



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

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Rapport du jury

Concours : CAPET INTERNE

Section : BIOTECHNOLOGIES

Option : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Session 2023

Rapport de jury présenté par :

Sylvain ANDRE, Président de jury
Inspecteur d'académie – Inspecteur pédagogique régional

Sommaire

1. Renseignements statistiques	Page 3
2. Épreuve d'admissibilité	Page 5
3. Épreuve d'admission	Page 7
Conclusion générale	Page 11
Annexe : sujet d'admission	Page 13

1. RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Concours : CAPET

Les notes et moyennes indiquées sont sur 20 :

Nombre de candidats inscrits	87
Nombre de candidates et candidats présents et non éliminés	43
Nombre de candidates et candidats admissibles	16
Nombre de candidates et candidats présents à l'épreuve orale d'admission	15
Nombre de candidates et candidats proposés pour l'admission	5
Rappel : nombre de postes	5
Épreuve d'admissibilité	
- Note la meilleure	15,50
- Moyenne des notes des candidats admissibles	12,10
- Barre d'admissibilité	10
Épreuve d'admission	
- Note la meilleure	16,40
- Moyenne (épreuve admission) candidats admis	14,24
- Moyenne (épreuve admission) candidats non éliminés	10,99
- Moyenne (total admissibilité et admission) candidats admis	13,46
- Barre d'admission	12,43

Concours : CAER

(concours d'accès à l'échelle de rémunération des professeurs certifiés)

Les notes et moyennes indiquées sont sur 20 :

Nombre de candidats inscrits	39
Nombre de candidates et candidats présents et non éliminés	25
Nombre de candidates et candidats admissibles	14
Nombre de candidates et candidats présents à l'épreuve orale d'admission	14
Nombre de candidates et candidats proposés pour l'admission	8
Rappel : nombre de postes	8
Épreuve d'admissibilité	
- Note la meilleure	14
- Moyenne des notes des candidates et candidats admissibles	11,86
- Barre d'admissibilité	10
Épreuve d'admission	
- Note la meilleure	15,80
- Moyenne (épreuve admission) candidates et candidats admis	12,43
- Moyenne (épreuve admission) candidates et candidats non éliminés	10,62
- Moyenne (total admissibilité et admission) candidates et candidats admis	12,37
- Barre d'admission	10,87

2. ÉPREUVE D'ADMISSIBILITÉ : RAPPORT DE L'ÉPREUVE

2.1. Attendus de l'épreuve

Le jury rappelle que les épreuves du concours interne du CAPET sont définies dans l'arrêté du 25 janvier 2021 fixant les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technique.

Il est rappelé aux candidates et candidats que le niveau scientifique et technologique attendu pour le concours doit s'inscrire dans le cadre des programmes des enseignements technologiques du lycée d'enseignement général et technologique, et dans les référentiels des sections de techniciens supérieurs de biologie appliquée.

Partie 1 : présentation du parcours

La présentation doit donner une vision globale de la formation initiale des candidates et candidats et de leur expérience professionnelle et éventuellement associative. Les candidates et candidats présentent leur parcours de manière synthétique et précise avec les principales dates et durées de leurs différentes expériences en lien avec le concours présenté.

Dans cette partie, les candidates et candidats doivent démontrer en quoi l'expérience acquise leur a permis de développer des compétences indispensables pour les enseignements relevant de l'option biochimie génie biologique du CAPET biotechnologies.

Partie 2 : « Construction / Réalisation / Analyse / Projection »

La situation d'apprentissage présentée s'inscrit dans une séquence cohérente et est impérativement choisie dans un des enseignements assurés par les titulaires du concours. Elle doit inclure la dimension technologique.

La situation d'apprentissage choisie, authentique, incluant l'évaluation, doit permettre un exposé argumenté de ses intentions pédagogiques au regard des objectifs de la formation. Le candidat ou la candidate doit apporter la preuve de ses compétences didactiques.

Les annexes, judicieusement choisies en vue d'être exploitées, peuvent être des productions personnelles du candidat ou la candidate, mais également des productions d'élèves anonymisées exploitées pour étayer et illustrer l'analyse et l'argumentation. Le candidat ou la candidate doit expliciter ses choix et démarches *a priori*, argumenter les modalités mises en place pendant la séance, puis commenter leur pertinence par une analyse réflexive *a posteriori* et formuler des propositions d'amélioration.

2.2. Observations du jury

Le jury attend que les candidats ou candidates utilisent les 6 pages autorisées pour la seconde partie.

Les rapports les plus pertinents comportent les deux parties attendues et traduisent l'engagement professionnel du candidat ou de la candidate en présentant :

- les compétences acquises au cours du parcours professionnel en adéquation avec le métier de professeur certifié de biotechnologies - génie biologique ;
- une séance contextualisée, détaillée, judicieusement choisie, permettant de démontrer la capacité à mettre en œuvre une démarche technologique ;
- une réflexion didactique et pédagogique allant au-delà d'une description du déroulé de la séance ;
- une illustration argumentée de la prise en compte de l'hétérogénéité des élèves ;
- une situation d'apprentissage permettant de développer et d'évaluer les compétences visées ;
- une prise en compte, le cas échéant, des risques au laboratoire intégrant l'enseignement de la démarche de prévention ;
- une analyse réflexive *a posteriori*, s'appuyant sur des observations concrètes de la séance ;
- des annexes permettant de démontrer l'authenticité des réalisations du candidat (exemples : productions des élèves, grilles d'évaluations, liens vidéos, déroulé de séance « avant/après », résultats expérimentaux)
- une rédaction structurée en paragraphes et une mise en forme soignée.

Le jury a apprécié la capacité de la majorité des candidates et des candidats à construire un rapport structuré de manière claire et cohérente, permettant une lecture fluide. Il rappelle que la maîtrise de la langue française est indispensable pour obtenir la certification.

Le jury regrette que certains rapports présentent :

- une succession de séances, sans focale ni choix argumenté d'une situation d'apprentissage, ce qui pénalise le candidat ou la candidate dans le développement de son analyse réflexive ;
- une situation d'apprentissage sans réelle démarche technologique ;
- une analyse réflexive trop théorique, déconnectée de la séance proposée ;
- des annexes absentes ou insuffisamment exploitées.

Les enseignants et enseignantes qui n'interviennent pas en lycée technologique sont invités à se rapprocher de l'équipe d'un établissement qui pourrait leur proposer aide, conseil et accompagnement dans la mise en œuvre d'une séance en adéquation avec les attendus du concours.

3. ÉPREUVE D'ADMISSION : RAPPORT DE L'ÉPREUVE

3.1. Caractéristiques de l'épreuve

Les candidats et candidates disposent, en plus d'une version imprimée du sujet, d'un poste informatique avec la version numérique du sujet et de ses annexes, ainsi que différentes ressources numériques : les programmes des enseignements nécessaires, des fiches techniques, un aide-mémoire de métrologie, des fiches de données de sécurité, l'accès au site 3RB (réseau ressources risques biologiques : www.esst-inrs.fr/3rb/) et à la base de données BAOBAB de l'INRS, des logiciels de bureautique (LibreOffice® pour la session 2023) nécessaires à l'exploitation des résultats et à la présentation de l'exposé.

Pour cette session, l'ensemble des candidats et candidates admissibles ont travaillé sur un même sujet comportant :

- trois procédures opératoires à réaliser dont une de bioinformatique ;
- des annexes techniques et documentaires permettant de construire une séquence pédagogique.

Le candidat ou la candidate choisissait :

- la série du baccalauréat ou la spécialité de section de technicien supérieur et le niveau d'enseignement,
- les objectifs pédagogiques de formation.

L'épreuve débute par cinq heures de préparation en laboratoire de biotechnologies.

Au cours des quatre premières heures, en vue de l'exposé à présenter au jury, les candidats et candidates s'approprient le sujet et mettent en œuvre les manipulations imposées en mobilisant leurs savoir-faire disciplinaires dans l'environnement du laboratoire.

Quarante-cinq minutes après le début de l'épreuve, les candidats et candidates effectuent une démonstration technique commentée de leur choix devant un examinateur ou une examinatrice, tel qu'ils le feraient avec des élèves, pendant 5 à 10 minutes.

Les candidats et candidates préparent une séance détaillée incluse dans une séquence de formation, toutes deux contextualisées par des informations qui peuvent être choisies dans les documents en annexe du dossier. La séance intègre au moins une procédure opératoire réalisée, y compris l'exploitation et l'analyse des résultats obtenus. L'utilisation d'un tableur permet de s'affranchir de l'usage d'une calculatrice.

