = amorce

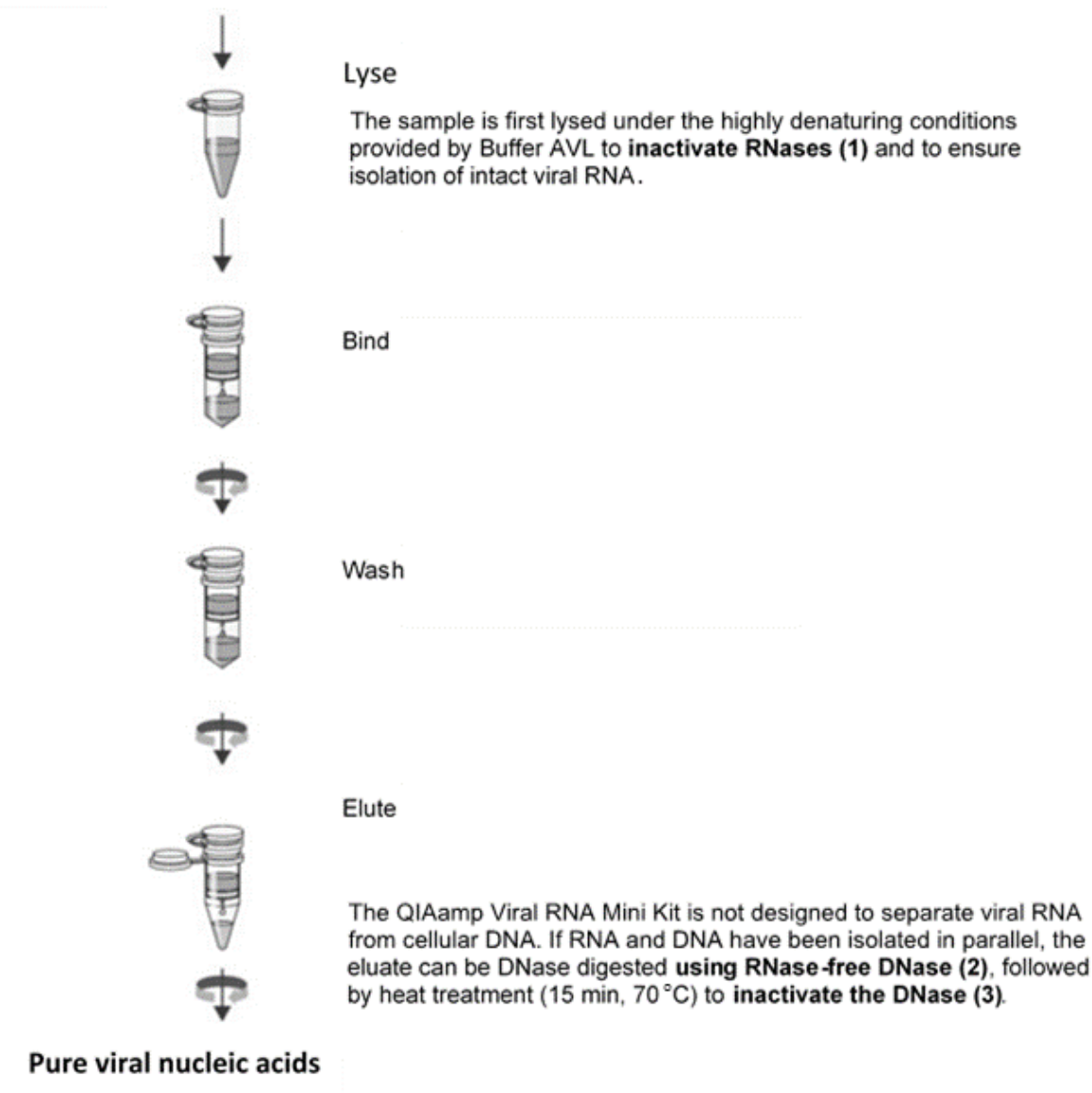
probe = sonde

*Source : d'après "Detection of 2019 novel coronavirus by real time RT-PCR", M Corman et coll.,  
Eurosurveillance*

**Document 5 : principe de l'utilisation de sondes de type « Taqman » pour quantifier les amplicons en temps réel lors d'une qPCR**



Source : d'après [microbiologiemedicale.fr](http://microbiologiemedicale.fr)

**Document 6 : extrait du protocole des kits d'extraction des ARN viraux QIAamp®****Samples of body fluids, liquid media**

Source : QIAamp® virus kits

**Document 7 : comparaison des méthodes d'extraction des ARN viraux**

| Méthodes d'extraction | QIAamp® | TRIzol® |
|-----------------------|---------|---------|
| Ct                    | 20 ± 1  | 21 ± 1  |

Ct : L'appareil Roche Light Cycler 480II définit un seuil de fluorescence. Quand la quantité d'amplicons permet de dépasser ce seuil, alors on obtient le numéro du cycle correspondant appelé « Ct » pour « Cycle Threshold » ou cycle seuil.

L'extraction des ARN viraux a été réalisée à partir d'un échantillon de  $5,9 \times 10^6$  particules virales.

Source : d'après Low-cost Laboratory safe detection protocol for COVID-19, J. Won et al, [www.enjournal.org](http://www.enjournal.org)

### **Document 8 : principe du test de dépistage rapide (TDR) par immunochromatographie à fluorescence**

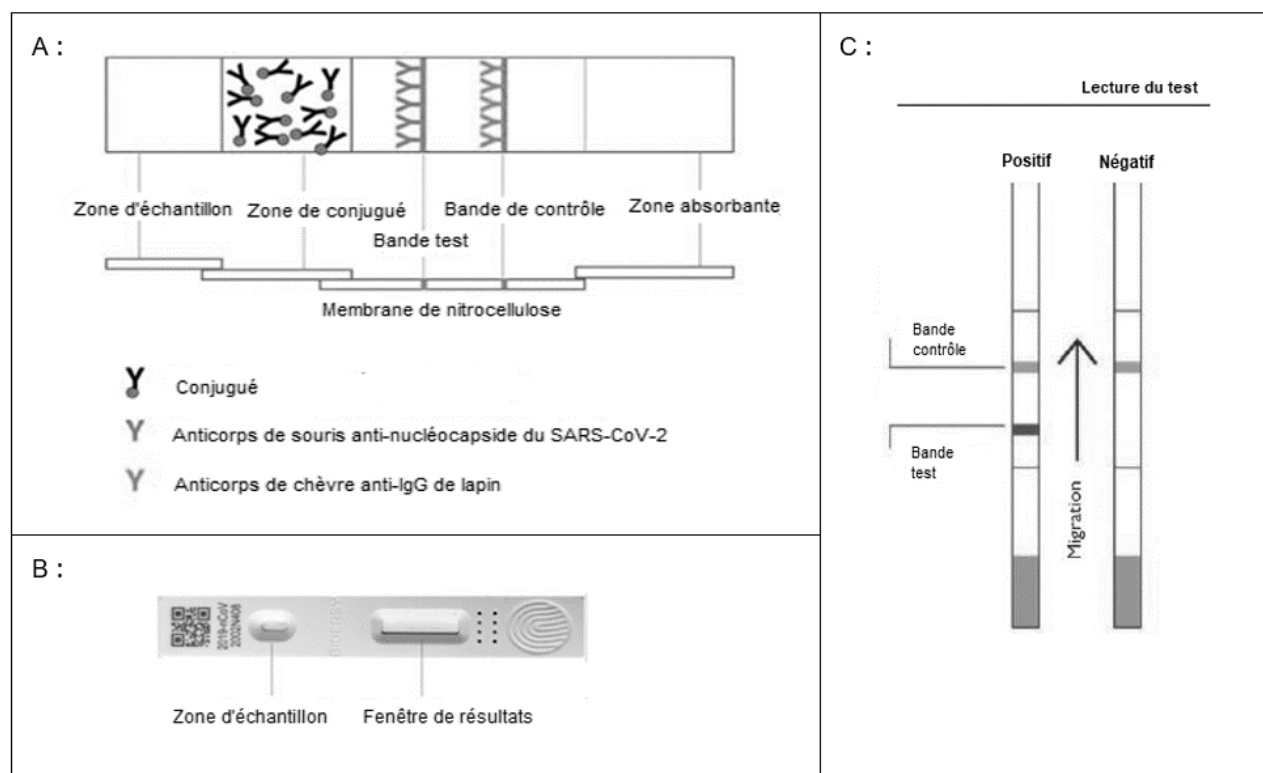
Le TDR est constitué d'une petite bandelette découpée en plusieurs zones (fig. A) :

- La zone d'échantillon sur laquelle sera déposé l'échantillon.
- La zone du conjugué laquelle est imbibée de conjugué.
- La membrane de nitrocellulose sur laquelle apparaissent les bandes « test » et « contrôle ».
- La zone absorbante, qui permet de faire monter l'échantillon en phase aqueuse par capillarité, le long de la bandelette.

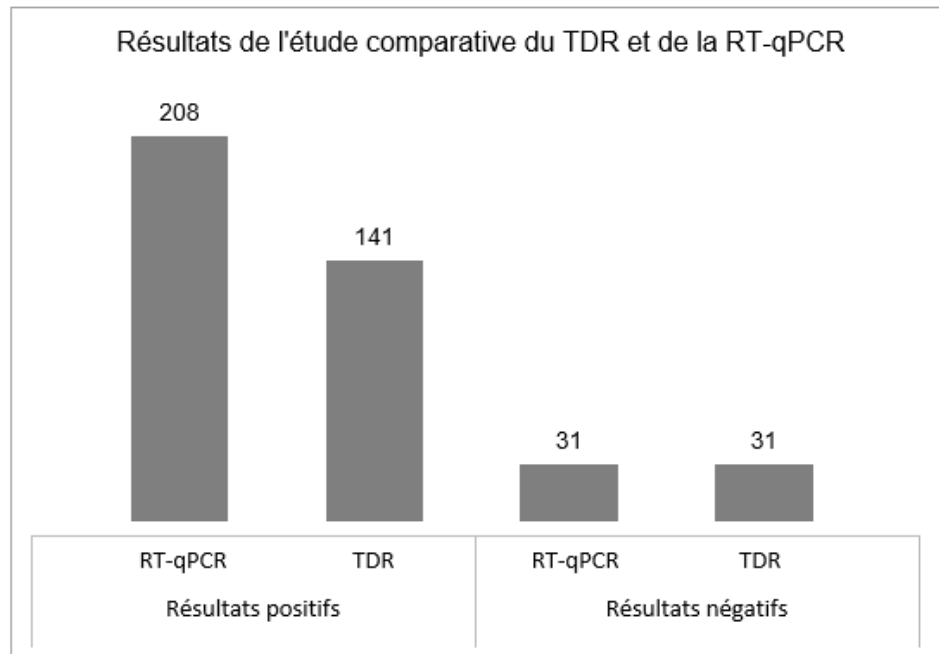
Les anticorps de chèvre anti-IgG de lapin et les anticorps monoclonaux de souris anti-nucléocapside du SARS-CoV-2 sont fixés sur la membrane de nitrocellulose, respectivement, au niveau de la bande « contrôle » et de la bande « test ».

Le conjugué est formé de micro-particule associée à un fluorochrome (europium) sur laquelle est fixé des anticorps monoclonaux anti-nucléocapside du SARS-CoV-2 et des IgG de lapin. Il est situé au niveau de la « zone de conjugué ».

L'échantillon est déposé dans le puits « zone échantillon » (fig. B), il va être emporté par capillarité le long de la bandelette et entraîner le conjugué. La bandelette est ensuite lue dans un analyseur d'immunofluorescence qui va détecter la position des bandes (fig. C).



Source : d'après *Diagnosis of COVID-19 by N antigen detection*, Bo Diao et coll.

**Document 9 : résultats de l'étude comparative du TDR et de la RT-qPCR**

Source : d'après *Diagnosis of COVID-19 by N antigen detection*, BO Diao et coll.

Ce document présente les résultats de tests de 239 patients :

- nombre de patients révélés comme positifs par le test RT-qPCR puis par le test TDR ;
- nombre de patients révélés comme négatifs par le test RT-qPCR puis par le test TDR.

Source : d'après *Diagnosis of COVID-19 by N antigen detection*, BO Diao et coll.

# Sujet de sciences et technologies bioindustrielles 2021

## ÉTUDE DE LA FABRICATION D'UN COMPRIMÉ

Le Lutéran® a obtenu son AMM en 1974. Depuis, près de 400 000 femmes prennent ce médicament quotidiennement. Il est utilisé dans la prise en charge de la ménopause, des troubles menstruels et de l'endométriose notamment. Il existe depuis 2004 sous forme de générique : la chlormadinone.

Dans une entreprise pharmaceutique sous-traitante, une fabrication de ces comprimés est mise en œuvre. Une étude générale de ce produit est réalisée ainsi qu'une étude de son procédé de fabrication dans un but d'optimisation.

### 1. Étude du produit et de sa réglementation

Afin de vérifier le respect de la réglementation pharmaceutique, une étude du produit est réalisée. Le document 1 présente une photographie du packaging de la chlormadinone.

#### 1.1. Voie d'administration et forme galénique du produit

**Q1.** Repérer la forme galénique de ce médicament ainsi que sa forme d'administration dans l'organisme. En déduire s'il s'agit d'une forme systémique ou topique.

**Q2.** Repérer le principe actif présent.

Justifier la présence du lactose et du saccharose dans la liste des excipients à effet notoire.

#### 1.2. Réglementation et cycle de vie

Le cycle de vie du médicament est décrit dans le **document 2**.

**Q3.** Expliciter le sigle AMM. Préciser le nom de l'organisme officiel habilité à délivrer cette AMM.

**Q4.** Schématiser les grandes étapes de recherche et développement d'un médicament.

**Q5.** Expliquer en quoi consiste la pharmacovigilance. Commenter l'intérêt du numéro de lot pour la pharmacovigilance.

#### 1.3. Conditionnement du produit fini

**Q6.** Préciser la nature de l'emballage primaire et secondaire de ce médicament.

### 2. Étude de la fabrication et optimisation d'une opération unitaire

Le **document 3** présente le diagramme de la fabrication du médicament.

**Q7.** Proposer un des contrôles réalisables lors de chacune des étapes A, B, C, D et E.

#### 2.1. Opération unitaire : le séchage

Lors des étapes de fabrication du médicament, comme présenté dans le **document 3**, il existe une étape de séchage. Celle-ci est réalisée grâce à un séchoir à lit fluidisé présenté dans le **document 4**. Avant séchage, le mélange du futur médicament pesait 150 kg. La teneur en eau de ce mélange est de 20 %. Après séchage il n'y a plus que 124 kg.

**Q8.** Reporter sur la copie les numéros 1 à 6 du document 4 et nommer les légendes correspondantes.

Le **document 5** présente un extrait du cahier des charges du médicament à fabriquer.

**Q9.** En admettant qu'il n'y a que des pertes d'eau au cours du séchage, calculer la teneur en eau dans le futur médicament après séchage. Conclure sur la conformité de cette teneur.

Donnée :  $Teneur\ en\ eau\ (en\ pourcentage) = \frac{m_{eau\ dans\ le\ produit}}{m_{totale\ de\ produit}} \times 100$

## 2.2. Opération unitaire : le mélange

Après l'étape de séchage, un broyage est réalisé. Celui-ci est suivi par une seconde étape d'homogénéisation. Un lot de 80 comprimés sera produit à l'issue de cette fabrication.

L'homogénéisation est réalisée dans un mélangeur à cuve mobile de type planétaire pendant 30 minutes mais l'entreprise souhaite optimiser le procédé de fabrication en réduisant sa durée à 15 minutes. Pour cela, elle doit vérifier la qualité de l'homogénéisation. Le NQA (Niveau de Qualité Acceptable) fixé pour cette étape est de 1 %.

Un contrôle par échantillonnage est réalisé pour vérifier l'homogénéité des mélanges après différents temps de mélangeage. Un dosage de principe actif est donc réalisé sur chaque échantillon. Les critères d'échantillonnage et les résultats sont présentés respectivement dans le **document 6** et le **document 7**.

