



**MINISTÈRE  
DE L'ÉDUCATION  
NATIONALE  
ET DE LA JEUNESSE**

*Liberté  
Égalité  
Fraternité*

## **Rapport du jury**

**Concours : AGREGATION INTERNE et CAERPA INTERNE**

**Section : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE**

**Session 2023**

Rapport de jury présenté par : Caroline BONNEFOY, Inspectrice générale de l'éducation, du sport et de la recherche, présidente du jury

## SOMMAIRE

<b>Renseignements statistiques.....</b>	<b>Page 3</b>
<b>Avant-propos de la Présidente.....</b>	<b>Page 5</b>
<b>Epreuves d'admissibilité .....</b>	<b>Page 8</b>
<b>Première épreuve.....</b>	<b>Page 8</b>
<b>Deuxième épreuve .....</b>	<b>Page 15</b>
<b>Epreuves d'admission.....</b>	<b>Page 21</b>
<b>Première épreuve.....</b>	<b>Page 21</b>
<b>Deuxième épreuve.....</b>	<b>Page 26</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>Page 53</b>

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### Agrégation interne

<b>Nombre de postes</b>	<b>8</b>
<b>Candidats inscrits</b>	<b>128</b>
<b>Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité</b>	<b>84</b>
<b>Candidats admissibles</b>	<b>21</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission</b>	<b>20</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission</b>	<b>8</b>
<b><u>Epreuves d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>7,87</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles</b>	<b>11,23</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible</b>	<b>10,0</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>8,1</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>11,3</b>
Note maximale	<b>15,5</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>7,6</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>11,2</b>
Note maximale	<b>15,61</b>
<b><u>Epreuves d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>11,0</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>13,0</b>
<b>Moyenne la plus élevée</b>	<b>15,1</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
<u>Moyenne</u> des candidats présents	<b>11,1</b>
Moyenne des candidats admis	<b>13,9</b>
Note maximale	<b>17,0</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
<u>Moyenne</u> des candidats présents	<b>10,9</b>
Moyenne des candidats admis	<b>12,1</b>
Note maximale	<b>17,1</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>11,1</b>
<b>Moyenne la plus élevée</b>	<b>13,37</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>12,36</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis</b>	<b>11,5</b>

## RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

### Concours d'accès à l'échelle de rémunération des professeurs agrégés (CAERPA)

<b>Nombre de postes</b>	<b>2</b>
<b>Candidats inscrits</b>	<b>17</b>
<b>Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité</b>	<b>11</b>
<b>Candidats admissibles</b>	<b>3</b>
<b>Candidats présents aux épreuves d'admission</b>	<b>3</b>
<b>Candidats proposés pour l'admission</b>	<b>2</b>
<b><u>Epreuves d'admissibilité</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>7,3</b>
<b>Moyenne des candidats admissibles</b>	<b>10,5</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admissible</b>	<b>9,45</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>8,0</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>10,7</b>
Note maximale	<b>11,2</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>6,1</b>
Moyenne des candidats admissibles	<b>10,4</b>
Note maximale	<b>12,5</b>
<b><u>Epreuves d'admission</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>8,8</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>9,4</b>
<b><u>1<sup>ère</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>9,3</b>
Moyenne des candidats admis	<b>11,5</b>
Note maximale	<b>12,0</b>
<b><u>2<sup>ème</sup> épreuve</u></b>	
Moyenne des candidats présents	<b>8,2</b>
Moyenne des candidats admis	<b>7,3</b>
Note maximale	<b>10,1</b>
<b><u>Ensemble du concours</u></b>	
<b>Moyenne des candidats présents</b>	<b>9,6</b>
<b>Moyenne la plus élevée</b>	<b>10,42</b>
<b>Moyenne des candidats admis</b>	<b>10,2</b>
<b>Moyenne du dernier candidat admis</b>	<b>10,0</b>

## Avant-propos

En introduction de ce rapport, le jury souhaite adresser ses plus sincères félicitations aux lauréats de la session 2023 qui ont su faire la démonstration de leur investissement soutenu dans la préparation de ces différentes épreuves. Le jury félicite également l'ensemble des candidats admissibles non retenus et les encourage vivement, ainsi que l'ensemble des candidats qui se sont présentés à ce concours, à renouveler leur candidature lors de la prochaine session. Le jury encourage également fortement tous les candidats qui ambitionneraient de se présenter à ne pas faire preuve d'autocensure et à s'inscrire à ce concours afin de passer les épreuves.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique ont pour vocation de permettre à des enseignants de biochimie génie biologique en activité d'accéder au grade de professeur agrégé. Lors de cette session 2022, 128 candidats se sont inscrits et 84 d'entre eux se sont présentés aux deux épreuves d'admissibilité, soit un taux de présence de 65 %, comme en 2022, qui était en très forte augmentation par rapport aux sessions précédentes, sessions 2021 (58,6 %), 2020 (51,9 %), et 2019.

Le jury se félicite de ce constat et encourage très fortement les professeurs certifiés à s'inscrire et passer les deux épreuves d'admissibilité. En effet, la confrontation aux épreuves écrites de notre concours représente un excellent exercice d'enrichissement et d'approfondissement des connaissances et compétences dans les multiples champs disciplinaires qui caractérisent notre spécialité. Cette invitation forte à passer ce concours concerne, bien évidemment, chaque enseignant(e) de biochimie génie biologique, ou de biotechnologies santé environnement quel que soit le secteur de spécialité des biotechnologies ou de la biologie dans lequel il (elle) dispense son enseignement.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique sont des concours difficiles qui nécessitent de la part des candidats un travail de préparation très approfondi, aussi bien dans l'acquisition des contenus scientifiques attendus, que dans la prise en compte des attentes du jury pour chacune des épreuves. L'agrégation interne de biochimie génie biologique couvre des champs disciplinaires à la fois très vastes et très variés tels que la biochimie, la microbiologie, l'immunologie, la biologie cellulaire, l'hématologie, la biologie moléculaire et la physiologie humaine. Cette diversité de domaines, dans lesquels une expertise pointue est demandée pour espérer une quelconque chance de réussite, impose aux candidats une préparation en amont très rigoureuse. Cette dernière doit permettre aux candidats de développer, affirmer et/ou consolider leurs multiples compétences professionnelles ainsi que d'approfondir et enrichir leurs connaissances scientifiques et technologiques telles qu'exigées de la part d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique. Ce rapport de jury a pour vocation d'aider à cette préparation en précisant, notamment, les objectifs des différentes épreuves.

### **Epreuves d'admissibilité**

Les épreuves d'admissibilité conjuguent l'évaluation de connaissances scientifiques et technologiques à celle des qualités didactiques et pédagogiques requises pour un enseignant. Le jury attend donc que le candidat fasse la démonstration qu'il est capable de construire un développement structuré, rigoureux, concis et scientifiquement actualisé, tout en faisant preuve de qualités didactiques et pédagogiques.

La première épreuve s'articule autour d'un ou plusieurs thèmes technologiques abordés dans leurs dimensions scientifiques et technologiques ainsi que pédagogiques. Afin de permettre au candidat l'identification du registre évalué par le jury et lever ainsi toute ambiguïté sur les attendus de chaque question, celles-ci sont respectivement identifiées par les lettres « ST » et « P ». Au cours de cette épreuve, le candidat doit faire la démonstration de ses capacités d'analyse et de réflexion ainsi que de son aptitude à construire des enseignements originaux de qualité mobilisant également un esprit de synthèse incontournable pour un enseignant.

La seconde épreuve mobilise les connaissances et compétences scientifiques du candidat qui doit élaborer un devoir faisant également appel à un esprit de synthèse pour effectuer des choix portant sur une question portant sur un domaine couvert par les champs de la spécialité, ai également apporter des éléments scientifiques et technologiques précis. L'exercice est de ce fait très exigeant et impose une préparation sérieuse de la part du candidat qui doit faire la démonstration du niveau et de l'actualisation de ses connaissances ainsi que de sa capacité à les organiser de manière didactique. Il nécessite notamment de cerner avec précision et justesse l'énoncé proposé et de pouvoir construire un devoir faisant appel non seulement à des connaissances et compétences dans le domaine proposé mais également à des connaissance et compétences transversales,

valorisant ainsi la vision intégrée des candidats et leur maîtrise des différents champs disciplinaires de nos disciplines.

Une présentation plus détaillée des attendus des épreuves d'admissibilité de la session 2022 est précisée plus loin dans ce rapport.

Le jury rappelle que les définitions des épreuves d'admissibilité de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique ont été modifiées depuis la session 2021 et qu'elles sont disponibles à l'adresse suivante : <https://www.devenirenseignant.gouv.fr/cid98739/les-epreuves-de-l-agregation-interne-et-du-caerpa-section-biochimie-genie-biologique.html>).

### **Épreuves d'admission**

La première épreuve d'admission s'inscrit dans une démarche de projet qui vise à construire une transposition pédagogique élaborée à partir d'une étude scientifique et technologique.

L'étude scientifique et technologique reproduit la situation d'un enseignant qui construit un enseignement contextualisé et actualisé en prenant appui sur divers procédés de biotechnologies (production de biens, recherche, R&D, analyse, contrôle qualité, imagerie ...) tout en tenant compte de l'évolution des activités expérimentales dans les laboratoires. L'étude doit faire la démonstration que le candidat est devenu « expert » dans le domaine qu'il a lui-même librement choisi. Ainsi, il doit montrer qu'il s'est posé les questions expliquant les choix scientifiques et technologiques effectués, pour faire la preuve de ce niveau expert.

Dans cet objectif, le candidat s'emploie à approfondir ses savoirs scientifiques, technologiques et techniques en s'appuyant sur les activités professionnelles réalisées au sein d'un laboratoire ou d'une entreprise. Il peut également, si cela lui paraît pertinent et nécessaire, enrichir et compléter son étude par des données économiques et/ou des problématiques sociétales ou éthiques associées à des procédés biotechnologiques. Afin de garantir une adéquation de l'étude avec le contexte professionnel actuel des différents secteurs d'application des biotechnologies, le candidat peut avantageusement effectuer un stage en entreprise ou en laboratoire. Le candidat doit porter une attention toute particulière sur le fait que cette démarche de projet doit, en tout premier lieu, prendre en compte les besoins de formation des élèves, et les étudiants en lien avec la réalité du contexte du monde professionnel utilisant les biotechnologies d'une part, et des freins aux apprentissages repérés au cours de son activité d'enseignement d'autre part. Ainsi, le candidat doit veiller à ne pas se tromper en construisant une étude portant sur un procédé technologique, certes novateur, attractif ou moderne, mais déconnecté de la réalité des domaines professionnels dans lesquels s'insèrent nos élèves et étudiants. C'est l'analyse réflexive qu'il mène globalement sur sa pratique et les retours des étudiants qui doivent guider ces choix.

Afin de remplir aux attentes de l'épreuve, le dossier peut légitimement comporter deux parties :

- une étude scientifique et technologique que le candidat replacera dans son contexte, notamment en lien avec l'objectif pédagogique visé à l'origine du projet. Si la réalisation d'un stage en entreprise ou en laboratoire de recherche n'est pas obligatoire, le jury constate que les dossiers construits à partir de telles expériences professionnelles, fort enrichissantes pour les candidats, portent alors une dimension factuelle, réaliste et actualisée qui représente un élément très favorable ;

- une mise en application pour un niveau de classe donné en une progression choisie et justifiée, d'un référentiel de l'enseignement professionnel supérieur de STS ou d'un programme de biotechnologies en CPGE voire d'un référentiel de l'enseignement supérieur de BUT génie biologique.

La problématique de la transposition des activités technologiques et techniques décrites sera abordée afin de prendre en compte les contraintes propres à un environnement de formation (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, prévention-sécurité, ...). Elle présentera les modalités de mise en œuvre (opérationnalisation) en lien avec les objectifs de formations ambitionnés, les activités effectuées par les étudiants, les documents supports de ces activités ainsi que les modalités d'évaluation. Le jury apprécie les aspects interdisciplinaires pertinents qui apportent une réelle plus-value aux choix pédagogiques et opérationnels adoptés.

La seconde épreuve d'admission place les candidats dans l'anticipation, la réalisation pratique et l'analyse d'activités expérimentales de biotechnologies. Elle ne se limite pas à la seule mise en œuvre de protocoles opératoires mais place également le candidat dans une dimension métier au travers de mises en situation. Le jury rappelle que cette épreuve est relativement difficile pour plusieurs raisons. Tout d'abord, par sa durée de 8 heures qui impose aux candidats une très bonne gestion du temps en termes d'endurance et de maintien de la concentration tout au long de l'épreuve. D'autre part, par le fait qu'elle couvre des domaines imposés et divers des biotechnologies qui demandent au candidat de mettre en œuvre des activités technologiques relevant de différents champs de nos spécialités. Les manipulations proposées permettent d'évaluer des compétences technologiques et techniques de base telles que celles enseignées à nos élèves et étudiants mais, de par leur diversité, obligent à

une polyvalence, une adaptabilité et une aptitude à intégrer rapidement des protocoles opératoires parfois totalement nouveaux pour certains candidats. Il est donc vivement conseillé aux futurs candidats de s'appropriier ou se réappropriier certains gestes techniques en amont de l'épreuve en se plaçant par exemple en situation d'« élève/étudiant ». En effet, le jury rappelle que l'acquisition pérenne d'une gestuelle technique précise et adéquate ne peut se faire sans sa mise en œuvre concrète et itérative. De même, il est conseillé aux candidats de s'informer sur les méthodologies et techniques récentes afin de pouvoir s'adapter rapidement dans un contexte, de plus, très particulier, celui d'une épreuve de concours. Afin de prendre un repas, s'hydrater et se ressourcer, chaque candidat dispose d'une heure au total. L'ensemble de l'épreuve couvre donc 9 heures dont 8 heures d'activités technologiques. Il est très fortement recommandé aux candidats de ne pas faire le mauvais choix d'une activité à « marche forcée », durant plusieurs heures consécutives, sans aucune respiration intellectuelle. En effet, un phénomène d'épuisement intellectuel s'installant souvent brutalement affecte alors profondément la lucidité indispensable pour mener à bien l'ensemble de l'épreuve.

Le jury rappelle que les définitions des épreuves d'admission de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique ont été modifiées depuis la session 2021 et qu'elles sont disponibles à l'adresse suivante : <https://www.devenirenseignant.gouv.fr/cid98739/les-epreuves-de-l-agregation-interne-et-du-caerpa-section-biochimie-genie-biologique.html>). Ces nouvelles définitions, plus explicites et concises, ne modifient ni les attendus généraux des épreuves, ni leur durée.

Pour conclure, le jury espère sincèrement que ce rapport sera utile aux futurs candidats à l'agrégation interne et au CAERPA interne de biochimie génie biologique et qu'il sera un moteur de motivation pour vous inscrire et passer les épreuves de la prochaine session.

# EPREUVES D'ADMISSIBILITE

Les sujets des épreuves d'admissibilité sont en ligne :

<https://www.devenirenseignant.gouv.fr/media/4478/download>

<https://www.devenirenseignant.gouv.fr/media/4481/download>

## Première épreuve

Durée : 6 heures  
Coefficient : 1

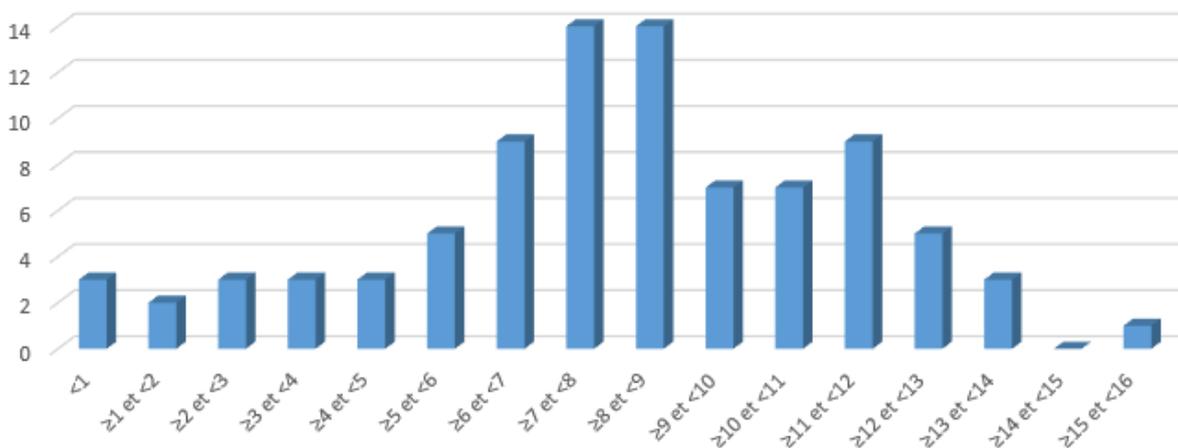
## Résultats de l'épreuve

Agrégation  
Interne

88 candidats ont composé.

La moyenne générale de l'épreuve est de 8,1. La meilleure note est de 15,5/20.

