



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

*Liberté
Égalité
Fraternité*

CONCOURS : AGREGATION EXTERNE

Section : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Session 2021

Rapport de jury présenté par :

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

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	3
RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES	4
ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE	
Composition de Biochimie	
Sujet	6
Rapport de Jury	6
Composition de Microbiologie	
Sujet	10
Rapport de Jury	10
Composition de Biologie Cellulaire et Physiologie	
Sujet	13
Rapport de Jury	13
ÉPREUVES D'ADMISSION	
Travaux Pratiques de Biochimie – Physiologie	
Sujet (et dossier technique)	16
Rapport de Jury	36
Travaux Pratiques de Microbiologie	
Sujet	42
Rapport de Jury	55
Travaux Pratiques de Chimie	
Sujet	60
Rapport de Jury	79
Épreuve Orale de Leçon	
Sujets	83
Rapport de Jury	84
Épreuve Orale d'Étude Critique de Dossier scientifique et/ou technique	
Sujets	88
Rapport de Jury	91
CONCLUSION GENERALE	94

INTRODUCTION

Le jury souhaite tout d'abord féliciter les lauréats de la session 2021. Malgré les conditions particulières dans lesquelles s'est déroulée cette session, en raison de la crise sanitaire CoViD-19, les épreuves du concours externe de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique écrites, orales et pratiques, ont pu se dérouler en conditions habituelles.

Les candidats admis ont su montrer toutes leurs aptitudes à enseigner au plus haut niveau ou à effectuer de la recherche dans l'ensemble des domaines de la biologie et des biotechnologies. Ce concours exige des candidats des connaissances pointues dans tous les domaines de la biochimie, de la biologie et des biotechnologies, connaissances actualisées par les résultats récents de la recherche.

Au cours des épreuves pratiques, l'approche expérimentale fait partie des compétences majeures attendues dans ses dimensions de conception, de mise en œuvre expérimentale et d'analyse critique des résultats expérimentaux obtenus.

Enfin des qualités pédagogiques pour transmettre ces concepts scientifiques complexes et nombreux, ainsi que les concepts technologiques expliquant les principes des méthodes mises en œuvre expérimentalement, sont également évaluées lors des épreuves écrites pratiques et orales.

Au cours de cette session, malgré une année particulièrement difficile compte tenu de la situation sanitaire, les candidats admissibles ont montré un engagement et une ténacité jusqu'à la fin des épreuves pratiques et orales qui ont pu se dérouler dans de très bonnes conditions.

Le jury encourage les candidats non admissibles ou non admis à se présenter à la session 2022. Le nombre de candidats reste stable et le concours montre une attractivité qui ne se dément pas au cours des années, avec un vivier d'étudiants normaliens et universitaires formés à l'ensemble des compétences visées par le concours qui permet de maintenir un recrutement de très haut niveau.

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Candidats inscrits	261
Candidats présents aux trois épreuves d'admissibilité (non éliminés)	70
Nombre de postes	10
Candidats admissibles	23
Candidats présents aux épreuves d'admission	23
Candidats proposés pour l'admission	10
Barre d'admissibilité (sur 20)	08,63
Barre d'admission (sur 20)	11,38

ÉPREUVES ECRITES D'ADMISSIBILITE

Moyenne générale des candidats présents (sur 20)	06,73
Moyenne générale des candidats admissibles (sur 20)	11,31

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	07,33
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	11,76
Note maximale (sur 20)	19,00

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	06,98
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	10,64
Note maximale (sur 20)	18,80

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20)	07,30
Moyenne des candidats admissibles (sur 20)	11,53
Note maximale (sur 20)	17,90

ÉPREUVES D'ADMISSION

Moyenne générale des candidats présents (sur 20) 10,08

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 12,94

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 11,98

Moyennes des candidats admis (sur 20) 14,24

Note maximale (sur 20) 17,70

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 08,67

Moyennes des candidats admis (sur 20) 10,06

Note maximale (sur 20) 19,00

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 09,40

Moyennes des candidats admis (sur 20) 11,90

Note maximale (sur 20) 16,00

LEÇON

Moyenne des candidats présents (sur 20) 10,91

Moyennes des candidats admis (sur 20) 15,00

Note maximale (sur 20) 19,00

ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE

Moyenne des candidats présents (sur 20) 09,39

Moyennes des candidats admis (sur 20) 12,60

Note maximale (sur 20) 18,00

ENSEMBLE DU CONCOURS

Moyenne générale des candidats présents admissibles (sur 20) 10,49

Moyenne générale des candidats admis (sur 20) 12,83

ÉPREUVES ÉCRITES D'ADMISSIBILITÉ

COMPOSITION DE BIOCHIMIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Diversité et importance dans les processus biologiques de la modularité et de la plasticité des structures moléculaires protéiques.

L'exposé présentera différents acteurs moléculaires du vivant de nature protéique dont les propriétés biologiques et fonctionnelles dépendent de leur plasticité, différence de conformation tridimensionnelle, ou bien sont le résultat d'une modularité de structure primaire ou quaternaire.

Les exemples choisis illustreront l'origine génétique et les origines structurales de ces modifications, montrant comment celles-ci sont indispensables à l'expression d'une activité biologique donnée.

RAPPORT DU JURY DE BIOCHIMIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **07,33 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **01,50 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **11,76 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **13,80 / 20**

Il s'agissait dans ce sujet 2021 de bien comprendre et définir les termes de plasticité et de modularité afin de montrer comment ces deux propriétés sous-tendent non seulement les modalités de

fonctionnement de certaines protéines mais aussi permettent la diversification de leur fonction et le contrôle de leurs activités.

La première difficulté de ce sujet résidait donc dans la définition précise des termes de plasticité et modularité tout en les distinguant bien l'un de l'autre. En effet, si ces deux propriétés participent à l'aspect dynamique des protéines et de l'activité protéique, comme souligné par de nombreux candidats qui ont rappelé en introduction que « les protéines ne sont pas des molécules figées », ces deux notions ne sont pas assimilables l'une à l'autre. Ainsi, le terme de modularité réfère à la structuration en divers modules (acides aminés, domaines, modifications post-traductionnelles, assemblage en sous-unités) des protéines et complexes protéiques, modules qui peuvent varier et conduire à une diversification spatio-temporelle des activités protéiques cellulaires. La notion de plasticité quant à elle exprime les capacités de déformation, de flexibilité des structures protéiques qui présentent plusieurs états conformationnels possibles participant aux différentes fonctions et actions biologiques que peut réaliser une même protéine, et/ou à la régulation de son activité protéique. Une fois bien définis ces deux concepts, le traitement du sujet de biochimie nécessitait une bonne culture générale sur la biochimie structurale et fonctionnelle des protéines afin d'illustrer avec des exemples précis et judicieusement choisis la diversité des processus impliquant des dynamiques structurales des protéines basées sur leur modularité et/ou leur plasticité.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

Concernant l'introduction, les correcteurs ont noté globalement des progrès dans leur structuration par rapport à l'année précédente où de nombreux candidats s'étaient contentés de juxtaposer la définition des termes du sujet sans mise en problématique du sujet. Ainsi, cette année, les correcteurs ont apprécié les efforts des candidats pour définir les termes du sujet et dégager un questionnement amenant un plan structuré et logique pour répondre à la question posée.

Cependant, le jury a pu constater que la principale difficulté des candidats a été de définir de manière précise et différenciée les notions de plasticité et modularité. Si de nombreux candidats ont discuté de l'aspect dynamique de l'activité protéique, peu ont su appréhender avec précision le terme de modularité. Ainsi, les notions de plasticité et de modularité sont souvent restées associées de manière confuse, ce qui a ensuite porté préjudice à la structuration du plan de la composition.

Ce plan devait permettre non seulement de bien présenter les bases structurales des protéines expliquant leurs propriétés de modularité et de plasticité, mais aussi de montrer l'importance fonctionnelle dans les processus biologiques de ces deux propriétés avec des exemples diversifiés. Le plan pouvait par exemple s'articuler en 3 parties : (1) Origine structurale de la modularité et de la plasticité des protéines, (2) importance fonctionnelle de la propriété de modularité, (3) importance fonctionnelle de la plasticité de protéines.

Dans une première partie, on attendait une présentation des niveaux de structuration des protéines permettant de démontrer l'origine de leur modularité et de leur plasticité. Il s'agissait ici non pas de faire un exposé exhaustif et hors sujet des étapes de production (transcription, traduction) des protéines comme observé dans de nombreuses copies, mais de s'appuyer sur les connaissances les plus pointues possibles de la structuration des protéines pour faire comprendre comment celle-ci explique les propriétés de dynamique moléculaire et de diversification des structures protéiques. La présentation des niveaux primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire des protéiques était donc ici un prérequis pour construire une argumentation sur la dynamique modulaire et conformationnelle des protéines. Les correcteurs ont particulièrement apprécié les copies qui ont introduit des notions de thermodynamique du repliement protéique pour étayer l'existence de divers états conformationnels proches en énergie permettant ainsi des basculements structuraux. Dans cette même perspective, une discussion sur les niveaux d'énergie des liaisons engagées dans la structuration protéique était attendue.

Concernant la modularité protéique, elle devait s'illustrer à divers niveaux de la structuration protéique, depuis la structure primaire dictée par le message génétique jusqu'à l'association de divers partenaires protéiques pour former des assemblages de structure quaternaire. On attendait donc un développement sur les bases génétiques conditionnant la modularité protéique au niveau

de la structure primaire. Cela incluait la structuration des gènes en modules intron/exon avec possibilité d'épissage alternatif, la notion de famille multigénique permettant l'expression de modules protéiques différents selon les tissus et/ou les stades de développement (exemple de la famille des globines), les processus de recombinaison de modules génétiques conduisant à une diversification de protéines produites (cas des immunoglobulines), ou encore la structuration primaire des protéines en domaines fonctionnelles permettant des modalités d'évolution des protéines par combinaison des séquences codant pour ces modules fonctionnels (théorie du brassage d'exon). Alors que ces notions étaient souvent absentes, les correcteurs ont noté nombre de copies qui traitaient de manière hors sujet le processus de mutagenèse induites en laboratoire.

Un autre développement important concernait la structure quaternaire des protéines avec une présentation de la diversité des associations et couplages protéiques possibles (polymérisation, multimérisation de type homo ou hétéro, associations avec des cofacteurs). Cependant, les correcteurs ont noté que cette notion de structure quaternaire pourtant essentielle pour traiter la notion de modularité n'a été présentée de manière détaillée que par un nombre très restreint de candidats. Le jury attendait enfin la présentation de la diversité des modifications post-traductionnelles des protéines comme autant de modules permettant une modification structurale se répercutant de la structure primaire à la structure tertiaire voire quaternaire ou pouvant impacter le devenir de la protéine en termes de stabilité (cas de l'ubiquitinylation), ou d'adressage au compartiment cellulaire.

Dans un deuxième temps un développement sur l'importance fonctionnelle des propriétés de modularité et plasticité était attendu.

Ainsi l'importance de la modularité pouvait s'illustrer en détaillant des exemples de complexes multiprotéiques permettant la réalisation d'activités diversifiées et coordonnées et leur régulation (complexe ARN polymérase, Protéine Kinase A, facteur NF κ B, protéines du cytosquelette...). Concernant le rôle de la modularité dans la diversification protéique un exemple de choix était celui des immunoglobulines qui permettait d'illustrer une grande variété de mécanismes (recombinaison VDJ, commutation de classe, hypermutations somatiques) et leur importance fonctionnelle dans le cadre d'un processus biologique complexe. Enfin, la protéolyse de domaines régulateurs devait être illustrée dans cette partie. En effet, les mécanismes d'élimination des modules protéiques jouent un rôle majeur dans de nombreux processus tels que l'adressage de protéines aux compartiments cellulaires, la maturation protéique (notamment enzyme protéolytique), ou les voies de signalisation protéolytique (voies des caspases, cascade du complément, coagulation sanguine).

Concernant l'importance fonctionnelle de la plasticité, il était essentiel de montrer comment celle-ci participe à l'activité protéique au travers d'exemples où la fonctionnalité de la protéine ou du complexe protéique est dépendante de sa plasticité structurale. Les exemples possibles étaient ici très variés : variations structurales impliquées dans la transduction du signal (exemple des RCPG), dynamiques des protéiques (notamment myosine) impliquées dans la contraction musculaires.... Une notion importante à développer dans cette partie concernait la notion d'ajustement induit qui joue un rôle central dans le processus de catalyse enzymatique. De même l'allostérie était un exemple essentiel pour rendre compte de l'importance de la plasticité structurale pour le contrôle de l'activité des complexes protéiques modulaires.

Par ailleurs, on attendait que le corps du devoir permette d'illustrer les différents mécanismes de contrôle de la dynamique structurale des protéines : interaction avec des partenaires de diverses natures, modifications post-traductionnelles, changement de condition physicochimique avec dénaturation réversible (notamment pH et enzyme digestive), activation par la lumière (complexe rhodopsine/transducine des bâtonnets rétiniens), ou par des différences de potentiel électrique (canal voltage dépendant). Cette analyse devait permettre aussi de montrer l'existence de processus d'intégration pour le contrôle de l'activité des protéines. À ce titre l'exemple du contrôle des kinases dépendante des cyclines était particulièrement adapté pour illustrer un mécanisme complexe d'activation protéique incluant divers types de contrôles basés sur les propriétés de plasticité et de modularité du complexe protéique.

Pour finir, une ouverture sur les aspects de la physiopathologie associée aux propriétés de plasticité et de modularité des protéines était souhaitée. Cela pouvait notamment être fait en discutant des maladies à prions qui résultent de la transmission d'une conformation protéique aberrante. Cette discussion aurait pu notamment être intégrée à la conclusion du devoir, une partie très souvent négligée par les candidats ou se limitant en une répétition d'arguments préalablement présentés sans perspectives scientifiques élargies.

REMARQUES GENERALES

Cette année, les correcteurs ont été impressionnés par quelques excellentes copies dans lesquelles le sujet a pleinement été appréhendé avec des connaissances très pointues en biochimie des protéines.

Néanmoins de nombreux candidats sont passés totalement ou partiellement à côté du sujet suite à un manque d'analyse des termes de plasticité et de modularité. Il en a résulté une problématique de bas niveau avec une composition se limitant à la présentation des étapes de production et de repliement des protéines sans aucune mise en perspective liées aux dynamiques structurales. Enfin, les aspects biotechnologiques et techniques pour étudier, établir la modularité et la plasticité, l'activité des protéines n'ont été que rarement mentionnés, alors qu'ils étaient attendus par le jury.

COMPOSITION DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Les infections dues à des bactéries entéropathogènes.

Vous préciserez les différents genres ou espèces à l'origine de pathologies digestives, ainsi que les caractéristiques générales de ces bactéries.

Vous développerez les facteurs de pouvoir pathogène de ces genres ou espèces et vous présenterez les méthodes de diagnostic de ces infections.

RAPPORT DU JURY DE MICROBIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **06,98 / 20**
- Meilleure note : **18,80 / 20**
- Note la plus basse : **01,90 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **10,64 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **11,10 / 20**

Le sujet portait sur les bactéries entéropathogènes et en particulier sur les facteurs de pouvoir pathogènes de ces bactéries. Le diagnostic des infections venait en clôture du sujet.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

En introduction il était attendu une définition des bactéries entéropathogènes : bactéries induisant une pathologie digestive, c'est-à-dire des symptômes digestifs, pouvant ensuite s'étendre à l'organisme entier. Mais ce dernier point n'était pas compris dans le sujet. Deux types de bactéries sont à l'origine de pathologies digestives : les pathogènes strictes et les pathogènes opportunistes. Enfin, un dernier point pouvait être évoqué dans l'introduction : les TIAC et les pathologies individuelles. Tout plan était ensuite possible s'il était justifié et logique.

Différentes bactéries sont responsables de pathologies digestives. Parmi les plus marquantes/fréquentes on trouve des bactéries de la famille des entérobactéries : *Escherichia coli* (ECEI, ECET, ECEH, ECEP,...), *Salmonella Enterica* et *Shigella dysenteriae*. *Vibrio cholerae*, *Helicobacter pylori* et *Campylobacter jejuni* ou *Campylobacter coli* s'ajoutaient à cette liste de bactéries Gram négatif.

Parmi les bactéries Gram positif, étaient attendues : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* et *Clostridioides difficile*. Pour chacune de ces espèces, les caractéristiques principales portaient sur la morphologie, le type respiratoire, la capacité de sporuler ou non, et les principales caractéristiques métaboliques/enzymatiques. Il n'était pas nécessaire de développer exagérément cette « carte de visite ».

En ce qui concerne les facteurs de pouvoir pathogène, deux points principaux devaient être abordés et développés. Ces points tenaient compte des mécanismes par lesquels une bactérie pathogène stricte exprime son pouvoir pathogène.

- La bactérie entéropathogène doit pouvoir se maintenir dans le TD et se trouver proche des cellules épithéliales digestives. Pour cela une mobilité peut être un facteur d'approche, mais surtout les bactéries entéropathogènes disposent en général de facteurs d'adhésion ou adhésines. Ces facteurs sont en majorité des fimbriae (ou des adhésines non fimbriales). Ces adhésines peuvent être non spécifiques d'une cible (exemple : adhésine FimH, portée par les fimbriae communs (type I) d'*E. coli*, qui se lie au mannose, présent sur différents types cellulaires) ou spécifique d'une cible sur les entérocytes. Une fois fixées sur l'entérocyte, les bactéries entéropathogènes peuvent avoir différentes actions souvent liées à l'injection de protéines dans la cellule : pénétration par différents modes ou modification de la physiologie de la cellule. Des éléments de structure d'une adhésine étaient attendus et faisaient partie du sujet.
- Une ou des toxines, souvent des entérotoxines, dont la toxine cholérique est l'un des exemples les plus classiques. Mais d'autres toxines pouvaient être citées : les entérotoxines thermostable et thermolabile d'*E. coli*, l'entérotoxine staphylococcique (un exemple de super-antigène), l'entérotoxine de *Clostridium perfringens* (synthétisée lors de la sporulation), la shiga toxine de *Shigella*, la shiga-like toxine de certains *E. coli*. Ces toxines sont soit des toxines cytolytiques soit des toxines de type A-B (A pour *activity* et B pour *binding*), la fraction B permettant la fixation de la toxine à la surface de la cellule et la pénétration du fragment A dans le cytoplasme cellulaire. Parmi les modes d'action, l'ADP ribosylation est souvent citée (cas de la toxine cholérique). Elle aboutit à l'ouverture de canaux CFTR et la sortie massive des ions Chlore et, en conséquence, à une exportation massive d'eau dans la lumière digestive d'où une diarrhée liquide.

