



**MINISTÈRE
DE L'ÉDUCATION
NATIONALE,
DE LA JEUNESSE
ET DES SPORTS**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Rapport du jury

Concours : AGREGATION INTERNE et CAERPA

Section : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Session 2021

Rapport de jury présenté par : Jean-Marc RICORT président de jury

Rapport de jury présenté par : Jean-Marc RICORT

Président du jury

SOMMAIRE

Renseignements statistiques.....	Page 3
Avant-propos du président.....	Page 5
Epreuves d'admissibilité	Page 8
Première épreuve.....	Page 8
Deuxième épreuve	Page 14
Epreuves d'admission.....	Page 20
Première épreuve.....	Page 20
Deuxième épreuve	Page 25
Conclusion générale.....	Page 56

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Agrégation interne

Nombre de postes	8
Candidats inscrits	113
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	66
Candidats admissibles	19
Candidats présents aux épreuves d'admission	19
Candidats proposés pour l'admission	8
<u>Epreuves d'admissibilité</u>	
Moyenne des candidats présents	8,07
Moyenne des candidats admissibles	11,34
Moyenne du dernier candidat admissible	10,00
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	8,33
Moyenne des candidats admissibles	10,39
Note maximale	15,4
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	7,80
Moyenne des candidats admissibles	12,29
Note maximale	17,74
<u>Epreuves d'admission</u>	
Moyenne des candidats présents	11,04
Moyenne des candidats admis	13,63
Moyenne la plus élevée	14,77
Moyenne du dernier candidat admis	13,21
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	12,63
Moyenne des candidats admis	15,63
Note maximale	19,00
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	9,44
Moyenne des candidats admis	11,63
Note maximale	15,83
<u>Ensemble du concours</u>	
Moyenne des candidats présents	11,19
Moyenne la plus élevée	14,30
Moyenne des candidats admis	12,73
Moyenne du dernier candidat admis	11,79

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

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

Nombre de postes	2
Candidats inscrits	20
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	12
Candidats admissibles	4
Candidats présents aux épreuves d'admission	4
Candidats proposés pour l'admission	2
<u>Epreuves d'admissibilité</u>	
Moyenne des candidats présents	6,17
Moyenne des candidats admissibles	8,48
Moyenne du dernier candidat admissible	7,73
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	7,36
Moyenne des candidats admissibles	9,82
Note maximale	12,33
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	4,98
Moyenne des candidats admissibles	7,13
Note maximale	8,10
<u>Epreuves d'admission</u>	
Moyenne des candidats présents	8,67
Moyenne des candidats admis	12,31
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	9,25
Moyenne des candidats admis	13,50
Note maximale	14,00
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	8,08
Moyenne des candidats admis	11,12
Note maximale	12,94
<u>Ensemble du concours</u>	
Moyenne des candidats présents	08,57
Moyenne la plus élevée	10,83
Moyenne des candidats admis	10,75
Moyenne du dernier candidat admis	10,66

Avant-propos

En introduction de ce rapport, le jury souhaite tout d'abord adresser ses plus chaleureuses félicitations aux dix lauréats de la session 2021. Malgré les conditions sanitaires particulières que nous connaissons depuis mars 2020, les épreuves d'admissibilité et d'admission ont pu se dérouler comme de coutume au cours de cette session et ont permis de mettre en évidence l'investissement majeur des lauréats 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 s'autocensurer et à s'inscrire afin de passer les épreuves.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA 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 2021, 133 candidats se sont inscrits et 78 d'entre eux se sont présentés aux deux épreuves d'admissibilité, soit un taux de présence de 58,6 % en très nette augmentation par rapport aux trois sessions précédentes, sessions 2020 (51,9 %), 2019 (40,8 %) et 2018 (44,6 %). Le jury se félicite de ce constat et encourage très fortement les candidats des prochaines sessions à poursuivre dans cette dynamique qui est de s'inscrire et de passer les deux épreuves d'admissibilité. En effet, la confrontation aux épreuves écrites de notre concours représente un excellent exercice d'enrichissement des connaissances et compétences. Cette invitation forte à passer ce concours concerne, bien évidemment, chaque enseignant(e), quel que soit le secteur de spécialité des biotechnologies dans lequel il (elle) dispense son enseignement.

Les concours de l'agrégation interne et du CAERPA 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 très vastes et variés tels que la biochimie, la microbiologie, l'immunologie, la biologie cellulaire, l'hématologie, la biologie moléculaire ou 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 et sérieuse. 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 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 très grandes 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 de qualité.

La seconde épreuve mobilise les connaissances et compétences scientifiques du candidat qui doit élaborer un devoir de synthèse sur une question portant sur un domaine couvert par les champs de la spécialité. L'exercice est de ce fait 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 à des connaissances 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 2021 est précisée plus loin dans ce rapport.

Le jury rappelle que les définitions des épreuves d'admissibilité de l'agrégation interne et du CAERPA de biochimie génie biologique ont été modifiées depuis la session 2021 (<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000042219465&fastPos=1&fastReqId=1346761096&categorieLien=id&oldAction=rechTexte>).

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...) et en tenant compte de l'évolution des activités dans les laboratoires. L'étude doit faire la démonstration que le candidat est devenu « expert » dans le domaine qu'il a lui-même choisi. Dans cet objectif, le candidat s'emploie à approfondir ses savoirs scientifiques, technologiques et techniques en s'appuyant sur les activités réalisées au sein d'un laboratoire ou d'une entreprise. Il peut également, si nécessaire, enrichir et compléter à bon escient 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 massé ou perlé en entreprise ou en laboratoire. Le candidat doit porter une attention toute particulière sur le fait que cette démarche de projet doit, en premier lieu, prendre en compte les besoins de formation des élèves en lien avec la réalité du contexte du monde professionnel utilisant les biotechnologies. Ainsi, le candidat doit veiller à ne pas se laisser piéger par la construction d'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.

Pour remplir ce cahier des charges, 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, un référentiel de l'enseignement supérieur, un référentiel professionnel de STS ou un programme de biotechnologies en CPGE voire en BUT génie biologique, une progression choisie et justifiée. 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, 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, les évaluations. Le jury apprécie lorsque des aspects interdisciplinaires pertinents et apportant une réelle plus-value sont proposés afin de nourrir l'analyse des choix pédagogiques et opérationnels adoptés.

La seconde épreuve d'admission place les candidats dans la réalisation pratique d'activités technologiques. Elle ne se limite pas à la seule mise en œuvre de protocoles opératoires et place également le candidat dans une dimension métier au travers de mises en situation. Le jury rappelle que cette épreuve est difficile pour plusieurs raisons. Tout d'abord, par sa durée de 8 heures qui impose aux candidats une 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 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 à prendre de façon bi-fractionnée. 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 de biochimie génie biologique ont été actualisées et sont entrées en application lors de la session 2021 (<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000042219465&fastPos=1&fastReqId=1346761096&categorieLien=id&oldAction=rechTexte>). 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 de biochimie génie biologique et qu'il sera un moteur de motivation pour vous inscrire et passer les épreuves de la prochaine session.

Jean-Marc RICORT
Président du jury

EPREUVES D'ADMISSIBILITE

Les sujets des épreuves d'admissibilité sont en ligne sur le site du Ministère : <https://www.devenirenseignant.gouv.fr/cid156537/sujets-rapports-des-jurys-agregation-2021.html>

Première épreuve

Durée : 6 heures
Coefficient : 1

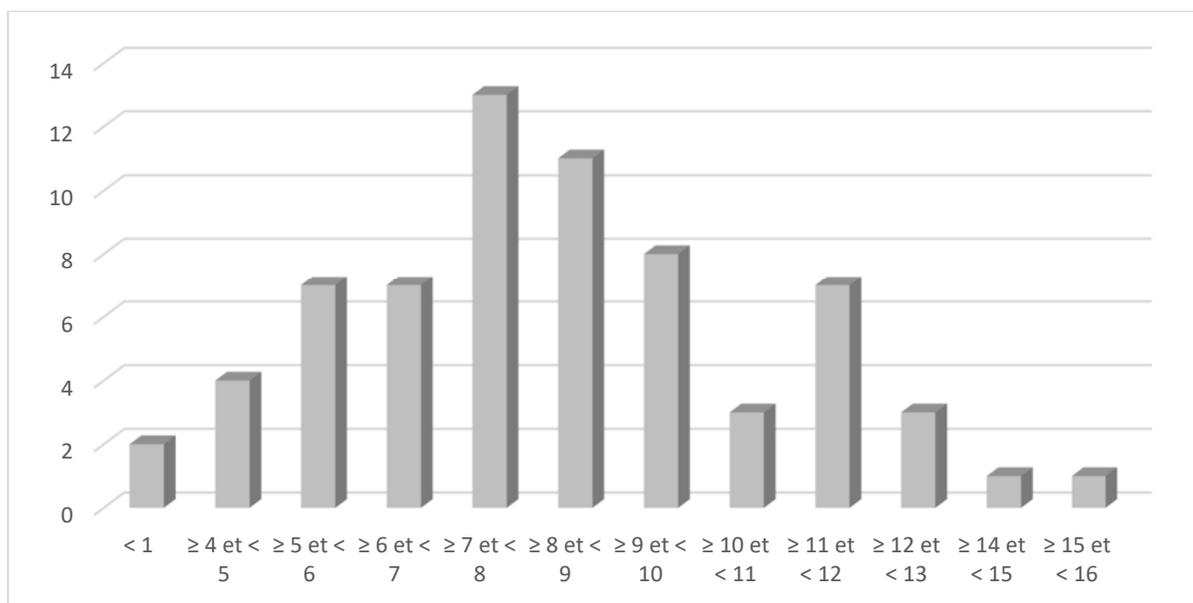
Résultats de l'épreuve

Agrégation
interne

67 candidats ont composé.

< 1	2	≥ 9 et < 10	8
≥ 4 et < 5	4	≥ 10 et < 11	3
≥ 5 et < 6	7	≥ 11 et < 12	7
≥ 6 et < 7	7	≥ 12 et < 13	3
≥ 7 et < 8	13	≥ 14 et < 15	1
≥ 8 et < 9	11	≥ 15 et < 16	1

La moyenne générale de l'épreuve est de 8,33. La meilleure note est de 15,4/20.

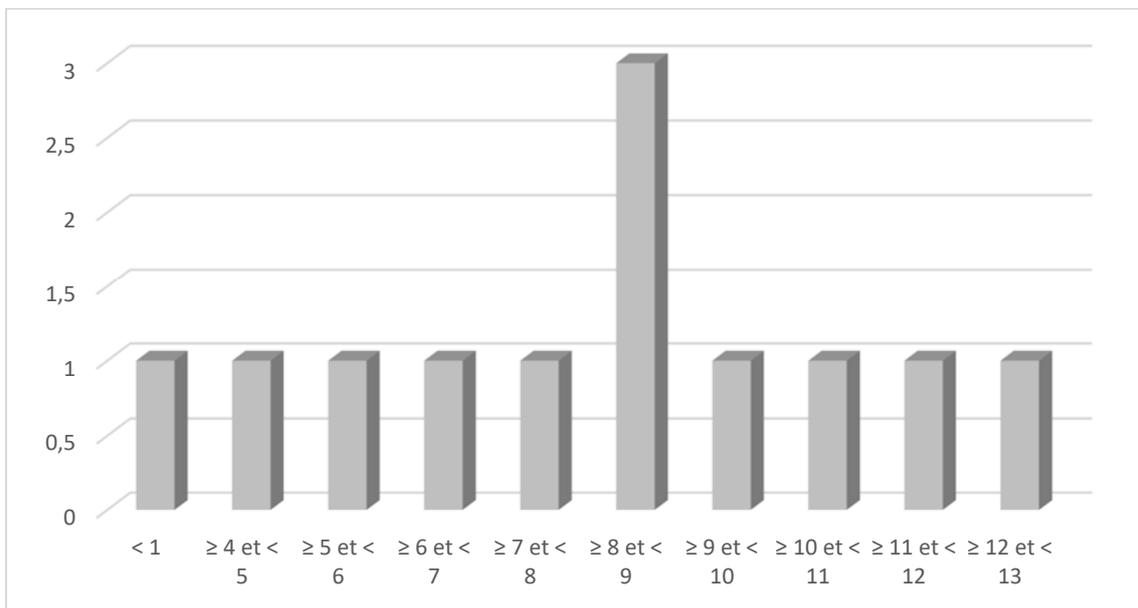


CAERPA
interne

12 candidats ont composé.

≥ 2 et < 3	1	≥ 7 et < 8	3
≥ 3 et < 4	1	≥ 8 et < 9	1
≥ 4 et < 5	1	≥ 10 et < 11	1
≥ 5 et < 6	1	≥ 11 et < 12	1
≥ 6 et < 7	1	≥ 12 et < 13	1

La moyenne générale de l'épreuve est de 7,365. La meilleure note est de 12,33/20.



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 ;
- 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. A ce propos, le jury rappelle qu'il est essentiel que le candidat veille 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 2021 était organisé en deux parties indépendantes et comportait 22 questions mobilisant des connaissances scientifiques et technologiques (identifiées par les lettres **ST**) ainsi que 3 questions pédagogiques (identifiées par la lettre **P**).

Commentaire général

Le jury tient à féliciter l'ensemble des candidats car une très grande majorité d'entre eux a traité le sujet dans son ensemble et rares sont ceux qui ont négligé les questions pédagogiques (notées **P**) qui représentaient 30 % de la note finale. En revanche, le jury regrette qu'un trop grand nombre de candidats n'a manifestement pas consacré le temps nécessaire à la rédaction de ces questions pédagogiques afin de présenter une réflexion approfondie basée sur des supports suffisamment détaillés.

Le jury rappelle que la gestion du temps ainsi que les capacités d'analyse et de synthèse sont deux éléments clés de réussite de la totalité des questions du sujet. A ce propos, il conseille vivement aux candidats d'entrer directement dans le sujet et la rédaction des réponses aux questions sans introduire ni paraphraser inutilement le contexte.

Comme indiqué dans la définition de l'épreuve, le sujet invitait à conduire l'analyse de plusieurs documents. Le jury rappelle qu'un véritable travail d'analyse ne peut en aucun cas se résumer à une simple description des données ou à paraphraser les légendes des documents. En revanche, un travail d'analyse requiert, après une très brève introduction, une présentation très rigoureuse des résultats, en prêtant une attention toute particulière aux contrôles réalisés, et un raisonnement clair et didactique qui aboutissent à la formulation d'une hypothèse ou d'une conclusion pertinente. Malheureusement, le jury constate que trop de candidats se dispersent, ne hiérarchisent pas les informations mises à leur disposition ou bien s'engagent dans de très longs développements obscurs, inutiles voire erronés. Beaucoup de candidats perdent énormément de temps en digressions et hors-sujet inutiles, signant ainsi une mauvaise compréhension des questions ou illustrant un manque de connaissance dans un domaine donné par du remplissage sans intérêt à l'aide de notions de base. Le jury apprécie les raisonnements clairs, synthétiques, bien construits et logiques s'appuyant, si le besoin s'en fait sentir, sur des illustrations judicieuses. La rigueur du vocabulaire s'avère, là encore, indispensable dans la mesure où quelques mots pertinents et correctement choisis permettent bien souvent d'éviter de longs développements inutiles et d'apprécier plus justement les compétences du candidat.

Le jury tient néanmoins à souligner qu'il a tout particulièrement apprécié le soin avec lequel la plupart des candidats ont rédigé leur copie. Cependant, quelques exceptions à ce constat existent et le jury déplore la présence de quelques copies quasiment illisibles et/ou très peu soignées.

Partie 1 : Création d'une nouvelle voie métabolique de fixation du CO₂

La **partie 1** du sujet étudiait la création *in vitro* d'une nouvelle voie métabolique de fixation du CO₂. Cette partie nécessitait de solides connaissances en biochimie analytique afin de comprendre la démarche séquentielle de mise au point d'un cycle métabolique synthétique fonctionnel.

Le jury a apprécié les démonstrations dans lesquelles la description et l'interprétation des données ont conduit à des conclusions répondant aux questions posées, préférant ainsi le « donc » au « car ». Toutefois, il regrette que les connaissances, souvent riches en biochimie, des candidats n'aient pas suffisamment été mobilisées pour raisonner ou faire des liens entre les documents et démontrer un résultat scientifique.

ST1 à ST4

Après avoir vérifié la nécessité thermodynamique du couplage de la réaction principale du cycle avec celle de l'hydrolyse de l'ATP afin d'obtenir une enthalpie libre standard de réaction globale négative, il s'agissait de fonder son analyse sur le principe de la chromatographie décrite (phase inverse) ainsi que sur les structures moléculaires des produits (longueur des chaînes carbonées, position des groupements carboxyles) afin d'expliquer la séparation des différentes molécules puis valider le fonctionnement séquentiel de la voie métabolique créée (chaque produit formé lors d'une étape disparaît suite à son utilisation comme substrat par l'étape suivante). Il était nécessaire que le candidat fasse des liens entre les documents afin de comprendre en quoi les structures moléculaires impactaient à la fois les temps de rétention (HPLC-MS) mais aussi les activités enzymatiques (mutagenèse dirigée).

Les questions **ST5 à ST8** permettaient aux candidats de montrer leurs compétences en enzymologie appliquée en identifiant un variant enzymatique muté, spécifique d'un substrat, d'après des données cinétiques. Le jury a apprécié la réalisation de schémas de sites catalytiques mutés permettant de comprendre les choix d'acides aminés substitués (hydrophobicité, encombrement stérique) ainsi que les analyses méthodiques des grandeurs cinétiques de chacun des variants afin de choisir l'enzyme optimale pour le fonctionnement du cycle. Le jury regrette toutefois un manque de maîtrise par de nombreux candidats de la signification biologique de la grandeur $k_{cat} \cdot K_M^{-1}$ qui permet de mesurer l'efficacité catalytique d'une enzyme.

Le jury rappelle que, lorsque la question porte sur la signification biologique des grandeurs V_{max} et K_M , il s'avère absolument inutile de rédiger de longs textes proposant des extraits de cours de biochimie tels que la présentation de courbes de Michaelis et Menten afin de déterminer ces grandeurs (**ST7**).

La question pédagogique **P1** portait sur la présentation d'une activité pédagogique en terminale STL permettant de déterminer un bilan de matière du cycle CETCH. Le jury a apprécié lorsque le candidat

développait une réponse contextualisée qui lui permettait ainsi de se mettre à la place de l'élève de terminale STL et de se laisser guider depuis les prérequis nécessaires jusqu'à l'écriture de l'équation bilan du cycle étudié. Le jury a valorisé les copies dans lesquelles l'accompagnement de l'élève était explicitement décrit et dans lesquelles l'enseignant avait pointé les difficultés potentiellement rencontrées par un élève de terminale - *les points critiques du point de vue de l'enseignant* - et proposé des remédiations illustrées, pertinentes et adaptées à l'élève.

De nouveau, le jury conseille fortement aux candidats de prendre le temps de lire attentivement les questions afin d'éviter tout hors-sujet. En effet, un nombre non négligeable de candidats s'est attaché à présenter une activité technologique parfois complexe basée sur des expériences difficilement réalisables en terminale (HPLC) et ne répondant pas à la détermination d'un bilan de matière.

ST9

Le sujet s'intéressait ensuite à la création de compartiments réactionnels à base de thylakoïdes et proposait aux candidats d'expliquer le principe d'une purification sur gradient de Percoll. Peu comprise, cette expérience a abouti à de nombreux non-sens. Les copies dans lesquelles les candidats montraient, par un raisonnement argumenté, leur incompréhension de la technique, faisant ainsi toutefois la démonstration de leur esprit critique, ont été valorisées.

