

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2016

CBSV : sous épreuve coefficient 4
Biotechnologies : sous épreuve coefficient 4

Durée totale de l'épreuve: 4 heures

Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités sur des copies séparées.

Dès que les sujets vous sont remis, assurez-vous qu'ils sont complets.

L'usage de la calculatrice est autorisé.

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

**Spécialités : - Biotechnologies
- Sciences physiques et chimiques
en laboratoire**

SESSION 2016

Sous-épreuve écrite de Chimie – biochimie – sciences du vivant

Coefficient de cette sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de spécialité seront traités
sur des copies séparées.**

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte 8 pages.

Partie 1 : pages 2 à 5

Partie 2 : pages 6 à 8

Les 2 parties sont indépendantes.

PARTIE 1 : greffe de l'utérus et procréation d'un enfant (8 points)

En 2013, une femme atteinte d'une absence congénitale d'utérus mais dont les ovaires fonctionnaient normalement, a pu mettre au monde un enfant.

Pour cela, des ovocytes ont été prélevés dans les ovaires de la jeune femme, puis fécondés *in vitro*. Onze embryons ont été obtenus puis congelés. La patiente a ensuite reçu la greffe d'un utérus d'une donneuse de 61 ans ménopausée depuis 7 ans. Un an après la greffe, un de ces embryons est implanté dans l'utérus désormais cicatrisé. Une grossesse a débuté.

La greffe d'utérus n'a servi que le temps d'une grossesse. L'utérus a été ensuite retiré dans le but de ne pas prolonger la prise de médicaments antirejet, obligatoire en présence de greffons.

Cette première mondiale pourrait ainsi résoudre les infertilités d'origine utérine.

Source : d'après un article de *Science et Vie*, octobre 2014 : <http://www.science-et-vie.com/2014/10/femme-greffee-luterus-met-au-monde-enfant-premiere-fois-au-monde/>

On cherche à comprendre ce qui a rendu possible cette grossesse.

Provoquer une suroovulation

- 1.1 Nommer sur la copie les éléments de 1 à 8 du **document A**. Préciser dans cette liste l'organe qui produit les ovocytes.
- 1.2 Indiquer sur la copie les affirmations exactes parmi les suivantes :
 - a/ Un spermatozoïde est une cellule haploïde.
 - b/ Après ovulation, le follicule devient un corps jaune qui secrète la testostérone.
 - c/ La rencontre des gamètes dans le cas de la fécondation *in vitro* a lieu dans les trompes utérines.
 - d/ La fécondation correspond à la fusion d'un ovocyte avec plusieurs spermatozoïdes.
 - e/ La méiose permet la première division de la cellule œuf.
 - f/ L'embryon s'implante dans la muqueuse utérine et continue de se diviser.

Afin d'obtenir un grand nombre d'ovocytes pour pouvoir réaliser la fécondation *in vitro*, on administre à la patiente du citrate de climofène, molécule qui inhibe le rétrocontrôle négatif exercé par les œstrogènes sur le complexe hypothalamo-hypophysaire.

- 1.3 Identifier et recopier à l'aide du **document B** les groupes caractéristiques qui diffèrent entre les formules de l'œstrone et de l'œstradiol. Préciser le groupe qui a le plus haut degré d'oxydation.
- 1.4 Écrire la demi-équation d'oxydoréduction du couple redox constitué par ces deux molécules.
- 1.5 Identifier et indiquer sur la copie les numéros du ou des éventuel(s) atome(s) de carbone(s) asymétrique(s) de l'œstradiol.

- 1.6** Indiquer respectivement sur la copie le nom des hormones de 1 à 4 du **document C**, hormones agissant pendant la phase folliculaire chez la femme.

Empêcher le rejet de greffe

Le **document D** schématise les cellules et les molécules intervenant normalement dans le rejet de greffe.

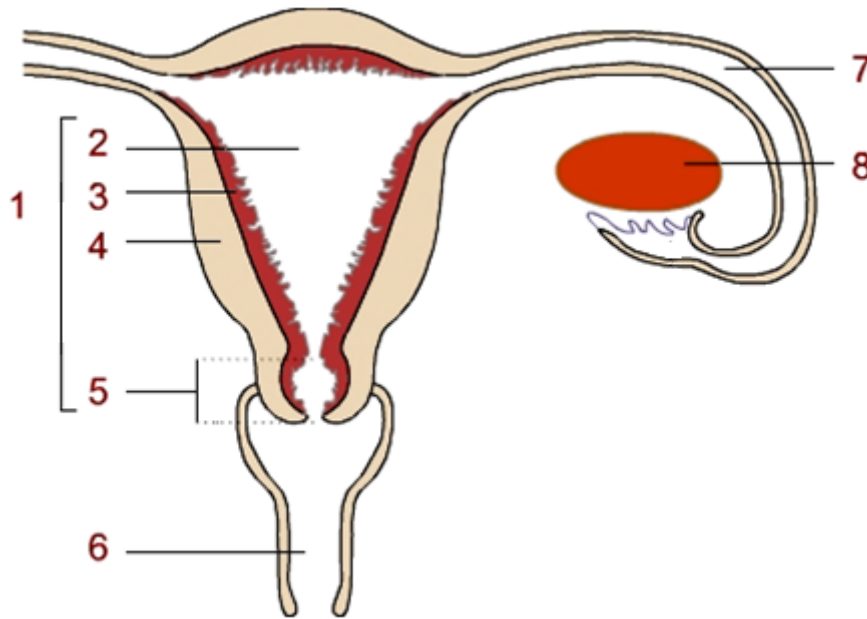
- 1.7** Indiquer sur la copie :

- le nom des cellules immunitaires (A à C),
- le nom des molécules effectrices (D et E),
- le nom des deux réponses immunitaires (1 et 2).