Les autres facteurs de pouvoir pathogène des bactéries entéropathogènes sont plus anecdotiques : Le LPS et l'action de certaines toxines sont à l'origine d'une inflammation digestive et de symptômes consécutifs à cette inflammation ; les facteurs d'*Helicobacter pylori* (dont uréase et mobilité) ; l'IgA protéase de *S. aureus*...

Le deuxième aspect de l'étiologie des infections digestives est le résultat d'une modification du microbiome. Il pouvait être évoqué mais la pathologie qui en résulte n'est pas le fait de bactéries entéropathogènes au sens strict mais de la multiplication anormale de certains germes avec les conséquences induites par le déséquilibre de flore.

Enfin le diagnostic des infections dues à des bactéries entéropathogènes repose sur la mise en évidence du germe ou de la toxine responsable ; pour cela plusieurs approches sont possibles. Tout d'abord la bactériologie « classique » : isolement du germe responsable sur gélose sélective à partir de selles. Les milieux sélectifs employés peuvent être des géloses Hektoen, SS, Drigalsky, Chapman, ... Une fois le germe isolé, il est identifié de différentes manières : techniques phénotypiques (galeries biochimiques), PCR avec amorces spécifiques ou amplification de l'ADNr 16S et séquençage, Spectromètre de masse. Pour certaines espèces, un sérotypage (*Salmonella*, *E. coli*) par agglutination ou par PCR est recommandé. La recherche directement dans les selles d'un germe ou d'une toxine est aussi possible soit par PCR spécifique soit par des techniques d'immunoenzymologie.

La conclusion pouvait s'ouvrir sur les autres agents responsables d'entéropathie (virus, parasites) sur les méfaits de l'antibiothérapie, sur le microbiote...

COMMENTAIRES SUR L'ÉPREUVE

Le sujet portait sur les bactéries entéropathogènes. De nombreux candidats ont confondu ces bactéries avec les entérobactéries, les entérocoques, les bactéries présentes dans le tube digestif (TD) ou les bactéries passant par le TD. De ce fait, certaines bactéries ayant leur lieu de portage dans le TD ne faisaient pas réellement partie des bactéries entéropathogènes. C'est, entre autres, le cas de *Listeria monocytogenes*, qui a souvent été citée voire développée dans certaines copies. Certains candidats vont jusqu'à traiter de *Clostridium botulinum*, une bactérie à l'origine de pathologies nerveuses grâce à sa neurotoxine, certes pénétrant dans l'organisme par voie digestive, mais sans grande conséquence digestive. Des copies ont traité exagérément de la physiologie du TD, en incluant les pathologies bucco-dentaires dans leur exposé...

Les adhésines et les toxines ont finalement été la portion congrue de la plupart des copies. Quelques bonnes copies ont su exposer la structure des toxines A-B et leur mécanisme d'action dans les cellules, en prenant souvent pour exemple la toxine cholérique. La toxine diphtérique, bien que hors sujet a aussi été exposée. De nombreuses copies ont associé le pouvoir pathogène des bactéries et leur pénétration dans la cellule digestive (ce qui est vrai pour certaines d'entre elles) mais aussi dans l'organisme, ce qui était hors sujet. Certains candidats ont développé outre mesure le système immunitaire et son fonctionnement. Même si celui-ci intervient dans les pathologies digestives lors de déficit immunitaire, il n'était pas au cœur du sujet et ne nécessitait pas un tel développement.

Pour le diagnostic, très peu de candidats ont traité correctement des méthodes d'isolement des bactéries entéropathogènes. Un petit nombre de copies ont évoqué les milieux sélectifs couramment employés pour cet isolement ou, pour *H. pylori* (souvent désigné *H. pilori*), les biopsies et très peu de candidats ont su citer des exemples de milieux

Pour l'identification, les méthodes phénotypiques sont encore très employées, mais la biologie moléculaire ou la spectrométrie de masse ont su trouver leur place et remplacent progressivement l'identification biochimique par galerie. Pour les PCR, pratiquement toutes les possibilités ont été présentées toutes copies confondues : Real time PCR, reverse transcriptase PCR, PCR ARN 16S, Séquençage, NGS (impossible à utiliser en routine diagnostique, et utilisé plutôt en recherche),... Peu de copies ont développé la Spectrométrie de masse, bien que certaines ont pu présenter le principe de fonctionnement. Enfin, le sérotypage des *Salmonella* et d'*E. coli* a rarement été cité et encore plus rarement correctement exposé. En revanche, la sérologie à partir du sérum du patient, traité dans plusieurs copies, était sans intérêt en l'occurrence. La mise en évidence d'une entérotoxine par PCR ou ELISA capture sur les selles, ou par techniques sérologiques sur les souches a rarement été retrouvé dans les copies.

Évidemment la thérapeutique n'était pas demandée, et même si certaines bactéries entéropathogènes sont à l'origine de TIAC, la prévention ne devait pas être développée (mais pouvait être une ouverture dans la conclusion). Le diagnostic des pathologies sur le plan clinique était hors sujet mais s'est retrouvé dans de nombreuses copies.

Les correcteurs souhaitent, une nouvelle fois, attirer l'attention des candidats futurs sur un nombre croissant de copie sans plan ou avec un plan en filigrane, non formulé. Il nous semble qu'un futur enseignant se doit d'être clair, et cela commence par un plan qui structure la pensée et reste un élément didactique important. Bien évidemment, une bonne figure vaut mieux qu'un texte long et certaines copies en étaient dépourvues, ce qu'a fortement regretté le jury.

Enfin, les fautes d'orthographe, parfois très fréquentes, aussi bien sur les noms propres (en particulier des bactéries : *Helicobacter pilori*, *Salmonella tiphy*,...) que sur les noms communs, indispose chaque année le jury.

COMPOSITION DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 6 heures

Coefficient : 2

SUJET

Le glucose dans l'organisme humain.

Après avoir montré l'importance du glucose dans le métabolisme énergétique, vous explicitez, selon l'état physiologique, les mécanismes mis en place à l'échelle de l'organisme humain qui permettent d'assurer l'approvisionnement cellulaire en ce nutriment.

Les interactions entre organes, les régulations à l'échelle cellulaire et les mécanismes moléculaires mis en jeu seront explicités à chaque fois que nécessaire.

Les aspects physiopathologiques seront intégrés à l'exposé.

RAPPORT DU JURY DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **07,30 / 20**
- Meilleure note : **17,90 / 20**
- Note la plus basse : **00,70 / 20**
- Moyenne des candidats admissibles : **11,53 / 20**
- Moyenne des candidats admis : **12,93 / 20**

Le glucose occupe une place centrale dans le métabolisme énergétique chez l'Homme. La glycolyse anaérobie et la respiration cellulaire assurent un approvisionnement des cellules en ATP. D'autres mécanismes comme la fermentation lactique permettent aussi de contribuer à la formation d'ATP. Des substrats lipidiques ou protéiques peuvent interagir avec le métabolisme du glucose par les voies de la néoglucogénèse. Il fallait au minimum présenter le glucose comme molécule énergétique et illustrer le propos en utilisant les schémas des voies métaboliques appropriées.

NOTIONS ATTENDUES DANS LA COMPOSITION

En raison du rôle central du glucose, il était attendu du candidat un exposé allant du niveau cellulaire à l'organe et intégré *in fine* à l'organisme dans son ensemble

Les sources alimentaires de glucose sont pour l'essentiel des polymères glucidiques comme l'amidon ou le glycogène. La place grandissante des aliments ou des boissons sucrés dans le régime alimentaire pouvait également être abordée comme une problématique de santé publique.

Les processus digestifs permettent la simplification moléculaire des polymères lors d'un traitement enzymatique séquentiel opéré au niveau de différents segments du tube digestif.

Il était attendu une explication du rôle des amylases salivaire et pancréatique ainsi que des di-saccharidases de la bordure en brosse de l'intestin grêle. La présentation des structures cellulaires à l'origine des sécrétions (ex : acini) et les mécanismes de sécrétion des enzymes pouvait étayer le propos.

Pour que le glucose soit utilisable par les cellules, il doit être transporté à travers la membrane cellulaire dans le cytoplasme. Le glucose ne peut pas diffuser facilement à travers la membrane plasmique en raison de son caractère hydrophile. Son passage transmembranaire est rendu possible grâce à des transporteurs dits GLUT dont certains sont constitutifs (GLUT-2, SGLT1 par exemple) et d'autres inductibles (GLUT-4) par une signalisation hormonale ; il a lieu suivant un gradient de concentration.

L'absorption du glucose au niveau de l'entérocyte implique plusieurs acteurs moléculaires et met en jeu des mécanismes de transports actif, passif et actif secondaire qui devaient être présentés. Cette absorption est optimisée à l'échelle de l'intestin par des dispositifs d'amplification imbriqués – valvules conniventes, villosités et microvillosités – qui, avec la faible épaisseur de la paroi intestinale (un entérocyte) et la vascularisation très développée, participent à la formation d'une surface d'échanges. Ces paramètres sont formalisés dans la loi de Fick.

La notion de surface d'échanges a été très peu retrouvée dans les copies ; le jury déplore les confusions très fréquentes entre villosités et microvillosités. La participation des enzymes de la bordure en brosse, et du flux sanguin villositaire à l'entretien des gradients de concentration trans-entérocytaire de glucose n'a jamais été citée.

La place particulière du foie, irrigué par la circulation porte devait être soulignée. Les cinétiques comparées de la glucokinase et de l'hexokinase et les caractéristiques fonctionnelles du transporteur GLUT2 permettaient d'argumenter le stockage hépatique du glucose sous forme de glycogène en période post-prandiale ; le rôle du foie dans le soutien de la glycémie en période de jeune pouvait être explicité par l'action de la glucose-6-phosphatase.

L'exercice musculaire pouvait constituer un deuxième exemple d'état physiologique sollicitant le métabolisme du glucose. Il fallait alors montrer les interactions entre organes et appareils pour l'approvisionnement du muscle : redistribution de la masse sanguine par le biais des sphincters pré-capillaires, ajustements cardiaques et respiratoires pour assurer le métabolisme aérobie du glucose, coopération s'établissant entre le muscle et le foie dans le cycle des Cori pour le recyclage du lactate.

Certains candidats ont choisi de développer le stress et ses conséquences sur le métabolisme du glucose sous contrôle des catécholamines et des glucocorticostéroïdes. Ce choix était tout à fait acceptable.

Les hormones pancréatiques régulent à la fois le stockage et l'utilisation du glucose selon les besoins.

Au sein des îlots de Langerhans, les cellules β pancréatiques constituent de véritables senseurs de la glycémie. La libération d'insuline lors de l'hyperglycémie met en jeu des mécanismes moléculaires complexes, qui débutent par une phosphorylation de canaux potassiques – ATP dépendants. Ces mécanismes, actuellement bien caractérisés et décrits dans plusieurs ouvrages de la bibliothèque de l'agrégation semblent inconnus d'une majorité de candidats. L'insuline et le glucagon agissent ensemble au sein d'une boucle de régulation pour maintenir une concentration normale de glucose. Au niveau des cellules-cibles, l'analyse des mécanismes de signalisation permettait de mettre en relation les actions des hormones sur les enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose et

leurs conséquences sur la glycémie. Le rôle de l'insuline sur l'insertion membranaire du transporteur GLUT4 au niveau des tissus musculaires et adipeux devait être explicité. Le dysfonctionnement dans la production d'insuline ou la résistance des cellules-cibles à l'insuline provoquent le diabète sucré, un trouble caractérisé par une glycémie élevée. La physiopathologie des diabètes de type I et de type II devait être décrite.

Dans quelques copies il a été fait mention des principes de traitement des diabètes par des injections d'insuline ou par des systèmes de pompes portatives ; de même certains candidats ont montré l'apport des biotechnologies à la production industrielle de l'insuline humaine par génie génétique, techniques qui ont supplanté l'extraction et la purification d'insuline à partir de pancréas animaux.

Une glycémie basse est détectée par l'hypothalamus conduisant à l'activation du système nerveux sympathique pour maintenir la concentration sanguine en glucose et éviter une hypoglycémie sévère. Les effets de l'hormone de croissance et du cortisol pouvaient également être discutés.

Dans quelques copies, enfin a été mentionnée l'existence de senseurs hypothalamiques du glucose et de leurs rôles dans le contrôle de la faim et de la satiété.

COMMENTAIRES SUR L'ÉPREUVE

Le jury rappelle que, quelle que soit leur qualité, les concepts et notions hors-sujet ne sont pas valorisés dans la notation de la copie, il est donc primordial de bien cerner le sujet avant de rédiger. Trop peu de devoirs prennent le temps de bien définir les termes du sujet dans l'introduction et ainsi justifier leur choix de développement et d'articulation entre les différentes parties.

Dans le cadre de ce sujet, il ne fallait pas omettre de traiter les aspects cellulaires et physiologiques en ne traitant que les aspects moléculaires et biochimiques du glucose et de son métabolisme. Il convenait également de replacer les différentes voies métaboliques à l'échelle de l'organisme en montrant les relations entre les différents organes.

A chaque fois que cela est possible, une approche expérimentale, voire historique, des concepts et notions est préférable à leur exposition dogmatique. Cette approche a été valorisée dans le barème de notation. Quelques candidats ont ainsi présenté les conséquences de la pancréatectomie ou les répercussions d'une prise massive de glucose lors d'un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO).

La conclusion du devoir n'est pas non plus à négliger, au-delà d'une synthèse des concepts clefs développés dans le sujet, il est important d'offrir une perspective pertinente en ouverture.

Sur la forme, un plan apparent, construit à partir de parties titrées et numérotées, est attendu. Les schémas sont indispensables et doivent être mis au service de la démarche explicative et argumentative ; illustrer sa copie par des schémas hors sujet n'est pas valorisé dans la notation et conduit souvent à un effet de dilution des notions.

L'orthographe, la syntaxe et la qualité de l'expression sont prises en compte dans la notation de la copie.

Plusieurs très bonnes copies, bien construites, argumentées et illustrées ont été appréciées par le jury. À l'inverse, de nombreuses copies témoignent de connaissances parcellaires en biologie cellulaire et physiologie ou d'une faible compréhension des mécanismes impliqués dans les processus assurant le fonctionnement de l'organisme.

ÉPREUVES D'ADMISSION

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

**DÉTECTION OU QUANTIFICATION : ÉTUDE DES
PERFORMANCES DE DIFFÉRENTES MÉTHODES**

INTRODUCTION

La crise sanitaire actuelle a vu le développement et la mise sur le marché de tests de dépistage des antigènes du SARS-CoV-2 ou de tests de quantification des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans des délais très rapides. Néanmoins, avant autorisation de mise sur le marché par les autorités sanitaires de chaque pays, ces tests sont soumis à des dossiers de validation apportant la preuve de leurs performances. Selon qu'ils soient qualitatifs ou quantitatifs, certains paramètres seront plus importants : les tests de détection doivent notamment être sensibles et spécifiques et les tests quantitatifs doivent notamment être exacts et fidèles.

Le modèle expérimental choisi dans ce sujet est la détection ou la quantification de molécules d'*Escherichia coli* K12 (CIP 54117, classe 1). L'objectif est d'adapter et/ou de caractériser différentes méthodes de détection ou de quantification :

- une méthode immunologique,
- une méthode enzymologique,
- une méthode de biologie moléculaire.

CONSIGNES GENERALES

Tous les résultats seront indiqués ou joints à la copie avec référencement.

Pour tout travail en microplaque, un plan de plaque sera systématiquement présenté dans le compte-rendu.

Les fichiers informatiques réalisés pour traiter les données seront enregistrés dans le dossier candidat.

Par ailleurs, pour chaque série de calculs, il faudra systématiquement présenter les équations aux grandeurs et aux unités ainsi qu'un exemple d'équation aux valeurs numériques.

La mise en œuvre de la prévention des risques sera évaluée dans l'ensemble des manipulations.

PARTIE 1 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR TECHNIQUE ELISA

Parmi les méthodes permettant de détecter ou quantifier une molécule spécifique, l'ELISA est classiquement utilisé dans les laboratoires de recherche, de contrôle ou d'analyse. La méthode ELISA réalisée ici permet de doser les *Host Cell Proteins* (HCP) d'*Escherichia coli*. Ces protéines sont notamment recherchées et considérées comme des marqueurs d'impuretés, lors des différentes étapes de production de produits pharmaceutiques par expression de protéines recombinantes. Il est indispensable de réduire au maximum leur présence dans le produit fini. Des tests ELISA sont fréquemment réalisés afin de détecter et doser ces HCP d'*E. coli*.

La **fiche technique 1** présente le protocole de dosage des HCP.

L'objectif est de réaliser, à partir des résultats obtenus, une analyse métrologique de la méthode ELISA utilisée. Le **document 1** ci-après présente des informations sur les démarches métrologiques mises en œuvre.