P2

Cette question pédagogique P2, bien réalisée dans l'ensemble, demandait de réaliser un logigramme synoptique d'un protocole expérimental en section de Technicien Supérieur (STS). Une grille d'autoévaluation rédigée permettait de rendre compte de la capacité de l'enseignant à élaborer des critères pertinents de validation d'un logigramme compréhensibles par un étudiant de STS. Il n'était aucunement question ici de réaliser une grille d'évaluation des compétences expérimentales, ni de grille à destination du professeur.

ST10 à ST12

La partie traitant de la vérification du fonctionnement des TEM a été bien traitée par la majorité des candidats. Le jury regrette cependant que beaucoup d'entre eux aient investi énormément de temps à la description des données au détriment de leur analyse. Cette dernière doit répondre à une finalité visée par l'expérience et non faire appel à une description exhaustive. Ainsi, une description de courbe n'explique pas en quoi il peut s'agir d'un contrôle. La dernière question invitait les candidats à conclure la partie 1 et à répondre à la problématique environnementale par la création, par exemple, d'une nouvelle voie métabolique de fixation du CO₂.

Partie 2 : Mise en œuvre et validation d'une plateforme de biologie synthétique en vue de la néosynthèse d'une particule virale

La question **P3** demandait la construction d'une séquence pédagogique en terminale ST2S permettant de faire travailler une capacité bien précise du programme en demandant de mobiliser une ou plusieurs compétences transversales. Le jury a tout d'abord été très étonné de constater que de nombreux candidats ne font pas la distinction entre une séance et une séquence. La séquence devait permettre d'introduire le thème, « Le système immunitaire et la défense de l'organisme » d'une durée conseillée de 7 semaines. Elle se devait donc être assez courte même s'il était possible d'aborder également d'autres notions du chapitre comme les cycles de multiplication ou les traitements. Les durées et les activités présentées par les candidats n'étaient pas toujours réalistes notamment lorsqu'elles se déroulent en classe entière et nécessitent la prise de notes d'élèves lors du visionnage d'une vidéo. Très peu de candidats ont abordé ce nouveau thème en se souciant des prérequis nécessaires des élèves.

Beaucoup de candidats se sont limités à un cours, un TD ou une AT de comparaison entre microorganismes sans présenter de séance de restitution ou une évaluation de la compréhension des élèves. A ce titre, si l'évaluation à l'aide d'un QCM informatique est une bonne idée, elle ne peut constituer l'ensemble d'une séance. Le jury rappelle que, dans une section technologique, il est important de privilégier des activités pédagogiques impliquant l'élève dans le processus d'apprentissage. Ainsi, le jury a donc tout particulièrement valorisé les propositions d'activités technologiques ou de travaux de recherche effectués en groupe. Si le jury n'attendait pas une production détaillée des documents élèves utilisés, il importait néanmoins de présenter une description des supports fournis aux élèves ou des éléments permettant d'orienter leurs recherches. De même, dans le cas d'une présentation d'une vidéo aux élèves, une explication de son contenu et de son exploitation était absolument nécessaire. En effet, si le simple visionnage d'une vidéo suffisait, le jury s'interroge sur la réelle implication pédagogique du candidat.

Beaucoup de candidats ont présenté des travaux réalisés en groupe par les élèves à partir de documents ciblés sur différentes pathologies. Le jury rappelle que ce n'est pas parce que le reste du programme n'évoque que les bactéries et les virus qu'il fallait ignorer, dans cette partie introductive, les mycètes et les protozoaires. Le contenu des séances d'AT n'était pas toujours adapté au programme de terminale ST2S ou beaucoup trop éloigné du contexte du thème (ex : observation de bactéries du yaourt ou de plaque de lyse de bactériophage pour illustrer l'infection virale). Le jury a été pour le moins surpris par une proposition d'AT visant à étudier des produits alimentaires avariés était réalisée dans des conditions de sécurité insuffisantes alors qu'elle aurait

nécessité une analyse des risques pour identifier les mesures de prévention à mettre en œuvre. Même si la mise en œuvre des bonnes mesures de prévention limite les manipulations dans le domaine médical, il est tout de même important de ne pas travestir une réalité technique qui doit garder du sens par rapport à la réalité. Ainsi, observer un frottis de *Saccharomyces* pour simuler un frottis vaginal est totalement inapproprié. Les compétences transversales se sont trop souvent limitées à l'utilisation de l'outil informatique ou à la restitution orale. Il est dommage que de trop rares candidats aient pensé à réinvestir la terminologie et que personne n'ait osé proposer une séance en ETLV. Le jury a toutefois apprécié la proposition de certains candidats d'un début de séance sous forme d'un « brainstorming » faisant appel à la culture générale des élèves concernant les maladies et leurs agents responsables. Le jury a valorisé les candidats ayant détaillé les documents présentés aux élèves à condition qu'ils ne soient pas erronés et a apprécié la présentation d'un tableau récapitulatif avec les items comparés.

L'étude de la plateforme de biologie synthétique pour la production de particules virales a été appréciée, semble-t-il, des candidats spécialistes de biologie moléculaire. Mais, à trop vouloir montrer l'étendue de leurs connaissances, certains candidats ont parfois oublié l'objectif de la question et négligé l'explication des notions de base. Au contraire, le jury a constaté que d'autres candidats ne maîtrisent pas le vocabulaire de base de cette discipline, ce qui ne leur permettait pas une analyse correcte des documents ou une restitution de réponses rigoureuses. Probablement par manque de temps, cette partie a été traitée de façon bien trop superficielle par des candidats qui ne répondaient qu'à certaines questions sur des termes généraux sans analyser les documents (isocaudomères, RT-PCR, PCR multiplex, GFP).

Les questions **ST13 et ST14** permettaient de vérifier la compréhension du fonctionnement d'un outil de biologie synthétique, les biobricks, ainsi que d'évaluer les connaissances des candidats sur les notions de biologie moléculaire abordées en terminale STL telles que le rôle des enzymes de restriction et la sélection de souches recombinantes.

Pour les isocaudomères, beaucoup de candidats se sont limités à l'explication de l'assemblage à l'aide des extrémités cohésives et n'ont pas évoqué l'intérêt d'obtenir, *in fine*, une séquence non palindromique qui ne sera reconnue par aucune des deux enzymes. Les candidats ayant étayé leur explication par un schéma ont été valorisés.

L'utilisation d'enzymes de restriction différentes ne permettait de construire qu'un seul vecteur recombiné, celui présenté dans la figure D. Le jury regrette que beaucoup de candidats aient tenté des constructions très complexes et irréalisables dans ces conditions et que d'autres aient bien schématisé les constructions attendues mais en reproduisant le schéma du document, cette illustration ayant donc peu d'intérêt. Si beaucoup de candidats ont su expliquer le principe de la sélection par la résistance à la kanamycine, il n'en a pas été de même concernant le rôle du gène *ccdB*. Certains candidats se sont contentés d'une explication incomplète ou bien trop insuffisante telle que « si le gène *ccdB* est absent, la cellule meurt ».

Les questions **ST15 à ST18** portaient sur la reconstruction d'un génome viral en utilisant *Saccharomyces cerevisiae* comme plateforme de génomique synthétique.

Bien que le schéma de la démarche expérimentale du document 10 soit repris en introduction, certains candidats n'ont pas compris l'articulation des étapes et leurs réponses se sont souvent trouvées déconnectées du contexte. De plus, le jury a noté beaucoup de confusion entre les différentes cellules utilisées. Ainsi, la levure permettait la reconstruction du génome viral mais la production de virus se faisait dans des cellules BHK-MHV-N et l'effet pathogène observé sur les cellules murines 17 Cl-1 sensibles au virus.

Le rôle de la RT-PCR a été correctement traité dans la mesure où il est effectivement difficile d'ignorer cette technique dans le contexte actuel. Cependant, beaucoup de candidats se sont arrêtés à la rétrotranscription en ADN du génome viral constitué d'ARN afin de permettre son amplification. Or, il était également nécessaire d'expliquer l'intérêt de multiplier le nombre de fragments et la finalité qui était de pouvoir insérer le génome dans un YAC constitué d'ADN. Certains candidats ont perdu du temps à schématiser les étapes de la PCR alors que son explication technique n'était pas indispensable.

Le jury a pu constater un défaut de lecture de la question **ST16** dans certaines copies. En effet, la question portait sur la reconstitution du génome viral et non sur sa production. Or, beaucoup de candidats ont décrit la démarche générale en paraphrasant le document 10. Or, l'objectif était de comparer la construction de génome artificiel par TAR cloning à la technique biobrick présentée précédemment. Le jury attendait donc une explication de l'assemblage des différents fragments dans le bon sens, ce qui nécessitait l'ajout de séquences de recouvrement identiques deux à deux en amont et en aval des fragments à lier. Cette liaison, effectuée par la capacité de recombinaison homologue de *Saccharomyces cerevisiae*, permet de faciliter et d'accélérer la construction de génomes complexes en une seule étape et ne crée pas de cicatrice de ligature pouvant entraîner un déphasage du cadre de lecture.

La question **ST17** a souvent été traitée très partiellement. Beaucoup de candidats ont su indiquer que ce type de PCR permettait l'utilisation de plusieurs couples d'amorces dans le même milieu réactionnel mais sans en présenter les contraintes techniques. En revanche, d'autres candidats se sont arrêtés aux explications techniques sans faire le lien avec le contexte de son utilisation. Ainsi, ce sont les jonctions utilisées pour le

TAR cloning qui sont amplifiées par la PCR mutiplexe, leur différence de taille permettant de les identifier par électrophorèse. Enfin, beaucoup de candidats n'ont pas conclu sur la validation de la recombinaison à partir des résultats de l'électrophorèse puisque celle-ci montrait la présence des dix jonctions nécessaires à la reconstitution du génome viral. Le jury a constaté à l'occasion de cette question que beaucoup de candidats faisaient encore la confusion entre les terminologies de sonde et d'amorce révélant une certaine méconnaissance des techniques de biologie moléculaire.

Pour répondre à la question **ST18**, il était nécessaire de connaître la notion de « gène rapporteur ». Cette question, abordée par la quasi-totalité des candidats, a cependant fait l'objet d'un traitement lacunaire car dire que le gène de la GFP génère de la fluorescence était largement insuffisant. De plus, certaines erreurs de compréhension ont été notées. Ainsi, la fluorescence de la GFP, mettant en évidence l'expression des gènes viraux, se fait dans les cellules sensibles 17 CI-1 infectées et non pas dans la levure comme suggéré par certains candidats. A ce propos, le jury rappelle que la GFP est une protéine intrinsèquement fluorescente.

Les questions **ST19 et ST20** permettaient de conclure sur la capacité de la plateforme à produire des ARN de synthèse équivalents aux virus originaux. Pour cela, le document 12b présentait la comparaison des cinétiques de production de plaque de lyse. Les candidats devaient alors mobiliser leurs connaissances de culture cellulaire et de virologie afin d'expliquer les différentes étapes nécessaires à l'obtention des courbes cinétiques. Le jury déplore que beaucoup de candidats se soient contentés de paraphraser les légendes des documents sans expliquer les étapes nécessaires à la construction de la courbe, l'intérêt de la coculture des cellules productrices et des cellules sensibles ainsi que l'utilité des différentes dilutions pour permettre le dénombrement des UFP. Le jury constate que certains candidats ne font pas la différence entre le dénombrement de bactériophages et celui de virus. Or, si la technique de dénombrement des UFP est assez similaire pour ces deux formes virales, l'utilisation de gélose n'est pas nécessaire pour observer des plaques de lyse sur des cultures de cellules animales. De nombreux candidats ont confondu les puits de microplaque de culture cellulaire avec des boîtes de Pétri. De plus, la lyse cellulaire n'est pas le seul effet cytopathique observable. Le jury a apprécié la récapitulation des étapes sous la forme d'un diagramme particulièrement judicieux pour cette question.

Pour les candidats ayant bien compris la démarche et parvenus à la question **ST20**, la comparaison des courbes pour valider cette nouvelle méthode de production virale n'a pas posé de problème particulier. Cependant, le jury déplore l'utilisation d'un vocabulaire souvent bien peu rigoureux ou de phrases incomplètes pour décrire les résultats obtenus (ex : « obtention de particules fonctionnelles », « les levures produisent bien l'ARN viral », « les clones sont aussi virulents que le virus parental ») ne permettant pas d'estimer la compréhension du candidat de l'ensemble de la démarche.

La question **ST21** invitait, sur les bases concrètes des expériences proposées dans le sujet, le candidat à une réflexion sur la bioéthique qui fait désormais partie de l'enseignement des biotechnologies et de la santé. Le jury regrette que cette dernière question ait été quelque peu négligée par les candidats qui n'ont pas su optimiser leur temps de composition. Ainsi, le jury rappelle que cette réflexion ne se limite pas qu'à l'utilisation de crispr-cas9 ou aux manipulations de cellules embryonnaires. Il ne s'agissait pas non plus de présenter des généralités sur la bioéthique devant une classe. Par conséquent, il n'était donc pas forcément pertinent de citer des films ou des romans grand public pour appuyer l'ensemble de sa réflexion.

Les informations fournies en introduction devaient permettre d'orienter les réflexions sur les limites des manipulations du vivant et la nécessité d'une régulation par des textes législatifs harmonisés. Si les risques de dissémination dans l'environnement, de sûreté et de sécurité biologiques ont souvent été présentés, le problème de la propriété intellectuelle et la compétition entre nations n'ont été évoqués que par très peu de candidats.

Le jury a pénalisé les candidats ayant présenté un avis pour le moins peu nuancé et mesuré sur la bioéthique basé sur des connaissances superficielles du sujet ou issues de documentaires à charge sur les industries pharmaceutiques. Si l'enseignant a le droit d'avoir des opinions, face à un sujet sensible, il doit aider les élèves à construire leur raisonnement et élaborer leur propre opinion en présentant différents arguments et en permettant leur appropriation des sciences et des technologies émergentes.

Deuxième épreuve

Durée : 6 heures

Coefficient : 1

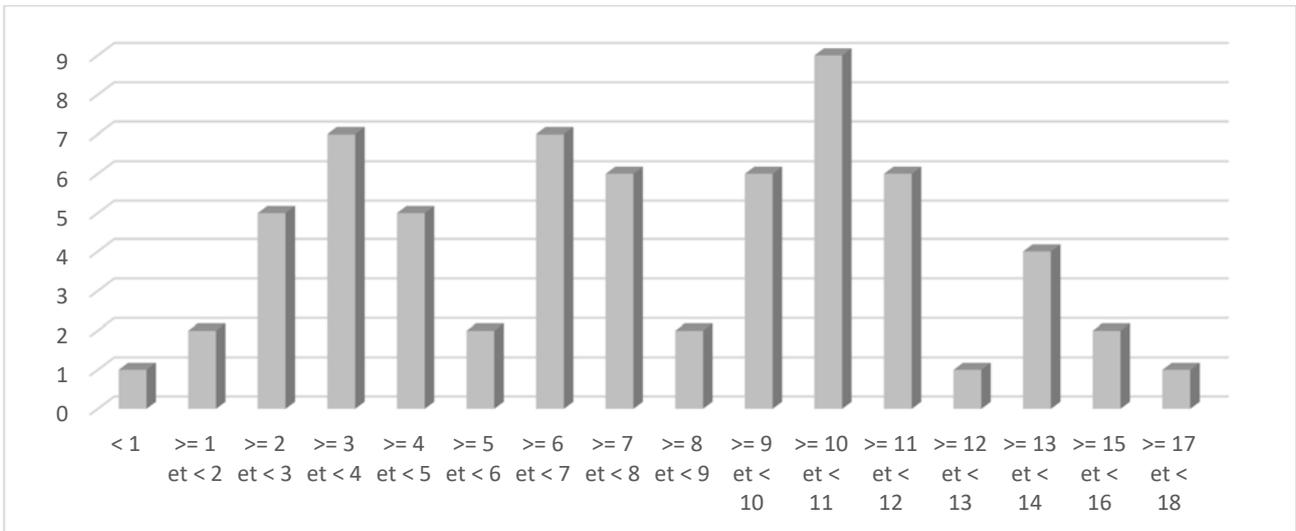
Résultats de l'épreuve

Agrégation
interne

66 candidats ont composé.

< 1	1	>= 8 et < 9	2
>= 1 et < 2	2	>= 9 et < 10	6
>= 2 et < 3	5	>= 10 et < 11	9
>= 3 et < 4	7	>= 11 et < 12	6
>= 4 et < 5	5	>= 12 et < 13	1
>= 5 et < 6	2	>= 13 et < 14	4
>= 6 et < 7	7	>= 15 et < 16	2
>= 7 et < 8	6	>= 17 et < 18	1

La moyenne générale de l'épreuve est de 7,80. La meilleure note est de 17,74/20.

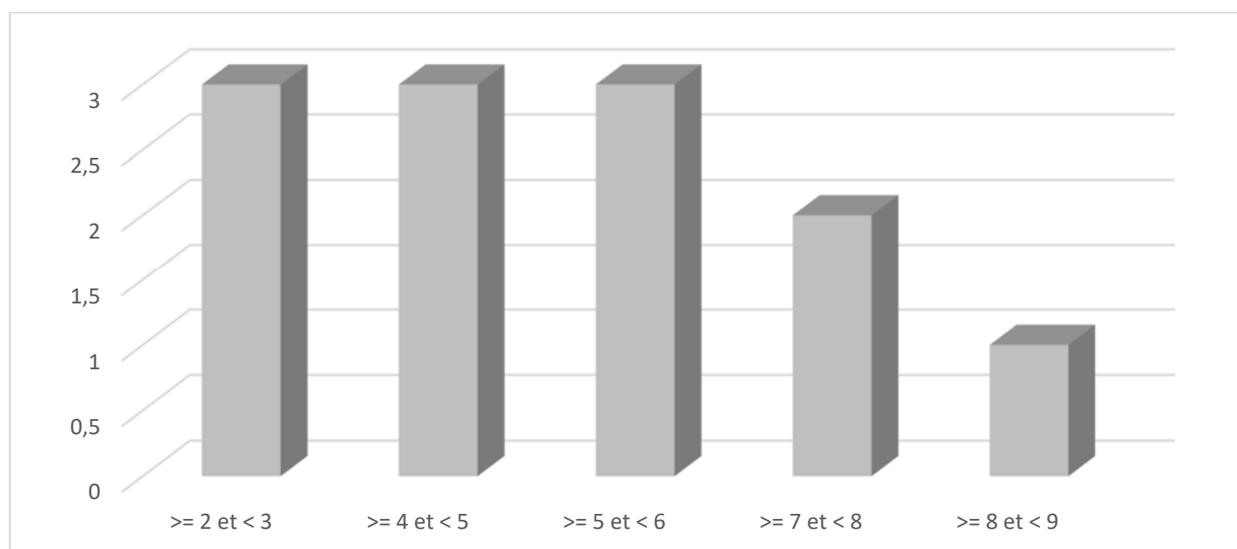


CAERPA

12 candidats ont composé.

≥ 2 et < 3	3	≥ 7 et < 8	2
≥ 4 et < 5	3	≥ 8 et < 9	1
≥ 5 et < 6	3		

La moyenne générale de l'épreuve est de 4,98. La meilleure note est de 8,10/20.