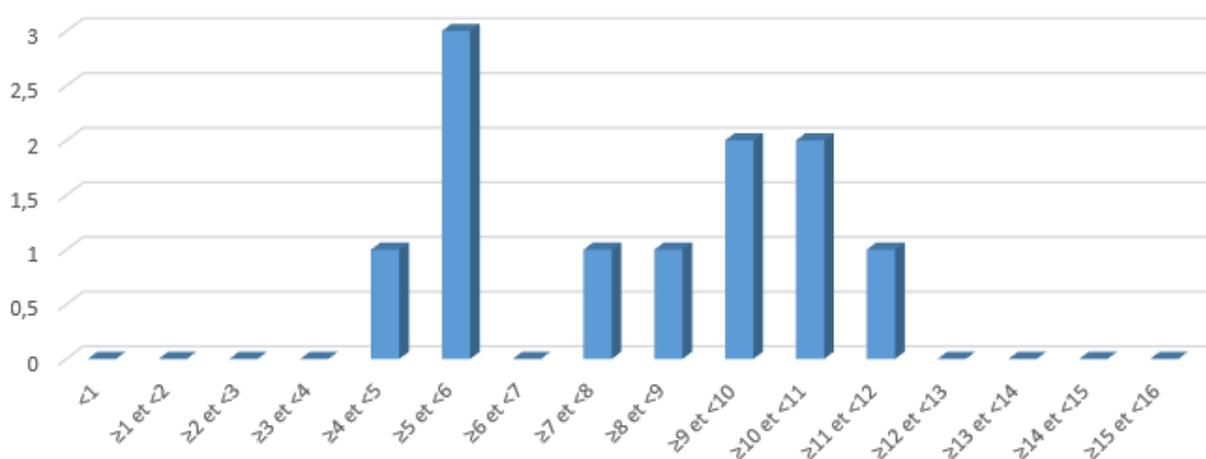
Répartition des notes



10 candidats ont composé.

La moyenne générale de l'épreuve est de 8,0. La meilleure note est de 11,2/20.

Répartition des notes



## Rapport du jury

### Structure et objectifs de l'épreuve

L'épreuve prend appui sur des documents relatifs à une(des) problématique(s) biotechnologique(s) et comporte deux grands types de questions qui permettent d'évaluer :

- d'une part, la capacité du candidat à utiliser ses connaissances scientifiques et technologiques pour soit expliciter ou valider les solutions retenues, soit expliquer ou analyser les résultats expérimentaux obtenus (questions identifiées par les lettres **ST**);
- d'autre part, les capacités du candidat à utiliser le(s) support(s) proposé(s) pour élaborer, à un niveau de formation déterminé, soit un exercice permettant l'évaluation des connaissances et compétences acquises par les élèves, soit une séance ou une séquence d'enseignement (questions identifiées par la lettre **P**). A ce propos, le jury rappelle qu'il est essentiel que le candidat veuille à situer correctement l'exercice dans un processus d'apprentissage et par rapport aux autres enseignements scientifiques ou technologiques associés.

Le sujet de la session 2023 était organisé en deux parties indépendantes et comportait 17 questions mobilisant des connaissances scientifiques et technologiques (questions **ST**) ainsi que 3 questions pédagogiques (questions **P**).

## Commentaire général

Comme indiqué dans la définition de l'épreuve, le sujet évalue la capacité du candidat à conduire l'analyse de plusieurs documents par l'intermédiaire de questions scientifiques et techniques (indiquées par les lettres ST). Ce travail demande, après une très brève introduction lorsque celle-ci s'avère nécessaire, une présentation rigoureuse des résultats, en prêtant une attention toute particulière aux contrôles réalisés. Cette présentation doit être purement factuelle, sans donner lieu à de quelconques éléments de discussion, et doit permettre la construction d'un raisonnement clair judicieusement illustré qui aboutisse à la réponse attendue. Le jury constate avec regret que beaucoup trop de candidats ne lisent pas correctement les questions, se dispersent, ne hiérarchisent pas les informations mises à leur disposition ou bien s'engagent dans de longs développements inutiles voire erronés. Le jury regrette également que certains candidats remplacent l'analyse des données fournis par des connaissances théoriques sans lien avec le sujet. Or, les digressions et hors-sujet inutiles pénalisent forcément les candidats dans la mesure où la gestion du temps représente un paramètre crucial dans la bonne réussite de l'épreuve. De plus, ils sont souvent la démonstration d'une mauvaise compréhension des questions ou bien d'un manque de connaissances dans un domaine donné et ne sont, bien évidemment, nullement valorisés. La rigueur du vocabulaire s'avère indispensable dans la mesure où des mots pertinents et correctement choisis permettent bien souvent d'éviter de longs développements évasifs et d'apprécier plus justement les compétences du candidat.

Les questions pédagogiques (notées P) représentent environ 30 % de la note finale et ont donc souvent fait la différence entre les candidats sur cette épreuve. Du fait de leur importance quantitative dans le barème de l'épreuve, ces questions demandent donc aux candidats de leur consacrer un temps significatif. Certains candidats n'ont répondu à aucune de ces questions ou y ont répondu de manière très succincte. Il est indispensable de gérer le temps imparti pour pouvoir avoir une réelle réflexion pédagogique. Le jury encourage les candidats au cours de leur préparation à s'interroger sur leurs pratiques afin de mieux appréhender ses questions. Une lecture attentive des consignes est indispensable. Trop de candidats ne produisent pas le document attendu pour le niveau de classe indiqué.

L'esprit de synthèse demeure une compétence clé qui démontre la capacité d'un enseignant à aller à l'essentiel afin d'expliquer un savoir ou un savoir-faire. Ainsi, dans un souci d'optimisation du temps et afin de pouvoir répondre à l'ensemble du sujet, le jury conseille aux candidats d'entrer directement dans le sujet et la rédaction des réponses aux questions sans paraphraser inutilement l'intégralité du contexte ou de se perdre en de trop longues introductions.

Le jury tient à souligner qu'il a tout particulièrement apprécié le soin avec lequel la plupart des candidats ont rédigé leur copie et rappelle que la qualité de la rédaction ainsi que celle des illustrations est prise en compte dans l'évaluation de la copie. Cependant, le jury déplore encore la présence de quelques copies quasiment illisibles et/ou très peu soignées.

Le contexte du sujet portait sur l'apport des biotechnologies dans l'industrie laitière.

### P1

Cette question pédagogique demandait la construction d'un support pédagogique d'une page à destination d'élèves de seconde. Pour construire le document demandé, il était indispensable de s'appropriier les données du document 1. Il était ensuite nécessaire de synthétiser, de simplifier les données proposées dans le document, de les hiérarchiser et de faire des choix en se limitant à la problématique proposée, l'inflammation digestive. Les meilleures copies ont mis en lien les notions de "biotique" avec les notions de microbiote, alimentation et inflammation à l'aide d'une iconographie simple. Il était indispensable d'éviter d'introduire des erreurs lors d'une simplification excessive ou de négliger des données essentielles qui pourraient entraîner des confusions. A titre d'exemple, certains candidats ont assimilé les probiotiques à des aliments fermentés et les prébiotiques à des fruits et légumes. Un tableau comparatif permettait de comparer simplement les différents concepts. Les meilleures copies ont proposé des cartes mentales ou des schémas représentant, par exemple, une coupe du tube digestif. Certains candidats n'ont pas répondu à la consigne, ils ont proposé soit le déroulé d'une séance, soit un document élève à compléter, soit présenté des connaissances sans lien avec la consigne.

## **1. Amélioration de la croissance d'une bactérie lactique grâce à une co-culture**

### **ST1**

Après avoir déterminé les phases des différentes croissances sur les courbes du documents 2 (1ere figure) pour les différentes conditions de cultures LC-ST, LC-ST-P et LC, le candidat devait calculer les paramètres de croissance. L'étude des conditions de pH du document 2 (2ème figure) ne faisait pas partie de cette question. En absence de calculatrice, la détermination de  $\mu$  expo pouvait se faire par le calcul de pente en choisissant deux points en phase exponentielle et pour G en utilisant le tableau des correspondances arithmétiques. Le jury a été surpris des difficultés des candidats à utiliser le tableau des correspondances mathématiques mais également, pour certains, de leur méconnaissance des paramètres de croissance ainsi que la non maîtrise des unités démontrant des lacunes concernant des concepts fondamentaux de microbiologie.

La croissance de *L.casei* est lente et peu importante en présence de *S. thermophilus*. Lorsque *L. casei* et *S. thermophilus* sont cultivés dans du lait en présence de phages lytiques de ST, *L. casei* atteint la même vitesse maximale de multiplication en phase exponentielle que lorsque *L. casei* est cultivé seul. De plus la biomasse atteinte au bout de 72h est plus importante. La condition de croissance optimale de *L.casei* est donc en présence de bactéries lactiques *S. thermophilus* et de phages lytiques de *S. thermophilus*.

Cette question a globalement bien été traitée par de nombreux candidats. Un peu plus de concision dans les descriptions aurait été appréciée. L'utilisation de tableaux démontrant d'une capacité de synthèse était bienvenue.

### **ST2**

Le mode opératoire demandé devait prendre en compte les éléments suivants :

- la biomasse initiale était d'environ 5.108 UFC.mL<sup>-1</sup> à 72h pour LC,
- le dénombrement était réalisé en surface de géloses MRS avec un inoculum de 0.1 mL,
- la réalisation d'une gamme de dilution en cascade était nécessaire et 3 dilutions successives étaient ensemencées, la gélose cible dénombrable étant ensemencée par la dilution 10<sup>-6</sup>.

Cette question a été globalement bien traitée par la majorité des candidats.

### **ST3**

Il s'agissait de discuter de l'intérêt de l'ajout d'un lysat de *S. thermophilus* dans le contexte de travail : production d'un lait fermenté de pH égal à 4,5 riche en *L. casei*. Il était indispensable de discuter des variations de pH et de biomasse au cours du temps. Il fallait ensuite proposer une ou des hypothèses expliquant l'intérêt de l'ajout de phage lytique, une des hypothèses étant la libération de molécules stimulant la croissance de *L. casei* sans qu'il y ait de compétition.

## **Partie 2 : Amélioration des bactéries lactiques par transfert de gènes**

La partie 2 visait à évaluer les compétences des candidats sur des aspects cellulaires et moléculaires de la microbiologie dans un contexte de recherche sur la voie de signalisation conduisant à l'entrée en état de compétence d'une bactérie lactique. L'analyse des documents permettait de mettre en évidence les acteurs de la voie de signalisation (présentés en document 4) afin de déterminer les conditions de mise en compétence qui pourraient être utilisées par les industriels.

Pour ce faire, un plasmide porteur d'un gène de résistance à l'érythromycine était utilisé et la procédure opératoire détaillait la méthode de détermination du taux de transformation.

### **ST4**

Le document 5 présentait les résultats d'une expérience qui visait à déterminer la séquence du peptide responsable de l'activation de la mise en compétence des bactéries. Il était demandé aux candidats d'argumenter l'utilisation de l'érythromycine dans l'expérience du document 5. Beaucoup de candidats ont présenté l'érythromycine comme un marqueur de transformation sans préciser qu'il fallait nécessairement utiliser une souche sensible. De plus, le lien avec le calcul du taux de

transformation n'était pas toujours clairement établi.

Les réponses de certains candidats ont montré des méconnaissances en microbiologie. A titre d'exemple, certains candidats ont affirmé qu'une bactérie transformée devait intégrer le gène de résistance dans son génome pour devenir résistante.

Le document 5 étudiait plus précisément un des acteurs de la voie de signalisation, le produit du gène comS. Pour cela, les chercheurs ont testé la capacité à activer la mise en compétence des bactéries de la séquence du prépeptide ComS ainsi que de différents peptides synthétiques plus courts correspondant à des versions tronquées du prépeptide.

### **ST5**

Il était demandé d'analyser les résultats du document 5 afin de mettre en évidence le rôle de l'étape 1 de la voie de signalisation présentée dans le document 4 pour en déduire ensuite la séquence du peptide d'intérêt industriel.

Les candidats n'ont pas toujours répondu à la consigne. Certains ont décrit la voie de signalisation du document 4 pour identifier le rôle de l'étape 1. Ils utilisaient ensuite le document 5 pour en déduire le peptide qui permettait l'entrée en compétence des bactéries lactiques. Le jury conseille aux candidats d'être particulièrement vigilant au lexique des consignes.

Le document 6 portait sur une étude du rôle de ComR et ComS dans l'activation du promoteur du gène comX qui code une ARN polymérase responsable de la transcription de gènes com tardifs. Pour se faire les chercheurs ont utilisé des souches sauvages et délétées transformées avec des vecteurs d'expression contenant le gène de la luciférase sous le contrôle du promoteur de comX. La mesure de l'activité de la luciférase permettait d'analyser le mécanisme d'activation transcriptionnelle des gènes sous contrôle du promoteur com X.

### **ST6**

Le graphique du document 6 présentait l'activité de luciférase divisée par la valeur d'atténuation en fonction du temps. Le candidat devait expliquer l'intérêt de cette normalisation qui permet de distinguer l'augmentation de la l'activité de la luciférase due à l'augmentation du nombre de cellules, de celle due à l'activation du promoteur de ComX. Cette question a été bien traitée par la majorité des candidats. Cependant, les réponses de certains candidats montraient un manque de maîtrise des outils mathématiques et une confusion entre normalisation (division) et la réalisation d'un zéro de gamme (soustraction).

### **ST7**

Il était ensuite demandé de montrer que les résultats du document 6 étaient en cohérence avec le modèle du document 4. Là encore, de nombreux candidats n'ont pas répondu à la consigne et ont décrit le modèle pour valider les résultats d'expérience. Le jury rappelle à nouveau ici l'importance de développer un argumentaire qui répond à la question posée.

Le document 7 quittait le domaine de l'activation de la mise en compétence pour étudier un phénomène plus tardif de la transformation. Il étudiait l'interaction entre le pilus résultant de l'expression du gène comGC et des fragments d'ADN exogène dans un autre modèle que les bactéries lactiques. Les chercheurs ont introduit dans le génome bactérien une construction d'un gène codant la protéine de pilus fusionnée à une étiquette sous le contrôle d'un promoteur activé lors de la mise en état de compétence induite par un peptide. Après activation de la mise en compétence, les pili présents dans le surnageant étaient purifiés par chromatographie d'affinité.

### **ST8**

Le candidat devait schématiser, au niveau moléculaire, le principe de la chromatographie d'affinité utilisée dans le document 7. Un schéma de l'ensemble des 3 étapes : fixation, lavage puis élution était attendu. Très peu de candidat ont remarqué le mode un peu particulier de réalisation de la chromatographie en batch. Les schémas représentaient très souvent la résine dans une colonne.

De plus, certains schémas reflétaient également une méconnaissance de la structure des anticorps en ne présentant qu'un paratope par anticorps.

### **ST9**

Il était ensuite demandé de proposer un rôle possible du pilus synthétisé par la bactérie naturellement compétente dans le contexte de l'amélioration de souche dans l'industrie laitière. Les candidats devaient s'appuyer d'une part, sur les résultats du gel d'agarose de l'ADN co-purifié avec la protéine Com GC du pilus à partir du surnageant de la culture bactérienne et d'autre part, sur l'observation en microscopie électronique à transmission d'une bactérie entière rendue compétente et ayant, accroché à son enveloppe, un pilus lui-même fixé avec de l'ADN. Les réponses devaient montrer que le candidat avait bien établi un lien entre les capacités de fixation à de l'ADN exogène du pilus et son rôle dans la capacité d'une bactérie à intégrer cet ADN ainsi fixé. Beaucoup de candidats ont confondu ce phénomène avec de la conjugaison montrant une méconnaissance des différents mécanismes de transfert horizontal de gène.

Il était également demandé de relier cette capacité à un contexte d'amélioration de souche dans l'industrie laitière. Les réponses montrent que certains candidats n'ont pas appréhendé le fait que l'expérience réalisée utilisait une souche génétiquement modifiée pour étudier le rôle du pilus et non pas pour activer la transformation des bactéries. La bactérie *Streptococcus thermophilus*, utilisée en industrie laitière, est déjà naturellement compétente.

### **ST10**

Le document 8 donnait des extraits législatifs concernant les OGM. Il était demandé de discuter de l'appartenance des micro-organismes améliorés par compétence naturelle au groupe des OGM. Les correcteurs ont apprécié les candidats qui ont construit une réponse claire et structurée montrant une réflexion s'appuyant sur les extraits de texte amenant à la discussion. Les candidats devaient discuter de l'appartenance de la technique d'amélioration par activation d'une compétence naturelle au groupe des techniques de modification génétique indiquées dans le code de l'environnement.

### **3. Détection rapide d'Escherichia coli O157:H7 contaminant le lait par amplification en temps réel assistée par une recombinaise.**

La partie 2 visait à évaluer les compétences des candidats lors de l'étude d'une méthode émergente permettant la détection en temps réel d'un ADN cible provenant de bactéries vivantes : L'amplification isotherme en temps réel assistée par une recombinaise (PMA-rRAA : Propidium MonoAzide - real time Recombinase Aided Amplification).

### **ST11**

La membrane des cellules viables est imperméable au PMAxx contrairement à celle des cellules mortes dont l'intégrité n'est pas conservée. Le PMAxx forme des liaisons covalentes avec les bases après exposition aux photons, aucune amplification n'est alors possible. Seul l'ADN provenant de bactéries viables peut donc être amplifié et quantifié. Celui issu de bactéries mortes n'est donc pas détecté par cette technique.

### **ST12**

Il fallait discuter à partir de l'analyse du document 10, de la capacité de la méthode à détecter, quantifier *E. coli* O157:H7 dans les laits contaminés.

La quantité finale d'amplicons n'est pas proportionnelle à la population initiale mais plus la population est importante plus l'augmentation de la fluorescence a lieu précocement (document 10A). La méthode semble semi-quantitative.

Les valeurs de temps seuils ne sont pas proportionnelles aux quantités de bactéries initiales (document 10B). La quantification semble peu fidèle (écarts types élevés) et pose réflexion sur les limites de lecture apportées lors d'un TT long par rapport au choix de la ligne de seuil.

Par contre, il est possible d'obtenir un signal même pour des populations faibles.