- Q1. Réaliser un schéma du principe de ce test ELISA et identifier précisément la méthode.**
- Q2. Expliquer dans quel sens varie l'absorbance lorsque la concentration en HCP augmente dans l'échantillon.**
- Q3. Expliquer en détail le rôle de l'étape 3 du protocole ainsi que le rôle des différents lavages.**
- Q4. Indiquer, à l'aide d'un tableau, la composition du blanc réactif choisi, du témoin d'efficacité et du témoin de spécificité et préciser leur rôle.**
- Q5. Afin d'exploiter les résultats, tracer la courbe d'étalonnage $A_{405\text{ nm}} = f(\text{Log}(C_{\text{HCP}}))$.**
- Q6. Établir l'équation aux grandeurs permettant de calculer la concentration en HCP dans un échantillon.**
- Q7. Expliquer ce que sont la limite de détection et la limite inférieure de l'intervalle de mesure (parfois aussi appelée limite inférieure de quantification).**
- Q8. Le document 1 fait référence à un témoin sans analyte. Dans le cadre de la méthode employée ici, expliquer quel témoin utiliser pour déterminer la limite de détection et la limite de quantification. Calculer ces deux paramètres.**
- Q9. Pour chaque test réalisé sur la solution de contrôle, déterminer la valeur mesurée de la concentration en HCP puis étudier la compatibilité de ces valeurs afin de déterminer la valeur retenue.**
- Q10. Vérifier l'exactitude de la méthode de mesure.**
- Q11. Définir la sensibilité d'une méthode de dosage quantitatif. Commenter la particularité de ce paramètre pour un dosage immunologique de type ELISA.**

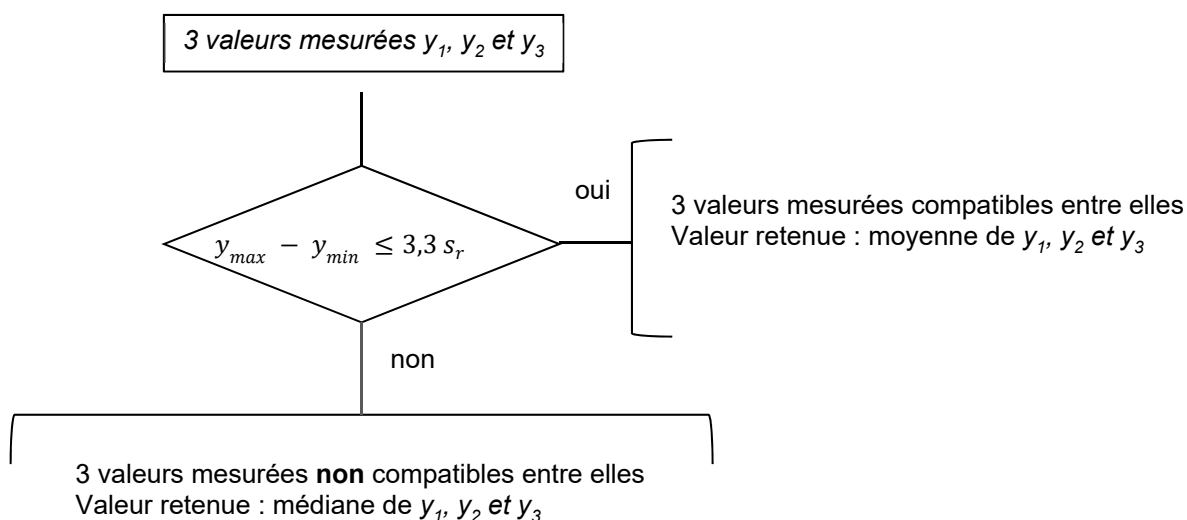
A. Détermination de la limite de détection et de la limite inférieure de l'intervalle de mesure

- Procéder au mesurage d'au moins 10 témoins sans analyte indépendants.
- Calculer les valeurs mesurées correspondantes : y_t ,
- Calculer la moyenne et l'écart-type des valeurs mesurées : \bar{y}_t et $s_{(y_t)}$,
- Calculer ensuite :

La limite de détection : $L_D = \bar{y}_t + 3 s_{(y_t)}$

La limite inférieure de l'intervalle de mesure : $L_{Qinf} = \bar{y}_t + 10 s_{(y_t)}$

B. Logigramme de validation de la compatibilité des valeurs mesurées en conditions de répétabilité

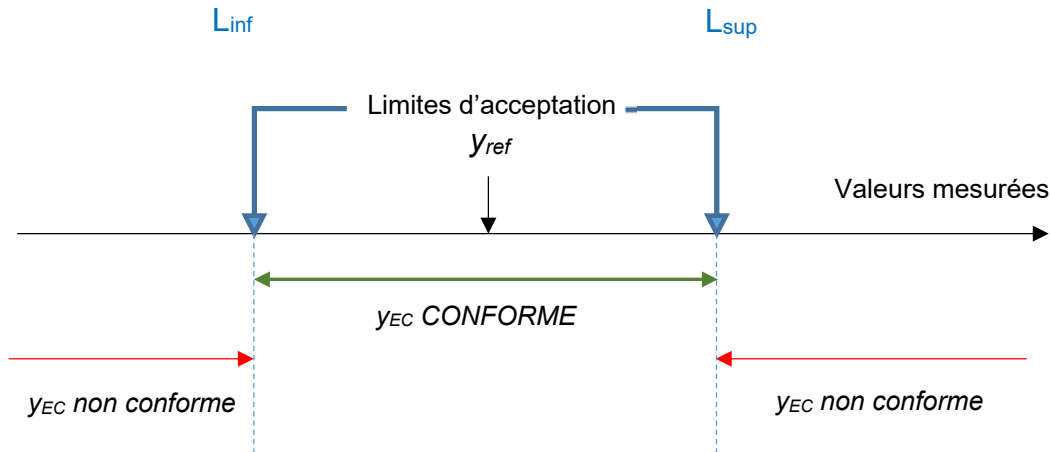


Donnée 1 : Pour valider la compatibilité des valeurs mesurées de l'étalon de contrôle, la démarche à suivre est celle présentée ici, mais l'écart maximal entre les valeurs mesurées ne sera pas comparé avec $3,3 s_r$ mais avec 20 % de la moyenne des valeurs mesurées.

C. Vérification de l'exactitude de mesure par comparaison à un intervalle d'acceptation

Un étalon de contrôle dont on connaît la valeur (y_{ref}) est utilisé.

Il faut comparer la valeur mesurée expérimentalement pour l'étalon de contrôle (y_{EC}) à l'intervalle d'acceptation, selon le schéma ci-dessous.



Si la valeur mesurée (y_{EC}) appartient à l'intervalle d'acceptation, l'exactitude de mesure est bonne et la procédure est satisfaisante.

Si la valeur mesurée (y_{EC}) n'appartient pas à l'intervalle d'acceptation, l'exactitude de mesure est insuffisante et la procédure n'est pas satisfaisante.

Données 2 : concernant l'ELISA mis en œuvre ici, l'intervalle d'acceptation de la valeur retenue pour l'étalon de contrôle est le suivant :

$$[0,050 - 0,11] \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}.$$

PARTIE 2 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR TECHNIQUE ENZYMATIQUE

La recherche d'enzymes spécifiques des bactéries est couramment utilisée en microbiologie médicale ou alimentaire pour la détection, le dénombrement et/ou l'identification des bactéries dans un échantillon polymicrobien. Ces enzymes sont le plus souvent mises en évidence grâce à des substrats chromogènes ou fluorogènes ajoutés dans le milieu de culture.

Par exemple, la recherche et le dénombrement des *Escherichia coli* dans les eaux de surface et résiduelles est actuellement encadrée par la norme NF EN ISO 9308 (Mars 1999) : les *E. coli* y sont définis comme des « micro-organismes β -D-glucuronidase positifs à une température de 44°C dans le milieu liquide spécifié contenant du 4-méthylumbelliféryl- β -D-glucuronide » (MUGlu). Dans le cadre de cette norme, des dilutions de l'échantillon à analyser sont réalisées et incubées en présence d'un milieu contenant du MUGlu pendant 36 h à 72 h avant d'être observées sous lampe UV afin de détecter les tubes fluorescents. Les résultats sont ensuite analysés selon la méthode du nombre le plus probable (NPP).

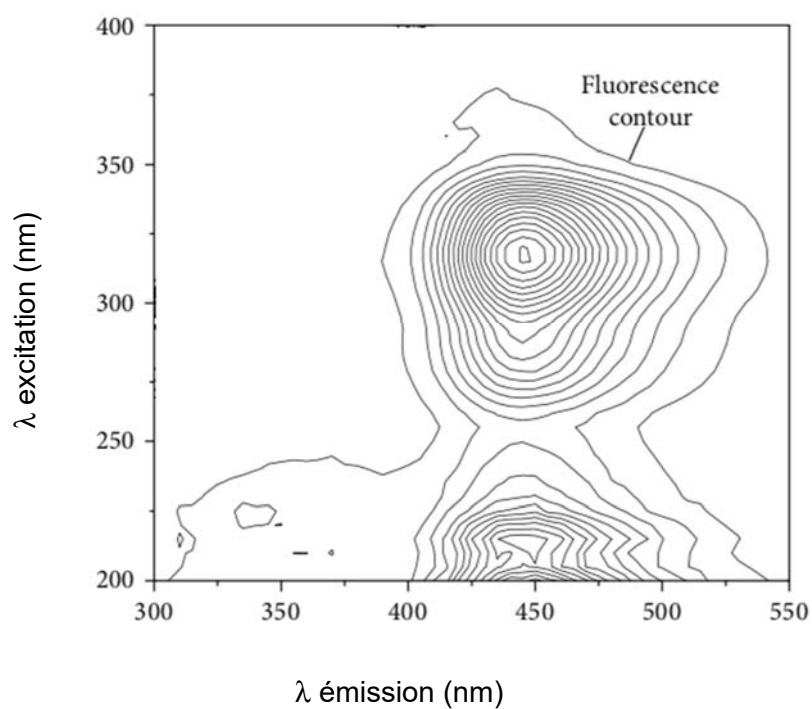
Le **document 2** ci-après présente des données concernant la 4-méthylumbelliférol (4-MU), produite lors de la réaction d'hydrolyse du 4-méthylumbelliféryl- β -D-glucuronide (MUGlu) catalysée par la β -glucuronidase.

Pour avoir un seuil de détection faible, cette méthode nécessite une incubation d'au moins 36 h et ne permet donc pas un rendu rapide des résultats. En vue d'adapter cette méthode pour obtenir des résultats plus rapides, on se propose d'étudier sur une courte durée la cinétique enzymatique de l'hydrolyse du substrat MUGlu et de voir si cette cinétique permet de quantifier des bactéries. Pour cette adaptation de méthode, on se contentera de travailler sur des échantillons fortement concentrés en bactéries afin de vérifier dans un premier temps si l'activité enzymatique mesurée est corrélée à la concentration de bactéries introduites.

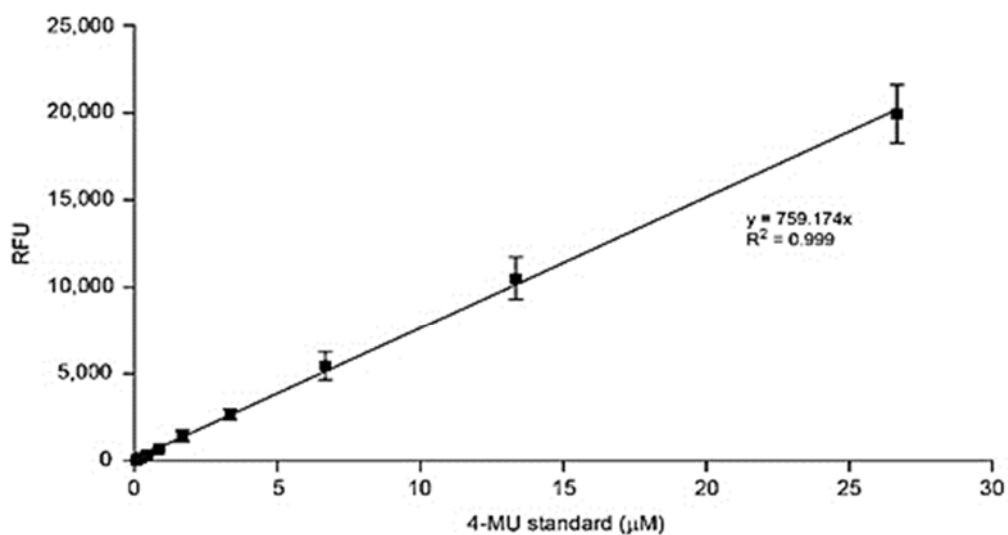
Une souche d'*Escherichia coli* K12 (CIP 54117) a été cultivée de nuit en bouillon nutritif ordinaire (BNO) puis cette pré-culture a été diluée au 1/11^e et remise en croissance avant l'épreuve toujours en BNO.

Réaliser une mise en œuvre de la détermination de l'activité enzymatique β -D-glucuronidase de cette souche selon le protocole de la **fiche technique 2**.

A. Spectre 3D de fluorescence du 4-MU en solution aqueuse à pH 6



B. Gamme d'étalonnage de l'intensité de fluorescence du 4-MU



Équation de la droite : $y = 759,174.x$; $R^2 = 0,999$

- Q12. Calculer la concentration en bactéries dans chacune des dilutions testées.**
- Q13. Expliquer le rôle du triton X-100 utilisé dans le réactif MUGlu.**
- Q14. Proposer un rôle à la pré-incubation de 20 minutes à 44°C avant le démarrage de la cinétique enzymatique.**
- Q15. Déterminer les longueurs d'onde d'excitation et d'émission à utiliser d'après le spectre du document 2.**
- Q16. Présenter graphiquement les résultats des cinétiques réalisées sur les différentes dilutions.**
- Q17. Commenter et proposer une hypothèse pour expliquer l'allure de ces cinétiques.**
- Q18. Estimer pour chaque échantillon la vitesse de réaction (v) entre le premier et le dernier point de la cinétique et exprimer le résultat en $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$.**
- Q19. Déterminer la relation entre v et la concentration de bactéries.**
- Q20. Commenter ces résultats et conclure par rapport à l'objectif.**

PARTIE 3 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR AMPLIFICATION ISOTHERME DE L'ADN

3.1) Principe de la technique LAMP

La recherche et l'identification de souches bactériennes est couramment réalisée en laboratoire par une technique d'amplification spécifique de l'ADN, la PCR. Celle-ci est déclinée en différentes approches permettant de réduire la durée des manipulations, avec notamment la PCR en temps réel. La puissance de cette technique réside dans la spécificité et la rapidité des résultats obtenus et dans la possibilité de quantifier l'ADN initial. Cependant, une limite majeure reste le coût en matériel. En effet, une PCR en temps réel nécessite un appareil dédié permettant la réalisation de cycles à différentes températures et la lecture de la fluorescence.

Une technique alternative d'amplification spécifique de séquence d'ADN, en 1 h environ, en condition isotherme, a été mise au point en 2000 : la technique LAMP, pour *Loop-mediated isothermal amplification*.

Cette technique est basée sur une amplification de la quantité d'ADN à partir d'un segment spécifique, comme en PCR. Cependant le produit d'amplification est beaucoup plus hétérogène : en tailles d'amplicons et en séquences d'ADN répétées.

De la même manière qu'une PCR classique, la technique LAMP nécessite la préparation d'un mix réactionnel contenant notamment l'ADN matrice, des amorces ADN assurant la spécificité de la technique, et une ADN-polymérase thermorésistante particulière : la *Bst* ou *Bsm* qui :

- possède une activité de polymérisation 5' → 3' ;
- possède une activité de déplacement de brin ;
- mais ne présente pas d'activité exonucléasique.

Le **document 3** présente les amorces utilisées ainsi que la séquence cible.

Document 3 : Caractéristiques des amorces utilisées dans la technique LAMP

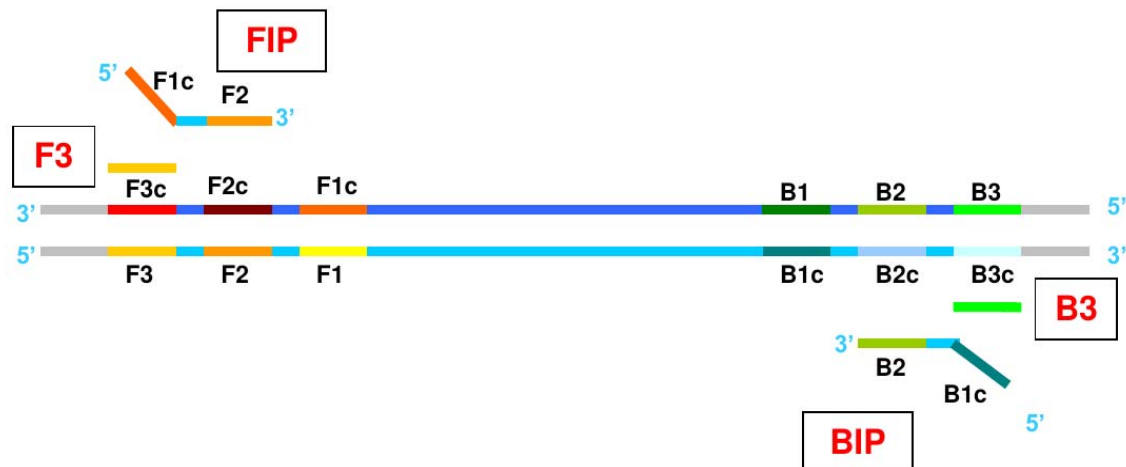
Les amorces sont au nombre de 4 à 6. Pour une meilleure compréhension, dans le schéma ci-dessous 6 régions distinctes sont désignées sur l'ADN cible, dénommées F3c, F2c, F1c, B1, B2, B3 en partant de l'extrémité 3'. L'indice « c » signifie qu'il s'agit d'une séquence complémentaire : par exemple, la région F1c est complémentaire de F1.



Régions distinctes de l'ADN cible

Dans notre exemple, les amorces utilisées sont les suivantes :

- une amorce interne sens FIP (*Forward Inner Primer*) comportant :
 - à son extrémité 3' : la région F2 complémentaire de la région F2c
 - à son extrémité 5' : la même séquence que la région F1c
- une amorce externe sens F3 (*Forward Outer Primer*) constituée de la région F3, complémentaire de la région F3c
- une amorce interne anti-sens BIP (*Backward Inner Primer*) comportant :
 - à son extrémité 3' : la région B2, complémentaire de la région B2c
 - à son extrémité 5' : la même séquence que la région B1c
- une amorce externe anti-sens B3 (*Backward Outer Primer*) constituée de la région B3, complémentaire de la région B3c



Gène cible et amorces utilisées pour la réaction LAMP

- une amorce LoopF et une amorce LoopB dessinées dans la séquence séparant les séquences F2 et F1 (pour LoopF) et B2 et B1 pour LoopB et dont le rôle est de permettre l'amplification lors de la phase cyclique, en rendant disponible de nouvelles zones d'hybridation pour la polymérase.

La vidéo accessible dans le dossier « Biochimie 2021 » (sur le bureau de l'ordinateur candidat) permet de visualiser le mécanisme d'amplification qui ne peut pas être réduit à un cycle de base simple comme dans la PCR.

Donnée : « *dumbbell* » se traduit en français par « altère ».

Q21. Expliquer l'intérêt de l'activité déplacement de brin de la *Bst* polymérase et préciser les numéros des étapes de la vidéo jointe correspondant à cette activité.

3.2) Objectif et mise en œuvre

Toujours dans le contexte de la mise au point d'une technique rapide de détection d'*E.coli*, des amorces adaptées à une amplification LAMP et spécifiques du gène *phoA* de *E.coli* ont été dessinées.