Rapport du jury

L'épreuve était, conformément à sa nouvelle définition, composée d'une question scientifique et technologique. Le sujet de synthèse proposé cette année permettait de couvrir différents champs disciplinaires de notre spécialité et sollicitaient de la part des candidats des connaissances dans les domaines de la physiologie, biologie cellulaire et biochimie en lien avec les biotechnologies. Le positionnement du sujet dans ces domaines fondamentaux de la discipline biochimie génie biologique permet d'illustrer la richesse et la diversité des thématiques abordées dans nos enseignements. De plus, la nécessité d'envisager les aspects citoyens et éthiques posés par le développement et la mise en œuvre des différentes méthodes de contraception, soulevait l'importance des questionnements associés au développement des biotechnologies dans un contexte sociétal et d'actualité.

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 devant l'intitulé du sujet afin, d'une part, de construire un plan logique tant dans sa forme que dans son contenu et, d'autre part, d'éviter toute digression hors-sujet. Le jury a tout particulièrement apprécié que ce travail de réflexion ait, semble-t-il, été réalisé par la majorité des candidats permettant la construction de compositions généralement bien organisées et dépourvues de longues diatribes hors-sujet. 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.

Le jury a apprécié la qualité de rédaction et de présentation de certaines copies rendant leur lecture fluide et agréable. Il rappelle à ce propos que si "le fond" représente la majorité du barème, "la forme" est également évaluée dans la mesure où elle est l'illustration des capacités pédagogiques des candidats.

Ainsi, un texte aéré, un plan explicite, détaillé, des transitions créant du lien entre les parties, des illustrations (correctement légendées) sont des attendus de base. Dans ce contexte, 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.

Malgré des alertes réitérées dans les rapports des sessions précédentes, le jury s'interroge de nouveau quant à la faiblesse de rigueur scientifique dans les mots-concepts et expressions employés. Cet aspect représente pourtant un élément essentiel en biologie et dans toutes nos disciplines scientifiques dans lesquelles l'usage d'un vocabulaire précis traduit la compréhension du concept véhiculé par le mot et ne peut souffrir de l'utilisation de verbiages communs. De plus, comme lors des trois sessions précédentes, le jury constate avec grande stupeur une dégradation très importante de la qualité de l'orthographe et de la grammaire, rendant vraiment parfois très difficile la lecture des copies. Le jury est profondément attaché au fait que la maîtrise de l'orthographe demeure un prérequis incontournable pour un enseignant qui se doit d'être aussi exemplaire que possible envers ses élèves ou étudiants. Une écriture phonétique, parfois rencontrée dans certaines compositions, est absolument inconcevable pour un enseignant et tout candidat qui se sait en difficulté avec l'usage de notre langue doit veiller à combler ses lacunes. Enfin, le jury invite les candidats à ne pas user de jeux de mots hasardeux qui donnent à l'ensemble de la composition une coloration quelque peu douteuse et inadaptée dans le contexte du concours.

Le jury rappelle également qu'un devoir doit contenir une introduction de qualité qui positionne correctement le sujet au sein de la problématique posée et présente la construction du devoir. Ce dernier doit également contenir une conclusion pertinente, point souvent très mal ou très maladroitement abordé par les candidats. Celle-ci peut aisément faire un très bref bilan des notions essentielles abordées et surtout proposer un ou des ouvertures en lien avec la thématique. Le jury regrette que, bien souvent, les élargissements proposés ne sont ni pensés, ni construits correctement, n'apportant alors aucune plus-value pertinente à la réflexion.

Sujet de synthèse

Le sujet demandait de « présenter les mécanismes moléculaires et cellulaires intervenant dans la production de gamètes, la fécondation et la nidation et d'expliquer comment les hormones et la régulation de leur sécrétion participent au bon déroulement de chaque processus ». Dans un objectif de présentation didactique, il appelait ainsi le candidat à, entre autres, construire des documents de synthèse (tableau, schéma) permettant une comparaison plus aisée des mécanismes de spermatogenèse et d'ovogenèse, des mécanismes de contrôle des sécrétions hormonales masculine et féminine et des différentes méthodes contraceptives.

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 respectivement abordées la physiologie de la reproduction (ses aspects moléculaires et cellulaires), les différentes techniques de contraception puis les approches biotechnologiques permettant une analyse de la fonction des organes reproducteurs. Cette construction logique du devoir étant fortement suggérée, le jury a été tout particulièrement vigilant quant à l'aspect personnel et personnalisé de l'introduction ainsi qu'à la mise en évidence par le candidat de l'importance du sujet qui pouvait être réalisée en le positionnant dans un contexte historique ou sanitaire pertinent ainsi qu'en indiquant qu'il représente un véritable sujet de société auquel chaque individu est confronté.

De façon très générale, le jury a été surpris de constater que de nombreux candidats confondent les notions de mitose et de méiose et que cette dernière n'était pas forcément maîtrisée quant à ses aspects moléculaires et cellulaires. Ainsi, la gamétogenèse, qu'elle soit masculine ou féminine, était souvent présentée de manière très approximative, voire erronée. D'autre part, bien que le jury comprenne la position des candidats qui ont désiré faire la démonstration de leurs connaissances, il rappelle que les digressions hors-sujets n'apportent aucune plus-value à la copie et ont un impact contre-productif de perte de temps et d'égarement. Ainsi, la présentation de l'anatomie des appareils reproducteurs (parfois fort hasardeuse, en plus), la mitose et ses différentes étapes ainsi que les approches d'imagerie médicale n'étaient pas attendues par l'intitulé du sujet.

Une première partie du devoir devait permettre de présenter les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en jeu lors de la production de gamètes, la fécondation et la nidation. Ces trois processus gagnaient largement à être présentés de manière successive dans un souci de clarté et de didactisme.

Cernant la gamétogenèse, les principes de base régissant ce processus étaient attendus. Ainsi, il était pertinent de repositionner la gamétogenèse au cours de la vie de l'individu en l'associant aux grands événements que sont, d'une part, la puberté et, d'autre part, la ménopause (ou l'andropause). En procédant de la sorte, le candidat pouvait ainsi développer de manière constructive la notion de stock d'ovogonies et

de spermatogonies qui se constituent pendant le développement embryonnaire et qui vont conditionner les étapes futures de production de gamètes une fois la puberté survenue. Ainsi, chez la femme, l'entrée en méiose avant la naissance sous l'action de l'acide rétinoïque devait amener le candidat à aborder la notion de quantité « non renouvelable » et limitée d'ovogonies alors que, chez l'homme, une situation différente existe du fait du renouvellement permanent du stock de spermatogonies assurant une production continue et illimitée de spermatozoïdes tout au long de la vie de l'individu (sauf cas particulier d'andropause survenant chez certains hommes). Le moment de la puberté représente donc un instant clé dans la production de gamètes aussi bien chez l'homme que chez la femme. Ainsi, le candidat était amené à rappeler le rôle des sécrétions pulsatiles de GnRH dans le déclenchement de cette puberté ainsi que celui d'autres facteurs dont, entre autres, les kisspeptines. Une fois la puberté accomplie, les processus de méiose deviennent alors complets chez la femme et chez l'homme. Il devenait alors opportun de la part des candidats de les présenter de manière rigoureuse en insistant notamment sur l'importance de la méiose pour le brassage génétique, les mécanismes de crossing-over et le passage d'un état diploïde à un état haploïde. Des schémas accompagnés de légendes de qualité représentaient alors des supports pertinents pour appuyer les propos. Il était également intéressant de mentionner que cette méiose s'inscrit dans un processus discontinu chez la femme, avec mention des deux stades cellulaires correspondant aux deux arrêts, alors qu'elle est sans latence chez l'homme.

Une fois cette entrée en matière effectuée, il était alors pertinent de différencier les mécanismes moléculaires et cellulaires intervenant respectivement lors de la spermatogenèse et de l'ovogenèse. En effet, aborder de manière simultanée ces deux mécanismes a souvent conduit les candidats à des propos confus, voire erronés dans la mesure où des processus, certes semblables conceptuellement, obéissent toutefois à des lois cinétiques fort différentes chez l'homme et chez les femmes ainsi qu'à des mécanismes de régulation endocrinienne distincts.

La présentation de la spermatogenèse devait inviter les candidats à évoquer les différentes phases qui la composent dont la phase de multiplication des spermatogonies (jusqu'au stade spermatocyte I), la phase de maturation (jusqu'au stade de spermatide) et la phase de différenciation conduisant à la genèse d'un spermatozoïde. Ainsi, il était intéressant, dans ce contexte, de mentionner la notion de différenciation cellulaire, les mécanismes de compaction nucléaire dus à l'expression de protéines particulières (protamines), l'acquisition de la motilité cellulaire avec l'acquisition d'un flagelle, la caractéristique relativement instable et fragile et l'importance de la maturation épидидymaire pour l'étape de fécondation. Le rôle et l'importance des sécrétions des glandes annexes du tractus génital masculin devait être aussi abordé. Il était alors attendu que le candidat explicite le rôle des hormones dans la régulation de ces processus. Ainsi, un schéma présentant l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (testiculaire) et indiquant les notions essentielles suivantes (GnRH, FSH, LH, testostérone, inhibine, notion de boucle de régulation, cellules de Leydig / cellules de Sertoli) trouvait de façon pertinente sa place dans le devoir.

Puis, le candidat était amené à présenter les différentes étapes de l'ovogenèse sans dissocier ce processus de celui de la folliculogenèse dans la mesure où ces deux mécanismes sont totalement interdépendants et ne peuvent être conçus individuellement. Ainsi, les étapes de l'ovogenèse (ovocyte I, ovocyte II) ainsi que celles de la folliculogenèse (phase pré-antrale, phase antrale, follicule mûr de De Graaf) étaient attendues. De même, les différents types cellulaires impliqués (cellules de la granulosa, cellules de thèque externe et de la thèque interne) et leurs rôles devaient être présentés, notamment en ce qui concerne la production locale d'hormones. La présentation de la folliculogenèse devait permettre aux candidats d'expliciter les notions de régulation du nombre de follicules entrant en croissance et arrivant à maturité en présentant les notions de recrutement, sélection et dominance. Comme dans le cas de la spermatogenèse, le rôle des hormones dans l'ovogenèse et la folliculogenèse devait être largement explicité. Pour cela, de manière très classique, il était attendu que les candidats dissocient les mécanismes de régulation survenant pendant la phase folliculaire et ceux survenant pendant la phase péri-ovulatoire. La construction de schémas indépendants représentait alors un véritable atout didactique et pédagogique et le jury regrette que certains candidats aient fait le choix de ne construire qu'un seul schéma pour présenter l'intégralité de ces événements survenant à des moments différents rendant la lecture de leur support souvent compliquée et obscure. Dans un premier temps, il était donc opportun de présenter le rôle des hormones pendant la phase folliculaire en évoquant les hormones et notions suivantes : GnRH, FSH, LH, œstrogènes, croissance du follicule associé à une augmentation de la sécrétion d'estrogènes et existence d'un mécanisme de rétrocontrôle négatif. Dans un second temps, le rôle des hormones pendant la phase péri-ovulatoire devait faire appel aux hormones et notions suivantes : GnRH, FSH, LH, œstrogènes, régulation de l'expression du récepteur de la LH sur les cellules de la couche externe de la granulosa, mise en place d'un rétrocontrôle positif au-delà d'un certain seuil de concentration en estrogènes, genèse d'un pic de sécrétion de LH associé à une reprise de la méiose et conduisant à l'ovulation d'un ovocyte II bloqué en métaphase. Comme l'intitulé du sujet le demandait, le mode d'action des hormones stéroïdiennes (via des récepteurs intracellulaires) et des hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope, GnRH, FSH, LH (via des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés à des protéines G hétérotrimériques) était attendu. Les voies de signalisation activées en aval de ces récepteurs pouvaient être positivement présentées à l'aide de schémas correctement annotés et légendés.

Une vision synthétique comparée homme/femme, présentée sous la forme d'un tableau récapitulatif, a été une approche pertinente utilisée par certains candidats faisant ainsi la démonstration, lorsque l'exercice était correctement mené, de leur maîtrise du sujet.

Au sein de cette partie, le jury regrette qu'une grande partie des candidats ait mal identifié les cellules productrices d'hormones et leurs cellules cibles. De même, les boucles de rétrocontrôle notamment avant et en phase péri-ovulatoire, pourtant un grand classique de la physiologie endocrinienne, sont souvent mal maîtrisées. Si l'idée de présenter des courbes de cinétiques de production d'hormones au cours d'un cycle menstruel était très pertinente, le jury n'a malheureusement pas souvent pu les valoriser dans la mesure où celles-ci étaient souvent erronées. Enfin, dans le cadre d'un chapitre qui avait pour vocation de présenter les mécanismes moléculaires et cellulaires à l'origine de la production de gamètes, la présentation de la phase lutéale n'y avait pas sa place.

Concernant la fécondation, le jury attendait que le candidat présente les mécanismes moléculaires et cellulaires survenant non seulement au niveau des gamètes mâles et femelles mais aussi au niveau des voies génitales afin de favoriser leur rencontre. A ce propos, le cycle de la glaire cervicale devait être explicité en lien avec les phases d'un cycle menstruel. De plus, la notion de lieu de rencontre et donc de déplacement cellulaire, devait faire l'objet d'explications claires et rigoureuses. En effet, malgré des phénotypes très différents, les gamètes sont amenés, avant leur rencontre, à se déplacer faisant appel à des mécanismes cellulaires spécifiques. D'ailleurs, il était utile de rappeler que, au cours de leur déplacement, les spermatozoïdes subissent des processus qui participent pleinement à l'acquisition de leur pouvoir fécondant telle que la capacitation (glycoprotéines de surface enlevées, motilité du flagelle exacerbée, polymérisation de l'actine sous-corticale) et la réaction acrosomiale (dépolymérisation de l'actine, gonflement de l'acrosome, fusion des membranes permettant le déversement du contenu de la vésicule acrosomiale dans l'espace extracellulaire). Les mécanismes moléculaires survenant lors de l'approche du spermatozoïde de l'ovocyte nécessitaient d'évoquer le rôle des protéines ZP et des protéases pour la traversée de la zone pellucide. Une fois la fusion des membranes des gamètes effectuée, survient l'établissement de l'état diploïde et la terminaison de la méiose pour l'ovocyte II qui émet alors le second globule polaire. Puis, devait être évoquée la réaction corticale (protéolyse des protéines ZP et formation de ponts disulfures entre protéines ZP) qui permet un blocage de la polyspermie. Si le jury constate que la plupart des candidats maîtrise la localisation des événements et les aspects cellulaires de la fécondation, il déplore toutefois que les mécanismes moléculaires sont vraiment très rarement présentés.

Enfin, concernant la nidation, il était judicieux de la présenter de manière chronologique comme l'ont fait la plupart des candidats ayant abordé ce domaine en illustrant, dans un premier temps, les étapes qui préparent à une potentielle nidation. Ainsi, le cycle de l'endomètre et ses modifications histologiques et fonctionnelles devaient être présentés. Dans le contexte de la nidation, le rôle des hormones qui interviennent au cours de la phase lutéale prenait alors ici tout son sens et il pouvait être alors fort pertinent de construire de nouveau un schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope féminin et de ses acteurs mis en jeu lors de la seconde partie du cycle menstruel (post-ovulatoire). Le rôle de la progestérone et la transformation du follicule en corps jaune étaient des aspects moléculaires et cellulaires attendus dans la mesure où ils étaient notamment associés à la notion de silence utérin. La nidation étant le fait d'une structure pluricellulaire (morula), il était attendu des candidats qu'ils évoquent quelques aspects survenant entre le moment de la fécondation à proprement parler et la nidation en elle-même. Ainsi, il était pertinent d'expliquer comment les divisions cellulaires débutent dès la fécondation et comment celles-ci permettent la constitution, au sein de la morula, de deux masses cellulaires constituées respectivement de cellules trophoblastiques et d'une masse cellulaire interne. La nidation repose sur des mécanismes d'interaction très spécifiques entre, justement, les cellules trophoblastiques et la muqueuse de l'endomètre et qui mettent en jeu des protéines de liaison telles que les intégrines mais aussi des facteurs sécrétés localement tels que l'EPF (early pregnancy factor), le LIF (leukemia inhibiting factor), des interleukines ou encore des enzymes protéolytiques. Si les notions de déplacement de l'embryon, de localisation de la nidation et de préparation de l'endomètre ont généralement bien été traitées, le jury regrette que des notions telles que l'aspect pluricellulaire de l'embryon, le silence utérin ainsi que les mécanismes de l'implantation mettant en jeu des interactions entre l'embryon et la muqueuse de l'endomètre aient été dans la grande majorité des cas, soit mal expliquées, soit le plus souvent tout simplement oubliées.

Une seconde partie pouvait traiter des méthodes contraceptives. Comme le suggérait l'intitulé du sujet, il était attendu que le candidat mette en relation les aspects moléculaires et cellulaires présentés précédemment avec les différentes approches de contraception. Ainsi, il pouvait faire la démonstration de l'importance des connaissances fondamentales dans le développement d'approches pratiques et que ces dernières ne peuvent absolument pas s'affranchir des premières. Par conséquent, l'explicitation du ou des mécanismes sur lesquels reposent les différentes méthodes contraceptives était attendue. De plus, il était important de préciser que chaque méthode donnait lieu à une réponse différenciée et qu'il existe donc des critères qui déterminent le choix de l'une ou l'autre de ces approches. Le jury a apprécié que les candidats fassent la démonstration de la diversité des méthodes contraceptives existantes qu'ils connaissent. Même si une liste exhaustive et complète n'était pas forcément attendue, la diversité des approches présentée était valorisée. Ce chapitre pouvait se conclure par les aspects éthiques et citoyens soulevés

par ces approches contraceptives. Différents points pouvaient être évoqués tels que l'implication homme/femme, l'accès à la contraception ainsi que tous les aspects relevant des questions sanitaires, sociales ou culturelles. Le jury a regretté que les aspects éthiques et citoyens aient été traités de manière souvent succincte et assez simpliste. Sans forcément entrer dans une dissertation philosophique, il était possible d'aborder, par exemple, avec nuance, les aspects socio-culturels ou sanitaires en lien avec des approches. En tant qu'enseignant, le jury n'attendait pas que le candidat prenne partie mais fasse la démonstration de sa culture et des questionnements soulevés par de telles approches tout en les replaçant, par exemple, dans leur contexte historique. A ce titre, il était étonnant de constater que toutes les méthodes étaient présentées sur le même plan, sans volonté de hiérarchisation, et la notion d'efficacité de chacune d'entre elles a été très rarement abordée. Le jury tient à souligner qu'il a donc été quelque peu déçu par la qualité rédactionnelle de cette partie et du peu de profondeur de réflexion de la part des candidats à soulever des questions de base faisant appel à une certaine culture générale. Dans le contexte de cette question, le jury attendait des constats objectifs, fondés sur des données scientifiques, et non pas des prises de positions religieuses, certaines parfois très radicales et extrémistes, interrogeant sur le message potentiellement distillé aux élèves en cours de formation. Dans cette partie traitant des méthodes contraceptives, le jury tient à rappeler que l'ovariectomie, l'hystérectomie, l'orchidectomie, pour le moins radicales, ainsi que la pilule masculine ne sont pas des techniques de contraception mises en œuvre actuellement.

