

SESSION 2022

**CAPET ET CAFEP/CAPET
CONCOURS EXTERNE**

Section
BIOTECHNOLOGIES

Option
BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIQUE

ÉPREUVE ÉCRITE DISCIPLINAIRE APPLIQUÉE

L'épreuve place le candidat en situation de produire une analyse critique de documents puis de construire une séquence pédagogique à partir d'un sujet donné par le jury.

Durée : 5 heures

Le dictionnaire anglais-français est autorisé.

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout autre dictionnaire et de tout matériel électronique (y compris la calculatrice) est rigoureusement interdit.

- *Si vous repérez ce qui vous semble être une erreur d'énoncé, vous devez le signaler très lisiblement sur votre copie, en proposer la correction et poursuivre l'épreuve en conséquence.*
- *De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, vous devez la (ou les) mentionner explicitement.*

NB : Conformément au principe d'anonymat, votre copie ne doit comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé consiste notamment en la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de la signer ou de l'identifier.

Tournez la page S.V.P.

Le microbiote intestinal humain : un acteur clé pour la santé

L'étude du microbiote intestinal est en plein essor. Aujourd'hui considéré comme un véritable écosystème, il a longtemps été assimilé à une simple flore commensale, dont seul le rôle de protection de l'hôte était étudié.

Les travaux actuels tendent à montrer le rôle essentiel de cette communauté microbienne, modifiant notre conception de la relation entre chaque individu et son microbiote pour la qualifier de « super-organisme chimérique possédant un double génome, humain et microbien »*.

Compte tenu de l'instabilité de cet écosystème, l'étude des causes des dysbioses pourrait avoir des répercussions majeures en médecine préventive et thérapeutique.

**Dodet B. (2016) Les enjeux médicaux et sociétaux du microbiote. Med Sci (Paris), 32 11 (2016) 1003-1008*

Première partie :

En prenant appui sur une analyse pertinente de documents ciblés, vous expliquerez la relation entre le microbiote intestinal et son hôte et préciserez ses effets physiologiques et physiopathologiques. Par la suite, vous présenterez et comparerez, à l'aide d'exemples précis, les différentes techniques d'étude globale du microbiote intestinal.

Enfin, vous exposerez les avancées médicales dans le traitement et la prévention des dysbioses ainsi que leurs limites.

Deuxième partie :

Dans la perspective de l'enseignement de « biochimie, biologie et biotechnologies » de la classe de terminale « Sciences et technologies de laboratoire spécialité biotechnologies », vous présenterez une séquence pédagogique ayant pour thématique le microbiote intestinal.

Votre démarche pédagogique s'appuiera sur les extraits de programmes présentés dans le document 10 et des compétences exposées dans le document 11. Cette démarche s'inscrira dans le cadre d'une réflexion plus générale sur les enjeux sociétaux.

Pour la séquence proposée, en fonction des objectifs à atteindre, vous argumenterez l'enchaînement des séances, en précisant les activités technologiques mises en œuvres, en particulier au laboratoire, et les supports proposés aux élèves. Vous décrierez les actions du professeur et des élèves dans le cadre des apprentissages. Enfin, vous proposerez un document support de l'évaluation sommative en précisant les attendus et les indicateurs associés, en vue d'évaluer le niveau de maîtrise d'une ou plusieurs des compétences visées pour les élèves.

Une attention particulière sera portée sur la capacité du candidat à expliciter sa démarche pédagogique.

Sommaire des documents

Document 1 : Rôles du microbiote intestinal

Document 2 : Connaissances actuelles sur le microbiote humain

Document 3 : Microbiote et alimentation

- 3.a. Effets de l'implantation d'*E. cloacae* B29 issus d'une personne obèse chez une souris axénique
- 3.b. Microbiote et modulation de la glycémie

Document 4 : *C. difficile* et le microbiote

Document 5 : Méthodes d'analyse du microbiote classiques et NGS

- 5.a. Exemples de techniques d'analyse du microbiote
- 5.b. Présentation de la technique de T-RFLP
- 5.c. Présentation des techniques de séquençage
- 5.d. Evolution du séquençage et de l'archivage des séquences déposées en fonction du temps et des technologies de NGS.
- 5.e. Couverture du séquençage du microbiome intestinal humain par les techniques NGS
- 5.f. Répartition de l'usage des techniques de séquençage

Document 6 : Probiotiques / prébiotiques

- 6.a. Critères de sélection des probiotiques
- 6.b. Critères de sélection des prébiotiques
- 6.c. Exemples d'utilisation des symbiotiques

Document 7 : Exemples d'études des effets physiologiques des probiotiques et prébiotiques

Document 8 : Effet de *L. acidophilus* sur l'inflammation lors d'une infection à *H. pylori*

Document 9 : Transplantation fécale du microbiote

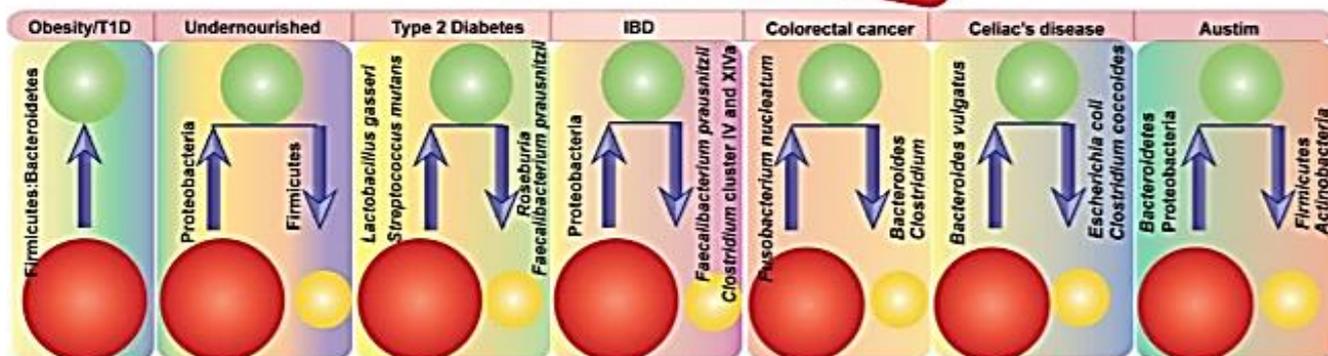
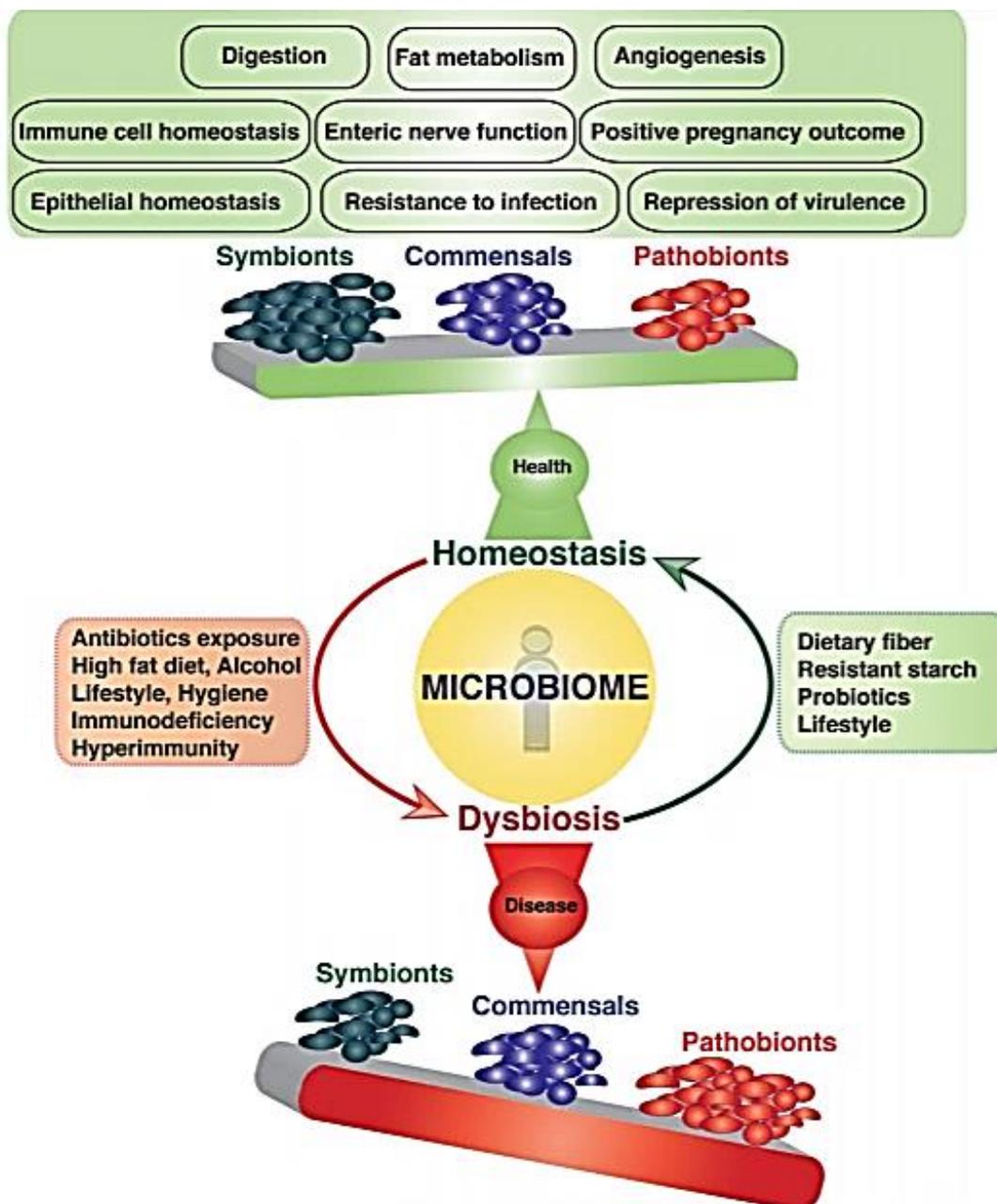
- 9.a. Schéma général de la transplantation fécale du microbiote
- 9.b. Tests à réaliser chez le donneur avant une transplantation fécale du microbiote
- 9.c. Recherche et comparaison de résistances après observation d'infection à *E. coli* ESBL lors de deux transplantations fécales d'un même microbiote.