La cinquième heure de préparation est exclusivement dédiée à la finalisation de la présentation de l'exposé, sans possibilité de manipuler ou d'accéder au matériel de laboratoire, en dehors de l'outil informatique. La présentation est enregistrée par le candidat sur la clé USB fournie par le centre.

L'épreuve se poursuit par un exposé et un entretien.

La partie orale, d'une durée d'une heure face aux membres du jury, se déroule dans une salle équipée d'un tableau et d'un dispositif permettant de vidéo-projecter le support que la candidate ou le candidat a conçu et enregistré sur la clé USB.

L'exposé de 30 minutes a pour objectifs de présenter les aspects didactiques et pédagogiques d'une séance contextualisée et détaillée, qui doit s'inscrire dans une séquence de formation.

La séance prend appui sur tout ou partie des investigations menées lors des manipulations réalisées au laboratoire et intègre à la fois la démarche d'analyse des risques, l'analyse des points critiques et l'exploitation de résultats qualitatifs et quantitatifs y compris la métrologie. L'entretien avec le jury permet à la candidate ou au candidat de préciser certains points de sa présentation et de mettre en avant ses qualités pédagogiques, didactiques et sa maîtrise des contenus scientifiques et technologiques. Les manipulations non retenues peuvent faire l'objet d'un questionnement par le jury.

Comme précisé dans l'arrêté du 25 janvier 2021, un temps d'entretien maximum de 10 minutes est réservé à un échange sur le dossier de RAEP.

Observations du jury

Pour cette épreuve, le jury évalue les connaissances scientifiques et technologiques relatives aux techniques mises en œuvre, les qualités pédagogiques et didactiques ainsi que les savoir-faire et attitudes des candidates et candidats figurant dans le référentiel de compétences des métiers du professorat et de l'éducation (BO du 25 juillet 2013) :

- maîtriser les savoirs et savoir-faire disciplinaires,
- maîtriser la didactique disciplinaire,
- mener une pratique pédagogique réfléchie,
- adopter une posture professionnelle adaptée,
- maîtriser la langue française et l'usage des outils numériques.

Le candidat ou la candidate doit être en capacité d'étayer son propos et de faire la preuve de la maîtrise des différentes compétences par des arguments solides y compris au moment de l'échange avec le jury.

Au laboratoire de biotechnologies, le jury a apprécié pour les meilleurs candidats et candidates :

- la posture d'enseignant adoptée au laboratoire et lors des interactions avec les membres de jury ;
- la qualité didactique de la démonstration lors de la présentation commentée ;
- l'adaptabilité et l'autonomie dans l'environnement du laboratoire ;
- l'organisation dans le temps et l'espace ;
- l'évaluation *a priori* des risques et la mise en œuvre cohérente des moyens de prévention ;
- l'adaptabilité aux outils informatiques : logiciels de bureautique et de bioinformatique.

Des difficultés demeurent pour certains candidats ou candidates :

Elles sont liées notamment à la réalisation de manipulations enseignées en série STL-biotechnologies comme le pipetage avec pipettes automatiques, la réalisation d'un isolement bactérien, la réalisation d'une dilution en cascade en milieu aseptique, l'homogénéisation

d'une suspension, l'utilisation raisonnée des équipements de protection, la gestion des déchets biologiques, le respect de l'asepsie.

Les candidates et candidats ont été amenés à démarrer les manipulations rapidement afin d'être en mesure de mener une démonstration technique commentée à l'un des membres du jury.

Effectuer l'ensemble des manipulations et préparer une séquence construite intégrant des éléments contextuels du dossier nécessitait une bonne organisation du travail, à la fois sur les aspects théoriques et sur les aspects pratiques au laboratoire.

Il n'était pas possible, pour les candidats, de recommencer une manipulation. Toutefois, les éventuelles difficultés ou erreurs, lorsqu'elles étaient identifiées par le candidat, ont pu être mentionnées dans l'exposé pour illustrer un point didactique pertinent.

Compte tenu de ces constats, les membres du jury conseillent aux futures candidates et candidats de :

- se préparer à l'appropriation de procédures opératoires et documents techniques, qui peuvent être en langue anglaise ;
- se préparer à l'appropriation d'outils numériques (logiciels libres de bureautique et ceux qui apparaissent dans les parties L et T du programme de la série STL-biotechnologies) ;
- se préparer à mettre en œuvre des manipulations pratiquées en série STL-biotechnologies, éventuellement en se rapprochant d'un établissement pour participer à des séances réalisées par un ou une collègue ;
- se préparer à faire la preuve d'une maîtrise des calculs indispensables à l'exploitation des résultats, montrant notamment l'appropriation des concepts métrologiques.

Partie orale : exposé et entretien

Le jury a apprécié :

- la posture d'enseignant notamment dans la réactivité, la qualité d'écoute et le registre de langage ;
- les capacités d'analyse réflexive et de questionnement de la pratique professionnelle ;
- le choix argumenté de modalités pédagogiques permettant de former tous les élèves ;
- une cohérence entre les objectifs de formation annoncés, le contenu de la séance et les activités proposées ;
- le choix d'une activité permettant de montrer sa capacité à accompagner les élèves dans l'acquisition de nouveaux concepts, savoir-faire ou compétences ;
- une présentation intégrant des éléments concrets illustrant le propos ;
- une contextualisation prenant appui sur les ressources documentaires ;
- la solidité des connaissances scientifiques et technologiques ;
- un effort de conception ou d'ébauche de supports pédagogiques.

À l'inverse, certains points constituent des axes de progrès pour les candidats.

- L'exposé n'est pas une exploitation des résultats désolidarisée de la présentation de la séquence ni une déclaration d'intentions. Une prise de recul et des choix sont nécessaires afin

de dégager un sens pédagogique et didactique aux activités présentées, même si cette présentation n'est que partiellement aboutie.

- Un lien explicite de la proposition pédagogique avec les objectifs de formation des programmes est attendu, pour identifier les compétences travaillées chez les élèves.
- Les concepts liés à la métrologie (exploitation, expression des résultats, terminologie) attendus au niveau T^{ale} STL doivent être bien maîtrisés, et d'autant plus par les candidates et candidats qui font le choix de les présenter.

L'élaboration d'une séquence et d'une séance détaillée à partir d'éléments pertinents issus des activités menées en laboratoire nécessite une préparation sérieuse du candidat qui lui permettra de mettre en avant ses compétences professionnelles : il s'agit de faire la preuve de la maîtrise des démarches pédagogiques présentées en argumentant concrètement leur ancrage dans la séance.

Le jury conseille aux candidats :

- d'être attentifs à la posture adoptée qui doit permettre des échanges professionnels avec le jury ;
- d'intégrer les spécificités de l'enseignement technologique dans la démarche didactique présentée ;
- d'être en capacité de montrer une certaine prise de recul ou analyse réflexive sur des éléments avancés pour donner du sens aux choix pédagogiques et didactiques ;
- de maîtriser les démarches associées aux enseignements technologiques, notamment la démarche d'analyses de risques, l'exploitation et la validation de résultats conformément aux règles de métrologie, et la contribution des enseignements technologiques à l'orientation et au parcours des élèves ;
- de relire leur dossier de RAEP avant l'épreuve d'admission pour préparer les 10 minutes d'entretien portant sur cette partie.

L'appropriation des derniers programmes et référentiels des enseignements technologiques du domaine des biotechnologies génie biologique pour en maîtriser les principaux concepts et savoir-faire reste indispensable. Le jury souligne la nécessité d'intégrer le développement des compétences numériques dans les objectifs de formation, comme préconisé dans les parties L et T du programme de STL-biotechnologies et dans les récentes certifications concernant les lycéens et les enseignants.

Les candidats sont également invités à se préparer à envisager des interactions possibles entre la séquence présentée et les autres enseignements de manière à explorer les dimensions sociétales et éthiques de la connaissance du vivant et des biotechnologies. La lecture des préambules des programmes est ainsi recommandée par le jury.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La session 2023 du CAPET/CAER interne a permis de pourvoir tous les postes ouverts, et ce dans les deux concours, CAPET et CAER.

L'ensemble du jury tient à féliciter les lauréates et lauréats. Leur succès au concours de recrutement d'enseignants conduit, dès la rentrée scolaire, à leur nomination en qualité de professeurs stagiaires. Nombre de candidates et candidats non admis ont également donné la preuve de qualités professionnelles certaines, et sont encouragés à poursuivre leur préparation pour se présenter à une session future.