La ciclosporine est souvent utilisée comme médicament pour empêcher l'organisme de rejeter une greffe. Cette molécule se comporte comme un inhibiteur d'une enzyme, ce qui bloque la synthèse d'interleukine 2 (IL-2).

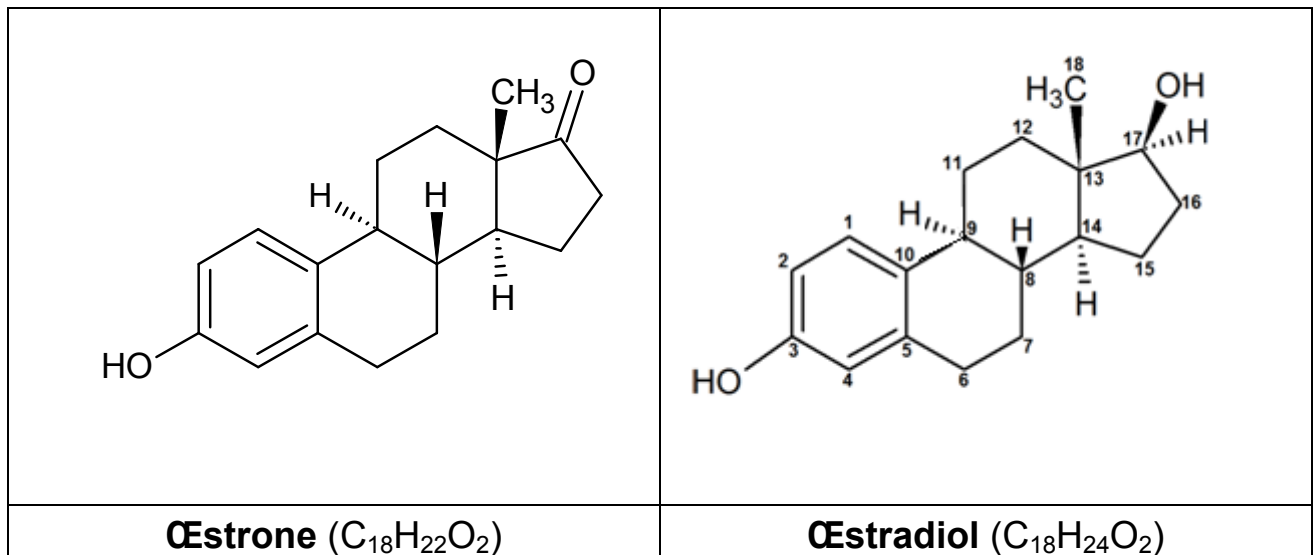
- 1.8** Nommer les mécanismes permettant de synthétiser la protéine IL-2 à partir de sa séquence codante d'ADN. Préciser la localisation cellulaire de ces mécanismes.

Document A : coupe frontale de l'appareil génital féminin



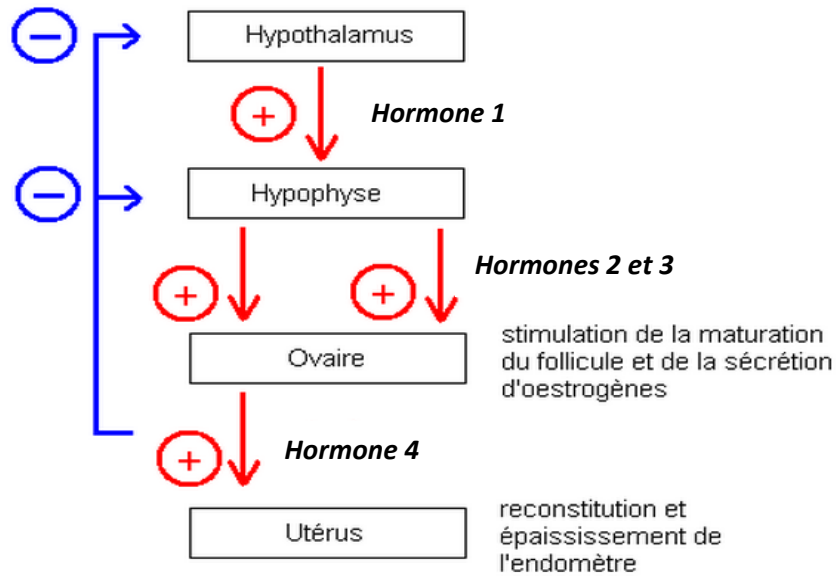
Source : d'après site musibiol.net

Document B : formules topologiques d'une molécule d'œstrone et d'une molécule d'œstradiol