Document 10 : Extraits du programme de biochimie, biologie et biotechnologies de terminale STL

Document 11 : Compétences évaluées à l'épreuve de Biochimie-Biologie-Biotechnologies

Tournez la page S.V.P.

DOCUMENT 1 : Rôles du microbiote intestinal

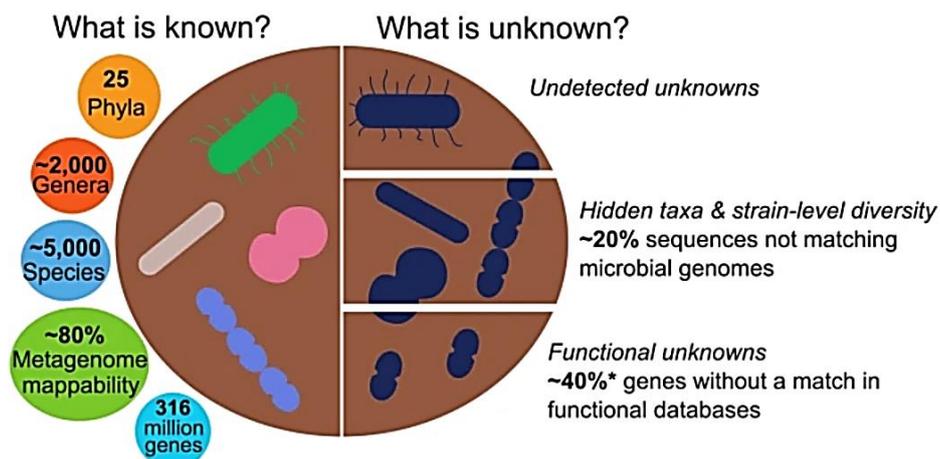


IBD : inflammatory bowel disease

Bhabatosh Das et coll. (2018). Scientific reports 8:10104

DOCUMENT 2 : Connaissances actuelles sur le microbiote humain

The human microbiome



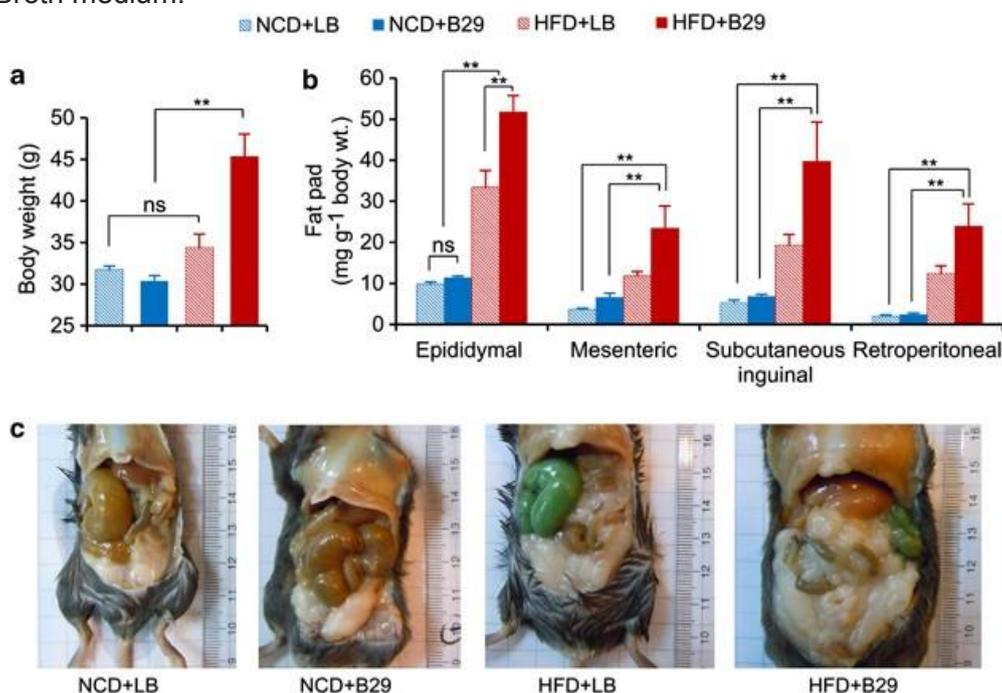
Thomas, A.M., Segata, N. (2019) Multiple levels of the unknown in microbiome research. *BMC Biol* 17, 48

Remarque : Le terme anglo-saxon « microbiome » désigne le microbiote. En français, le terme « microbiome » est généralement réservé au métagénome de cette population de microorganismes.

DOCUMENT 3 : Microbiote et alimentation

3.a. Effet de l'implantation d'*Enterobacter cloacae* B29 (B29) issus d'une personne obèse chez une souris axénique.

Des études préliminaires ont montré que des souris axéniques sont résistantes à l'obésité induite par un régime hyperlipidique (HFD : high-fat diet). Afin de savoir si B29 peut diminuer cette résistance à l'obésité en colonisant l'intestin stérile d'une souris, 10^{10} cellules de B29 ont été inoculées quotidiennement durant une semaine chez des souris C57BL/6J axéniques âgées de 6 à 10 semaines ($n = 7$ par groupe). Certaines prennent un régime habituel (NCD : normal chow diet) ou hyperlipidique (HFD) afin de produire une obésité. LB, Lysogeny Broth medium.



(a) Body weight; (b) mass of epididymal, mesenteric, subcutaneous inguinal and retroperitoneal fat pad (c) abdominal photographs. The two-way analysis of variance (ANOVA) revealed a significant effect of the diet ($P < 0.01$), a significant effect of B29 ($P < 0.01$) and a significant diet×B29 interaction effect ($P < 0.01$) on body weight, mass of epididymal, mesenteric, subcutaneous inguinal and retroperitoneal fat pad. Data are shown as means±s.e.m. ($n=6$). NS, no significant difference; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. Color code for animal groups: NCD+LB, blue slash; NCD+B29, blue; HFD+LB, red slash; HFD+B29, red.