Pour l'épreuve d'admissibilité, la plupart des dossiers de RAEP respectait la définition d'épreuve, notamment en termes de forme. Le jury a apprécié les dossiers de RAEP dont la structuration et les contenus personnalisés mettent en valeur les compétences professionnelles développées au cours des années d'exercice des candidates et candidats.

Lors de cette session, les candidats et candidates ont été accueillis la veille de l'épreuve d'admission par le président, la vice-présidente et les secrétaires générales. L'objectif était de préciser les caractéristiques de l'épreuve, son organisation dans le temps et l'espace et la configuration des locaux mobilisés pendant l'épreuve. Une pause surveillée de trente minutes est prévue entre la fin des 5 heures de préparation et le temps de l'exposé. Les candidats et candidates sont invités à prévoir de quoi se restaurer et s'hydrater. Cette épreuve est exigeante en termes de diversité des compétences évaluées, mais également par sa durée et son intensité. L'ensemble du jury s'est attaché à placer les candidates et candidats dans les meilleures conditions possibles pour les différents temps de l'épreuve, afin que chacune et chacun puisse donner la mesure de ses capacités professionnelles.

Les lauréats et lauréates ont révélé des compétences attendues de la part d'une ou un enseignant : analyse et exploitation efficace des ressources, maîtrise des techniques de laboratoire, présentation synthétique, rigoureuse et convaincante des argumentations, maîtrise des contenus disciplinaires et des savoir-faire didactiques et pédagogiques, analyse réflexive et enfin qualités d'écoute et de communication.

Ce concours n'est pas exclusivement réservé aux candidats et candidates ayant une expérience d'enseignement en biotechnologies-génie biologique. Cependant, pour les candidats et candidates qui n'auraient pas cette expérience, une connaissance de la diversité des enseignements et niveaux de formation auxquels ils peuvent être confrontés est indispensable, en adéquation avec la définition des épreuves. La diversité des parcours des lauréats et lauréates montre que ce concours est accessible à des candidats et candidates qui savent mettre en valeur leurs acquis et qui ont su élargir leur champ de compétences pour répondre aux dimensions technologique, pédagogique et didactique attendues.

Pour répondre aux objectifs de l'épreuve d'admission, le candidat ou la candidate doit avoir une solide maîtrise des notions fondamentales caractéristiques du champ disciplinaire visé par le concours du CAPET CAER de biotechnologies, option biochimie génie biologique. Les supports documentaires de l'épreuve d'admission peuvent aussi bien s'adosser aux programmes des séries technologiques préparant aux baccalauréats scientifiques et technologiques, qu'aux référentiels des sections de technicien supérieur de la filière.

L'expérience d'enseignement se doit d'être doublée d'une préparation sérieuse et rigoureuse au concours pour conduire à la réussite. Les observations des jurys figurant dans ce rapport, ainsi que les rapports des sessions précédentes, ont vocation à guider les candidats et candidates en ce sens.

Le jury tient à remercier monsieur le Proviseur, madame la directrice déléguée aux enseignements technologiques et l'ensemble des personnels du lycée de la Vallée de Chevreuse de Gif sur Yvette pour l'accueil et l'aide efficace apportés afin que ce concours se déroule dans de bonnes conditions.

**CAPET INTERNE
ET CAER**

**CAPET INTERNE
ET CAER**

**Section : BIOTECHNOLOGIES
Option : BIOCHIMIE – GENIE BIOLOGIQUE**

Épreuve pratique d'admission :
Leçon portant sur les programmes des lycées et des
classes post-baccalauréat

**Durée : 6 heures
Coefficient : 2**

*Travaux pratiques : 4 heures
Préparation de l'exposé : 1 heure
Exposé : 30 minutes
Entretien : 30 minutes*

Le 25 avril 2023

Le sujet comporte **19 pages**. Le candidat doit s'assurer de disposer d'un exemplaire complet dès le début de l'épreuve.

Table des matières

EXTRAIT DE LA DEFINITION DE L'EPREUVE : NOR :MENH1310121A	15
CONSIGNES DU JURY	15
PROCÉDURES OPÉRATOIRES	16
PROCÉDURE OPÉRATOIRE 1 : détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide	16
PROCÉDURE OPÉRATOIRE 2 : vérification <i>in silico</i> de la faisabilité du clonage d'une ORF - amplification par PCR, restriction et insertion orientée dans un vecteur d'expression	17
PROCÉDURE OPÉRATOIRE 3 : dosage des protéines par la méthode au BCA	18
ANNEXE 1 : DOSSIER TECHNIQUE	19
DOCUMENT 1 : Vecteurs de clonage et d'expression	19
DOCUMENT 2 : méthode BCA, principe et applications	19
ANNEXE 2 : DOSSIER DOCUMENTAIRE	21
DOCUMENT 3 : L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques	21
DOCUMENT 4 : Caractérisation du peptide antimicrobien RumC	22
1. Structure et codage du gène RumC1	10
2. Production hétérologue de RumC1 et mesure de l'activité antimicrobienne	10
DOCUMENT 5 : Thérapies à ARN – un domaine thérapeutique en pleine expansion	24
1. De l'ARN aux ARN thérapeutiques	24
2. Des développements en cours dans de nombreux domaines thérapeutiques	25
DOCUMENT 6 : Dosage de la procalcitonine pour guider l'éventuelle prescription d'antibiotiques et suivre l'infection	26
1. Présentation de la PCT	14
2. Utilisation du dosage de PCT	14
3. Le test B·R·A·H·M·S™ PCT-Q	15
DOCUMENT 7 : Protéines et alimentation	28
ANNEXE 3 : AIDE-MEMOIRE DE METROLOGIE	30
ANNEXE 4 : RESSOURCES SUR SUPPORT NUMERIQUE	31

EXTRAIT DE LA DEFINITION DE L'ÉPREUVE : NOR :MENH1310121A

« Épreuve pratique d'admission » (arrêté avril 2013)

« L'épreuve a pour but d'évaluer, dans l'option choisie, l'aptitude du candidat à concevoir et organiser une séquence de formation, pour un objectif pédagogique imposé et un niveau de classe donné. La séquence de formation s'inscrit dans les programmes de lycée ou de classes post-baccalauréat du lycée dans la discipline considérée.

L'épreuve prend appui sur les investigations et les analyses effectuées au préalable par le candidat au cours de travaux pratiques, à partir d'un ou plusieurs protocoles et comporte un exposé suivi d'un entretien avec les membres du jury.

Au cours de sa présentation orale, le candidat est amené : à expliciter sa démarche méthodologique, à mettre en évidence les informations, données et résultats, issus des investigations conduites durant les travaux pratiques, qui lui ont permis de construire sa séquence de formation, à décrire la séquence de formation qu'il a élaborée, à présenter de manière détaillée une des séances de formation constitutives de la séquence.

Au cours de l'entretien avec le jury, le candidat est conduit à préciser plus particulièrement certains points de sa présentation, ainsi qu'à expliquer et justifier les choix de nature didactique et pédagogique, qu'il a opérés pour la construction de la séquence de formation présentée. »

CONSIGNES DU JURY

Le sujet comporte 3 procédures opératoires réalisables, dont 1 longue et 2 courtes. Le candidat doit mettre en œuvre la totalité des procédures opératoires. La séance détaillée s'appuie, entre autres, sur l'exploitation de tout ou partie des procédures opératoires et de tout ou partie des résultats obtenus. Les procédures opératoires peuvent être adaptées si nécessaires.

Pour construire la **séquence** et la **séance détaillée**, le candidat doit choisir :

- la **série du baccalauréat** ou **spécialité de STS** et le **niveau d'enseignement**,
- les **objectifs pédagogiques de formation** (savoirs, savoir-faire, savoir-être, compétences, concepts, capacités, notions ...).

Le contexte associé à la séance construite peut prendre appui sur le dossier documentaire proposé en annexe, ainsi que sur des ouvrages proposés en bibliothèque consultables dans la dernière heure de préparation.

PROCÉDURES OPÉRATOIRES

PROCÉDURE OPÉRATOIRE 1 : détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide

Matériels spécifiques et réactifs

- 15 mL d'une suspension bactérienne de classe 1 ajustée à 10^8 bactéries·mL⁻¹ notée « **X** » ;
- 2 flacons de 12,5 mL de milieu Mueller-Hinton notés « **MH** » ;
- 2,5 mL d'ampicilline à 200 µg·mL⁻¹ notée « **Ampi** » ;
- 11 tubes à hémolyse ;
- une gélose nutritive ordinaire ;
- matériel usuel de microbiologie ;
- ordinateur avec clé USB contenant l'édition 2022 du document EUCAST du CASFM.

