

**BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE
SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE
SPÉCIALITÉ BIOTECHNOLOGIES**

**ÉPREUVE ORALE de contrôle du second groupe d'épreuves
BIOCHIMIE BIOLOGIE BIOTECHNOLOGIES (coefficient 16)**

SESSION

Sujet Y

Temps de préparation : 20 minutes

Durée de l'épreuve : 20 minutes

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

Calculatrice autorisée

*Ce sujet constitue un support pour aider le candidat à préparer son entretien.
Ce sujet doit en effet donner lieu à un échange et donc nécessite d'être adapté en fonction
des réactions et réponses de l'élève dont on veut vérifier les compétences acquises
(Cf grille d'évaluation).*

BACTÉRIOPHAGES ET EAU DE RIVIÈRE

La présence de bactériophages dans un échantillon d'eau est un témoin d'une contamination d'une eau par des microorganismes du microbiote intestinal des animaux ou des humains. L'objectif de ce sujet est d'étudier le mécanisme d'infection des bactériophages lytiques afin de les dénombrer et évaluer la qualité de l'eau de rivière.

Partie 1. Lysotypie et cycle lytique

Les étapes d'une infection par un bactériophage sont représentées dans le **document 1**.

- Présenter les étapes de la multiplication du cycle lytique du bactériophage et donner la conséquence pour la bactérie infectée.

La sensibilité aux bactériophages peut être variable selon les souches bactériennes. Un phage lytique ne détruira qu'une seule espèce bactérienne. La lysotypie est donc une méthode très discriminante car elle est fondée sur la spécificité entre un phage et une bactérie.

Le **document 2** présente la technique de mise en évidence de la spécificité phage-bactérie par lysotypie sur gélose.

- Après avoir exploité le témoin de l'expérience présentée dans ce document, analyser les deux tests réalisés et conclure sur la ou les souche(s) sensible(s) au bactériophage testé.

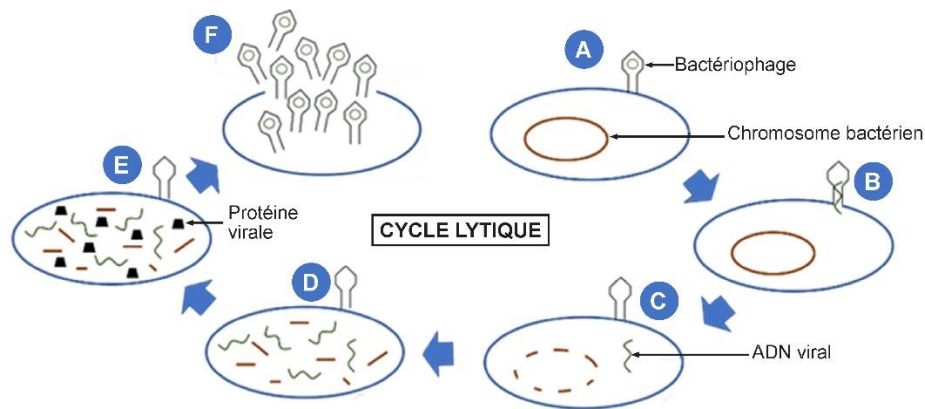
Partie 2. Dénombrement des bactériophages dans une eau de rivière

On estime qu'une eau est contaminée quand la concentration en bactériophages spécifiques d'*E. coli* est supérieure à 500 Unités Formant Plages (UFP) par mL d'eau.

Pour quantifier les bactériophages dans une eau, la réalisation d'un filtrat puis d'une gamme de dilutions décimales de ce filtrat d'eau à analyser est nécessaire. La procédure opératoire et les résultats du dénombrement de bactériophages sont donnés dans le **document 3**.

- À l'aide de la liste de matériel, présenter la réalisation d'une dilution décimale du filtrat de l'eau de rivière.
- Établir les équations aux unités et aux valeurs numériques permettant de déterminer la concentration en bactériophages dans le filtrat de l'eau de rivière notée, C_N (phages ; filtrat eau de rivière) en UFP.mL⁻¹.
- Conclure sur la qualité microbiologique de l'eau de rivière.