Fei, N., Zhao, L. (2013) An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. *ISME J* 7, 880–884.

Tournez la page S.V.P.

3.b. Microbiote et modulation de la glycémie

(De nombreux métabolites sont produits par le microbiote. Le 4-crésol est un métabolite dont l'effet a été testé chez la souris :)

Blood glucose and body weight were monitored weekly during the 6-week long administration of 4-cresol or saline. After three (mice) or four (rats) weeks of treatment (i.e., four weeks of HFD feeding in mice) an intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) (2g/kg in mice, 1g/kg in rats) was performed in conscious animals following an overnight fast. For the IPGTT carried out in mice, blood was collected from the tail vein before glucose injection and 15, 30, 60 and 120 minutes afterward. Blood glucose levels were determined using an Accu-Check_Performa (Roche Diagnostics, Meylan, France). Additional blood samples were collected at baseline and 30 minutes after glucose injection. Plasma was separated by centrifugation and stored at - 80°C until insulin assays.

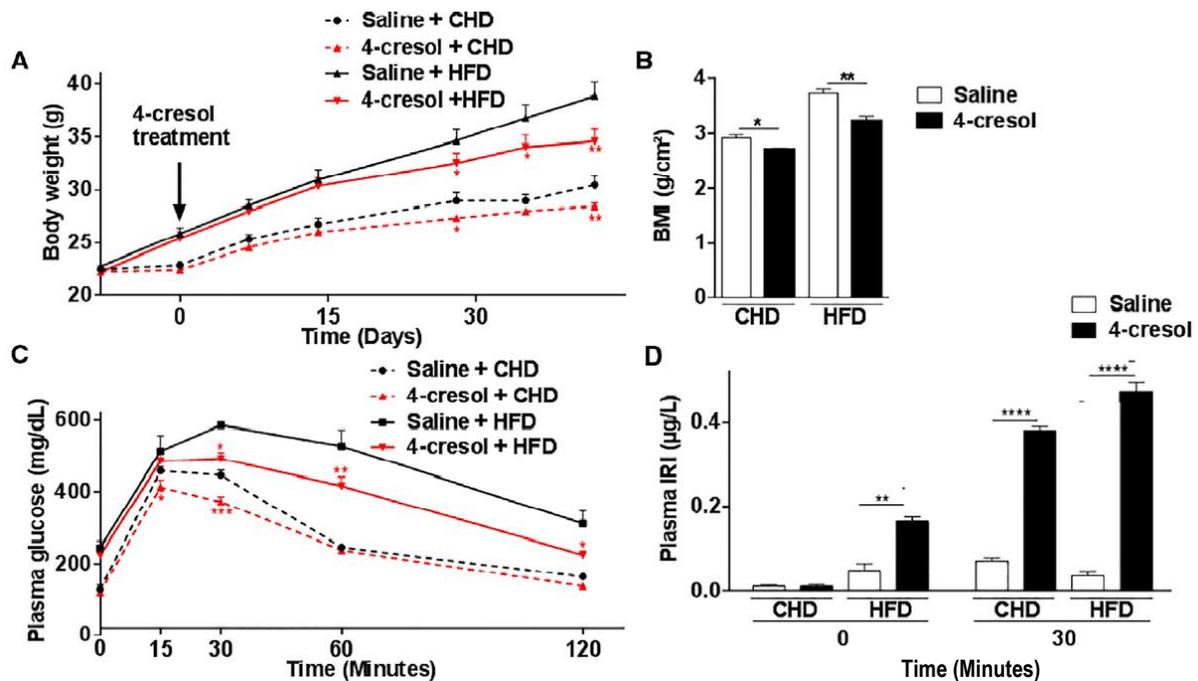


Figure 1 : The effects of 6-week-long administration of 4-cresol in vivo in mice fed a control chow diet (CHD) or high-fat diet (HFD) were tested on bod weight (A), body mass index (BMI) (B), glucose tolerance profile (C), glucose-stimulated secretion of insulin (D).

All of the measures are from 6 mice per group. Data were analyzed using the unpaired Mann-Whitney test. Results are means \pm SEMs. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$; significantly different from relevant controls. IRI, immunoreactive insulin.

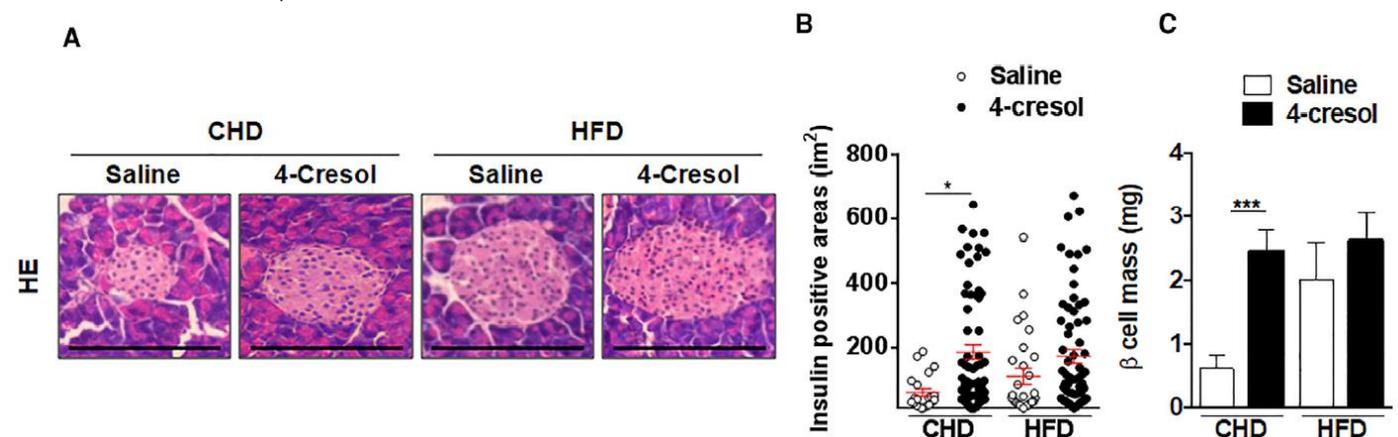


Figure 2 : (A–C) Mice were fed normal CHD or HFD and treated with chronic infusion of either 4-cresol or saline for 6 weeks. Pancreas sections were labeled with hematoxylin-eosin (H&E) (A) to determine insulin-positive area (B), β -cell mass (C). Scale bars are 100 μ m in (A). Each dot in (B) represents the labeled surface from a pancreas section. Results are means \pm SEMs. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$; significantly different from relevant controls.

D'après Brial F, Alzaid F, Sonomura K, et al. (2020) The Natural Metabolite 4-Cresol Improves Glucose Homeostasis and Enhances β -Cell Function. *Cell Rep.* ;30(7):2306-2320.e5.