On souhaite vérifier le fonctionnement de cette méthode et déterminer sa limite de détection. Pour cela, une extraction d'ADN de la souche d'*E. coli* K12 (CIP 54117) mise en culture sera réalisée, suivie d'une amplification isotherme sur différentes dilutions selon le protocole de la **fiche technique 3**. Les produits d'amplification seront analysés après électrophorèse sur gel d'agarose à 2% selon le protocole de la **fiche technique 4**.

- Q22.** Recopier sur la copie le tableau de composition du milieu réactionnel pour 1 tube (fiche technique 3) et le compléter en expliquant les calculs. Ajouter les valeurs des volumes utilisés pour la composition du master mix.
- Q23.** Le contrôle positif fourni contient de l'ADN génomique d'*E. coli* à une concentration de $59,1 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$. Sachant que la taille du génome de *E. coli* est de $4,46\cdot 10^6 \text{ pb}$, estimer le nombre de copies présentes comme matrice dans la réaction contrôle positif.

Données :

- Masse molaire moyenne d'un nucléotide : $330 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- Nombre d'Avogadro : $N_A = 6,022\cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$

3.3) Résultats

- Q24.** Interpréter les résultats par rapport à l'objectif recherché.
- Q25.** La LAMP est souvent associée à une révélation colorimétrique. En vous appuyant sur le mécanisme de polymérisation, expliquer le principe de cette révélation.
- Q26.** Présenter les intérêts et limites de l'amplification LAMP par rapport à une PCR classique dans ces différents contextes :
- a. en laboratoire de recherche,
 - b. en laboratoire d'analyse,
 - c. en enseignement technologique.
- Q27.** Sachant que la LAMP est une méthode qualitative, définir la sensibilité et la spécificité de ce type de méthode. Proposer des tests complémentaires à réaliser pour déterminer ces paramètres.

Références :

1. *Je pratique la métrologie*, C. Joffin, F. Lafont et E. Mathieu, Lexitis éditions, 2019.
2. *Loop-mediated isothermal amplification of DNA*, Tsugunori Notomi & Al, *Nucleic Acids Research*, 2000, Vol. 28, No. 12.
3. *Comparaison de la PCR en temps réel et de la technologie Lamp pour la detection du génome du Varicella Zoster Virus*, E. Dumetz, *Mémoire pour le DES de Biologie Médicale, université Lille 2*, 2014.
4. *A loop-mediated isothermal amplification method for rapid direct detection and differentiation of nonpathogenic and verocytotoxigenic E. coli in beef and bovine faeces*, A. Ch. Stratakos et al., *Journal of Applied Microbiology*, 122, 817–828, 2016
5. *Enzyme Characteristics of β -D-Galactosidase- and β -D-Glucuronidase-Positive Bacteria and Their Interference in Rapid Methods for Detection of Waterborne Coliforms and Escherichia coli*, I. Tryland, L. Fiksdal, *Applied and Environmental Microbiologie*, Mar. 1998, p. 1018–1023.
6. *Fluorescent Properties of Hymecromone and Fluorimetric Analysis of Hymecromone in Compound Dantong Capsule*, H. Zhi, J. Wang, S. Wang, and Y. Wei, *Journal of Spectroscopy*, Hindawi Publishing Corporation, Volume 2013.
7. *Determination of Neuraminidase Kinetic Constants Using Whole Influenza Virus Preparations and Correction for Spectroscopic Interference by a Fluorogenic Substrate*, B Marathe et al., *PLoS ONE*, August 2013.

DOSSIER TECHNIQUE

Le dossier technique est distribué à côté du sujet.

ANNEXE 1

DONNÉES DE SÉCURITÉ SUR LES RÉACTIFS

NaOH à 7,5 mol·L⁻¹



Danger

H290 Peut être corrosif pour les métaux.

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

GelRed 10 000 X

Agent intercalant de l'ADN : manipuler au poste de coulage avec des gants ; récupérer le cône et les gants dans un sac adapté.

À la concentration d'utilisation finale, le produit ne présente plus de danger.

Les tampons d'électrophorèse peuvent être jetés à l'évier.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
PBST	NaCl 137 mmol·L ⁻¹ ; KCl 2,7 mmol·L ⁻¹ ; Na ₂ HPO ₄ 10 mmol·L ⁻¹ ; KH ₂ PO ₄ 1,8 mmol·L ⁻¹ ; Tween 20 0,5 mL ; pH 7,4	2 flacons de 100 mL + 1 tube de 3 mL
PBST BSA	Serum Albumine Bovine à 10 g·L ⁻¹ en tampon PBST	3,5 mL en tube à hémolyse
Tampon de sensibilisation	Na ₂ CO ₃ 33 mmol·L ⁻¹ ; NaHCO ₃ 67 mmol·L ⁻¹ ; pH 9,6	300 µL en tube à hémolyse
4nPP	4-nitrophényl phosphate 1 g·L ⁻¹ en tampon glycine (Glycine 0,1 mol·L ⁻¹ ; MgCl ₂ 1 mmol·L ⁻¹ ; pH 10,5)	3,5 mL en tube à hémolyse
Anticorps anti-HCP	Anticorps anti-HCP dilué au 1/4000 en tampon de sensibilisation	3,5 mL en tube à hémolyse
HCP conjugué	HCP conjugué à la phosphatase alcaline	1,8 mL en tube à hémolyse
HCP étalon	HCP à 6,0 µg·mL ⁻¹	200 µL en tube à hémolyse
HCP contrôle	Solution étalon de contrôle : HCP à 0,08 µg·mL ⁻¹	200 µL en tube à hémolyse
NaOH	NaOH 7,5 mol·L ⁻¹	3 mL en tube à hémolyse

- 3 barrettes de 16 puits et cadre porte-barrettes
- Tubes à hémolyse
- 3 pipettes compte-goutte
- 1 papier filtre
- 1 étuve à 37 °C
- 1 lecteur de microplaque avec filtre à 405 nm + imprimante
- 1 bol bleu de récupération des déchets liquides
- 1 poubelle déchets biologiques
- 1 rouleau de ruban adhésif transparent pour couvrir les puits (à demander à l'examineur)

MODE OPÉRATOIRE

Données préalables sur les tests à réaliser :

La gamme sera composée de la solution étalon mère ainsi que de 11 dilutions en série, au demi, à réaliser au préalable en tampon PBST. Les dilutions peuvent être réalisées dans une barrette dédiée ou en tubes à hémolyse.

La solution étalon de contrôle sera testée en triplicat.

Prévoir un témoin d'efficacité de signal maximal, à réaliser 10 fois, ainsi qu'un témoin de spécificité et un blanc réactif.

Lorsqu'un antigène ou un anticorps n'est pas introduit dans un puits, il convient de le remplacer par le tampon adéquat.

1. Introduire dans le puits 100 μL de solution d'anticorps anti-HCP (ou à défaut du tampon de sensibilisation). Couvrir d'un film protecteur et incuber 1h à 37°C.
2. Laver 3 fois avec du PBST.
3. Introduire 100 μL de PBST-BSA. Couvrir d'un film protecteur et incuber au moins 20 min à 37 °C.
4. Laver 3 fois avec du PBST.
5. Après avoir préparé, en quantité suffisante, la gamme de concentrations décroissantes à partir de la solution mère étalon, introduire 50 μL d'HCP étalon ou d'HCP contrôle suivant les puits. Ajouter 50 μL d'HCP conjugué. Couvrir d'un film protecteur et incuber au moins 45 min à 37 °C.

Appeler l'examineur pour réaliser les dilutions de la solution étalon.

6. Laver 3 fois avec du PBST.
7. Introduire 100 μL de 4nPP. Laisser la coloration se développer (environ 20 min à 37 °C).
8. Optionnel : ajouter 20 μL de NaOH à 7,5 mol·L⁻¹ pour arrêter la réaction.
9. Lire l'absorbance à 405 nm au lecteur de microplaque.

Appeler l'examineur pour aller lire les absorbances au lecteur de microplaque.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
<i>E. coli</i>	Culture d' <i>E. coli</i> K12 CIP 54117 en bouillon nutritif ordinaire (BNO) démarrée à 12h00 à 37 °C avec agitation.	Erlenmeyer avec 11 mL
BNO	Bouillon nutritif ordinaire	9 mL en flacon
Milieu MUGlu	4-méthylumbelliféryl-β-D-glucuronide (MUGlu) à 0,15 mg·mL ⁻¹ en Tampon phosphate pH 6,4 , 0,1 % BNO, 0,1% Triton X-100	7 mL en flacon brun
Eau physiologique stérile	NaCl 9 g·L ⁻¹	7 mL en flacon
NaOH	NaOH 7,5 M	3 mL en tube à hémolyse

- Semi-microcuves spectrophotomètre visibles avec portoir
- Spectrophotomètre
- Bloc chauffant + thermomètre (1 pour 2 candidats)
- Microtubes de 2 mL
- Microtubes de 1,5 mL
- Microcentrifugeuses réglables
- Microplaque 96 puits à bords noirs pour lecture fluorescence
- Microfluorimètre
- Chronomètre
- Papier aluminium

MODE OPÉRATOIRE

Appeler l'examineur pour récupérer la culture d'*E. coli*.

Homogénéiser rigoureusement toutes les suspensions bactériennes avant chaque prélèvement.

1. Réaliser une détermination de l'atténuation à 600 nm ($D_{600\text{ nm}}$) de la suspension bactérienne au spectrophotomètre au moment de démarrer la manipulation.
2. Prendre 2 microtubes de 2 mL et transférer 2 mL de culture dans chacun.

3. Centrifuger les deux tubes 3 min à 8000 rpm.
4. Éliminer délicatement le surnageant.
5. Resuspendre l'un des culots bactériens dans 2 mL de milieu MUGlu et l'autre dans 2 mL d'eau physiologique. Bien homogénéiser.
6. Réaliser pour chaque échantillon, dans des microtubes de 1,5 mL, les dilutions suivantes dans un volume final de 1 mL (de MUGlu ou d'eau physiologique) : échantillon pur, dilution 1/2, dilution 1/4, dilution 1/10. Un tube témoin contenant uniquement le diluant sera réalisé pour chaque série.
7. Pré-incuber chaque échantillon 20 min à 44 °C puis réaliser avec les tubes en MUGlu une cinétique par prélèvement de 5 points répartis sur environ 1 h en prélevant 150 µL et en les transférant en microplaque à bords noirs. Arrêter la réaction dans chaque puits avec 15 µL de NaOH à 7,5 M. Maintenir la plaque au maximum à l'obscurité en attendant la lecture.
8. Traiter de la même manière chaque dilution en eau physiologique mais ne réaliser qu'un prélèvement en fin de manipulation afin d'obtenir un témoin de compensation « bactéries ».

Appeler l'examineur qui procédera à la lecture au microfluorimètre en une seule fois à l'issue de la cinétique.

Donnée :

- Pour cette souche d'*E. coli* lorsque l'atténuation à 600 nm est comprise en 0,050 et 0,800, on peut estimer le coefficient de proportionnalité à :
1 unité d'atténuation ↔ $2,1 \cdot 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Amorce FIP	40 μ M	10 μ L en microtube
Amorce BIP	40 μ M	10 μ L en microtube
Amorce F3	5 μ M	10 μ L en microtube
Amorce B3	5 μ M	10 μ L en microtube
Amorce LoopF	10 μ M	10 μ L en microtube
Amorce LoopB	10 μ M	10 μ L en microtube
Tampon d'amplification	10X	25 μ L en microtube
MgSO ₄	100 mM	15 μ L en microtube
Mix de dNTP	10 mM de chaque	35 μ L en microtube
BST 3.0 DNA polymerase	8000 U·mL ⁻¹	10 μ L en microtube
Eau BM	Eau déminéralisée qualité biologie moléculaire	10 mL
Contrôle positif	Solution d'ADN génomique de <i>E. coli</i> à 59,1 ng· μ L ⁻¹	5 μ L en microtube

- Thermocycleur programmé pour l'étape 12
- Bloc chauffant à 95°C (près du tableau)
- Microcentrifugeuses réglables
- Minicentrifugeuse de paillasse non réglable (poste candidat)
- Adaptateurs de centrifugeuse pour tubes de 0,2 mL à demander si besoin
- Microtubes (1,5 mL ; 0,2 mL)

MODE OPÉRATOIRE

Extraction d'ADN :

Appeler l'examineur pour récupérer la culture de E. coli.

Homogénéiser rigoureusement toutes les suspensions bactériennes avant chaque prélèvement.

1. Réaliser une détermination de l'atténuation à 600 nm ($D_{600\text{ nm}}$) de la suspension bactérienne au spectrophotomètre au moment de démarrer la manipulation.

2. Centrifuger 1 mL de suspension 3 minutes à 8000 rpm.
3. Éliminer le surnageant et resuspendre le culot avec 1 mL d'eau BM. Centrifuger à nouveau 3 minutes à 8000 rpm.
4. Répéter ce lavage puis reprendre le culot dans 1 mL d'eau BM.
5. Chauffer à 95°C pendant 15 minutes.
6. Centrifuger 2 minutes à 13000 rpm.
7. Récupérer le surnageant et réaliser 4 dilutions en série au 1/10^{ème}.
8. Conserver les échantillons à 4°C.

Amplification :

Tester les différentes dilutions d'ADN d'*E. coli*, prévoir un contrôle positif et un contrôle négatif.

9. Préparer un master mix pour l'ensemble des tests en utilisant le tableau ci-dessous.

Composition du milieu réactionnel pour 1 tube :

Réactifs	Concentration dans le milieu réactionnel	V en μL
Eau BM qsp 25 μL	-	
Tp 10X Bst DNA pol	1X	
MgSO ₄ à 100 mM	6 mM	
dNTP à 10 mM	1,4 mM	
Amorces Fip et Bip à 40 μM	1,6 μM	1 et 1
Amorces F3 et B3 à 5 μM	0,2 μM	1 et 1
Amorces LoopF et LoopB à 10 μM	0,4 μM	1 et 1
Bst 3.0 à 8000 U·mL ⁻¹	320 U·mL ⁻¹	
Échantillon d'ADN à tester		1 μL

10. Chauffer chaque échantillon d'ADN à tester 5 min à 95 °C en bloc chauffant.
11. Préparer chaque test en microtube de 0,2 mL : 24 μL de master mix et 1 μL d'échantillon à tester.
12. Incuber 30 minutes à 65 °C, puis 5 minutes à 80 °C en thermocycleur (appeler l'examineur).
13. Conserver dans la glace.
14. Réaliser une électrophorèse en gel d'agarose des différents échantillons (voir **fiche technique 4**).

Donnée :

- Pour cette souche d'*E. coli* lorsque l'atténuation à 600 nm est comprise en 0,050 et 0,800, on peut estimer le coefficient de proportionnalité à :
1 unité d'atténuation \leftrightarrow 2,1. 10⁸ UFC·mL⁻¹.

REACTIFS ET MATERIEL

NOM	COMPOSITION	CONDITIONNEMENT
Agarose	Agarose en poudre	Flacon (au bureau examinateur)
Tampon TAE 1X	Tris 40 mM, acide acétique 20 mM, EDTA 1 mM	Flacon de TAE à disposition au poste « Electrophorèse »
GelRed	Solution commerciale 10 000 X en solution aqueuse	Microtube au poste de coulage des gel
Tampon de dépôt 6X	Glycérol 50 % (m/V) + Bleu de Bromophénol (BBT) 0,1 % (m/V) + EDTA 20 mM en eau distillée, pH 8	30 µL en microtube
Marqueur de taille « 100 pb »	Mélange de fragments d'ADN présentés dans le document ci-dessous déjà dilués en tampon de dépôt.	12 µL en microtube

- Erlenmeyer de 200 mL avec bouchon en mousse
- Cupule de pesée et spatule
- Balance de précision dans la salle adjacente (demander à l'examineur)
- Epruvette graduée 100 mL à disposition au poste « Electrophorèse »
- Cuve d'électrophorèse + support de gel + peigne + ruban adhésif blanc
- Générateur (un pour 4 cuves)
- Four micro-onde dans la salle adjacente (demander à l'examineur)

MODE OPÉRATOIRE

Préparation du gel :

1. Préparer un support de gel en créant des rebords à l'aide de au ruban adhésif blanc (2 couches de scotch recommandées). Positionner le peigne.
2. Repérer le volume de gel nécessaire indiqué sur la cuve attribuée. Peser la masse d'agarose correspondante pour préparer un gel à 2 % en tampon TAE et la transférer dans la fiole d'Erlenmeyer.
3. Ajouter le volume correspondant de TAE 1X.
4. Dissoudre l'agarose par ébullition au micro-onde : réglage moyen en arrêtant toutes les 30 s pour mélanger jusqu'à dissolution complète de l'agarose.
5. Laisser refroidir l'agarose jusqu'à environ 50 °C.

Appeler l'examineur pour ajouter l'agent intercalant.

6. Ajouter sous la hotte l'agent intercalant GelRed pour atteindre une concentration finale de 1X dans le gel.
7. Couler le gel sur le support préparé sous la hotte.

8. Laisser solidifier avant de retirer le scotch et de transférer le gel dans la cuve.
9. Recouvrir le gel de tampon TAE 1X.

Préparation et dépôt des échantillons :

1. Préparer les échantillons de dépôts : 10 μ L d'échantillon à analyser et 2 μ L de tampon de dépôt 6X.
2. Homogénéiser et centrifuger brièvement si nécessaire.
3. Déposer 10 μ L de chaque échantillon dans le gel. Prévoir un puits avec le marqueur de taille « 100 pb ».

Appeler l'examineur pour réaliser un dépôt.

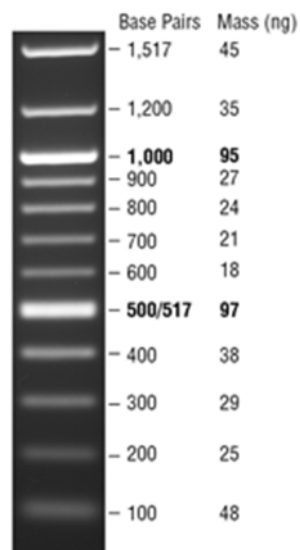
Migration et acquisition des résultats :

Interrompre la migration sur le générateur avant de brancher ou débrancher toute cuve.

1. Brancher la cuve sur le générateur et lancer la migration à 120 V pendant 20 à 30 min jusqu'à ce que le bleu de bromophénol atteigne environ les 2/3 du gel.
2. Arrêter le générateur avant de débrancher la cuve (le relancer ensuite si d'autres cuves sont en cours de migration).
3. Récupérer le gel avec son support.

Appeler l'examineur pour faire une photographie sur le transilluminateur UV.

