

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2022

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Jeudi 12 mai 2022

Durée de l'épreuve : 3 heures

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

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

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Ce document comporte 11 pages numérotées de 1/11 à 11/11 dans la version initiale **et 28 pages numérotées de 1/28 à 28/28 dans la version en caractères agrandis.**

Le candidat traite les questions selon les consignes ci-dessous et page suivante.

Choix laissés aux candidats

Session 2022

L'évaluation porte sur les six compétences indiquées dans la définition d'épreuve.

Les questions du sujet mobilisent ces compétences et permettent de les évaluer.

Pour certaines compétences repérées par des astérisques, un choix de questions à traiter est proposé au candidat.

Compétence *C1 :

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

Compétence C2 :

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

Compétence **C3 :

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

Compétence *C4 :**

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

Compétence C5 :

Les questions **Q15** et **Q16** sont obligatoires.

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

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

DÉMARCHE D'IDENTIFICATION D'UN AGENT PATHOGENE

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

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

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

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

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

Pour cela, plusieurs étapes sont nécessaires :

- 1.** Identification de la nature de l'agent infectieux, bactérie ou virus, par dosage enzymatique du lactate ;
- 2.** Identification du genre responsable de l'infection grâce à la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) pour un diagnostic précoce ;
- 3.** Identification du sérotype responsable de l'infection grâce à la technique de MAT (Microscopic Agglutination Test ou Test Microscopique d'Agglutination) pour un diagnostic plus précis.

1. DOSAGE ENZYMATIQUE DU LACTATE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Partie II – Question de synthèse

(durée indicative 30 minutes)

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

Le **document 6** présente trois ressources :

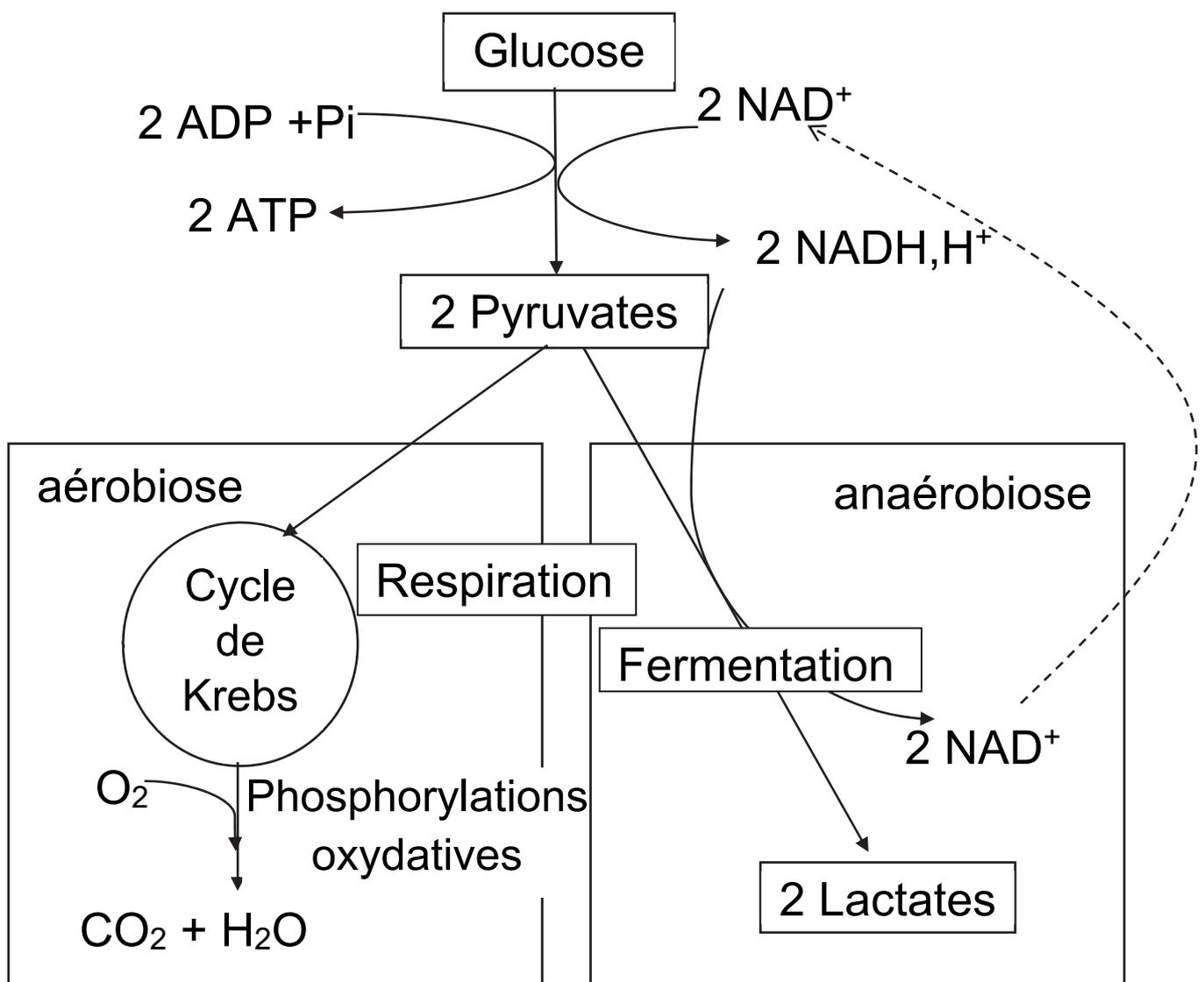
- ▶ Un communiqué de presse de l'HAS argumentant sur l'obligation vaccinale contre Sars-Cov2 pour les professionnels de santé ;
- ▶ Une présentation des enjeux de santé publique liés à la leptospirose ;
- ▶ Une présentation des moyens de lutte contre cette maladie.