DOCUMENT 4 : C. difficile et le microbiote

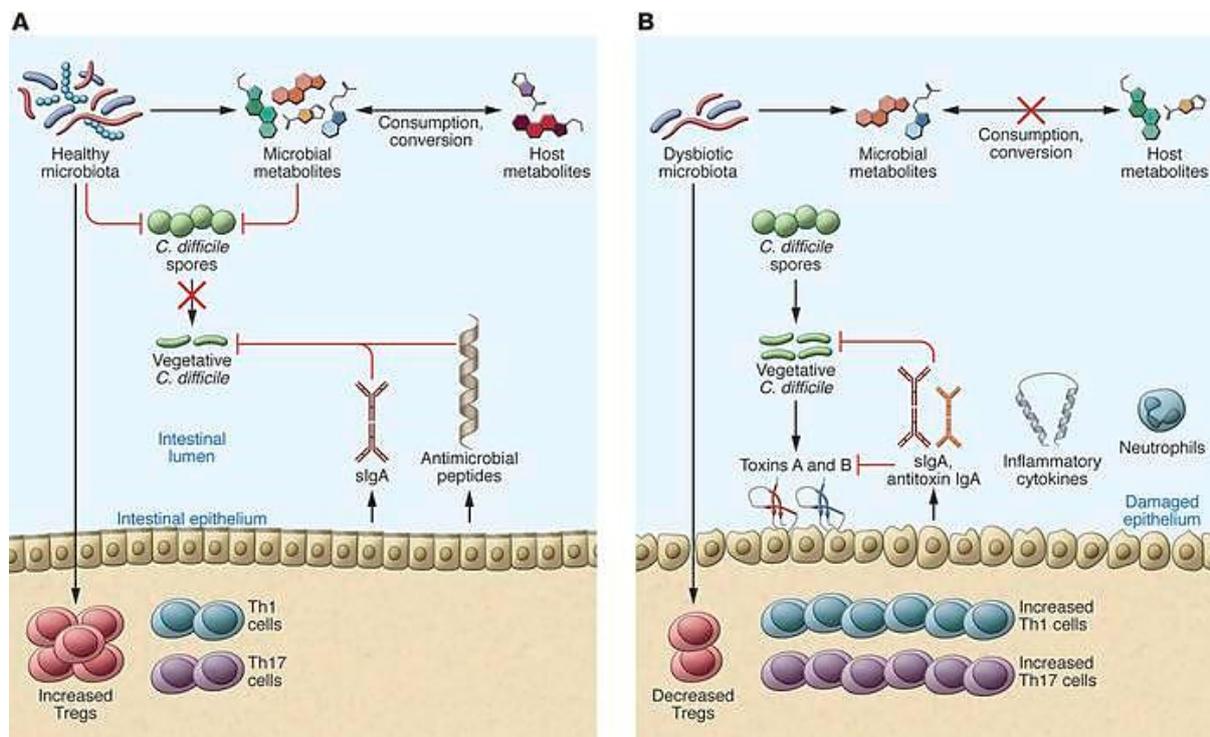


Figure 1 : Proposition de mécanismes de résistance du microbiote lors des infections à *Clostridium difficile* (ICD)

Cohorte étudiée	Liens observés avec les infections à <i>Clostridium difficile</i> (ICD)	
	Protecteur : limite la colonisation de <i>C. difficile</i>	Sensible : favorise la colonisation de <i>C. difficile</i>
Enfants	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Ruminococcus gnovus</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Personnes âgées	<i>Bacteroides spp.</i> ; <i>Prevotella spp.</i> ; <i>Bifidobacterium spp.</i> ; <i>Enterococcaceae</i> ; <i>Leuconostocaceae</i>	<i>Lactobacilli</i> ; <i>Aerococcaceae</i> ; <i>Enterobacteriaceae</i> ; <i>Enterococcal gr.</i> ; <i>Clostridiales : Clostridium spp.</i>
Adultes (âge variable)	<i>Ruminococcaceae</i> ; <i>Lachnospiraceae</i> ; <i>Bacteroides spp.</i> ; <i>Porphyromonadaceae</i> ; <i>Bifidobacterium spp.</i> ; <i>Methanobrevibacter spp.</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> ; <i>Enterococcus</i> ; <i>Lactobacillus</i> ; <i>Erysipelotrichaceae</i>
Patients ayant eu une transplantation fécale du microbiote	<i>Bacteroides spp.</i> ; <i>Parabacteroides spp.</i> ; <i>Alistipes</i> ; <i>Ruminococcaceae</i> ; <i>Clostridium cluster IV</i> ; <i>Clostridium cluster XIVa</i> ; <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , <i>Roseburia intestinalis</i> , <i>Eubacterium rectale</i> ; <i>Lachnospiraceae</i> ; <i>Peptostreptococcaceae</i> ; <i>Verrucomicrobiaceae</i>	<i>Lactobacillus spp.</i> ; <i>Streptococcaceae</i> ; <i>Enterobacteriaceae : Enterobacter aerogenes</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Proteus spp.</i> ; <i>Salmonella spp.</i> <i>Veillonella</i> ; <i>Enterococcus spp.</i> ; <i>Verrucomicrobia</i>

Figure 2 : Tableau présentant les différentes études sur les variations du microbiote en fonction de l'âge et leurs impacts sur la colonisation de *C. difficile* : liste des souches ayant un effet protecteur (qui limitent la colonisation de *C. difficile*) et celles sensibles (qui favorisent la colonisation de *C. difficile*)

D'après M. Seekatz A., Young V. B. (2014) *Clostridium difficile* and the microbiota. *J Clin Invest.* 124(10):4182-4189.

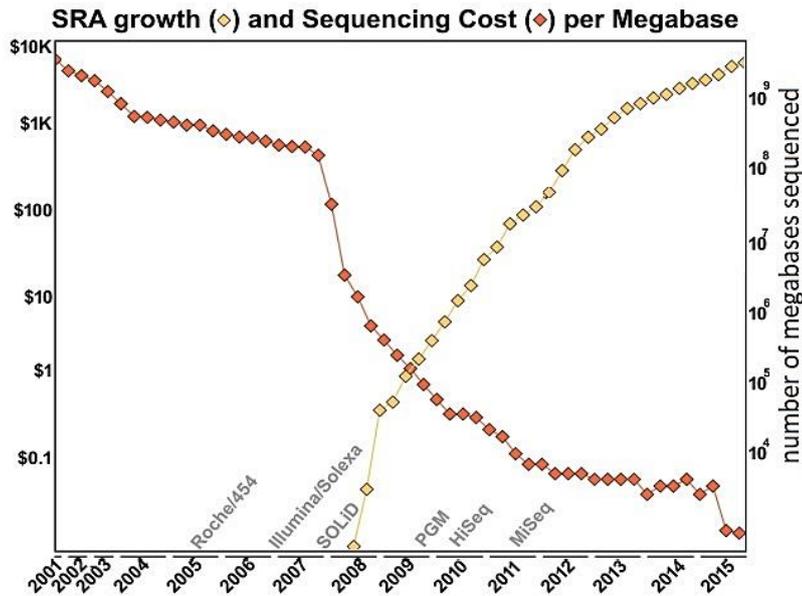
Tournez la page S.V.P.

5.a. Exemples de techniques d'analyse du microbiote

Tableau 1 : techniques utilisées pour la caractérisation du microbiote intestinal			
technique	Description	Avantages	Inconvénients
Culture	Isolement bactérien sur milieux sélectifs	Peu onéreux, semi-quantitatif	Travail intensif, < 30 % des bactéries du microbiote sont cultivées actuellement ;
qPCR	Amplification et quantification des ARN 16S, le milieu réactionnel contient un composé qui devient fluorescent en présence d'ADN double brin	Rapide, quantitatif, identification phylogénétique	Biais de la PCR, ne peut identifier les espèces inconnues
T-RFLP	Amplification via des amorces fluorescentes. La digestion des amplicons d'ARN 16S par des enzymes de restriction est utilisée. Les fragments obtenus sont séparés par électrophorèse.	Rapide, peu onéreux, semi quantitative	Pas d'identification phylogénétique, faible résolution, biais de la PCR
Clone 16S RNA Sanger gene sequencing	Clonage de l'ARN 16S entier, séquençage par la méthode Sanger et électrophorèse capillaire.	Identification phylogénétique, quantitative, faible taux d'erreur : 10^{-4} à 10^{-5}	Biais de la PCR, travail intensif, onéreux
Microbiome NGS metagenomic sequencing	Séquençage massif de tout le génome (séquençage de nouvelle génération NGS)	Identification phylogénétique, quantitative et qualitative, coût, séquençage à haut débit	Traitement informatique complexe des données, étendue de la couverture du séquençage sur les régions de faible complexité, taux d'erreur important 10^{-2} à 10^{-4}
Abréviations : qPCR, quantitative PCR ; FISH, fluorescence in situ hybridization ; T-RFLP : terminal restriction fragment length polymorphism ; NGS : next generation sequencing			

D'après Fraher M., O'Toole P. & Quigley E. (2012). *Techniques used to characterize the gut microbiota: A guide for the clinician. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* 9(6):312-22

5.d. Evolution du séquençage et de l'archivage des séquences déposées en fonction du temps et des technologies de NGS.