Marqueur de taille 100 pb DNA Ladder



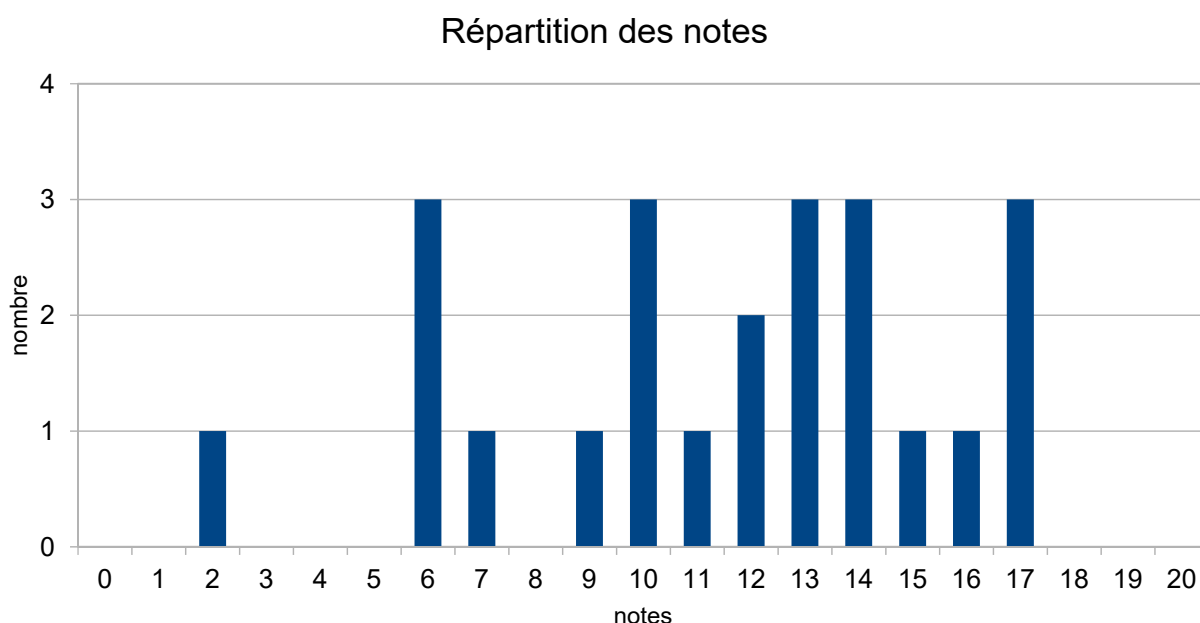
RAPPORT DU JURY DE TP DE BIOCHIMIE-PHYSIOLOGIE

Détection ou quantification

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **11,98 / 20**
- Meilleure note : **17,70 / 20**
- Note la plus basse : **02,90 / 20**
- Nombre de notes supérieures ou égales à 10 / 20 : **17 notes sur 23 (74 %)**
- Moyenne des candidats admis : **14,24 / 20**

Histogramme de répartition



COMMENTAIRES GENERAUX SUR L'EPREUVE

Le sujet portait sur l'adaptation et la caractérisation de différentes méthodes de détection ou de quantification. Les candidats étaient amenés à réfléchir sur des notions métrologiques et les définitions qui leur sont associées.

Le modèle expérimental choisi dans ce sujet était la détection ou la quantification de molécules d'*Escherichia coli* K12 (CIP 54117, classe 1). Trois méthodes étaient proposées aux candidats :

- une méthode immunologique,
- une méthode enzymologique,
- une méthode de biologie moléculaire.

L'organisation temporelle est une qualité essentielle à transmettre à nos élèves et il fallait que les candidats en fassent preuve pour pouvoir réaliser l'intégralité des manipulations. La réalisation d'un ELISA nécessite plusieurs incubations relativement longues. Il était donc indispensable de

commencer le plus rapidement possible par la première étape de sensibilisation. L'incubation d'une heure qui s'ensuivait devait être mise à profit afin de s'organiser pour les 2 autres parties : recherche d'*E. coli* par méthode enzymatique et par PCR LAMP. Trop peu de candidats ont remarqué que ces deux techniques commençaient par la même étape de quantification bactérienne suivie d'une centrifugation. Ceux qui ont réalisé une seule lecture d'atténuation et centrifugé en une seule fois tous leurs échantillons ont pu gagner un temps précieux.

Le matériel nécessaire pour réaliser l'ensemble des manipulations du sujet est conséquent et vient encombrer les paillasse. Une majorité des candidats a réussi cependant à s'aménager un espace de travail organisé pour réaliser les manipulations et a été valorisée pour cela. Certains candidats, dans leur empressement, utilisent parfois un matériel inapproprié. Par exemple, certains ont utilisé pour faire l'ELISA la microplaque noire prévue pour les lectures de fluorescence du suivi enzymatique. Rappelons que la liste de matériel à utiliser pour chaque manipulation est indiquée dans chaque fiche technique.

Ce sujet demandait donc des capacités de planification, d'adaptabilité et de prise de décision. Certains candidats, pris par le temps, ont fait le choix pertinent de raccourcir certaines incubations de l'ELISA pour tout de même parvenir jusqu'à la lecture des résultats. Le jury a pu alors prendre en compte la qualité de leurs résultats expérimentaux.

Ainsi, du point de vue pratique, le jury a évalué, entre autres, la réaction des candidats face à un matériel, une technique, un aléa, l'organisation de la paillasse, la qualité des résultats des manipulations réalisées.... Il est à signaler que les candidats ont tendance à s'appliquer particulièrement sur les gestes observés par les examinateurs, mais manipulent en perdant tous les bons gestes lorsque l'examineur s'éloigne. Le jury est attentif au comportement des candidats pendant toute la durée de l'épreuve. Rappelons notamment qu'un pipetage avec une pipette à piston doit se faire pipette droite et non pas inclinée à 30°.

Comme toujours, la présentation des résultats de mesure et des calculs nécessitait de ne jamais omettre les unités. Trop de candidats ne présentent pas les équations aux unités permettant de valider et exploiter les équations aux grandeurs proposées. Ceci dénote un manque de rigueur auquel il convient de remédier pour bien préparer le concours, cette qualité étant indispensable pour le métier d'enseignant en biotechnologies. Le jury a par ailleurs apprécié que certains candidats, qui n'ont pas pu faire une manipulation par manque de temps ou suite à une erreur, aient malgré tout tenté une réflexion sur un résultat attendu.

Le jury invite aussi les candidats à ne pas négliger les formes de communication que sont les tableaux et schémas qui peuvent faire gagner du temps par rapport à une longue explication rédigée et sont aussi l'occasion pour les candidats de faire preuve d'un esprit de synthèse. De même la présentation des graphes demande de respecter certaines règles : titre / titre et unités des axes / légendes si plusieurs courbes. Les graphes étaient généralement mieux présentés que les années précédentes. Notons cependant qu'un titre du type « absorbance en fonction de la concentration » n'apporte aucune information autre que celles déjà indiquées sur les axes et ne convient donc pas. La maîtrise des outils informatiques type tableur est indispensable pour l'analyse et la présentation des résultats. Trop de candidats perdent un temps précieux pour tracer un graphique, l'annoter et faire des calculs, ce qui limite les réponses aux questions.

Le jury souhaite attirer l'attention des candidats sur le fait qu'il n'est pas toujours nécessaire d'avoir l'ensemble des résultats pour répondre aux questions. Cette capacité de projection et d'anticipation, trop rarement observée, a été appréciée et valorisée.

Enfin, les manipulations proposées ici ne nécessitaient généralement pas le port de gants, or certains candidats, peu nombreux, en utilisent de manière abusive, y compris pour écrire. L'utilisation des moyens de protection doit être raisonnée et réfléchie.

PARTIE 1 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR TECHNIQUE ELISA

L'objectif ici était l'étude d'une méthode ELISA visant à détecter et quantifier les HCP (*Host Cell Proteins*) d'*E. coli*, marqueurs d'impuretés recherchés dans les étapes de production pharmaceutiques par génie génétique.

L'ELISA était à réaliser dans des barrettes de 16 puits, à placer sur un cadre. Certains candidats ne connaissant pas le matériel, ont eu la présence d'esprit de l'étudier auparavant, de tester dans quel sens il était possible de placer les barrettes sur le cadre.

Il était nécessaire d'effectuer un travail préliminaire de préparation pour bien comprendre le principe de cet ELISA compétitif ainsi que pour concevoir la réalisation de la gamme et des témoins. Il était notamment demandé de réaliser 10 témoins de signal maximal, sans analyte afin de déterminer par la suite la limite de détection et la limite inférieure de l'intervalle de mesure. L'organisation étant laissée libre au candidat, il était absolument indispensable que celui-ci communique son plan de plaque sur sa copie, pour une bonne traçabilité.

La lecture des résultats de cette manipulation a été faite très tardivement et le jury regrette que trop peu de candidats aient réalisé une analyse des valeurs obtenues. Notons que certains ont eu la présence d'esprit de rédiger le calcul de la concentration en HCP dans les échantillons, alors même qu'ils n'ont pas eu le temps de lire leurs résultats. Ils ont expliqué qu'une partie de la courbe obtenue pouvait être linéarisée, avec une équation du type $y = ax + b$ et ont expliqué comment trouver C_{HCP} , sans omettre pour certains, l'unité dans laquelle exprimer ce résultat.

Le tableur pouvait aussi être préparé à l'avance pour n'avoir ensuite que les valeurs à rentrer après lecture de la microplaque au spectrophotomètre, et voir s'afficher alors le graphique, pour en déduire rapidement les valeurs mesurées, la moyenne et l'écart-type de ces valeurs pour les témoins ou les contrôles.... Trop souvent les indications de mesure sont rentrées à la va-vite dans le tableur et les entrées des tableaux de valeurs ne sont pas indiquées, ou alors il manque les unités.

Pour finir, signalons que très peu de candidats savent ce qu'est la limite de détection, qui porte sur la grandeur mesurée et non pas sur l'indication de mesure.

PARTIE 2 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR TECHNIQUE ENZYMATIQUE

Dans cette partie, les candidats étaient amenés à réfléchir sur l'adaptation d'une méthode enzymatique de détection de l'activité β -glucuronidase, enzyme spécifique d'*E. coli*, pour la rendre plus rapide. L'objectif était d'étudier sur une courte durée la cinétique enzymatique de l'hydrolyse du substrat MUGlu et de voir si cette cinétique permettait de quantifier des bactéries.

Les candidats devaient donc déterminer s'il existait une corrélation entre la concentration en bactéries et l'augmentation de la fluorescence apparue en une heure. La cinétique obtenue avait la particularité de présenter une augmentation exponentielle de la fluorescence au cours du temps. Les candidats étaient guidés pour choisir deux points et donc obtenir une vitesse moyenne pour les différentes concentrations de bactéries.

Les calculs de vitesse réalisés par les candidats ne correspondent pas au niveau attendu pour cette épreuve. Par exemple, il n'est pas possible d'utiliser un coefficient d'extinction molaire (ϵ) et des valeurs d'absorbance pour de la fluorescence. La loi de Beer-Lambert ne pouvait pas être utilisée dans cette partie. Une droite étalon de la fluorescence en fonction de la concentration en 4-MU (produit de la réaction) permettait d'obtenir des vitesses dans les bonnes unités. Il était aussi indispensable de prendre en compte la dilution induite par l'ajout du réactif d'arrêt.

L'enzymologie est une discipline fondamentale pour un futur enseignant en biotechnologie. Le jury regrette que ces compétences ne soient pas maîtrisées par plus de candidats.

D'un point de vue technique, lors de la mesure de l'atténuation de la culture fournie, certains candidats n'ont pas respecté la limite de linéarité pourtant indiquée dans le sujet. Le jury rappelle que de nombreuses informations sont disponibles dans le sujet et dans le dossier technique et qu'une lecture attentive de ces documents est un prérequis indispensable à la bonne réussite de l'épreuve.

La cinétique devait avoir lieu à 44°C. Étonnamment, de nombreux candidats n'ont fait que la préincubation à 44°C puis la cinétique à la paillasse. Le jury attire l'attention sur le fait que la meilleure organisation consistait à réaliser les prélèvements directement dans les bains à sec pour maintenir la température à 44°C. Il était aussi envisageable de réaliser les prélèvements à la paillasse puis de remettre les tubes dans les bains à sec.

PARTIE 3 : RECHERCHE D'*E. COLI* PAR AMPLIFICATION ISOTHERME DE L'ADN

Dans cette partie, les candidats étaient amenés à réfléchir sur le fonctionnement de l'amplification isotherme de l'ADN (technique LAMP), sa limite de détection dans le cas de la recherche d'*E.coli* K12 et sur la notion de sensibilité et de spécificité pour une méthode de détection qualitative.

Une vidéo de présentation de la LAMP était proposée aux candidats. Le jury regrette que trop peu de candidats n'aient pris le temps de regarder cette vidéo, ce qui leur aurait permis de répondre facilement et en amont de l'obtention de résultats à certaines questions de cette partie.

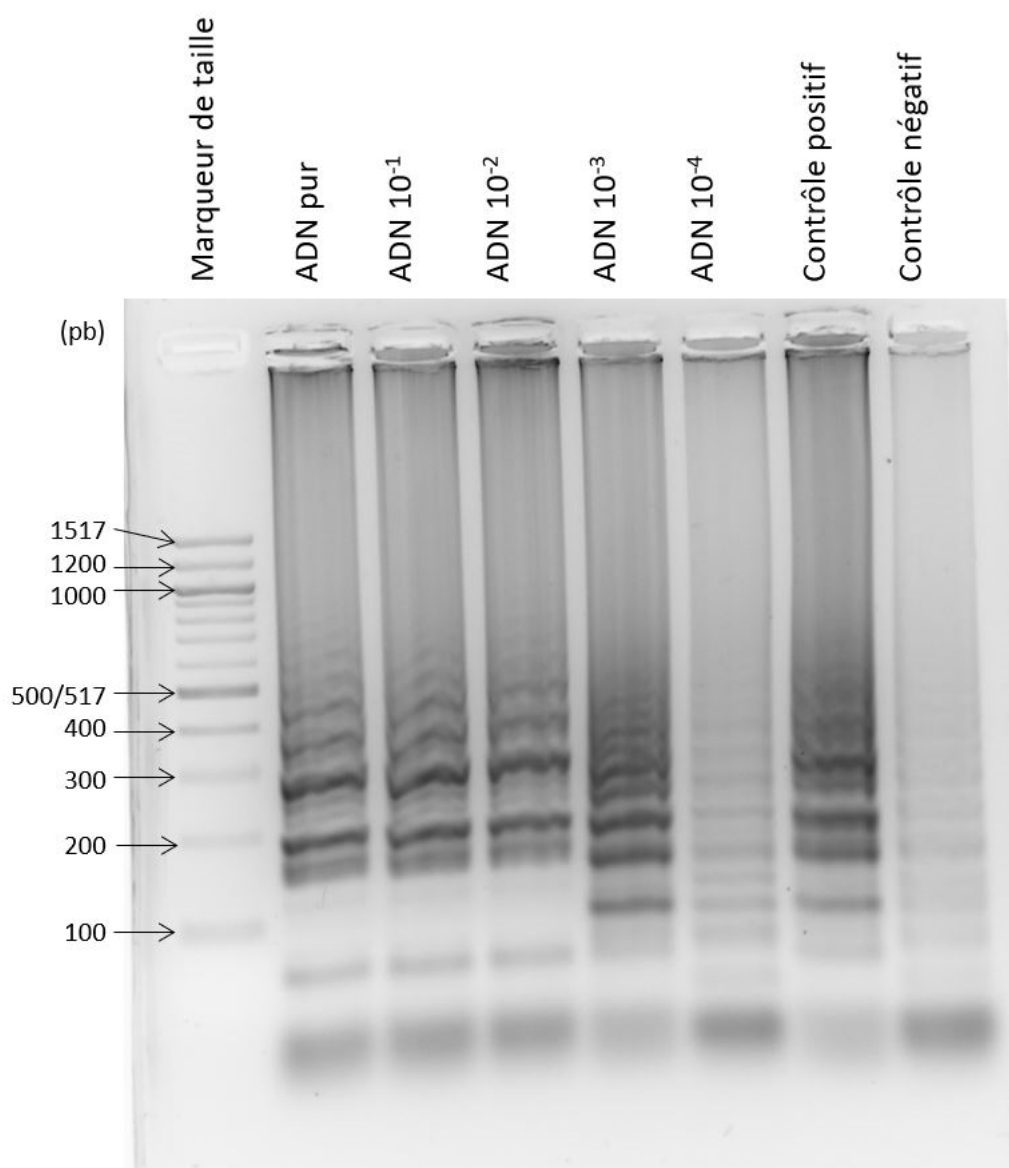
Les calculs de biologie moléculaires sont essentiels et indispensables dans les différentes formations dans lesquelles les enseignants seront amenés à intervenir. Le jury regrette une nouvelle fois que ces calculs ne soient que très rarement réalisés de manière complète et rigoureuse. Il est aussi inacceptable à ce niveau de ne pas savoir calculer correctement la masse d'agarose à peser pour réaliser un gel à 2 % et de ne pas savoir réaliser la dilution d'un produit à 10 000X. Le jury espère ne plus voir ces erreurs sur ces éléments fondamentaux.

La réalisation d'un gel d'agarose avec agent intercalant nécessite l'utilisation d'équipement de protection individuelle adapté. Si l'ensemble des candidats a respecté l'utilisation des hottes et le port des gants pour le pipetage de l'agent intercalant, le jury déplore que de quelques candidats n'aient pas jeté leurs gants dans la poubelle mise à leur disposition après utilisation. Ceci démontre une utilisation non raisonnée et non suffisamment réfléchie des EPI. Le jury a apprécié la qualité des dépôts réalisés sur les gels.

L'analyse des résultats de LAMP fournis aux candidats à l'issue de leur manipulation, permettait de mettre en évidence un seuil de détection correspondant à la dilution 10^{-2} de l'ADN extrait.

La mise au point de cette technique pose des soucis de spécificité, puisque des fragments correspondant à un signal non spécifique sont parfois observés dans le témoin négatif. Dans cet exemple de résultat d'un(e) candidat(e) ci-dessous, on peut conclure à un seuil de détection correspondant à la dilution 10^{-3} de l'ADN extrait.