Procédure opératoire

- préparer une série de 11 tubes :

Numéro des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Milieu Mueller Hinton (mL)	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ampicilline à 200 µg·mL ⁻¹ (mL)	0	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Redistribuer du tube précédent (mL)	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1	1*

* : rejeter 1 mL

- préparer l'inoculum : introduire 50 µL de la suspension bactérienne X fournie dans 12,5 mL de milieu MH.
- ajouter 1 mL d'inoculum dans chaque tube.
- réaliser un isolement de l'inoculum sur gélose nutritive.
- incuber la série de tubes et la gélose, 24 h à 37 °C en atmosphère aérobie.

Des résultats obtenus par le centre d'examen sont fournis, à la demande du candidat, lorsque la manipulation est terminée.

Exploitation des résultats

Pour exploiter les résultats, utiliser la série de tubes et l'isolement fournis, ainsi que le document EUCAST du CASFM. Utiliser la rubrique : « concentration critique non reliée à une espèce ».

PROCÉDURE OPÉRATOIRE 2 : vérification *in silico* de la faisabilité du clonage d'une ORF - amplification par PCR, restriction et insertion orientée dans un vecteur d'expression

Matériel spécifique

- ordinateur
- logiciel « serial cloner »
- clé USB avec :
 - o un fichier contenant la séquence partielle du génome de la bactérie Yy
 - o un fichier précisant les conditions de faisabilité d'une PCR
 - o un fichier contenant la séquence des amorces :

amorce	séquence	Enzyme de restriction (site grisé)
sens	5' <u>AACCTGCAGAT</u> GAGAAAAATCGTAGCAGG 3'	<i>Pst</i> I
antisens	5' <u>ATGAATTC</u> TTATGCCGTTTTTGGCACC 3'	<i>Eco</i> RI

Les parties soulignées correspondent à des parties non complémentaires de la séquence à amplifier.

Procédure opératoire

- Ouvrir le logiciel « serial cloner ».
- Utiliser l'onglet « New » pour créer le fichier-séquence du chromosome génomique de la bactérie Yy.
- Utiliser l'onglet PCR pour valider la faisabilité de la manipulation avec les amorces proposées.

Attention : les amorces doivent être recopiées dans le sens 5' vers 3' sur 2 cases :

- o une case correspondant à la partie ajoutée à l'amorce et non complémentaire du gène à amplifier ;
 - o l'autre case correspondant à la partie de l'amorce complémentaire au gène à amplifier.
- À partir de la fenêtre contenant la séquence de l'amplicon : utiliser l'onglet « graphic map » pour valider que les sites *Pst*I et *Eco*RI créés sont des sites uniques.

Exploitation des résultats

Utiliser le **document 1** pour montrer que le clonage pour expression est possible dans le vecteur pBAD.

PROCÉDURE OPÉRATOIRE 3 : dosage des protéines par la méthode au BCA

Matériels spécifiques et réactifs

- Réactif Cu²⁺/BCA, préparé par mélange des réactifs A et B, disponible en distributeur automatique ;
- 1 mL de solution étalon de SAB à 1 mg·mL⁻¹ notée « E » ;
- 2 mL d'eau physiologique ;
- 0,5 mL de solution de contrôle à 0,5 mg·mL⁻¹ notée « C » ;
- 0,5 mL d'échantillon E1 de concentration estimée à 2 mg·mL⁻¹ noté « E1 » ;
- 0,5 mL d'échantillon E2 de concentration estimée à 0,25 mg·mL⁻¹ noté « E2 » ;
- 11 cuves spectrophotométriques de 4 mL ;
- ordinateur avec tableur-grapheur « Calc » de LibreOffice.

Procédure opératoire

En cuves spectrophotométriques :

Préparer, sous un volume de 100 µL et dans les mêmes conditions :

- une série de cuves contenant les volumes suivants de solution étalon : 0 – 20 – 40 – 60 – 80 et 100 µL ;
- une cuve pour le dosage de la solution de contrôle ;
- des cuves pour le dosage des essais en double.

Ajouter 1 mL de réactif Cu²⁺/BCA

Couvrir, homogénéiser et placer 30 min à 37 °C

Lire les absorbances au spectrophotomètre à 562 nm

Remarque : après incubation, la stabilité à température ambiante est d'environ 30 min

Données de métrologie

$s_r = 0,0053 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$

$u_c = 0,0078 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$

Limites de linéarité de la méthode : 20 à 2000 µg·mL⁻¹

Intervalle de validité du contrôle [0,486-0,514] mg·mL⁻¹

Coefficient de détermination pour valider la linéarité de la gamme $R^2 \geq 0,995$

Données de sécurité

Réactif B de la solution réactionnelle

Dangers pour la santé

Non classé

Dangers pour l'environnement

Toxicité aquatique aiguë Catégorie 1

Toxicité chronique pour le milieu aquatique

Catégorie 2

Pictogrammes de danger

Mention d'avertissement

ATTENTION



Mentions de danger

H400 - Très toxique pour les organismes aquatiques

H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme

Prévention

P273-Éviter le rejet dans l'environnement

Intervention

P391 - Recueillir le produit répandu

Élimination

P501 - Éliminer le contenu/récipient dans une usine d'élimination des déchets homologuée

ANNEXE 1 : DOSSIER TECHNIQUE

DOCUMENT 1 : Vecteurs de clonage et d'expression

En plus de permettre l'amplification de séquence d'ADN d'intérêt, les vecteurs d'expression permettent la transcription et éventuellement la traduction de gènes.

Ces plasmides possèdent des caractéristiques communes avec les vecteurs de clonage :

- Origine de réplication (bactérienne) ;
- Gène de résistance à un antibiotique ;
- Site Multiple de Clonage (SMC).

Ils possèdent aussi des signaux de transcription (promoteur et terminateur) non présents dans les vecteurs de clonages ; et des signaux de traduction (Ribosome Binding Site, ATG, codon stop ; éventuellement une séquence d'adressage qui permet la sécrétion de la protéine). Le plus souvent, ils possèdent des systèmes de régulation de l'expression. Pour ce faire, on utilise un promoteur fort et/ou des systèmes permettant de minimiser ou maximiser la synthèse protéique.

Exemple : régulation avec le système LacI/LacO de l'opéron lactose

Par ailleurs, la plupart des vecteurs d'expression ont été construits de telle sorte que la protéine exprimée puisse être fusionnée avec une autre protéine. On appelle « protéine de fusion » ces protéines artificielles obtenues par la combinaison de différentes protéines, ou partie de protéines. Les protéines associées à la protéine d'intérêt (ou étiquette) permettent :

- de faciliter la purification : car la protéine associée est facile à purifier ;
- de faciliter la détection des protéines d'intérêt auxquelles elles sont fusionnées (fluorescence, épitope reconnu par un anticorps spécifique ...).
- de faciliter la solubilisation des protéines cibles auxquelles elles sont fusionnées.

La protéine de fusion peut alors être utilisée telle quelle ou être clivée (séparation de la protéine cible et de la protéine d'étiquetage) si une séquence codant pour un motif peptidique reconnu par une protéase spécifique est insérée entre la séquence de la protéine d'intérêt de celle de la protéine de fusion.

Exemples de protéases : thrombine, entérokinase.

Fig. Carte du vecteur pBAD - Documentation technique Invitrogen™



p_{BAD} = promoteur fort et inducible

ara C = gène codant pour une protéine répresseur du promoteur pBAD

6xHis = tag poly-histidine qui permet la purification par affinité sur résine de Nickel

EK = site de clivage par l'entérokinase

Xpress™ epitope = site reconnu par un Ac spécifique appelé anti-Xpress™

MCS contenant les sites de restriction : *Xho I*, *Sac I*, *Bgl II*, *Pvu II*, *Kpn I*, *EcoR I*, *Sfu I* et *Hind III*

DOCUMENT 2 : méthode BCA, principe et applications

Le dosage protéique BCA a été présenté par Paul K. Smith *et al.* en 1985. Comme le dosage Folin-Lowry, il s'agit d'une technique basée sur l'utilisation d'ions cuivriques, mais il présente l'avantage de permettre l'utilisation d'échantillons contenant jusqu'à 5% de détergents.

Fonctionnement du dosage

Le dosage protéique BCA combine la réaction de dosage des protéines par la méthode du Biuret (réduction du Cu^{2+} en Cu^+ en milieu alcalin) à la détection colorimétrique hautement sensible et sélective de l'ion métallique cuivreux (Cu^+) par l'acide bicinchoninique (BCA) (Voir Figure).