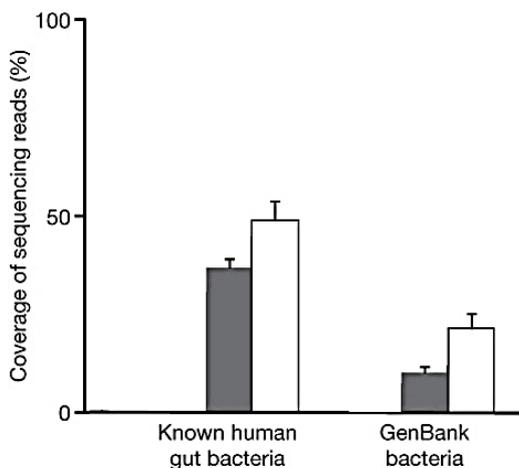


SRA growth : croissance de la taille des séquences archivées

Evolution du séquençage et de l'archivage des séquences déposées en fonction du temps et des technologies de NGS.

D'après Silva, Z., (2017). *Who Is There and What are They Doing? An Agile and Computationally Efficient Framework for Genome Discovery and Annotation from Metagenomic Big Data*

5.e. Couverture du séquençage du microbiome intestinal humain par les techniques NGS



Les valeurs moyennes sont tracées avec les écart-types standards.

NGS : résultats moyens obtenus par les méthodes Illumina® et Roche 454®

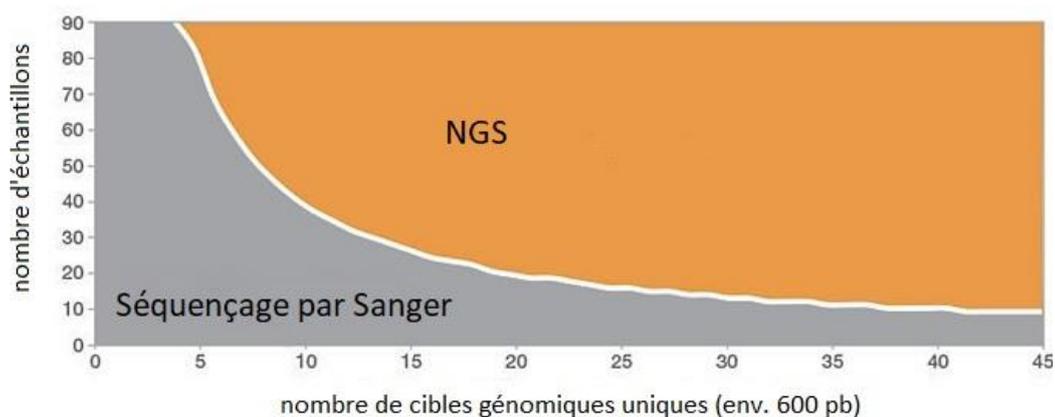
Coverage of sequencing reads : couverture des fragments séquencés

Aide à la lecture : le 100 % de couverture des fragments séquencés signifie que la technique utilisée n'a séquencé que des fragments connus des banques.

Comparaison de la couverture du microbiome intestinal par les séquençages selon les NGS* (noir) ou la méthode de Sanger (blanc) par rapport aux données du génome des bactéries intestinales humaines connues et aux données génomiques bactériennes déposées sur Genbank.

D'après Qin, J., Li, R., Raes, J. et al. (2010). *A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464, 59–65.*

5.f. Répartition de l'usage des techniques de séquençage



© 2021 Illumina, Inc. All rights reserved

Figure 3 : Répartition des usages des techniques de séquençage en fonction du nombre d'échantillons traités et de la taille des cibles génomiques.

D'après <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/ngs-vs-sanger-sequencing.html>

DOCUMENT 6 : Probiotiques / prébiotiques

6.a. Critères de sélection des probiotiques

Table 1. Selection criteria of probiotic strains

Criterion	Required Properties
Safety	<ul style="list-style-type: none"> • Human or animal origin. • Isolated from the gastrointestinal tract of healthy individuals. • History of safe use. • Precise diagnostic identification (phenotype and genotype traits). • Absence of data regarding an association with infective disease. • Absence of the ability to cleave bile acid salts. • No adverse effects. • Absence of genes responsible for antibiotic resistance localised in non-stable elements.
Functionality	<ul style="list-style-type: none"> • Competitiveness with respect to the microbiota inhabiting the intestinal ecosystem. • Ability to survive and maintain the metabolic activity, and to grow in the target site. • Resistance to bile salts and enzymes. • Resistance to low pH in the stomach. • Competitiveness with respect to microbial species inhabiting the intestinal ecosystem (including closely related species). • Antagonistic activity towards pathogens (e.g., <i>H. pylori</i>, <i>Salmonella</i> sp., <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Clostridium difficile</i>). • Resistance to bacteriocins and acids produced by the endogenic intestinal microbiota. • Adherence and ability to colonise some particular sites within the host organism, and an appropriate survival rate in the gastrointestinal system.
Technological usability	<ul style="list-style-type: none"> • Easy production of high biomass amounts and high productivity of cultures. • Viability and stability of the desired properties of probiotic bacteria during the fixing process (freezing, freeze-drying), preparation, and distribution of probiotic products. • High storage survival rate in finished products (in aerobic and micro-aerophilic conditions). • Guarantee of desired sensory properties of finished products (in the case of the food industry). • Genetic stability. • Resistance to bacteriophages.

Tournez la page S.V.P.

6.b. Critères de sélection des prébiotiques

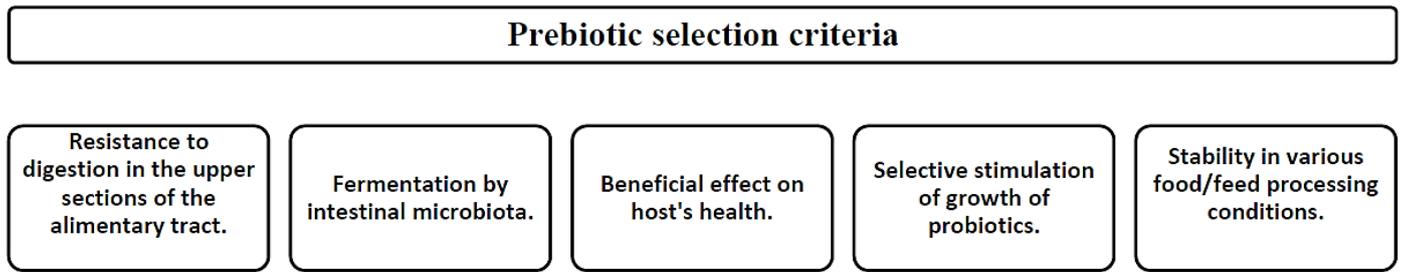


Figure 2. Requirements for potential prebiotics

6.c. Exemples d'utilisation des symbiotiques

Table 4. Examples of prebiotics and synbiotics used in human nutrition

Human Nutrition	
Prebiotics	Synbiotics
FOS	
GOS	
Inulin	<i>Lactobacillus</i> genus bacteria + inulin
XOS	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> and <i>Bifidobacterium</i> genus bacteria + FOS
Lactitol	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Enterococcus</i> genus bacteria + FOS
Lactosucrose	<i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> genus bacteria + oligofructose
Lactulose	<i>Lactobacillus</i> and <i>Bifidobacterium</i> genus bacteria + inulin
Soy oligosaccharides	
TOS	

Abbreviations: FOS—fructooligosaccharides; GOS—galactooligosaccharides; TOS—transgalactooligosaccharides; XOS—xylooligosaccharides.

Markowiak, P.; Śliżewska, K. (2017) *Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health*. *Nutrients*, 9, 1021.