Une troisième partie invitait les candidats à présenter les différentes approches biotechnologiques qui permettent d'analyser l'état physiologique des organes reproducteurs. Cette partie a été, dans la grande majorité des cas, abordée de manière très superficielle et le jury rappelle qu'il est vraiment important que les candidats gèrent beaucoup mieux leur temps de composition afin de ne pas négliger une partie du devoir. Il était attendu que les candidats présentent des méthodes diversifiées, qu'elles soient directes ou indirectes et développées chez la femme ou chez l'homme. Ainsi, pouvait être présenté le principe du spermogramme qui permet une analyse quantitative, morphologique et de mobilité des spermatozoïdes ainsi que la réalisation de tests de migration-survie (par centrifugation sur gradient de densité). De plus, les candidats pouvaient évoquer les techniques qui permettent la recherche d'anticorps anti-spermatozoïdes, le dosage de marqueurs spécifiques des voies sécrétrices tels que ceux de l'épididyme (alpha-1,4-glucosidase), des vésicules séminales (fructose), de la prostate (citrate et zinc) ou de composants du plasma séminal. En lien avec les deux parties précédentes, il était fortement attendu que le candidat insiste tout particulièrement sur le dosage des hormones plasmatiques ou urinaires impliquées dans les fonctions de reproduction. A ce titre, plusieurs méthodes et leurs principes gagnaient largement à être rapidement présentées (ELISA compétitif / RIA /CPG MS). Certains tests physiologiques étaient attendus tels que la prise de Clomid ou de TRH. Sans désirer une liste totalement exhaustive de l'ensemble de ces approches biotechnologiques, le jury attendait, de la part du candidat, une présentation diversifiée (directe, indirecte, chez la femme, chez l'homme) afin de faire la démonstration de l'étendue de ses connaissances et de la diversité des approches actuellement disponibles et mises en œuvre de manière spécifique et en réponse à une situation donnée. Parmi les écueils très souvent rencontrés, les candidats ont présenté des techniques d'exploration d'imagerie médicale (échographie, radiographie, ...). D'autre part, un nombre non négligeable de candidats a présenté des ELISA de type « sandwich » sur des hormones de petites tailles telles que les hormones stéroïdiennes ou des représentations de tests d'immunochromatographie dans lesquels la bande « contrôle » apparaissait avant la bande « test » faisant ainsi la démonstration d'un certain manque de compréhension de base du principe de fonctionnement de ces méthodes.

Le jury rappelle que l'exercice ici demandé est un exercice de synthèse qui impose de faire la démonstration d'une maîtrise transversale et intégrée du sujet. Mobiliser des connaissances doit permettre de répondre à la (ou les) problématique(s) posée(s) par le sujet. Il est surprenant de voir dans certaines copies de longs développements sans qu'aucun lien explicite avec les questions posées n'apparaisse réellement. Chaque sujet développé doit être véritablement mis en relation avec une notion et apporter une « plus-value ».

Le jury conseille et encourage, quand cela apporte une réelle « plus-value » et une pertinence au devoir, la présentation de certaines notions sous forme d'un tableau, d'une carte mentale, d'un logigramme ou d'un schéma afin de permettre une structuration plus rapide de la pensée et mettre ainsi en exergue des liens entre différentes idées. A ce propos, ce sujet se prêtait plutôt bien à la réalisation de tableaux comparatifs homme/femme permettant de faire des bilans synthétiques pertinents.

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 18 ;
- 3 ont obtenu une note supérieure ou égale à 16 ;
- 4 ont obtenu une note supérieure ou égale à 14 et strictement inférieure à 16 ;
- 4 ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14 ;
- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12 ;
- 4 ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10 ;
- 4 ont obtenu une note strictement inférieure à 8.

La moyenne générale de l'épreuve est de 12,02/20.

La moyenne des candidats admis est de 15,20/20.

La meilleure note est de 19/20

Rapport de jury

Le jury félicite très sincèrement l'ensemble des candidats qui a 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.

Dans le cadre de cette épreuve, il est rappelé que le manuscrit peut 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 correctement replacée dans son contexte, notamment en la positionnant très clairement en relation avec le projet pédagogique à l'origine du projet. Cette étude doit s'appuyer sur des données scientifiques et technologiques précises, rigoureuses et actualisées dont les prolongements économiques et sociétaux peuvent être, si cela s'avère pertinent dans le cadre du projet, abordés ;

- une mise en application pédagogique pour un référentiel, un niveau de classe donné, une progression choisie et correctement argumentée. Cette transposition pédagogique doit prendre en compte de façon très concrète les contraintes inhérentes à un environnement enseignant (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, sécurité, ...). Afin de s'inscrire dans une démarche réaliste, elle peut avantageusement présenter les modalités de mise en œuvre, les activités effectuées par les étudiants, les documents support de ces activités ainsi que les modalités d'évaluation proposées par l'enseignant. Cette mise en application peut également faire appel à des aspects interdisciplinaires du moment que ceux-ci sont correctement justifiés et apportent une réelle plus-value à la démarche proposée. Ainsi, toute construction artificielle, déconnectée de la réalité du contexte professionnel visé, doit être évitée.

Remarques sur les dossiers

De manière assez générale, le jury a apprécié la qualité des dossiers aussi bien dans leur forme (figures, orthographe, syntaxe, construction et clarté du plan) que dans leur fond. Comme conseillé précédemment, ces dossiers comportaient généralement deux parties développées de manière relativement équilibrée : une partie scientifique et technologique suivie d'une transposition pédagogique en lien avec la première partie.

Le jury rappelle que la partie scientifique et technologique doit être rédigée à l'appui de données récentes de la littérature ce qui nécessite un travail très important d'actualisation et de remise à jour des connaissances de la part des candidats. Cette partie doit ainsi s'appuyer sur une bibliographie très rigoureuse qui doit être présentée de manière formelle. A ce propos, le jury conseille d'utiliser des logiciels gratuits de formatage des documents afin de pouvoir citer leurs références bibliographiques de manière correcte et homogène et de

limiter, voire éviter, l'utilisation de toute webographie dans la mesure où la pérennité, la rigueur des informations présentées et l'actualisation de certains sites internet ne sont pas toujours assurées. Cette partie scientifique et technologique doit donc faire la démonstration du niveau de très grande expertise du candidat dans le domaine qu'il a lui-même choisi de présenter. Ainsi, tout candidat qui choisit un domaine scientifique et technologique dans lequel il n'est pas, a priori, spécialiste doit être conscient de la somme de travail très conséquente à fournir en amont afin de pouvoir en devenir expert et ainsi posséder une vision constructive et réflexive sur le sujet. A ce titre, à ce niveau d'exigence demandé, les informations présentées ne peuvent souffrir de rester à un niveau superficiel, la précision et la maîtrise des informations fournies étant un point très apprécié par le jury. Un niveau approfondi est demandé et le « saupoudrage » de données déconnectées les unes des autres et présentées de manière « catalogue » très fortement déconseillé. Le texte peut très avantageusement s'appuyer sur des illustrations de qualité mais il faut que celles-ci ajoutent une réelle plus-value didactique et pédagogique au manuscrit. A ce propos, le jury rappelle que toute illustration doit comporter une légende soignée, correctement formulée et rigoureusement référencée si nécessaire. Le jury invite tous les candidats à bien veiller à la qualité (lisibilité après impression, polices et figures de taille suffisante) et, de nouveau, à la pertinence de ces illustrations.

Bien que la partie scientifique et technologique soit placée en premier dans le rapport, l'exercice de démarche de projet doit toutefois positionner la transposition pédagogique comme finalité. A ce titre, le jury a tout particulièrement apprécié lorsque l'explicitation de la construction pédagogique représentait une véritable démarche de recherche de mise en œuvre par les candidats s'interrogeant sur la faisabilité de son projet, sa cohérence et son adaptation au public concerné. En effet, cette démarche d'adaptation de la méthode est la spécificité d'un laboratoire et doit donc se retrouver dans la construction du projet. La pertinence de l'apport et de la plus-value auprès des élèves/étudiants doit être au cœur de la réflexion et du questionnement de chaque candidat. Le jury a ainsi mesuré l'engagement individuel réflexif de chaque candidat sur la démarche qu'il proposait. Il est, en effet, nécessaire que les candidats développent cette compétence de réflexivité, base de l'enseignant lui permettant un véritable développement professionnel. Ainsi, les transpositions pédagogiques particulièrement appréciées ont très souvent été construites à partir d'une problématique d'enseignement trouvant une issue dans la réalisation d'un stage en entreprise ou en laboratoire de recherche. A ce propos, le jury a su reconnaître la qualité de la formation qui permet d'apprécier l'évolution des candidats au cours des sessions successives ainsi que la présence de nouveaux candidats de très bons niveaux qui ont saisi les objectifs et les attendus de l'exercice. La situation inverse, de plus en plus rarement rencontrée, qui consiste à effectuer un stage et une étude scientifique à partir desquels le candidat tente une mise en situation d'enseignement, se trouve être souvent artificielle ou réduite à une séance de travaux dirigés en fin de deuxième année de STS biotechnologies et se révèle alors souvent décevante. Le jury insiste sur le fait que tous les niveaux d'enseignement, pré- ou post-baccalauréat, choisis pour la transposition pédagogique sont appréciés de manière totalement identique. De plus, le jury rappelle que le caractère totalement novateur de l'application pédagogique n'est absolument pas un prérequis 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 qui reste réaliste permettant l'introduction pratique et/ou théorique de nouvelles approches auprès des élèves/étudiants dans la mesure où ils y seront potentiellement confrontés lors de leur insertion dans le monde professionnel (stage, emploi, ...). Néanmoins, le candidat devrait veiller alors à positionner ces nouvelles approches par rapport à celles préexistantes et démontrer les avantages concrets qu'elles apportent.

Il est important d'évoquer le fait que les candidats ayant obtenu les meilleures notes sont souvent ceux qui avaient pu mettre en œuvre, au moins en partie, la transposition pédagogique proposée ou qui avaient pu en discuter avec des collègues expérimentés. Ces candidats sont alors plus à même d'argumenter les choix effectués auprès du jury. Cette argumentation témoigne du recul pris par rapport à la séance proposée et ces capacités réflexives, essentielles pour un professeur en recherche de l'amélioration continue de son enseignement, ont alors été valorisées. Ces éléments favorisent fortement la construction d'une transposition pédagogique dont la mise en application est ordonnée et hiérarchisée mettant clairement en évidence le déroulement de la (les) séquence(s) pédagogique(s), les connaissances fondamentales et pratiques apportées ainsi que les notions de préventions des risques et de coût de réalisation. Certaines applications se sont avérées parfois être trop ambitieuses et déconnectées de la réalité du terrain. Elles se révèlent alors artificielles, voire totalement impossibles à mettre en œuvre. Le jury suggère de réserver parfois la priorité à des approches pratiques moins ambitieuses mais davantage réalistes et abouties. Néanmoins, le jury souligne qu'une transposition pédagogique de qualité ne peut se limiter à une simple analyse de documents

par les élèves/étudiants. La complétude de la démarche n'apparaît que lorsque les trois dimensions sont correctement développées à savoir la dimension scientifique et technologique, qui représente un appui pour la formation des jeunes à l'autonomie et à la rigueur, la dimension pédagogique et la dimension de « plus-value ». En effet, le métier de professeur de biochimie génie biologique a cela de particulier qu'il est multidimensionnel. Ainsi, l'exposition à des manipulations en réel doit déclencher de la rigueur, non seulement intellectuelle mais également pratique afin de permettre l'obtention de résultats exploitables.

D'autre part, le jury rappelle qu'il est attendu des candidats la recherche d'un approfondissement réflexif à la fois dans le domaine scientifique et dans le domaine pédagogique. Il est, en effet, essentiel de valoriser ces deux dimensions dans la mesure où elles sont appliquées à nos diplômes (cf. éthique). Toutefois, cette démarche réflexive faisant appel à des dimensions éthiques et citoyennes orientées dans le domaine de la recherche et des biotechnologies doit obligatoirement s'appuyer sur des ressources bibliographiques solides. Ceci permet ainsi une ouverture du champ d'application des thématiques des rapports au regard des années précédentes avec une nécessité de développer une coloration « neurosciences » et « sciences de l'éducation ».

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 vraiment 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 la justification correcte des objectifs pédagogiques.

Remarques sur la forme des présentations orales

Le jury tient à féliciter l'ensemble des candidats qui ont construit dans leur très large majorité des supports diaporamas de très grande qualité mettant clairement en évidence leurs qualités 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 du moment que ce choix était vraiment pertinent et ne gênait pas la compréhension générale et l'intérêt de la démarche de projet. Afin de favoriser une écoute attentive et rendre le propos encore plus dynamique, le jury suggère vraiment 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 toujours le temps de lire dans leur intégralité sans risquer de perdre le fil du récit. A ce propos, les supports iconographiques présentés doivent être correctement référencés et de qualité (i.e. définition ou nombre de pixels) suffisante. 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. Ce dernier encourage également les candidats à s'affranchir d'un support papier au cours de leur prestation orale, celui-ci ayant souvent pour conséquence de rendre le propos moins fluide dans la mesure où l'orateur devient alors lecteur et risque, en plus, de se perdre dans ses notes. A ce propos, le jury félicite les candidats qui ont, pour la plupart, adopté une attitude communicante permettant une transmission de leur message avec force et conviction. En effet, dans un concours de recrutement d'enseignants, les compétences en communication sont évidemment essentielles, tout comme l'attitude générale devant un auditoire. Ainsi, 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'échange et de réflexion avec pour vocation, non seulement d'évaluer les connaissances scientifiques et technologiques du candidat, mais également d'avoir son opinion, en tant que fruit de son expérience, sur divers questionnements pédagogiques pour lesquels il peut alors argumenter ses choix.

La durée de l'exposé oral de 30 minutes a été, sauf quelques rares exceptions, scrupuleusement respectée par les candidats. Conformément aux recommandations et rappels des modalités de l'épreuve communiqués en début de soutenance, tout candidat qui était susceptible de dépasser le temps imparti était aimablement invité à conclure dans les plus brefs délais afin de respecter les règles d'équité élémentaires entre tous. Le jury invite donc de nouveau tous les candidats à effectuer en amont plusieurs répétitions de leur présentation en s'aidant d'un chronomètre et à devenir véritablement acteurs de leur présentation afin de l'animer de leur personnalité et originalité. D'autre part, le jury rappelle que cette présentation orale doit, bien évidemment, être à l'image des attendus de l'épreuve écrite et qu'un équilibre entre les deux parties (i.e. « scientifique »

et « transposition pédagogique ») doit être, autant que possible, maintenu ; tout déséquilibre important dans la construction de la présentation orale se faisant au détriment du candidat.

Remarques sur le fond des présentations orales

Le jury tient là encore à féliciter la grande majorité des candidats qui, à quelques très rares exceptions, 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 lorsque les candidats présentaient de manière claire et explicite la démarche de projet qu'ils avaient suivie. Il était ainsi souvent très pertinent de commencer par rappeler la question pédagogique posée, centre et pivot de la démarche, avant de préciser le contexte scientifique de l'étude puis de présenter les solutions envisagées ou expérimentées afin d'apporter des éléments de réponse à cette question. 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, méthodologies, stratégies pédagogiques et démarches d'évaluation d'une séquence préalablement positionnée au sein d'une progression. En revanche, certaines études technologiques et techniques, impossibles à mettre en œuvre dans le contexte d'un établissement scolaire, ont donné lieu à des applications pédagogiques pour le moins peu opportunes. D'autre part, il est apparu surprenant qu'un candidat n'aborde absolument pas les aspects scientifiques de son étude et ne concentre son propos que sur la partie pédagogique, laquelle s'est alors retrouvée totalement vidée de sa substance, ou bien qu'un autre présente une transposition pédagogique abordant une situation physiopathologique pour le moins peu attrayante pour les étudiants avec une incidence d'un individu sur 1 million. 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 ne pas tout mettre au même niveau, imposant alors à son auditoire de faire des choix qui ne sont pas de son ressort.

Il est tout particulièrement attendu d'un professeur agrégé qu'il soit capable de faire évoluer les pratiques au sein de son établissement. Ceci implique la mise en œuvre de stratégies pédagogiques novatrices, pragmatiques mais également réalistes qui donnent sens aux apprentissages. Ces activités doivent être construites en appui sur une réalité, non seulement professionnelle, mais également économique pour l'établissement, et doivent être transposables à un groupe d'élèves en lien avec les objectifs de formation et la réglementation en vigueur. Le jury a également été sensible à la prise en compte des contributions d'autres disciplines, dans une approche pédagogique moderne et interdisciplinaire.

Le jury déplore néanmoins que certains candidats soient restés parfois quelque peu en retrait et n'aient pas su mettre suffisamment en valeur les fondements de leur démarche en apportant les arguments pour expliquer leurs choix. Comme lors des sessions précédentes, le jury s'étonne de nouveau que, la thématique scientifique du projet étant totalement laissée à l'entière discrétion des candidats, certains d'entre eux n'arrivent pas à faire la démonstration, sur des questions fondamentales, de leur expertise dans le domaine ou évoquent des souvenirs un peu trop lointains pour excuser leur absence de réponse. 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 et de justifier les méthodologies présentées, d'expliquer les techniques et les principes scientifiques associés, de positionner ces nouvelles méthodologies par rapport à celles qui existent, mais également d'assurer l'analyse approfondie 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 préférable de choisir un projet scientifique dans un domaine que le candidat maîtrise et affectionne tout particulièrement plutôt que de se mettre inutilement en difficulté et en danger à vouloir développer une thématique qui ne lui est absolument pas familière. Ainsi, certains dossiers prenant appui sur des activités liées à un stage de formation en laboratoire ou sur la préparation d'une thèse ont été d'un niveau scientifique très satisfaisant. Il convient cependant de ne pas oublier le fondement de l'épreuve qui s'inscrit dans la mise en œuvre d'un projet pédagogique. Il convient donc de rappeler de nouveau que le support scientifique doit être au service du projet et non l'inverse.

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 de projet, notamment sur son objectif premier et les solutions techniques 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 des démarches pédagogiques choisies ou conçues. En effet, par ce questionnement large, le jury souhaite également apprécier la maîtrise didactique de la discipline ou la position du candidat 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, entre autres, les qualités d'expression et de communication, le sens de l'écoute active ainsi que l'adéquation des réponses aux questions. A ce propos, le jury apprécie tout particulièrement les candidats qui attendent la fin de l'énoncé de la question par les membres du jury avant de débiter leur réponse et qui prennent également un petit temps de réflexion pour s'assurer de la pertinence et de l'adéquation de leur démarche intellectuelle, leur permettant ainsi de répondre de manière précise et concise en ayant organisé mentalement leur raisonnement. 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 2021

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.*

Le sujet comporte deux parties indépendantes :

Le sujet comporte deux parties indépendantes :

PARTIE 1 – Cinnamoyl estérase : l'indésirable

- A. Adaptation du protocole de référence de l'OIV pour le dosage de la cinnamoyl estérase** p.3
- B. Dosage de l'activité cinnamoyl estérase par la méthode au pNPA** p.3

PARTIE 2 – Dénombrement des *Brettanomyces*

- A. Dénombrement par numération directe en hématimètre** p.5
- B. Dénombrement sur milieu gélosé** p.6
- C. Dénombrement par PCR quantitative** p.6
- D. Dénombrement par ATPmétrie** p.7
- E. Synthèse** p.7

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

Les accidents du vin : "Cherchons la p'tite Brett"

L'analyse microbiologique du vin est un outil indispensable dans la prévision des risques d'altération des qualités organoleptiques du vin. Concernant plus précisément la lutte contre la production des phénols volatils, l'enjeu majeur réside dans la détection et la quantification précoce de *Brettanomyces bruxellensis*, une levure très répandue dans les chais mais dont la prolifération dans le vin conduit à des défauts aromatiques exacerbés en présence de certains additifs. Autrefois négligée, la microbiologie est aujourd'hui de plus en plus prise en compte par les producteurs, devenus plus réceptifs aux aspects microbiologiques de la vinification.