**Q10.** Déterminer les critères du plan d'échantillonnage  $n$ ,  $A$  et  $R$  en fonction du NQA fixé.

Expliquer à quoi correspondent les trois critères évoqués ci-dessus.

**Q11.** Conclure quant à la conformité des deux durées de mélangeage testées.

Pour une durée donnée, des mesures de la teneur en principe actif dans différents échantillons du mélange de médicament sont effectuées afin d'en calculer l'écart-type. Le mélange est qualifié d'homogène si son écart-type n'excède pas la valeur de 0,05 mg de principe actif.

**Q12.** Expliquer en quoi l'écart-type peut permettre d'évaluer la qualité de l'homogénéisation.

**Q13.** Calculer, pour chaque durée de mélange testée, l'écart-type des teneurs en principe actif mesuré.

En déduire quelle durée d'agitation semble la plus adaptée.

## 2.3. Modification du procédé de mélange

Dans l'optique d'optimiser ce procédé de fabrication, des essais sont envisagés en utilisant d'autres types de mélangeurs à cuve fixe : l'un de type planétaire et l'autre de type projection/tourbillonnement. On observe visuellement l'homogénéité du mélange à différents temps grâce à un colorant ayant les mêmes caractéristiques que le principe actif. On suppose pour cette étude que le volume des mélangeurs est adapté au mélange des poudres à réaliser et que le nombre de tours est équivalent quel que soit le type de mélangeur.

L'ensemble des résultats pour cette étude est donné dans le **document 8**.

**Q14.** Analyser les résultats des essais réalisés.

Argumenter le choix du mélangeur à adopter en production au vu de la problématique.

**Document 1 : photographies des différents emballages de la chlormadinone**

*Effet notoire : concerne les produits dont il est obligatoire de notifier leur présence sur l'emballage.*

**Document 2 : le cycle de vie du médicament**

« Dans un premier temps le principe actif doit être identifié et isolé. Cette étape peut prendre plusieurs années et il faut souvent tester plusieurs centaines de molécules pour obtenir un candidat médicament.

Ensuite débiteront les études précliniques qui marquent les premiers pas du développement d'un médicament. Elles apportent les données préliminaires sur le comportement d'une molécule dans des cellules mises en culture et au sein d'organismes animaux vivants.

Puis débute l'évaluation clinique d'un candidat médicament qui correspond au début de son expérimentation chez l'homme. L'objectif est d'évaluer la sécurité du médicament et son efficacité chez des volontaires : le médicament pourra arriver sur le marché si sa balance bénéfice/risque est positive.

L'évaluation clinique repose sur trois phases : La phase I est menée sur des volontaires, sains ou malades en fonction de la molécule évaluée. Il s'agit de la tester pour la première fois chez l'homme afin d'observer son évolution dans l'organisme en fonction du temps et d'évaluer sa toxicité. La phase II se déroule chez des volontaires malades. L'objectif est de déterminer la dose minimale efficace du médicament et ses éventuels effets indésirables. La phase III est la phase finale avant la mise sur le marché, elle permet d'évaluer l'efficacité du médicament sur une cohorte de patients plus importante. Les volontaires sont le plus souvent répartis en deux groupes afin de comparer l'efficacité du candidat médicament à un traitement de référence ou à un placebo. Cette phase dure souvent plusieurs années. Une phase IV existe après la mise sur le marché. Elle permet de suivre l'utilisation du médicament à long terme dans des conditions réelles d'utilisation afin de détecter des effets indésirables rares, des complications tardives ou encore des biais de prescription.

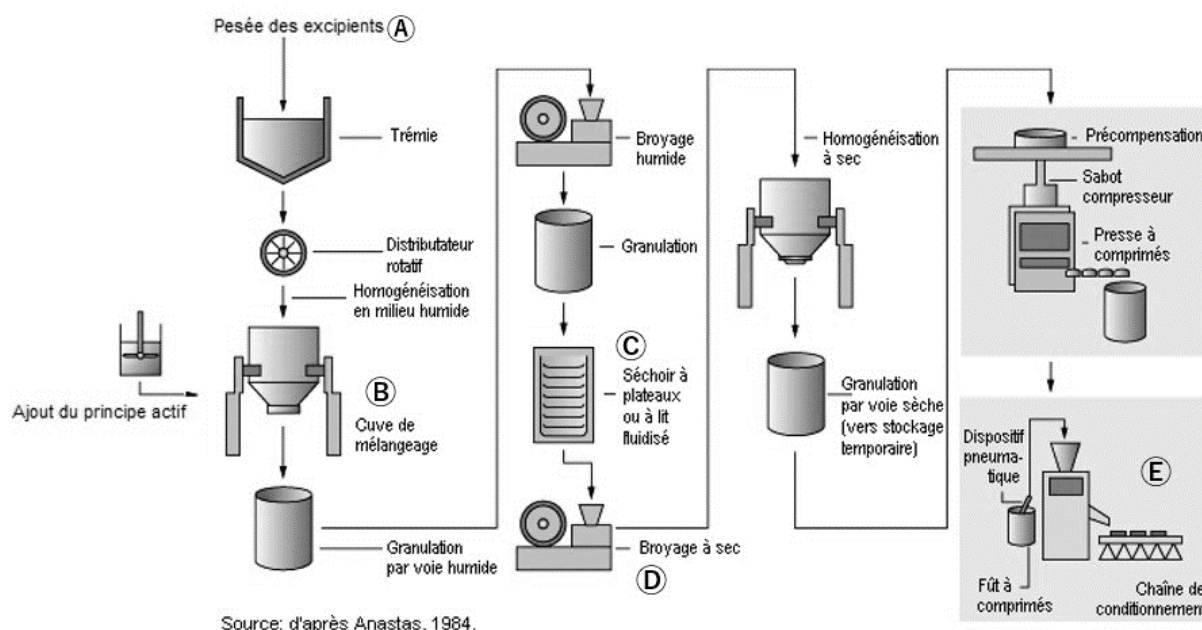
Une fois les études cliniques achevées un laboratoire qui souhaite commercialiser un médicament doit déposer une demande d'AMM auprès d'une agence du médicament. Elle repose sur un dossier d'évaluation établi à partir des données précliniques et cliniques issues des précédentes phases de développement. Pour chaque médicament, l'agence du médicament examine les propositions d'indication de traitement, vérifie l'efficacité et la sécurité de la molécule active et du produit fini et valide la qualité du produit. Il faut compter au minimum un an entre le dépôt du dossier d'enregistrement et l'obtention de l'AMM. L'AMM atteste que le rapport bénéfice/risque est satisfaisant.

Une fois son AMM obtenue et son prix de vente fixé, le médicament peut commencer à être commercialisé. Cependant le suivi post-AMM est obligatoire et se fait grâce à la pharmacovigilance et la pharmaco-épidémiologie (phase IV). »

*Source : d'après dossiers d'information santé sur Inserm.fr*



### **Document 3 : diagramme de fabrication de la chlormadinone**



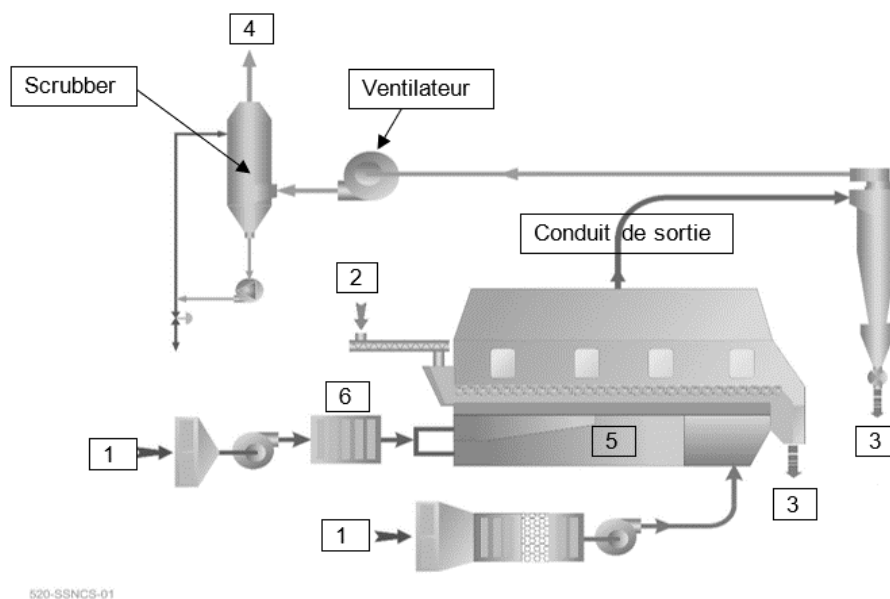
Source : d'après L'industrie pharmaceutique — Keith D. Tait

### **Document 4 : séchoir à lit fluidisé**

#### **Document 4A : présentation du séchoir**

Les produits traités dans un séchoir à lit fluidisé "flottent" sur un coussin d'air chaud. L'alimentation en air chaud du lit se fait par une plaque de distribution perforée et l'air circule à travers le lit de matières solides à une vitesse suffisamment élevée pour supporter le poids des particules dans un état fluidisé. Des bulles se forment et éclatent dans le lit fluidisé, favorisant ainsi le mouvement des particules. Ainsi, les matières solides se comportent comme un liquide en ébullition à écoulement libre. Les taux de transfert massique et thermique très élevés sont le résultat du contact intime entre les particules individuelles et l'air chaud. En fin de conduit, de l'air déshumidifié et froid est envoyé.

#### **Document 4B : schéma du procédé de séchage**



#### **Donnée :**

- Scrubber : cela correspond à une colonne creuse permettant l'épuration de gaz.

Source : d'après Sécheur à lit fluidisé sur [gea.com](http://gea.com)

**Document 5 : extrait du cahier des charges du médicament**

| Extrait du cahier des charges             |                 |
|-------------------------------------------|-----------------|
| Friabilité maximum (en %)                 | 1 %             |
| Teneur en eau médicament (en %)           | $3,0 \pm 0,4$   |
| Variation de masse autorisée (en %)       | 10 %            |
| Masse principe actif par comprimé (en mg) | $5,00 \pm 0,10$ |
| Écart-type maximum toléré en mg           | 0,05            |

**Document 6 : critères d'échantillonnage**

Table pour un niveau de contrôle II, plan simple normal.

| EFFECTIF DES LOTS | LETTRE CODE | EFFECTIF DES ÉCHANTILLONAGES |
|-------------------|-------------|------------------------------|
| 2 à 8             | A           | 2                            |
| 9 à 15            | B           | 3                            |
| 16 à 25           | C           | 5                            |
| 26 à 50           | D           | 8                            |
| 51 à 90           | E           | 13                           |
| 91 à 150          | F           | 20                           |
| 151 à 280         | G           | 32                           |
| 281 à 500         | H           | 50                           |
| 501 à 1 200       | J           | 80                           |
| 1 201 à 3 200     | K           | 125                          |
| 3 201 à 10 000    | L           | 200                          |
| 10 001 à 35 000   | M           | 315                          |
| 35 001 à 50 000   | N           | 500                          |
| 50 001 à 150 000  | P           | 800                          |
| > à 500 001       | Q           | 1 250                        |

| LETTRE CODE | <u>n</u> | A = 0<br>R = 1 | A = 1<br>R = 2 | A = 2<br>R = 3 | A = 3<br>R = 4 | A = 5<br>R = 6                                                          | A = 7<br>R = 8 | A = 10<br>R = 11 | A = 14<br>R = 15 | A = 21<br>R = 22 |
|-------------|----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|
| A           | 2        | 6,5            |                |                |                |                                                                         |                |                  |                  |                  |
| B           | 3        | 4              |                |                |                | Les valeurs de la partie centrale du tableau correspondent aux NQA en % |                |                  |                  |                  |
| C           | 5        | 2,5            | 10             |                |                |                                                                         |                |                  |                  |                  |
| D           | 8        | 1,5            | 6,5            | 10             |                |                                                                         |                |                  |                  |                  |
| E           | 13       | 1              | 4              | 6,5            | 10             |                                                                         |                |                  |                  |                  |
| F           | 20       | 0,65           | 2,5            | 4              | 6,5            | 10                                                                      |                |                  |                  |                  |
| G           | 32       | 0,4            | 1,5            | 2,5            | 4              | 6,5                                                                     | 10             |                  |                  |                  |
| H           | 50       | 0,25           | 1              | 1,5            | 2,5            | 4                                                                       | 6,5            | 10               |                  |                  |
| J           | 80       | 0,15           | 0,65           | 1              | 1,5            | 2,5                                                                     | 4              | 6,5              | 10               |                  |
| K           | 125      | 0,1            | 0,4            | 0,65           | 1              | 1,5                                                                     | 2,5            | 4                | 6,5              | 10               |
| L           | 200      | 0,065          | 0,25           | 0,4            | 0,65           | 1                                                                       | 1,5            | 2,5              | 4                | 6,5              |
| M           | 315      | 0,04           | 0,15           | 0,25           | 0,4            | 0,65                                                                    | 1              | 1,5              | 2,5              | 4                |
| N           | 500      | 0,025          | 0,1            | 0,15           | 0,25           | 0,4                                                                     | 0,65           | 1                | 1,5              | 2,5              |
| P           | 800      | 0,015          | 0,065          | 0,1            | 0,15           | 0,25                                                                    | 0,4            | 0,65             | 1                | 1,5              |
| Q           | 1 250    |                | 0,025          | 0,04           | 0,065          | 0,1                                                                     | 0,15           | 0,25             | 0,4              | 0,65             |

Source : NF ISO 2859-1 Avril 2000

**Document 7 : résultats de l'étude de l'homogénéité de mélange**

Tableau présentant les résultats de dosage du principe actif dans les différents échantillons prélevés et dans deux conditions différentes de mélangeage.

| Durée mélange | Échantillons prélevés        |      |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------|------------------------------|------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|               | Masse de principe actif (mg) |      |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|               | 1                            | 2    | 3     | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   | 12   | 13   |
| 30 min        | 5,02                         | 5,07 | 4,98  | 4,99 | 5,00 | 5,01 | 5,04 | 4,96 | 4,99 | 5,00 | 5,01 | 4,99 | 4,98 |
| 15 min        | 5,07                         | 5,10 | 4, 92 | 4,91 | 5,03 | 5,00 | 5,07 | 4,96 | 4,90 | 4,98 | 4,99 | 5,07 | 5,06 |

**Document 8 : tableau de résultats des tests d'homogénéité du mélangeage obtenus avec des mélangeurs à cuve fixe**

| Temps d'homogénéisation (en minutes) | Évaluation de l'homogénéité visuelle du mélange durée de l'observation (1 minute) |                             |
|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
|                                      | Type de mélangeur à cuve fixe                                                     |                             |
|                                      | Planétaire                                                                        | Projection/tourbillonnement |
| 5                                    | -                                                                                 | ±                           |
| 10                                   | ±                                                                                 | +                           |
| 15                                   | +                                                                                 | ++                          |
| 20                                   | ++                                                                                | ++                          |
| 25                                   | ++                                                                                | ++                          |
| 30                                   | ++                                                                                | ++                          |

**Légendes :**

- : pas d'homogénéité
- +/- : début d'homogénéité
- +
- ++ : homogénéité visuelle parfaite



# **SESSION 2020 - Éléments de corrigé**

# Éléments de corrigé de mathématiques 2020

## EXERCICE 1 :

### A.

- 1) Réponse **d**.  $10 \times 1,3^5 \approx 37,1$  donc il y a environ **37** poissons au bout de 5 mois.
- 2) Réponse **b**. Les solutions de l'équation différentielle  $y' + 0,3y = 0$  sont les fonctions définies sur  $\mathbb{R}$  par  $t \mapsto Ce^{-0,3t}$  où  $C \in \mathbb{R}$ .

$$g(t) = Ce^{-0,3t} \text{ et } g(0) = 10 \Rightarrow Ce^0 = 10 \text{ soit } C = 10. \quad \mathbf{g(t) = 10e^{-0,3t}}$$

### B. Étude statistique

1)

| Concentration en pesticide<br>(en mg/l) ( $x_i$ ) | 0    | 1    | 4    | 5    | 6     | 7     | 8     | 10    |
|---------------------------------------------------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| Nombre d'œufs pondus<br>dans le mois ( $N_i$ )    | 249  | 248  | 246  | 230  | 130   | 50    | 40    | 35    |
| $y_i = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$        | 5,52 | 4,82 | 4,12 | 2,44 | 0,080 | -1,39 | -1,66 | -1,82 |

- 2)  $r \approx -0,95$ .  $r$  est proche de -1. On peut en conclure qu'un ajustement affine du nuage de la série  $(x_i; y_i)$  est possible. Il est cependant de qualité médiocre car  $r$  n'est pas très proche de -1 (ajustement de bonne qualité si  $0,99 < |r| < 1$ )
- 3)  $y = -0,857x + 5,905$ .