DOCUMENT 7 : Exemples d'effets physiologiques des probiotiques et prébiotiques

EXEMPLES DE RÉSULTATS CLINIQUES OBTENUS APRES L'ADMINISTRATION DE PROBIOTIQUES

SUJETS	MICROORGANISME	RÉSULTATS PRINCIPAUX
OBÉSITÉ		
87 sujets avec un IMC élevé	<i>L. gasseri</i> SBT 2055 (12 semaines)	Diminution de l'IMC, de la taille abdominale et de la masse graisseuse abdominale,
210 adultes avec une masse graisseuse abdominale élevée	<i>L. gasseri</i> SBT 2055 (12 semaines)	Diminution de l'IMC et de la pression artérielle
40 adultes obèses	<i>L. plantarum</i> (3 semaines)	Diminution de l'IMC et de la pression artérielle
60 adultes en surpoids	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>S. thermophilus</i> (6 semaines)	Amélioration du bilan lipidique, de la réponse à l'insuline et diminution de la CRP
SYNDROME DU COLON IRRITABLE, DÉSORDRES GASTROINTESTINAUX, ÉLIMINATION <i>H.pylori</i>		
59 adultes porteurs de <i>H. pylori</i>	<i>L. acidophilus</i> La5, <i>B. lactis</i> Bb12 (6 semaines)	Effet inhibiteur sur <i>H. pylori</i>
77 patients atteints de colite ulcéraire	Probiotique VSL 3® (8 souches bactériennes) (12 semaines)	Rémission significative des patients traités versus placebo
90 nouveau-nés nourris au sein atteints de colique intestinale	<i>L. reuteri</i> ATCC 55730 (6 mois)	Élimination de la douleur abdominale et des symptômes associés à ces coliques

EXEMPLES DE RÉSULTATS CLINIQUES OBTENUS APRES L'ADMINISTRATION DE PRÉBIOTIQUES

SUJETS	PRÉBIOTIQUE	RÉSULTATS PRINCIPAUX
DÉSÉQUILIBRES ET PATHOLOGIES MÉTABOLIQUES		
48 adultes en surpoids	Oligofructose (12 semaines)	Réduction faible du poids
10 patients atteints de diabète de type 2	Fructooligosaccharide (2 x 4 semaines)	Pas d'effet sur le métabolisme glucidique ou lipidique
11 + 15 patients atteints de diabètes de type 2	Alimentation enrichie en fibres (arabinoxylanes) (6 à 10 semaines)	Résultats contradictoires selon les études
7 patients atteints de la maladie du foie gras non alcoolique	Oligofructose (8 semaines)	Amélioration du bilan hépatique et de l'insulinémie
SYNDROME DU COLON IRRITABLE, DÉSORDRES GASTROINTESTINAUX		
10 patients atteints de la maladie de Crohn	Fructooligosaccharide (3 semaines)	Réduit le score d'activité de la maladie permettant de d'estimer la gravité de l'atteinte (plus le CDAI est élevé, plus la maladie est sévère)
24 patients atteints d'inflammation chronique de l'iléon	Inuline (trois semaines)	Réduction de l'inflammation avec augmentation de la quantité de butyrate intestinal, une diminution du pH et une diminution significative de <i>Bacteroides fragilis</i>
215 nouveau-nés en bonne santé	Galactooligosaccharide et fructooligosaccharide (27 semaines)	Augmentation des IgA sécrétoires et du pourcentage de <i>Bifidobacterium</i> . Diminution de la quantité de <i>Clostridium</i> .

EXEMPLES DE RÉSULTATS CLINIQUES OBTENUS APRES L'ADMINISTRATION DE SYMBIOTIQUES

SUJETS	COMPOSITION	RÉSULTATS PRINCIPAUX
OBÉSITÉ		
153 adultes obèses	<i>L. rhamnosus</i> CGMCC1.3724 + inuline (36 semaines)	Perte de poids, réduction des leptines circulantes. Augmentation des <i>Lachnospiraceae</i>
70 enfants et adolescents avec un IMC élevé	<i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. bulgaricus</i> + Fructooligosaccharide (8 semaines)	Diminution de l'IMC et du tour de taille
SYNDROME DU COLON IRRITABLE, DÉSORDRES GASTROINTESTINAUX, ÉLIMINATION <i>H.pylori</i>		
69 enfants porteurs de <i>H. pylori</i>	<i>B. lactis</i> B94 + inuline (14 jours)	Même taux d'éradication de <i>H. pylori</i> qu'avec le traitement standard
76 patients atteints du syndrome du côlon irritable	<i>L. acidophilus</i> La-5, <i>B. animalis ssp lactis</i> BB-12 + inuline et oligofructose (4 semaines)	Pas de différence significative avec le groupe placebo.

D'après P.; Śliżewska, K. (2017) *Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health*. Nutrients, 9, 1021. [extrait]

Tournez la page S.V.P.

DOCUMENT 8 : Effet de *L. acidophilus* sur l'inflammation lors d'une infection à *H. pylori*

La muqueuse gastrique des patients infectés par *H. pylori* présente une voie NF- κ B régulée à la hausse et des réponses cytokiniques de type Th1, qui peuvent perturber l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale (figure 1). Dans cette étude, deux types de lignées cellulaires gastriques humaines sont utilisées (MKN45 et AGS). Ces cellules sont mises en culture avec différentes concentrations de *Lactobacillus acidophilus* LA5® (probiotique retrouvé dans le yaourt) puis infectées par *H. pylori*, selon un ratio bactéries/cellules donné.

(MOI : multiplicity of infection, nombre de bactéries infectantes par cellule).

Figure 1 : schéma modifié représentant la voie d'induction de l'inflammation de l'épithélium gastrique par *H. pylori*

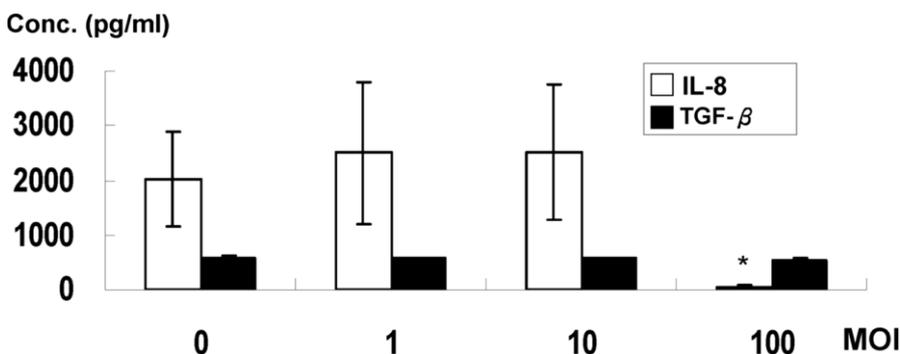
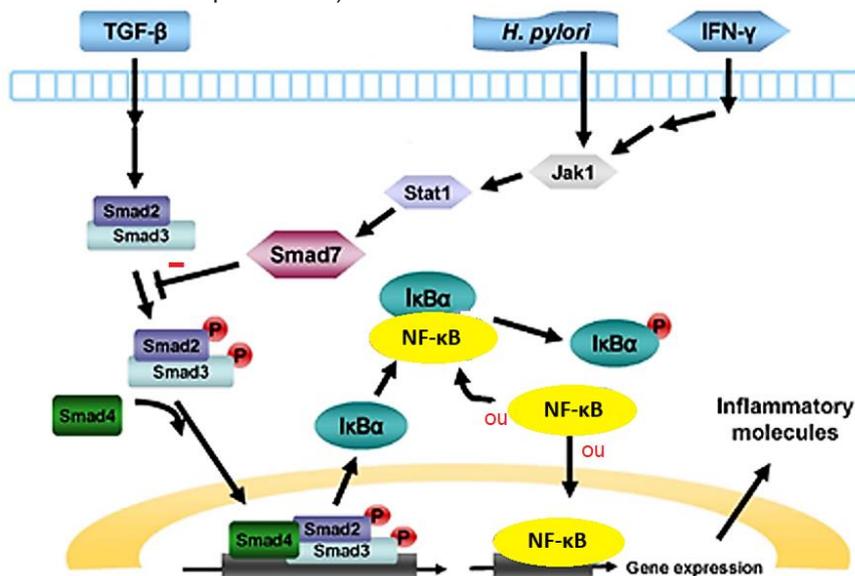


Figure 2 : ELISA détermination des concentrations de l'IL-8 (colonne blanche) et TGF- β 1 (colonne noire) dans le surnatant de cellules MKN45 pré-traitées avec différents MOI (0 : contrôle; 1 : 1×10^6 c.f.u.; 10 : 1×10^7 c.f.u.; 100 : 1×10^8 c.f.u.) de *L. acidophilus* pendant 8 heures.