Résultat de l'amplification LAMP (photo résultat candidat) :



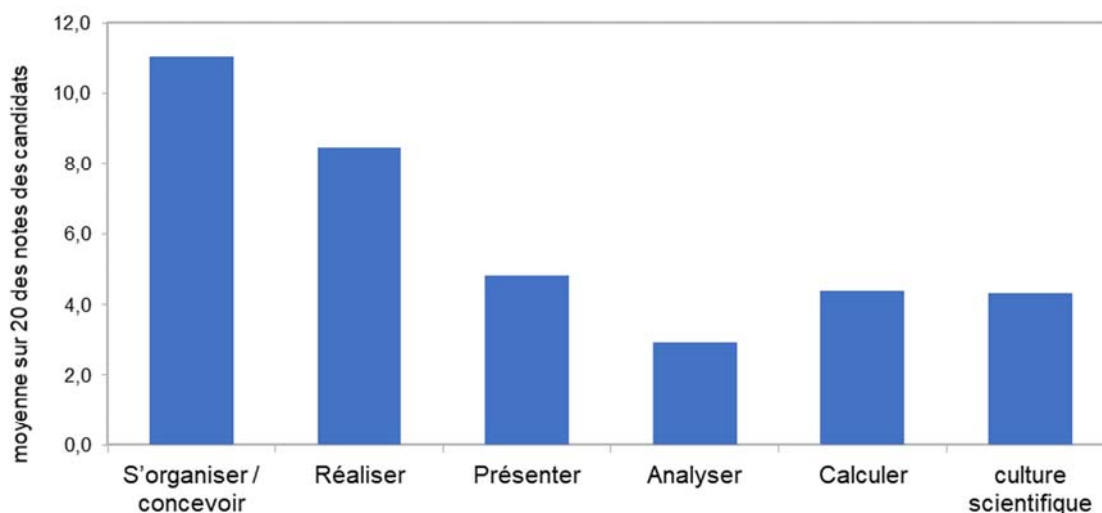
Après avoir analysé les résultats, les candidats étaient amenés à réfléchir sur l'utilisation de cette méthode dans différents contextes (laboratoire de recherche et d'analyse, enseignement). Cette question a permis à certains de candidat de montrer au jury leurs capacités de projection et d'adaptation d'une méthode. Néanmoins, les limites et les avantages des méthodes ne peuvent se limiter à son coût ou à sa mise en œuvre : aucun candidat n'a pensé que contrairement à la PCR, la LAMP avec ses différents fragments amplifiés est non adaptée pour le clonage ou le séquençage. Pour finir, signalons que très peu de candidats savent définir correctement les notions de sensibilité et de spécificité pour une méthode qualitative, pourtant au cœur de l'actualité cette année avec l'évaluation des tests de dépistage du SARS-CoV2. Cette dernière question devait permettre de faire le lien avec la méthode quantitative de la partie 1 (ELISA) et de souligner que la notion de sensibilité a une définition différente en fonction du type de méthode.

BILAN SUR LES COMPETENCES ÉVALUÉES

Comme le montre l'histogramme présenté ci-dessous, si les candidats maîtrisent globalement correctement les compétences d'organisation et de gestion technique des manipulations (ce qui révèle une réelle préparation à cette épreuve), c'est toujours la partie compte-rendu qui est la moins bien réalisée. Le sujet de cette année comportait trois manipulations dont deux d'entre elles nécessitaient des temps d'attente pour obtenir des résultats à analyser. Ceci peut expliquer que tous les résultats n'aient pas été présentés et que cette compétence obtienne encore un score assez faible et que peu de candidats aient fait preuve de capacité d'analyse dans leur compte-rendu.

Les calculs attendus dans ce sujet, y compris préliminaires aux manipulations, étaient relativement simples et malgré cela, la compétence « Calculer » n'est pas bien maîtrisée. Les candidats doivent donc travailler particulièrement ces trois axes : présenter correctement les tableaux et schémas de manipulation, les résultats et les graphes associés, réaliser les calculs en vérifiant systématiquement les unités, et enfin analyser les résultats.

Réussite par compétence évaluée



Ce sujet nécessitait des connaissances en métrologie, indispensables aux enseignements en STL ou BTS, que trop peu de candidat semblent maîtriser, d'où un score assez décevant pour la culture scientifique.

En conclusion, l'épreuve contenait trois manipulations à mener en parallèle, ce qui nécessitait de bonnes capacités d'organisation. Les candidats ont parfois pu être débordés mais dans l'ensemble se sont tous accrochés jusqu'au bout pour avancer dans le sujet. Le jury les félicite pour leur engagement dans cette épreuve.

TRAVAUX PRATIQUES DE MICROBIOLOGIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

LE FLAGELLE : UN FACTEUR DE VIRULENCE FINEMENT CONTROLÉ CHEZ CERTAINS PATHOGENES BACTÉRIENS

INTRODUCTION

Le flagelle constitue chez certaines espèces bactériennes un facteur de pathogénicité qui favorise la colonisation de l'hôte. *Escherichia coli* produit un flagelle qui lui permet de remonter le tractus urinaire. Les *Yersinia* régulent l'expression de leur flagelle en fonction des conditions de croissance. Chez *Helicobacter pylori*, l'agent du cancer gastrique, le flagelle lui confère une mobilité lui permettant de traverser la couche de mucines produite par les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique.

La production d'un flagelle à la surface de la bactérie pathogène est un processus qui peut représenter un coût énergétique mais aussi un risque d'exposition à la réponse immunitaire de l'hôte infecté. Afin de minimiser ce coût, le microorganisme régule finement la production de son flagelle selon ses conditions de croissance. L'usage des antibiotiques en thérapeutique peut favoriser l'émergence d'une sous-population bactérienne résistante. Cette résistance est le fruit de mutation(s) du patrimoine génétique au niveau des fonctions cibles de l'antibiotique. Parfois ce gain de résistance n'est pas neutre et peut se produire au détriment de fonctions métaboliques ou de virulence.

Nous proposons ici d'illustrer ces phénomènes biologiques par la réalisation de plusieurs expériences :

- **Partie A** : démonstration du rôle du gène *flhC* dans la mobilité d'*E. coli*.
- **Partie B** : étude de l'effet des conditions de croissance sur la mobilité des *Yersinia*.
- **Partie C** : analyse de l'impact d'un gain de résistance à l'amoxicilline sur la mobilité de *H. pylori*.

TRAVAIL DU PREMIER JOUR

Tous les examens microscopiques et les mesures d'absorbance devront être présentés à l'examineur.
Les milieux seront portés aux incubateurs par les candidats en fin d'épreuve.

DONNÉES

Les coefficients de correspondance concentration cellulaire / densité optique pour les souches utilisées sont :

- $C_{CE. Coli ; 600 \text{ nm}} = 7,0 \cdot 10^8$ bactéries. mL^{-1} par unité DO
- $C_{C. Yersinia ; 600 \text{ nm}} = 5,0 \cdot 10^8$ bactéries. mL^{-1} par unité DO
- $C_{C. H. pylori ; 600 \text{ nm}} = 5,0 \cdot 10^8$ bactéries. mL^{-1} par unité DO

La linéarité du spectrophotomètre à 600 nm dans les conditions expérimentales est vérifiée pour une suspension bactérienne dans l'intervalle $\text{DO}_{600} = 0,020 - 0,800$.

MATÉRIEL A DISPOSITION

Agitateur mécanique
Bac à glace
Bec Hoffmann
Billes de verre et pot de récupération des billes (pot à remplir de désinfectant)
Cartons et tambour pour incubation
Centrifugeuse réfrigérée
Cuves pour spectrophotomètre
Incubateurs à 28 et 37 °C
Lames et lamelles
Lunettes de sécurité
Microscope
Microtubes de 1,5 mL stériles
Parafilm prédécoupé
Pipettes automatiques P1000, P200, P20 et cônes adaptés
Pipettes graduées stériles de 1 mL, 2 mL, 5 mL et 10 mL
Pipettes Pasteur stériles
Réfrigérateur
Spectrophotomètre
Étalons Mc Farland (voir détails en annexe)
Systèmes d'aspiration à roulette et propipette
Tubes à essai stériles de 20 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes à hémolyse stériles de 10 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes d'eau physiologique stériles

PARTIE A

Démonstration du rôle du gène *fliC* dans la mobilité d'*E. coli*

On utilise une souche d'*E. coli* mutée au locus *fliC*. Le locus *fliC* est impliqué dans la synthèse du flagelle bactérien. On réalise une transformation avec un plasmide *pflIC* portant le gène *fliC* (voir carte en annexe).

Souches

Culture d'*E. coli* en phase exponentielle, 40 mL de LB en Erlenmeyer

Solutions et milieux de culture

16 géloses LA
16 géloses LA + ampicilline (100 µg.mL⁻¹)
50 mL de bouillons LB
20 mL de CaCl₂ à 0,1 M
10 µL de plasmide *pflIC* à 15 ng/µL

Matériel spécifique

Bain-marie à 37 °C agité
Bain-marie à 42 °C
Chronomètre
Flotteur et 2 fermails de couleurs
Microplaque (puits de 200 µL de volume utile)
Portoir pour tubes coniques de 50 mL
2 Tubes coniques de 50 mL

Les objectifs de la partie A sont :

- de réaliser la transformation de la souche par le plasmide *pflIC*.
- de déterminer le pourcentage de survie après l'ensemble des manipulations.
- de déterminer le pourcentage de transformants.
- de déterminer l'efficacité de transformation (nombre de transformants par ng de plasmides).
- d'évaluer l'effet de la transformation sur la mobilité de la souche.

La transformation sera réalisée selon le mode opératoire suivant :

MANIPULATIONS

A1- Préparation de bactéries compétentes

L'ensemble des étapes de cette préparation se déroule à 4 °C ou dans la glace. L'ensemble des solutions et du matériel doit être utilisé à froid.

- Centrifuger 40 mL de culture à 3 500 rpm, pendant 15 minutes.
- Resuspendre délicatement les bactéries dans 7 mL de CaCl₂ (0,1M).
- Centrifuger à 3 500 rpm, pendant 15 minutes.
- Resuspendre délicatement les bactéries dans 2 mL de CaCl₂ (0,1M).
- Centrifuger à 3 500 rpm, pendant 10 minutes minimum.
- Resuspendre délicatement les bactéries dans 0,2 mL de CaCl₂ (0,1M).

Note : des horaires de centrifugation sont imposés.

A2- Réalisation de la transformation

- Ajouter 5 µL d'ADN plasmidique à 15 ng/µL à 50 µL de bactéries compétentes.
- Placer au moins 10 minutes dans la glace.
- Placer à 42 °C pendant 30 secondes.
- Refroidir immédiatement dans la glace.
- Ajouter 250 µL de milieu LB.
- Incuber les tubes 1h à 37°C, sous agitation.

COMPTE-RENDU

- Expliciter la démarche pour atteindre les objectifs fixés
- Analyser la carte du plasmide *fliC* : expliquer le rôle des éléments indispensables aux objectifs de la partie A.
- Déterminer la concentration finale en plasmide utilisée pendant de la transformation.
- Indiquer le rôle de l'étape à 42 °C.

PARTIE B

Étude de l'effet des conditions de croissance sur la mobilité de *Yersinia*

On étudie l'influence des 2 températures d'incubation (28 et 37 °C pendant au moins 36h) sur la mobilité de 2 souches de *Yersinia*.

Souches

Souche A 1 culture de 18 heures à 37°C en bouillon LB de la souche A

Souche B 1 culture de 18 heures à 37°C en bouillon LB de la souche B

Milieux de culture

10 bouillons LB de 9 mL

14 géloses LA

4 géloses molles à 5 g/L d'agar

4 Tubes Mannitol-Mobilité-Nitrates (MMN, Biorad 355514, voir en annexe)

MANIPULATIONS

B1- Étude en milieu liquide

- Ensemencer les milieux liquides par les souches à une concentration de 10^4 UFC.mL⁻¹.
- Réaliser une vérification de la concentration bactérienne de chaque inoculum.

B2- Étude en gélose molle

- Préparer des suspensions bactériennes de turbidité équivalente à celle de l'étalon Mc Farland 0,5.
- Déposer 5 µL de suspension bactérienne au centre d'une boîte de gélose LA à 5 g/L d'agar. Laisser sécher au moins 30 minutes.

B3. Étude en milieu MMN

- Ensemencer les milieux MMN par les suspensions bactériennes.

B4. Contrôle de pureté des inoculums

COMPTE-RENDU

4. Synthétiser l'ensemble de la démarche et des calculs effectués (en B1).
5. Préciser la nature des étalons Mc Farland et l'avantage de leur utilisation.
6. Expliquer ce qui permet d'évaluer la mobilité des bactéries sur les milieux de culture utilisés.
7. Schématiser et interpréter les différents résultats possibles observables en jour 2 sur milieu MMN.
8. Expliquer l'importance de l'étape B4.

PARTIE C

Analyse de l'impact d'un gain de résistance à l'amoxicilline sur la mobilité de *Helicobacter pylori*

On dispose de deux souches d'*H. pylori*, l'une sauvage et l'autre mutante. *H. pylori* étant un organisme micro-aérophile, l'exposition prolongée à l'O₂ est susceptible d'altérer la souche.

Souches

Culture d'*Helicobacter pylori* sauvage sur gélose au sang (Culture Hp1)
Culture d'*Helicobacter pylori* mutée sur gélose au sang (Culture Hp2)

Milieux de culture et réactifs

2 géloses au sang en boîte de Pétri
2 flasques contenant 10 mL de Brain Heart Infusion (BHI)
50 µL de cocktail d'antibiotiques
2,5 mL de sérum de veau fœtal (SVF)
10 mL de bouillon BHI

Matériel spécifique

2 bandes E-test d'amoxicilline
2 écouvillons stériles
1 jarre commune pour culture en micro-aérophilie (fermée à l'horaire indiquée)
1 portoir pour microtubes
1 sac pour culture en micro-aérophilie et système de fermeture
1 sachet générateur de microaérobiose

C1- Préparation des suspensions bactériennes

- Réaliser des suspensions bactériennes en BHI (turbidité équivalente à celle due l'étalon Mc Farland 3) : prélever les bactéries par écouvillonnage.

C2 -Antibiogramme par la technique E-test

- Inonder une gélose au sang à l'aide d'environ 1 mL de suspension.
- Éliminer la suspension excédentaire.
- Déposer une bande E-test amoxicilline lorsque la boîte est sèche (sans bulle entre la gélose et la bande).
- Incuber à 37°C en condition micro-aérophile, pendant au moins 36h.

C3- Ensemencement de milieux liquides pour l'étude de la mobilité

- Complémenter les 10 mL de BHI avec 10 % de SVF et 0,2 % de cocktail antibiotiques (proportions finales).
- À partir des suspensions bactériennes, ensemercer à environ DO_{600nm} = 0,05.
- Incuber 36h à 37 °C sous agitation en condition micro-aérophile.

COMPTE-RENDU

9. Décrire le protocole de préparation des cultures (milieux et ensemencement) en flasques de BHI complétés.
10. Indiquer les conséquences possibles sur la lecture du E-test dans les cas suivants :
 - 10a. des bulles d'air sont emprisonnées entre la bande et la gélose ;
 - 10b. la suspension bactérienne n'est pas assez concentrée ;
 - 10c. la suspension bactérienne est trop concentrée ;
 - 10d. les conditions ne sont pas micro-aérophiles.

Annexe : Étalons Mc Farland

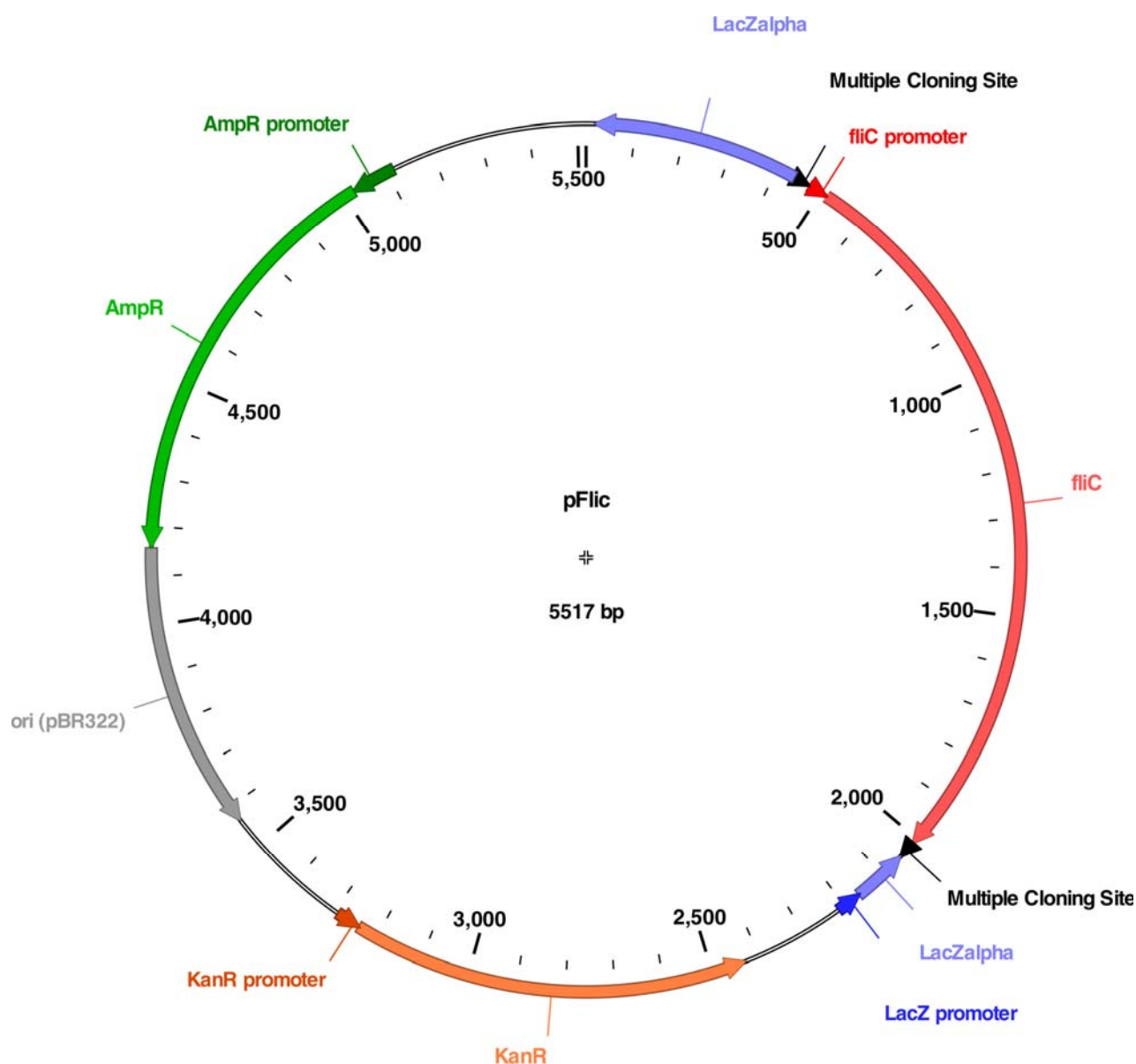
Les étalons Mc Farland sont utilisées comme référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes pour que le nombre de bactéries se situe dans une gamme de concentrations donnée afin de normaliser les tests microbiens.