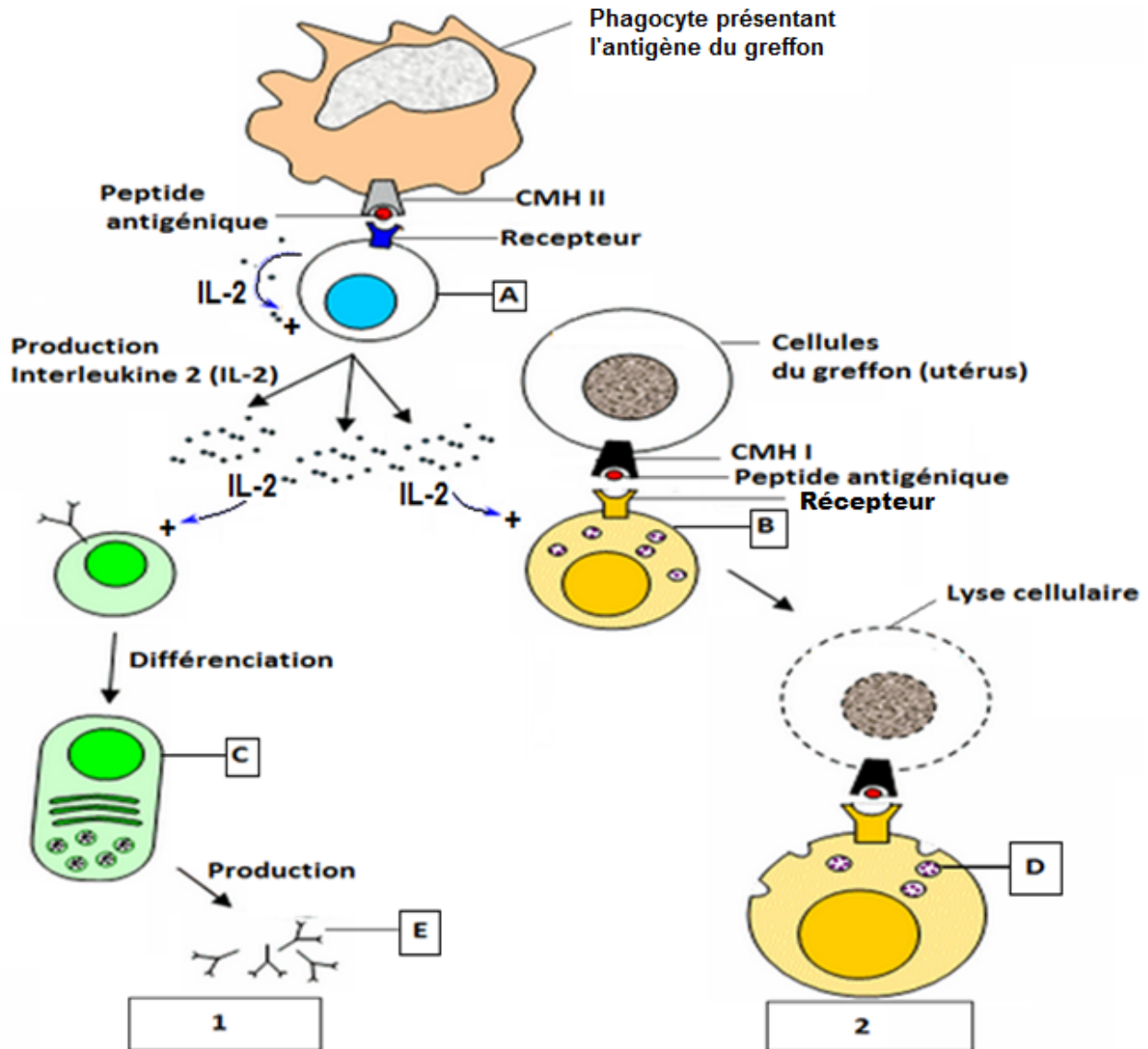


Document C : le rétrocontrôle pendant la phase folliculaire chez la femme

Rétrocontrôle négatif



Document D : cellules et molécules intervenant dans le rejet de greffe



Source : schéma adapté et simplifié du site : http://svt.ac-dijon.fr/schemassvt/article.php3?id_article=3099

PARTIE 2 : la phénylcétonurie (12 points)

La phénylalanine est un acide aminé qui est toxique en grande concentration pour les cellules nerveuses. L'accumulation de la phénylalanine provoque la phénylcétonurie, maladie grave responsable de retard mental et de troubles neurologiques. Certains membres de la famille de Madame M (sœur, frère, cousine) sont atteints de phénylcétonurie, les obligeant à suivre un régime alimentaire contraignant, pauvre en protéines.

Madame M et Monsieur M consultent un médecin car ils attendent un enfant et voudraient savoir s'il risque d'être atteint de cette maladie et de devoir suivre dès sa naissance ce régime spécifique.

Cette partie du sujet consiste à répondre à l'interrogation des parents concernant la nécessité de mettre en place un régime alimentaire dès la naissance de leur enfant.

Phénylcétonurie : métabolisme et alimentation (documents E, F, G)

- 2.1** Comparer les analyses biologiques d'un individu sain et d'un individu atteint de phénylcétonurie.
- 2.2** À l'aide des deux voies métaboliques, émettre une hypothèse permettant d'expliquer les résultats des analyses biologiques d'un individu atteint de cette maladie.

Un des traitements possibles de la phénylcétonurie consiste en un régime alimentaire très strict.

- 2.3** Expliquer pourquoi un individu atteint de phénylcétonurie ne peut pas consommer certains aliments.

Réalisation d'un diagnostic prénatal (document H)

La phénylcétonurie est due à une mutation du gène codant la phénylalanine hydroxylase (PAH). Le gène de la PAH est très polymorphe : il existe un grand nombre de mutations possibles sur ce gène et donc un grand nombre d'allèles mutés. L'allèle muté PHEmut55 en est un exemple.

On cherche à connaître le mode de transmission de la maladie dans la famille de Madame M grâce à l'étude de l'arbre généalogique de cette famille.