SD Statistical analysis was performed in each measurement with comparisons to the controls (cells treated *H. pylori* only; IL-8 2034 ± 865 pg/ml and TGF- β 1 587.2 ± 39.8 pg/ml) (* $P < 0.05$).

The cells were washed thrice with PBS to remove the *L. acidophilus* and then infected with *H. pylori* (MOI = 100) for 4 hours. Data are expressed as means \pm SD.

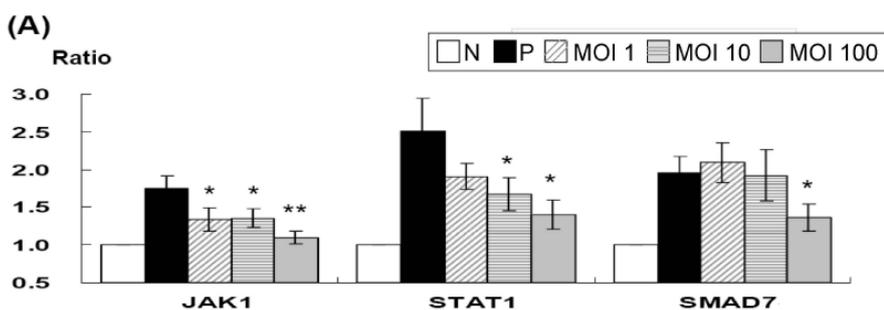


Figure 3 : Régulation de l'expression de protéines inflammatoires après traitement à *L. acidophilus*

(A) semi-quantitative RT-PCR
(B) western blot

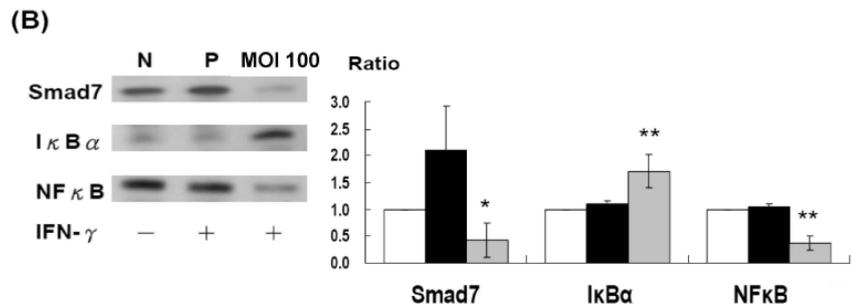
N : AGS cell only;

P : *H. pylori*, MOI = 100 (A, black column) and 100 ng/ml IFN- γ (B, black column) treatment for 0.5 hour;

MOI 1, 10, and 100 (A): meant pre-treatment with *L. acidophilus* 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 c.f.u. for 8 hours, respectively, followed by *H. pylori* treatment for 0.5 hour ;

MOI 100 (B, grey column): pre-treatment with *L. acidophilus* 1×10^8 c.f.u. for 8 hours, followed by *H. pylori*, MOI = 100 and 100 ng/ml IFN- γ treatment for 0.5 hour.

(* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$)



D'après Yang, YJ., Chuang, CC., Yang, HB. et al. (2012) *Lactobacillus acidophilus* ameliorates *H. pylori*-induced gastric inflammation by inactivating the Smad7 and NFκB pathways. *BMC Microbiol* 12, 38.

DOCUMENT 9 : Transplantation fécale du microbiote

9.a. Schéma général de la transplantation fécale du microbiote

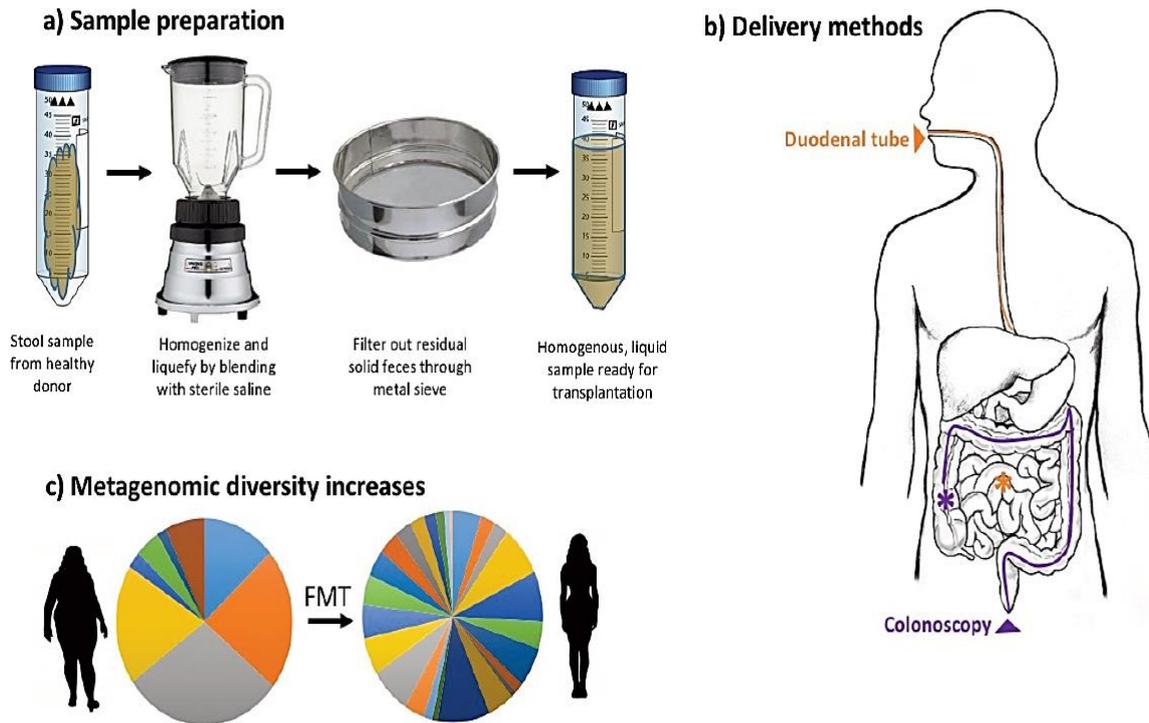


Schéma de la transplantation fécale de microbiote. **A)** la matière fécale du donneur est mélangée avec une solution saline et poussée à travers un tamis afin d'obtenir une solution liquide homogène. **B)** Les microbiotes fécaux préparés sont administrés par un tube duodénal ou un coloscope. **C)** Diagramme de données représentant l'augmentation de la diversité métagénomique après une transplantation fécale d'un donneur sain vers un patient obèse.

Marotz C. & Zarrinpar A. (2016) *Treating Obesity and Metabolic Syndrome with Fecal Microbiota Transplantation*, *The Yale Journal of Biology and Medicine* 89(3):383-388

9.b. Tests à réaliser chez le donneur avant une transplantation fécale du microbiote

Protocole de tri des donneurs pour la transplantation fécale de microbiote (2018)

Tests 30 jours avant la procédure de transplantation

- Interrogatoire et examen clinique, anamnèse du patient (exclusion des maladies inflammatoires familiales, des maladies métaboliques, pas de traitement comme la prise d'antibiotiques)
- Examens paracliniques : exclusion d'anomalies lipidiques, glycémiques, inflammatoires, hématologiques, immunologiques, grossesse
- Tests bactériologiques : recherches des bactéries pathogènes : **Salmonella, Shigella, Campylobacter, Plesiomonas, Aeromonas, Yersinia, Vibrio cholerae, V. parahaemolyticus, Escherichia coli O157, Clostridium difficile, Helicobacter pylori, Listeria monocytogenes**
- Tests bactériologiques : recherches des bactéries multirésistantes : **MRSA, CRE (CRE = entérobactéries résistantes aux carbapénèmes*)**
* carbapénèmes : ertapénème, imipénème, doripénème, méropénème

Tests 14 jours avant la procédure de transplantation

- Tests virologiques VIH 1-2, EBV, CMV, VHA, VHB, VHC, rotavirus
protocole recommandé par la food and drugs administration

D'après DeFilipp Z, Bloom PP, Torres Soto M, et al. (2019) *Drug-resistant E. coli bacteremia transmitted by fecal microbiota transplant*. *N Engl J Med*. 381(21):2043-50.