4)

- a. Comme  $y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$  et  $y = -0,857x + 5,905$  alors  $-\ln\left(\frac{250}{N(x)} - 1\right) = -0,857x + 5,905$ .

Soit

$$\ln\left(\frac{250}{N(x)} - 1\right) = 0,857x - 5,905 \Rightarrow \frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x - 5,905}$$

$$\mathbf{b. \quad \frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x - 5,905} \Rightarrow \frac{250}{N(x)} = 1 + e^{0,857x - 5,905} \Rightarrow N(x) = \frac{250}{1 + e^{0,857x - 5,905}}}$$

### C. Étude de la fonction

On définit  $f$  sur  $[0, +\infty[$  par  $f(x) = \frac{250}{1 + 0,003e^{0,9x}}$

$$\mathbf{1) \quad \lim_{x \rightarrow +\infty} f(x) = 0 \text{ car } \lim_{x \rightarrow +\infty} 0,9x = +\infty \Rightarrow \lim_{x \rightarrow +\infty} e^{0,9x} = +\infty \Rightarrow \lim_{x \rightarrow +\infty} 1 + 0,003e^{0,9x} = +\infty}$$

2)

$$\mathbf{a. \quad f'(x) = 250 \times -\frac{0,003 \times 0,9e^{0,9x}}{(1 + 0,003e^{0,9x})^2} = \frac{-0,675e^{0,9x}}{(1 + 0,003e^{0,9x})^2}}$$

$$\mathbf{b. \quad f'(x) < 0 \text{ pour tout } x \in [0; +\infty[ \text{ car } e^{0,9x} > 0 \text{ et } (1 + 0,003e^{0,9x})^2 > 0.}$$

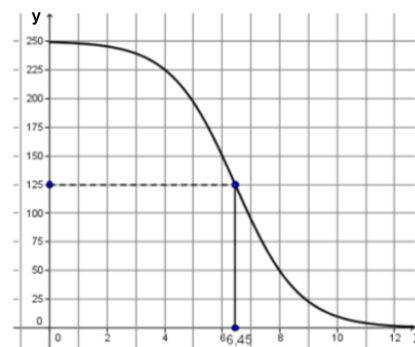
Par conséquent,  $f$  est strictement décroissante sur  $[0; +\infty[$ .

3) Voir ci-contre :

- 4) Si l'eau est sans pesticide, le nombre de poissons est égal à  $f(0) = \frac{250}{1,003} \approx 249,3$ .

On cherche donc la concentration  $x$  qui correspond donc la moitié de  $f(0)$  soit environ 124,6.

À l'aide du mode GRAPH de la calculatrice,  $x \approx 6,5$  mg/l.



On peut également résoudre l'équation  $f(x) = \frac{250}{2,006}$  :

$$\frac{250}{1 + 0,003e^{0,9x}} = \frac{250}{2,006} \Rightarrow 1 + 0,003e^{0,9x} = 2,006 \Rightarrow e^{0,9x} = 335,3333 \Rightarrow x = \frac{\ln(335,3333)}{0,9} \approx 6,5$$

5)

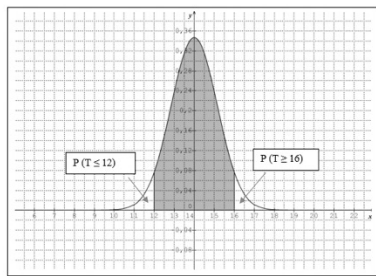
$$\begin{aligned} \frac{1}{6-4} \int_4^6 f(x) dx &= \frac{1}{2} [F(6) - F(4)] \\ &= \frac{1}{2} \left[ -\frac{2500}{9} \ln(e^{-5,4} + 0,003) + \frac{2500}{9} \ln(e^{-3,6} + 0,003) \right] \approx 194 \end{aligned}$$

194 œufs pondus en moyenne par mois pour des concentrations en pesticides comprises entre 4 et 6 mg/l.

## EXERCICE 2 : 8 points

### A. Étude du taux d'hémoglobine chez la femme en France

- 1)  $P(T \leq 12) \approx 0,041$ . La probabilité qu'une femme soit anémiée est de 0,041
- 2)  $P(T \geq 16) \approx 0,041$ . Comme  $\mu = 14$ , alors  $P(T \leq 12) = P(T \geq 16)$ .



### B. Prévisions d'erreurs d'analyses.

- 1) On répète 300 fois de manière indépendante une même épreuve qui admet deux issues :  
succès : « l'analyse est erronée »  $p = 0,005$  et échec : « l'analyse est exacte »  $1-p = 0,995$ .  
 $X$ , nombre de succès, suit donc la loi binomiale de paramètres 300 et 0,005.

2)

- a. La probabilité qu'aucune des 300 analyses de l'échantillon ne soit erronée est égale à  $P(X = 0) \approx 0,222$ .
- b.  $P(2 \leq X \leq 4) = P(X = 2) + P(X = 3) + P(X = 4) \approx 0,424$ .

La probabilité qu'il y ait de 2 à 4 analyses erronées parmi les 300 analyses de l'échantillon est égale à environ 0,424.

### C. Délai des résultats des analyses du taux d'hémoglobine

- 1) On pose  $z = \frac{\bar{Y} - 60}{1,5}$ . Ainsi  $Z$  suit la loi normale centrée réduite.

$$P(60 - h \leq \bar{Y} \leq 60 + h) = P\left(-\frac{h}{1,5} \leq Z \leq \frac{h}{1,5}\right) = 0,95 \Rightarrow \frac{h}{1,5} \approx 1,96 \Rightarrow h \approx 2,94.$$

- 2) Règle de décision du test :

On prélève un échantillon de 100 analyses et on calcule le délai moyen pour fournir le résultat  $m$ .

- si  $m \in I \approx [57,06 ; 62,94]$  on accepte  $H_0$  et on rejette  $H_1$  ;
- si  $m \notin I \approx [57,06 ; 62,94]$  on rejette  $H_0$  et on accepte  $H_1$ .

- 3)  $62,5 \in I \approx [57,06 ; 62,94]$ . On accepte l'hypothèse  $H_0$  et on rejette  $H_1$ .

On peut conclure que le laboratoire a raison quand il affirme que le délai moyen pour fournir les résultats d'une analyse du taux d'hémoglobine est de 60 minutes

# Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2020

## A. À propos de l'élément calcium

A.1.1.  ${}_{20}\text{Ca} = 1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2$

A.1.2.  $\lambda_{31} = \frac{h \cdot c}{\Delta E} = \frac{6,63 \cdot 10^{-34} \times 3,00 \cdot 10^8}{(6,11 - 1,98) \times 1,60 \cdot 10^{-19}} = 3,01 \cdot 10^{-7} \text{ m} = 301 \text{ nm}$

A.1.3.  $\Delta E = \frac{h \cdot c}{\lambda} = \frac{h \cdot c}{589 \cdot 10^{-9} \times 1,6 \cdot 10^{-19}} = 2,11 \text{ eV}$

$E_1 + 2,11 \text{ eV} = -4 \text{ eV}$  : pas de niveau disponible  $\rightarrow$  transition impossible.

A.2.1. Proportionnalité

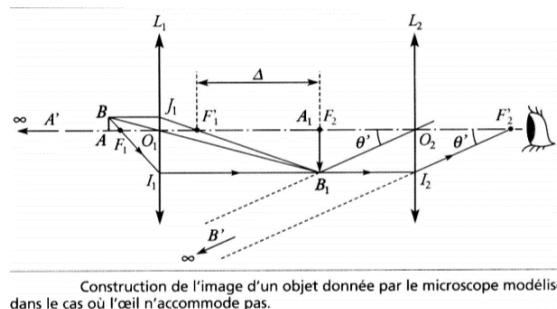
A.2.2.  $L = 0,4 \text{ C}$

A.2.3.  $C = 143,25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Conforme avec un ER = 1,2 %

## B. Observation des conidies

B.1. Sans accommodation, l'œil observe l'image définitive rejetée à l'infini si  $A_1B_1$  est dans le plan du foyer objet de la lentille oculaire.

B.2.



<http://h.pre.free.fr/>

B.3.  $\alpha = \frac{AB}{d_m} = \frac{2 \cdot 10^{-6}}{0,25} = 8 \cdot 10^{-6} \text{ rad}$

B.4.  $G_c = \frac{\alpha'}{\alpha} = 50$

B.5.  $|\gamma_1|_{\min} = \frac{G}{G_2} = \frac{50}{10} = 5 \rightarrow$  soit l'objectif X10

B.6.1.  $\varepsilon = \frac{0,6 \times 500 \cdot 10^{-9}}{0,7} = 428 \text{ nm}$

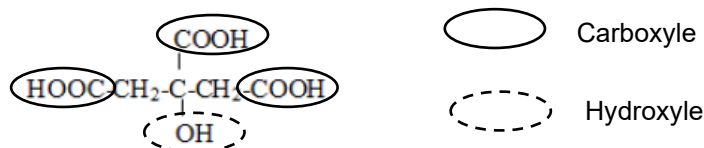
Le seuil d'alerte est de  $2 \mu\text{m}$ .  $0,428 \mu\text{m} < 2 \mu\text{m}$  donc les taches dues aux conidies sont observables au microscope.

B.6.2.  $\varepsilon = \frac{0,6 \times \lambda}{1,52 \times 0,7} = 282 \text{ nm} \simeq 0,28 \mu\text{m}$

$0,28 \mu\text{m} < 0,3 \mu\text{m}$  donc les endospores deviennent observables.

## C. Dosage de l'acide citrique dans la limonade

C.1.



C.2. Matériel utilisé : pipette jaugée de 50 mL

C.3. Courbe 1 :  $\text{H}_3\text{A}$     courbe 2 :  $\text{H}_2\text{A}^-$     courbe 3 :  $\text{HA}^{2-}$     courbe 4 :  $\text{A}^{3-}$

C.4. À l'intersection des courbes 1 et 2 : on a 50 %  $\text{H}_3\text{A}$  + 50 %  $\text{H}_2\text{A}^-$ . La relation devient  $\text{pH} = \text{pKa}$

Lecture sur la courbe de pH :  $\text{pH} = \text{pKa}_1 = 3,1$ .



À l'intersection des courbes 2 et 3 : on a 50 %  $\text{H}_2\text{A}^-$  + 50 %  $\text{HA}^{2-}$ . Sur la courbe de pH,  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{a}2} = 4,5$

À l'intersection des courbes 3 et 4 : on a 50 %  $\text{HA}^{2-}$  + 50 %  $\text{A}^{3-}$ . Sur la courbe de pH,  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{a}3} = 6,5$

**C.5.** Par la méthode des tangentes, on détermine le  $\text{pH}_{\text{eq}}$  et le  $V_{\text{eq}}$  soit respectivement 9 et 75 mL.

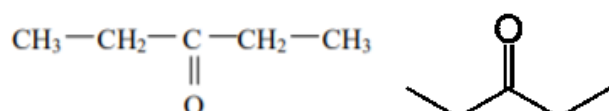
**C.6.** À l'équivalence :  $3 \cdot n(\text{H}_3\text{A dans } 50 \text{ mL}) = n(\text{HO}^- \text{ dans } V_{\text{eq}})$

$$c(\text{H}_3\text{A ; limonade}) = \frac{1}{3} \times \frac{c(\text{NaOH:sol}) \times V_{\text{eq sol NaOH}}}{V_{\text{limonade prelevé}}} = \frac{1}{3} \times \frac{0,1 \times 75}{50} = 0,05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$$

**C.7.** Le  $\text{pH}_{\text{eq}} = 9$  appartient à la zone de virage de l'indicateur coloré du bleu de thymol [8,0 – 9,6].

## D. Le pentan-3-ol

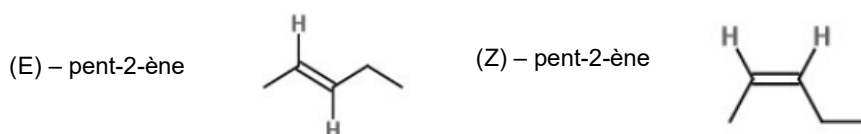
**D.1.1.**



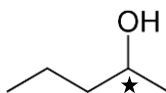
**D.1.2.** pentan-3-one

**D.1.3.**  $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$

**D.2.1.**



**D.2.2.1.** Le pentan-2-ol est la molécule chirale



Le pentan-3-ol n'a pas de carbone asymétrique ( $\text{C}^*$ )

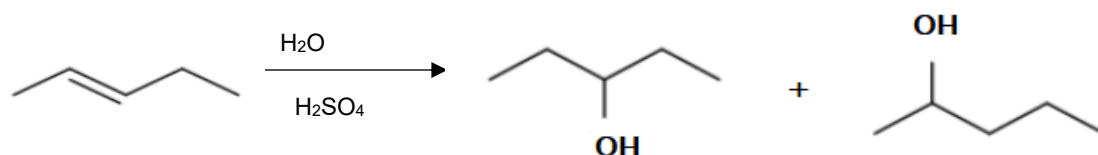
**D.2.2.2.** Énantiomère

**D.2.2.3.**

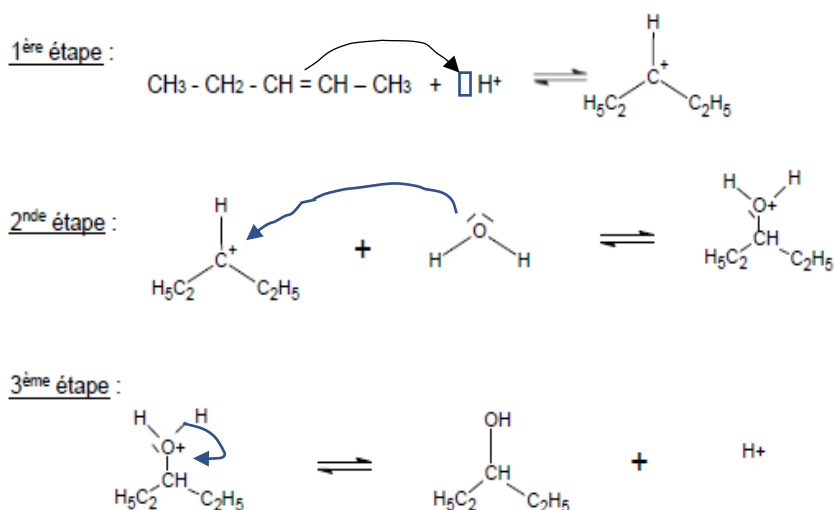


Ordre de priorité des groupements :  $\text{OH} > \text{C}_3\text{H}_7 > \text{CH}_3 > \text{H}$

**D.3.1.**

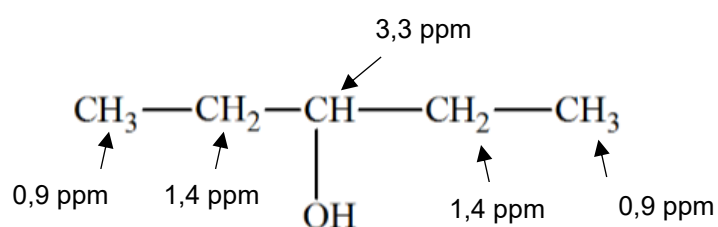


**D.3.2.** Addition électrophile

**D.3.3.****D.3.4.** Intermédiaire C<sup>+</sup> carbocation électrophile

**D.4.** D'après le spectre RMN, comme l'espèce chimique comprend 12 protons : ce ne peut être l'alcène.

- Le spectre IR montre une large bande vers 3 300 cm<sup>-1</sup> : on en conclue que c'est un alcool.
- Un singulet à 2,5 ppm → O-H
- Il reste 3 signaux pour 5 carbones, il y a donc des protons équivalents



# Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2020

## Asparaginase : une enzyme aux propriétés anticancéreuses

1.