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

DOCUMENT 1 : Métabolisme énergétique de bactéries pathogènes

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

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



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

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

a - Principe

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

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

Limites de validité du dosage :

$$C (\text{Lactate ; échantillon}) = (0,30 - 2,22) \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$$

b - Procédure

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

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

c - Résultats du dosage du lactate

		Blanc	Essai
Absorbances mesurées à 340 nm	A1	0,058	0,061
	A2	0,059	0,683

Calcul

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

$$\Delta A = [A2 - A1]_{\text{essai}} - [A2 - A1]_{\text{blanc}}$$

Fd : facteur de dilution

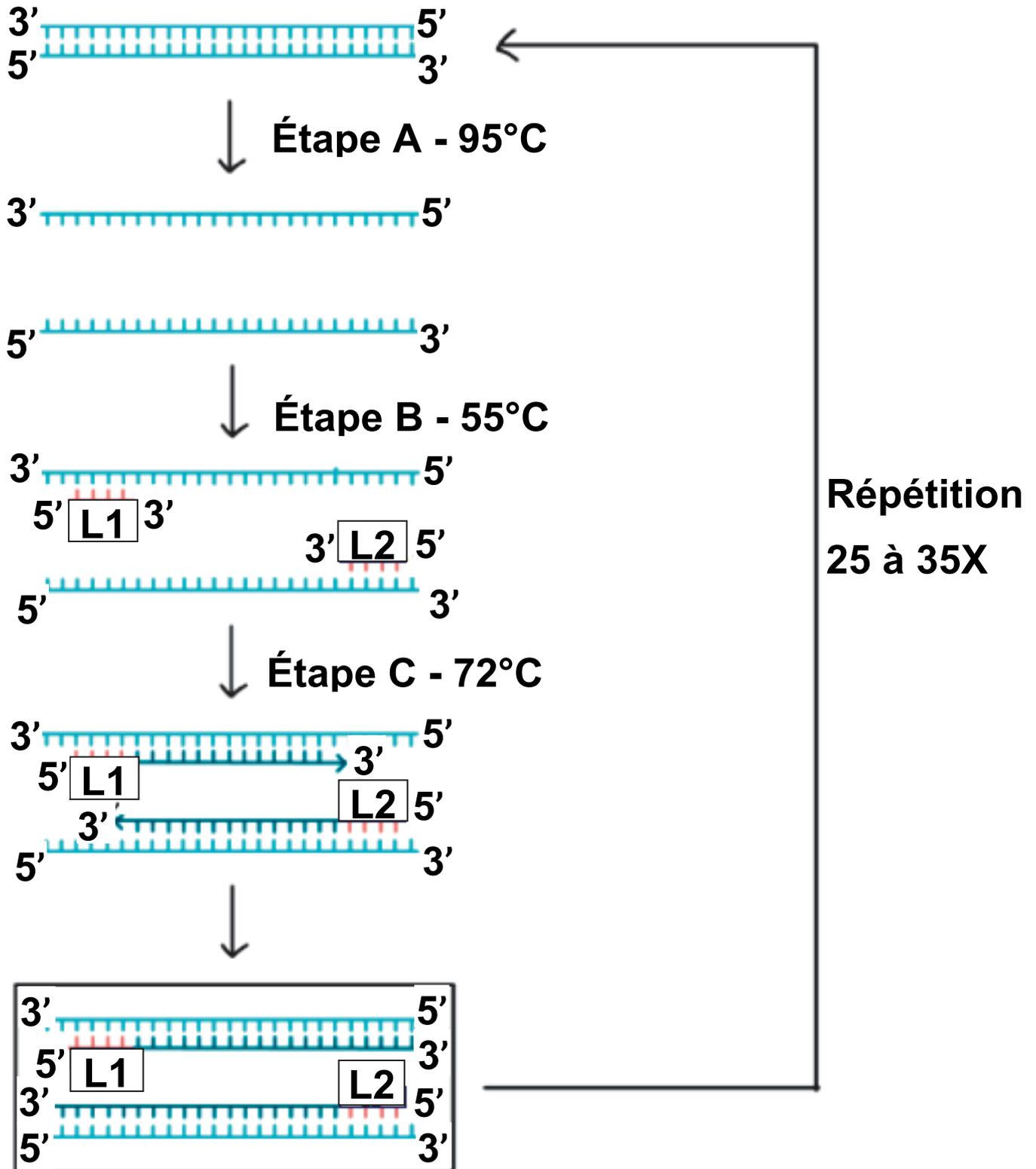
Les réactifs du coffret doivent être validés par le dosage de l'étalon de contrôle.