Document 1 : Schéma des étapes de multiplication d'un bactériophage au cours d'un cycle lytique



Document 2 : Mise en évidence de la spécificité phage- bactérie par lysotypie sur une gélose

Les suspensions bactériennes, la suspension phagique ainsi que l'eau physiologique sont déposées sur la gélose sous la forme d'une goutte (cercles sur le schéma ci-contre)

Plan de dépôt

La couleur noire correspond à une culture de la souche bactérienne.

La lyse se traduit par un aspect en croissant de la culture bactérienne.

Résultats après 6 h d' incubation

Document 3 : Procédure opératoire du dénombrement de bactériophages par technique en double couche

Réactifs et matériel :

- Filtrat d'eau de rivière
- Pipettes automatiques (P200 ; P1000)
- Souche bactérienne sensible au phage
- 7 pipettes de 1 mL stériles
- 3 géloses coulées en boîte de Petri
- 7 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile
- 3 tubes de milieu « Top-Agar » en surfusion
- 3 microtubes stériles

Procédure opératoire :

1. A partir du filtrat d'eau de rivière, réaliser des dilutions successives de 10^{-1} à 10^{-7} .
2. Transférer 0,1 mL des dilutions 10^{-5} à 10^{-7} dans trois microtubes stériles puis y ajouter 0,1 mL de la souche bactérienne sensible.
3. Mélanger doucement sans vortexer puis incuber 30 min à température ambiante.
4. Ajouter le milieu « Top-Agar » en surfusion dans chaque tube. Homogénéiser doucement.
5. Verser à la surface d'une gélose coulée en boîte de Petri, laisser solidifier puis incuber.

Résultats :

Dilution	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
Nombre de plages de lyse sur la boîte	>100	96	11

Exploitation des résultats :

$$C_{N(\text{phages ; échantillon})} = \frac{\Sigma \text{plages de lyse}}{V \cdot 1,1 \cdot d}$$

C_N : concentration en nombre de phages par mL d'échantillon pur

Σ **plages de lyse** : Somme des plages de lyse comptées sur les boîtes contenant entre 10 et 100 plages de lyse

V : volume d'inoculum en mL

d : dilution correspondant à la première boîte retenue contenant l'inoculum le moins dilué

Le résultat est arrondi à 2 chiffres significatifs, exprimé avec un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par la puissance de 10 appropriée.

**BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE
SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE
SPÉCIALITÉ BIOTECHNOLOGIES**

**ÉPREUVE ORALE de contrôle du second groupe d'épreuves
BIOCHIMIE BIOLOGIE BIOTECHNOLOGIES (coefficient 16)**

Fiche de matière d'œuvre - Sujet Y

*Ce document est à destination du professeur coordonnateur
qui en assure la préparation et la mise à disposition des candidats.*

BACTÉRIOPHAGES ET EAU DE RIVIÈRE

L'épreuve se déroule dans un laboratoire de biotechnologie équipé à minima du matériel suivant :

- *Pipettes automatiques : P10 ou P20, P100 ou P200, P1000 + boîtes de cônes adaptés*
- *Matériel d'ensemencement de microbiologie*
- *Pissette d'eau déminéralisée*
- *Matériel de décontamination*

- *Spectrophotomètre*
- *Balance de précision*
- *Microscope optique*

Pour ce sujet, le matériel suivant devra être obligatoirement présent et à disposition du candidat :

- Flacon contenant de l'eau **noté « Filtrat d'eau de rivière »**
- Tube à hémolyse bouché contenant 1 mL d'eau trouble **noté « souche bactérienne sensible au phage »**
- Une gélose coulée en grande boîte de Petri
- Tube à hémolyse bouché contenant 4 mL de liquide jaune clair **noté « Top-Agar »**
- 7 pipettes de 1 mL stériles + système de prélèvement
- 7 tubes bouchés contenant 9 mL d'eau **notés « eau physiologique stérile - 9 mL »**
- 3 microtubes stériles.