**Q1. Nom des voies :** 1. Glycolyse ; 2. fermentation lactique ; 3. cycle de Krebs ; 4. chaîne respiratoire mitochondriale / respiration cellulaire.

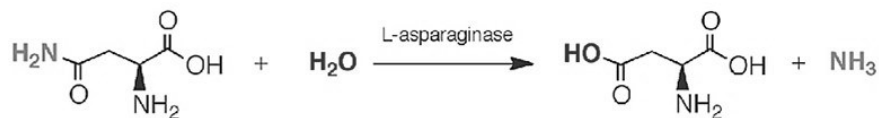
**Voies privilégiées :** Cellules cancéreuses : voies métaboliques anaérobies.  
Donc glycolyse et fermentation lactique.

**Consommation supérieure de glucose :** la fermentation est moins énergétique que la respiration (notion de rendement) donc les cellules doivent consommer plus de glucose pour avoir la même quantité d'énergie.

**Q2. Pertinence du 2-désoxy-D-glucose :** on inhibe la glycolyse donc on prive d'énergie les cellules cancéreuses, mais également les cellules saines donc peu pertinent.

**Q3.** Cela va affecter la fermentation uniquement ce qui ne perturbera pas ou peu les cellules saines.

**Q4.**



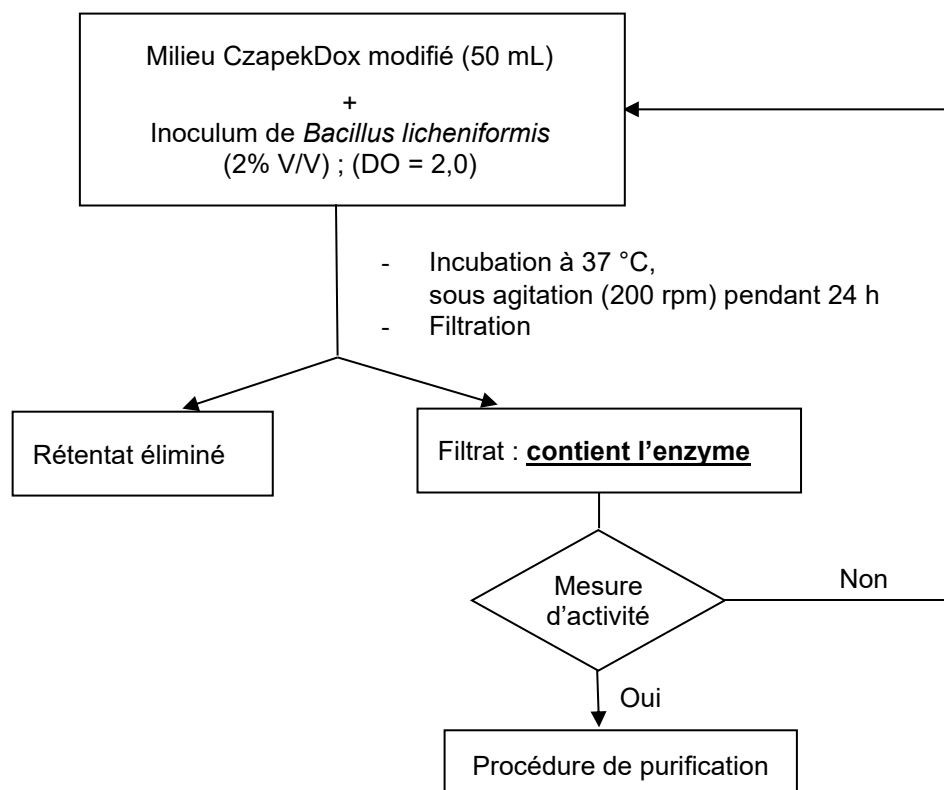
**Q5. Privation en asparagine :**

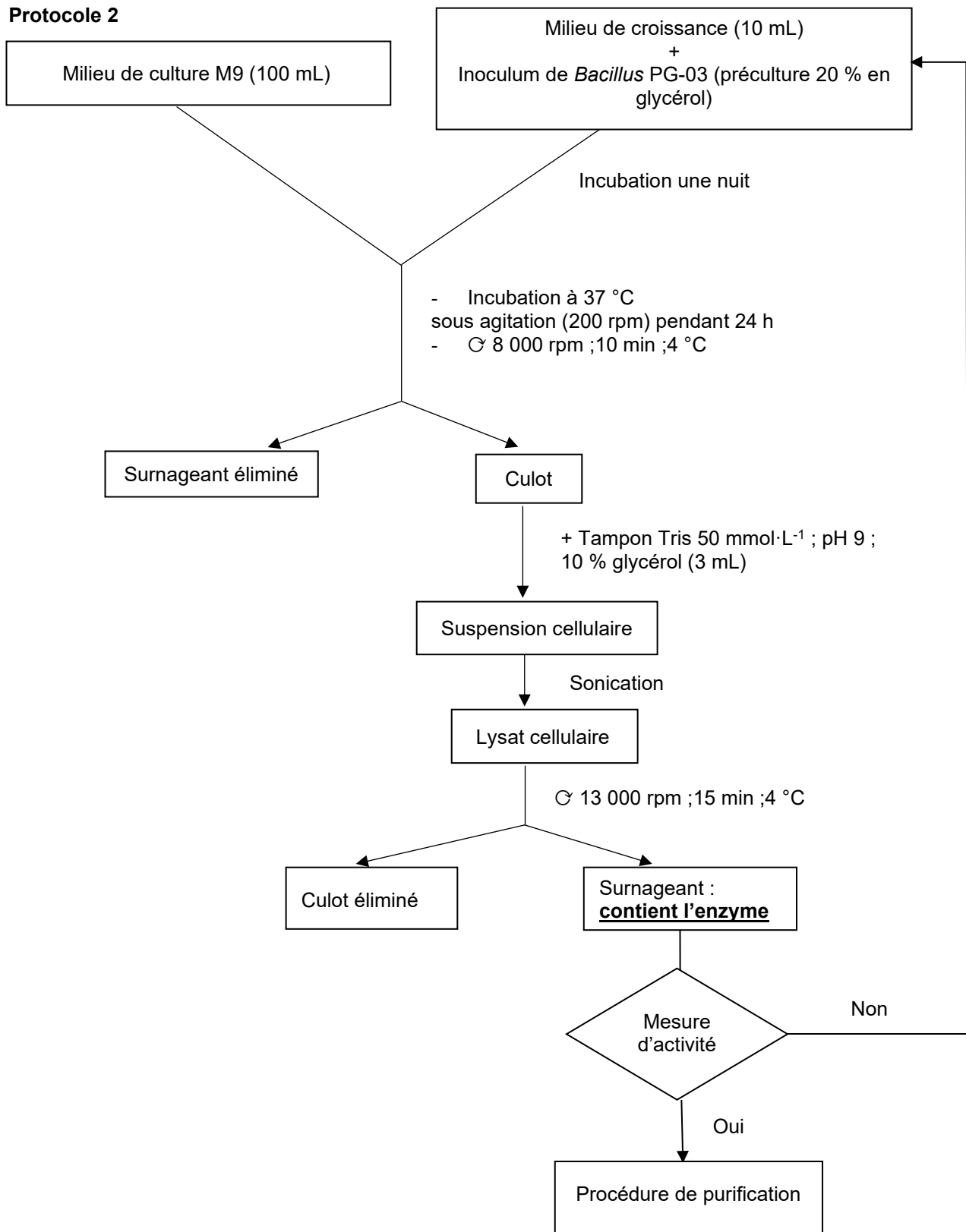
- **cellules saines :** pas d'asparagine exogène mais elles sont capables de synthétiser leur propre asparagine. Donc pas de conséquence sur le métabolisme protéidique.
- **cellules cancéreuses :** elles n'ont plus aucune source d'asparagine, ni endogène, ni exogène. Donc elles ne synthétiseront pas correctement les protéines contenant l'acide aminé Asn.

**Intérêt de l'asparaginase :** ce traitement affectera les cellules cancéreuses mais pas les cellules saines car seules les cellules cancéreuses ne synthétiseront pas correctement leurs protéines.

## 2. Une procédure de purification adaptée aux *Bacillus* sources d'asparaginase

**Q6. Protocole 1**



**Protocole 2**

**Q7. Principe chromatographie :** les molécules chargées négativement vont interagir (liaisons ioniques) avec la résine chargée positivement.

**Élution :** élution avec un gradient de KCl, les ions Cl<sup>-</sup> entrent en compétition avec les molécules retenues par la résine et l'élution se fait graduellement selon la valeur de la charge, ce qui permet d'améliorer la séparation des protéines (diminuer la durée de l'analyse, résolution des pics, ...).

**Q8. Absorbance à 280 nm :** détecter les protéines (et/ou évaluer leur concentration).

**Fractions :** 5-8 car fractions protéiques qui présentent une activité asparaginase.

**Q9.** La dialyse : élimine l'excès de KCl. L'ultrafiltration : élimination complémentaire de KCl (sans modification de concentration) et concentration des protéines dans le rétentat.

**Q10.** Asparaginase partiellement retardée car sa masse moléculaire appartient au domaine de fractionnement donc séparation effective.

**Q11. Expliquer :** le solvant est évaporé, l'échantillon sec est remis en suspension dans un volume plus faible, donc concentration plus élevée.

**Justifier :** dans chaque puits sont déposés 10 µL d'échantillons.

Sans dilution on déposera :  $10 \times 0,76 = 7,6$  µg de protéines.

C'est trop peu car on doit déposer 25 à 50 µg/puits. Il faut donc concentrer l'échantillon.

**Calculer :**  $m_{(\text{prot} ; \text{dialysat})} = 0,76 \times 20 = 15,2$  mg

On souhaite 25 à 50 µg / 10 µL, soit 2,5 à 5 mg/mL

$$V_{\text{minimal}} = \frac{15,2}{5} = 3,04 \text{ mL et } V_{\text{maximal}} = \frac{15,2}{2,5} = 6,08 \text{ mL}$$

**Q12. SDS :** charge négativement les protéines et les dénature / sépare les sous-unités. **Électrophorèse :** en conditions dénaturantes.

**Commenter et conclure :** de moins en moins de bandes au cours de la purification jusqu'à obtenir une seule bande pour le pool Sephadex® G-100. Donc asparaginase purifiée et procédure de bonne qualité.

**Q13. Rôles et précision des temps des incubations :**

L'incubation de 30 minutes est précise car il s'agit de la durée de la réaction enzymatique. Ce temps est utilisé pour déterminer l'activité de l'enzyme.

L'incubation de 10 minutes est moins précise car il s'agit de révéler avec le réactif de Nessler l'ammoniaque déjà formé.

**Rôle du TCA :** Le TCA permet d'arrêter la réaction en dénaturant l'enzyme à pH acide.

**Méthode :** méthode en deux points / discontinue.

**Q14. Définir :**

Rendement R : pourcentage d'activité enzymatique totale récupéré  $\rightarrow R = \frac{Z_{\text{totale à l'étape } n}}{Z_{\text{totale de l'extrait}}} \times 100$

Enrichissement E : degré de purification (par rapport à la première étape) ou taux d'activité spécifique  $\rightarrow$

$$E = \frac{Z_{sp \text{ à l'étape } n}}{Z_{sp \text{ de l'extrait}}}$$

**Calculer et conclure :**

| Étape de purification | Activité spécifique (U/mg) | Rendement (%) | Enrichissement |
|-----------------------|----------------------------|---------------|----------------|
| Extrait enzymatique   | 23,1                       |               |                |
| Sephadex® G-100       | 697,2                      | 33            | 30,2           |

Commentaire pertinent sur les deux paramètres (pertes significatives pour rendement, enrichissement significatif).

**Q15. Intérêt :**  $K_M$  = concentration de S pour laquelle  $v_i = v_{i\text{max}}/2$  ; estimation de l'affinité de l'E pour S.  $v_{i\text{max}}$  = vitesse initiale maximale ;  $v_i$  lorsque la concentration en substrat est saturante ; toute l'enzyme est saturée en substrat  $\rightarrow$  vitesse de catalyse de l'enzyme.

**Justifier :**  $v_{i\text{max}}$  la plus grande donc enzyme la plus rapide ;  $K_M$  le plus faible donc plus d'affinité pour l'asparagine (Q)  $\rightarrow$  Donc enzyme la plus efficace.

**Discuter :** enzyme la plus efficace et extracellulaire donc extraction plus facile malgré une procédure de purification plus longue et plus couteuse.

### 3. L'asparaginase de *B. licheniformis* : caractérisation des propriétés physico-chimiques

**Q16. Composition et rôle :** mélange de protéines de masse moléculaires connues. Étalonage de la colonne.

**Masse moléculaire :** calcul avec équation de régression.  $M = 10^{(-0,588 \times 1,79 + 3,177)} = 133,2$  kDa.

**Mettre en lien :** masse moléculaire native / masse moléculaire d'une sous-unité  $\Rightarrow 133,2 / 33 = 4$  sous-unités.

**Q17. Déterminer :**  $pH_{\text{optimal}} = 9$  et  $T_{\text{optimum}} = 60$  °C.

**Discuter :** ne correspondent pas aux conditions physiologiques. Cependant, à  $pH = 7,4$  et  $T = 37$  °C, l'asparaginase est à environ 70% de son activité maximale donc elle sera efficace.

# Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2020

## La production bioindustrielle de L-lysine

**Q1.** *Corynebacterium* possède une membrane externe en bicouche lipidique (mycomembrane) au-dessus du peptidoglycane comme les bactéries Gram -.

**Q2.** Le principe moléculaire de la coloration de Gram reste mal compris encore aujourd'hui. Plusieurs réponses peuvent donc être acceptées.

- Théorie de l'imperméabilité de la paroi Gram + au complexe violet-iodo : le cristal violet traverse la paroi et colore le cytoplasme ou le périplasme (localisation mal déterminée). L'iode traverse la paroi et forme un complexe de grande taille avec le cristal violet : c'est le mordantage. La couche épaisse de peptidoglycane des Gram + piège le complexe violet-iodo dans la bactérie qui n'est pas décolorée sous l'action de l'alcool et reste donc violette.
- Théorie de l'imperméabilité de la paroi Gram+ à l'alcool : le cytoplasme est coloré en violet grâce au cristal violet. La présence d'une épaisse couche de peptidoglycane empêche la pénétration de l'alcool, donc le cytoplasme n'est pas décoloré. La bactérie reste violette malgré les autres étapes de la coloration

**Q3.** Définition mutagenèse : technique utilisant un agent physique ou chimique provoquant une mutation de l'ADN.

Ex : UV ou agent chimique approprié (éthylméthylsulfate...).

**Q4.** Nature des molécules : protéique

Grandes étapes :

- désorption du mélange et ionisation des protéines sous l'action d'un laser UV - séparation des ions en fonction de leur rapport masse / charge
- détection
- traitement des données
- (comparaison des spectres à une base de données)

Intérêt principal : beaucoup plus rapide (accepter si meilleure identification)

**Q5.** Analyses : - qualitativement : trois pics (protéine X, Por A et H) identifiés par m/z sur les deux spectres ; - quantitativement : concentrations plus élevées pour Por H et plus faible pour Por A pour le mutant Por A. Conclusion : cette technique permet une bonne différenciation des deux souches.

**Q6.** Pour la souche Eh, l'absence d'enzyme Eh bloque la voie de production de l'homosérine : donc le  $\beta$ -SA-ASP est totalement transformé en lysine.

Pour la souche Ec, l'impossibilité de rétro-inhibition par les acides aminés produits permet à la synthèse de lysine de se poursuivre même si sa concentration intracellulaire est importante.

Dans les deux cas, la synthèse de lysine est accrue donc il y a eu optimisation des souches (bilan non exigé).