### **ST13**

Il était attendu une description structurée, étape par étape, des événements moléculaires de la réaction présentée dans le document 11, avec une attention particulière sur l'activité des enzymes entrant en jeu au fur et à mesure.

Les événements moléculaires ont été globalement compris mais les activités enzymatiques n'ont pas toujours été suffisamment mises en évidence pour répondre complètement à la question.

### **ST14**

Cette question a été convenablement traitée par la majorité des candidats. En complément de l'absence de dénaturation de brins d'ADN à 95°C, il fallait penser à préciser que la température optimale d'activité était la même pour toutes les enzymes.

### **ST15**

Il fallait présenter les variations d'affinité d'UvsX au cours des étapes de la réaction.

Cela nécessitait de distinguer clairement les états UvsX libre, UvsX + amorce et UvsX + amorce+ADNdb.

Le changement de conformation de UvsX entraînent des modifications de son affinité. Celles-ci sont indispensables pour que les différentes réactions aient lieu. Malgré le document 11, le jury regrette que le concept d'affinité ne soit pas mieux compris et expliqué.

Une réflexion sur l'affinité ADN/amorce parfois menée était hors-sujet.

### **ST16**

La sonde utilisée contient un site THF, à proximité d'un fluorophore et d'un extincteur. Quand la sonde est intacte, l'extincteur bloque l'émission de fluorescence.

L'appariement de la sonde à l'ADN sb permet la reconnaissance du THF par l'endonucléase Nfo, active sur db. La séparation du complexe fluorophore extincteur entraîne l'émission d'une fluorescence mesurable.

### **ST17**

Dans un premier temps, il fallait rappeler les critères permettant de choisir les séquences des amorces et de la sonde, ceux-ci ont été très souvent omis. A partir de ces critères et du document 13, un exemple de position pour chacune des séquences était attendu. Plusieurs combinaisons étant possibles, la justification de ces choix étaient incontournables. Le jury a été surpris que certains candidats recopient différentes séquences sans préciser leur position dans le gène, rendant ainsi leur réponse non évaluable.

### **P3**

Il fallait proposer un quizz de 5 à 7 questions à destination d'étudiants de CPGE TB, permettant d'évaluer l'appropriation par l'étudiant du principe de la PMA-rRAA en comparaison au principe de la qPCR en temps réel. Ce quizz devait également permettre de vérifier que leurs avantages et leurs limites étaient compris.

Plusieurs idées pouvaient être exploitées et les questions pouvaient porter sur

- les conditions opératoires,
- la facilité de mise en œuvre sur le terrain,
- les performances des 2 méthodes : sensibilité, fidélité et caractère quantitatif/qualitatif,
- les variations d'affinité de UvsX,
- des propositions d'amorces, de sondes à choisir,
- les principes PMA-rRAA et qPCR temps réel...

Le jury attendait une diversité dans la forme des questions (2 à 3 formes différentes parmi du multichoix, vrai-faux, points reliés, chronologie...) et regrette que certains candidats n'aient pas répondu à la question clairement énoncée en proposant moins de 5 questions, en proposant des questions qui n'étaient ni en lien avec la PMA-rRAA, ni avec la qPCR

## Deuxième épreuve

Durée : 6 heures

Coefficient : 1

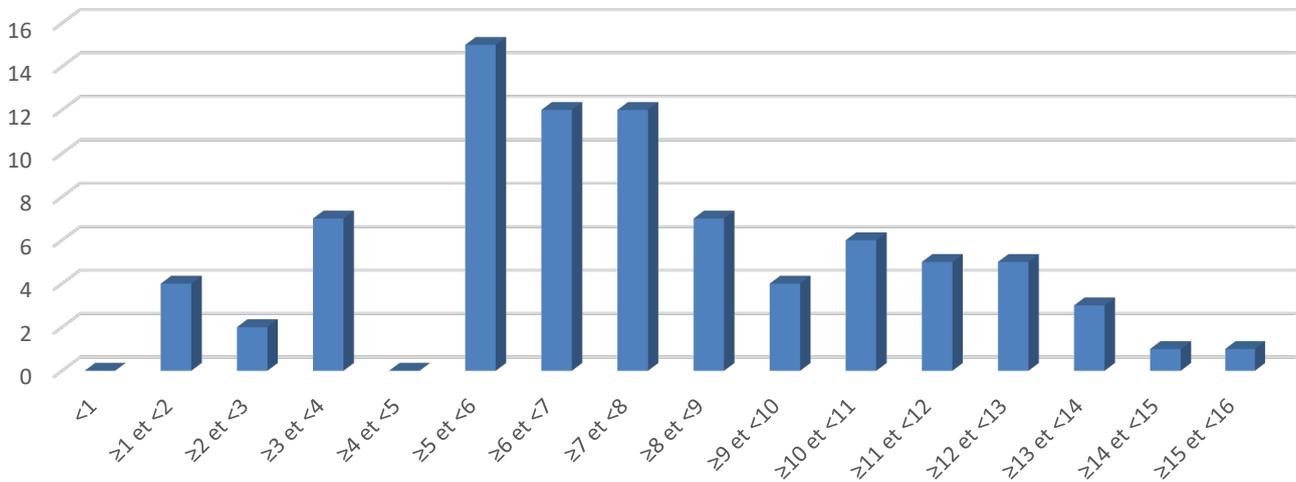
### Résultats de l'épreuve

Agrégation  
interne

84 candidats ont composé.

La moyenne générale de l'épreuve est de 7,6. La meilleure note est de 15,6/20.

Répartition des notes



11 candidats ont composé.

La moyenne générale de l'épreuve est de 6,1. La meilleure note est de 12,5/20.



## Sujet de Synthèse

L'épreuve est, conformément à sa nouvelle définition, composée d'une seule question scientifique et technologique. Le sujet de synthèse proposé cette année permettait de couvrir différents champs disciplinaires de la discipline Biochimie Génie Biologique et sollicitait de la part des candidats des connaissances dans les domaines de la biochimie, physiologie, biologie cellulaire et moléculaire, et technologies. De plus, la nécessité, pour l'enseignant, d'appréhender les enjeux éthiques et sociétaux reflète les questionnements à soulever avec les élèves.

La nature de cette épreuve, tant par sa durée que par l'exercice de synthèse demandé, impose aux candidats une bonne gestion du temps imparti ainsi qu'une mobilisation efficace et pertinente de leurs connaissances. Il est donc important que les candidats s'octroient un véritable moment de réflexion afin d'identifier les concepts clés relatifs au sujet démontrant ainsi une réelle prise de recul permettant la construction d'un plan logique tant dans sa forme que dans son contenu. Cela limite les digressions hors sujet chronophages, et non valorisées. Le jury rappelle qu'il est vraiment essentiel que les candidats s'interrogent, tout au long de la rédaction de leur composition, sur la pertinence de leurs propos et leur adéquation avec la question posée. Il est également indispensable de réfléchir à l'enchaînement et à la cohérence des différentes notions abordées. En effet, l'exercice ne demande pas de présenter un assemblage hétérogène de connaissances mais de construire une dissertation organisée.

Le jury a apprécié la qualité rédactionnelle de la majorité des copies. Cependant, l'orthographe et la grammaire défailtantes de certains écrits, notamment les accords de pluriels et de participes passés ont parfois rendu l'évaluation difficile. L'absence de ponctuation, particulièrement au sein de phrases excessivement longues, rend les propos confus.

Le jury invite les candidats ayant une écriture difficile à déchiffrer, à porter une attention toute particulière à celle-ci au moment de la rédaction de leur devoir afin d'en faciliter la lecture et, par conséquent, l'évaluation. Compte-tenu de la durée de l'épreuve, la longueur des écrits rendus est conséquente. Il est donc indispensable d'organiser sa synthèse en faisant apparaître un plan clair et explicite. En ce sens, il est demandé aux candidats de soigner les titres de leurs parties, ainsi que de vérifier l'adéquation entre l'intitulé des titres et le contenu informatif des paragraphes sous-jacents.

L'intitulé général de la question suggérait très fortement, bien que sans obligation aucune, la construction d'un plan en trois parties dans lesquelles seraient abordés l'origine, les rôles et les devenir du cholestérol dans l'organisme en établissant les liens avec sa structure dans un premier temps. Dans une seconde partie, les candidats étaient invités à traiter les effets cellulaires et moléculaires des dérivés de la molécule, avant d'évoquer pour finir, les techniques permettant la détection et la prise en charge médicale des pathologies liées au cholestérol et à ses dérivés. Il était attendu que cette troisième partie contienne à la fois des aspects technologiques, éthiques et sociétaux. Le jury tient à noter que certains candidats ont fait preuve de réflexion afin d'organiser les notions selon un plan original et structuré. Une certaine liberté est parfois nécessaire afin de ne pas réduire l'exercice de synthèse à un listing de connaissances dépourvu de liens logiques.

D'une manière générale, le sujet a été traité de manière très hétérogène selon les candidats. L'un des principaux écueils fût, très certainement, une mauvaise gestion du temps. En effet, de très nombreux candidats ont proposé des devoirs présentant de trop longs développements de la seconde partie, entraînant la production de longs catalogues des fonctions des hormones, dépourvus du recul conceptuel attendu, les obligeant ensuite à réduire drastiquement la troisième partie du sujet. Les points ayant été distribués de manière équitable entre les trois parties, il convient de conférer un temps de traitement équivalent à chacun des trois items.

Une introduction argumentée est nécessaire pour initier son développement. Certains candidats se sont appuyés sur des exemples éthiques ou sociétaux afin de converger vers le thème proposé "le cholestérol et ses dérivés" puis ont annoncé leur plan de façon ostensible. Cette démarche a été valorisée pour les membres de jury, montrant dès l'introduction une prise de recul et un ancrage dans le quotidien de nos sociétés en lien avec nos disciplines.

De même, la copie doit se terminer par une conclusion récapitulant les grands concepts présentés en relation avec le sujet et une ouverture argumentée qui pouvait aussi s'appuyer sur des exemples éthiques ou sociétaux. La construction de la conclusion nécessite, comme l'introduction d'y consacrer un temps de réflexion conséquent. Les meilleures copies ont proposé des conclusions structurées récapitulant les points clés abordés avec une ouverture développée.

La présence d'une iconographie soignée et légendée permet de compléter le propos mais aussi de

démontrer les qualités pédagogiques des candidats. Cela aère la composition et en facilite la lecture. Bien que pouvant être simplifiée, elle se doit d'être scientifiquement rigoureuse. Pour ne citer que quelques exemples, un nombre conséquent de candidats a positionné le paratope de l'anticorps au niveau de sa charnière. Le cholestérol a été positionné, dans certaines copies, de part et d'autre des deux feuillets de la membrane cellulaire, ou bien présenté selon une taille aussi élevée que l'épaisseur de la membrane plasmique. La compétence de schématisation et le respect des échelles sont attendus de la part d'enseignants impliqués dans la transmission d'un savoir scientifique à leurs élèves ou étudiants.

L'usage de tableaux synthétiques et réfléchis limite aussi l'usage de longues de proses difficiles à lire et montre au jury des qualités de synthèse et de prise de recul des candidats sur leur connaissances ou pratiques avec leurs élèves.

Malgré des alertes réitérées dans les rapports des sessions précédentes, le jury s'interroge à nouveau quant à la fragilité de la rigueur scientifique dans les mots-concepts et expressions employés.

La suite de ce rapport va maintenant s'attarder sur certains points particuliers. Certains propos paraîtront parfois négatifs, mais il s'agit d'aider au mieux la préparation des futurs candidats.

### **1<sup>ère</sup> partie :**

Une première partie abordait la synthèse, ainsi que les rôles du cholestérol, en lien avec sa structure.

Le sujet proposait une représentation du cholestérol et de ses principaux dérivés afin que les candidats s'appuient sur ce document, notamment au niveau structural. La réflexion sur la structure du cholestérol, premier point important à développer devait permettre de discuter des propriétés hydrophobes/ hydrophiles de la molécule, des formes estérifiables ou non, ainsi que de la planéité de la structure. Ce développement permettait de vérifier la maîtrise des connaissances et concepts de biochimie structurale et propriétés associées, propos devant servir de base au déroulé ultérieur de la rédaction, en abordant notamment les relations structure/fonction.

Pour poursuivre, l'origine du cholestérol nécessitait d'aborder les apports exogènes par voie alimentaire ainsi que la synthèse endogène. A ce propos, le jury a été surpris de constater qu'une proportion non négligeable de candidats ignorait l'existence d'une voie de synthèse endogène, représentant pourtant la principale origine de la molécule (70%), l'apport alimentaire étant minoritaire. Les quelques copies, qui ont présenté cette voie, ont su décrire les grandes phases de la synthèse, les structures cellulaires impliquées et le rôle central du foie. Il n'était pas nécessaire de développer dans le détail l'ensemble des étapes, mais de présenter les étapes clefs : condensation de deux Acétyl CoA, rôle de la HMG coA réductase, le passage par un intermédiaire isoprène (C5) puis par le squalène et enfin la formation des cycles du cholestérol.

Pour la voie exogène, une présentation rigoureuse des différentes formes de transport était attendue : une part non négligeable des candidats confond les rôles des chylomicrons, VLDL, LDL et HDL. La classification devait être présentée. Le jury a particulièrement apprécié la capacité de quelques candidats, à expliciter de façon claire les liens entre les propriétés physico-chimiques de la molécule de cholestérol et ses modalités de transport. Les meilleures copies ont présenté des schémas parfaitement annotés de l'organisation moléculaire d'un exemple de lipoprotéines : structure, nature des molécules constitutives, localisation du cholestérol dans l'édifice macromoléculaire et ses formes.

Le rôle structural de la molécule a été partiellement abordé. En effet, son rôle dans l'édification des radeaux lipidiques n'a été traité que dans une minorité de copies par exemple. De plus, les effets du cholestérol sur la fluidité des membranes en fonction de la température sont souvent abordés de manière inexacte. Concernant la schématisation de l'insertion du cholestérol au sein de la membrane plasmique, la notion de la taille de la molécule ne semble pas être maîtrisée par certains candidats, positionnant alors une molécule de cholestérol sur la largeur des deux feuillets de la membrane plasmique. En outre, il est rappelé aux candidats que la schématisation du cholestérol ne peut donner lieu à une simplification excessive de la molécule faisant abstraction totale de sa polarité.

Concernant les devenir de la molécule, la problématique de son stockage excessif dans les plaques d'athérome a très souvent été abordée, mais son excrétion souvent ignorée. Les termes de « bon » et « mauvais » cholestérol, ont été, à juste titre, utilisés avec prudence par les candidats, mais le jury s'est étonné de confusions faites à maintes reprises par certains candidats à ce propos, intervertissant les termes. Une argumentation sur ces notions permettait d'ailleurs notamment d'introduire quelques idées quant aux problèmes sociétaux, ainsi que d'amorcer l'approche pathologique liée au cholestérol.

Pour finir sur cette première partie, le jury attire l'attention des candidats sur le fait que le cholestérol en soi n'a pas de rôle énergétique.

Le sujet invitait ensuite les candidats à aborder les effets cellulaires et moléculaires des dérivés du cholestérol dans une seconde partie. En ce sens, nous rappelons aux candidats qu'une transition était obligatoire afin de structurer et lier les parties abordées.

## **2<sup>ème</sup> partie**

Le cholestérol étant le précurseur de molécules spécifiquement actives, le sujet invitait ensuite les candidats à aborder les rôles de ses dérivés, à l'échelle de la cellule et de l'organisme. La problématique de cette partie était d'identifier les concepts liés à l'action des différentes classes de molécules en évitant l'écueil d'un catalogue d'exemples sans lien les uns avec les autres. Ainsi, il a été apprécié que les candidats aient synthétisé, par exemple sous forme de tableau, les points communs et les différences entre les différentes molécules : synthèse dans une glande pour les hormones, sécrétion en réponse à un stimulus, transport dans le sang grâce à un transporteur du fait de l'hydrophobicité de ces molécules, passage à travers la membrane plasmique, liaison à un récepteur cytoplasmique, translocation du complexe récepteur-ligand dans le noyau, homo- ou hétérodimérisation du récepteur, liaison à des éléments de réponse à l'hormone au niveau de l'ADN et régulation de la transcription des gènes cibles, et enfin rétrocontrôles. Si les effets des hormones stéroïdiennes au niveau de l'organisme étaient dans l'ensemble correctement présentés, les effets au niveau cellulaire étaient le plus souvent absents des copies. Cela dénote un manque de mise à jour des connaissances en physiologie cellulaire et moléculaire de la part d'un nombre conséquent de candidats. Le jury rappelle que l'enseignement de la physiologie s'appuie sur les concepts de biochimie et de biologie moléculaire et n'est en aucun cas découplé de ces derniers.

Une annexe présentant les formules des principaux dérivés du cholestérol était jointe au sujet. Au-delà de rappeler les différentes molécules dérivées du cholestérol, elle permettait aux candidats de repérer les différentes modifications du cholestérol et de ses dérivés (hydroxylation, aromatisation, désacétylation ...) aboutissant à la diversité des molécules actives.

Le jury attendait une réflexion sur la notion de spécificité de la part des candidats. La spécificité d'action d'une hormone est conditionnée par l'interaction entre l'hormone et son récepteur, qui dépend des liaisons faibles qui peuvent être établies entre ces molécules et à la complémentarité structurale entre le ligand et le site de liaison du récepteur. Une comparaison de la structure de deux molécules comme l'œstradiol et la testostérone, permettait ainsi de montrer que bien que de structures proches, ces deux molécules possèdent des groupements chimiques différents : hydroxyle ou carbonyl, ou présence d'un cycle aromatique, qui permettent d'établir des liaisons faibles différemment. Par exemple, le groupement hydroxyle est donneur et accepteur de liaison hydrogène, alors que le groupement carbonyl est uniquement accepteur de liaison hydrogène.