Lors de la rédaction des réponses 2.4 à 2.6, on notera :

- l'allèle de référence : « s » s'il est récessif, ou « S » s'il est dominant.
- l'allèle muté PHEmut55 : « m » s'il est récessif, ou « M » s'il est dominant

- 2.4** Déterminer en argumentant la réponse, le mode de transmission de cette maladie en précisant si l'allèle muté est dominant ou récessif.
Déterminer en argumentant la réponse, la localisation du gène concerné : sur une paire d'autosomes ou sur un des chromosomes sexuels (gonosome X ou Y).
- 2.5** Établir les génotypes des individus II.3, II.4, III.5 et III.6.
- 2.6** Monsieur M (III.7) a pour génotype (S//S).
Déterminer la probabilité pour que l'enfant à naître (IV. 3) soit porteur de l'allèle PHEmut55 muté. Argumenter la réponse.
- 2.7** Rédiger une synthèse permettant de répondre à l'interrogation des parents en utilisant les mots ou expressions suivants : allèle muté, allèle de référence, dominant, récessif, PAH, régime alimentaire, phénylalanine.

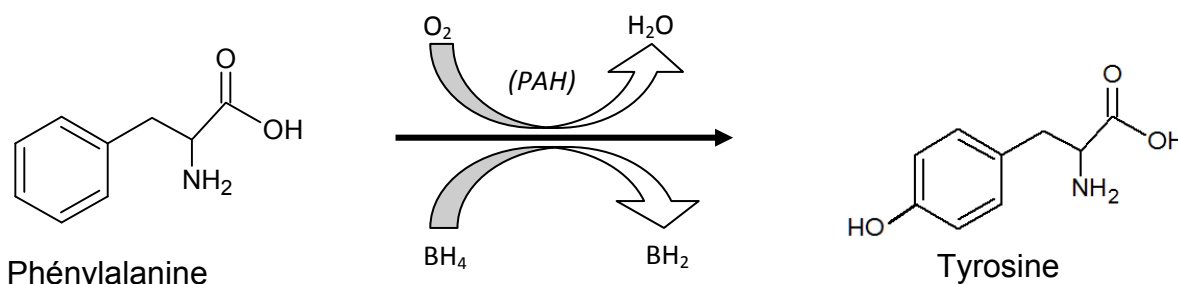
Document E : analyses biologiques d'un individu non atteint et d'un individu atteint de phénylcétonurie

Type de patient	Concentration massique en phénylalanine dans le sang	Acide phénylpyruvique dans les urines
Individu non atteint	Entre 6 et 8 mg.L ⁻¹	Absence
Individu atteint	>200 mg.L ⁻¹	Présence

Document F : voies métaboliques de la phénylalanine dans l'organisme

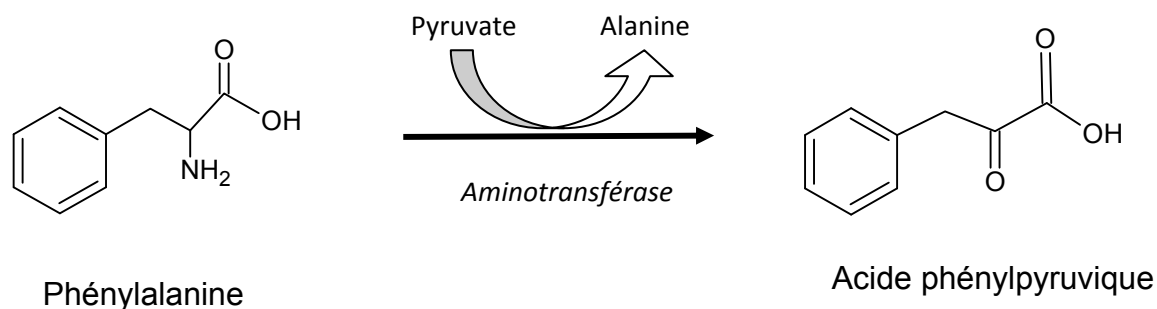
La phénylalanine est métabolisée dans l'organisme par deux voies :

→ Une voie principale catalysée par l'enzyme phénylalanine hydroxylase (PAH) représentée ci-dessous :



BH₄ (Tetrahydrobioptérine) et BH₂ (Dihydrobioptérine) sont des cofacteurs de la PAH.

→ Une voie secondaire catalysée par une aminotransférase, activée en cas d'accumulation de phénylalanine, représentée ci-dessous :



Document G :