**Q7.** La lysine est une molécule ionisée globalement polaire donc franchit mal la couche d'acides mycoliques de nature hydrophobe. Fragiliser cette mycomembrane facilite le passage de l'acide aminé.

**Q8.** Tableau à deux colonnes avec les besoins élémentaires et spécifiques bien classés, et rôles des constituants sans erreurs majeures.

| Besoins élémentaires                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Besoins spécifiques (organiques)                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Glucose : source de <u>carbone</u> et d' <u>énergie</u><br>(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : source d' <u>azote</u> et de <u>soufre</u><br>NaCl : <u>isotonie</u> du milieu<br>KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> et K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> : système <u>tampon</u><br>MgSO <sub>4</sub> : <u>source de magnésium</u> et de <u>soufre</u><br>Solution ionique : <u>source d'oligoéléments</u> | L-homosérine, biotine, thiamine : <u>facteurs de croissance</u> |

Milieu synthétique = composition connue avec précision, qualitativement et quantitativement.

**Q9.** Hétérotrophe = nécessité d'une source de C autre que CO<sub>2</sub> ; donc présence de glucose  
 Auxotrophe = nécessité de facteur de croissance ; donc présence de vitamines ou d'acides aminés

**Q10.** Deux possibilités :

Possibilité 1 : détermination de Q<sub>x</sub> par la pente, puis calcul de G.

Q<sub>x<sub>expo</sub></sub> = coefficient directeur de la droite de la phase exponentielle

Pour deux points pris en phase exponentielle (valeurs du tableau ou du graphique) :

$$Q_{x_{expo}} = \frac{(\ln X_2 - \ln X_1)}{(t_2 - t_1)} = \frac{(1,86 - 0,800)}{(15 - 11)} = 0,27 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{Puis } G = \frac{\ln 2}{Q_{x_{expo}}} = \frac{0,7}{0,265} = 2,64 \text{ h}$$

Possibilité 2 : Détermination graphique de G, et calcul de Q<sub>x</sub>

Report en abscisses de deux points en ordonnées, en phase exponentielle, séparés par ln2. G obtenu = 2,5 h

$$\text{Puis } Q_{x_{expo}} = \frac{\ln 2}{G} = \frac{0,7}{2,5} = 0,28 \text{ h}^{-1}$$

**Q11.** Pour diminuer G : modification de la température à une valeur plus proche de l'optimum, modification de la vitesse d'agitation et de l'apport en oxygène (vvm à augmenter) ...

**Q12.** La préculture permet d'obtenir un inoculum de densité suffisante pour ensemercer le fermenteur et permettre un démarrage rapide de la fermentation.

La mélasse est une base nutritive riche en glucides donc une source de C et d'énergie.

La mélasse est un produit bon marché ; un recyclage d'un résidu de l'industrie sucrière.

**Q13.** Dans l'ordre :

A. Fermentation discontinue ou *batch* : pas d'entrée pas de sortie pendant le process.

B. Fermentation discontinue alimentée ou *fed-batch* : apport de milieu neuf, mais sans soutirage pendant le process.

C. Procédé de culture continu ou *continuous culture* : soutirage du moût en parallèle d'un apport de milieu neuf.

**Q14.** Productivité volumique horaire maximale :  $Pm = \frac{(23 - 0,0)}{(70 - 0,0)} = 33 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

Productivité volumique horaire finale :  $Pf = \frac{(25 - 0,0)}{(120 - 0,0)} = 0,21 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

**Q15.** Production de lysine qui stagne à partir de 70 h.

Productivité finale optimale serait atteinte en arrêtant la fermentation à 70 h.

**Q16.** Calcul Y<sub>L/S</sub> posé

$$Y_{L/S} = \frac{(25 - 0,0)}{(60 - 8,0)} = 0,48 \text{ g de lysine} \cdot \text{g}^{-1} \text{ de saccharose}$$

La souche M présente une meilleure productivité par rapport à la souche sauvage (0,088 g de lysine·g<sup>-1</sup> de saccharose).

**Q17.** 1 : conidie ou spore ; 2 : phialide ; 3 : métule ; 4 : vésicule ; 5 : conidiophore

Tête aspergillaire avec spores périphériques = genre *Aspergillus*.

**Q18.** Ajouter dans le milieu K-S un agent antifongique adapté.

**Q19.** La boîte n°2 contient le milieu K-S sans homosérine. Seuls les mutants réverses perdent leur exigence vis-à-vis de l'homosérine et se développent.

Taux de réversion =  $\frac{\text{nombre de mutants réverses}}{\text{nombre total}} \times 100 = \frac{3}{10} \times 100 = 30 \%$ . Ce taux est très élevé (1 bactérie sur 3 perd la mutation), la mutation n'est pas stable.

# Éléments de corrigé de BCM et de technologies d'analyse 2020

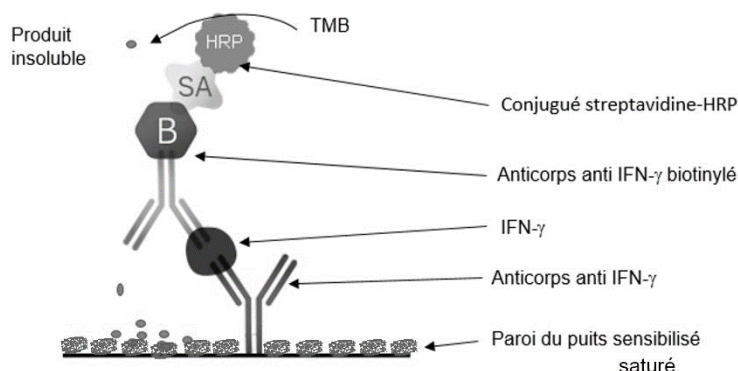
## Nouvelles stratégies vaccinales : Induction d'une immunité des muqueuses

### 1. Obtention d'une suspension virale titrée.

- Q1.** Le schéma du document 1 montre que le BRSV est un virus enveloppé, icosaédrique à ARN simple brin, à polarité négative (non segmenté).
- Q2.** Un mécanisme possible de pénétration cellulaire est l'endocytose du virus suivi de la fusion de l'enveloppe avec la membrane de l'endosome. Autre mécanisme possible : suite à l'attachement du virus à la membrane plasmique, la fusion de l'enveloppe avec la membrane plasmique.
- Q3.** L'enveloppe est formée d'une membrane, structure très fragile, sensible à de nombreux agents physico-chimiques. Son altération inactive le virus.
- Q4.** Exemples d'ECP : modification forme des cellules (cellules ballonnées), modification de la proportion de cellules vivantes (mortes), modifications de confluence, plage de lyse, formation de syncytia.
- Q5.** Témoins cellulaires de la colonne 10 : présence d'un tapis donc bonne viabilité des cellules sans ECP non spécifiques. Validation de la technique et résultats interprétables.  
On observe que la dilution correspondant à 50 % de puits infectés (4/8) se situe à  $10^{-6}$  : donc on peut estimer la  $d_{50} = 10^{-6}$  soit un titre =  $10^6 / 0,1 = 10^7$  unité virale /mL.

### 2. Étude de l'efficacité de préparations vaccinales dans un modèle murin.

- Q6.** L'étape A2 permet de saturer les sites non spécifiques des cupules par la sérulalbumine et ainsi éviter la fixation non spécifique du conjugué qui donnerait un bruit de fond important.
- Q7.** Plaque sensibilisée par Ac anti IFN- $\gamma$  + SAB + cellules à tester + sans lysat de cellules infectées par le BRSV (tampon) + Ac de détection biotinylé anti IFN- $\gamma$  + conjugué streptavidine HRP + TMB + eau désionisée.
- Q8.** Schéma d'édifice moléculaire :

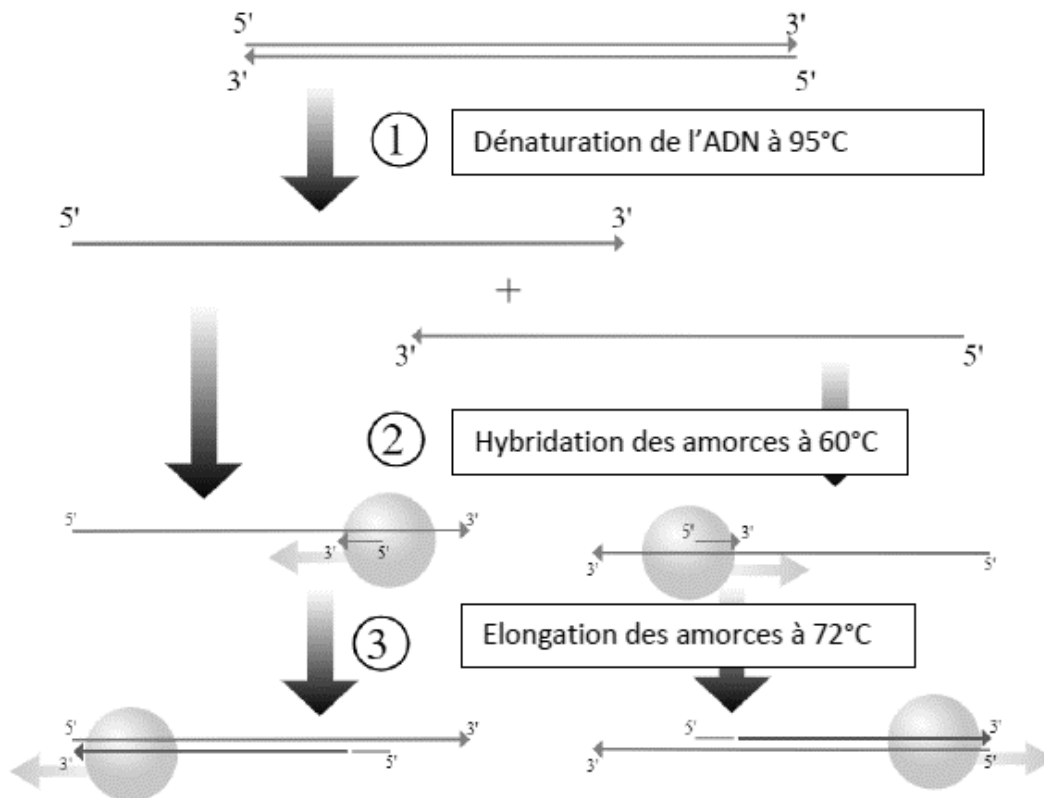


- Q9.** Le lot de souris « saline » ayant reçu une injection de PBS est un lot témoin et permet de montrer la proportion basale de cellules sécrétant l'interféron et la sécrétion basale des IgA.
- Q10.** Les différentes associations vaccinales induisent une réponse anticorps IgA chez les animaux vaccinés par voie nasale par rapport aux animaux témoins, mais la réponse est plus importante pour l'association CpG et PP.
- Q11.** En ce qui concerne les cellules sécrétant l'IFN- $\gamma$ , la combinaison des 2 adjuvants est également la meilleure.
- Q12.** En conclusion, parmi les 3 formulations vaccinales, la combinaison CpG et PP permet une meilleure production d'IgA caractéristique des muqueuses et une réponse immunitaire bien adaptée aux agents pathogènes intracellulaires tels les virus.



**Q13.** La synthèse des ADNc à partir d'ARN nécessite une Réverse Transcriptase : ADN polymérase ARN dépendante nécessitant une amorce et polymérisant de 5' vers 3'.

**Q14.** Schéma :



Le SYBR Green I se fixe sur l'ADN double brin, il faut donc réaliser la mesure de la fluorescence à la fin de l'étape d'élongation, juste avant l'étape de dénaturation.

**Q15.** Le Ct correspond au nombre de cycles nécessaires pour que la fluorescence dépasse le seuil de détection (> bruit de fond), c'est-à-dire un nombre d'amplicons suffisant. Donc plus le nombre d'exemplaires initial de la séquence cible présente dans le milieu réactionnel avant amplification est faible, plus il faut de cycles d'amplification pour atteindre cette quantité d'ADN et donc plus le Ct est élevé.

**Q16.** La courbe 3 correspondant au témoin négatif n'atteint pas la valeur seuil, le résultat est donc négatif, on peut valider les résultats.

Le Ct correspondant à la courbe 2 est supérieur à celui de la courbe 1 ce qui traduit une charge virale moins importante chez les souris vaccinées. Le vaccin avec adjuvant BRSV + PP + CpG a donc été efficace.

# Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2020

## Valorisation d'un co-produit de l'industrie fromagère : le lactosérum

### 1. Génération du lactosérum à partir du lait

**Q1.** Composant majoritairement impliqué : matières azotées totales (lait : 32 g/L lactosérum : 8-9 g/L)  
Famille de biomolécules dans le caillé : protéines (caséines)

**Q2.** 2 outils technologiques sont présentés :  
Présure (outil 1) : solution d'enzymes (chymosine).  
SAP IDC (outil 2) : ferments lactiques (bactéries) (des genres *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Lactobacillus*).

Le lactosérum acide provient de l'action de ferments lactiques sur le lactose du lait avec formation d'acide lactique. Le lactosérum obtenu est donc plus acide et contient moins de lactose que dans le lait initial. Le lactosérum doux est issu de l'action enzymatique de la chymosine sur les protéines (caséines) sans modification significative du pH. Le taux de lactose est le même que dans le lait.

**Q3.** Rétraction du caillé amplifiée qui fait sortir le lactosérum.

### 2. Impact polluant du lactosérum

**Q4.** La DCO détermine la matière organique totale ainsi que les minéraux tandis que la DBO détermine la MO biodégradable.

Un rapport DCO/DBO5 proche de 1 signifie que toute la matière polluante de l'effluent est biodégradable, donc consomme du dioxygène.

**Q5.** Le lactosérum est un effluent plus acide que les eaux usées domestiques. Sa DCO est largement plus élevée.

$\frac{DCO}{DBO5_{\text{eaux usées}}} > \frac{DCO}{DBO5_{\text{lactosérum}}}$  donc biodégradabilité<sub>lactosérum</sub> > biodégradabilité<sub>eaux usées</sub>.

**Q6.** Gamme de lecture 0 à 15 000 mg/L : les concentrations situées entre 0 et 15 000 mg/L peuvent être déterminées.

Sensibilité étant de 10 mg/L, on ne peut pas différencier deux échantillons dont la différence est inférieure à 10 mg/L.

La DCO du lactosérum est de 50 000 à 70 000 mg/L. Elle est supérieure à 15 000 mg/L, il faut diluer le lactosérum.

**Q7.** Coefficient de corrélation proche de 1 : résultats corrélés, la méthode est aussi juste que la méthode de référence.

Pente proche de 1 : la valeur mesurée par chacune des deux méthodes est identique (si  $R^2$  proche de 1) : la méthode est aussi fidèle que la méthode de référence (pas d'erreur systématique).

Les 2 coefficients pour la méthode rapide sont plus proches de 1 que ceux de la méthode classique déjà validée, donc la méthode rapide peut être validée.

### 3. Fabrication du lactose à partir du lactosérum

**Q8. Raison :** preuve que l'entreprise s'est engagée dans la protection de l'environnement (pour affichage, satisfaction client...).

**Q9.** Les protéines sont les constituants du lactosérum éliminés dans le rétentat car ce sont des grosses molécules qui ne peuvent pas traverser les pores de la membrane d'ultrafiltration.

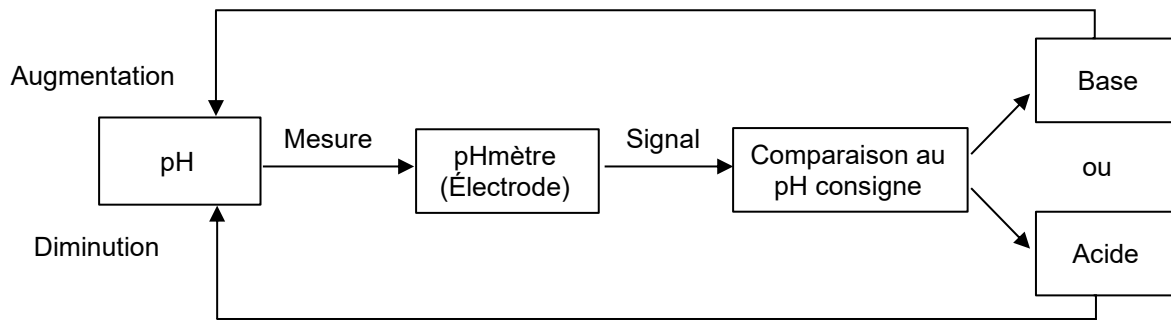
**Q10.** La résine cationique permet de réduire la teneur en  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^+$  et la résine anionique permet de réduire la teneur en phosphates.