Le sujet se propose d'étudier deux paramètres pouvant conduire à des altérations des propriétés organoleptiques du vin : la présence de cinnamoyl estérase (CE) dans certains additifs et la présence excessive de *Brettanomyces*.

PARTIE 1 : Cinnamoyl estérase : l'indésirable

L'utilisation des enzymes est de plus en plus répandue en œnologie. Elles permettent d'accélérer l'extraction et la clarification du moût. De nombreuses entreprises proposent désormais des formulations d'enzymes mais leur composition précise n'est pas toujours connue. Or, certaines activités enzymatiques secondaires peuvent conduire à l'apparition de molécules indésirables. La cinnamoyl estérase est une activité secondaire présente dans les extraits enzymatiques d'*Aspergillus niger*. Son activité doit être la plus faible possible car elle favorise la formation de précurseurs de vinyl- et éthyl-phénols qui jouent un rôle négatif dans les profils sensoriels du vin (voir **Figure 1**).

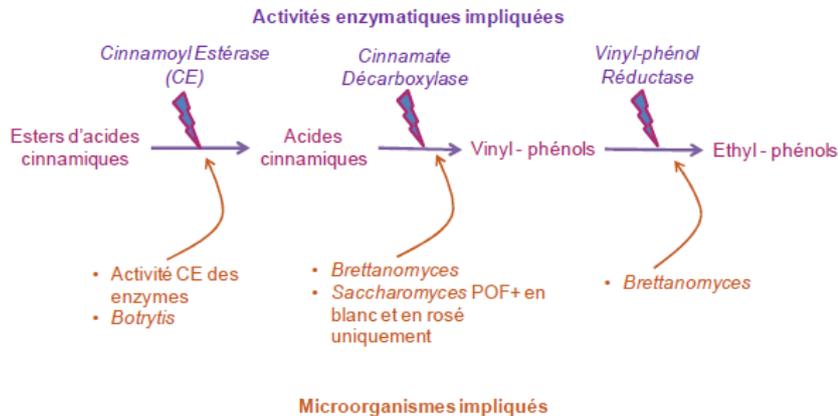


Figure 1 : réactions enzymatiques impliquées dans la formation des phénols volatils dans le vin

La cinnamoyl estérase catalyse la formation d'acides cinnamiques qui peuvent être transformés dans le vin rouge par certaines levures comme *Brettanomyces* en éthyl-phénols, responsables d'un arôme de sueur de cheval et d'écurie. Pour faire face à ce problème, l'OIV (Organisation Internationale de la vigne et du vin) a validé une méthode de dosage de l'activité de la cinnamoyl estérase dans les préparations d'enzymes. Sa mise en place dans une classe de terminale STL peut s'avérer complexe. Deux adaptations du protocole sont proposées dans les parties A et B. Ces dernières sont indépendantes.

A. Adaptation du protocole de référence de l'OIV pour le dosage de la cinnamoyl estérase

Questions préliminaires

Le **protocole de référence** de l'OIV est présenté dans le **document 1a**. Il nécessite une utilisation de méthanol qui ne peut être mise en œuvre en classe de terminale STL biotechnologies.

Afin de mettre au point un protocole alternatif, différentes solutions d'arrêt, présentées dans le **document 1b**, peuvent être choisies. Le **document 1c** présente les spectres d'absorption du substrat préconisé par l'OIV dilué dans le tampon du milieu réactionnel et dans les différentes solutions d'arrêt proposées.

- 1.1 Proposer un protocole qui pourrait être réalisé en classe de terminale à l'aide des **documents 1a, 1b et 1c**.
- 1.2 Identifier les produits chimiques dangereux du protocole proposé et déterminer leurs classes et catégories de danger en utilisant les données de sécurité fournies en annexe.
- 1.3 Proposer le (ou les) test(s) nécessaire(s) pour vérifier la bonne adaptation du protocole. Justifier les choix effectués.

Mise en œuvre

1.4 Réaliser le (ou les) test(s) nécessaire(s) pour valider le protocole proposé à l'aide de l'extrait enzymatique fourni. Tester uniquement le temps 60 minutes.

☞ Appeler un examinateur lors du démarrage d'un des tests.

Questions d'exploitation

- 1.5 Présenter les résultats du (ou des) test(s) effectué(s).
- 1.6 Analyser les résultats obtenus.

B. Dosage de l'activité cinnamoyl estérase par la méthode au pNPA

L'activité de la cinnamoyl estérase peut également être dosée en utilisant un autre substrat, le 4-nitrophényl-acétate (pNPA).

Le **document 1d** présente cette méthode de dosage. Elle s'effectue en cinétique en continu à 45 °C.

Dosage de l'activité cinnamoyl estérase en cinétique en continu par la méthode au pNPA

- 1.7 Mettre en œuvre le protocole du **document 1d** en cinétique en continu pour l'extrait enzymatique fourni en présence d'un examinateur. Réaliser, si nécessaire, un (ou des) témoin(s).
- 1.8 Présenter les résultats du dosage en cinétique en continu. Calculer l'activité de la cinnamoyl estérase en $U \cdot g^{-1}$ de préparation enzymatique.

Certains établissements scolaires ne disposant pas du matériel nécessaire pour mettre en œuvre cette méthode, il est alors plus aisé d'effectuer le dosage en méthode cinétique « deux points ».

Dosage de l'activité cinnamoyl estérase en cinétique « deux points » par la méthode au pNPA

1.9 Proposer un mode opératoire des tests et témoins nécessaires pour adapter le protocole du **document 1d** en cinétique « deux points ». Le volume de réactif d'arrêt testé sera de 10 % du volume réactionnel.

1.10 Mettre en œuvre les tests et témoins proposés.

1.11 Présenter les résultats obtenus et les commenter. Rédiger un mode opératoire de dosage de la cinnamoyl estérase en cinétique « deux points » par la méthode au pNPA.

1.12 Établir un tableau comparatif des trois méthodes alternatives testées (méthode de l'OIV adaptée, méthode au pNPA ou méthode au pNPA adaptée en deux points).

1.13 Discuter de la pertinence de mettre en œuvre une de ces trois méthodes alternatives en classe de terminale STL.

PARTIE 2 : Dénombrement des *Brettanomyces*

Les méthodes de quantification de levures dans le vin utilisent essentiellement des techniques de microbiologie dites « classiques » mettant en œuvre des méthodes de numération directe et des méthodes de dénombrement après culture sur milieu nutritif gélosé. Dans le cas de la quantification de *Brettanomyces bruxellensis*, les méthodes de dénombrement après culture présentent des limites car sept jours sont nécessaires à la culture de cette levure et les milieux de culture les plus discriminants permettent d'exclure uniquement les *Saccharomyces*. De plus, certaines levures, dites vivantes non cultivables (VNC), ne donnent pas de colonies sur milieu gélosé alors qu'elles sont métaboliquement actives et produisent des phénols qui altèrent les qualités organoleptiques du vin.

La quantification de *B. bruxellensis* par PCR quantitative (qPCR) se généralise dans les laboratoires d'analyses œnologiques. Cette méthode est désormais inscrite au recueil international des méthodes d'analyses de l'OIV (Organisation Internationale de la vigne et du vin).

Enfin, dans un objectif d'autodiagnostic par les viticulteurs, une méthode rapide de terrain basée sur la détection de la quantité d'ATP est en cours d'étude.

Cette partie du sujet propose de comparer quatre méthodes de quantification de *B. bruxellensis* d'un échantillon (V) de vin stérilisé,ensemencé à la concentration en nombre de $5 \cdot 10^5$ levures *B. bruxellensis*·mL⁻¹ et dont on a éliminé les tanins et l'ATP libre.

A. Dénombrement par numération directe en hématimètre

Le dénombrement en hématimètre sera effectué sur l'extrait (E) fourni, qui a été préparé selon les indications suivantes : un volume de 40 mL de l'échantillon (V) a été centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm. Le culot cellulaire a ensuite été resuspendu dans de l'eau physiologique de façon à obtenir un volume final de 2 mL.

Mise en œuvre

2.1 Dénombrer les cellules mortes et vivantes de l'extrait (E) fourni, à l'aide d'un hématimètre de Malassez (**document 2**).

- ☞ Présenter le résultat du comptage d'un rectangle à un examinateur ainsi que le champ microscopique correspondant.

2.2 Réaliser un état frais à partir d'une suspension de *Saccharomyces cerevisiae* notée « S. cerevisiae » afin de comparer la morphologie microscopique de ces levures avec celle des levures de l'extrait (E).

- ☞ Présenter un champ microscopique à un examinateur.

Questions d'exploitation

2.3 Présenter les résultats du dénombrement sous forme d'un tableau.

2.4 Calculer la concentration en cellules vivantes et le pourcentage de viabilité de l'échantillon (V). Exprimer les résultats du dénombrement à l'aide de l'aide-mémoire de métrologie (**document 7**).

2.5 Réaliser un compte-rendu comparatif des observations microscopiques de *B. bruxellensis* et de *S. cerevisiae*.

B. Dénombrement sur milieu gélosé

Le dénombrement sur milieu gélosé sera réalisé, sur l'échantillon (V) de vin contaminé, à l'aide du mode opératoire et de l'extrait de la norme ISO 7218:2007 présenté dans le **document 3**.

Question préliminaire

2.6 Calculer les dilutions à ensemercer pour dénombrer les levures de l'échantillon (V) par la méthode du dénombrement en surface d'un milieu gélosé.

Mise en œuvre

2.7 Réaliser le dénombrement en surface des levures de l'échantillon (V).

☞ Montrer à un examinateur la réalisation d'une dilution ainsi que les calculs précédents.

Question d'exploitation

2.8 À partir des boîtes de dénombrement fournies (**à demander**), déterminer la concentration des levures dans l'échantillon (V), à l'aide du **document 3**.

C. Dénombrement par PCR quantitative

Cette partie vise à déterminer la quantité de cellules de *B. bruxellensis* présentes dans un échantillon de vin par qPCR. Pour cela, l'ADN d'un échantillon de 2 mL de (V) a été extrait et repris dans un volume final de 20 µL d'eau qualité BM, noté « ADN essai ». Le principe et le mode opératoire de la quantification par qPCR sont présentés dans le **document 4**.

Mise en œuvre

2.9 Réaliser le mode opératoire du **document 4**.

Questions d'exploitation

2.10 Montrer que 150 ng d'ADN de *B. bruxellensis* correspondent à 10^7 copies du génome (**document 4**).

2.11 Valider la spécificité de la méthode de qPCR réalisée.

2.12 A partir des résultats obtenus, tracer la courbe étalon et déterminer le nombre de copies initiales dans le milieu réactionnel des essais.

2.13 Calculer la concentration de *B. bruxellensis* dans l'échantillon de vin (V).

D. Dénombrement par ATPmétrie

Une technique innovante utilisant l'ATPmétrie est actuellement à l'étude pour dénombrer *B. bruxellensis* dans un échantillon de vin. Le **document 5** présente cette technique.

Mise en œuvre

2.14 Réaliser, à l'aide du mode opératoire du **document 6**, le dénombrement par ATPmétrie des levures de l'échantillon (V) de vin contaminé ainsi que celui d'un échantillon de vin stérile (Vster).

☞ Montrer la réalisation des prélèvements et des mesures à un examinateur.

Questions d'exploitation

2.15 Déterminer la concentration des levures dénombrées dans l'échantillon (V) à partir de la courbe d'étalonnage fournie (**document 6**).

2.16 Faire une analyse critique de l'utilisation de cette courbe pour la détermination de la concentration en *Brettanomyces* par ATPmétrie (**document 6**) et proposer une action corrective.

E. Synthèse

2.17 À l'aide d'un tableau, comparer la capacité de ces quatre techniques à discriminer les populations suivantes : cellules lysées, cellules mortes non lysées, cellules viables non cultivables et cellules cultivables.

2.18 Interpréter les résultats des quatre dénombrements réalisés.

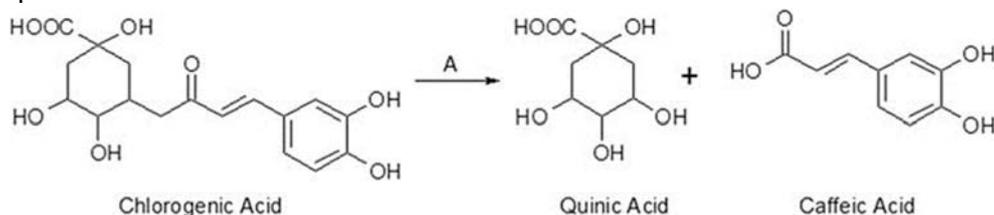
2.19 Discuter des avantages et des inconvénients de ces méthodes, dans l'optique de dénombrer les *B. bruxellensis* au cours de la vinification.

Document 1 : Méthodes de détermination de l'activité cinnamoyl estérase

Document 1a : mesure de l'activité cinnamoyl estérase (d'après l'Organisation Internationale du Vin et de la vigne, OIV)

Principe

La cinnamoyl estérase (A) dégrade l'acide chlorogénique en libérant de l'acide caféique et de l'acide quinique.



La diminution de l'absorbance mesurée à 350 nm, liée à la disparition de ce substrat, permet de quantifier l'activité cinnamoyl estérase. La mesure est réalisée pour différents temps de réactions afin d'obtenir une courbe de l'absorbance en fonction du temps. La pente de la phase initiale est déterminée graphiquement.

Selon l'OIV, une unité enzymatique est, dans ce cas, définie comme étant la quantité d'enzyme qui permet une chute de l'absorbance de 1 unité en 1 heure à pH 6,5 et à 45 °C.

Matériels et réactifs du protocole de l'OIV

Nom	Composition	Conditionnement
Tp phosphate pH 6,5	Tampon phosphate 0,1 mol·L ⁻¹ à pH 6,5	30 mL
Substrat OIV	Solution d'acide chlorogénique à 0,06 % (p/v) en tampon phosphate 0,1 mol·L ⁻¹ à pH 6,5	4 mL
Extrait enzymatique	Solution d'extraits enzymatiques à 10 g·L ⁻¹ en tampon phosphate 0,1 mol·L ⁻¹ à pH 6,5	5 mL
Solution d'arrêt OIV	Méthanol 80 %	Non fournie

- Bain thermostaté à 45 °C
- bain à sec à 100°C
- Grands tubes à hémolyse
- Parafilm ou bouchons de tubes à hémolyse
- Microtubes
- Cuves UV
- Spectrophotomètre UV/visible

Mode opératoire

La mesure de l'activité enzymatique se fait à 45 °C par une méthode cinétique en discontinu.

Dans 3 tubes numérotés de 1 à 3, introduire :

- 500 µL de substrat OIV préchauffé pendant environ 5 minutes à 45 °C
- 100 µL d'extrait enzymatique
- Enclencher le chronomètre
- Homogénéiser
- Placer les tubes dans un bain thermostaté à 45 °C
 - durant 30 minutes pour le tube 1
 - durant 60 minutes pour le tube 2
 - durant 90 minutes pour le tube 3
- La réaction est stoppée en ajoutant 5 mL de méthanol à 80 %
- Transvaser dans une cuve UV et lire l'absorbance à 350 nm contre l'air.

Pour le tube 0 minute, préparer un extrait enzymatique dénaturé en suivant le protocole suivant :

- Placer 2 mL de préparation enzymatique dans un tube à hémolyse bouché et l'incuber pendant 15 minutes dans un bain à sec à 100 °C

Dans un tube à hémolyse numéroté 0, introduire :

- 100 µL d'extrait enzymatique dénaturé par la chaleur
- 500 µL de substrat OIV préchauffé pendant environ 5 minutes à 45 °C
- Homogénéiser
- Ajouter 5 mL de méthanol à 80 %
- Transvaser dans une cuve UV et lire l'absorbance à 350 nm contre l'air.

Données

La cinnamoyl estérase d'*Aspergillus niger* a une activité de pH 3 à 8.

Résultats obtenus pour l'extrait enzymatique en suivant le protocole de l'OIV :

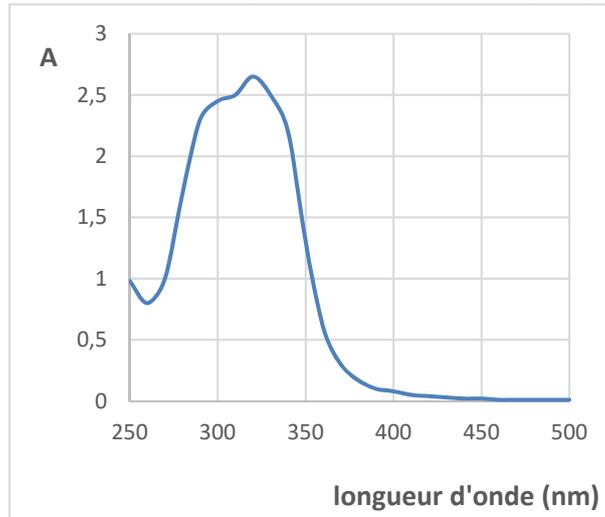
Tubes	0	1	2	3
Temps (minutes)	0	30	60	90
A _{350 nm}	1,942	1,910	1,869	1,844

Document 1b : Réactifs supplémentaires fournis

Nom	Composition	Conditionnement
H ₂ SO ₄ 1 M	Acide sulfurique 1 mol·L ⁻¹	50 mL
NaOH 1 M	Hydroxyde de sodium 1 mol·L ⁻¹	50 mL
Na ₂ CO ₃ 1 M	Carbonate de sodium 1 mol·L ⁻¹	50 mL

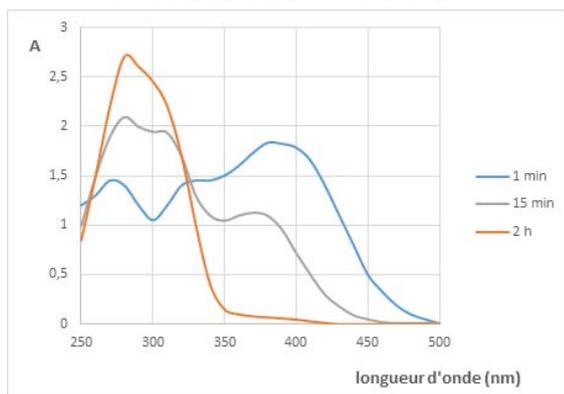
Document 1c : Spectres d'absorption de l'acide chlorogénique dans différentes solutions.

i) Spectre d'absorption de l'acide chlorogénique à 0,006 % en tampon phosphate pH 6,5

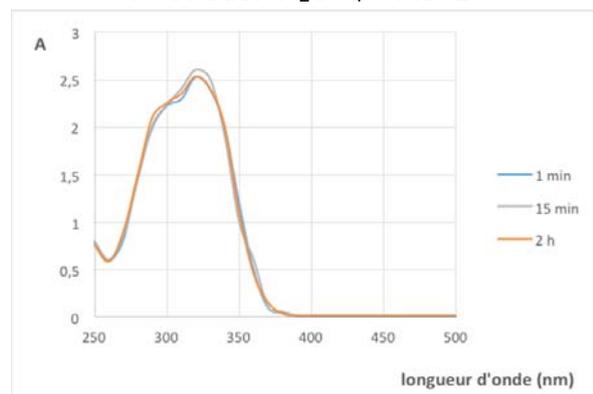


ii) Spectres d'absorption de l'acide chlorogénique à 0,006 % pour la détermination de la stabilité dans le temps du substrat en fonction du diluant :

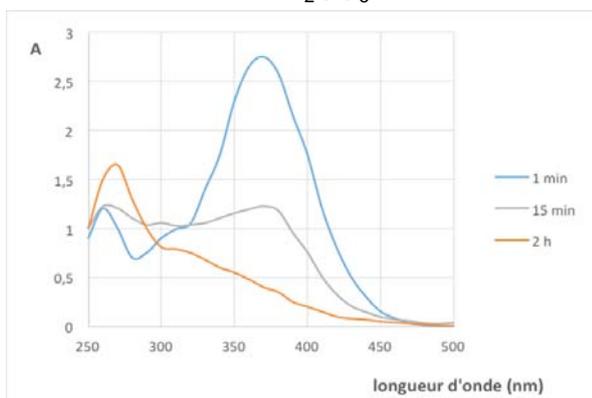
en solution NaOH 1 mol·L⁻¹



en solution H₂SO₄ 1 mol·L⁻¹



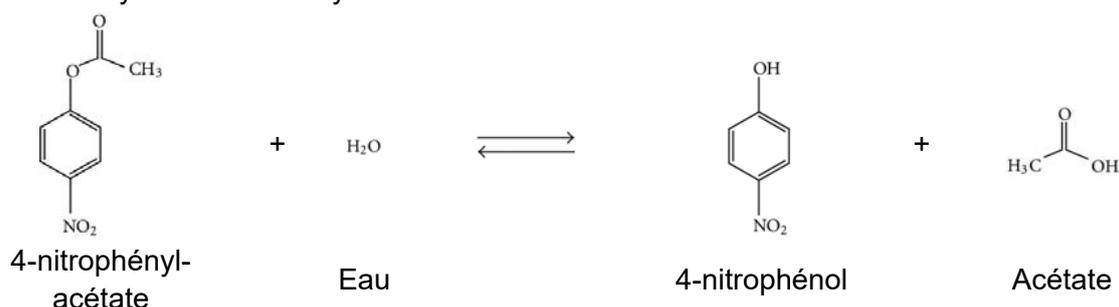
en solution Na₂CO₃ 1 mol·L⁻¹



Document 1d : mesure de l'activité cinnamoyl estérase par la méthode du substrat pNPA

Principe

- La cinnamoyl estérase catalyse la réaction suivante :



- La mesure de l'absorbance à 405 nm liée à l'apparition du produit 4-nitrophénol permet de quantifier l'activité cinnamoyl estérase.
- $\epsilon_{4\text{-nitrophénol}}^{405\text{ nm}} = 16\,500\text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ à pH 8.
- Une unité enzymatique est, dans ce cas, définie comme la quantité d'enzyme qui hydrolyse 1 μmol de substrat par minute à pH 8 et à 45 °C.
- La cinnamoyl estérase d'*Aspergillus niger* a une activité de pH 3 à 8.