Cette réflexion n'ayant globalement pas été menée par les candidats, cela dénote un manque de discernement dans la lecture du sujet ou une absence de maîtrise de cette notion de la part des candidats. Il s'agissait d'utiliser des exemples pour illustrer des concepts et non de présenter toutes les molécules sous la forme d'un catalogue

## **3<sup>ème</sup> partie :**

Il était demandé dans cette dernière partie d'aborder les biotechnologies comme outil de diagnostic et de prise en charge des pathologies liées au cholestérol et à ses dérivés. Ces thématiques s'inscrivent dans les référentiels de formation en pré et post BAC. La contextualisation apporte une consistance à la copie et démontre que le candidat est en phase avec les problématiques quotidiennes et les avancées dans le domaine des biotechnologies.

D'une manière générale, cette dernière partie a été abordée souvent brièvement par les candidats, probablement en raison d'un manque de temps.

Tout d'abord, le jury a noté une méconnaissance du terme « biotechnologies » de la part d'un bon nombre de candidats. En effet, des techniques d'imagerie médicale ont été largement traitées dans un nombre non négligeable de copies, alors qu'elles étaient à la limite du hors-sujet. Le sujet permettait pourtant d'identifier plusieurs techniques faisant appel aux techniques, au cœur des biotechnologies qui étaient attendues, notamment les dosages enzymatiques ou immuno-enzymatiques. Les candidats pouvaient également aborder les dosages par chimioluminescence et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, techniques mentionnées dans le sujet. Afin d'éviter le catalogue rébarbatif de techniques, le jury attendait que les candidats exposent le choix de méthodes en lien avec les propriétés des molécules dosées (solubilité, réactivité (enzyme), limite de détectabilité, sensibilité, spécificité), or cela n'a pas été retrouvé.

Concernant les dosages enzymatiques, il est à noter que certains candidats confondent des termes faisant notamment partie du programme pré-bac : réaction principale / réaction indicatrice, chromogène / chromophore. Le vocabulaire est le témoin de la compréhension des concepts et constitue une exigence indispensable des disciplines complexes de la biologie, l'enseignant étant amené à aider les étudiants à bien distinguer deux concepts surtout quand le vocabulaire est proche !

Concernant les dosages immuno-enzymatiques, un exemple précis et défini (intérêt, faisabilité) pouvait être utilisé afin d'exposer la méthode, et la contextualiser, évitant ainsi l'écueil consistant à la décorrélérer du reste de la synthèse, comme cela a été vu souvent. Le jury a particulièrement été interpellé du fait qu'un nombre restreint de candidats ait remarqué que la très petite taille du cholestérol ou de ses dérivés, ne permettait pas la réalisation d'un dosage type « sandwich ». En effet, lorsque l'on emploie deux anticorps pour les dosages en sandwich, cela nécessite qu'ils reconnaissent deux épitopes différents et s'y fixent. Cette condition étant rendue impossible par la trop petite taille du cholestérol et ses dérivés, la présentation d'un ELISA par compétition devait illustrer ce paragraphe, ce qui a été exceptionnel. En outre, il était attendu que les grandes étapes d'un ELISA par compétition soient présentées en précisant les rôles et intérêts de chacune d'elles.

Le jury a apprécié que les candidats ayant traité la chromatographie en phase gazeuse aient souvent réalisé des schémas annotés et de qualité. Cependant, des imprécisions ont été retrouvées dans plusieurs copies, notamment celle considérant que la molécule d'intérêt avait une affinité pour le gaz. Contrairement à la plupart des autres types de chromatographie, il n'y a pas d'affinité entre les molécules d'analyte et la phase mobile ; sa seule fonction est de transporter l'analyte dans la colonne. Ces concepts sont clés dans sa compréhension des phénomènes mis en jeu en chromatographie.

Pour finir, le sujet proposait aux candidats d'aborder les aspects éthiques et sociétaux, notamment en lien avec les pathologies liées au cholestérol. Il était laissé aux candidats le libre choix d'aborder ces thématiques tout au long de la composition, soit d'y consacrer une sous-partie en soi, soit de l'aborder dans la conclusion. D'une manière générale, ces aspects ont été peu abordés par les candidats, probablement par manque de temps. Ces derniers auraient par exemple pu aborder les enjeux économiques liés à cette problématique, notamment la commercialisation croissante d'aliments « anticholestérol » ayant des effets secondaires notables, les enjeux économiques de l'industrie pharmaceutique liés aux statines ainsi que leurs effets secondaires, l'utilisation de stéroïdes dans le milieu sportif par exemple, ou l'utilisation d'hormones sexuelles dans les cas de changement de sexe.

La réflexion sociétale et citoyenne est devenue un incontournable des enseignements liés aux biotechnologies et à la biologie compte tenu de leur impact sur l'humain, santé et alimentation, et sur l'environnement.

# EPREUVES D'ADMISSION

## Première épreuve

### Résultats de l'épreuve

23 candidats, agrégation et CAERPA confondus, ont composé :

- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 16 ;
- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 14 et strictement inférieure à 16 ;
- 6 ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14 ;
- 5 ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12 ;
- 5 ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10 ;
- 3 a obtenu une note strictement inférieure à 8.

La moyenne générale de l'épreuve est de  
10,8/20.

La moyenne des candidats admis est de 13,4/20.

La meilleure note est de 18,7/20

### Rapport de jury

Le jury félicite très sincèrement les candidats qui ont respecté l'esprit de l'épreuve, aussi bien dans le cadre de la démarche de projet que dans celui de la présentation orale et de l'entretien avec le jury.

Conformément à la définition de l'épreuve, il est rappelé que le manuscrit et la présentation orale peuvent légitimement comporter deux parties distinctes mais qui ne doivent en aucun cas être déconnectées l'une de l'autre :

- une étude scientifique et technologique qui doit être replacée dans son contexte, notamment en la reliant clairement avec le projet pédagogique. Cette étude doit s'appuyer sur des données scientifiques et technologiques très précises, rigoureuses et actualisées. Des prolongements économiques et sociétaux peuvent être abordés, si cela s'avère pertinent.
- une application pédagogique intégrée dans une programmation, à un niveau de classe donné, et qui doit répondre à une problématique pédagogique. Les modalités pédagogiques choisies doivent être argumentées notamment en dégagant leur plus-value. L'application pédagogique doit s'inscrire dans une démarche réaliste ; elle peut donc avantageusement avoir été expérimentée avec des élèves ou des étudiants, en s'appuyant sur différents outils d'actualité. Elle doit prendre en compte de façon concrète les contraintes inhérentes à l'environnement de l'enseignant de biochimie génie biologique (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, prévention et sécurité...).

**Le jury estime que l'analyse réflexive du « candidat enseignant » sur sa propre pratique est indispensable ; c'est pourquoi il lui conseille de se former aux sciences cognitives et de les appliquer à ses pratiques pédagogiques. Un bouquet de mots clés sans maîtrise des concepts et sans illustration dans l'application pédagogique, n'illusionne pas le jury.**

La réflexion sociétale et citoyenne est devenue un incontournable des enseignements liés aux biotechnologies et à la biologie compte tenu de leur impact sur l'humain, santé et alimentation, et sur l'environnement.

La démarche réflexive doit donc interroger les dimensions éthiques, citoyennes, orientées dans le domaine de la recherche en biotechnologie en particulier mais également en santé, en environnement, en alimentation, en lien avec les BTS de bio-industrie et de biologie médicale. Elle doit alors obligatoirement s'appuyer sur des ressources bibliographiques solides.

Dans le dossier, comme dans la présentation orale, le jury s'applique à vérifier que les schématisations présentées ne risquent pas d'induire de confusion chez les apprenants, par exemple, un anticorps qui apparaît plus gros que la cellule sur laquelle il est fixé.

## **Remarques sur le dossier**

Le jury rappelle que cet exercice de rédaction demande aux candidats de faire preuve de concision, d'esprit de synthèse et de faire des choix tant dans la structuration que dans les contenus présentés. Il convient notamment de limiter le nombre d'annexes au strict nécessaire. Néanmoins, la concision et la réalisation de choix ne doivent pas se faire au détriment d'éléments indispensables à la bonne compréhension de l'étude et à l'argumentation étayées des objectifs pédagogiques.

De manière assez générale, le jury a apprécié la qualité de la forme d'une grande majorité de dossiers : iconographie, orthographe, syntaxe, construction et clarté du plan ; toutefois, la réflexion sur les concepts scientifiques, technologiques, pédagogiques et didactiques n'est en général pas suffisamment développée.

Comme conseillé ci-dessus, ces dossiers comportaient généralement deux parties développées de manière relativement équilibrée : une partie scientifique et technologique suivie d'une partie pédagogique en lien étroit avec la première partie. Le jury a déploré des liens artificiels voire inexistantes entre les deux parties. Un approfondissement réflexif est attendu à la fois dans le domaine scientifique et technologique, ainsi que dans le domaine métier de l'enseignant, didactique et pédagogique. Il est, en effet, essentiel de valoriser ces deux dimensions dans la mesure où elles sont appliquées à l'enseignement dans nos diplômes scientifiques et technologiques.

Des illustrations de qualité peuvent être associées au texte, à condition qu'elles ajoutent une réelle plus-value didactique et/ou pédagogique. Elles doivent être rigoureusement référencées et comporter une légende soignée. Leur source doit être précisée. La lisibilité des figures et du texte doit être scrupuleusement vérifiée.

Une bibliographie rigoureuse doit être présentée de manière formelle. Il est conseillé d'utiliser des logiciels gratuits de formatage des documents pour une édition rigoureuse et homogène des références bibliographiques. L'utilisation d'une webographie doit être limitée à des sites robustes, actualisés régulièrement et fiables, car les informations présentées ne sont pas toujours rigoureuses et l'actualisation de certains sites internet ne sont pas pérennes.

## **Remarques sur la partie scientifique et technologique du dossier**

Bien que la partie scientifique et technologique soit placée en première partie du rapport, l'exercice de démarche de projet doit toutefois positionner la problématique pédagogique comme véritable finalité. A ce titre, le jury a tout particulièrement apprécié les constructions pédagogiques qui représentaient une véritable démarche de recherche s'interrogeant sur la faisabilité du projet, sa cohérence, son adaptation au public concerné et la plus-value de celle-ci.

En effet, cette démarche d'adaptation de méthodes est particulièrement développée au laboratoire et doit donc se retrouver dans la construction du projet d'un enseignant de notre discipline. Le « saupoudrage » de données déconnectées les unes des autres et présentées de manière « catalogue » est très fortement déconseillé.

Le caractère totalement novateur de la technologie présentée dans l'application pédagogique n'est pas indispensable. Toutefois, au vu de l'évolution rapide des techniques et technologies mises en œuvre dans nos domaines de formation, le jury demeure attentif à toute proposition rigoureuse et réaliste permettant l'introduction de nouvelles approches biotechnologiques auprès des élèves/étudiants, dans la mesure où ces derniers y seront potentiellement confrontés lors de leur insertion dans le monde professionnel. Néanmoins, le candidat doit veiller à positionner les nouvelles technologies par rapport à celles préexistantes et démontrer les avantages concrets qu'elles apportent.

Le jury rappelle que la partie scientifique et technologique doit être rédigée à l'appui de données récentes de la littérature ou d'une expérience en laboratoire ce qui nécessite un travail important d'actualisation et de remise à jour des connaissances de la part des candidats. La présentation d'un stage en laboratoire ou d'une étude scientifique doit s'inscrire dans une finalité pédagogique issue d'une réflexion personnelle et à un niveau d'enseignant confirmé.

Le candidat doit donc faire la démonstration d'un niveau scientifique de grande expertise dans le domaine qu'il a lui-même choisi de présenter. La réalisation d'un stage en laboratoire permet à la fois une remise à

niveau mais également un ancrage dans le concret et dans l'actualité indispensable. Le jury est conscient de l'investissement et de l'engagement que cela demande au candidat.

Le professeur de biochimie génie biologique a la particularité d'offrir à l'élève une confrontation au réel. Cela impose une maîtrise des savoirs scientifiques académiques, des savoirs technologiques mais également d'avoir la capacité de les transposer à un niveau donné pour permettre le développement des compétences des apprenants.

### **Remarques sur la partie pédagogique du dossier**

Le jury signale que tous les niveaux d'enseignement, pré- ou post-baccalauréat, choisis pour cette partie sont appréciés de manière identique.

Les candidats ayant obtenu les meilleures notes sont souvent ceux qui ont mis en œuvre, au moins en partie, la transposition pédagogique proposée ou ceux qui ont pu en discuter avec des collègues expérimentés, en sollicitant éventuellement l'aide d'un IA-IPR. Ces échanges permettent aux candidats de murir leur réflexion, de poser des mots sur leurs pratiques et d'argumenter de façon conscientisée, auprès du jury les choix effectués.

Une grande majorité de candidats parvient à présenter clairement ses choix didactiques : positionner la séance proposée dans une progression ou partie de progression annuelle, identifier les savoir-faire et les savoirs associés visés à l'intérieur d'un référentiel de pré ou post-bac, présenter le déroulé de la séance proposée. L'argumentation de la part de l'enseignant est essentielle car elle témoigne de son recul didactique sur la séance proposée. Ces capacités réflexives, essentielles pour un professeur en recherche de l'amélioration continue de son enseignement, ont été valorisées. La construction d'une partie pédagogique dont la mise en application doit être ordonnée et hiérarchisée en vue de mettre clairement en évidence le déroulement des activités pédagogique(s), les concepts fondamentaux scientifiques et technologiques apportées ainsi que les notions de prévention des risques et de coût de réalisation.

La réflexion pédagogique a souvent été insuffisamment développée : elle doit montrer la prise en compte de l'hétérogénéité des niveaux des élèves, les points de vigilance pour installer les essentiels, pour éviter les confusions, pour faciliter les apprentissages dès la classe et en prenant en compte les difficultés des apprenants. La plus-value des modalités de travail retenues et des outils choisis doit être développée. L'enrichissement par des apports théoriques issus des sciences cognitives, neurosciences et sciences de l'éducation, doit être illustré par des applications concrètes. Le rôle de l'enseignant dans la classe, en tant qu'« accélérateur d'apprentissage », doit être décrit et explicité. Par exemple, beaucoup de candidats évoquent les différents modes d'évaluation, mais sans en démontrer ni l'intérêt pour l'apprenant, ni la façon dont ils sont mis en œuvre, ni la mesure de leurs effets sur l'apprentissage en classe.

La complétude de la démarche n'apparaît que lorsque toutes les dimensions sont correctement développées à savoir les dimensions scientifique, technologique, didactique et pédagogique.

### **Remarques sur la forme des présentations orales**

La durée de l'exposé oral de 30 minutes a été, sauf quelques rares exceptions, scrupuleusement respectée par les candidats.

La présentation orale doit, bien évidemment, être à l'image des attendus du rapport écrit. Un équilibre entre les deux dimensions (i.e. « scientifique et technologique » et « didactique et pédagogique ») doit être maintenu.

Le jury tient à féliciter l'ensemble des candidats qui ont construit, dans leur majorité, des diaporamas de grande qualité, mettant clairement en évidence leurs compétences didactiques et pédagogiques. A ce propos, le choix de ne pas réaliser une présentation exhaustive de l'ensemble des informations contenues dans le dossier a toujours été très favorablement apprécié dans la mesure où cela ne gênait pas la compréhension et préservait l'intérêt de la démarche de projet.

Afin de favoriser une écoute attentive et de rendre le propos encore plus dynamique, le jury suggère aux candidats de construire des diapositives qui ne soient pas surchargées en texte. Ainsi, des supports

iconographiques judicieusement choisis remplacent parfois très utilement de longues phrases rédigées que l'auditoire n'a pas le temps de lire dans leur intégralité sans risquer de perdre le fil du récit. De même, le choix des couleurs (i.e. contraste entre le texte et le fond) ainsi que la qualité et la quantité des animations doivent être mûrement réfléchis en amont de la présentation devant le jury.

Dans un concours de recrutement d'enseignants, les compétences en communication sont évidemment essentielles, tout comme l'attitude générale devant un auditoire. Aussi, il est également conseillé aux candidats de s'affranchir d'un support papier au cours de leur prestation orale, pour faciliter la fluidité du discours et son incarnation par l'orateur. Le jury félicite les candidats qui ont, dans leur grande majorité, adopté une attitude communicante, en proposant une présentation personnelle et originale, avec force et conviction.

Le jury félicite également les candidats de s'être, en grande majorité, prêtés avec enthousiasme et dans un état d'esprit positif au « jeu » des questions-réponses. Cet exercice, rendu parfois difficile du fait de l'enjeu et du stress associés, se veut être un moment d'échanges et de réflexion. Il a vocation à évaluer les connaissances scientifiques et technologiques du candidat, mais également ses capacités à présenter son opinion, en tant que fruit de son expérience, sur divers questionnements pédagogiques.

### **Remarques sur le fond des présentations orales**

Le jury tient là encore à féliciter la grande majorité des candidats qui a su globalement faire la démonstration de leur profond investissement dans la préparation de cette épreuve, de leur motivation et de leur probité intellectuelle. A l'image des attendus du manuscrit, le jury a tout particulièrement apprécié les candidats qui ont présenté de manière claire et explicite leur démarche de projet. Il était ainsi souvent très pertinent et bienvenu de commencer par rappeler la question pédagogique posée, centre et pivot de la démarche, avant de préciser le contexte scientifique de l'étude.