(Exemple d'équation de réaction pour la résine cationique :  $\text{Res-SO}_3^-, \text{H}^+ + \text{Na}^+ \rightarrow \text{Res-SO}_3^-, \text{Na}^+ + \text{H}^+$ )  
Les cations du lactosérum sont échangés avec des protons, d'où la baisse de pH.

#### 4. Production de levures sur milieu au lactosérum

**Q11.** Dans un fermenteur air-lift, l'agitation est réalisée par introduction d'air : les levures ne sont pas abimées par des pâles (cisaillement). La production de biomasse sera accélérée par une meilleure oxygénation du milieu favorisant le métabolisme aérobie.

**Q12.** Régulation pH, température, substrat, antimousse, oxygène dissous.



**Q13.**

$$t_{121^{\circ}\text{C}} = (n \times D_{121^{\circ}\text{C}}) = 12 \times 0,2 = 2,4 \text{ min.}$$

La durée de stérilisation à 111 °C sera 10 fois plus grande donc 24 min.



# **SESSION 2021 - Éléments de corrigé**

# Éléments de corrigé de mathématiques 2021

## EXERCICE 1

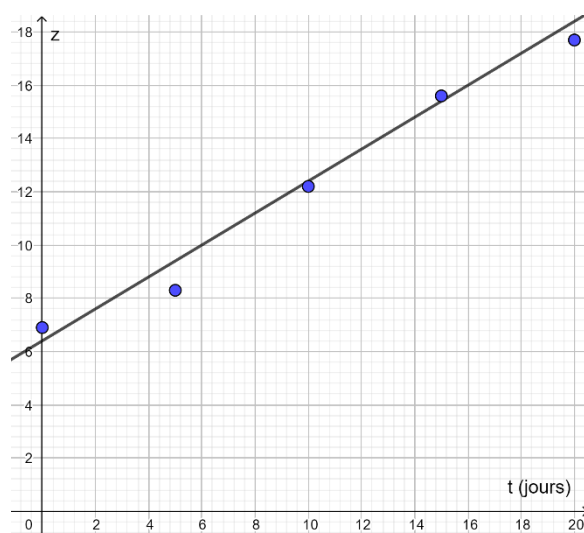
### PARTIE A :

1.  $z_i(t) = \ln(N_i)$  :

| Nombre de jours de conservation $t_i$                | 0     | 5     | 10      | 15        | 20         |
|------------------------------------------------------|-------|-------|---------|-----------|------------|
| Nombre $N_i$ de germes putréfiants par $\text{cm}^2$ | 1 000 | 4 000 | 199 000 | 5 960 000 | 48 600 000 |
| $z_i = \ln(N_i)$                                     | 6,9   | 8,3   | 12,2    | 15,6      | 17,7       |

2. On obtient :  $z = 0,58t + 6,36$

3.



4. Pour  $t = 25$ , on obtient en supposant l'ajustement entre les variables  $t$  et  $z$  toujours valables (valable jusqu'au 30<sup>e</sup> jour)

$$z = 0,58 \times 25 + 6,36 = 20,86$$

Comme  $z = \ln(N)$  alors  $N = e^z$  donc si  $z = 20,86$  alors  $N = e^{20,86} \simeq 1,147 \cdot 10^9$

Au bout de 25 jours, on peut estimer le nombre de germes à 1 147 000 000.

### PARTIE B :

Soit  $f$  la fonction définie sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$  par  $f(t) = 600e^{0,6t}$ .

$$1. \lim_{t \rightarrow +\infty} 0,6t = +\infty \Rightarrow \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{0,6t} = +\infty \Rightarrow \lim_{t \rightarrow +\infty} 600e^{0,6t} = \lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = +\infty$$

Interprétation : si on attend très longtemps, le nombre de germes deviendra très grand, presque infini.

$$2. f(t) = 600e^{0,6t}$$

$$f'(t) = 600 \times (0,6e^{0,6t}) = 360e^{0,6t}$$

$$3. f'(t) > 0 \text{ car } e^{0,6t} > 0 \text{ (exponentielle)}$$

Donc  $f$  est strictement croissante : le nombre de germes augmente avec le temps de conservation.

$$4. \quad m = \frac{1}{10-5} \int_5^{10} f(t) dt = \frac{1}{5} \int_5^{10} f(t) dt$$

a)  $m$  est la valeur moyenne de  $f(t)$  sur l'intervalle  $[5;10]$ , c'est-à-dire le nombre de germes moyen pour un temps de conservation compris entre 5 et 10 jours.

$$b) \quad f(t) = 600e^{0,6t} \Rightarrow F(t) = 600 \times \frac{1}{0,6} e^{0,6t} = 1000e^{0,6t}$$

$$c) \quad \text{On a donc } \int_5^{10} f(t) dt = \left[ F(t) \right]_5^{10} = F(10) - F(5) = 1000e^{0,6 \times 10} - 1000e^{0,6 \times 5} = 1000e^6 - 1000e^3$$

$$\text{Donc } m = \frac{1}{5} \int_5^{10} f(t) dt = \frac{1}{5} (1000e^6 - 1000e^3) = 200e^6 - 200e^3$$

5.

5 a)

$$f(t) < 3000 \Rightarrow 600e^{0,6t} < 3000 \Rightarrow e^{0,6t} < \frac{3000}{600} = 5 \Rightarrow 0,6t < \ln 5 \Rightarrow t < \frac{\ln 5}{0,6} \simeq 2,68$$

5 b) Au-delà de 2,68 jours, le nombre de germes est supérieur à 3000. Donc, l'usine ne peut conserver la viande plus de 2 jours avant de la commercialiser.

6.

6.a)

En faisant fonctionner l'algorithme à la main, ou en établissant un tableau de valeurs de la fonction  $f$  définie par

$f(t) = 600e^{600t}$  pour des valeurs entières de  $t$ , on en déduit que l'algorithme affichera la valeur  $J = 7$

$$\text{car } f(6) = 600e^{3,6} \simeq 22\,000 < 27\,000$$

$$\text{Et } f(7) = 600e^{4,2} \simeq 40\,000 > 27\,000$$

6.b)  $J$  est le nombre de jours à partir duquel le nombre de germes/cm<sup>2</sup> dépasse 27 000 (où la viande ne peut être vendue).

En conclusion : la viande ne pourra pas être vendue plus de 6 jours après sa fabrication.

Au bout de 7 jours, elle sera invendable car le nombre de germes/cm<sup>2</sup> aura dépassé 27 000.

## EXERCICE 2

### PARTIE A

1. Voir ci-dessous (on peut aussi faire un tableau)

Arbre :

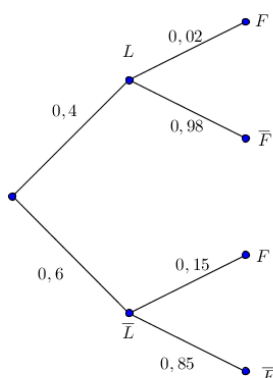


Tableau :

|           | L                                    | $\bar{L}$          | Total |
|-----------|--------------------------------------|--------------------|-------|
| F         | 2% de 40 =<br>$0,02 \times 40 = 0,8$ | 15% de 60<br>$= 9$ | 9,8   |
| $\bar{F}$ | $40 - 0,8 = 39,2$                    | $60 - 9 = 51$      | 90,2  |
| Total     | 40                                   | 60                 | 100   |

2. D'après la formule des probabilités totales :  $P(F) = P(L \cap F) + P(\bar{L} \cap F) = 0,4 \times 0,02 + 0,6 \times 0,15 = 0,098$   
(C'est également ce qu'on constate avec le tableau)
3. On sait que le spa possède un problème de filtration

$$\text{On cherche donc : } P_F(\bar{L}) = \frac{P(\bar{L} \cap F)}{P(F)} = \frac{0,6 \times 0,15}{0,098} \approx 0,918$$

La probabilité que le spa n'ait pas de lampe UV s'il a un problème de filtration est égale à 0,918.

4. a) Estimation ponctuelle  $f = \frac{12}{78} \approx 0,154$   
b) Estimation par intervalle de confiance au coefficient de confiance 95%

$$I_{0,95} = \left[ f - 1,96 \sqrt{\frac{f(1-f)}{n-1}} ; f + 1,96 \sqrt{\frac{f(1-f)}{n-1}} \right] \text{ avec } f = 0,154 \text{ et } n = 78$$

(Remarque : la formule tient compte du biais statistique)

$$\text{D'où : } I_{0,95} = \left[ 0,154 - 1,96 \sqrt{\frac{0,154 \times 0,846}{77}} ; 0,154 + 1,96 \sqrt{\frac{0,154 \times 0,846}{77}} \right] = [0,113 ; 0,195]$$

## PARTIE B

$$f(t) = \lambda e^{-\lambda t}$$

1. D'après la formule  $f(t) = \lambda e^{-\lambda t}$ , on a  $f(0) = f(t) = \lambda e^0 = \lambda$   
La valeur de  $\lambda$  est donc l'image de 0. Graphiquement, on lit  $f(0) = 0,00026$  donc  $\lambda = 0,00026$
2. On sait que pour une variable  $X$  qui suit une loi exponentielle de paramètre  $\lambda$ , on a  $E(X) = \frac{1}{\lambda}$

Donc  $E(X) = \frac{1}{0,00026} \approx 3846$ . La durée de vie moyenne des lampes est 3846 h  $\Rightarrow$  La proposition est fausse.

3.  $X$  est la durée de vie sans panne, on cherche donc  $P(X \geq 500) = 1 - P(X \leq 500)$

$$\begin{aligned} \text{Avec } P(X \leq 500) &= \int_0^{500} \lambda e^{-\lambda t} dt = \left[ -e^{-\lambda t} \right]_0^{500} = \left[ -e^{-0,00026t} \right]_0^{500} = -e^{0,00026 \times 500} - (-e^{-0,00026 \times 0}) = e^{-0,13} - (-e^0) \\ &= 1 - e^{-0,13} \end{aligned}$$

$$\text{Donc : } P(X \geq 500) = 1 - P(X \leq 500) = 1 - (1 - e^{-0,13}) = e^{-0,13}$$

La probabilité qu'une lampe n'ait pas de panne durant les 500 premières heures est bien égale à  $e^{-0,13}$ .

## PARTIE C

1.  $Y$  suit une loi binomiale car on répète 50 fois la même épreuve de Bernoulli (2 issues contraires : la durée de vie dépasse 1000 h, ou pas) de façon indépendante (la probabilité de dépasser 1000 h est la même pour toute lampe).  
 $Y$  compte le nombre de lampes dont la durée d'utilisation dépasse 1000 h parmi les 50.  
Les paramètres sont  $N = 50$  et  $p = 0,77$ .
2.  $P(Y \geq 42) = 1 - P(Y \leq 41) \approx 0,156$  : la probabilité qu'au moins 42 lampes dépassent 1000 h est égale à 0,156.  
 $E(Y) = N \times p = 50 \times 0,77 = 38,5$ . En moyenne, sur un échantillon de 50 lampes prises au hasard, 38,5 auront une durée de vie supérieure à 1000 h.



# Éléments de corrigé de sciences physiques et chimiques 2021

## A. Des bananes radioactives (9,5 points)

1.  $Z = 19$  : 19 protons.

$A = 40$  : 40 nucléons donc  $40 - 19 = 21$  neutrons.

2.

2.1. Applications des lois de Soddy : conservation du nombre de masse  $A$  et du nombre de charge  $Z$

$19 = Z - 1$ , donc  $Z = 20$  ;  $40 = A + 0$ , donc  $A = 40$  ;  $Z = 20$  indique que  $X$  est du calcium  $^{40}_{20}\text{Ca}$ .

2.2. La demi-vie ou période est la durée nécessaire pour que la moitié des noyaux radioactifs initiaux se désintègrent.

Pour que l'activité, donc le nombre de noyaux radioactifs de potassium  $^{40}_{19}\text{K}$  soit divisée par 4, il doit s'écouler 2 périodes radioactives, soit  $2 \times 1,248 = 2,496$  milliards d'années.

3.

3.1. L'activité  $A = 130 \times 0,150 \times 365 = 7,1 \times 10^3$  Bq pour une année

$\rightarrow E = 6,2 \times 10^{-9} \times 7,1 \times 10^3 \times 10^6 = 44 \mu\text{Sv/an}$

3.2. Pour 1 an, il faudrait consommer  $\frac{1 \times 10^{-3}}{44 \times 10^{-6}} \approx 23$  bananes/jours.

Personne ne mange au quotidien 23 bananes par jour pendant une année.

Donc la dose maximale de  $^{40}_{19}\text{K}$  n'est jamais atteinte.

## B. Virus, bactérie, les défis à relever pour l'ostréiculture (12 points)

1.

1.1.  $\tan \alpha \approx \alpha \approx \frac{AB}{d_m} \approx \frac{3,5 \times 10^{-6}}{0,25} \approx 1,4 \times 10^{-5} \text{ rad.}$

1.2.  $1,4 \times 10^{-5} \text{ rad} < 3 \times 10^{-4} \text{ rad}$ , la bactérie *Vibrio aestuarianus* ne sera donc pas vue à l'œil nu.

1.3.  $150 \times 10^{-9} \text{ m} < 3,5 \times 10^{-6} \text{ m}$ , le virus est encore plus petit que la bactérie, il ne sera pas, non plus, vu à l'œil nu.

2.1. L'œil emmétrope, sans défaut, voit nettement, sans accommodation, donc sans fatigue à l'infini, ce qui permettra un travail au microscope sur de longues durées.

2.2. Ce réglage ne conviendra pas aux yeux qui ne voient pas nettement de loin (myope par exemple).

2.3.  $A_1B_1$  est placée dans le plan focal objet de l'oculaire car l'image définitive  $A'B'$  est rejetée à l'infini.

2.4. Le grossissement commercial est égal à  $G = 40 \times 10 = 400$ .

2.5. L'angle  $\alpha'$  sous lequel est vue la bactérie vaut  $\alpha' = G_c \times \alpha = 400 \times 1,4 \times 10^{-5} = 5,6 \times 10^{-3} \text{ rad.}$

2.6.  $5,6 \times 10^{-3} \text{ rad} > 3 \times 10^{-4} \text{ rad}$ , la bactérie *Vibrio aestuarianus* est donc visible à travers le microscope.

3.

3.1. L'objectif X100 donnera  $AB_{\min} = \frac{0,6 \times \lambda}{O.N.} = \frac{0,6 \times 500 \cdot 10^{-9}}{1,25} = 0,24 \mu\text{m.}$

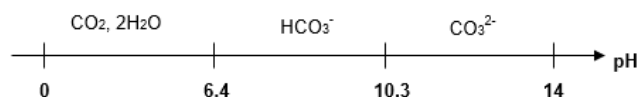
3.2.  $0,24 \mu\text{m} > 0,15 \mu\text{m}$  : le virus n'est toujours pas observable.

3.3.  $0,15 \mu\text{m} > 0,3 \text{ nm}$  ( $0,0003 \mu\text{m}$ ) qui est le pouvoir de résolution d'un microscope électronique : il faut donc observer ce virus au microscope électronique.

## C. Les coraux en dangers (9,5 points)

1.

1.1.