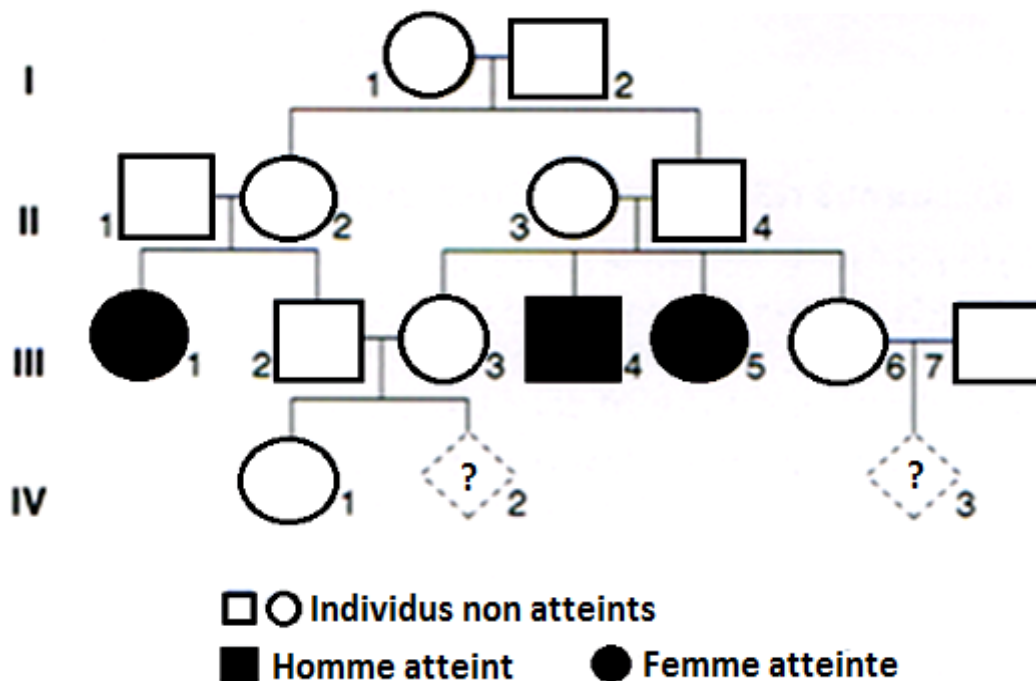
a : régime alimentaire prescrit à un individu atteint de phénylcétonurie

Aliments interdits	Aliments autorisés en quantité contrôlée	Aliments librement autorisés
Produits d'origine animale (viandes, poissons, œufs, charcuterie, lait ...) Aliments à base de blé (pain, gâteaux, semoule, pâtes...)	Légumes, fruits, légumes secs...	Sucres et graisses (miel, confiture, jus de fruit, huile, beurre, margarine...)

b : teneur en phénylalanine de quelques aliments courants

Aliment	Teneur approximative en phénylalanine (en mg)
Huile d'olive (100 mL)	< 1
Banane (100 g)	50
Brocolis (30 g)	50
Riz (45 g)	50
Pommes de terre cuites (90 g)	100
Lait (90 mL)	150
Jambon (100 g)	500
1 œuf	700

Document H : arbre généalogique de la famille de Madame M (III.6)



Source : d'après <https://svtfeyder.files.wordpress.com/2014/11/dsnc2b03-c.png>

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2016

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités
sur des copies séparées.**

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Ce sujet comporte **8** pages.

CHOIX D'UNE METHODE DE RECHERCHE DE *SALMONELLA* DANS UNE ENTREPRISE AGRO-ALIMENTAIRE

Une entreprise est spécialisée dans l'élaboration de produits dérivés de viande hachée crue.

Dans le laboratoire de contrôle qualité de cette entreprise, des analyses sont réalisées conformément aux règlements et aux critères européens de sécurité microbiologique dans le cadre de la recherche des *Salmonella*. En effet, ce genre bactérien peut être responsable de gastro-entérites sévères.

Afin d'améliorer la spécificité et la rapidité de la recherche, le laboratoire désire comparer deux méthodes de recherche et d'identification des *Salmonella* dans des barquettes de viande hachée crue :

- une méthode normalisée conformément à la norme EN/ISO 6579 ;
- une méthode par immuno-séparation et amplification génique.

1. ETUDE DE LA METHODE NORMALISEE EN/ISO 6579 POUR LA RECHERCHE DE *SALMONELLA*

Cette méthode permet de rechercher et d'identifier les bactéries du genre *Salmonella* éventuellement présentes dans la viande hachée crue préalablement broyée et mise en suspension. Elle est schématisée dans le **document 1**.

- Q1.** Estimer le nombre de jours nécessaires pour que l'analyse soit réalisée dans son ensemble.
- Q2.** A l'aide du **document 1**, replacer les cinq étapes de la liste ci-dessous dans l'ordre chronologique.
Liste : *enrichissement, identification, isolement, pré-enrichissement, sérotypage*.

L'étape 3 du **document 1** permet de repérer les colonies suspectes. Le milieu sélectif choisi pour cette étude est la gélose *Salmonella-Shigella* (SS) dont la fiche technique est présentée dans le **document 2**. L'identification repose sur des caractères biochimiques dont les principaux figurent dans le **document 3**.

- Q3.** Décrire l'aspect des colonies suspectes. Argumenter la réponse.
- Q4.** Retrouver dans le tableau d'identification une autre espèce qui donnerait le même type de colonies.
- Q5.** Montrer alors l'intérêt de la recherche du caractère « uréase ».

La recherche de l'uréase est effectuée dans le milieu urée-tryptophane. Cette technique est présentée dans le **document 4**.

- Q6.** Repérer l'indicateur coloré de pH du milieu urée-tryptophane.
Expliquer sa couleur dans le cas d'une souche « uréase + ».
- Q7.** Dédire l'aspect d'un tube urée-tryptophane ensemencé avec *Salmonella enterica*, après incubation 24 h à 37 °C.

Le **document 5** présente l'analyse microbiologique de quelques denrées alimentaires.

Cinq barquettes de viande hachée crue sont extraites de façon aléatoire de la chaîne de fabrication. Elles constituent les cinq unités représentatives du lot de production n°06/2015 dans lequel on procède à la recherche de *Salmonella*.

Un prélèvement de 25 grammes est effectué dans chacune des cinq barquettes.

Les résultats obtenus sur les cinq unités de viande hachée crue sont les suivants :

- 4 unités n'ont pas révélé la présence de *Salmonella* ;
- 1 unité a révélé la présence de *Salmonella*.