Ainsi, étaient tout particulièrement appréciés les sujets ancrés sur une thématique intéressante, contextualisée et présentant des aspects technologiques novateurs en adéquation avec l'évolution des techniques tout en tenant compte, lors de la transposition pédagogique, des contraintes liées aux établissements d'enseignement. Le jury a particulièrement apprécié certaines présentations synthétiques et concises s'appuyant de façon pertinente sur un organigramme mettant en relief les objectifs, les méthodologies, les stratégies pédagogiques et les démarches d'évaluation d'une séquence préalablement positionnée au sein d'une progression. Les sujets ancrés sur une réelle recherche didactique et pédagogique a également été appréciée lorsqu'elle conduisait à un projet permettant réellement une plus-value à l'enseignement en vue d'un apprentissage plus efficace.

De nouveau, le jury rappelle qu'un important travail de synthèse doit être effectué en amont par les candidats de façon à hiérarchiser les informations qu'ils souhaitent transmettre et à ne pas tout mettre au même niveau ce qui impose alors à son auditoire de faire des choix qui ne sont pas de son ressort, comme peut y être confronté un élève ou étudiant.

Il est particulièrement attendu d'un professeur agrégé qu'il soit capable de faire évoluer les pratiques au sein de son établissement. Ceci implique de sa part, la mise en œuvre de stratégies pédagogiques novatrices, pragmatiques mais également réalistes qui donnent véritablement sens aux apprentissages. Ces activités doivent être construites sur des objectifs d'apprentissage bien définis, en appui sur une réalité, non seulement du métier d'enseignant, mais également économique pour l'établissement.

La thématique scientifique du projet est laissée à la discrétion des candidats. Le jury s'étonne donc que certains candidats n'arrivent pas à faire la démonstration, sur des questions pourtant fondamentales, de leur maîtrise dans le domaine. En effet, en tant qu'acteur et porteur de son sujet, chaque candidat doit l'avoir étudié en profondeur et le maîtriser en tant qu'expert. Il est ainsi attendu que le candidat soit capable d'expliquer les méthodologies présentées, d'expliquer les techniques et les principes scientifiques associés mais également d'être en mesure de réaliser l'analyse explicite des résultats présentés. Il doit également avoir actualisé ses connaissances faisant ainsi la démonstration d'une démarche active de veille scientifique et technologique. Ainsi, le jury rappelle qu'il est vraiment préférable de choisir un projet scientifique dans un domaine que le candidat maîtrise et/ou affectionne tout particulièrement plutôt que de se mettre inutilement en difficulté et en danger à vouloir développer une thématique qui ne lui est pas familière. Il convient cependant de ne pas oublier que le support scientifique doit être au service du projet et non l'inverse. Le fondement de l'épreuve s'inscrit dans la mise en œuvre d'un projet pédagogique. Ainsi certains dossiers

prenant appui sur des activités liées à un stage de formation en laboratoire ou sur la préparation d'une thèse, pouvaient être d'un niveau scientifique très satisfaisant sans pour autant répondre aux objectifs de l'épreuve. A l'issue de la présentation, la discussion ouverte qui s'ensuit avec le jury a pour vocation de l'éclairer sur certains points de la démarche du candidat, notamment sur son objectif premier et les solutions adoptées, mais aussi d'explicitier, voire de préciser, certaines données scientifiques abordées ou décrites dans le dossier. Cette discussion permet également d'évaluer l'appropriation de la démarche pédagogique choisie ou conçue. En effet, par ce questionnement large, le jury souhaite également apprécier la maîtrise didactique de la discipline sur des éléments non mentionnés dans le dossier mais directement associés à la problématique.

Il est rappelé que la notation de cette épreuve prend également en compte, les qualités d'expression et de communication, le sens de l'écoute active ainsi que l'adéquation des réponses aux questions. Le jury apprécie que les candidats répondent de manière précise et surtout concise, favorisant ainsi la qualité et le dynamisme des échanges. Cette pratique d'écoute et de réflexivité est essentielle pour un enseignant qui doit la pratiquer au quotidien avec ses élèves ou étudiants.

# AGRÉGATION DE BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIQUE

Concours interne

Session 2023

## ÉPREUVES D'ADMISSION

### DEUXIÈME ÉPREUVE

Durée : 8 heures

Coefficient : 1

-----

*Cette épreuve consiste à exploiter des documents techniques et pédagogiques relatifs à une séquence de « travaux pratiques » ou à une séquence à caractère expérimental, élément d'un processus d'apprentissage.*

*Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :*

- proposer et justifier les principes, méthodes et modes opératoires à mettre en œuvre et à dégager les concepts auxquels ils se rattachent ;*
- réaliser, pour tout ou partie, selon la durée impartie, l'activité prévue.*

-----

#### **PARTIE 1 – CONTROLES TRANSFUSIONNELS**

1. Analyses immuno-hématologiques d'un patient traité par transfusion sanguine p.2
2. Identification de variants antigéniques mineurs de groupes sanguins de l'individu donneur p.3

#### **PARTIE 2 – PRODUCTION D'ASPARAGINASE LORS D'UN PROJET TECHNOLOGIQUE**

1. Adaptation d'un kit commercial pour réaliser le dosage de l'asparaginase en lycée p.4
2. Réalisation de contrôles de la qualité microbiologique d'un milieu de culture p.5

***Une attention particulière sera accordée à la traçabilité et à la présentation de tous les résultats expérimentaux.***

## Prise en charge thérapeutique des cancers du sang : outils biotechnologiques et transpositions pédagogiques

Les leucémies sont des cancers affectant les cellules souches lymphoïdes ou myéloïdes de la moelle osseuse. La chimiothérapie conventionnelle et les thérapies ciblées sont deux stratégies mises en œuvre dans le traitement de ces cancers.

La chimiothérapie conventionnelle peut provoquer des anémies sévères nécessitant des transfusions répétées. Ces polytransfusions font courir le risque de complications liées à une réponse immunitaire contre des antigènes mineurs de groupes sanguins.

Les thérapies ciblées représentent une alternative induisant moins d'effets secondaires. Dans le cas des leucémies aiguës lymphoblastiques, un traitement spécifique des cellules tumorales est disponible. Ce traitement à base d'asparaginase induit une diminution de la concentration de l'asparagine extracellulaire de l'environnement tumoral. La prolifération des cellules cancéreuses est alors bloquée car contrairement aux cellules saines, les cellules cancéreuses sont incapables de synthétiser de l'asparagine.

Le sujet propose d'étudier dans une première partie, des outils biotechnologiques mis en œuvre lors des contrôles pré-transfusionnels adressés aux patients leucémiques anémiés. La deuxième partie du sujet est consacrée à la réalisation d'activités mises en œuvre lors d'un projet technologique dans un établissement scolaire.

### PARTIE 1 : CONTROLES TRANSFUSIONNELS

#### 1. Analyses immuno-hématologiques d'un patient traité par transfusion sanguine

La recherche des anticorps anti-érythrocytaires irréguliers (R.A.I) est systématique avant toute transfusion de produit sanguin labile pour éviter les risques de réaction hémolytique transfusionnelle. Un patient chez qui ce type d'anticorps a été détecté, peut à nouveau être transfusé uniquement si le sang du donneur est phénotypé et compatible.

La définition et le principe de la RAI sont présentés dans le **document 1**.

En vue d'une transfusion, on effectue préalablement une recherche d'anticorps irréguliers chez un le patient n°86836 dont le phénotype du groupe sanguin est le suivant :

O, D+ (RH1+), C+ (RH2+), E- (RH3-), c- (RH4-), e+ (RH5+), K- (KEL1-)

Le **document 2** présente le mode opératoire de dépistage des anticorps irréguliers et le **document 3** présente les caractéristiques des panels des hématies-tests phénotypées utilisés pour cette procédure.

#### Mise en œuvre

- Réaliser le dépistage des anticorps irréguliers du patient n°86836 en attente de transfusion à l'aide du **document 2**.

#### Questions d'exploitation

- Q.1** Expliciter le principe du test de dépistage des anticorps irréguliers. Préciser le rôle des anticorps contenus dans le gel ainsi que celui de l'étape de centrifugation.
- Q.2** Présenter le résultat du test réalisé et l'interpréter à l'aide du **document 3**.
- Q.3** Dédurre de ce résultat, à l'aide du phénotype du patient, les antigènes potentiels contre lesquels le patient n°86836 peut avoir produit des anticorps.

## 2. Identification de variants antigéniques mineurs de groupes sanguins de l'individu donneur

Dans le cadre de l'analyse de la compatibilité entre sujets donneur et receveur, on se propose de détecter, chez l'individu donneur, des possibles variations dans la séquence codant un de ces antigènes érythrocytaires, ici l'antigène RH4 (**c**). Ces variations entraînent l'expression d'un antigène plus ou moins immunogène à la surface des globules rouges du donneur. La détection de ces variants repose sur l'hybridation d'une séquence d'ADN codant l'antigène avec une sonde nucléique spécifique sur membrane de nylon (puce à ADN ou *DNA membrane-arrays*). Deux variants du gène RH4 sont recherchés : le variant 1 et le variant 2 responsables, respectivement, de la production d'un antigène non immunogène et d'un antigène immunogène.

### Amplification de la séquence codant l'antigène RH4 du donneur

#### Étude préparatoire

**Q.4** Réaliser, à l'aide du **document 4**, le tableau de composition du milieu réactionnel de la PCR, pour l'amplification de l'ADN du donneur (ADN n°20880) et de l'ADN contrôle interne. Expliciter par le calcul les volumes à prélever.

#### Mise en œuvre de la PCR en duplex de l'ADN du donneur ainsi que d'un ADN contrôle

- Réaliser l'amplification multiplexe des séquences codant l'antigène RH4 de l'ADN du donneur et celle de l'ADN du contrôle interne, selon le protocole du **document 4**.
  - Les dUTP-DIG et les dTTP sont ajoutés au niveau du poste « PCR »
  - **Le milieu réactionnel de PCR est placé par un examinateur dans le thermocycleur.** Les tubes sont identifiés sur un plan de plaque, **il est demandé de ne pas écrire sur les tubes.**

### Détection des variants 1 et 2 par hybridation moléculaire sur membrane « DNA membrane-arrays »

#### Étude préparatoire

**Q.5** Indiquer la composition des trois témoins réalisés pour la technique « DNA membrane-arrays » à partir des réactifs disponibles au laboratoire. Préciser leur rôle et les résultats attendus.

#### Mise en œuvre de l'hybridation moléculaire

- Préparer un plan de dépôts comportant le test à réaliser ainsi que trois témoins.
- Réaliser, à l'aide du plan de dépôt, le dépôt des sondes et réactifs témoin au niveau du poste « puce » **devant un examinateur**
- Réaliser l'hybridation moléculaire et les étapes de révélation.

⇒ **Présenter les résultats obtenus ainsi que le plan de dépôt à un examinateur.**

#### Questions d'exploitation

**Q.6** Présenter, en argumentant, deux points critiques de la préparation de la puce et de la mise en œuvre de l'hybridation.

**Q.7** Expliciter la nécessité de réaliser le contrôle interne pour l'ensemble de la manipulation mise en œuvre.

**Q.8** Interpréter les résultats du test.

## 3. Conclusion

**Q.9** Conclure à l'aide de l'ensemble des données obtenues sur la pertinence d'une transfusion du patient avec le sang du donneur.

## PARTIE 2 : PRODUCTION D'ASPARAGINASE LORS D'UN PROJET TECHNOLOGIQUE

Le traitement à base d'asparaginase permet d'éliminer l'asparagine extracellulaire de l'environnement tumoral ce qui bloque la prolifération des cellules cancéreuses. Dans le cadre d'un projet technologique, il est envisagé de produire de l'asparaginase à l'aide d'une souche d'*Erwinia*.

On se propose dans une première partie de mettre au point une technique de dosage de l'asparaginase et dans une seconde partie d'évaluer les performances d'un milieu de culture nécessaire pour suivre la croissance de la souche productrice d'asparaginase *Erwinia*.

### 1. Adaptation d'un kit commercial pour réaliser le dosage de l'asparaginase en lycée

Le kit de dosage de l'activité de l'asparaginase ne peut être acheté par un établissement car il est très onéreux. Aussi, il est envisagé de convertir un kit enzymatique de dosage de substrat dans lequel intervient l'asparaginase, en kit de dosage d'activité enzymatique. Cette adaptation repose sur le principe de proportionnalité entre la vitesse initiale de la réaction et la concentration en enzyme. L'ensemble des caractéristiques nécessaires à cette adaptation est présenté dans le **document 5**.

#### Étude préparatoire

**Q.10** Établir un mode opératoire pour doser l'activité enzymatique de l'asparaginase par méthode cinétique en continu. Préciser, pour chaque réactif utilisé, le volume et la concentration choisis. Argumenter les choix effectués.

**Q.11** Réaliser une analyse *a priori* des risques pour une étape à choisir dans la situation de travail envisagée.

#### Mise en œuvre

- Mettre en œuvre le mode opératoire proposé.

⇒ **Appeler un examinateur lors de la réalisation d'un test.**

Remarque : des ajustements du mode opératoire peuvent être proposés et testés.

#### Questions d'exploitation

**Q.12** Rendre compte de l'ensemble des résultats du ou des tests effectués.

**Q.13** Montrer à l'aide des résultats obtenus que le mode opératoire proposé permet le dosage de l'asparaginase.

**Q.14** Déterminer la concentration d'activité catalytique de la solution enzymatique fournie, exprimée en U.mL<sup>-1</sup>.

Donnée :  $\epsilon_{(\text{NADPH}; 340\text{nm})}$  : 6300 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>

## 2. Réalisation de contrôles de la qualité microbiologique d'un milieu de culture

L'asparaginase est produite par une souche d'*Erwinia*, bactérie de la famille *Erwiniaceae* proche de la famille *Enterobacteriaceae* et ne métabolisant pas le lactose. Le suivi de la souche-productrice peut se faire en utilisant un milieu Mc Conkey II Agar.

Dans le cadre de la démarche d'assurance qualité du laboratoire, il convient de valider la conformité des lots de gélose avant leur utilisation à l'aide d'inocula de concentration connue en micro-organismes.

Les souches test choisies sont les suivantes :

- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### a. Vérification de la concentration en nombre des suspensions mères

Dans un premier temps, il convient de vérifier la concentration en micro-organismes dans les suspensions mères utilisées pour préparer les inocula (**document 6**).

#### Mise en œuvre

- Réaliser la préparation de la suspension mère de la souche *Escherichia coli* ATCC 25922 en suivant les instructions du **document 6**.
- Mettre en œuvre la méthode des spots pour vérifier la concentration de la suspension mère de *Escherichia coli* ATCC 25922.

⇒ **Appeler un examinateur lors de la réalisation d'un test**

#### Questions d'exploitation

- Q.15** Calculer les concentrations des suspensions mères de *Escherichia coli* ATCC 25922 et de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Q.16** Argumenter le choix des dilutions réalisées pour la méthode des spots et présenter le tableau de réalisation des dilutions en microplaque.

#### Données :

- Dans les conditions du laboratoire :

Souche test	Densité Optique ou Atténuation à 550 nm	Concentration bactérienne (bactéries·mL <sup>-1</sup> )
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1 Unité	1,2 · 10 <sup>9</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1 Unité	5,8 · 10 <sup>8</sup>

### b. Évaluation des performances de la gélose Mc Conkey II Agar

La gélose Mc Conkey II Agar (**document 7B**) est utilisée pour suivre la biomasse d'*Erwinia* par dénombrement en surface.

La norme NF EN ISO 11133 : 2014 (**document 7C**) présente les recommandations de mise en œuvre des essais de performance des milieux de culture.

Un enseignant souhaite réaliser avec une classe un essai quantitatif de productivité et un essai

qualitatif de sélectivité du milieu Mc Conkey II Agar, en s'appuyant sur les recommandations de la norme. Le milieu de culture de référence non sélectif est la gélose Tryptone Soja Agar (TSA).

### **Étude préparatoire**

- Q.17** Proposer, à partir des extraits de la norme fournis en **document 7C** et du **document 7A**, les démarches opératoires permettant de réaliser :
- un essai quantitatif de productivité du milieu Mc Conkey II Agar ;
  - un essai qualitatif de sélectivité du milieu Mc Conkey II Agar.

### **Mise en œuvre**

- Préparer les suspensions (inocula appropriés) pour les essais de productivité et de sélectivité conformément aux démarches opératoires proposés ;
- Ensemencer les milieux appropriés.

### **Question d'exploitation**

**NB : des résultats expérimentaux seront fournis aux candidats ayant conduit la préparation et l'étude microbiologique.**

- Q.18** Présenter les résultats fournis pour le lot MCA43 et conclure quant à la conformité de ce lot.

## **Document 1 : Recherche des anticorps anti-érythrocytaires (R.A.I).**

Sources : Arrêté du 26 avril 2002 concernant les modalités de recherche des agglutinines irrégulières (JO n°104 du 4 mai 2002) ; Biomnis 2014-précis de biopathologie analyses médicales spécialisées.

### **Définition :**

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires également appelée recherche d'agglutinines irrégulières (R.A.I) a pour objectif la mise en évidence et l'identification d'anticorps (Ac) anti-érythrocytaires irréguliers (c'est-à-dire autres que anti-A et anti-B) en mettant en présence le sérum ou le plasma à étudier avec une gamme d'hématies tests O phénotypés dans les principaux systèmes érythrocytaires immunogènes (Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS, P1, Lewis, Luthéran) définis réglementairement.

Les Ac recherchés par cet examen ne sont pas des agglutinines de classe IgM mais des hémolysines de classe IgG. Elles sont développées par un sujet qui s'immunise contre un (des) antigène(s) de membrane érythrocytaire qu'il ne possède pas, lors d'une transfusion ou d'une grossesse. Elles sont dangereuses en transfusion et peuvent l'être pour le fœtus.