Tournez la page S.V.P.

9.c. Recherche et comparaison de résistances après observation d'infection à *E. coli* ESBL lors de deux transplantations fécales d'un même microbiote.

Ici, sont donnés des extraits d'antibiogrammes d'*E. coli* productrice de bêta-lactamase à spectre élargi (ESBL) d'un donneur et de deux patients. Les patients 1 et 2 ont subi une transplantation fécale issue du même donneur et ont montré consécutivement une bactériémie à *E. coli*.

Le patient 1 est un homme de 69 ans traité pour une encéphalopathie hépatique. La bactériémie est apparue 17 jours après la fin du protocole.

Le patient 2 était un homme de 73 ans, qui subissait en parallèle une transplantation de cellules souches hématopoïétiques. Il est mort de septicémie pendant le protocole.

Sur 22 transplantations, seuls ces deux patients ont subi une bactériémie.

A Antimicrobial Resistance Patterns of ESBL-Producing *E. coli*

	Donor (stool)		Patient 1 (blood)		Patient 2 (blood)	
	Minimal Inhibitory Concentration $\mu\text{g/ml}$	Interpretive Category	Minimal Inhibitory Concentration $\mu\text{g/ml}$	Interpretive Category	Minimal Inhibitory Concentration $\mu\text{g/ml}$	Interpretive Category
Ampicillin	≥ 32.00	Resistant	≥ 32.00	Resistant	≥ 32.00	Resistant
Amoxicillin-clavulanic acid	8.00	Susceptible	16.00	Intermediate	8.00	Susceptible
Ampicillin-sulbactam	16.00	Intermediate	≥ 32.00	Resistant	16.00	Intermediate
Piperacillin-tazobactam	≤ 4.00	Susceptible	8.00	Susceptible	≤ 4.00	Susceptible
Cefazolin	≥ 64.00	Resistant	≥ 64.00	Resistant	≥ 64.00	Resistant
Ceftriaxone	32.00	Resistant	≥ 64.00	Resistant	≥ 64.00	Resistant
Cefepime	2.00	Susceptible	2.00	Susceptible	8.00	Susceptible dose dependent
Aztreonam	16.00	Resistant	16.00	Resistant	16.00	Resistant
Ertapenem	≤ 0.50	Susceptible	≤ 0.50	Susceptible	≤ 0.50	Susceptible
Imipenem	≤ 0.25	Susceptible	≤ 0.25	Susceptible	≤ 0.25	Susceptible
Meropenem	≤ 0.25	Susceptible	≤ 0.25	Susceptible	≤ 0.25	Susceptible

D'après DeFilipp Z, Bloom PP, Torres Soto M, et al. (2019) Drug-resistant *E. coli* bacteremia transmitted by fecal microbiota transplant. N Engl J Med. 381(21):2043-50.

DOCUMENT 10 : Extraits du programme de Biochimie, Biologie et Biotechnologies de terminale STL

Pour l'élève, objectifs en fin de formation		Pour le professeur, au cours de la formation
Savoir-faire	Concepts	Activités technologiques
S2.1 Soi et non-soi		
Expliquer la notion du non-soi. Identifier les éléments reconnus par les cellules du système immunitaire.	- Non-soi. - Antigène.	 Étude de situations médicales de rejet de greffe illustrant la reconnaissance du non-soi.
Mettre en relation les caractéristiques et la fonction d'une barrière naturelle.	- Environnement physico-chimique. - Épithélium. - Microbiote. - Opportunisme.	 Étude des différents modes d'action des barrières : épithélium, pH, mucus, lysozyme, microbiote.  Étude de résultats d'analyses médicales pour mettre en évidence l'installation de micro-organismes pathogènes opportunistes en lien avec le déséquilibre d'un microbiote.

S4.3 Interactions hôte humain - micro-organismes		
Distinguer les types d'interactions entre les micro-organismes et l'organisme humain. Localiser les différents microbiotes humains. Expliquer l'intérêt de la métagénomique pour montrer la diversité d'une flore complexe.	<ul style="list-style-type: none"> - Commensalisme. - Parasitisme. - Agent pathogène. - Biotopes. - Dysbiose. - Métagénomique. - Microbiote*. 	Présentation à partir d'exemple des interactions hôte-micro-organisme pertinentes en biologie médicale.  Visite de laboratoires, expositions, lecture et analyse d'articles présentant les méthodes d'étude génomique des microbiotes humains. Étude de documents sur la corrélation entre le microbiote et certaines pathologies humaines. ⇔ Module S2.

Notions déjà abordées		
Biotechnologies, classe de première : module 2.		
Pour l'élève, objectifs en fin de formation		Pour le professeur, au cours de la formation
Savoir-faire	Concepts	Activités technologiques
T2.1 Analyse d'un produit polymicrobien – culture sélective du micro-organisme recherché		
Identifier les étapes d'une procédure de recherche de micro-organisme d'intérêt à partir d'un produit polymicrobien.	<ul style="list-style-type: none"> - Caractère d'intérêt. - Enrichissement. - Milieu d'isolement*. 	 Recherche et identification d'une bactérie d'intérêt dans un produit polymicrobien (pathogène, témoin de contamination, à métabolisme dépolluant...) ⇔ Module T3.

Notions déjà abordées		
Biochimie-biologie, classe de première : modules A et D. Biotechnologies, classe de première : modules A et D. Mathématiques, classe de seconde : algorithme et programmation.		
Pour l'élève, objectifs en fin de formation		Pour le professeur, au cours de la formation
Savoir-faire	Concepts	Activités technologiques
L4.1 Bioinformatique		
Suivre une procédure d'interrogation d'une base de données pour identifier une séquence nucléique ou protéique.	<ul style="list-style-type: none"> - Base de données*. - Séquence protéique*. - Séquence nucléotidique*. 	 Détermination de la taille et l'origine d'une séquence protéique ou nucléotidique.  Comparaison de bases de données dédiées aux séquences nucléiques ou protéiques. ⇔ Module S3. ⇔ Module T9.4.

Notes :

- Module S2 : Immunité cellulaire et moléculaire ;
- Module S3 : Propriétés de l'ADN et réplication ;
- Module T3 : Caractériser pour identifier des micro-organismes ;
- Module T9.4 : Clonage d'un fragment d'ADN ;

Tournez la page S.V.P.

DOCUMENT 11 : Compétences évaluées à l'épreuve de Biochimie-Biologie-Biotechnologies

Partie pratique d'évaluation des compétences expérimentales

Compétences évaluées						
C1	C2	C3		C4	C5	C6
Analyser les causes d'erreur et choisir un instrument	Analyser les risques et déterminer les mesures de prévention	Réaliser chaque manipulation en autonomie en intégrant les mesures de prévention		Effectuer les calculs et exploiter les indications de mesure à l'aide des outils numériques	Exprimer les résultats en intégrant la dimension métrologique	Interpréter les observations qualitatives ou les résultats quantitatifs
		Savoir-faire en autonomie dont l'application des mesures de prévention	Qualité des résultats et des observations – Présentation organisée des résultats			

Partie écrite

Compétences évaluées					
C1	C2	C3	C4	C5	C6
Analyser un document	Effectuer les calculs	Interpréter des données	Argumenter un choix technique	Elaborer une synthèse	Communiquer à l'écrit

INFORMATION AUX CANDIDATS

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie.
Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

► **Concours externe du CAPET de l'enseignement public :**

Concours

EDE

Section/option

7100E

Epreuve

102

Matière

9312

► **Concours externe du CAPET de l'enseignement privé :**

Concours

EDF

Section/option

7100E

Epreuve

102

Matière

9312