Au cours de la première étape qui se déroule à pH alcalin, les peptides contenant au moins trois acides aminés forment avec les ions cuivreux, un complexe chélateur coloré absorbant à 540 nm. La coloration obtenue est proportionnelle au nombre de liaisons peptidiques. Cette réaction, connue sur le nom de réaction du Biuret, permet de réaliser un dosage du même nom permettant de déterminer la concentration en protéines totales d'un échantillon si celle-ci est comprise entre 5 et 160 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

La seconde étape est une chélation entre deux molécules de BCA et un ion métallique cuivreux (Cu^+). Elle donne un complexe d'une couleur pourpre intense. Le complexe BCA / cuivre est hydrosoluble et montre une forte absorbance à 562 nm, proportionnelle avec des concentrations croissantes en protéines. Le signal induit par le complexe pourpre est environ 100 fois plus intense (limite inférieure de détection) que celui correspondant à la couleur bleu pâle de la première réaction.

Avantages

- Compatible avec l'usage de la plupart des détergents ;
- Détection possible de concentration en protéines de 20 à 2000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;
- Adaptation possible en microplaque : il est alors nécessaire de modifier le *ratio* échantillon/solution de travail à 1/8 (contre 1/20 pour la macrométhode).

Exemples d'applications

- Suivi de purification ;
- Détermination de la protéinurie en microplaque ;
- Détermination de la concentration totale en protéines d'un extrait cellulaire ;
- Détermination de la quantité de cellules ;
- Étude des interactions protéine-protéine.

Documentation technique adaptée à partir des données du « Protein assay technical handbook » Thermoscientific invitrogen

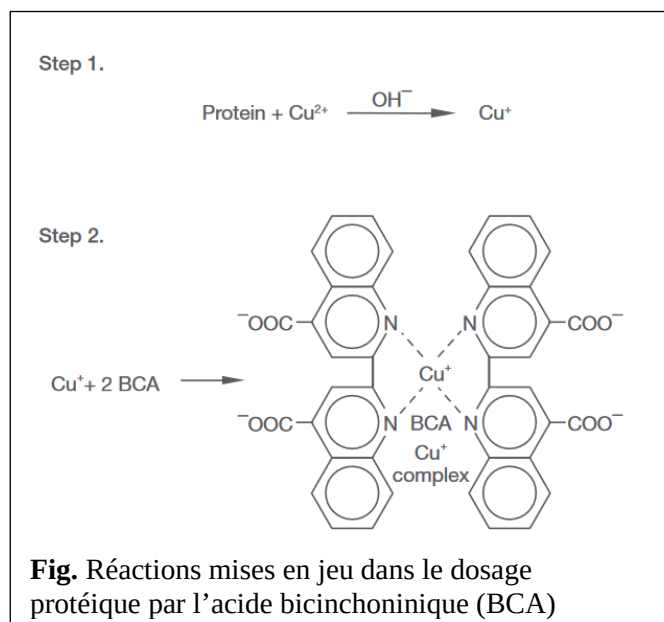


Fig. Réactions mises en jeu dans le dosage protéique par l'acide bicinchoninique (BCA)

DOCUMENT 3 : L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a publié aujourd'hui sa première liste « d'agents pathogènes prioritaires » résistants aux antibiotiques, énumérant les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine. Elle met en avant la menace de certaines bactéries qui ont développé de nouvelles stratégies de résistance et sont capables de transmettre ce nouveau matériel génétique à d'autres bactéries, leur permettant de devenir elles aussi résistantes.

La liste de l'OMS comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques : critique, élevée ou moyenne.

Le groupe le plus critique comporte des bactéries multirésistantes qui représentent une menace particulière dans les hôpitaux, les maisons de retraite ou pour les patients dont les soins imposent d'utiliser des dispositifs comme des respirateurs ou des cathéters sanguins. Elles peuvent provoquer des infections sévères, souvent mortelles, telles que des infections sanguines et des pneumonies. Ces bactéries sont devenues résistantes à un grand nombre d'antibiotiques, y compris les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération, les meilleurs produits disponibles pour lutter contre les bactéries multirésistantes.

Le deuxième et le troisième groupe de la liste – les catégories de priorité élevée et moyenne – comportent d'autres bactéries de plus en plus résistantes provoquant des maladies plus courantes telles que la gonorrhée ou les intoxications alimentaires par les salmonelles.

« De nouveaux antibiotiques ciblant les agents pathogènes prioritaires de cette liste aideront à faire baisser le nombre des décès dus aux infections résistantes dans le monde », explique le Professeur Evelina Tacconelli, Chef de la division des maladies infectieuses à l'Université de Tübingen et contributeur majeur à l'élaboration de la liste. « Si on attend plus longtemps, les problèmes de santé publique vont s'aggraver et auront un impact dramatique sur les soins des patients. ».

Priorité 1 : CRITIQUE

- *Acinetobacter baumannii*, résistance aux carbapénèmes
- *Pseudomonas aeruginosa*, résistance aux carbapénèmes
- *Enterobacteriaceae*, résistance aux carbapénèmes, production de BLSE (BetaLactamase à Spectre Élargi)

Priorité 2 : ÉLEVÉE

- *Enterococcus faecium*, résistance à la vancomycine
- *Staphylococcus aureus*, résistance à la méticilline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine
- *Helicobacter pylori*, résistance à la clarithromycine
- *Campylobacter* spp., résistance aux fluoroquinolones
- *Salmonellae*, résistance aux fluoroquinolones
- *Neisseria gonorrhoeae*, résistance aux céphalosporines, résistance aux fluoroquinolones

adapté de l'article <https://www.who.int/fr/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

DOCUMENT 4 : Caractérisation du peptide antimicrobien RumC

Alors que le monde s'inquiète de la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques, certaines solutions se trouvent en nous-mêmes. Des chercheurs ont découvert qu'une bactérie intestinale, *Ruminococcus gnavus*, produisait plusieurs peptides antimicrobiens particulièrement intéressants : les ruminococcines A et C1 (RumA et RumC1). RumC1 est efficace contre plusieurs souches bactériennes résistantes sans leur faire développer de nouvelles défenses, ne se dénature pas dans des conditions physiologiques et est compatible avec un développement industriel.

1. Structure et codage du gène RumC1

RumC1 se démarque par sa structure en double épingle, une forme jusqu'alors inconnue chez cette famille de peptides. Sa structure très compacte permet au peptide de résister à plusieurs traitements physico-chimiques, comme les changements de pH ou encore à l'action de différentes enzymes.

Tout cela signifie que RumC1 peut être administré sous forme de médicament, et qu'il peut être fabriqué et manipulé en grandes quantités par des procédés industriels.

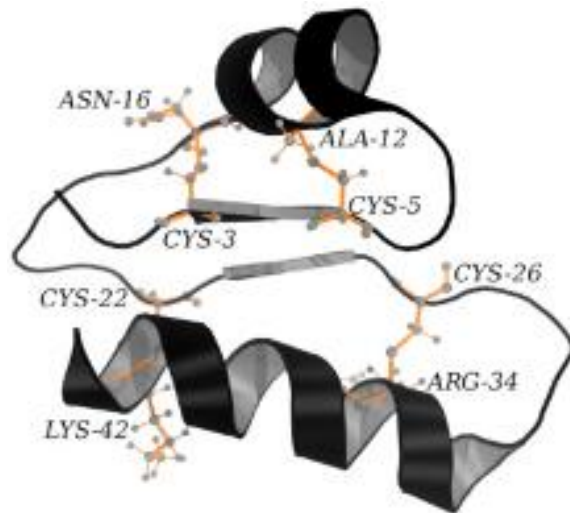


Fig.1 Structure tridimensionnelle de RumC1

Les peptides Rum sont codés dans un regroupement génique (voir fig. 2) contenant 5 gènes Rum (en vert), 2 enzymes à radical SAM* nommées MC1 et MC2 (en rouge). Les gènes en bleu et gris sont probablement des transporteurs (export).



Fig. 2 Groupe de gènes impliqués dans la synthèse de Rum C

* Les enzymes à radical SAM appartiennent à une superfamille d'enzymes qui utilise un cluster [4Fe-4S]⁺ pour cliver de manière réductrice la S-adénosyl-L-méthionine (SAM). Un intermédiaire radicalaire est produit, que les enzymes utilisent pour effectuer diverses transformations, comme la biosynthèse de cofacteurs, l'activation enzymatique, la modification peptidique, les modifications post-transcriptionnelles et post-traductionnelles, etc.