Q8. Analyser les résultats obtenus pour chaque unité du lot de production n°06/2015 et conclure quant à la qualité de ce lot.

Q9. Après avoir rappelé le risque lié à la présence de *Salmonella* dans la viande hachée pour le consommateur, en déduire la décision à prendre par l'entreprise vis-à-vis de la commercialisation du lot testé.

2. ETUDE D'UNE METHODE DE DETECTION DE SALMONELLA PAR IMMUNO-SEPARATION ET AMPLIFICATION GENIQUE

Afin d'optimiser la recherche de *Salmonella* dans la viande hachée crue, le laboratoire de contrôle qualité teste une méthode comportant une technique d'immuno-séparation magnétique présentée dans le **document 6**.

Les *Salmonella* sont mises en contact avec des billes magnétiques porteuses d'anticorps. Un aimant permet ensuite de récolter les billes magnétiques.

La présence de *Salmonella* fixées sur les billes est révélée par une technique de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) après extraction de l'ADN. Le mélange réactionnel pour la PCR permet l'amplification d'un fragment d'ADN de 247 paires de bases.

Q10. Montrer, à l'aide du **document 6**, que l'immuno-séparation d'une part, et l'amplification génique d'autre part, sont spécifiques de *Salmonella*.

La PCR est suivie d'une électrophorèse d'ADN en gel d'agarose en présence d'un agent révélateur de l'ADN à pH 8.

Au cours de l'électrophorèse présentée dans le **document 6**, l'ADN, déposé dans les puits et soumis à un champ électrique, migre du pôle négatif vers le pôle positif.

Q11. Argumenter le sens de migration de l'ADN.

Q12. En s'appuyant sur le principe de l'électrophorèse en gel d'agarose, expliquer la différence de position des 2 bandes « 100 pb » et « 1500 pb » du marqueur de taille dans la piste 8.

Q13. Les deux témoins sont conformes aux résultats attendus. Argumenter le rôle de chacun de ces témoins.

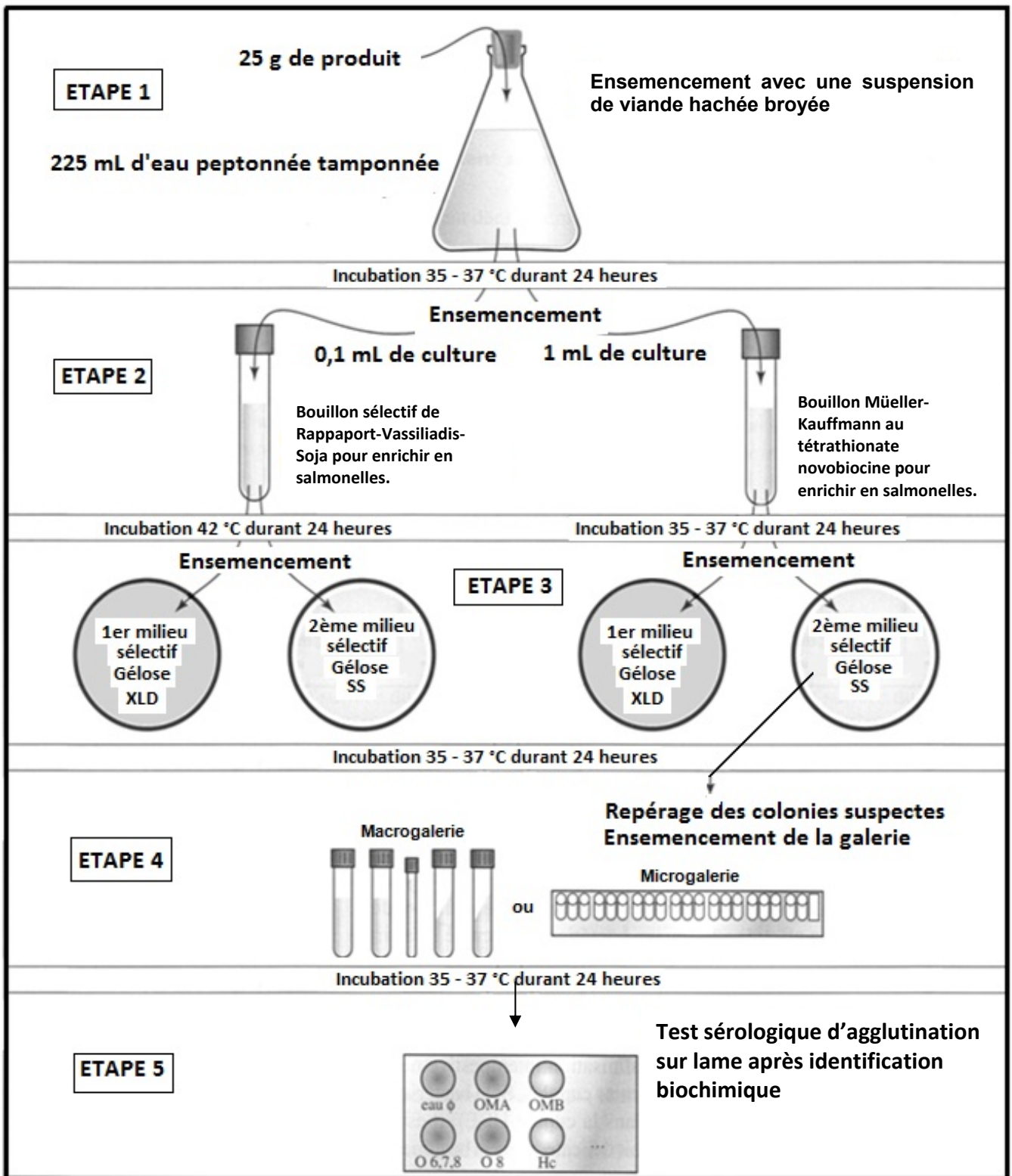
Q14. Interpréter les résultats obtenus pour les cinq unités.
Comparer ces résultats à ceux obtenus avec la méthode normalisée.