### **Indications de la recherche :**

La RAI est un examen fondamental pour la prévention et le diagnostic des accidents transfusionnels hémolytiques ainsi que la surveillance des incompatibilités fœto-maternelles. Elle est indiquée :

- chez tout patient susceptible d'être transfusé à court terme et dans le cadre du suivi d'hémovigilance d'un patient polytransfusé ;
- chez la femme enceinte dans le cadre de la surveillance des incompatibilités fœto-maternelles ;
- chez tout patient en contexte de greffe ou de transplantation.

### **Principe**

La recherche d'anticorps anti-érythrocytaires comporte deux étapes dont l'enchaînement est sous la responsabilité du biologiste :

- **une étape de dépistage** au terme de laquelle le laboratoire pourra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif » d'anticorps anti-érythrocytaires. En cas de

dépistage positif, l'identification de l'anticorps est obligatoire.

Cette étape repose sur l'utilisation d'un panel d'au moins trois hématies-tests de groupe O phénotypés permettant de déceler les Ac dirigés contre les antigènes RH1 (D), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e), KEL 1 (K), KEL 2 (Cellano), KEL 4 (Kpb), FY1 (Fya), FY2 (Fyb), JK1 (Jka), JK2 (Jkb), MNS1 (M), MNS2 (N), MNS3 (S), MNS4 (s), LE1(Lea), LE2 (Leb), P1, LU2 (Lub).

- **une étape d'identification** obligatoire en cas de dépistage positif, consiste à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents, faisant appel à un panel de 10 hématies tests phénotypées.

L'ensemble de ces hématies de groupe O doit comporter les antigènes suivants : RH1, RH2, RH3, RH4, RH5, RH6, RH8 (Cw), KEL 1, KEL 2, KEL 3 (Kpa), KEL 4, FY1, FY2, JK1, JK2, MNS1, MNS2, MNS3, MNS4, LE1, LE2, P1, LU1 (Lua), LU2.

Cette phase doit permettre l'identification d'un anticorps courant isolé ainsi qu'une orientation dans l'identification des mélanges d'anticorps.

### **Les techniques :**

Pour les deux étapes, la méthodologie technique repose sur la mise en œuvre d'un test indirect à l'antiglobuline polyspécifique ou anti-IgG contenue dans une colonne de gel filtration.

**Document 2 : Dépistage des RAI par méthode de filtration sur gel** - Extrait de la fiche technique Liss/Coombs Biorad

**Matériel et réactifs**

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Carte Gel ID LISS/Coombs</b>	Carte comportant 6 microtubes de gel contenant un sérum de lapin polypécifique antiglobuline humaine	1 carte sur un portoir dédié
<b>ID-Dia Cell I</b>	Panel n°1 de dépistage : GR phénotypés 	Microtube de 200 µL
<b>ID-Dia Cell II</b>	Panel n°2 de dépistage : GR phénotypés 	Microtube de 200 µL
<b>ID-Dia Cell III</b>	Panel n°3 de dépistage : GR phénotypés 	Microtube de 200 µL
<b>Plasma n° 86836</b>	Plasma humain 	Microtube de 100 µL

- Étuve à 37°C

- Centrifugeuse ID-Centrifuge Diamed

Le contrôle interne de qualité a été préalablement validé.

**Mode opératoire**

Ne pas utiliser les cartes-ID présentant des signes de dessèchement, des bulles d'air dans le gel, un système de fermeture endommagé, des gouttelettes de gel ou de surnageant sur les parois supérieures des microtubes ou sur la face interne de la languette d'aluminium.

Ramener les hématies-tests prêtes à l'emploi ID-DiaCell I ; II ; III et les échantillons à température ambiante avant utilisation.

1. Identifier la carte gel par le nom du patient ou du donneur et le nom du manipulateur
2. Identifier 3 des microtubes de la carte gel par un numéro d'hématies-tests ID-DiaCell I, II ou III
3. Décoller la languette d'aluminium des microtubes utilisés en tenant la carte en position verticale
4. Distribuer 50 µL de chacune des hématies-tests I, II ou III (préalablement remises délicatement en suspension) dans les microtubes appropriés (chacun étant marqué avec l'hématie-test correspondante)
5. Ajouter 25 µL du plasma ou sérum du patient à chaque microtube I, II, III
6. Incuber la carte-ID 15 minutes à 37 °C dans un incubateur
7. Centrifuger la carte-ID 10 minutes dans l'ID-Centrifuge
8. Lire les résultats

**Interprétations des résultats :**

- Test « Positif » : une ligne rouge est présente à la surface du gel ou alors l'ensemble du gel est rosé ;
- Test « Négatif » : une ligne rouge est présente au fond du microtube.

**Document 3 : table d'antigènes des panels d'hématies tests I, II et III phénotypées**

	Rh						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS			Luth		Xg
	D	C	E	c	e	C <sup>w</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P1	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Xg <sup>a</sup>
I	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+
II	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+
III	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	0	+	+

+ : présence de l'Ag sur le panel de globules rouges

0 : absence de l'Ag sur le panel de globules rouges

nt : non déterminé

**Document 4 : Détection des variants antigéniques de RH4 (c) par hybridation moléculaire ADN – ADN sur puce.**

**Matériel et réactifs pour l'amplification de l'ADN cible**

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>dNTPs (sauf dTTP)</b>	dATP, dCTP, dGTP en mélange équimolaire à 3,33 mmol·L <sup>-1</sup> chacun	Microtube de 7 µL
<b>dTTP</b>	dTTP à 10 mmol·L <sup>-1</sup>	Microtube au poste PCR
<b>dUTP-DIG</b>	dUTP couplés à la digoxygénine (DIG) à 1 mmol·L <sup>-1</sup>	Microtube au poste PCR
<b>Taq polymérase</b>	Enzyme Taq polymérase à 0,5 U·µL <sup>-1</sup>	Microtube de 10 µL
<b>Tampon PCR 10X</b>	Tampon 10X de la Taq polymérase	Microtube de 12 µL
<b>Amorces PCR sens</b>	Amorces sens de l'ADN cible à 5 µmol·L <sup>-1</sup>	Microtube de 10 µL
<b>Amorces PCR antisens</b>	Amorces antisens de l'ADN cible à 5 µmol·L <sup>-1</sup>	Microtube de 10 µL
<b>ADN n° 20880</b>	ADNg extrait des cellules du donneur à 1ng·µL <sup>-1</sup>	Microtube de 10 µL
<b>Contrôle interne 10X</b>	ADN contrôle + amorces de l'ADN contrôle 10X	Microtube de 10 µL
<b>Eau DNase free</b>		Microtube de 50 µL

**Réactifs pour la préparation de la puce**

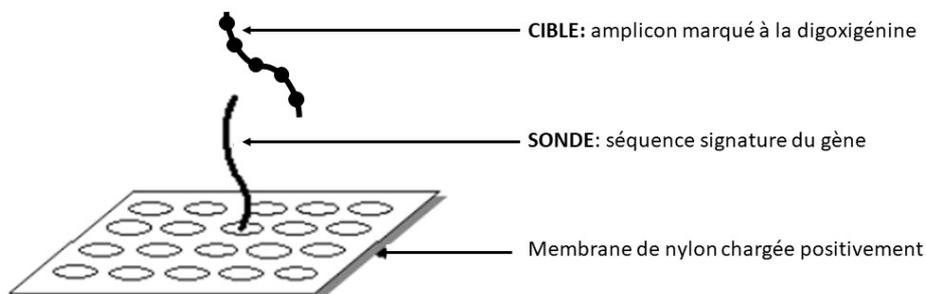
NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Sonde ADN variant 1</b>	Fragment monocaténaire d'un variant du gène RH4 produisant un <b>Ag non immunogène</b>	1 microtube au poste dédié
<b>Sonde ADN variant 2</b>	Fragment monocaténaire d'un variant du gène RH4 produisant un <b>Ag immunogène</b>	1 microtube au poste dédié
<b>Sonde ADN contrôle interne</b>	Fragment monocaténaire de l'ADN contrôle	1 microtube au poste dédié
<b>Sonde ADN universelle de l'Ag RH4</b>	Fragment monocaténaire du gène RH4 recouvrant l'ADN cible qu'il soit muté ou non	1 microtube au poste dédié
<b>Sonde ADN universelle de l'Ag RH1</b>	Fragment monocaténaire du gène RH1 (D) recouvrant l'ADN cible qu'il soit muté ou non	1 microtube au poste dédié
<b>Sonde ADN marquée avec du dUTP-DIG</b>	Préparation commerciale d'ADN marqué à la digoxygénine	1 microtube au poste dédié
<b>Anti-DIG</b>	Anticorps anti-DIG couplés à la phosphatase alcaline (PAL)	1 microtube au poste dédié

## Réactifs pour l'hybridation et la révélation

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>PRE-HYB</b>	Tampon SSC 5X, CTAB 1 mM, lait écrémé 2 %	Tube de 5 mL
<b>Wash 1</b>	Tampon SSC 2X, SDS 0,1 %	Tube de 5 mL
<b>Wash 2</b>	Tampon SSC 0,1X, SDS 0,1 %	Tube de 5 mL
<b>TBS-T</b>	Tris Buffer Saline, Tween 20 à 0,05 %	Tube de 5 mL
<b>TBS-lait</b>	Tris Buffer Saline, lait écrémé 4 %	Tube de 5 mL
<b>Anti-DIG</b>	Anticorps anti-DIG couplés à la phosphatase alcaline (PAL) à préparer extemporanément par dilution au 1/2000 dans 2 mL de TBS-lait	1 microtube au poste dédié puce
<b>PAL-Revel</b>	Substrat chromogène de la PAL à préparer extemporanément en mélangeant 9 µL de NBT et 7 µL de BCIP à 2 mL de tampon TDEA	Microtube NBT de 10 µL Microtube BCIP de 10 µL Microtube TDEA de 2 mL

- Table UV
- Fiole Coulter
- Tube PCR 0,2 mL
- Membrane en nylon
- Pince
- Etuve à 60°C
- Agitateur rotatif
- Bac à glace
- Bain-marie sec à 95°C + cavaliers

## Principe



Les sondes sont constituées d'ADN monocaténares, elles sont déposées par spot sur une membrane de nylon chargée positivement.

L'ADN cible à hybrider est amplifié par PCR, à partir de l'ADN génomique extrait du sang du donneur. L'ADN amplifié est marqué par incorporation de dUTP-DIG (digoxigénine).

L'hybridation est obtenue par dépôt du milieu réactionnel de PCR sur la membrane sèche. L'ADN cible contenu dans un faible volume est absorbé par la membrane et la rencontre avec la sonde est favorisée.

La révélation des hybridations est réalisée avec un anticorps anti-DIG conjugué à la phosphatase alcaline et un substrat générant un précipité violet.

## Mode opératoire

### Amplification de l'ADN cible RH4 par PCR

- Milieu réactionnel (MR) :

	Concentration stock	Concentration ou quantité dans le milieu réactionnel	Volumes pour 1 PCR ( $\mu\text{L}$ )
Eau DNase free			qsp 50
Tampon PCR	10X	1X	
dATP + dCTP + dGTP en mélange	3,33 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ chacun	200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ chacun	
dTTP	10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	190 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0,95
dUTP-DIG	1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0,5
Amorce sens	5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
Amorce antisens	5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	0,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	
ADN du donneur	1 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	5 $\text{ng} = 10^8$ copies	
Mélange de l'ADN contrôle et de ses amorces	10X	1X	
Taq polymérase	0,5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	2 U	

qsp : quantité suffisante pour

- **Programme du thermocycleur :**

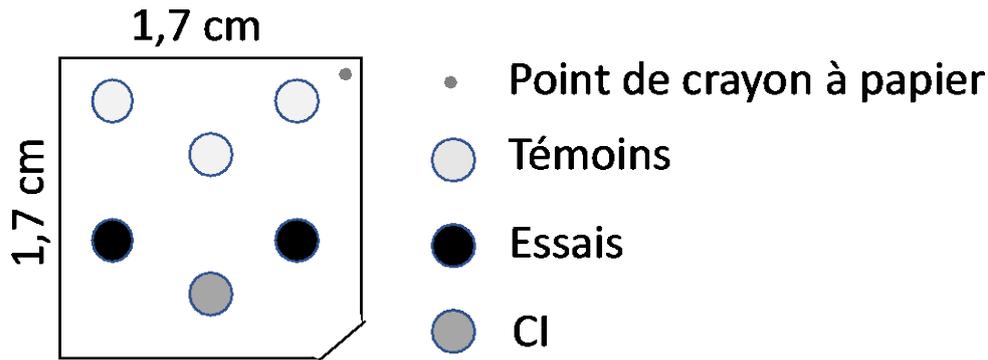
Etape 1	3 min à 94°C	
	15 s à 94°C	
Etape 2	30 s à 50°C	25 cycles
	40 s à 72°C	
Etape 3	3 min à 72°C	
Etape 4	maintien à 7°C	

### Détection des variants 1 et 2 par hybridation moléculaire sur membrane « DNA membrane-arrays »

#### Préparation de la membrane de nylon

Découper un carré de membrane de nylon d'environ : 1,7 x 1,7 cm. Repérer l'orientation de la membrane en coupant un coin et en y ajoutant un point au crayon à papier sur la face brillante.

Cette membrane peut contenir un maximum de 6 dépôts de 1  $\mu\text{L}$  de sonde à disposer selon le gabarit suivant :



### **Dépôts et fixation des sondes contrôle interne, essais et témoins**

En respectant le gabarit ci-dessus :

1. Déposer sur la membrane 1  $\mu\text{L}$  de sondes contrôle interne (CI) et 1  $\mu\text{L}$  de sondes des deux variants antigéniques
2. Déposer 1  $\mu\text{L}$  de réactifs permettant la réalisation des trois témoins retenus
3. Laisser sécher 5 minutes
4. Fixer aux UV en exposant les membranes retournées sur la table UV pendant 30 secondes
5. Placer la membrane dans le fond d'une fiole Coulter, en positionnant la face des dépôts sur le dessus

### **Dénaturation de l'ADN cible**

1. Transférer le contenu du tube PCR dans un microtube 1,5 mL
2. Ajouter un cavalier afin d'éviter l'ouverture du tube par la chaleur puis le mettre dans un bain sec à 95°C pendant 10 minutes
3. Placer immédiatement le tube dans la glace pendant au moins 5 minutes
4. Centrifuger rapidement pour culotter les amplicons dénaturés.

### **Hybridation moléculaire**

Toutes les étapes sont réalisées en fiole Coulter.

1. Incuber la membrane dans 1 mL de solution « PRE-HYB » pendant 15 minutes à température ambiante
2. Sécher la membrane pendant 20 minutes à 37°C (étuve)
3. Ajouter 50  $\mu\text{L}$  de TE froid dans le tube de produits de PCR « cible » dénaturés puis homogénéiser
4. Déposer précautionneusement l'intégralité du volume d'ADN cible dénaturé sur la membrane dans la fiole Coulter en prenant garde à ne pas toucher la membrane avec le cône. En cas de débordement, récupérer la préparation et la remettre sur la membrane
5. Incuber 15-30 minutes à température ambiante, sans agitation
6. Laver 3 minutes à température ambiante, avec forte agitation manuelle, avec le tampon « WASH1 », préchauffé à 60°C
7. Laver 3 minutes à température ambiante, avec forte agitation manuelle, avec le tampon « WASH2 », non préchauffé

### **Révélation**

Toutes les étapes sont réalisées en fiole Coulter.

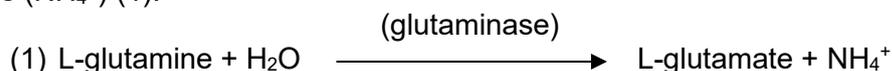
1. Saturer la membrane en la recouvrant avec de la solution « TBS-LAIT » et en incubant pendant 5 minutes
2. Incuber la membrane 30 min à température ambiante sous faible agitation sur agitateur de plaque dans 2 mL de solution « antiDIG » préparée extemporanément en diluant l'Ac antiDIG au 1/2000 en TBS-lait
3. Laver pendant 3 minutes à température ambiante, sous forte agitation manuelle, avec 2 mL de TBST
4. Incuber la membrane dans 2 mL de solution « PAL-REVEL » préparée extemporanément, pendant 15-20 minutes à l'obscurité, à température ambiante, en surveillant l'apparition de la coloration
5. Laver la membrane à l'eau distillée pendant 5 minutes sous agitation forte.
6. Sécher la membrane sur papier filtre.

**Document 5 : Données pour l'adaptation du kit L-Asparagine/L-glutamine (Mégazyme) en kit de dosage de l'asparaginase.**

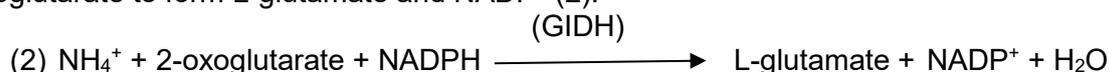
**A. Extrait de la fiche technique kit L-Asparagine/L-glutamine (Mégazyme)**

**Principe :**

L-glutamine is converted by a large excess of glutaminase, into L-glutamate and ammonium ions ( $\text{NH}_4^+$ ) (1).



Then, in the presence of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) and glutamate dehydrogenase (GIDH), the ammonia that formed by reaction (1), reacts with 2-oxoglutarate to form L-glutamate and  $\text{NADP}^+$  (2).



The amount of  $\text{NADP}^+$  formed is stoichiometric with the amount of ammonia. It is NADPH consumption that is measured by the decrease in absorbance at 340 nm.

In the final reaction, L-asparagine is rapidly hydrolyzed to L-aspartate and ammonium ions by asparaginase (3).