2. Production hétérologue de RumC1 et mesure de l'activité antimicrobienne

Rum C a été produit chez *E.coli* en co-expression ou non avec l'enzyme MC1 pour obtenir respectivement le peptide C1_{MC1} ou C1. L'analyse en spectrométrie de masse a montré que contrairement au peptide C1 seul, le peptide C1_{MC1} contient des ponts thioéthers, ce qui en fait un sactipeptide (famille de peptides formés de façon post- traductionnelle par des enzymes radicalaires SAM).

Pour finir, il a été montré que RumC1 nécessite une activation par traitement avec l'enzyme pancréatique trypsine. Ce traitement, mimant le processus d'activation suggéré dans de précédentes études, est susceptible de se produire dans le tractus digestif, où Rum C1 est

produit. L'activité antimicrobienne de RumC1 est mesurée en suivant la croissance de *B. subtilis* (voir Fig. 3).

Résultats

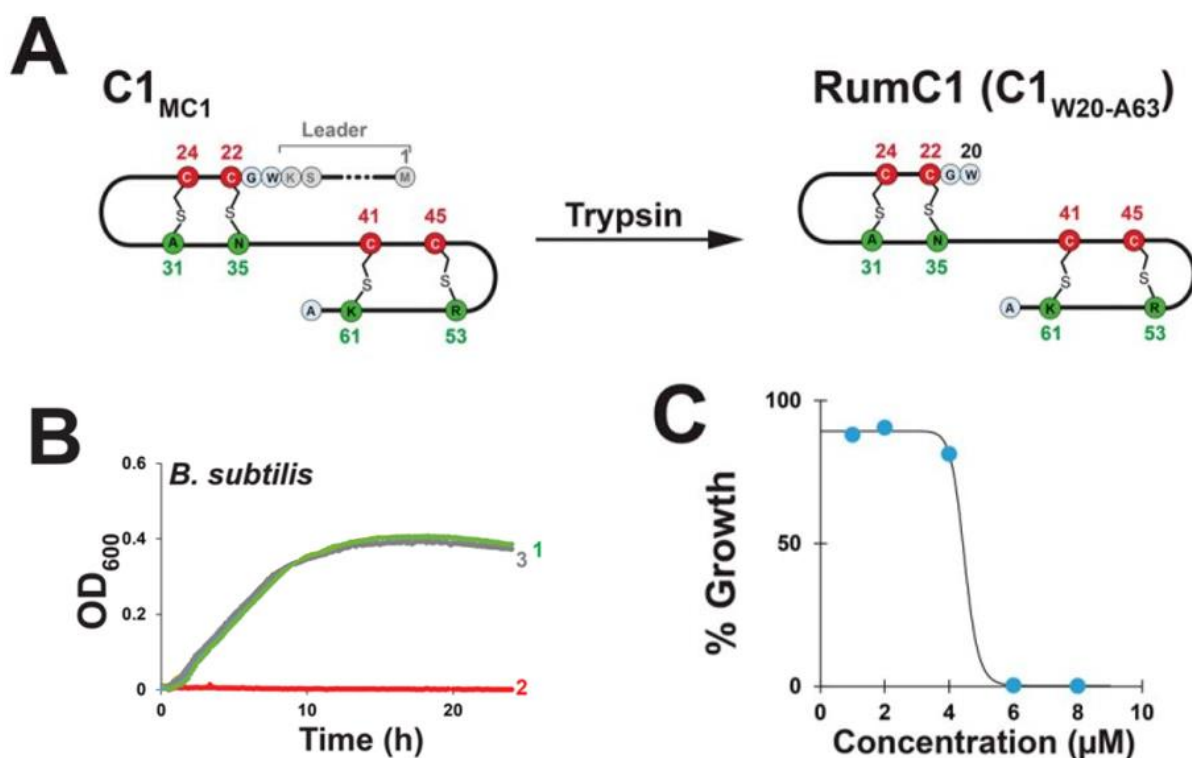


Fig3. Activité antimicrobienne de RumC1. A, structure proposée de RumC1 après hydrolyse par la trypsine du peptide $C1_{MC1}$. B, test d'activité contre *B. subtilis*. Les courbes de croissance de la souche WT168 de *B. subtilis* en présence de $10 \mu mol \cdot L^{-1}$ de $C1_{MC1}$ (1), $10 \mu mol \cdot L^{-1}$ de $C1_{MC1}$ après traitement à la trypsine (RumC1) (2), ou sans peptide (3). C, test d'activité contre *B. subtilis* avec différentes concentrations de RumC1.

Discussion

Ces résultats fournissent la preuve que les enzymes à radical SAM présentes dans un groupe de gènes de *R. gnavus* sont nécessaires aux modifications post-traductionnelles conduisant à la formation d'une forme mature du peptide C1.

Son activité antimicrobienne nécessite ensuite l'action de la trypsine, qui le délivre de son peptide signal dans le tube digestif où RumC exerce son activité biologique.

Adapté des articles :

* « actualités » du CNRS – 18/08/2020

* Roblin C., et al., (2020). Proc. Natl. Acad. Sci., doi/10.1073/pnas.2004045117.

* J Biol Chem. 2019 Oct 4;294(40):14512-14525.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6779426/>

DOCUMENT 5 : Thérapies à ARN – un domaine thérapeutique en pleine expansion

Depuis l'arrivée de la vaccination anti-Covid, la molécule d'ARN fait beaucoup parler d'elle. Mais si l'utilisation de vaccins à ARN est nouvelle, plusieurs médicaments qui utilisent et/ou ciblent cette molécule étaient déjà disponibles. Et sa place dans l'arsenal thérapeutique devrait encore s'étendre : les recherches sur les thérapies à base d'ARN s'intensifient dans des domaines aussi variés que l'infectiologie, la cancérologie, les maladies inflammatoires ou encore les maladies rares.

1. De l'ARN aux ARN thérapeutiques

Les vaccins à ARNm

L'objectif est de **faire produire une protéine de l'agent infectieux ciblé (un « antigène ») par des cellules de la personne vaccinée**. Pour cela, on lui administre l'ARNm correspondant. Dans le cas de la vaccination anti-Covid, il s'agit de l'ARNm codant pour la protéine qui permet au virus SARS-CoV2 d'entrer dans nos cellules, la protéine Spike. Nos cellules fabriquent alors cette protéine et la « présentent » à leur surface. Le système immunitaire la reconnaît comme si elle était portée par le virus lui-même et active les mécanismes de défense et la réponse mémoire. Suite à cela, les cellules qui ont reçu l'ARNm et expriment la protéine d'intérêt à leur surface sont rapidement détruites. Et l'ARNm vaccinal avec. Ce mécanisme est donc très transitoire.

Par rapport aux vaccins traditionnels, l'avantage de cette approche est la facilité de production d'un ARNm : **pas besoin de cultiver des germes potentiellement dangereux et de purifier certains de leurs composants, deux processus complexes et coûteux** nécessaires à la production des vaccins classiques. Ces vaccins présentent néanmoins des inconvénients. Tout d'abord, les ARNm sont des molécules particulièrement fragiles : pour éviter leur dégradation, ils doivent être conservés à température ultra basse. Les chercheurs travaillent actuellement sur de nouveaux modes de conservation moins contraignants, par exemple avec la lyophilisation.

Les ARN interférents (siARN et miARN)

Les ARN interférents – miARN et siARN – sont des petits ARN qui se replient sur eux-mêmes et se fixent sur des régions spécifiques d'ARNm, bloquant ainsi la production de protéine et menant à la destruction de l'ARNm ciblé. Ils ont un rôle physiologique important et **une dérégulation de leur expression est observée dans différentes pathologies**, des maladies rares aux plus communes comme les maladies cardiovasculaires ou le cancer.

Les ARN interférents ont un potentiel thérapeutique majeur. En inhibant leur action ou en stimulant leur activité, il est en effet possible de modifier le niveau de production d'une protéine dans l'organisme. Parmi les médicaments déjà sur le marché, le **Patisiran** est indiqué dans l'amylose hépatique héréditaire, une maladie sévère provoquée par l'accumulation d'une protéine dans les nerfs périphériques et le cœur, la transthyrétine. Le Patisiran cible l'ARNm de cette protéine, entraînant sa destruction.

Les oligonucléotides antisens

Ces courtes séquences d'ARN (ou d'ADN) se lient de façon spécifique à un ARNm cible et peuvent alors jouer différents rôles : ils peuvent en particulier masquer ou révéler des séquences impliquées dans la maturation de l'ARNm.

Plusieurs médicaments sont conçus sur cette approche, avec différentes voies d'administration et dans des indications variées. Le premier d'entre eux, le **Fomivirsen**, a été commercialisé en Europe en 1999, contre une infection virale de la rétine (infection à cytomegalovirus). Cet oligonucléotide est complémentaire d'un des ARNm du virus.