SYNTHESE

Q15. En accord avec les objectifs fixés par l'entreprise agro-alimentaire, choisir la méthode de recherche de *Salmonella* la plus adaptée et développer les arguments de ce choix.

DOCUMENT 1 - Plan d'étude de *Salmonella* selon la norme EN/ISO 6579

D'après "Microbiologie alimentaire, 5^{ème} édition" CRDP aquitaine - Ch. et J.N. Joffin



Gélose XLD : Gélose Xylose – Lysine – Désoxycholate

Gélose SS : *Salmonella-Shigella*

DOCUMENT 2 - Fiche technique de la gélose *Salmonella-Shigella*

La gélose SS permet l'isolement sélectif des *Salmonella* et des *Shigella* à partir de produits alimentaires. Cependant, certaines bactéries comme *Pseudomonas*, *Yersinia enterocolitica* ou *Proteus* cultivent également sur ce milieu.

COMPOSITION	
Peptone	5,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Lactose	10,0 g
Citrate de sodium	10,0 g
Citrate de fer III	1,0 g
Sels biliaires	8,5 g
Vert brillant	3,3 mg
Rouge neutre	25 mg
Thiosulfate de sodium	8,5 g
Agar	12,0 g
Eau	qsp 1 L
pH	7,3

LECTURE	
Lactose -	Colonies incolores
Lactose +	Colonies rouges
H ₂ S +	Colonies à centre noir
H ₂ S -	Colonies sans centre noir

DOCUMENT 3 - Caractères biochimiques de quelques espèces d'entérobactéries

H₂S	Uréase	Lactose	Souches d'entérobactéries
+	+	-	<i>Proteus mirabilis</i>
+	-	-	<i>Salmonella enterica</i>
+	-	+	<i>Citrobacter freundii</i>
-	+	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>
-	-	+	<i>Escherichia coli</i>

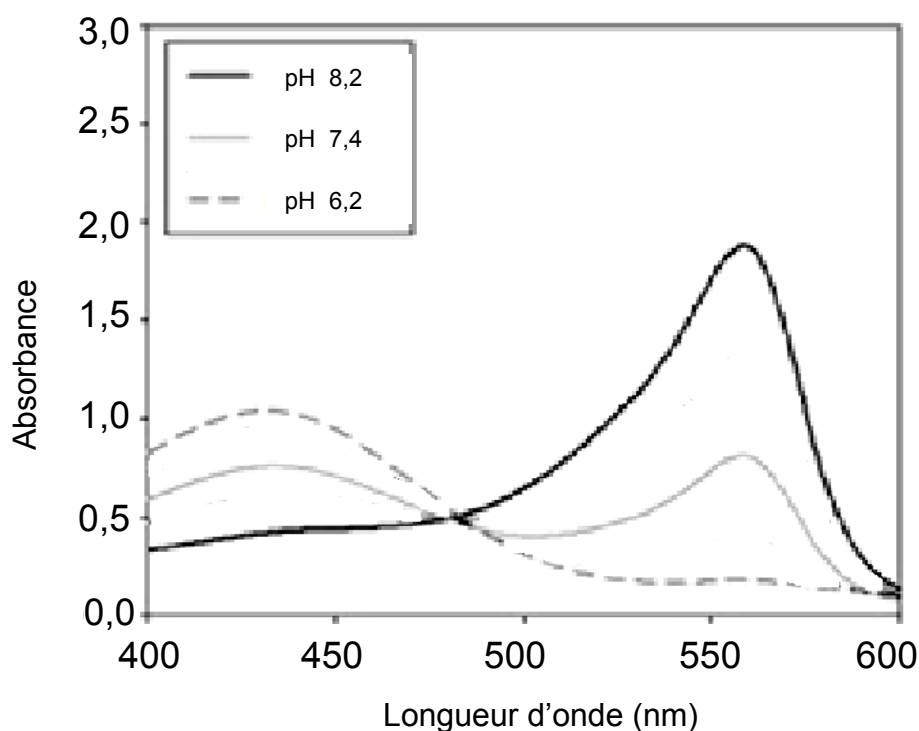
DOCUMENT 4 - Recherche de l'uréase

Fiche technique du milieu urée-tryptophane (ou urée-indole)

Composition	Technique	Interprétation	Conclusion
- Urée - Tryptophane - Phosphate - NaCl - Rouge de phénol - Éthanol - Eau Couleur du milieu stérile à pH 7 : orange	- À partir d'une colonie, réaliser une suspension de la bactérie à étudier dans quelques gouttes de milieu urée-tryptophane. - Incuber 2 à 4 h à 37 °C. - Observer le changement éventuel de couleur du milieu.	L'hydrolyse de l'urée par la bactérie provoque l'alcalinisation du milieu	Présence d'une uréase ⇒ Uréase +
		En absence d'hydrolyse de l'urée, pas de modification de pH	Absence d'une uréase ⇒ Uréase -