**Procedure :**

Wavelength : 340 nm	Final volume : 1.17 mL (L-glutamine)
Cuvette : 1 cm light path (glass or plastic)	1.18 mL (L-asparagine)
Temperature : around 25°C	Read against air (without a cuvette in the light path) or against water

**Determination of L-glutamine and L-asparagine**

Pipette into cuvettes	Blank	Sample
$V_{\text{buffer pH 4,9}}$ (mL)	0.10	0.10
$V_{\text{sample}}$ (mL)	-	0.10
$V_{\text{glutaminase}}$ (mL)	0.01	0.01

Mix and incubate for 5 minutes at 25°C. Then add :

$V_{\text{distilled water}}$ (mL)	0.80	0.70
$V_{\text{2-oxoglutarate pH 8}}$ (mL)	0.15	0.15
$V_{\text{NADPH}}$ (mL)	0.10	0.10

Mix and read the absorbances of the solutions ( $A_1$ ) after approximately 5 minutes\*.

Then start the reaction by addition of :

$V_{\text{GIDH}}$ (mL)	0.01	0.01
------------------------	------	------

Mix and read the absorbances of the solutions ( $A_2$ ) at the end of the reaction (approx. 5 minutes).

Then add :

$V_{\text{Asparaginase}}$ (mL)	0.01	0.01
--------------------------------	------	------

Mix and read the absorbances of the solutions ( $A_3$ ) at the end of the reaction (approx. 5 minutes)\*.

\* If the reaction has not stopped after 5 minutes continue to read the absorbances at 1 minute intervals until the absorbances remain the same.

## B. Caractéristiques de l'asparaginase

La définition de l'unité enzymatique de l'asparaginase est la suivante :

Une unité d'asparaginase est définie comme la quantité d'enzyme requise pour obtenir 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{NADP}^+$  en 1 minute à  $25^\circ\text{C}$  pour les concentrations de réactifs suivants dans le milieu réactionnel :

- Concentration du tampon Tris-HCl,  $\text{pH} = 8,0$  de  $45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Concentration en L-asparagine de  $7,3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Concentration en 2-oxoglutarate de  $0,9 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Concentration en NADPH de  $0,25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
- Concentration en glutamate déshydrogénase de  $3,4 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$

Le  $K_M$  de l'asparaginase pour l'asparagine du kit et dans les conditions opératoires du kit, est de  $0,69 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

## C. Informations techniques pour l'adaptation

### Réactifs du kit

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Buffer pH 4,9</b>	Solution tampon Tris HCl $\text{pH} = 4,9$ (+ 0,02% azide de sodium)	Microtube de 1 mL
<b>Glutaminase</b>	Solution de Glutaminase en tampon $\text{pH} = 4,9$	Microtube de 100 $\mu\text{L}$
<b>2-Oxoglutarate</b>	Solution de 2-oxoglutarate de $7 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ en tampon $\text{pH} = 8,0$ (+ 0,02% azide de sodium + imidazole 2%)	Microtube de 1,5 mL
<b>NADPH</b>	Solution de NADPH de $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ en eau distillée (+ 0,02% azide de sodium + 3-cyclohexylaminopropane-1-sulphonic acid + CAPS buffer)	Microtube de 1 mL
<b>GIDH</b>	Solution de glutamate déshydrogénase en tampon $\text{pH} = 8,0$ (+ 25% de sulfate de lithium)	Microtube de 100 $\mu\text{L}$
<b>Asparaginase</b>	Solution d'asparaginase en tampon $\text{pH} = 8,0$ (+ 25% de sulfate de lithium + imidazole 2%)	Microtube de 50 $\mu\text{L}$

### Matériels et réactifs supplémentaires

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<b>Tp pH 8</b>	Tampon Tris HCl $\text{pH} = 8$ de $45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Flacon de 10 mL
<b>Asn</b>	Solution d'asparagine ( $\text{MM} 132,12 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) de $11,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	Microtube de 1 mL

- 
- Tube à hémolyse
  - Microtubes de 1,5 mL
  - Bain thermostaté
  - Spectrophotomètre thermostaté
  - Microcuvettes

## Données de Sécurité

Réactif	Éléments d'étiquetage	Réactif	Éléments d'étiquetage
<b>2-oxoglutarate</b> (en solution avec imidazole 2%)	  GHS07 GHS08 <b>DANGER</b> H315 : Provoque une irritation cutanée H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H360 : Peut nuire à la fertilité ou au fœtus	<b>GIDH</b>	 GHS07 <b>ATTENTION</b> H302 : Nocif en cas d'ingestion H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.
<b>NADPH</b>	 GHS07 <b>ATTENTION</b> H302 : Nocif en cas d'ingestion H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme	<b>Asparaginase</b>	  GHS07 GHS08 <b>ATTENTION</b> H302 : Nocif en cas d'ingestion H315 : Provoque une irritation cutanée H317 : Peut provoquer une allergie cutanée H319 : Provoque une sévère irritation des yeux. H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. H360 - Peut nuire à la fertilité ou au fœtus
<b>Glutaminase</b>	 GHS07 <b>ATTENTION</b> H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.		
<b>Buffer pH 4,9</b> <b>Tris HCl +</b> <b>azoture de</b> <b>sodium 0,2%</b>	Non dangereux	<b>Tp pH 8</b>	Non dangereux
<b>Asn</b>	Non dangereux		

**Document 6 : Instruction de travail pour la préparation de suspension mère et de la vérification de leur concentration.**

• **Matériels et réactifs mis à disposition**

Nom	Composition	Conditionnement
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		Isolement sur gélose GTS
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Souche calibrée à $DO_{550\text{ nm}} \approx 0,2$	Tube 5 mL en eau physiologique
TSA	Gélose TSA coulée en boîte de Petri	1 boîte
5 mL d'eau physiologique		Tube
Eau physiologique 10 mL		Flacon

- Étuve
- Spectrophotomètre
- Pipettes Pasteur boutonnée
- Microplaques 96 puits stérile à fond plat (capacité des puits 300  $\mu\text{L}$ ) avec couvercle
- Macrocuves visibles 3 mL

**Préparation d'une suspension mère :**

- Mettre en suspension une colonie isolée dans 5 mL d'eau physiologique stérile
- Mesurer l'atténuation à 550 nm (ou  $DO_{550\text{ nm}}$ ) de la suspension contre un blanc adapté en présence de l'examineur.

**Donnée :** L'atténuation ou  $DO_{550\text{ nm}}$  mesurée doit être comprise entre 0,08 et 0,1.

**Vérification de la concentration en nombre d'une suspension mère**

La vérification de la concentration d'une suspension mère se fait par la méthode des spots.

- Réaliser, en microplaque 96 puits, des dilutions en série de raison 1/10 de la suspension mère en utilisant de l'eau physiologique comme diluant
- Utiliser une gélose TSA sèche
- Réaliser des dépôts de 10  $\mu\text{L}$  de chacune des dilutions à la surface de la gélose TSA
- Laisser sécher les dépôts. Ne pas déplacer la boîte
- Incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures.

**Donnée :**

20 UFC au maximum sont facilement comptables pour un dépôt de 10  $\mu\text{L}$ .

**Document 7 : Déterminations quantitative de la productivité et qualitative de la**

sélectivité du milieu Mac Conkey II Agar.

A. Matériels et réactifs mis à disposition

Nom	Composition	Conditionnement
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Suspension préparée selon document 6	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Souche calibrée à $DO_{550\text{ nm}} \approx 0,2$	Tube 5 mL en eau physiologique
Mc Conkey II	Gélose Mc Conkey II coulée en boîte de Petri	2 boîtes
TSA	Gélose TSA coulée en boîte de Petri	1 boîte

- 2 anses calibrés de 1  $\mu\text{L}$
- Cônes stériles pour P10, P200 et P1000
- Billes stériles

## B. Fiche technique du milieu Mc Conkey II Agar



MODE D'EMPLOI – MILIEUX  
EN BOITES DE PETRI  
PRETS A L'EMPLOI



PA-254025.07

Rév. : July 2014

### BD MacConkey II Agar

#### APPLICATION

La **BD MacConkey II Agar** (gélose MacConkey II) est un milieu différentiel sélectif servant à l'isolement et à la différenciation des *Enterobacteriaceae* et de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs issus d'échantillons cliniques.

#### PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Aujourd'hui, de nombreux milieux de culture permettent d'isoler, de cultiver et d'identifier les *Enterobacteriaceae* et certains non-fermentants. L'un des premiers milieux de ce type a été développé par MacConkey et documenté en 1900 et 1905.<sup>1,2</sup> L'élaboration de cette préparation s'est appuyée sur deux données fondamentales : la précipitation des sels biliaires par les acides et la fermentation du lactose par certains microorganismes entériques exclusifs. Par la suite, ce milieu a été modifié à diverses reprises.<sup>3,4</sup>

La MacConkey Agar n'est que légèrement sélective car la concentration de sels biliaires, qui inhibe les microorganismes Gram-positifs, est faible par rapport à celle d'autres milieux entériques. Ce milieu est recommandé pour les échantillons cliniques susceptibles de contenir un mélange de flores microbiennes : échantillons d'urine, respiratoires, prélevés sur des plaies, etc. En effet, il permet d'effectuer un groupement préliminaire des bactéries entériques et d'autres bactéries Gram-négatives dans les fermentants et non-fermentants du lactose.<sup>5,6</sup> La MacConkey Agar est également employée dans l'examen microbiologique des denrées alimentaires.<sup>7</sup> La MacConkey II Agar a été formulée pour mieux inhiber l'essaimage des espèces de *Proteus*, pour obtenir une différenciation plus nette des fermentants et non-fermentants du lactose et pour stimuler la croissance des bactéries entériques.

Dans la **BD MacConkey II Agar**, des peptones apportent les éléments nutritifs. Le cristal violet inhibe les bactéries Gram-positives, en particulier les entérocoques et les staphylocoques. Les microorganismes entériques sont différenciés par l'association du lactose et de l'indicateur de pH au rouge neutre. Des colonies incolores ou de couleur rose à rouge se développent en fonction de la capacité de l'isolat à provoquer la fermentation du glucide.

#### REACTIFS

##### BD MacConkey II Agar

Formule\* par litre d'eau purifiée

Digestion pancréatique de gélatine	17,0 g
Digestion pancréatique de caséine	1,5
Digestion peptique de tissu animal	1,5
Lactose	10,0
Sels biliaires	1,5
Chlorure de sodium	5,0
Rouge neutre	0,03
Cristal violet	0,001
Gélose	13,5

pH 7,1 ± 0,2

\*Ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performance imposés.

#### PRECAUTIONS

**[IVD]** . A usage professionnel uniquement. ☒

Ne pas utiliser les boîtes de Pétri qui montrent des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.

PA-254025.07

- 1 -

Consulter le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** » pour connaître les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques, ainsi que les méthodes d'élimination des produits utilisés.

#### STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas congeler ni surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à leur date de péremption (voir étiquette sur l'emballage) et incubées pendant le délai d'incubation recommandé. Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

#### CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Inoculer les échantillons représentatifs avec les souches ci-dessous (pour plus d'informations, voir le document « **MODE D'EMPLOI GENERAL** »). Incuber les boîtes de Pétri à 35 ± 2 °C en atmosphère aérobie. Observer les boîtes de Pétri après 18 à 24 h pour mesurer la croissance, la taille des colonies, la pigmentation et la sélectivité.

Souches	Croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Croissance, colonies de couleur rose
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Croissance, colonies incolores à beiges, essaimage inhibé
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	Croissance, colonies incolores à beiges
<i>Salmonella</i> Abony DSM 4224	Croissance, colonies incolores à beiges
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Croissance, colonies incolores
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Inhibition partielle à complète
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Inhibition partielle à complète
Non inoculé	Couleur rose clair, légèrement opalescente

#### METHODE

##### Matériel fourni

**BD MacConkey II Agar** (boîtes de Pétri **Stacker** de 90 mm). Produit soumis à contrôle microbiologique.

##### Matériel non fourni

Les milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

##### Types d'échantillons

Ce milieu sélectif, qui sert à isoler les *Enterobacteriaceae* ainsi que de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs, est utilisable pour tous les types d'échantillons cliniques et pour de multiples matières non cliniques (voir également la section « **CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE** »).

##### Mode opératoire du test

Diluer l'échantillon par striation dès que possible après réception par le laboratoire. La boîte à striation sert principalement à isoler les cultures pures des échantillons contenant des flores mixtes.

Si la matière doit être cultivée directement à partir d'un écouvillon, rouler ce dernier sur une petite surface de la boîte de Pétri près du bord, puis strier l'échantillon depuis cette zone inoculée. Il convient d'ensemencer également un milieu non sélectif tel que la Columbia Agar with 5 % Sheep Blood pour signaler la présence d'autres organismes dans l'échantillon. Incuber les boîtes de Pétri à l'abri de la lumière, à 35 ± 2 °C pendant 18 à 24 h, davantage si nécessaire (ne pas utiliser la MacConkey II Agar sous une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>).

PA-254025.07

- 2 -

## Résultats

Généralement, les colonies isolées sur la **BD MacConkey II Agar** présentent la morphologie suivante :

Organismes	Croissance
<i>E. coli</i>	Colonies de couleur rose à rose-rouge, parfois cernées par une zone de précipitation biliaire
<i>Enterobacter, Klebsiella</i>	Muqueuse, colonies de couleur rose
<i>Proteus</i>	Colonies incolores, essaimage inhibé autour des colonies isolées*
<i>Salmonella, Shigella</i>	Colonies incolores. Couleur du milieu : orange à ambré
<i>Pseudomonas</i>	Irrégulière, colonies incolores à roses

Les bactéries Gram-positives font l'objet d'une inhibition partielle à complète.

## CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD MacConkey II Agar** figure parmi les milieux utilisés en standard pour l'ensemencement primaire d'échantillons cliniques et de nombreuses matières non cliniques. Ce milieu favorise le développement de tous les organismes de la famille des *Enterobacteriaceae* ainsi que de nombreux autres bâtonnets Gram-négatifs, par exemple les *Pseudomonas* et les genres associés.<sup>5-9</sup> Les non-fermentants ou les autres bâtonnets Gram-négatifs sensibles à ses composants sélectifs ne se développent pas dans ce milieu. Avant d'utiliser ce milieu pour des organismes spécifiques, consulter les chapitres correspondants dans les documents de référence.<sup>5,9</sup>

Selon certaines sources, des *Enterobacteriaceae* et des *Pseudomonas aeruginosa* sont inhibées sur la MacConkey Agar lorsqu'elle est incubée sous une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>.<sup>10</sup> Il est certes possible de procéder à divers tests diagnostiques directement dans ce milieu, mais, pour obtenir une identification complète, il convient d'employer des tests biochimiques et, si nécessaire, immunologiques, faisant appel à des cultures pures. Consulter les documents de référence appropriés.<sup>5-7,9</sup>

## REFERENCES

1. MacConkey, A.T. 1900. Note on a new medium for the growth and differentiation of the *Bacillus coli communis* and the *Bacillus typhi abdominalis*. The Lancet, Part II:20.
2. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in faeces. J. Hyg. 5:333-379.
3. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
4. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
5. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
6. Farmer III, J.J. 2003. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
8. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Mazura-Reetz, G., T.R. Neblett, and J.M. Galperin. 1979. MacConkey agar: CO<sub>2</sub> vs. ambient incubation, abstr. C 179, p. 339. Abstr. 79th Annu. Meet. Am. Soc. Microbiol. 1979.

## CONDITIONNEMENT

### BD MacConkey II Agar

N° réf. 254025

N° réf. 254078

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 20 unités

Milieux en boîtes de Pétri prêts à l'emploi, 120 unités

## INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES

Pour plus d'informations, contacter le représentant local de BD.



### Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50

Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception\_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2014 BD

## C. Extraits adaptés de la Norme NF EN ISO 11133 :2014 - Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture

Les extraits de normes figurant dans cet ouvrage sont reproduits avec l'accord d'AFNOR. Seul le texte original et complet de la norme telle que diffusée par AFNOR – accessible via le site internet [www.afnor.org](http://www.afnor.org) – à valeur normative

### 3 - Termes et définitions

#### 3.2 - Terminologie relative aux essais de performance

##### 3.2.1 - performance d'un milieu de culture

Réponse d'un milieu de culture soumis à une souche test dans des conditions définies

##### 3.2.2 - micro-organisme cible

Micro-organisme ou groupe de micro-organismes à rechercher ou à dénombrer

##### 3.2.3 - micro-organisme non cible

Micro-organisme qui est supprimé par le milieu et/ou les conditions d'incubation ou qui ne présente pas les caractéristiques attendues du micro-organisme cible

##### 3.2.4 - productivité d'un milieu de culture

Taux de récupération d'un micro-organisme cible à partir d'un milieu de culture dans des conditions définies

##### 3.2.5 - sélectivité d'un milieu de culture

Degré d'inhibition d'un micro-organisme non cible sur ou dans un milieu de culture sélectif dans des conditions définies

(...)

### 5 - Souches test pour essais de performance

Les micro-organismes test pour chaque milieu peuvent comprendre des souches robustes positives présentant des caractéristiques typiques de l'organisme cible, des souches faiblement positives, des souches négatives ne présentant pas les caractéristiques attendues de l'organisme cible (caractéristiques négatives), des souches partiellement ou complètement inhibées.

(...)

#### 5.4 - Micro-organismes pour essais de performance

##### 5.4.1 - Généralités

Les volumes d'inocula et le nombre d'organismes utilisés sont critiques, voir 5.4.2.4 et 5.4.2.5.

Les indications suivantes sont données à titre d'exemple de modes opératoires adaptés à la production d'inocula normalisés pour le contrôle qualité des milieux.