2. Des développements en cours dans de nombreux domaines thérapeutiques

Prévenir et traiter des maladies infectieuses

Des vaccins à ARNm dirigés contre différents agents infectieux sont en développement. Des dérivés lipidiques de molécules naturelles sont utilisés pour vectoriser les molécules d'ARNm vaccinales. Plusieurs essais cliniques (phase I à II) sont en cours au travers le monde pour évaluer **des vaccins à ARNm destinés à protéger de la grippe ou du cytomégalovirus**. La condition *sine qua none* pour se lancer dans le développement de tels vaccins est de connaître l'antigène susceptible de déclencher la production d'anticorps neutralisants, afin d'introduire le bon ARNm dans les cellules du patient.

Lutter contre l'antibiorésistance

La résistance de certaines bactéries aux antibiotiques de type bêtalactamines est liée à la surexpression d'une enzyme, la bêta-lactamase. En réduisant la production de cette enzyme à l'aide d'ARN thérapeutiques, la sensibilité à l'antibiotique est améliorée. Des équipes Inserm ont par ailleurs développé un oligonucléotide capable, *in vitro*, de réduire la résistance d'*Escherichia coli* à un antibiotique de la famille des céphalosporines.

Lutter contre les cancers

Environ un quart des oligonucléotides antisens en cours de développement visent à traiter des cancers. Ces molécules offrent en effet l'opportunité de **développer une médecine personnalisée, en ciblant différents mécanismes dérégulés dans les tumeurs** de chaque patient. Ainsi, les chercheurs séquencent des centaines de gènes potentiellement impliqués dans les mécanismes qui favorisent la résistance aux traitements : ce travail leur permet d'être en mesure de *designer* des oligonucléotides antisens sur mesure, capable de conduire à la modification du niveau d'expression des protéines impliquées dans ces résistances. À terme, les chercheurs espèrent qu'il sera possible de produire des cocktails d'oligonucléotides antisens pour cibler plusieurs ARNm codant pour différentes protéines impliquées dans le processus tumoral.

Soulager les maladies auto-immunes et inflammatoires

Dans le cas des maladies auto-immunes, l'idée est d'utiliser des ARN pour réduire le système immunitaire qui attaque des cellules saines de l'organisme, en stimulant la production de cellules T régulatrices. L'approche est développée dans le traitement de la sclérose en plaques, mais ces développements pourraient profiter aux patients atteints de maladie de Crohn ou de rectocolite hémorragique.

ARN thérapeutique et allergies

Certaines allergies – respiratoires, alimentaires ou médicamenteuses – sont provoquées par la libération dans la circulation sanguine d'anticorps spécifiques, les immunoglobuline E (IgE). Une équipe Inserm est parvenue à bloquer ce phénomène dans des modèles d'étude cellulaires et animaux, grâce à un oligonucléotide. Ce résultat offre l'espoir de parvenir, à terme, à réduire les réactions allergiques chez l'humain.

ARN thérapeutiques et maladies génétiques héréditaires

Les chercheurs s'attellent aussi à l'utilisation d'ARN thérapeutiques dans le domaine des maladies génétiques héréditaires : hémophilie, myopathie de Duchenne, mucoviscidose... L'objectif est généralement de restaurer l'activité d'une protéine déficiente, mais aussi de jouer sur d'autres voies dans le but de réduire les symptômes de la maladie.

extrait adapté du Dossier INSERM du 28/01/2022

<https://www.inserm.fr/dossier/therapies-a-arn/>

DOCUMENT 6 : Dosage de la procalcitonine pour guider l'éventuelle prescription d'antibiotiques et suivre l'infection

Pour endiguer l'émergence des bactéries multirésistantes, un des moyens d'actions est de réduire l'exposition aux antibiotiques.

Le dosage de la procalcitonine (PCT) permet de détecter si l'infection en cours est d'origine bactérienne et de suivre l'efficacité de l'antibiothérapie.

1- Présentation de la PCT

La PCT est une protéine composée de 116 acides aminés, prohormone de la calcitonine. Chez les sujets sains, la PCT est exclusivement produite chez par les cellules thyroïdiennes et rapidement transformées en hormone mature.

Il a été montré qu'en cas d'infection bactérienne, les monocytes, stimulés par des cytokines libèrent la PCT en grande quantité alors qu'en cas d'infection virale, la synthèse de la PCT par les monocytes est bloquée par l'interféron gamma.

2- Utilisation du dosage de PCT

Il existe des tests quantitatifs et semi-quantitatifs de la PCT.

Chez les sujets sains/ non infectés, la concentration plasmatique en PCT est inférieure à $0,1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

L'élévation de la concentration en PCT dans les 3 à 6 h après l'infection bactérienne, permet ainsi de décider rapidement si une antibiothérapie doit être proposée.

De plus l'étude de la concentration plasmatique en PCT au cours du temps permet de suivre l'efficacité de l'antibiothérapie d'une part, et de diminuer la durée de l'antibiothérapie d'autre part.

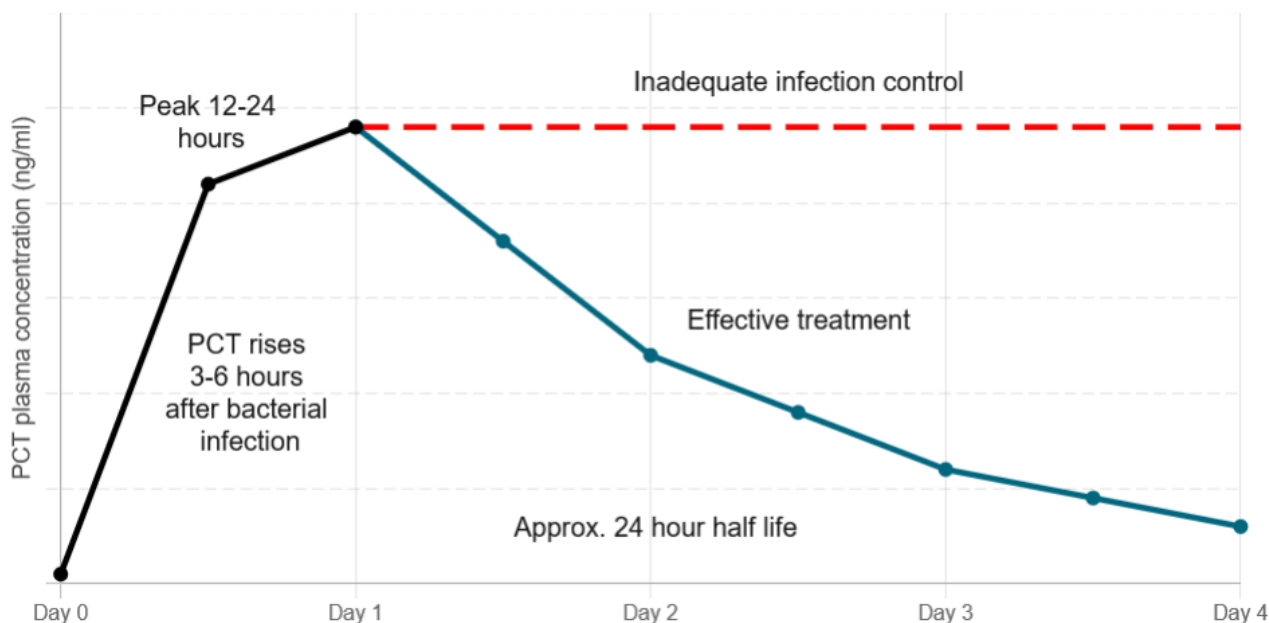


Fig1. Cinétique de la concentration plasmatique en procalcitonine

3- Le test B·R·A·H·M·S™ PCT-Q

Thermo Scientific™ B·R·A·H·M·S™ PCT-Q est un test immunochromatographique délocalisé¹ servant au dosage de la PCT (procalcitonine) dans le sérum et le plasma.