Matériels et réactifs

Nom	Composition	Conditionnement
Tp Tris pH 8	Tampon Tris 20 mmol·L ⁻¹ à pH 8	30 mL
pNPA	Solution de 4-nitrophényl-acétate (pNPA) de concentration 10 mmol·L ⁻¹ en tampon Tris 20 mmol·L ⁻¹ à pH 8	1 mL
Extrait enzyme	Solution d'extraits enzymatiques à 10 g·L ⁻¹ en tampon phosphate 0,1 mol·L ⁻¹ à pH 6,5	5 mL
H ₂ SO ₄ 1 M	Acide sulfurique 1 mol·L ⁻¹	50 mL
NaOH 1 M	Hydroxyde de sodium 1 mol·L ⁻¹	50 mL
Na ₂ CO ₃ 1 M	Carbonate de sodium 1 mol·L ⁻¹	50 mL

- Bain thermostaté à 45 °C
- Microtubes
- Microcuves pour lecture dans le visible
- Spectrophotomètre visible thermostaté à 45 °C

Mode opératoire

La mesure de l'activité enzymatique se fait à 45 °C par une méthode cinétique.

- Préchauffer un volume suffisant de tampon pour réaliser l'ensemble des essais.
- Dans une microcuve, introduire :
 - 940 μL de tampon préchauffé à 45 °C
 - 10 μL de pNPA
 - 50 μL d'enzyme
- Mesurer l'absorbance à 405 nm pendant 5 minutes à 45 °C.

Document 2 : dénombrement des levures par méthode directe

Données

Pour un dénombrement optimal en hématimètre, il convient de compter au moins 200 éléments dans un nombre entier d'unité de comptage de l'hématimètre à la condition que le nombre d'éléments par rectangle soit compris entre 20 et 50.

$$CV_{u_c} = 4 \%$$

Le bleu de méthylène de Funk est réduit en un produit non coloré dans les cellules vivantes.

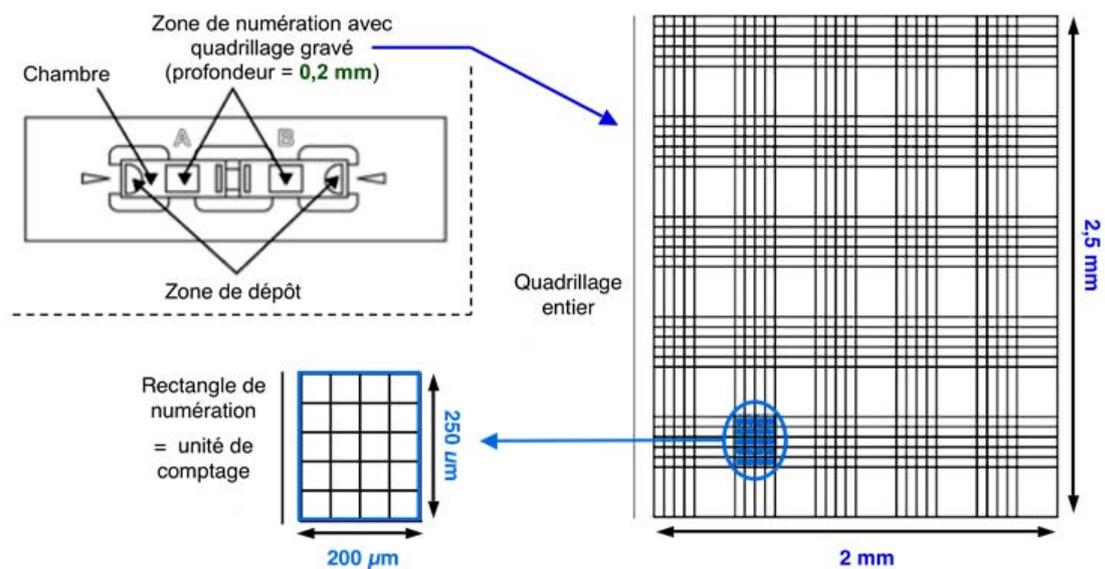
Matériel et réactifs

Nom	Composition	Conditionnement
E	Suspension de levures préparée à partir d'un culot de centrifugation de 40 mL de l'échantillon (V) repris dans 2 mL d'eau physiologique	2 mL
Funk 2X	Bleu de méthylène de Funk 2X	0,5 mL

- Microtubes
- Hématimètre à usage unique (fiche technique ci-après)
- Compteur manuel

Fiche technique de l'hématimètre de Malassez

Le dénombrement est réalisé en utilisant un microscope et un hématimètre à usage unique dont les caractéristiques sont présentées ci-après.



Document 3 : dénombrement des levures *B. bruxellensis* d'un extrait de vin en surface d'un milieu gélosé

Matériel et réactifs

Nom	Composition	Conditionnement
V	Échantillon de vin stérilisé ensemencé avec $5 \cdot 10^5$ levures <i>B. bruxellensis</i> ·mL ⁻¹ et dont on a éliminé les tannins et l'ATP libre	4 mL
Eau	Eau physiologique stérile	10 mL
BRET	Gélose <i>Brettanomyces</i> en boîte de Petri	15 mL

- Tubes à hémolyse stériles
- Flacon de billes de verre stériles
- Pot en verre pour récupérer les billes de verre

Mode opératoire

1. Réaliser des dilutions décimales de (V) en eau physiologique sous un volume de 1 mL en tubes à hémolyse
2. Déposer 100 µL de dilution à la surface d'une gélose *Brettanomyces*
3. Étaler à l'aide de billes de verre stériles
4. Récupérer les billes de verre dans un pot en verre contenant du désinfectant
5. Incuber les milieux ensemencés 7 jours à 28 °C.

Suite du document à la page suivante

Données : extrait de la norme ISO 7218:2007 concernant les dénombrements en microbiologie alimentaire

- ✓ Cette norme officialise le passage à 1 seule boîte par dilution.
- ✓ Pour le choix des dilutions à retenir pour le calcul (cas de dénombrements en boîtes de 90 mm de diamètre) :

Retenir deux dilutions successives dont :

- l'une au moins présente un minimum de 10 colonies,
 - le nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte ; le nombre maximal des colonies caractéristiques ou présumées est de 150 par boîte (cas de la présence d'un agent de différenciation),
 - le nombre de colonies est compris entre 10 et 150 pour les levures et moisissures.
- ✓ Le **calcul** du nombre d'UFC, par mL ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre d'UFC obtenues sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 10 UFC.
Ce calcul n'est valable que dans le cas général où le rapport du nombre de colonies entre les deux dilutions n'est pas trop éloigné du facteur de dilution appliqué entre ces dernières.

$$N = \sum c / (V \cdot 1,1 \cdot d)$$

avec :

N = concentration en microorganismes exprimée en unité formant colonies par mL

$\sum c$ = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au minimum 10 colonies

V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitre

d = dilution correspondant à la première boîte retenue. Dilution considérée par rapport à l'échantillon brut (non dilué).

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

- ✓ **Cas des petits nombres :**
 - Si le nombre de colonies à la dilution la plus faible est compris entre 4 et 10 : appliquer le calcul ci-dessus et exprimer le résultat comme le "nombre estimé de microorganismes par g ou par mL".
 - Si le nombre de colonies à la dilution la plus faible est compris entre 1 et 3, exprimer le résultat comme : "le microorganisme est présent mais avec moins de (4/d) microorganismes par g ou par mL".
 - Si la dilution la plus faible ne contient aucune colonie, exprimer le résultat comme "moins de (1/d) microorganismes par g ou par mL".
- (d = dilution la plus faible testée ; dilution considérée par rapport au produit brut).

Suite du document à la page suivante

✓ **Limites de confiance**

Pour estimer la validité du résultat et éviter des interprétations trop strictes, il est nécessaire de déterminer l'intervalle de confiance caractérisant la répartition statistique des micro-organismes dans l'échantillon.

D'autres variations dues à la technique elle-même interviennent, en particulier celles liées aux erreurs de dilution, dont l'importance varie d'un laboratoire à un autre.

Avec une probabilité de 95%, l'intervalle de confiance $\square\square\square$ caractérisant la dispersion microbienne dans l'échantillon, est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\square = \left[\frac{\sum C}{B} + \frac{1,92}{B} \pm \frac{1,96 \sqrt{\sum C}}{B} \right] * \frac{1}{d}$$

Avec $B = V * 1,1$

Et où

$\sum C$ = somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient 10 colonies

V = volume d'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres

d = dilution correspondant à la première boîte retenue. Dilution considérée par rapport à l'échantillon brut (non dilué).

Document 4 : PCR quantitative en temps réel

Principe

La présence de l'ADN de *B. bruxellensis* est quantifiée par une technique de PCR quantitative en temps réel.

La réaction en chaîne par polymérase en temps réel est le processus permettant de suivre la progression de la PCR tout au long de la réaction. La méthode de dosage de l'ADN de *B. bruxellensis* utilise, dans le cas présent, le colorant SybrGreen, un colorant se liant à l'ADN double brin associé à un détecteur quantitatif de fluorescence.

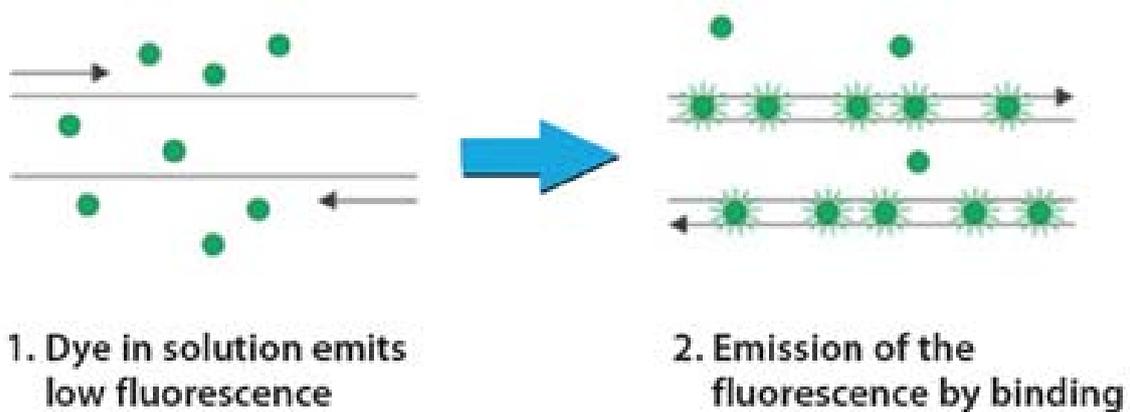


Figure 1 : fixation du SybrGreen sur l'ADN double brin

Les produits de PCR sont ainsi détectés en temps réel au cours des cycles de PCR.

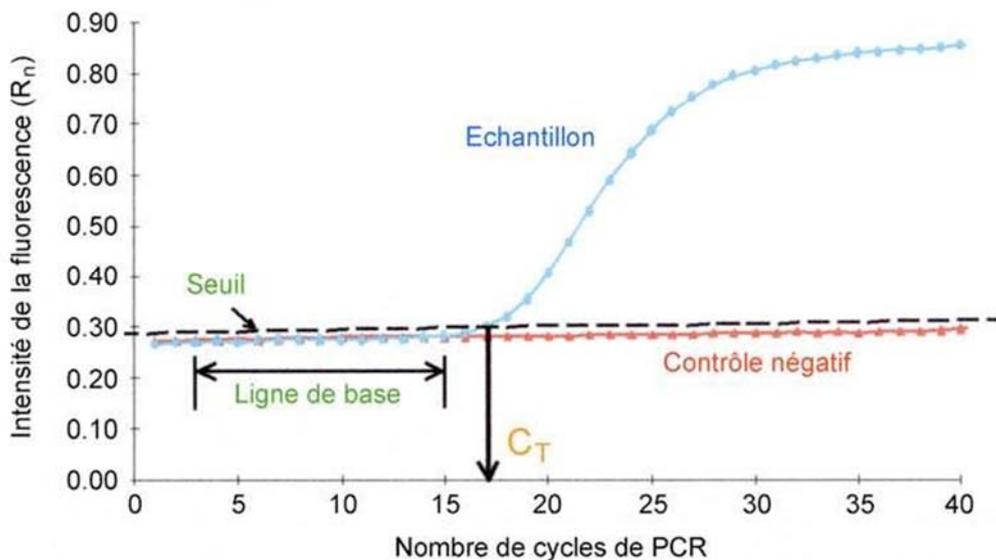


Figure 2 : Mesure de l'intensité de fluorescence au cours des cycles de PCR en temps réel

La méthode de PCR en temps réel peut être quantitative (qPCR) car le moment où l'amplification d'une cible est détectée (Ct) est inversement proportionnel au nombre de copies d'ADN présentes au départ.

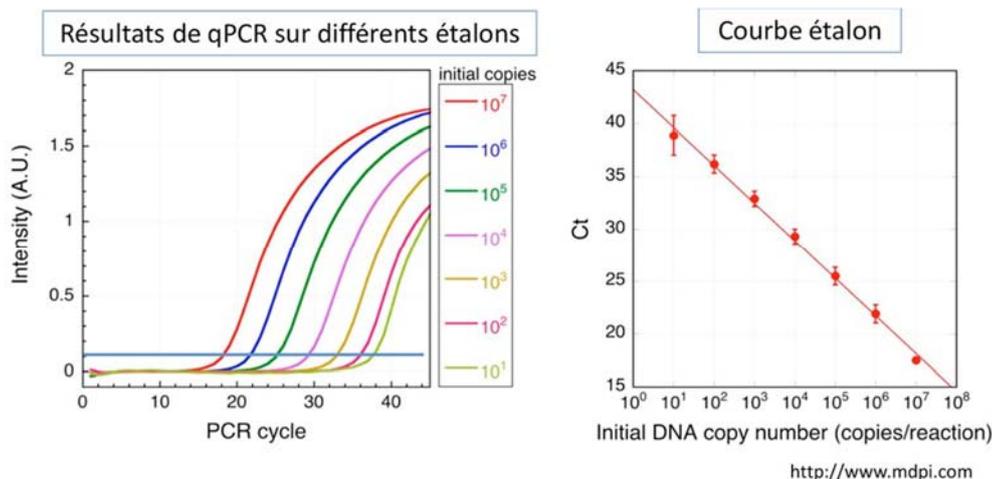


Figure 3 : Exemples de courbe étalon par la méthode de PCR en temps réel

Réactifs et matériels

Nom	Composition	Conditionnement
Mix 2X	Mix non spécifique commercial Bio-Rad iQ SybrGreen, concentré 2X, contenant une iTaq BioRad thermo-activable, un mélange des 4 dNTP, un tampon approprié et du SybrGreen	140 μL
DBRUXF	Amorce DBRUXF à $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	25 μL
DBRUXR	Amorce DBRUXR à $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	25 μL
Eau BM	Eau qualité Biologie Moléculaire (BM)	1000 μL
ADN ref	Extrait d'ADN de <i>B. bruxellensis</i> à $30 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ (souche de référence)	20 μL
ADN essai	Extrait d'ADN à quantifier	20 μL

- 1 microtube de 1,5 mL stérile
- 3 microtubes de 200 μL stériles
- Barrette de 6 microtubes qPCR

Une gamme de 4 concentrations connues d'ADN de *Brettanomyces bruxellensis* est réalisée pour étalonner la méthode.

Mode opératoire

a. Préparation de la gamme d'ADN

Préparer 3 dilutions décimales en série de la solution « ADN ref » sous un volume de 100 μL (en eau qualité BM et en microtubes stériles de 200 μL).

b. Organisation de la barrette et composition des milieux réactionnels

Dans un microtube de 1,5 mL stérile, préparer un milieu réactionnel global suffisant pour 10 réactions de PCR en respectant la composition suivante :

- Mix non spécifique BioRad 125 μ L
- Amorce DBRUXF 20 μ L
- Amorce DBRUXR 20 μ L
- Eau BM 35 μ L

Distribuer 20 μ L de milieu réactionnel global dans chacun de 6 microtubes de la barrette fournie. Ajouter dans chaque microtube de la barrette 5 μ L de solution d'ADN matrice en respectant l'organisation suivante :

1	2	3	4	5	6
« ADN ref » Non dilué	« ADN ref » 1/10 ^e	« ADN ref » 1/100 ^e	« ADN ref » 1/1000 ^e	« ADN essai »	« ADN essai »

Ajouter une goutte d'huile minérale dans chaque microtube de la barrette. Demander l'huile aux examinateurs.

c. Amplification

Une fois la barrette préparée, la remettre aux examinateurs qui la placeront dans le thermocycleur.