Limites d'acceptabilité du contrôle : (0,86 - 1,47) mmol·L⁻¹

DOCUMENT 3 : Recherche de leptospire par PCR

a - Principe de la PCR dans la recherche de leptospire

Source : *khanacademy.org*



b - Séquence amplifiée du gène *fb1* et amorces utilisées

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

1 AACTAACGCT GCGGGCGCGT CTTAAACATG CAAGTCAAGC GGAGTAGCAA TACTCAGCGG

61 CGAACGGGTG AGTAACACGT GGGTAATCTT CCTCTGAGTC TGGATAACT TTCCGAAAGC

121 GAAGCTAATA CTGGATGGTC CCGAGAGATC ATAAGATTTT TCGGGTAAAG ATTTATTGCT

181 CGGAGATGAG CCCGGTCCG ATTAGCTAGT TGGTGAGGTA AAGGCTCACC AAGCGACGGA

241 TCGGTAGCCG GCCTGAGAGG GTGTTCCGGC ACAATGGAAC TGAGACACGG TCCATACTCC

301 TACGGGAGGC AGCAGTTAAG AATCTTGCTC AATGGGGGA ACCCTGAAGC AGCGACGCCG

361 CGTGAACGAT GAAGTCTTC GATTGTAAA GTTCAGTAAG CAGGAAAAA TAAGCAGCAA

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

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

a - Plan de dépôt