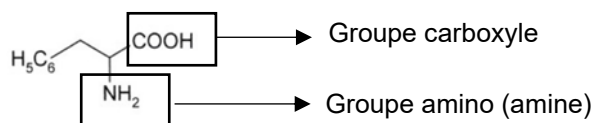


- 1.2. Au pH optimal = pH de 8, les ions  $\text{HCO}_3^-$  sont prédominants.
- 1.3. Si l'océan devient plus acide, le pH diminuera, la proportion d'ions carbonate sera plus faible.
- 2.
- 2.1. À l'équivalence,  $[\text{Ca}^{2+}] = \frac{c \times V_E}{V_{\text{eau}}} = \frac{5,00 \times 10^{-2} \times 21,2}{100,0} = 1,06 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .
- 2.2. La concentration massique (en masse) de calcium est égale à  $[\text{Ca}^{2+}] \times M_{\text{Ca}} = 1,06 \times 10^{-2} \times 40,1 = 4,25 \times 10^{-1} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} = 4,25 \times 10^{-1} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} = 425 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .
- 2.3. Les coraux sont dans une eau de qualité acceptable car  $420 < 425 < 440 \text{ mg/L}$ .
- 3.
- 3.1.  $K_s = [\text{Ca}^{2+}]_{\text{eq}} \times [\text{CO}_3^{2-}]_{\text{eq}}$ .
- 3.2. D'après le graphique, plus le pH diminue, plus la solubilité du carbonate de calcium augmente ce qui signifie que le calcaire constituant le squelette des coraux se dissout lorsque que le pH diminue, donc lorsque les océans s'acidifient.

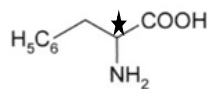
## D. Synthèse de l'aspartame (9 points)

1.

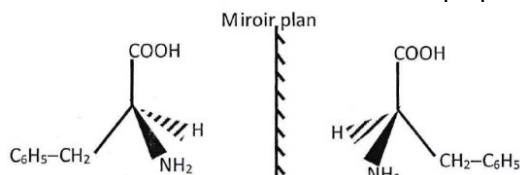
1.1.



1.2.



1.3. Représentations de Cram des deux isomères optiques (énantiomères) de la phénylalanine.



Le type d'isométrie liant ces deux isomères optiques est l'énantiométrie.

2.

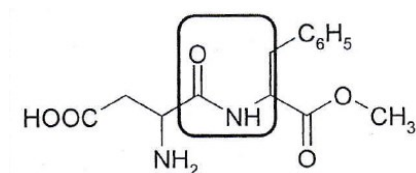
2.1.  $\text{C}_6\text{H}_6 + \text{CH}_3\text{Cl} \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3 + \text{HCl}$

2.2.  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3 + \text{Cl}_2 \rightleftharpoons \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl} + \text{HCl}$

2.3. Il s'agit d'une substitution radicalaire.

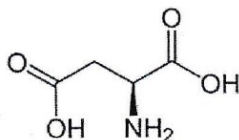
3.

3.1.



Il s'agit d'un groupe amide.

3.2. Formule de l'acide aspartique



# Éléments de corrigé de biochimie et de technologies d'analyse 2021

## L'entomophagie : des insectes comme alternative à la viande

**Q1.** Situation des risques : Ajout du réactif de Gornall dans cuve, homogénéisation et élimination.  
Prévention : argumentation du risque ; irritation cutanée / des yeux => porter des lunettes et gants (masque possible, non exigé).

**Q2.** Dans 100 g de matière sèche on a 40 g de protéines donc dans 1 g de farine sèche on a 0,40 g de protéines.

$$\rho_{(\text{protéines} ; \text{farine})} = \frac{m_{(\text{protéines})}}{V_{(\text{eau physiologique})}} = \frac{0,4}{10 \cdot 10^{-3}} = 40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

le volume d'eau physiologique est correct car selon les données du kit, la concentration doit être comprise entre 7 et 80 g·L<sup>-1</sup>

**Q3.**  $\rho_{(\text{protéines} ; \text{sol contrôle})} = \frac{0,586}{0,872} \times 60 = 40,3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Résultat dans l'intervalle d'acceptabilité, donc procédure validée.

**Q4.**  $\rho_{(\text{protéines} ; \text{sol S1})} = \frac{0,702}{0,872} \times 60 = 48,3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$

masse de protéine dans  $V_{(\text{sol s1 prélevée})} = 48,3 \times 10 \cdot 10^{-3} = 0,483 \text{ g}$

$$W_{(\text{protéines} ; \text{farine sèche})} = \frac{\text{masse (protéine dans } V_{S1})}{\text{masse de farine sèche pesée}} \times 100 = \frac{0,483}{1} \times 100 = 48,3 \%$$

Valeur correspondant à valeur attendue (entre 40 et 50 g·L<sup>-1</sup>). Proche de l'œuf, plus faible que dans les viandes et poissons.

**Q5.** AA qui ne peut être synthétisé par l'homme et donc obligatoirement apporté par l'alimentation.

L'ensemble des AA essentiels est retrouvé dans des quantités suffisantes pour recommandations journalières, sauf la méthionine, et même ordre de grandeur que la viande, voire plus pour certains.

Le ver de farine comble les besoins nutritionnels de l'adulte et de l'enfant, à l'exception de la méthionine.

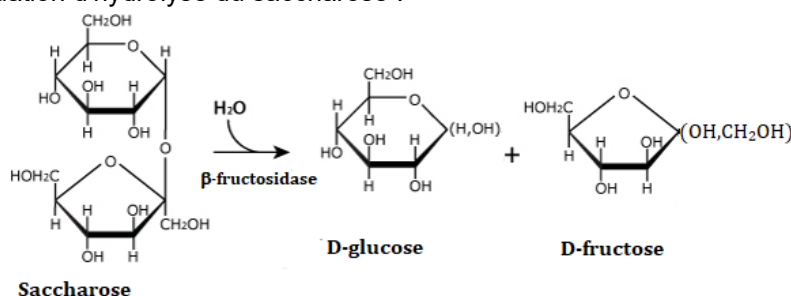
**Q6.** Le réactif de Carrez sert à déprotéiniser l'échantillon pour rendre la solution limpide. En présence de ce réactif les protéines vont précipiter, c'est à dire passer de l'état soluble à l'état insoluble et seront éliminées par la filtration.

**Q7.** Réaction indicatrice : réaction couplée aux réactions principales et conduisant à un signal facilement mesurable dans le milieu réactionnel : c'est donc la dernière des 5 réactions ici. Le composé absorbant ici est le NADPH qui absorbe à 340 nm (augmentation du signal au cours de la réaction par apparition de NADPH).

Type de dosage enzymatique : quand tout le S est transformé (glucose et ou fructose), on obtient un signal maximal : la réaction est totale et terminée. C'est un dosage de S en point final (température et temps non exacts).

**Q8.**

Équation d'hydrolyse du saccharose :



Le réactif qui permet cette réaction est RH car il contient la  $\beta$ -fructosidase.

**Q9.** Dans l'essai saccharose, on dose le glucose total soit :

- le glucose initialement présent,
- le glucose libéré par hydrolyse du saccharose.

On obtient un dosage du saccharose par soustraction de la concentration de glucose libre obtenu dans la cuve sans hydrolyse du saccharose.

**Q10.** Réactif R3 = PGI catalyse l'isomérisation du F-6-P en G-6-P permettant ainsi d'effectuer le dosage du fructose.

$$\rho_{(\text{fructose}; \text{échantillon S2})} = 0,8693 \times [(0,716 - 0,122) - (0,108 - 0,105)] = 0,51 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$$

$w_{(\text{fructose}; \text{MS})} = \frac{0,51 \times 0,1}{1} \times 100 = 5,1 \text{ g}/100 \text{ g}$  de MS de farine ce qui correspond à la teneur totale en glucides attendue (5 g pour 100 g), les glucides seraient en quasi-totalité du fructose.

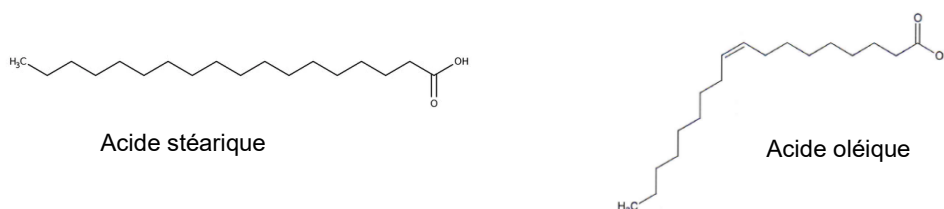
**Q11.** Lors du chauffage, le solvant (éther de pétrole) contenu dans le ballon s'évapore et passe dans la colonne de distillation (refroidie par le passage de l'eau). Les gouttes de solvant distillées tombent dans la cartouche qui contient la farine, et solubilisent les lipides de l'échantillon. Au fur et à mesure la cartouche se remplit de solvant, jusqu'à atteindre la valeur critique de siphonage : le contenu de solvant (contenant les lipides extraits) est alors siphonné vers le ballon. Puis un nouveau cycle commence : à l'issue de l'ensemble des cycles, la totalité des lipides devraient être extraits et se retrouver dans le ballon. La propriété des lipides sur laquelle s'appuie cette méthode est leur solubilité dans le solvant (due à leur caractère apolaire). En fin de cycle les lipides sont dans le ballon.

$$\text{Q12. } w_{(\text{lipides}; \text{MS})} = \frac{m_{(\text{lipides dans m pesée})}}{m_{(\text{farine pesée})} \times \text{efficacité extraction}} \times 100 = \frac{1,665}{5 \times 0,95} \times 100 = 35 \% (m/m).$$

Même ordre de grandeur que l'œuf mais beaucoup plus de MG que les viandes ou le poisson.

**Q13.** 1. Gaz vecteur ; 2. Injecteur ; 3. Colonne ; 4. Détecteur ; 5. Four ; 6. Traitement des données

**Q14.** Acide gras (AG)



L'acide oléique est un cis AGI (acide gras insaturé), l'insaturation en cis entraîne une courbure de la chaîne carbonée. La cohésion entre les molécules est moins importante, donc l'énergie nécessaire pour le changement d'état est moins élevée. Donc une température d'ébullition plus faible.

**Q15.** Analyse : 7 types d'AG retrouvés (donc 7 pics) mais 3 majoritaires : 2 AGI (acide oléique et linoléique) et 1 acide gras saturé (acide palmitique).

On doit représenter 3 pics, leurs surfaces devraient représenter le % relatif de l'AG par rapport à la quantité totale d'AG.

Pour placer les pics sur l'axe des temps de rétention, il faut tenir compte :

De leur apolarité (à nombre d'insaturations égal, plus le nombre de C de la chaîne carbonée est élevé plus la molécule est apolaire et, pour un nombre de C identique la présence d'insaturation(s) diminue l'apolarité) : on peut globalement dire que  $Tr$  diminue donc avec l'apolarité puisque la colonne est polaire.

De leur température d'ébullition (à nombre d'insaturations égal, plus le nombre de C de la chaîne carbonée est élevé plus la température d'ébullition est élevée et à nombre de C égal plus le nombre de double liaison est élevé plus la  $T_{\text{ébullition}}$  est basse) :  $Tr$  augmente avec  $T_{\text{ébullition}}$ .

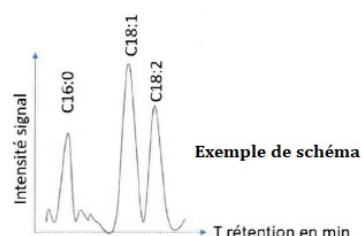
Il est donc difficile de prévoir quel sera le paramètre prépondérant dans l'ordre d'élution.

S'il s'agit de la température d'ébullition : C16 : 0 ; C18 : 2 ; C18 : 1

S'il s'agit du caractère apolaire : C18 : 1 ; C18 : 2 ; C16 : 0

En réalité les 2 paramètres interviennent et l'ordre de sortie correspond vraisemblablement à :

C16 : 0 ; C18 : 1 ; C18 : 2



**Q16.** Le rapport :  $\frac{\omega_6}{\omega_3} = \frac{31,64}{46,1} = 0,69 < 5$  qui est la valeur du ratio préconisée pour les apports nutritionnels conseillés. La composition en lipides est satisfaisante car riche en  $\omega_3$  et en  $\omega_6$ , elle est donc de bonne qualité nutritionnelle en termes d'acide gras.

**Q17.**

|                               | Farine de <i>T. molitor</i> | Commentaires                                                      |
|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Teneur en protéines           | Protéines totales : 48 %    | Même teneur en protéines que les œufs ; bonne source de protéines |
| Présence d'AA indispensables  |                             | Quantité satisfaisante sauf pour la méthionine                    |
| Teneur en glucides (fructose) | 5 %                         | Faible teneur en glucides                                         |
| Teneur en lipides             | 35 %                        | Teneur élevée                                                     |
| Rapport $\omega_6/\omega_3$   | < 5                         | Bonne répartition des acide gras insaturés                        |

La farine de *T. molitor* pourrait constituer, selon les critères biochimiques étudiés, une alternative possible et intéressante pour l'alimentation humaine d'un point de vue qualitatif et quantitatif.

# Éléments de corrigé de microbiologie et de technologies d'analyse 2021

## TIAC à *Clostridium perfringens*

**Q1.** Type respiratoire : Anaérobies stricts.

Voie fermentative et respiration anaérobie (chaîne respiratoire différente avec accepteurs finaux d'électrons différents du dioxygène).

**Q2.** La régénération permet d'éliminer les gaz initialement présents dans le milieu afin de générer un gradient partiel d'O<sub>2</sub> et obtenir une zone sans O<sub>2</sub> dans la profondeur du tube.

Le résultat attendu pour *Clostridium perfringens* est une absence de croissance dans le haut du tube (zone aérobie) car c'est une souche anaérobie stricte.

**Q3.** Les « dérivés toxiques de l'oxygène » sont néfastes pour les bactéries et les bactéries anaérobies strictes ne possèdent pas les enzymes permettant de se protéger contre ces dérivés (péroxydase, catalase, superoxyde dismutase...).

**Q4.** A : core ou cytoplasme sporal ou protoplasme      B : cortex      C : tunique

**Q5.** La thermorésistance est liée à la structure de la spore (présence des tuniques et cortex qui jouent le rôle de barrière physique), à la déshydratation de la spore, à des molécules chimiques (comme le dipicolinate de calcium) et, des protéines particulières (ex : protéin coat, SASP...)

**Q6.** La sporulation se déclenche lorsque les conditions de vie sont défavorables ou hostiles (appauvrissement en nutriments, pH, accumulation de déchets toxiques, température...).

Mécanisme : la germination.

**Q7.** Les exotoxines sont des toxines sécrétées, elles sont de natures protéiques et souvent thermolabiles. Elles agissent selon un mode d'action spécifique et sur des cellules spécifiques. Elles ont un pouvoir toxique élevé et présentent un fort pouvoir antigénique.

**Q8.** La CPE se fixe à un récepteur (claudins) de la membrane des entérocytes. Cela entraîne la formation d'un petit complexe, ces complexes s'assemblent pour former un pore dans la membrane plasmique, perturbant les échanges membranaires. Un afflux anormal de calcium entre dans la cellule, déclenche une cascade d'activation qui conduit à l'apoptose donc à la mort de l'entérocyte.

**Q9.** « Toxi-infection » : intoxication due à un micro-organisme pathogène

« Alimentaire » : à partir d'un aliment contaminé ingéré

« Collective » : au moins deux personnes à partir du même aliment, par le même microorganisme pathogène (Pathologies similaires développées au moins par 2 personnes à partir du même aliment contaminé par un micro-organisme pathogène.)

**Q10.** CPE only : témoin permettant de vérifier la cytotoxicité de l'entérotoxine sur les cellules Caco. (Sert également de référence, peut ne pas être considéré comme un témoin au sens strict)

Cldn4 only et Cldn1 only : témoins permettant de vérifier que les peptides seuls n'ont pas d'effet cytotoxique.

Buffer : témoin permettant de vérifier que le tampon seul n'a pas d'effet cytotoxique.

**Q11.** Exploitation des témoins.

La CPE seule est bien cytotoxique sur les cellules Caco dans les conditions testées (environ 50 %).

Les témoins contenant les Cldn 1 et 4 sans toxine CPE, ainsi que le tampon seul donnent des cytotoxicités négligeables (moins de 5 %), les résultats sont donc exploitables.

Exploitation des essais (valeurs chiffrées ou proportions attendues).