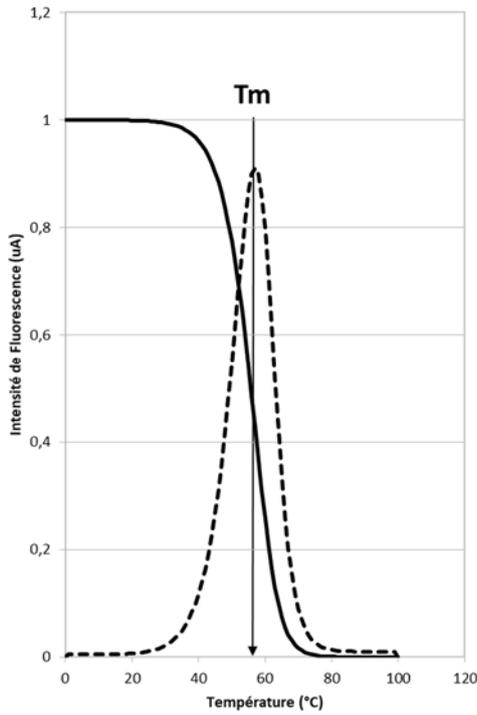
Les étapes du cycle sont programmées de la façon suivante :

1. 95 °C : 3 min
2. 94 °C : 10 s
3. 62 °C : 45 s
4. Lecture de la fluorescence
5. Retour étape 2 : 35 fois
6. 60 °C : 3 minutes
7. Courbe de fusion de 60 °C à 95 °C ; lecture à chaque incrément de 0,5 °C après séjour de 2 s
8. Maintien à 7 °C

Données

- Taille du génome de *B. bruxellensis* : 13,1.10⁶ pb
- Masse molaire moyenne d'une paire de base : 655 g·mol⁻¹
- Nombre d'Avogadro : 6,02.10²³ mol⁻¹
- Amplification d'une région de 77 pb de l'ADN du gène codant l'ARN 23S de *B. bruxellensis*
- Amorces
DBRUXF : 5'-GGATGGGTGCACCTGGTTTACAC-3' T_m = 65,1 °C
DBRUXR : 5'-GAAGGGCCACATTCACGAACCCCG-3' T_m = 69,0 °C
- Dans les conditions opératoires : deux résultats sont considérés comme répétables si la différence entre les deux valeurs de Ct est inférieure à 0,5.

Validation de la spécificité de la PCR en temps réel



Lors de la réalisation d'une courbe de fusion, les deux brins de la double hélice se séparent, ceci provoque une diminution progressive de la fluorescence dans le puits.

La température de semi-dénaturation (T_m) correspond à la température correspondant au point d'inflexion de la partie décroissante de la courbe Intensité de Fluorescence $F = f(T)$.

Le tracé de l'opposée de la dérivée de cette courbe de fusion ($-dF/dT$) génère une courbe gaussienne centrée sur le point d'inflexion, ce qui facilite la détermination de la valeur de la T_m du (ou des) amplicon(s).

Figure 4 : exemple de courbe de fusion réalisée lors d'une qPCR

Document 5 : Principe du « Brett alert » pour le dosage des *Brettanomyces* lors de la vinification par ATPmétrie

Étapes de la procédure de dosage des *Brettanomyces* par la méthode « Brett alert »

1. Prélèvement juste au-dessus des lies, là où les *Brettanomyces* sont majoritaires.

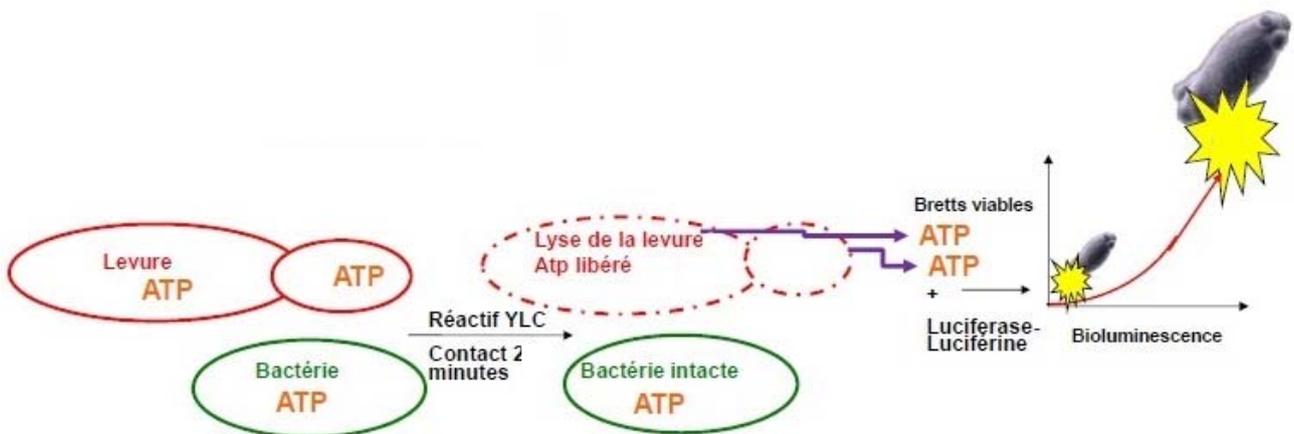
2. Elimination des tanins et de l'ATP libre grâce à une solution de lessivage.

3. Perméabilisation des membranes des levures grâce au réactif breveté YLC sans perméabilisation des membranes bactériennes

4. Mesure de l'ATP libre grâce au luminomètre



Figure 1 : localisation du prélèvement de vin



La bioluminescence émise est proportionnelle à la taille et au nombre de *Brettanomyces* viables.

Figure 2 : Schéma de principe du dosage de l'ATP libre par la méthode « Brett alert »

Document 6 : Mesure d'ATPmétrie par le luminester PD-30

Réactifs et matériels

Nom	Composition	Conditionnement
V	Échantillon de vin stériliséensemencé avec $5 \cdot 10^5$ levures <i>B. bruxellensis</i> ·mL ⁻¹ et dont on a éliminé les tannins et l'ATP libre	4 mL
Vster	Échantillon de vin stérilisé dont on a éliminé les tannins et l'ATP libre	2 mL
Réactif YLC	Réactif Brett Alert de perméabilisation sélective des levures	0,2 mL

- 2 écouvillons dans leur étui : LuciPac™ pen
- Luminomètre Lumitester™ PD-30 ou Smart

Protocole de mesure dans un échantillon liquide

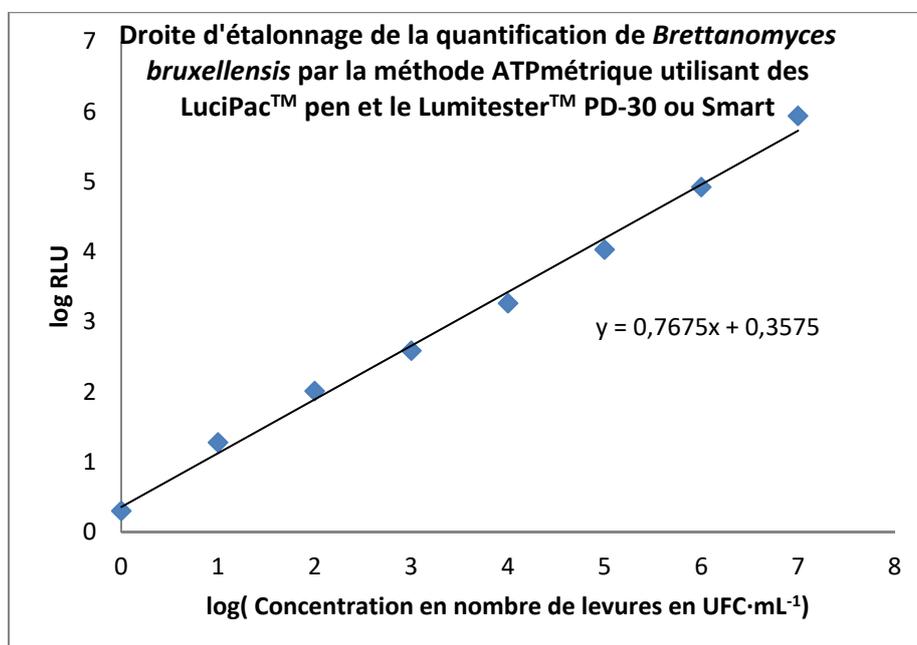
1. Ajouter 20 µL de réactif YLC à 2 mL de suspension à analyser.
2. Laisser à température ambiante pendant 2 minutes.
3. Sortir l'écouvillon de son étui et le tremper quelques secondes dans la suspension préalablement préparée.
4. Sortir l'écouvillon du liquide en le laissant s'égoutter sans l'essorer (le volume de prélèvement est alors de 100 µL).
5. Replacer l'écouvillon dans son étui.
6. Pousser sur l'écouvillon pour qu'il entre en contact avec les réactifs contenus dans la cupule inférieure.
7. Vérifier que le tampon soit bien descendu. Sinon, ressortir légèrement l'écouvillon pour faire un appel d'air.
8. Agiter quelques secondes pour dissoudre les réactifs.
9. Placer le tout dans la chambre de mesure du luminomètre.
10. Fermer le couvercle et appuyer sur « enter ». Bien maintenir l'appareil vertical pendant les 10 secondes de mesure.

Suite du document à la page suivante

Étude de linéarité sur les levures

Étude de linéarité réalisée par mesure d'ATPmétrie par le luminester PD-30 sur des dilutions au 1/10^{ème} successives en eau physiologique stérile d'une suspension mère de *Brettanomyces bruxellensis*. La concentration de la suspension mère a été déterminée par dénombrement en surface sur gélose BRET.

Concentration UFC·mL ⁻¹	ATP RLU (relative Light Unit)	log concentration	log RLU
1,00E+07	876976	7	5,94
1,00E+06	84416	6	4,92
1,00E+05	10794	5	4,03
1,00E+04	1845	4	3,26
1,00E+03	388	3	2,58
1,00E+02	103	2	2,01
1,00E+01	19	1	1,28



Document 7 : aide-mémoire de métrologie

On considère que les qualités de justesse et de fidélité des procédures de mesure utilisées ont été étudiées et reconnues.

Vérification de la bonne exécution de la procédure

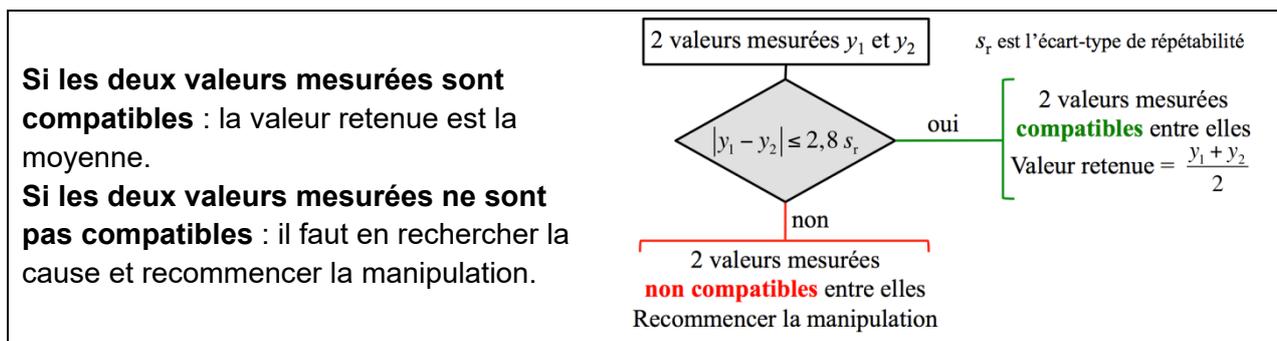
Lorsqu'un mesurage est effectué, deux types de vérification sont proposés afin de pouvoir accepter les valeurs mesurées obtenues pour des échantillons inconnus.

On effectue, dans la même série de mesurages :

- un essai sur un étalon de contrôle ; la valeur mesurée obtenue est notée y_{EC} .
- un ou deux essais sur chacun des échantillons à doser.

Vérification de la compatibilité métrologique dans le cas de deux essais effectués en répétabilité

Soient deux valeurs mesurées (y_1 et y_2) pour un même échantillon et l'écart-type de répétabilité (s_r) de la procédure de mesure correspondant à cet échantillon. Le logigramme de compatibilité à appliquer est le suivant :



Guide pour l'expression du résultat de mesure

L'incertitude élargie (U) est directement donnée avec son niveau de confiance ou calculée en multipliant l'incertitude-type composée (u_c) par le facteur d'élargissement k , par exemple $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95 %.

L'incertitude élargie est ensuite arrondie. Selon les cas :

- si le premier chiffre significatif est 1, 2, 3 ou 4 : garder deux chiffres significatifs ;
- si le premier chiffre significatif est 5 ou plus : garder un chiffre significatif.

La valeur retenue du résultat est arrondie de la façon suivante : le dernier chiffre significatif doit être à la même position décimale que le dernier chiffre de l'incertitude élargie.

Expression du résultat de mesure

$$\text{Grandeur mesurée}_{(\text{analyte ; système})} = (\text{valeur retenue} \pm U) \text{ unité}$$

Données de sécurité

CLASSIFICATION ET ÉTIQUETAGE SELON LE RÈGLEMENT CLP

Note: le contenu de ce tableau est une traduction libre effectuée par le Service National d'assistance réglementaire sur REACH et CLP. Il est susceptible d'évoluer en fonction des modifications apportées au règlement CLP (Adaptations au Progrès Techniques ou ATP) (www.reach-clp-info.fr).

CLASSIFICATION			ÉTIQUETAGE			
Danger	Catégorie	Abréviation (sans mention H)	Pictogramme + code*	Mention d'avertissement	Mention de danger	
					Code*	Texte
Toxicité aiguë	Catégorie 1	Acute Tox. 1	 GHS 06	Danger	H300	Mortel en cas d'ingestion
	Catégorie 2	Acute Tox. 2			H310	Mortel par contact cutané
	Catégorie 3	Acute Tox. 3			H330	Mortel par inhalation
	Catégorie 4	Acute Tox. 4	 GHS 07	Attention	H301	Toxique en cas d'ingestion
Corrosion / Irritation cutanée	Catégorie 1A	Skin Corr. 1A	 GHS 05	Danger	H314	Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
	Catégorie 1B	Skin Corr. 1B				
	Catégorie 1C	Skin Corr. 1C				
	Catégorie 2	Skin Corr. 2	 GHS 07	Attention	H315	Provoque une irritation cutanée
Lésions oculaires graves/irritation oculaire	Catégorie 1	Eye Dam. 1	 GHS 05	Danger	H318	Provoque des lésions oculaires graves
	Catégorie 2	Eye Dam. 2	 GHS 07	Attention	H319	Provoque une sévère irritation des yeux
Sensibilisation respiratoire/cutanée	Sensibilisants respiratoires Catégorie 1 et sous-catégories 1A et 1B	Resp. Sens. 1 1A ou 1B	 GHS 08	Danger	H334	Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation
	Sensibilisants cutanés Catégorie 1 et sous-catégories 1A et 1B	Skin. Sens. 1 1A ou 1B	 GHS 07	Attention	H317	Peut provoquer une allergie cutanée
Toxicité spécifique pour certains organes cibles (exposition unique)	Catégorie 1	STOT SE 1	 GHS 08	Danger	H370	Risque avéré d'effets graves pour les organes ^(6, 7)
	Catégorie 2	STOT SE 2		Attention	H371	Risque présumé d'effets graves pour les organes ^(6, 7)
	Catégorie 3	STOT SE 3	 GHS 07	Attention	H335	Peut irriter les voies respiratoires
Toxicité spécifique pour certains organes cibles (exposition répétée)	Catégorie 1	STOT RE 1	 GHS 08	Danger	H372	Risque avéré d'effets graves pour les organes ⁽⁶⁾ à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée ⁽⁷⁾
		STOT RE 2		Attention	H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes ⁽⁶⁾ à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée ⁽⁷⁾

⁽⁶⁾ = (indiquer les organes affectés, s'ils sont connus)
⁽⁷⁾ = (indiquer la voie d'exposition s'il est formellement prouvé qu'aucune autre voie d'exposition ne conclut au même danger)

Extrait de la fiche de données de sécurité du méthanol

Éléments d'étiquetage



Mention d'avertissement

Danger

Mentions de danger

H225 - Liquide et vapeurs très inflammables
H301 - Toxique en cas d'ingestion
H311 - Toxique par contact cutané
H331 - Toxique par inhalation
H370 - Risque avéré d'effets graves pour les organes

Conseils de prudence

P210 - Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. - Ne pas fumer
P280 - Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage
P301 + P310 - EN CAS D'INGESTION: appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin
P302 + P350 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver avec précaution et abondamment à l'eau et au savon
P304 + P340 - EN CAS D'INHALATION: transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer
P240 - Mise à la terre/liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception

Contrôle de l'exposition

- Utiliser seulement sous une hotte contre les vapeurs de produits chimiques.
- S'assurer que les rince-œil et les douches de sécurité sont proches du poste de travail.
- Équipement de protection individuelle :
 - Protection des yeux : lunettes de sécurité à protection intégrale (norme européenne - EN 166)
 - Protection des mains : gants de protection

Matériau des gants	Le temps de passage	Épaisseur des gants	La norme européenne	Commentaires à gants
Caoutchouc butyle Viton (R)	> 480 minutes > 480 minutes	0.35 mm 0.70 mm	Niveau 6 EN 374	Comme testé sous EN374-3 Détermination de la résistance à la perméation des produits chimiques
Gants néoprène Caoutchouc nitrile	< 60 minutes < 30 minutes	0.45 mm 0.38 mm		

- Protection de la peau et du corps : vêtements à manches longues

Données pour la détermination des éléments d'étiquetage du H₂SO₄ 1 mol·L⁻¹

Masse molaire de l'H₂SO₄ = 98,1 g·mol⁻¹

Masse volumique de la solution de H₂SO₄ à 1 mol·L⁻¹, ρ = 1,04 kg·L⁻¹

Limites de concentration spécifiques (LCS) pour le H₂SO₄ (Extrait du Règlement (UE) n° 1272/2008 pour l'étiquetage des substances dangereuses) :

LCS de H ₂ SO ₄	C ≥ 15 % (m/m)	5 % (m/m) ≤ C < 15 % (m/m)	
Danger	Skin Corr 1A	Skin Irr 2	Eye Irrit 2
Phrase H associée	H314	H315	H319
	H290	H290	

Les limites de concentration spécifiques sont exprimées en fraction massique (g de substance pour 100 g de solution)

Extrait de la fiche de données de sécurité du NaOH 1 mol·L⁻¹

Éléments d'étiquetage

Pictogrammes de danger



Mention d'avertissement

Danger

Mentions de danger

H290 Peut être corrosif pour les métaux.

H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

Conseils de prudence

Prévention

P280 Porter des gants de protection/ des vêtements de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

Intervention

P301 + P330 + P331 EN CAS D'INGESTION: rincer la bouche. NE PAS faire vomir.

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P308 + P310 EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée: Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Extrait de la fiche de données de sécurité du Na₂CO₃ 1 mol·L⁻¹

Éléments d'étiquetage

Pictogrammes de danger



Mention d'avertissement

Attention

Mentions de danger

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

Conseils de prudence

Intervention

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Valeurs seuils

Les valeurs seuils indiquent, pour un danger donné, les teneurs à partir desquelles une substance dangereuse (présente en tant qu'impureté, additif ou en tant que composant d'un mélange) doit être prise en compte en vue de la classification d'une substance ou d'un mélange.

Des valeurs seuils génériques sont définies.