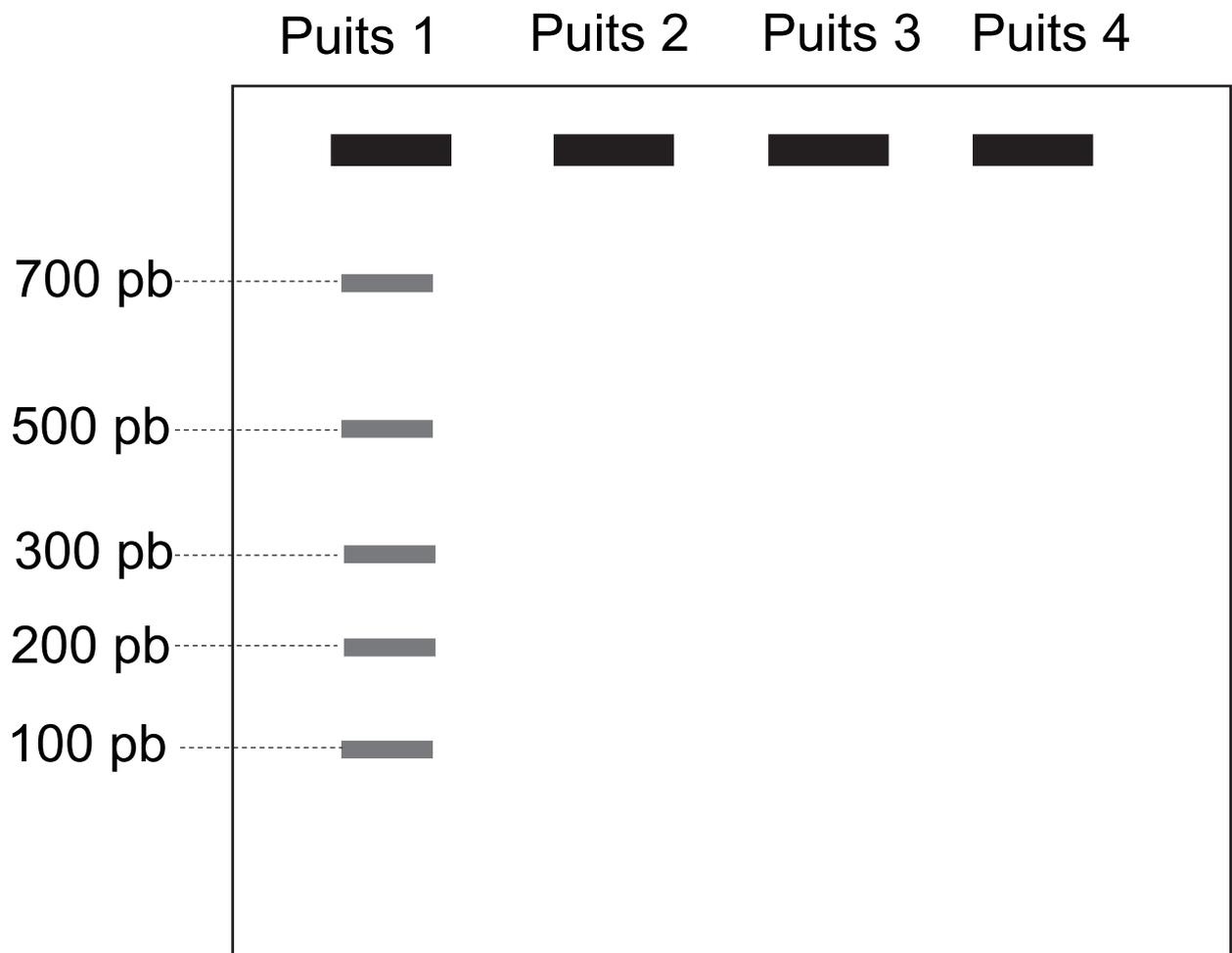
Puits 1 : Dépôt d'un marqueur de taille moléculaire contenant des fragments d'ADN de 100, 200, 300, 500 et 700 paires de bases (pb).

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

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

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

**b - Schéma de l'électrophorogramme après migration
à reporter et compléter**



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

a - Principe

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

b - Procédure opératoire

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

Réactifs

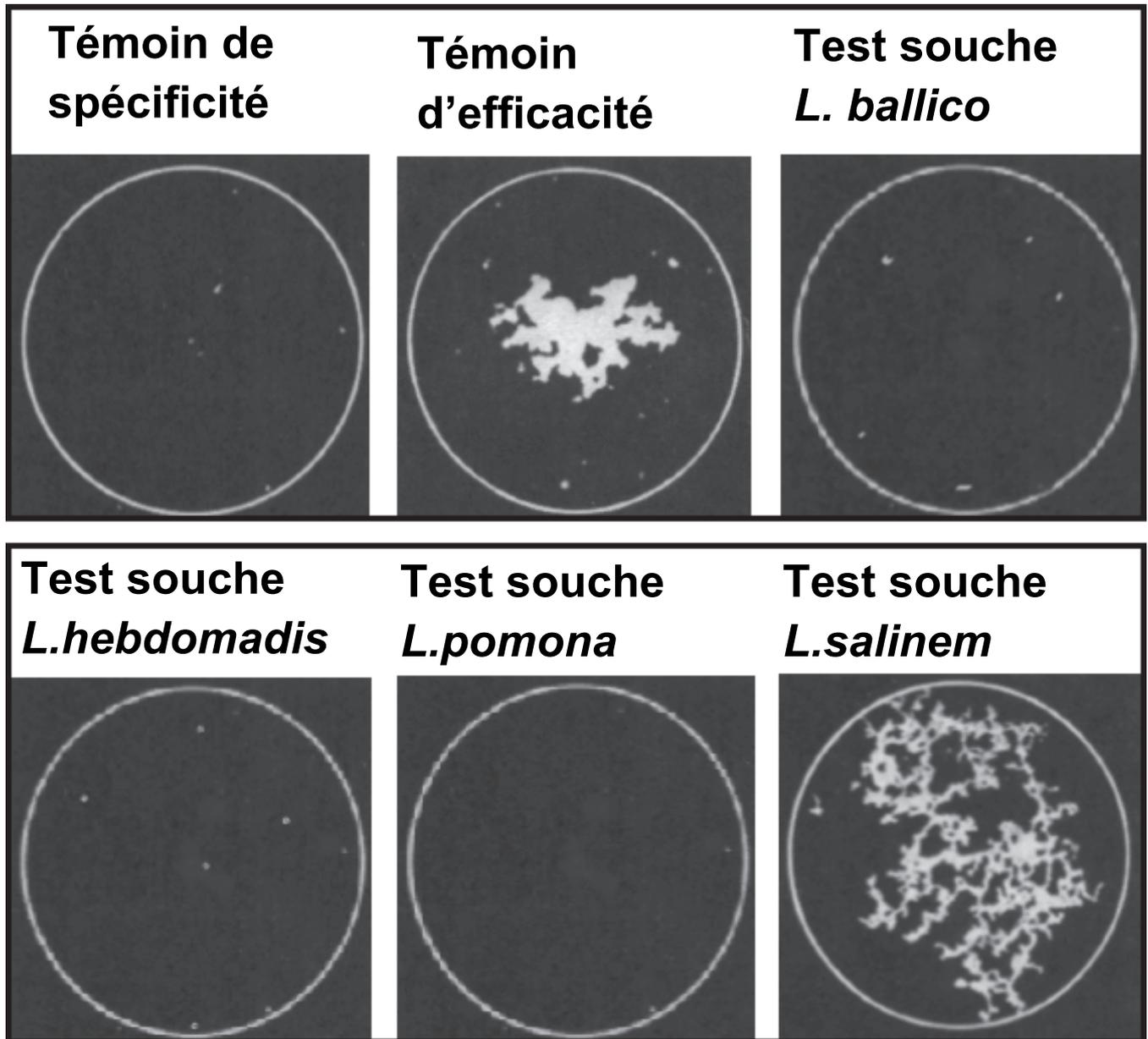
- ▶ suspensions bactériennes de *Leptospira* de différents sérotypes ;
- ▶ sérum ne contenant pas d'anticorps spécifique anti-*Leptospira* ;
- ▶ solution d'anticorps dirigée contre le genre *Leptospira* et reconnaissant tous les sérotypes.