Spectre d'absorption de l'indicateur coloré du milieu urée tryptophane à différents pH

D'après "Process Biochemistry, volume 47, Issue 4, April 2012, Pages 597-605"



Relation entre longueur d'onde d'absorption maximale et couleur observée

Intervalle de longueur d'onde d'absorbance (nm)	[380 ; 420]	[430 ; 480]	[490 ; 560]	[590 ; 650]
Couleur de la solution	VERT	JAUNE	ROUGE	BLEU

DOCUMENT 5 - Analyse microbiologique de quelques denrées alimentaires

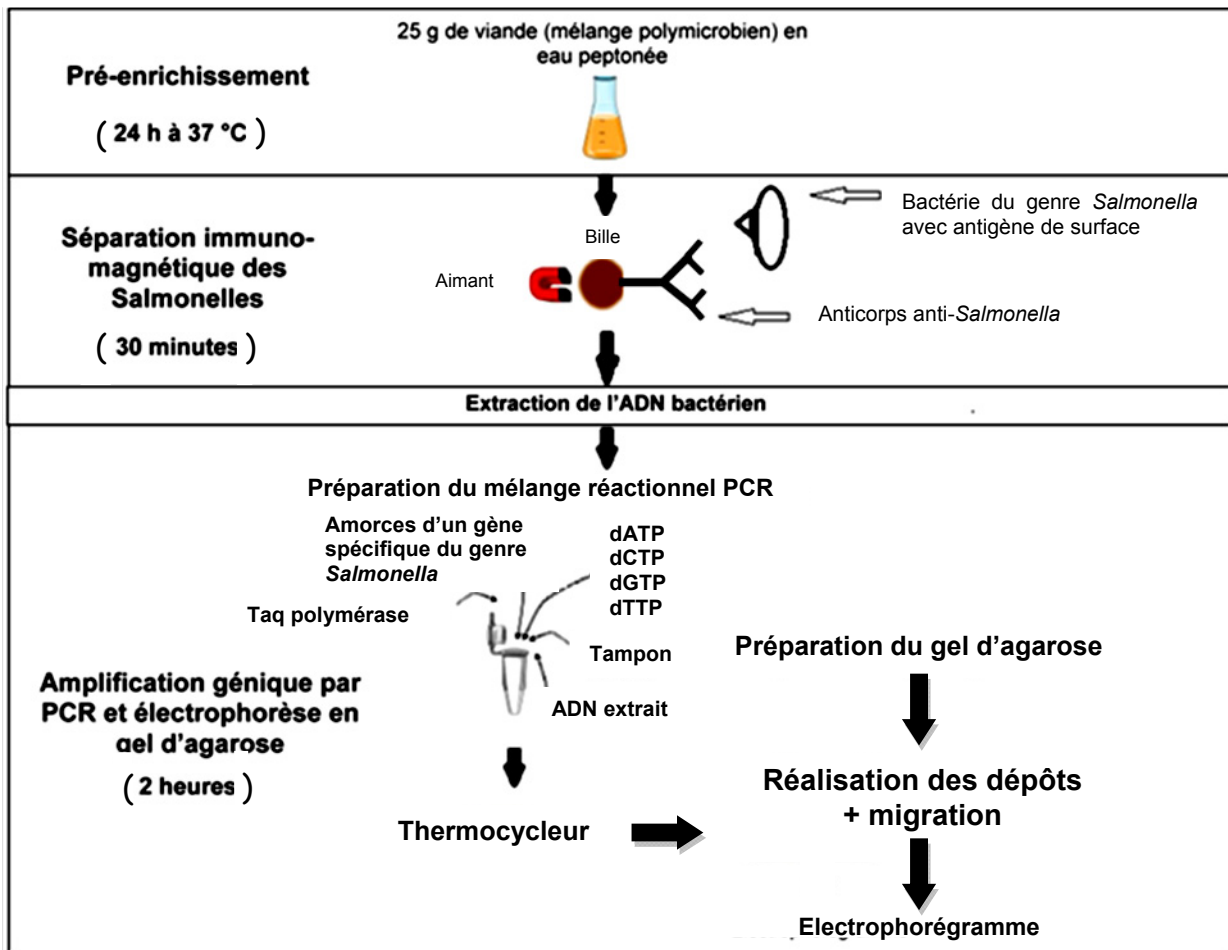
Catégorie de denrées alimentaires	Microorganismes	Nombre d'unités à analyser	Critère microbiologique	Méthode d'analyse de référence	Stade d'application du critère
Préparation en poudre pour nourrisson et aliments diététiques en poudre	<i>Enterobacter sakazakii</i>	30	Absence dans 10 g	ISO/DTS 22964	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
Viande hachée et préparations de viande destinées à être consommées crues	<i>Salmonella</i>	5	Absence dans 25 g	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
Denrées alimentaires prêtes à être consommées contenant des œufs crus	<i>Salmonella</i>	5	Absence dans 25 mL	EN/ISO 6579	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation

Qualité de la denrée alimentaire et recherche de *Salmonella* :

- La qualité du lot est satisfaisante en cas d'absence de la bactérie dans l'ensemble des unités analysées ;
- la qualité du lot est insatisfaisante si la présence de la bactérie est détectée dans au moins une unité analysée.

DOCUMENT 6 - Recherche de *Salmonella* par immuno-séparation et amplification génique (PCR)

Schéma des principales étapes du protocole



Résultats de l'électrophorèse des produits d'amplification à partir des 5 unités du lot n°06/2015