[Tableau 2] Valeurs seuils génériques (d'après le tableau 1.1 de la section 1.1.2.2.2 de l'annexe I du règlement CLP)

Catégorie de danger	Valeurs seuils génériques à prendre en compte
Toxicité aiguë : • Catégories 1 à 3 • Catégorie 4	0,1 % 1 %
Corrosion/irritation cutanée	1 % ⁽¹⁾
Lésions oculaires graves / irritation oculaire	1 % ⁽²⁾
Dangereux pour le milieu aquatique: • Toxicité aiguë, catégorie 1 • Toxicité chronique, catégorie 1 • Toxicité chronique, catégories 2 à 4	0,1 % ⁽³⁾ 0,1 % ⁽³⁾ 1 %

Rapport du jury

Résultats de l'épreuve

23 candidats relevant de l'agrégation ont composé :

- 1 candidat a obtenu une note supérieure à 15,
- 3 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 12 et strictement inférieure à 14
- 4 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12
- 6 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,
- 5 candidats ont obtenu une note inférieure à 06.

La moyenne générale de l'épreuve est de 08,76/20.

La moyenne des candidats admis est de 11,375/20.

La meilleure note est de 15,83/ 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 comportait deux parties indépendantes, sensiblement équivalentes en termes de durée de réalisation et de pondération (respectivement 40 et 60 % de la note finale) et nécessitait la mise en œuvre de plusieurs manipulations mobilisant différentes activités technologiques au programme des enseignements de biotechnologie. Ces manipulations 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. Volontairement, le jury a proposé un sujet plus court que ceux des années précédentes afin que les candidats consacrent plus de temps à la partie rédactionnelle (60 % de la note finale), sans négliger toutefois la partie expérimentale. Cette décision semble avoir porté en partie ses fruits car les candidats ont fait preuve de beaucoup de calme tout au long de l'épreuve sans faire preuve d'une attitude débordée.

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 deux parties indépendantes qui 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. A ce titre, le jury a été ravi de constater que ce sujet raccourci a permis à un nombre certain de candidats de s'essayer aux questions de synthèse et même à quelques-uns de réaliser l'intégralité du sujet. Il rappelle néanmoins que les candidats doivent faire preuve d'une certaine technicité et de sens pratique afin de ne pas perdre de temps et générer des résultats expérimentaux aberrants. A ce titre, une préparation en amont rigoureuse et approfondie aux gestes de manipulation est très fortement conseillée aux candidats qui ne seraient pas, ou plus trop, familiers avec ceux-ci.

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 pendant lesquels les prendre permet aux candidats de ne pas fractionner ce temps de pause de façon trop importante, ce qui irait à l'inverse de l'objectif fixé de repos en cours d'épreuve et ne leur permettrait pas de se ressourcer correctement.

PARTIE 1 : Cinnamoyl estérase : l'indésirable

Cette partie du sujet présentait comme élément de complexité que les candidats fassent preuve de rigueur organisationnelle et réalisent très méthodiquement l'ensemble des expériences de la partie enzymatique. En effet, trois méthodes différentes de cinétique étaient demandées et imposaient à la fois une bonne gestion du matériel (types de cuves, appareillages, spectrophotomètres), des réactifs (solutions d'arrêt, tampons et substrats différents) et du temps (cinétique en continu ou deux points).

A. Adaptation du protocole de référence de l'OIV pour le dosage de la cinnamoyl estérase

Cette partie consistait en l'adaptation d'un protocole de référence provenant de l'OIV (Organisation Internationale de la vigne et du vin) et permettant le dosage de la cinnamoyl estérase, une enzyme responsable de modifications organoleptiques indésirables dans le vin. Ce protocole de référence est une méthode cinétique en deux points. Il nécessite l'utilisation de méthanol comme réactif d'arrêt qui ne peut être mise en œuvre en classe de terminale STL biotechnologies.

Partie « Questions préliminaires »

Les candidats disposaient de trois réactifs d'arrêt. Ils devaient, dans un premier temps, sélectionner le réactif d'arrêt idoine à travers une étude, d'une part, de leur effet sur la stabilité du substrat au cours du temps et, d'autre part, de leur dangerosité. Ils devaient ensuite proposer une adaptation du protocole. Cette partie a été traitée par tous les candidats mais de manière hétérogène dans la mesure où le choix du réactif d'arrêt n'a pas toujours été le bon. En effet, le jury attendait des candidats qu'ils analysent les spectres d'absorption de l'acide chlorogénique au sein des différents réactifs d'arrêt proposés et les comparent à celui obtenu dans le tampon utilisé pour la réaction enzymatique afin d'en conclure que seul le H_2SO_4 offrait une stabilité temporelle suffisante pour mettre en œuvre correctement la manipulation. Par ailleurs, le jury attendait des candidats qu'ils calculent la fraction massique de H_2SO_4 dans le milieu de lecture afin d'identifier les potentiels risques chimiques encourus par les élèves. Pour ce faire, ils disposaient de la masse volumique de l'acide sulfurique.

Partie « Mise en œuvre »

La plupart des candidats a bien réalisé les tests de cinétique enzymatique proposés, en veillant tout particulièrement à la température et à la durée d'incubation. Les candidats devaient ensuite mettre en œuvre le mode opératoire adapté. Le jury a été très surpris que très peu de candidats ne contrôlent pas la température des bains thermostatés avec les thermomètres fournis avant d'effectuer la manipulation. En effet, comme chacun le sait, la température est un paramètre crucial lors d'un dosage enzymatique et de faibles variations de celle-ci peuvent parfois avoir des conséquences importantes sur les résultats obtenus.

B. Dosage de l'activité cinnamoyl estérase par la méthode au pNPA

Cette partie consistait en l'étude du dosage de la cinnamoyl estérase par une méthode alternative utilisant un autre substrat, le 4-nitrophényl-acétate (pNPA), transformé en 4-nitrophénol, produit de couleur jaune en milieu alcalin.

Deux méthodes de dosage, cinétique en continu et deux points, ont permis d'évaluer la capacité technique des candidats à déclencher une cinétique enzymatique avec rigueur, à obtenir des résultats de qualité et savoir les exploiter de façon correcte.

Partie « Dosage de l'activité cinnamoyl estérase en cinétique en continu par la méthode au pNPA »

Les candidats devaient mettre en œuvre le protocole proposé et analyser les résultats en déterminant notamment l'activité spécifique. Pour cela, ils disposaient de spectrophotomètres semi-automatisés qui déterminaient directement la variation d'absorbance au cours du temps. Il n'était donc pas nécessaire de diviser à nouveau les variations d'absorbance mesurées par le temps de réalisation de la manipulation. Par ailleurs, le jury a constaté que certains candidats ne connaissent pas qu'il est possible d'utiliser des spectrophotomètres en mode cinétique et, malgré le fait que la fiche technique était fournie à côté des appareils, n'ont pas utilisé cette fonction. Ils ont alors perdu énormément de temps en relevant les absorbances puis en traçant des droites sur ordinateur afin de calculer des pentes alors que celles-ci étaient directement affichées par le spectrophotomètre.

Le jury tient à attirer l'attention des candidats sur l'importance d'une bonne maîtrise des définitions des différentes grandeurs pouvant être calculées à partir d'une détermination de la variation d'absorbance au cours du temps lorsque l'enzyme est saturée et fonctionne dans des conditions optimales.

Partie « Dosage de l'activité cinnamoyl estérase en cinétique « deux points » par la méthode au pNPA »

Dans cette sous-partie, les candidats devaient adapter le protocole précédent afin de réaliser des mesures de cinétique en deux points. Cette partie a permis de mettre en évidence la capacité des candidats à proposer un protocole réalisable en lycée.

Le jury attendait donc que les candidats intègrent les résultats expérimentaux de la méthode cinétique en continu mais également ceux de la partie précédente. Compte-tenu des propriétés spectrales du produit formé (4-nitro-phénol), l'acide sulfurique ne pouvait pas être retenu comme réactif d'arrêt. Il s'agissait donc de déterminer lequel des deux autres réactifs d'arrêt, NaOH ou Na₂CO₃, convenait le mieux. Ainsi, il fallait, d'une part, prévoir la composition des deux tubes de mesure (t = 0 min et x min choisi par les candidats) et, d'autre part, déterminer les témoins à réaliser. Concernant ce dernier point, les candidats devaient non seulement s'assurer que le réactif utilisé arrêtait effectivement la réaction (par exemple en mesurant l'absorbance 10 min après ajout du réactif d'arrêt) mais également que le substrat utilisé était stable dans le temps (témoin d'auto-hydrolyse).

Les questions 1.12 et 1.13 ont été peu ou partiellement traitées, le plus souvent par manque de données expérimentales convenables.

PARTIE 2 : Dénombrement des *Brettanomyces*

Cette partie proposait de comparer quatre techniques de dénombrement des *Brettanomyces* dans le vin. Les questions du sujet permettaient de guider la réflexion des candidats sur les différents critères attendus.

A. Dénombrement par numération directe en hématimètre

Si la réalisation de cette technique très classique a été globalement réussie dans ses étapes de mise au point, l'étape de comptage s'est toutefois révélée être plus délicate pour certains candidats. Si tous les candidats ont su distinguer les cellules mortes des cellules vivantes, la difficulté provenait de la présence de bourgeons. Ainsi, dans le cadre d'une comparaison avec un dénombrement en milieu gélosé, il semblait judicieux de ne pas compter les bourgeons plus petits que la cellule mère qui ne donneraient qu'une UFC après culture. Le jury rappelle l'importance d'une lecture approfondie du sujet avant de commencer les manipulations. En effet, beaucoup de candidats ont oublié, lors de ce comptage, d'observer l'aspect morphologique de *Brettanomyces*, pourtant essentiel pour la comparaison avec celui de *Saccharomyces cerevisiae*. Certains candidats ont donc perdu du temps à faire deux états frais.

L'exploitation des résultats a posé plus de problèmes aux candidats. En effet, si la majorité des candidats a bien présenté les résultats de comptage sous forme d'un tableau, il était néanmoins important que ce dernier contienne toutes les informations nécessaires c'est-à-dire les levures comptées en précisant leur état et le volume de comptage. Ainsi, l'exploitation des résultats de certains candidats était difficile à comprendre, soit par manque d'équation aux grandeurs, soit par une équation aux valeurs numériques incomplète. D'autre part, le jury s'étonne de constater que certains candidats ont omis de prendre en compte la dilution liée à l'ajout du bleu de Funk pour obtenir la concentration dans l'extrait E. La présentation des résultats avec son incertitude ainsi que le calcul du pourcentage de viabilité ont été globalement bien effectués même si certains candidats ont perdu du temps à calculer une incertitude sur le pourcentage de viabilité qui ne présentait ici aucun intérêt. Ce point souligne de nouveau un certain manque de recul vis-à-vis du sujet, l'incertitude devant servir à la comparaison des résultats de dénombrement dans la partie E (i.e. synthèse). Mais le jury a noté que c'est le fait de compter les cellules dans l'extrait E qui a le plus perturbé les candidats. Beaucoup d'entre eux ont expliqué la concentration de l'extrait V et ont trouvé le bon facteur de concentration, mais ont ensuite présenté le résultat de dénombrement dans l'extrait V sans appliquer ce facteur. Le jury rappelle que ce sont des levures qui sont dénombrées et non pas des UFC.

La différence d'aspect morphologique a été correctement traitée, *Brettanomyces* est une levure bourgeonnante comme *Saccharomyces cerevisiae* mais les cellules étaient plus petites et plus ovalaires que *Saccharomyces*. Certains candidats ont pu voir un début de filamentation dans leur extrait.

B. Dénombrement sur milieu gélosé

Pour le calcul des dilutions, les candidats pouvaient repartir du dénombrement précédent ou de l'indication de la réalisation de l'extrait V présentée dans le sujet. Au vu des erreurs commises dans l'exploitation du dénombrement en hématimètre, la seconde option s'est avérée être la plus judicieuse pour beaucoup d'entre eux. Le jury regrette que le raisonnement présenté dans certaines copies soit parfois très peu pédagogique, ceci par manque de concision ou d'informations importantes. Le jury a également remarqué que beaucoup de candidats confondaient les notions de quantité et de concentration. Il rappelle à cette occasion que, dans cette approche technologique, ce sont des colonies qui sont dénombrées pour déterminer des UFC de levures dans la suspension d'origine, et non des cellules ou des levures.

La réalisation technique exigeait le respect des règles d'asepsie et d'organisation nécessaire à toute manipulation de microbiologie. L'adaptation à un matériel ou à un mode opératoire différent ne doit pas faire oublier le principe de la technique des dilutions. Ainsi, le jury a été étonné de voir beaucoup de candidats homogénéiser la dilution avec le cône ayant servi au prélèvement dans le tube précédent. Les résultats obtenus le lendemain ont confirmé ces erreurs puisque certaines séries de boîtes présentaient une interdilution de mauvaise qualité.

Il était clairement demandé dans le sujet d'exploiter les résultats avec l'extrait de la norme ISO 7218:2007 fourni. Le jury n'a pas pu attribuer les points aux candidats qui se sont affranchis de cette exigence. Il a également été étonné de voir que certains ne suivaient pas les recommandations inscrites dans le document. Ainsi, des candidats ont pris en compte des boîtes présentant plus de 150 colonies, d'autres n'ont choisi qu'une seule boîte pour leur calcul alors qu'il était clairement indiqué de retenir deux dilutions successives. L'expression des résultats a posé problème à beaucoup de candidats. En effet, il n'était pas possible mathématiquement d'exprimer le résultat sous la forme habituelle « $R \pm \text{incertitude}$ », mais il fallait l'exprimer sous forme d'un intervalle de confiance dont les limites correspondaient aux résultats du calcul des δ^- et δ^+ .

C. Dénombrement par PCR quantitative

La majeure partie des candidats a réussi à réaliser cette partie pratique de l'épreuve (2.9). Le protocole donné dans le document 4 était conçu pour une mise en œuvre facilitée et réalisable par des candidats ne disposant pas d'expertise préalable dans ce domaine. Toutefois, certains candidats ont tout de même eu des difficultés avec la notion de réactifs « X fois concentrés », pourtant très classique en biologie moléculaire et cellulaire ou en biochimie. Ainsi, le jury rappelle que ces réactifs sont fournis à une concentration connue mais supérieure à leur concentration d'usage et sont rapportés à une concentration de travail de 1X par l'ajout des autres réactifs intervenant dans la composition des milieux réactionnels. Afin de limiter tout élément de complexité, somme toute très relative, ces considérations étaient déjà prises en compte par le mode opératoire proposé aux candidats et ne demandaient donc pas d'adaptations particulières de leur part.

La question « 2.10 » consistait à montrer qu'une masse connue d'ADN correspondait à un nombre connu de copies initiales d'ADN matrice dans le milieu réactionnel de PCR. Peu de candidats ont su correctement traiter cette question à l'aide des données du sujet. Le but de cette question était également de fournir la valeur du premier point de la gamme d'étalonnage aux candidats. Beaucoup n'ont pas su utiliser correctement cette information par la suite.

La partie « 2.11 » consistait à valider la spécificité de la réaction d'amplification à l'aide des courbes de fusions obtenues par les candidats (et non pas celles du document 4 données à titre d'exemple). Il était attendu que les candidats justifient de manière argumentée de la spécificité de la PCR mise en œuvre de façon à justifier la faisabilité de la quantification.

Question 2.12. Le tracé d'une courbe étalon exploitable a posé beaucoup de problèmes à la majeure partie des candidats. En effet, peu ont tenu compte de l'indication fournie dans la question 2.10 et ont donc tracé des courbes basées, soit sur la masse d'ADN dans les milieux réactionnels, soit sur la concentration de la solution d'ADN matrice. Cette représentation non conventionnelle, quoique acceptable, a rendu l'exploitation des résultats plus difficile et souvent infructueuse. Le jury rappelle, comme le précisait le document 4, qu'une courbe d'étalonnage de quantification absolue en PCR temps réel représente conventionnellement le Ct en fonction du logarithme décimal du nombre de copies initiales d'ADN matrice dans le milieu réactionnel. Ainsi, une minorité de candidats a réussi à déterminer correctement le nombre de copies d'ADN matrice dans la solution d'ADN à quantifier.

Par ailleurs, il est à signaler que plusieurs candidats ont rendu des courbes d'étalonnage tracées à l'aide de l'outil informatique sans légendes ou titre à leurs axes. Ce manque de rigueur, qui est pourtant exigée de la part de nos élèves ou étudiants, a été jugé peu à propos par le jury. D'une manière générale, l'utilisation de l'outil informatique par la majorité des candidats n'était clairement pas maîtrisée.

Question 2.13. Cette question n'a quasiment jamais été traitée dans son ensemble en raison des difficultés exposées ci-dessus. En effet, pour y répondre correctement, il convenait de se référer au mode opératoire mis en œuvre de façon à calculer correctement, à partir de la quantité d'ADN matrice dans les échantillons, la concentration en nombre de copies de génomes de *B. bruxellensis* présente dans l'extrait de vin. Le jury précise que cette concentration ne tient pas compte de la viabilité cellulaire et donne une valeur absolue de la concentration de génomes dans un échantillon (cellules vivantes, mortes et/ou lysées).

D. Dénombrement par ATPmétrie

Le jury a apprécié que tous les candidats ont réalisé ces tests bien que beaucoup ne connaissaient pas l'appareillage à disposition. La compréhension de l'utilisation particulièrement simple du luminomètre n'a pas posé de problème. En revanche, le manque de soin apporté au prélèvement (présence de bulle, défaut d'homogénéisation) ou au maniement des pens (« tube test » touché avec les doigts) a particulièrement nui à la qualité des résultats.

L'utilisation de l'équation de la droite d'étalonnage a permis aux candidats de calculer une concentration en levure dans l'échantillon testé sans difficulté particulière. L'obtention de la droite d'étalonnage par dénombrement en surface d'une suspension réalisée en eau physiologique offrait des axes de critique tels que l'effet de la matrice ou encore la discrimination des populations comptées par ce type de méthode.

E. Synthèse

La question 2.17 invitait à proposer un tableau comparatif des quatre techniques utilisées lors de l'étude en termes de discrimination de certaines populations cellulaires (cellules vivantes, mortes et/ou lysées, cultivables). Certains tableaux, mal renseignés et peu didactiques, ont pu entraîner des contre-sens, le jury ne comprenant pas si la technique « discrimine » ou « détecte uniquement » ou « recherche » tel ou tel type cellulaire. La rigueur dans la présentation pour transmettre un message à l'écrit a été évaluée. Les deux dernières questions (2.18 et 2.19) offraient aux candidats, après une interprétation de leurs résultats expérimentaux, la possibilité de lister des avantages et inconvénients de chacune des méthodes afin de choisir celle la plus adaptée au dénombrement d'une levure lors de la vinification. De façon brillante, un candidat a proposé une synthèse générale des deux dernières questions sous forme d'un seul tableau récapitulant une interprétation des résultats obtenus basés en partie sur la question 2.17 ainsi que des critiques de chaque méthode afin de conclure et répondre à la problématique. La force de proposition, l'esprit d'ouverture sur les arguments proposés dans le contexte de la vinification (balance entre le coût, la rapidité, la simplicité d'utilisation, l'efficacité, la fiabilité, ...) ainsi que la clarté dans la synthèse ont été valorisés.

CONCLUSION GENERALE

Le jury félicite de nouveau très chaleureusement les 10 candidats admis à la session 2021 de l'agrégation interne et du CAERPA 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, enseignants, techniciens 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.