La toxine (CPE) seule entraîne une cytotoxicité d'environ 50 %.

Cldn-4 + CPE = environ 12 % (valeur nettement inférieure au 50 % de la toxine seule). Ou 4 fois moins de cytotoxicité.

Cldn-1 + CPE = environ 50 % - valeur équivalente à la toxine seule.

**Conclusion** : seul le peptide Cldn-4 a un effet protecteur car il permet de diminuer significativement la cytotoxicité de la toxine, divisée par 4 environ.

**Q12.** Un critère de sécurité concerne des micro-organismes pathogènes tandis qu'un critère d'hygiène concerne des flores non pathogènes.

Le critère d'hygiène est contrôlé sur le produit en cours de fabrication tandis que le critère de sécurité est contrôlé sur le produit fini.

Le non-respect d'un critère de sécurité impose la non commercialisation du produit ou leur retrait tandis que le non-respect d'un critère d'hygiène conduit à des actions correctives décidées par l'entreprise, sans obligation de rejet des produits.

Toute autre comparaison logique est possible. Deux critères pertinents de différence sont attendus.

**Q13.** « Méthode horizontale » désigne une méthode d'analyse pouvant s'appliquer à différentes catégories d'aliments.

**Q14.**

- Tryptone, Peptone papaïnique de soja : sources de C, N, de facteurs de croissance et d'énergie.
- Extrait autolytique de levure : source de C, N, énergie et facteurs de croissance.
- Sulfite de sodium : source de sulfite et de soufre.
- Citrate ferrique ammoniacal : révélateur de la production de sulfure
- D cyclosérine : antibiotique inhibant la flore contaminante.
- Agar agar bactériologique : gélifiant.

**Q15.** Les microorganismes sulfito-réducteurs comme *Clostridium* réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies.

**Q16.** Schéma présentant le mode opératoire pour la préparation de la suspension mère, l'ensemencement en double couche, double essai, et l'incubation en anaérobiose des milieux de culture (matériels, volumes...).

**Q17.**

| Unité d'échantillonnage       | 1                   | 2                   | 3                   | 4                   | 5                   |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Nombre en UFC·g <sup>-1</sup> | 2,3·10 <sup>2</sup> | 1,7·10 <sup>2</sup> | 1,0·10 <sup>1</sup> | 5,0·10 <sup>0</sup> | 2,3·10 <sup>2</sup> |

Deux unités d'échantillonnage (3 et 4) ont des valeurs inférieures à  $m$ .

Trois unités d'échantillonnage (1, 2 et 5) ont des valeurs comprises entre  $m$  et  $M$ .

La qualité du lot est insatisfaisante car plus de 2/5 des unités d'échantillonnage sont comprises entre  $m$  et  $M$ .

**Q18.** Hypothèses : mauvaises conditions de conservation, mauvais traitement thermique lors de la cuisson, qualité des matières premières, de l'hygiène des locaux, des surfaces, du personnel, du process de fabrication.

# Éléments de corrigé de biologie cellulaire et moléculaire et de technologies d'analyse

## 2021

### Techniques de dépistage d'une infection au SARS-CoV-2

#### 1. SARS-CoV-2

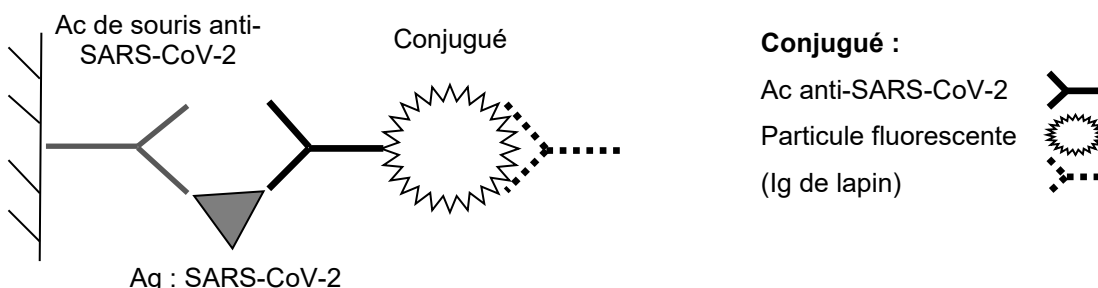
- Q1.** Nom de la polymérase : ARN polymérase ARN dépendante.
- Q2.** Le génome viral est un ARN sb+ donc directement utilisable comme ARN messager par la machinerie cellulaire. L'enzyme est donc produite par traduction dans la cellule hôte.
- Q3.** Lignée cellulaire immortalisée : peut être maintenue indéfiniment en culture pour produire des particules virales.  
Confluence totale : occupation de toute la surface de culture du support par le tapis cellulaire. Multiplication cellulaire qui est alors inhibée.
- Q4.** Le SVF apporte des facteurs de croissance et d'adhérence cellulaires. Contient un inhibiteur de trypsine.  
Étape 4 du document 3 : apport de MEM complété au SVF pour arrêter la trypsination.

#### 2. Dépistage du SARS-CoV-2 par RT-qPCR

- Q5.** Tampon concentré 2X. Nécessite une dilution au  $\frac{1}{2}$  pour son utilisation.  
 $V_{\text{tampon}} = V_{\text{final}} \times d = 25 \times \frac{1}{2} = 12,5 \mu\text{L}$
- Q6.** La sonde TaqMan est formée d'un fluorochrome et d'un suppresseur de fluorescence. Lorsqu'elle est intacte la proximité des deux molécules fait qu'il n'y a pas d'émission de fluorescence. Lors de l'élongation, la Taq polymérase synthétise les brins complémentaires à partir des amorces et va hydrolyser la sonde au passage grâce à son activité exonucléase 5' – 3'. Le fluorochrome est donc séparé et éloigné du suppresseur de fluorescence ce qui permet une émission de fluorescence.
- Q7.** Contrôle : virus autre que SARS-CoV-2 ou ARN d'un autre virus.  
+ tous les autres réactifs (tampon avec dNTP, RT/Taq, sulfate de Mg, amorces, sonde, eau.)
- Q8.** (1) : inactiver les RNases : évite l'hydrolyse des ARN que l'on souhaite extraire.  
(2) : utiliser une DNase sans activité RNase : éliminer les ADN extraits qui pourraient contaminer les ARN ; sans RNase pour ne pas dégrader les ARN.  
(3) : inactiver la DNase pour éviter la dégradation des ADN produits lors de la RT-qPCR.
- Q9.** Pour la concentration en particules virales testées, les deux RT-qPCR donnent des résultats similaires (en prenant en compte les incertitudes).  
Les deux méthodes d'extraction sont donc similaires.

#### 3. Dépistage du SARS-CoV-2 par TDR

- Q10.** Ac monoclonaux dirigés contre un seul épitope : meilleure spécificité que les Ac polyclonaux.
- Q11.** Édifice moléculaire au niveau de la bande test :





**Q12.** Bande contrôle : montre que les étapes de l'immunochromatographie se sont bien déroulées (en particulier la migration). Permet de valider la méthode et le résultat du test.

**Q13.** La RT-qPCR est la méthode de référence considérée dans le cadre de l'étude comme ne produisant pas de faux positifs ni de faux négatifs.

Le document présente les résultats de tests de 239 patients :

- Nombre de patients révélés comme positifs par le test RT-qPCR puis par le test TDR.
- Nombre de patients révélés comme négatifs par le test RT-qPCR puis par le test TDR.

Le document présente donc une difficulté de lecture : les résultats positifs en RT-qPCR qui se révèlent négatifs en TDR, n'apparaissent pas dans les résultats.

Réponses attendues :

- Tous les résultats négatifs en RT-qPCR le sont aussi en TDR : absence de faux positifs.
- 67 résultats positifs en RT-qPCR sont négatifs en TDR : 67 faux négatifs avec la TDR.

**Q14.** Avantages et inconvénients de la TDR :

| Avantages                                | Inconvénients                                                 |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Rapidité<br>Coût<br>Pas de faux positifs | Des personnes infectées peuvent être diagnostiquées négatives |

Malgré sa fiabilité plus faible, les avantages de la TDR rendent intéressante son utilisation à grande échelle.

# Éléments de corrigé de sciences et technologies bioindustrielles 2021

## Étude de la fabrication d'un comprimé

**Q1.** La forme galénique de ce médicament : comprimés (solide).

La forme d'administration de ce médicament : voie orale ou buccale.

C'est une forme systémique car le produit est distribué à l'organisme par la circulation sanguine.

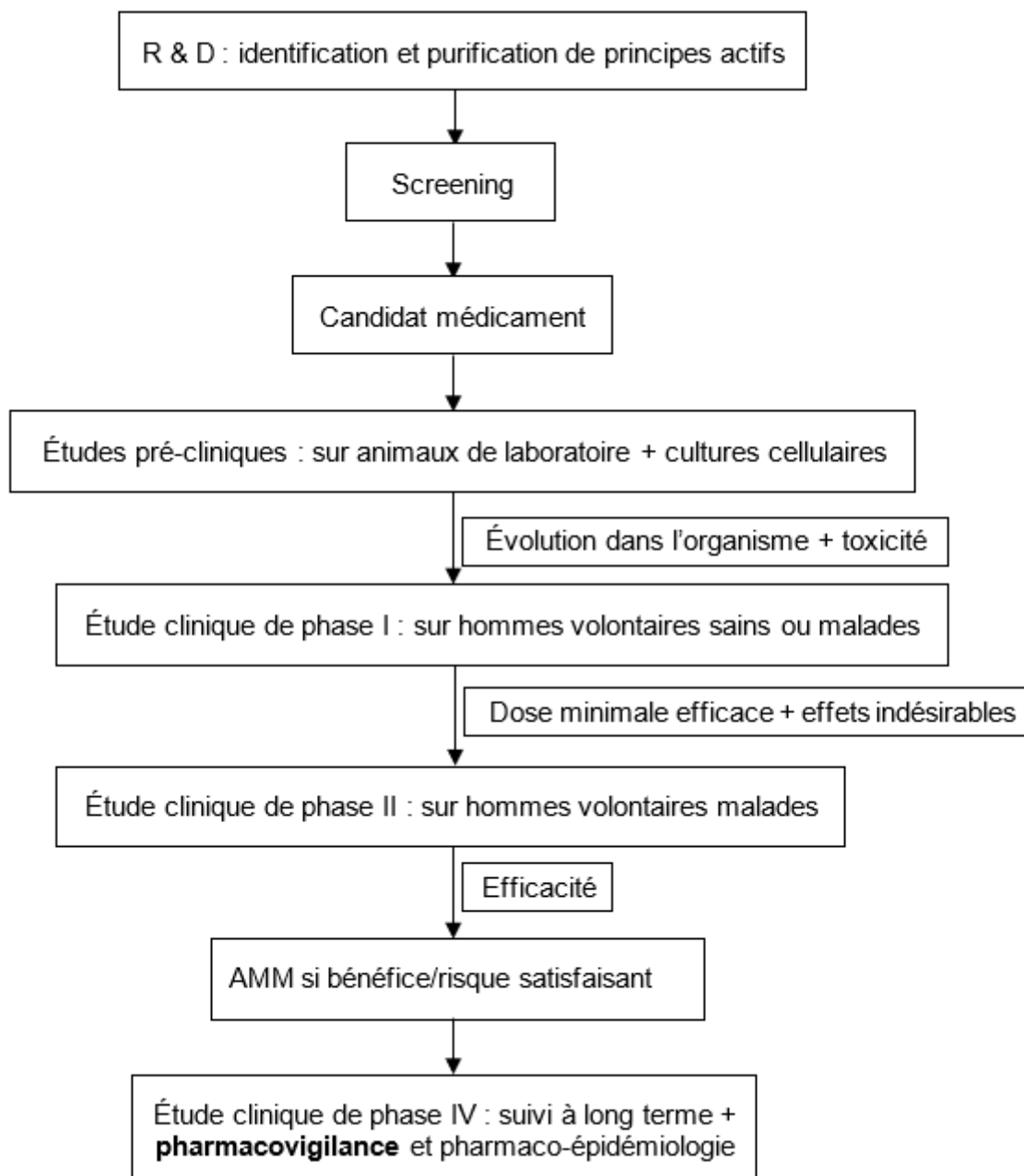
**Q2.** Le principe actif du médicament est l'acétate de chlormadinone.

Excipients : lactose  $\Rightarrow$  intolérance au lactose, saccharose  $\Rightarrow$  diabétique.

**Q3.** Le sigle AMM = Autorisation de Mise sur le Marché.

L'agence permettant la délivrance de l'AMM est l'ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament ou Agence Européenne du Médicament.

**Q4.**



**Q5.** Pharmacovigilance : surveillance du risque d'effet indésirable résultant de l'utilisation des médicaments ayant reçus une AMM.

Le numéro de lot garantit la traçabilité de chaque médicament et permet donc la pharmacovigilance.

**Q6.** L'emballage primaire correspond au plastique en contact avec le comprimé recouvert par le film en aluminium (blister).

L'emballage secondaire correspond à l'enveloppe cartonnée entourant l'emballage primaire.

**Q7.**

A : Contrôle de l'étalonnage de la balance, contrôle du ticket de pesée, ...

B : Homogénéité du mélange, couple vitesse de rotation/temps

C : Teneur en eau, température

D : Calibrage des grains, granulométrie

E : Contrôle visuel emballages, poids, ...

**Q8.**

1 : Entrée d'air 2 : Entrée du produit à sécher 3 : Sortie du produit séché 4 : Sortie d'air refroidi et déshumidifié 5 : Lit fluidisé ; bande porteuse ; tapis perforé 6 : Système de chauffage d'air

**Q9.**

$$m_{\text{eau avant séchage}} = 150 \times 20 \% = 30 \text{ kg}$$

$$m_{\text{eau évaporée}} = 150 - 124 = 26 \text{ kg}$$

$$m_{\text{eau restante}} = 30 - 26 = 4 \text{ kg}$$

$$T_{\text{eneur en eau}} = \frac{4}{124} \times 100 = 3,2 \%$$

Conforme au cahier des charges puisque appartient à l'intervalle  $2,6 < 3,2 < 3,4 \%$ .

**Q10.** D'après le document 6, comme  $N = 80$  comprimés (donc entre 51 et 90), l'effectif des échantillonnages  $n = 13$  et la lettre code = E pour  $n = 13$ , NQA = 1 % donc  $A = 0$  et  $R = 1$

$n$  = nombre d'échantillons analysé dans le lot.

$A$  = critère d'acceptation = nombre maximal d'échantillons non conformes admis pour accepter le lot.

$R$  = critère de refus = nombre d'échantillons non conformes à partir duquel le lot est refusé.

**Q11.** Pour chaque échantillon, la masse de principe actif par comprimé doit être comprise entre 4,90 et 5,10 mg maximum. C'est bien le cas de tous les échantillons prélevés, pour les deux temps de mélangeage testés. Les deux durées permettent donc d'obtenir des résultats conformes.

**Q12.** L'écart-type est une représentation mathématique de la dispersion des valeurs : plus il est élevé, plus les valeurs sont différentes donc moins le mélange est homogène.

**Q13.** Écart-type déterminé à la calculatrice :

- pour 30 minutes de mélange :  $s_r = 0,03 \text{ mg}$
- pour 15 minutes de mélange :  $s_r = 0,07 \text{ mg}$

Pour que le mélange soit qualifié d'homogène, l'écart-type obtenu ne doit pas dépasser 0,05 mg de principe actif. On constate donc que seul le temps 30 minutes permet d'obtenir un mélange homogène. Le temps 15 minutes ne convient pas. Il faudra éventuellement tester un temps intermédiaire.

**Q14.** On obtient une homogénéité parfaite au bout de 20 minutes pour le mélangeur planétaire et au bout de 15 minutes pour le mélangeur par projection/tourbillonnement.

On choisira le mélangeur par projection/tourbillonnement qui respecte une homogénéité parfaite au bout de 15 minutes de mélange. Cela permet d'optimiser le temps de mélangeage en gagnant 5 min par rapport à l'utilisation du mélangeur planétaire.



**Boutique·  
d'annales·  
des·BTS¶**

<http://www.upbm.org>