Dans un puits de microplaque à fond plat introduire :

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

c - Résultats

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



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

DOCUMENT 6 :

Obligation vaccinale contre Sars-Cov2 pour les professionnels au contact de personnes vulnérables -

Communiqué de presse de l'HAS du 16 juillet 2021

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

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

- ▶ L'évolution défavorable du contexte épidémique :
diffusion rapide d'un ou de plusieurs variants,
augmentation préoccupante du nombre de cas (...)
- ▶ L'efficacité des vaccins à ARNm (...) sur la prévention des formes graves de Covid-19 vis-à-vis des différents variants circulants en France (...)

- ▶ Le niveau insuffisant de la couverture vaccinale des professionnels au contact des plus âgés et des professionnels exerçant en établissement de santé (...)
- ▶ Les risques liés à la contamination des professionnels au contact des personnes vulnérables (...)

La leptospirose, maladie émergente

Adapté du site Santé Publique France

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

Les bactéries responsables de la maladie appartiennent au genre *Leptospira* qui comprend 22 espèces, dont 10 d'entre elles sont pathogènes. La plupart des cas sont sporadiques, dus à un contact entre une muqueuse lésée et un animal infecté ou une eau contaminée. Il n'y a pas de transmission inter-humaine de la maladie, contrairement à d'autres méningites très contagieuses comme les méningites à méningocoques. Les professions en contact avec des eaux contaminées ou des animaux ainsi que les personnes pratiquant régulièrement des loisirs nautiques constituent une population à risque. Cependant, un certain nombre de mesures de prévention sont susceptibles de diminuer le risque d'exposition en particulier les équipements de protection individuel.

Lutte contre la leptospirose

Adapté du site Vaccination INFO Service.fr

Le vaccin contre la leptospirose en France est uniquement efficace contre le sérotype *Icterohemorrhagiae*, qui est responsable d'environ 30 % des cas de leptospiroses depuis une dizaine d'années en métropole. Ce vaccin est

proposé aux populations à risque et non obligatoire contrairement aux vaccins contre des souches responsables d'autres méningites comme *Haemophilus influenzae* de type B et les méningocoques C. Le schéma vaccinal proposé est très lourd avec 3 injections initiales puis des rappels tous les 2 ans. Un traitement antibiotique existe, il est efficace sur tous les sérogroupes et sur les formes graves de la maladie, à condition d'être pris précocement. On peut par exemple utiliser AMOXICILLINE BIOGARAN[®] qui est un antibiotique à large spectre (qui a un effet bactériostatique ou bactéricide sur de très nombreuses bactéries). Le principe actif est l'amoxicilline, qui appartient à un groupe de médicaments appelés « pénicillines ».