¹ Biologie délocalisée : ensemble des examens de biologie médicale réalisés en dehors des laboratoires de biologie médicale. Concerne uniquement le milieu hospitalier public et privé. Elle ne doit concerner

Principe	Immunochromatographie de type « sandwich » utilisant un marquage à l'or
Échantillon à déposer	200 µL de plasma ou de sérum
Temps d'attente	30 à 45 min à température ambiante
Lecture	Détermination de la plage de concentration en comparant l'intensité de la couleur de la bandelette à l'échelle de couleur de référence
Plages de concentration	<0,5 µg·L ⁻¹ 0,5-2 µg·L ⁻¹ 2-10 µg·L ⁻¹ > 10 µg·L ⁻¹
Sensibilité diagnostique	90-92%
Spécificité diagnostique	92-98%

Fig2. Caractéristiques et protocole du dosage

Sources :

<https://www.thermofisher.com/procalcitonin/wo/fr/understanding-procalcitonin.html>

<https://www.thermofisher.com/procalcitonin/wo/fr/understanding-procalcitonin/interpreting-pct-results.html>

<https://www.thermofisher.com/infectious-diseases/wo/fr/procalcitonin/brahms-pct-q.html>

que les examens réalisés dans les unités mobiles hospitalières, dans les services mobiles d'urgence et de réanimation, dans les services de réanimation, dans les services de soins intensifs ou au bloc opératoire

DOCUMENT 7 : Protéines et alimentation

Les protéines sont impliquées dans de nombreuses fonctions : communication entre les cellules, digestion, immunité, respiration, reproduction, locomotion...

Parmi les 20 acides aminés qui les composent, le corps humain ne sait en fabriquer que 11, les 9 autres sont les acides aminés dits essentiels qui doivent absolument être apportés par l'alimentation et en quantité suffisante afin de fabriquer toutes les protéines dont notre corps a besoin pour fonctionner.

1- Les apports nutritionnels recommandés

l'âge de 1 mois et 6 mois	6 mois à 2 ans	adulte	Adulte de plus de 65 ans
9,5 g/j	10-11 g/j	0,83-2,2 g/kg/jour	1 g/kg/jour

Ces recommandations varient selon des besoins spécifiques : état de santé, sportifs, adolescents qui ont besoin de consommer davantage de protéines.

2- Les apports protéiques

Si les protéines d'origines animales ont un excellent taux de digestibilité, compris entre 90 et 99 %, celui des protéines végétales est moindre et varie selon l'aliment consommé. Il y a dans les végétaux certaines molécules (tannins, lectine saponine, polyphénols, acide phytique, ou des inhibiteurs de trypsine) qui limitent la digestion des protéines. Les conditions de préparation ou de transformation des produits peuvent aussi augmenter ou diminuer la digestibilité.

Pour avoir un profil d'acides aminés équilibré et ainsi pouvoir synthétiser les protéines dont nous avons besoin, il faut apporter par l'alimentation les neuf acides aminés essentiels en quantité suffisante. Or, dans les protéines végétales, certains acides aminés sont en quantité limitée par rapport à nos besoins : les protéines des céréales offrent peu de lysine et celles des légumineuses peu de cystéine et méthionine. Pour réunir tous les acides aminés nécessaires afin d'obtenir une synthèse protéique optimale, il est recommandé d'associer céréales et légumineuses et ce dans le même repas puisque la synthèse protéique se fait après la digestion, 1 à 2 h après le repas.

Profil en acides aminés de quelques aliments sources de protéines

Nom de l'aliment	Nom exact de l'aliment dans la banque de données américaine	Protéines (g/100 g)	Acides aminés indispensables									Alanine (mg/100 g)	Arginine (mg/100 g)	Acide aspartique (mg/100 g)	Cystine (mg/100 g)	Acide glutamique (mg/100 g)	Glycine (mg/100 g)	Proline (mg/100 g)	Sérine (mg/100 g)	Tyrosine (mg/100 g)
			Histidine (mg/100 g)	Isoleucine (mg/100 g)	Leucine (mg/100 g)	Lysine (mg/100 g)	Méthionine (mg/100 g)	Phénylalanine (mg/100 g)	Thréonine (mg/100 g)	Tryptophane (mg/100 g)	Valine (mg/100 g)									
Blé dur	Wheat, durum	13,7	322	533	934	303	221	681	366	176	594	427	483	617	286	4743	495	1459	667	357
Bœuf, cuit	Beef, composite of trimmed retail cuts, separable lean only, trimmed to 1/4" fat, select, cooked	29,6	1013	1330	2339	2462	757	1155	1292	331	1439	1785	1870	2703	331	4445	1614	1307	1131	994
Épinards, surgelés, cuits à l'eau	Spinach, frozen, chopped or leaf, cooked, boiled, drained, without salt	4,0	22	121	170	260	59	221	235	108	175	221	561	460	18	506	223	208	165	244

Données issues de la banque de données américaine publiée par le USDA (United States Department of Agriculture, Nutrient Data Laboratory and Agricultural Research Service (2004) USDA National nutrient database for standard reference. Release 17. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR17/sr17.html>).

3- La consommation

En France, près de 65 % des protéines que nous consommons sont d'origine animale (en moyenne 820 g de viande par semaine par personne). Les scientifiques et les organismes de références (FAO, OMS) recommandent de rééquilibrer la consommation de protéines animales et végétales. Ils préconisent de consommer 50% de protéines végétales / 50 % de protéine d'origines animales.

Les légumineuses, (les lentilles, les haricots, les pois chiches, les fèves ou encore les petits pois) sont une source importante de protéines puisqu'elles en contiennent 20 à 40 % selon les

Aide-mémoire de métrologie - bac STL Biotechnologies-session 2023

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

1. Vérification de la bonne exécution de la procédure

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

On peut effectuer, 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.

1.1 Vérification de l'exactitude de mesure à l'aide d'un étalon de contrôle

On dispose d'un étalon de contrôle avec sa valeur conventionnelle (y_{ref}) ainsi que ses limites d'acceptabilité (L_{inf} et L_{sup}). On recherche si la valeur mesurée (y_{EC}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit : $L_{inf} \leq y_{EC} \leq L_{sup}$

Si la valeur mesurée y_{EC} appartient à l'intervalle d'acceptabilité :

- la valeur mesurée y_{EC} est **exacte**, donc **conforme** : l'exécution de la procédure de mesure est satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées obtenues pour les échantillons inconnus dans la même série sont **acceptées**.



Si la valeur mesurée y_{EC} n'appartient pas à l'intervalle d'acceptabilité :

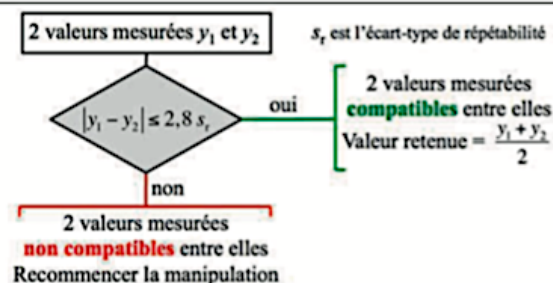
- la valeur mesurée n'est **pas exacte** donc **non conforme** : l'exécution de la procédure de mesure n'est pas satisfaisante dans les conditions du jour ;
- en conséquence, les valeurs mesurées de toute la série **ne sont pas acceptées** ; il faut rechercher l'origine de la mauvaise exactitude avant de recommencer la manipulation¹.

1.2 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 :

Si les deux valeurs mesurées sont compatibles :
la valeur retenue est la moyenne.

Si les deux valeurs mesurées ne sont pas compatibles : il faut en rechercher la cause et recommencer la manipulation².



2. 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 après arrondissement;
- si le premier chiffre significatif est 5 ou plus : garder un chiffre significatif après arrondissement.

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 :

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

^{1 et 2} Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de recommencer les manipulations, le candidat poursuivra l'exploitation de ses valeurs mesurées afin d'exprimer un résultat de mesure de façon complète mais en signalant clairement que ce résultat n'est pas « acceptable » au sens métrologique.

- **Sujet complet**
- **Fiches techniques réactifs et composition des milieux de culture**
 - Bouillon Mueller-Hinton
 - Faisabilité d'une PCR
 - Composition du réactif au BCA
- **Séquence partielle du génome de la bactérie Yy**
- **Référentiels et programmes**
 - Mathématiques 1^{ère} et terminale technologiques,
 - EMC tronc commun de 1^{ère} et Tle technologiques

 - Biotechnologie 1^{ère} STL
 - Biochimie-Biologie 1^{ère} STL
 - Biochimie-Biologie-Biotechnologie Tle STL
 - Physique Chimie Mathématiques 1^{ère} et Tle STL
 - Biologie et Physiopathologie Humaine 1^{ère} ST2S
 - PC Santé 1^{ère} ST2S
 - Chimie-BPH Tle ST2S

 - STS Analyse de biologie médicale
 - STS Biotechnologies
 - STS Bio Analyse et contrôle
- **Site 3RB :**
Site du réseau ressources risques biologiques, accessible sur un poste informatique dédié
- **Document EUCAST de la CASFM**