##### 5.4.2 - Préparation

###### 5.4.2.2 - Préparation des cultures de travail

(...)

###### 5.4.2.3 - Préparation de suspensions (inocula) pour l'essai

Préparer des dilutions en série dans un diluant approprié et utiliser l'étape de dilution la plus appropriée pour le nombre d'organismes souhaité (UFC) dans un volume spécifié.

###### 5.4.2.4 - Volumes d'inocula

Les volumes d'inocula utilisés pour les essais de performance quantitatifs doivent refléter ceux utilisés dans les conditions d'essai pour les milieux en question. Par exemple, dans le cas d'un dénombrement en surface sur gélose de 90 mm de diamètre, un volume de 100 µL est étalé en surface.

###### 5.4.2.5 - Niveau d'inoculum

###### 5.4.2.5.1 - Niveau d'inoculum pour les essais de productivité

###### 5.4.2.5.1.1 - Essais quantitatifs

Pour l'essai de dénombrement quantitatif, un niveau d'environ 10<sup>2</sup> UFC est nécessaire afin d'obtenir une précision suffisante.

Cela peut nécessiter l'utilisation de plusieurs répliquats de boîtes.

Il convient d'utiliser une plage de 80 UFC à 120 UFC par boîte avec un nombre minimal de 50 UFC par boîte.  
(...)

#### 5.4.2.5.2 - Niveau d'inoculum pour les essais de sélectivité

Pour évaluer la sélectivité d'un milieu de culture, une suspension du micro-organisme non cible contenant  $10^4$  UFC à  $10^6$  UFC est utilisée pour ensemençer les boîtes ou les tubes.

## 7 - Méthodes pour les essais de performance des milieux de culture solides

### 7.1 - Généralités

Le présent Article décrit les essais de performance quantitatifs et qualitatifs des milieux de culture solides spécifiés dans les normes alimentaires et de l'eau. Les méthodes décrites sont des méthodes générales adaptées à la plupart des milieux de culture.

Des logigrammes de chaque méthode sont disponibles en **Annexe**.

### 7.2 - Méthodes pour les essais quantitatifs

#### 7.2.1 - Définitions

##### 7.2.1.1 - Productivité

L'inoculum est ensemençé sur le milieu de culture soumis à essai et sur un milieu de culture de référence. Pour les méthodes quantitatives, le ratio de productivité,  $P_R$  est déterminé en utilisant la Formule :

$$P_R = \frac{N_s}{N_0}$$

où

$N_s$	est le nombre total de colonies obtenu sur ou dans le milieu de culture soumis à essai, par exemple, nombre de colonies dans les boîtes,
$N_0$	est le nombre total de colonies obtenu sur ou dans le milieu de culture de référence défini, obtenu sur une ou plusieurs boîtes, et doit être d'environ 100 UFC, voir 5.4.2.5.1.

Pour l'interprétation des résultats, voir 7.2.2.1.2.

(...)

#### 7.2.2 - Méthode quantitative pour les milieux de culture solides

##### 7.2.2.1 - Généralités

Le présent protocole requiert l'utilisation d'une suspension bactérienne quantifiée avec une concentration appropriée d'une souche cible.

La récupération à partir du nouveau lot de milieu de culture est comparée à la récupération à partir d'un milieu de culture non sélectif (milieu de référence).

##### 7.2.2.1.1 - Mode opératoire

- Utiliser des cultures de travail et des inocula ayant une concentration connue appropriée d'une souche cible et, le cas échéant, d'une souche non cible comme décrit en 5.3.2.
- S'assurer que les surfaces des boîtes sont correctement séchées, voir 4.5.5.
- Ensemencer en étalant l'inoculum sur les milieux ou en utilisant la méthode par filtration sur membrane de sorte que le dénombrement des colonies se situe dans les limites recommandées données en 5.4.2.5.1 pour les essais quantitatifs. La méthode d'ensemencement en profondeur doit être utilisée pour les milieux de culture normalement utilisés pour le dénombrement par cette méthode.
- Ensemencer le milieu de référence en utilisant la même méthode.
- Incuber les boîtes dans les conditions définies.
- Dénombrer les colonies présentes dans chaque boîte. Évaluer la taille et l'aspect des colonies sur ou dans le milieu soumis à essai par comparaison avec la récupération sur un milieu de culture non sélectif (milieu de référence).

##### 7.2.2.1.2 - Calcul et interprétation des résultats

Pour l'essai de dénombrement quantitatif, un niveau d'environ 100 UFC est nécessaire afin d'obtenir une précision suffisante (limite de précision +/- 20%).

Les résultats seront considérés conforme si les conditions suivantes sont remplies :

- chaque répliquât doit présenter une croissance pour la bactérie ensemencée.
- chaque résultat rapporté est inclus dans la plage d'analyse normalisée (jusqu'à 100 colonies pour les méthodes par filtration et jusqu'à 150 colonies pour les méthodes de surface).

Pour interpréter les résultats, calculer le ratio de productivité,  $P_R$  (voir 7.2.1.1)

a) Le  $P_R$  doit être  $\geq 0,50$  pour la comparaison d'un milieu sélectif avec le milieu de référence non sélectif  
Le  $P_R$  doit être  $\geq 0,70$  pour la comparaison d'un milieu non sélectif avec un milieu de référence non sélectif.

b) Si le  $P_R$  dépasse 1,4, identifier la raison.

(...)

## 7.4 - Méthodes pour essais qualitatifs

### 7.4.1 - Méthode qualitative d'ensemencement en stries

#### 7.4.1.1 - Mode opératoire

Utiliser des cultures de travail et des inocula comme décrit en 5.4.2.

Pour la productivité et la spécificité, utiliser une boîte de milieu d'essai et ensemencer en stries chaque micro-organisme d'essai de sorte à obtenir des colonies distinctes.

Pour la sélectivité, utiliser une boîte de milieu d'essai et ensemencer chaque micro-organisme d'essai en une seule strie en utilisant une anse de 1  $\mu$ L sur la surface du milieu d'essai.

Différents micro-organismes test peuvent être ensemencés sur la même boîte sans que les stries ne se croisent.

Il convient que les stries soient distinctes afin de permettre l'observation d'une morphologie caractéristique. D'autres méthodes normalisées d'ensemencement peuvent être utilisées.

Incuber les boîtes dans les conditions définies dans les Normes internationales spécifiques.

#### 7.4.1.2 - Interprétation des résultats

La quantité de croissance dans les boîtes après incubation est évaluée comme suit :

- 0 correspond à une croissance nulle,
- 1 correspond à une faible croissance (réduction de la croissance ou de la taille des colonies),
- 2 correspond à une bonne croissance.

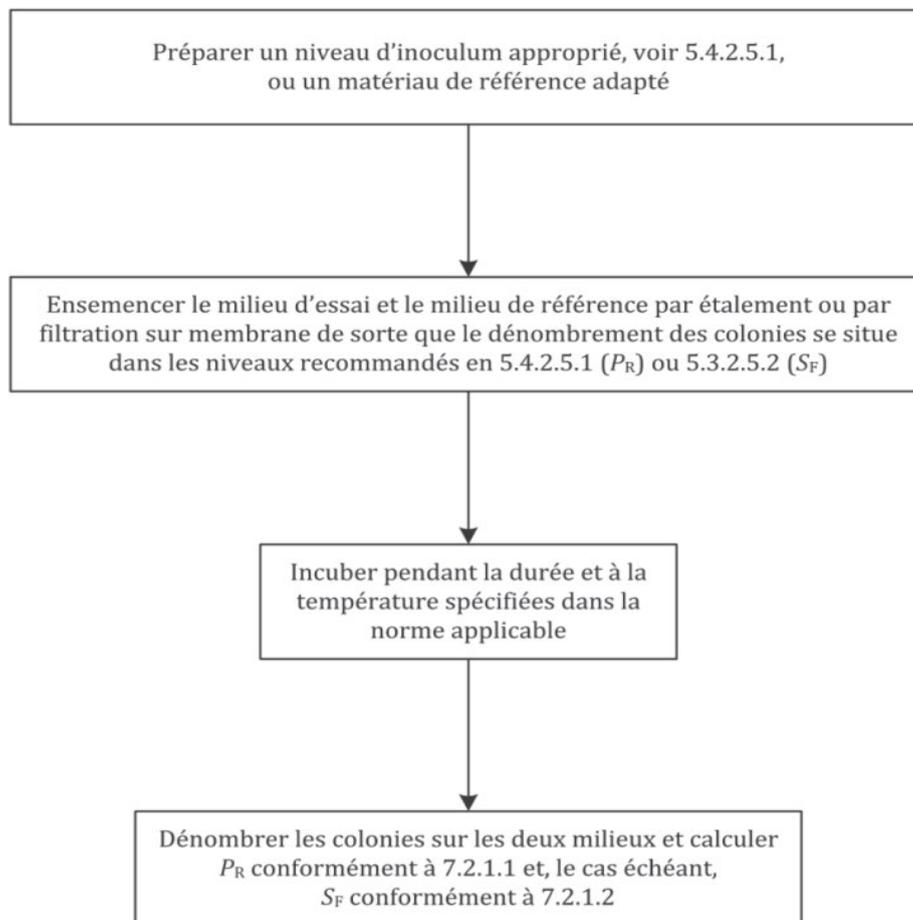
Le résultat pour les micro-organismes cibles doit être de 2.

En outre, la croissance des micro-organismes cibles doit être caractéristique du point de vue de l'aspect, de la taille et de la morphologie des colonies.

Pour les essais de sélectivité, le degré d'inhibition dépend du type de milieu.

La croissance des micro-organismes non cibles doit être inhibée partiellement ou complètement.

**Annexe - Logigramme des méthodes pour les essais de performance  
Méthode quantitative pour les milieux de culture solides : productivité et sélectivité**



Légende :

$P_R$	ratio de productivité
$S_F$	facteur de sélectivité
Le ratio de productivité, $P_R$ , peut être utilisé pour comparer :	
a)	un milieu non sélectif avec un milieu de référence non sélectif,
b)	un milieu sélectif avec un milieu de référence non sélectif,
c)	un milieu sélectif avec un milieu de référence sélectif.
Pour l'incubation (voir le troisième niveau ou rectangle de cette figure), voir 5.4.2.6.	

## Rapport du jury

### Résultats de l'épreuve

23 candidats, agrégation et CAERPA confondus, ont composé :

- 1 candidat a obtenu une note supérieure à 16,
- 1 candidat a obtenu une note supérieure à 14,
- 7 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14,
- 5 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12,
- 3 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 08 et strictement inférieure à 10,
- 4 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 06 et strictement inférieure à 08,
- 2 candidats ont obtenu une note inférieure à 06.

La moyenne générale de l'épreuve est de 10,6/20. La moyenne des candidats admis est de 12,1/20.

La meilleure note est de 17,1/20.

### Observations générales

Le jury tient très sincèrement à féliciter l'ensemble des candidats pour leur calme, leur courage et l'endurance dont ils ont témoigné tout au long de cette épreuve qui s'avère être éprouvante. Les candidats ayant réussi l'épreuve ont fait preuve de rigueur professionnelle, d'esprit critique, de technicité et ont également su correctement s'organiser dans le temps.

Le sujet propose d'étudier dans une première partie, des outils biotechnologiques mis en œuvre lors des contrôles pré-transfusionnels adressés aux patients leucémiques anémiés. La deuxième partie du sujet est consacrée à la réalisation d'activités mises en œuvre lors d'un projet technologique dans un établissement scolaire. Cette seconde partie consistait dans un premier temps à mettre au point une technique de dosage de l'asparaginase en lycée et dans un second temps à évaluer les performances d'un milieu de culture nécessaire pour suivre la croissance de la souche productrice d'asparaginase *Erwinia*.

Les différentes parties étaient indépendantes. Les manipulations à mettre en œuvre nécessitaient de la rigueur, tant au niveau de leur préparation, leur réalisation et l'exploitation des résultats obtenus. Néanmoins, les manipulations demandées entraient dans le cadre des programmes de BTS et de pré-bac et ne faisaient donc pas appel à une technicité excessive par les candidats.

Une lecture rapide du sujet devait permettre aux candidats d'organiser dans le temps l'ensemble des manipulations à effectuer et d'exploiter au maximum les temps d'attente afin de pouvoir traiter le sujet dans son intégralité. Cette lecture permettait de se rendre compte que le sujet était composé de plusieurs parties indépendantes faisant appel à des domaines variés (enzymologie, microbiologie, immunologie et biologie moléculaire) et pouvaient donc être réalisées dans l'ordre souhaité. Ce travail d'anticipation et d'organisation est tout particulièrement déterminant dans l'approche de l'épreuve et son absence pénalise souvent la bonne réussite des manipulations. Néanmoins, ce temps de préparation et de réflexion ne doit pas non plus être exagérément long ce qui aurait pour conséquence évidente l'impossibilité temporelle de réaliser l'ensemble des manipulations demandées et la rédaction d'un compte-rendu de qualité. Il est important de souligner que la partie purement expérimentale et celle de rédaction du compte-rendu tiennent une part relativement équivalente. En ce sens, un équilibre doit être trouvé par le candidat entre la rédaction du compte-rendu et la réalisation des manipulations. L'un ne pouvant et ne devant pas être sacrifié, si ce n'est au détriment de l'autre. Il rappelle néanmoins que les candidats doivent faire preuve d'une

certaine technicité et de sens pratique afin de ne pas perdre de temps s'une part, et de ne pas générer des résultats expérimentaux aberrants, d'autre part. A ce titre, une préparation en amont rigoureuse et approfondie aux gestes techniques, à la lecture de protocole opératoire, à l'anticipation de l'organisation, à la rédaction de compte rendu clairs avec des calculs explicités par des équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques, est très fortement conseillée aux candidats qui ne seraient pas, ou plus trop, familiers avec ceux-ci.

Outre les compétences de conception, de réalisation, d'analyse et d'interprétation de manipulation l'épreuve permet également d'évaluer l'esprit d'initiative, d'autonomie et d'adaptabilité.

Cette année encore, le jury a intégré une heure de pause qui s'ajoute aux huit heures d'épreuves. Les candidats disposent à leur gré de cette heure qu'ils peuvent prendre en deux fois, dont une fois incluait le temps de restauration du déjeuner. A ce propos, le jury indique que le fait de définir le nombre de temps de pause et d'imposer des créneaux horaires, permet aux candidats de ne pas trop fractionner ce temps de pause, ce qui irait à l'inverse de l'objectif fixé de coupures en cours d'épreuve pour se ressourcer correctement.

Dans la première partie, le sujet proposait d'effectuer l'analyse immuno-hématologique d'un patient traité par transfusion sanguine puis d'identifier des variants antigéniques mineurs de groupes sanguins d'un individu donneur. Il s'agissait une puce à ADN et de concevoir des témoins. La mise en œuvre de cette partie a été bien réussie. De façon étonnante, le jury a constaté que de trop nombreux candidats n'arrivaient pas à proposer et à argumenter la réalisation de témoins pertinents. De même, un nombre important de candidats n'a pas su identifier les points critiques de la manipulation. Ces compétences sont des compétences transversales qui doivent absolument être maîtrisées par un professeur de biochimie génie biologique.

Dans une seconde partie, il s'agissait de préparer certaines étapes d'un projet technologique : la production d'asparaginase à l'aide d'une souche d'*Erwinia*.

Dans un premier temps, il s'agissait de mettre au point le dosage de l'asparaginase à partir d'un kit de dosage en point final de l'asparagine. Le jury félicite tous les candidats ayant essayé de réaliser cette partie. Un professeur agrégé doit être capable d'adapter ses pratiques en fonction de circonstances. L'adaptation d'un kit pour des raisons économiques est une situation fréquemment rencontrée dans les établissements scolaires.

Cette partie nécessitait une maîtrise des concepts élémentaires de dosage de substrat et d'activité enzymatique. Les tests étant rapides, le jury encourage les candidats à effectuer des essais cela permet de mieux appréhender les concepts.

Dans un second temps, il s'agissait de réaliser des contrôles microbiologiques d'un milieu de culture. Cette partie nécessitait d'extraire rapidement des informations des documents fournis. Elle ne présentait pas de difficulté technique. Il était absolument nécessaire de lire les consignes avec attention pour pouvoir réaliser ce qui était demandé.

Les candidats ayant eu les meilleurs résultats ont abordé chacune des parties, même de manière partielle. Le jury félicite de nouveau tous les candidats qui ont réalisé l'ensemble des activités technologiques proposées tout en gardant leur calme tout au long de cette longue épreuve. Cette épreuve n'ayant pas pour objectif de piéger les candidats, le jury rappelle que ces derniers doivent apprendre à maîtriser au mieux leur appréhension face à un appareil ou une technique qu'ils ne connaîtraient pas.

# CONCLUSION GENERALE

Le jury félicite de nouveau très chaleureusement les 10 candidats admis à la session 2023 de l'agrégation interne et du CAERPA interne de biochimie génie biologique.

Le jury encourage les candidats non admis à persévérer dans leur projet. Comme indiqué tout au long de ce rapport, il est absolument nécessaire que les candidats se préparent à toutes les épreuves dans l'objectif de faire la démonstration des connaissances et compétences attendues d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique.

**Le jury tient très sincèrement à remercier Madame la Proviseure du lycée Pierre-Gilles de Gennes- ENCPB (Paris) et son équipe : proviseurs adjoints, professeurs agrégés de BGB, personnels techniques de laboratoire et personnels administratifs, pour l'accueil et l'aide efficace apportés tout au long de l'organisation et du déroulement de ce concours qui s'est effectué dans d'excellentes conditions pour cette session 2023.**