Les étalons Mc Farland sont établies en mélangeant des quantités spécifiées de chlorure de baryum et d'acide sulfurique. Le mélange de ces deux composés forme un précipité de sulfate de baryum, ce qui rend la solution trouble. Un étalon Mc Farland 0,5 est préparé en mélangeant 0,05 ml de chlorure de baryum à 1,175% dihydraté ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$), avec 9,95 ml d'acide sulfurique à 1% (H_2SO_4).

étalon Mc Farland	0,5	1	2	3	4
Chlorure de baryum à 1% (ml)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
Acide sulfurique à 1% (ml)	9,95	9,9	9,8	9,7	9,6
Densité cellulaire approximative ($\times 10^8$ UFCs/mL)	1,5	3,0	6,0	9,0	12,0
% transmittance*	74,3	55,6	35,6	26,4	21,5
Absorbance*	0,08 à 0,1	0,257	0,451	0,582	0,669

*Pour une longueur d'onde de 600 nm

Annexe : carte du Plasmide *pFliC*



REF 45 532 / 45 533 / 45 534 08813 G FR

GENbag

PRÉSENTATION

REF 45 532	GENbag microaer, 20 tests*
REF 45 533	GENbag CO ₂ , 20 tests*
REF 45 534	GENbag anaer, 20 tests*
<i>*Coffret comprenant :</i>	
-	20 enveloppes étanches
-	20 générateurs
-	2 barrettes de fermeture
-	1 notice

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- GENbag, barrette de fermeture (ref 45511)

MATÉRIEL COMPLÉMENTAIRE

- Anear indicator 50 bandelettes (ref 96118)

CONSERVATION

Conservation à 2-25 °C à l'abri de l'humidité.

PRINCIPE

GENbag est composé d'une enveloppe étanche en plastique souple et transparente, qui permet, à l'aide d'un générateur, d'obtenir très rapidement une atmosphère adaptée à la culture des bactéries anaérobies microaérophiles ou capnophiles (= exigeantes en dioxyde de carbone).

Les sachets aluminium des générateurs GENbag fonctionnent sans addition d'eau ni de catalyseur (il n'y a pas de dégagement d'hydrogène). Ils assurent à l'utilisateur une grande praticabilité et une parfaite sécurité.

RÉSULTATS THÉORIQUES

	Concentration en oxygène	Concentration en dioxyde de carbone
GENbag anaer	< 0,1 % après 2,5 heures	> 15 % après 24 heures
GENbag microaer	De 5,5 % à 12 % après 24 heures	non disponible
GENbag CO ₂	non disponible	De 3,5 % à 9,5 % après 24 heures

UTILISATION

1. Mise en place :
Des boîtes de Petri :
Placer les boîtes de Petri ensemencées dans l'enveloppe en plastique.

Notes :

Respecter les consignes indiquées sur l'enveloppe :
GENbag microaer et GENbag CO₂ : placer 2 boîtes au maximum. GENbag anaer : placer 5 boîtes au maximum.

Des galeries :

Pour les galeries d'identification type API, placer 1 galerie par enveloppe étanche. Pour les galeries antibiogramme type ATB, placer 2 galeries par enveloppe étanche.

2. Ouvrir le sachet aluminium sans utiliser de ciseaux ou d'objet coupant. Sortir le générateur (sachet en papier) et le placer dans l'enveloppe plastique.

ATTENTION :

La réaction démarre dès que le générateur est en contact avec l'air. Le délai entre l'ouverture du sachet aluminium contenant le générateur, son placement dans l'enveloppe plastique et la fermeture de l'enveloppe doit être le plus court possible.

3. En suivant bien la ligne tracée sur l'enveloppe fermer celle-ci hermétiquement au moyen d'une barrette de fermeture. Clamper la barrette sur toute sa longueur afin d'assurer une étanchéité parfaite.

4. Pour GENbag anaer, placer un indicateur d'anaérobiose dans l'enveloppe en plastique. L'indicateur d'anaérobiose permet de contrôler que la réaction d'anaérobiose a bien été réalisée et s'est maintenue pendant l'incubation.

5. Après incubation, observer les cultures au travers de l'enveloppe, réincuber si nécessaire.

6. Après usage, sortir le générateur GENbag de l'enveloppe et le laisser refroidir à température du laboratoire.

PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

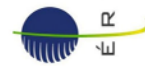
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Vérifier avant usage, l'intégrité de l'enveloppe en plastique.
- Ne jamais ouvrir les sachets contenant les générateurs avant utilisation.
- Lors de la manipulation des sachets en papier des générateurs, utiliser des gants ou se laver les mains après usage.
- En cas de contact entre le contenu des générateurs et les yeux, effectuer un rinçage à l'eau pendant au moins 15 minutes.
- Ne jamais ajouter d'eau dans le sachet en papier du générateur : la réaction serait alors inactivée.
- Avec GENbag anaer, la réaction est exothermique. La température du générateur peut atteindre 65 °C.

ÉLIMINATION DES DÉCHETS

Tous les générateurs utilisés doivent être éliminés avec les déchets du laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARAKI H. MISAWA S. OGURI T. et al. - Evaluation of Anaeropack system, a new anaerobic culture method- 1995. World congress on Anaerobic Bacteria and Infections, Puerto Rico
2. DELANEY M.L. ONDERDONK AB -Evaluation of Anaeropack system for growth of clinically significant anaerobes- 1997. *J. Clin. Microbiol.* vol. 35. n°3, p.558-562



bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Étoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 30 00
<http://www.biomérieux.com>

Imprimé en France

Le logo est une marque déposée et protégée qui est la propriété exclusive de bioMérieux sa ou de l'une de ses filiales.

Annexe : Milieu MANNITOL MOBILITÉ NITRATE / Fiche technique

BIO-RAD 355-5514

1. DOMAINE D'APPLICATION - PRINCIPE

Milieu utilisé lors de l'identification biochimique des Enterobacteriaceae. Le principe du Mannitol-Mobilité-Nitrate repose sur l'aptitude de certaines bactéries à fermenter le mannitol (acidification, visible par l'indicateur de pH) et à réduire les nitrates en nitrites ou diazote (présence de nitrates puis ajout de révélateurs). Ce milieu est également utilisé pour mettre en évidence une mobilité bactérienne grâce à la présence d'une faible teneur d'agar (gélose semi-liquide).

2. CONSERVATION

Le milieu en tubes prêt à l'emploi se conserve entre 2 et 8°C ; le milieu déshydraté se conserve entre 15 et 20°C, dans un endroit sec, jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

3. COMPOSITION

Hydrolysats tryptique de caséine	10 g
Nitrate de potassium	1 g
Mannitol	7,5 g
Rouge de phénol	40 mg
Agar	3,5 g
Eau distillée	Qsp 1L
pH = 7,6 ± 0,2	

4. PRÉPARATION DU MILIEU DÉSHYDRATÉ

Dissoudre 22 grammes de poudre dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes ou en boîte de Pétri. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

5. PROTOCOLE D'UTILISATION

Ce milieu étant faiblement gélosé, si avant ensemencement, le culot est disloqué, faire fondre le milieu au bain d'eau bouillant et le laisser refroidir et se solidifier en position verticale.

Ensemencer au moyen d'un fil de platine ou d'une pipette Pasteur boutonnée, par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu. Il est important de bien laisser la pipette droite et au centre.

Incuber à 37°C ± 1°C, pendant 18-24h.



6. LECTURE ET INTERPRÉTATION

- Le mannitol est fermenté, accompagné d'une acidification du milieu, visualisable par une coloration jaune (couleur acide du rouge de phénol). On dit que la bactérie est Mannitol + / Exemple en photo ci-contre. (Dans le cas contraire, le tube est rouge).

- La présence d'une nitrate réductase peut être mise en évidence par l'ajout des réactifs de Griess (acide sulfanilique et alpha-naphylamine) qui sont des révélateurs de nitrites. L'adjonction de poudre de zinc est également possible (le zinc permettant la catalyse des nitrates en nitrites)

- Les bactéries mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement, en créant un trouble du milieu. Les bacilles immobiles cultivent uniquement le long de la strie d'ensemencement.

(Photos présentées : Tube de gauche : souche immobile / Tube de droite : souche mobile)



5. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Microorganismes	Culture des microorganismes en 18-24h à 37°C		
	Mobilité	Mannitol	Nitrate Réductase
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	-	+	+
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	+	-	+
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	-	+	+
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	+	+	+

Base de données de différentes *Enterobacteriaceae* habituellement testées sur milieu MMN :

ENTEROBACTERIACEAE	Mobilité	Mannitol
<i>Salmonella SE I</i> in general	+	+
<i>S. Typhi</i>	+	+
<i>S. Paratyphi A</i>	+	+
<i>S. Arizona SE III</i>	+	+
<i>Citrobacter</i>	+	+
<i>Edwardsiella</i>	+	-
<i>Escherichia coli</i>	+	+
<i>Alkalescens</i>	+	+
<i>S. dysenteria</i>	-	-
<i>S. boydii, flexneri</i>	-	+
<i>S. sonnei</i>	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	-
<i>Proteus rettgeri</i>	+	+
<i>Proteus morgani</i>	+	-
<i>Providencia</i>	+	-
<i>Levinea</i>	+	+
<i>Y. enterocolitica</i>	-	+
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	+
<i>K. oxytoca</i>	+	+
<i>E. aerogenes</i>	-	+
<i>K. ozonae</i>	-	+
<i>K. rhinoscleromatis</i>	+	+
<i>E. cloacae</i>	+	+
<i>E. agglomerans</i>	+	+
<i>Hafnia alvei</i>		+
<i>Serratia marcescens</i>	+	
<i>et liquefaciens</i>	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>		+

TRAVAIL DU SECOND JOUR

Le sujet du premier jour est restitué au poste de travail.

Le compte-rendu du premier jour peut être consulté.

MATÉRIEL A DISPOSITION

Agitateur mécanique
Bac à glace
Bec Hoffmann
Billes de verre et pot de récupération des billes (pot à remplir de désinfectant)
Cuves pour spectrophotomètre
Fond noir
Incubateurs à 28 et 37 °C
Lames et lamelles
Lunettes de sécurité
Microscope
Microtubes de 1,5 mL stériles
Parafilm prédécoupé
Pipettes automatiques P1000, P200, P20 et cônes adaptés
Pipettes graduées stériles de 1 mL, 2 mL, 5 mL et 10 mL
Pipettes Pasteur stériles
Réfrigérateur
Spectrophotomètre
Étalons Mc Farland (voir détails en annexe)
Systèmes d'aspiration à roulette et propipette
Tubes à essai stériles de 20 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes à hémolyse stériles de 10 mL à bouchon cellulose et portoirs
Tubes d'eau physiologique stériles

PARTIE A

Démonstration du rôle du gène *fliC* dans la mobilité d'*E. coli*

Les objectifs de la partie A sont :

- de réaliser la transformation de la souche par le plasmide *pfliC*.
- de déterminer le pourcentage de survie après l'ensemble des manipulations.
- de déterminer le pourcentage de transformants.
- de déterminer l'efficacité de transformation (nombre de transformants par ng de plasmides).
- d'évaluer l'effet de la transformation sur la mobilité de la souche.

Analyser les résultats et effectuer les manipulations nécessaires pour répondre à ces objectifs.

COMPTE-RENDU

- Présenter les résultats et conclure par rapport aux objectifs fixés.
- Proposer une manipulation pour vérifier que l'apparition de mutants est due à la transformation et non à l'apparition de mutation(s) spontanée(s).

PARTIE B

Étude de l'effet des conditions de croissance sur la mobilité de *Yersinia*

On étudie l'influence des 2 températures d'incubation (28 et 37 °C pendant au moins 36h) sur la mobilité de 2 souches de *Yersinia*.

- Lectures et interprétations des expériences menées en J1.

COMPTE-RENDU

13. Présenter, analyser et comparer les résultats obtenus.
14. Comparer les différentes méthodes employées.
15. Discuter les résultats et Conclure.

PARTIE C

Analyse de l'impact d'un gain de résistance à l'amoxicilline sur la mobilité de *Helicobacter pylori*

On dispose de deux souches d'*H. pylori*, l'une sauvage et l'autre mutante. *H. pylori* étant un organisme micro-aérophile, l'exposition prolongée à l'O₂ est susceptible d'altérer la souche.

Souches

Aliquot d'une culture d'*H. pylori* sauvage en bouillon BHI agité de 18h en micro-aérophilie (Culture Hp1)

Aliquot d'une culture d'*H. pylori* mutée en bouillon BHI agité de 18h en micro-aérophilie (Culture Hp2)

Réactifs

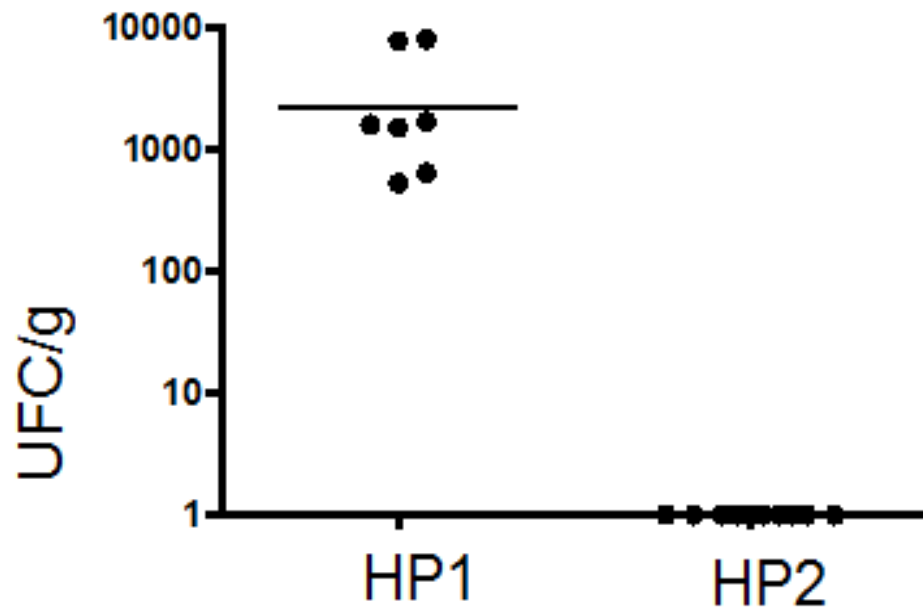
300 µL de milieu urée-Tryptophane

- Évaluer l'effet de la mutation sur la mobilité des souches d'*H. Pylori*.
- Réaliser un test uréase rapide sur les souches sauvage et mutée.
- Lectures et interprétations des expériences menées en J1.

COMPTE-RENDU

16. Schématiser le résultat obtenu pour l'E-test. Commenter la forme particulière de la zone d'inhibition.
17. Présenter les autres résultats de l'étude et conclure sur l'ensemble des résultats.
18. Analyser les résultats présentés en annexe : « colonisation de l'estomac de souris 30 jours post-infection avec *H. pylori*. »

Annexe : Colonisation de l'estomac de souris 30 jours
post-infection avec *H. pylori*



Annexe : Milieu Urée-Tryptophane / Bouillon / Fiche technique
 BIO-RAD 356-3713 et 356-3714 (Extrait)

1. DOMAINE D'APPLICATION - PRINCIPE

Milieu utilisé comme test biochimique lors de l'identification de microorganismes (Enterobacteriaceae, Helicobacter, Cryptococcus...).

Ce milieu permet de rechercher l'uréase, mais également la tryptophanase et la tryptophane désaminase.

2. CONSERVATION

Le milieu en tube prêt à l'emploi se conserve entre 2 et 8°C. La date et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

3. COMPOSITION

L-Tryptophane	0,3 g
K ₂ HPO ₄	0,1 g
KH ₂ PO ₄	0,1 g
NaCl	0,5 g
Urée	2,0 g
Alcool à 95°	1,0 mL
Rouge de phénol à 1%	0,25 mL
Eau distillée	Qsp 100 mL
pH = 6,8 ± 0,2	

4. PROTOCOLE D'UTILISATION

Distribuer stérilement 100 à 200 µL de milieu Urée-Tryptophane dans un tube à hémolyse. Ensemencer richement à partir d'une culture prélevée sur milieu gélosé.

Incuber à 37°C ± 1°C.

5. LECTURE ET INTERPRÉTATION

- Si la bactérie possède l'uréase : le milieu devient alcalin par formation de carbonate d'ammonium et vire au rose-rouge.

En moins de 2 minutes pour *Helicobacter pylori*

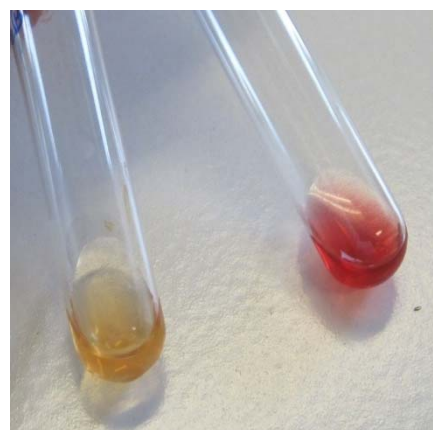
En 10-15 minutes pour *Proteus morganii* ou *Yersinia enterocolitica*

En 2 à 4 heures pour *Cryptococcus neoformans* ou *Proteus vulgaris*

En 12 à 18 heures pour *Klebsiella*, *Citrobacter* ou *Providencia*

- Si la bactérie ne possède pas d'uréase : la couleur du milieu demeure inchangée

Il est possible d'effectuer également la recherche de production d'indole et d'acide Indol-pyruvique (...)



6. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Microorganismes	Culture des microorganismes en 18-24h à 37°C		
	Urée	TDA	Indole
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC13883	+	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+	+	-

RAPPORT DU JURY DE TP DE MICROBIOLOGIE

Le flagelle : un facteur de virulence finement contrôlé chez certains pathogènes bactériens

Le flagelle constitue chez certaines espèces bactériennes un facteur de pathogénicité qui favorise la colonisation de l'hôte. Parfois le gain de résistance à un antibiotique n'est pas neutre et peut se produire au détriment de fonctions métaboliques ou de virulence. Le sujet proposé d'illustrer ces phénomènes biologiques par la réalisation de plusieurs expériences :

- **Partie A** : démonstration du rôle du gène *fliC* dans la mobilité d'*E. coli*
- **Partie B** : étude de l'effet des conditions de croissance sur la mobilité des *Yersinia*
- **Partie C** : analyse de l'impact d'un gain de résistance à l'amoxicilline sur la mobilité de *H. pylori*

Statistiques des résultats

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **08,67 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **02,10 / 20**
- Nombre de notes supérieures ou égales à 10 / 20 : **7 notes sur 23 (30 %)**
- Moyenne des candidats admis : **10,06 / 20**

Répartition

- 6 notes $\leq 6 / 20$
- 10 notes > 6 et $\leq 10 / 20$
- 3 notes > 10 et $\leq 12 / 20$
- 2 notes > 12 et ≤ 14
- 2 notes $> 14 / 20$

Comme amorcé en 2019, il a été décidé de laisser plus d'autonomie dans les choix techniques permettant d'atteindre les objectifs clairement énoncés dans le sujet. Cette approche se justifie par la démarche que sera amené à conduire un enseignant notamment lors de la préparation de travaux pratiques. Il convient de rappeler que l'évaluation de cette épreuve porte sur l'aspect technique, l'aspect rédactionnel du rapport d'activité et la qualité des raisonnements. Étant donné la diversité et le nombre d'éléments évalués, il est important de ne pas se démobiliser face aux difficultés rencontrées.

COMMENTAIRES TECHNIQUES GENERAUX

- Malgré les recommandations données, peu de candidats organisent leur paillasse de façon pertinente : une zone de stockage, une zone d'expérimentation et une zone de rédaction.
- Le sujet ne précisant pas les détails de toutes les manipulations nécessaires, il est indispensable de concevoir certains modes opératoires (étapes des dénombrements, températures d'incubation, sélection des transformants) pour atteindre les objectifs clairement énoncés dans le sujet.
- Dès le début de l'épreuve, il est capital de bien repérer les temps d'incubations et de centrifugations des différentes parties pour mettre en place une organisation efficace.
- En cas de problème de gestion du temps, il peut être pertinent d'adapter certains points des protocoles pour pouvoir finir les manipulations et obtenir des résultats à exploiter (ex.: diminution du temps de régénération en partie A).
- Comme les années précédentes, l'épreuve fait appel à des techniques classiques de microbiologie, pourtant certains candidats ne maîtrisent toujours pas les gestes de base suivants :
 - utilisation du microscope : la réalisation de l'état-frais, technique classique au laboratoire de microbiologie, pose des problèmes à trop de candidats ;
 - dénombrements sur milieu gélosé (mise en œuvre et calculs) ;
 - lecture au spectrophotomètre (ex.: présence obligatoire de parafilm sur les cuves contenant des microorganismes ; respect de l'étendue de mesure) ;
 - utilisation des étalons McFarland (la notice était fournie).
- Les candidats disposaient de fiches techniques (mise en évidence de la synthèse d'uréase, ensemencement et lecture du milieu MMN). Beaucoup n'ont pas utilisé correctement ces ressources (ex.: lecture de l'uréase caractéristique de *H. pylori* en moins de 2 minutes).
- Les résultats présentés dans les rapports d'activité doivent être en adéquation avec ceux obtenus par les candidats et observés pendant la séance par les membres du jury.

COMMENTAIRES REDACTIONNELS GENERAUX

- La présentation générale des copies doit être soignée et mettre en valeur les points clefs. La propreté, l'orthographe et la lisibilité de la copie ont été prises en compte dans l'évaluation.
- Cette année encore, il a été accordé une certaine liberté dans l'organisation du rapport d'activité. Cependant, une présentation rigoureuse était attendue, devant comprendre :
 - la présentation des résultats bruts qui doit être exhaustive et claire : un tableau de résultats est souvent indispensable. Il a été relevé des confusions entre les parties, les espèces bactériennes et leurs appellations... ;
 - un plan détaillé et bien mis en valeur ;
 - des modes opératoires détaillés et justifiés ;
 - tous les calculs avec leurs équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques ;
 - des conclusions pour chaque partie après les lectures et les interprétations ;
 - une conclusion globale pertinente en fin de rapport d'activité qui a été valorisée.

PARTIE A

Démonstration du rôle du gène *fliC* dans la mobilité d'*E. coli*

La transformation d'une souche de *E. coli* par un plasmide portant le gène *fliC* doit rétablir la mobilité de la souche.

Les objectifs de la partie A étaient énoncés :

- a) réaliser la transformation de la souche par le plasmide *pfliC* ;
- b) déterminer le pourcentage de survie après l'ensemble des manipulations ;
- c) déterminer le pourcentage de transformants ;
- d) déterminer l'efficacité de transformation ;
- e) évaluer l'effet de la transformation sur la mobilité de la souche.

L'objectif de cette partie était de mesurer l'apport de l'appareil de sécrétion type VI lors d'une compétition entre différentes souches d'*E. coli*.

ASPECTS TECHNIQUES

- Il s'agit de la partie la plus longue et elle devait être mise en œuvre en premier. Les temps d'attente nombreux doivent être mis à profit pour réaliser l'ensemble des autres manipulations. Il est important de réfléchir efficacement pour prévoir les manipulations permettant de répondre aux objectifs :
 - o une mesure de DO et/ou un dénombrement au temps zéro s'imposent (objectif b) ;
 - o la sélection et les dénombrements après transformation sont indispensables (objectifs b, c et d). De nombreux milieux de culture (géloses LA avec et sans ampicilline) étaient disponibles. Ils ont été trop peu utilisés par les candidats.
- Il était précisé que la préparation des cellules compétentes doit se dérouler au froid (matériel et solutions). Deux bacs à glace et un espace dans un réfrigérateur étaient disponibles pour chaque candidat. Rares sont les candidats qui les ont utilisés.

RÉSULTATS ATTENDUS ET RAPPORT D'ACTIVITÉS

- La concentration bactérienne initiale était de environ 5.10^8 bactéries/mL. Pour calculer le taux de survie obtenu après le choc thermique, il faut prendre en compte la concentration cellulaire initiale (lecture de DO ou dénombrement sur gélose LA), la concentration cellulaire totale après transformation (dénombrement sur géloses LA) et les étapes de concentration globale lors des centrifugations puis de la dilution pour la régénération. On trouve un pourcentage de survie proche de 20 %.
- Il faut également évaluer le pourcentage de transformants (dénombrement sur gélose LA ampicilline). Le résultat obtenu, proche de 0,001 %, doit être comparé au pourcentage maximal donné en séance.
- On peut alors déterminer l'efficacité de transformation, environ 80 transformants / ng de plasmide (l'unité était fournie dans le sujet).
- En jour 2, on doit déterminer l'effet de la transformation sur la mobilité de la bactérie par réalisation d'un état frais (objectif e). La vérification de l'immobilité pouvait être évaluée en jour 1 sur la souche avant transformation. Le rôle du gène *fliC* peut ainsi être démontré par l'observation de la mobilité des transformants à partir de colonies sur LA ampicilline.

PARTIE B

Étude de l'effet des conditions de croissance sur la mobilité de *Yersinia*

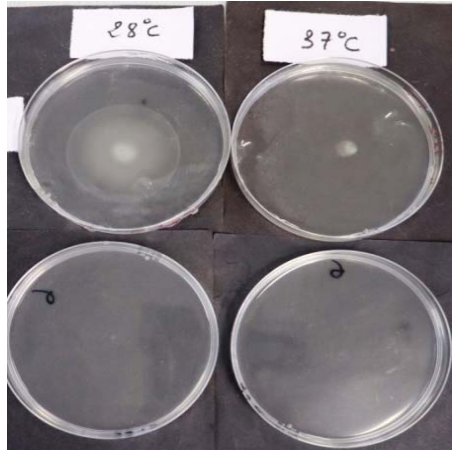
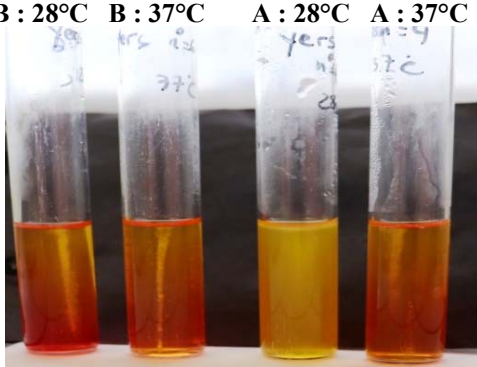
Cette partie étudie l'effet de la température sur la mobilité de *Yersinia*. Il faut garder à l'esprit cet objectif pour organiser les manipulations effectuées et notamment proposer une incubation différentielle des 2 souches (A et B) à 28 et 37 °C. Ces conditions sont indispensables pour déterminer l'impact de la température d'incubation sur la mobilité des souches. À aucun moment, il n'est indiqué que l'une de ces souches est un mutant de l'autre, contrairement à ce que certains candidats ont indiqué dans leur copie.

RÉSULTATS ATTENDUS ET RAPPORT D'ACTIVITÉS

La mobilité de la souche A est apparente après une incubation à 28°C. Elle est contrôlable dès le jour 1.

La mobilité de la souche A à 28°C doit s'observer à partir d'une gélose molle, en milieu MMN et à l'état-frais. En cas d'incohérence entre les résultats, il faut proposer des explications critiques.

Il est indispensable de réaliser un contrôle de pureté des souches A et B. En effet, une contamination en MMN, en gélose molle ou à l'état-frais peut modifier les résultats sans qu'on puisse différencier le contaminant de la souche testée.

		28°C	37°C
Souche A	MMN et G molle et EF	++	-
Souche B	MMN et G molle et EF	-	-
	28°C	37°C	
Souche A	+++ Ø 49 mm	+/- Ø 9 mm	
Souche B	-	-	
	28°C	37°C	
Souche A	+++	-	
Souche B	-	-	

PARTIE C

Analyse de l'impact d'un gain de résistance à l'amoxicilline sur la mobilité de *Helicobacter pylori*

Cette partie propose la réalisation d'un antibiogramme par la méthode E-test pour 2 souches d'*H. pylori*, une souche sauvage et une souche mutée. En parallèle la mobilité de ces souches doit être évaluée, dans l'optique d'observer le coût métabolique d'un gain de résistance sur la mobilité (explicité dans le titre). Cette partie met en évidence des qualités de manipulation du candidat : organisation, stérilité, travail rapide puisqu'il ne fallait pas laisser les bactéries trop longtemps au contact du dioxygène.

RÉSULTATS ATTENDUS ET RAPPORT D'ACTIVITÉS

- Tapis peu dense, régulier et non contaminé.
- La CMI de la souche sauvage était proche de 0,016 µg/mL. Alors que la CMI de la souche mutée était proche de 0,047 µg/mL.
- Ensemencement de la flasque de BHI (correctement complété en SVF et mélange antibiotiques pour limiter les contaminations) à DO finale de 0,05 à partir de la suspension Mac Farland 3 (DO = 0,582 précisée dans le document joint, soit une dilution approximative de 1/10e).
- La mobilité de la souche sauvage est conservée, alors que celle de la souche mutée est diminuée ou nulle.



Hp1



Hp2

TRAVAUX PRATIQUES DE CHIMIE

Durée de l'épreuve : 4 heures

Coefficient : 2

SUJET

Le vin : analyse et étude de ses composés.

Le sujet qui vous est ici proposé porte sur l'analyse et l'étude de certains composés du vin.

Le vin est la boisson résultant de la fermentation alcoolique complète ou partielle du raisin frais, foulé ou non, ou du moût de raisin¹. Le vin est essentiellement une solution d'alcool dans l'eau, mais contient également une grande variété de substances chimiques : sucres, acides, polyphénols, arômes...

Dans une première partie, une analyse des différents acides organiques d'un vin sera réalisée par chromatographie sur papier. Dans une seconde partie, l'acidité totale de ce vin sera déterminée par titrage. Enfin, certains arômes et phytoalexines seront étudiés.

Le sujet est constitué d'une partie expérimentale suivie de deux parties théoriques.

I. Acidité du vin

1. Analyse des acides organiques du vin

Les principaux acides organiques présents dans le vin sont les acides tartrique et malique ainsi qu'en plus petites quantités les acides citrique, acétique, lactique et succinique. Les trois premiers acides proviennent directement du raisin, les suivants sont issus des différents processus de fermentations. Les proportions relatives entre ces différents acides organiques ainsi que l'acidité totale d'un vin ont un rôle crucial sur le caractère et le goût du vin². Dans les grappes de raisin, le ratio acide tartrique/acide malique varie en fonction des régions de culture et de la maturité du raisin, le taux d'acide malique étant plus bas dans les régions plus chaudes lors de la récolte³. Un excès d'acide malique donne au vin un caractère dur en bouche⁴. Aussi, après la fermentation alcoolique qui permet la transformation du sucre en alcool, la fermentation malolactique, où l'acide malique est transformé en acide lactique donnant au vin un caractère plus doux, peut être recherchée.

¹ Organisation internationale de la vigne et du vin, *Code international des pratiques oenologiques*, 2015

² Zeravik et col. *Food Chem.* 2016, 194, 432-440

³ VolsChenk et col. *South African J. of Enology and Viticulture*, 27(2), 123-136

⁴ Jézequel et Monin-Soyer, *BUP*, 2007, 101, 1011-1024

Différentes techniques permettent aux viticulteurs de contrôler la teneur des différents acides organiques. Les plus simples mettent en jeu des kits commerciaux qui utilisent la chromatographie sur papier. C'est cette technique que nous vous proposons d'utiliser pour analyser le vin blanc à votre disposition.

Expérience 1 : Préparation des solutions de référence pour la chromatographie

Vous disposez d'acide malique pur, d'acide lactique à 90% et de solutions aqueuses d'acide tartrique à 50 g.L⁻¹ et d'acide citrique à 20 g.L⁻¹.

Préparer une solution d'acide lactique à 15 g.L⁻¹ et une solution de chacun des autres acides à 10 g.L⁻¹ en minimisant les quantités d'acide utilisées.

1. Rédiger le protocole de préparation de chacune des solutions.
2. Estimer l'incertitude sur la concentration de la solution d'acide malique préparée.

Expérience 2 : Identification des principaux acides organiques d'un vin par chromatographie sur papier

Préparation de l'éluant et de la cuve

L'éluant pour la chromatographie va être préparé sous la hotte en mélangeant la solution n°1 (bleu de bromophénol dans un mélange acide formique/acide acétique/eau : 1/3/4 en volume) et la solution n°2 (butan-1-ol/isobutanol/2-méthylbutan-2-ol : 1/1/1 en volume) dans un bocal en verre. Utiliser l'intégralité des solutions flaconnées soit 5 mL pour la solution n°1 et 10 mL pour la solution n°2. Fermer la cuve. Agiter de façon à ce que le mélange soit limpide. Laisser l'atmosphère se saturer en vapeurs de solvant pendant environ 15 min.

Préparation de l'échantillon de vin à analyser

Verser 10 mL de vin dans un bécher. Additionner lentement l'intégralité de la résine échangeuse de cations contenue dans un bécher (6 g) sans rincer le bécher. Laisser sous agitation 5 minutes. Filtrer et remettre la résine dans le bécher la contenant initialement.

Dépôts des échantillons

Vous disposez de feuilles de papier Whatman n°1 de dimensions 8 cm par 16 cm. Il est conseillé de ne pas mettre ces feuilles directement au contact de la paillasse, mais sur une feuille de papier filtre pour les protéger de toute contamination.

Les dépôts se feront à 4 cm du bord latéral. Leur diamètre sera de l'ordre de 5 mm. Trois dépôts successifs pourront être réalisés pour le vin.

Agrafer le papier bord à bord de manière à réaliser un rouleau sans superposition de papier (voir modèle sur la paillasse).

Élution

Procéder à l'élution (plusieurs dizaines de minutes sont nécessaires).

Séchage

Laisser sécher le chromatogramme sous la hotte aspirante. Lors du séchage le papier se colore en bleu avec des taches jaunes, cela peut prendre plus d'une heure. Une fois le chromatogramme interprété, il sera placé dans une cuve chromatographique vide portant le numéro de poste sous la hotte. La cuve contenant l'éluant sera également laissée fermée sous la hotte.

3. Rappeler de manière concise le principe d'une chromatographie.
4. Pourquoi peut-on éventuellement observer un trouble lors du mélange des solutions n°1 et n°2 utilisées pour la préparation de l'éluant ?

5. Pourquoi le mélange des deux solutions n'a-t-il pas été réalisé à l'avance ?
6. Quel ordre d'élution attendez-vous pour les différents acides analysés ? Votre réponse sera précisément justifiée.
7. Expliquer pourquoi les différents acides apparaissent sous forme de taches jaunes sur un fond bleu dans le chromatogramme.
8. Sur le document réponse 1 (Annexe 7), schématiser le chromatogramme obtenu, l'interpréter et proposer des optimisations pour la réalisation de cette chromatographie.

2. Détermination de l'acidité totale

Le titrage de l'ensemble des acides organiques présents dans un vin correspond à la détermination de l'acidité totale du vin. L'acidité totale du vin est donc la quantité totale d'ions hydrogène H^+ qui peuvent être libérés par les groupes carboxyles de tous les acides organiques présents dans le vin. L'Union Européenne recommande d'exprimer cette quantité d'ions hydrogène libérables en équivalent en masse d'acide tartrique par litre de vin.

Un vin possède en général une acidité totale comprise entre 4,5 et 7,5 $g.L^{-1}$ d'acide tartrique.

La détermination de l'acidité totale est usuellement réalisée par titrage du vin par une solution d'hydroxyde de sodium de concentration 0,1 $mol.L^{-1}$.

9. Justifier que les acides organiques présents dans le vin sont titrés simultanément.
10. Mettre au point un protocole de titrage de l'acidité totale du vin blanc à analyser par détection visuelle de l'équivalence. Détailler le raisonnement et rédiger le protocole sur le document réponse 2 (Annexe 8) et le remettre à un membre du jury qui vous remettra en échange le protocole à réaliser.

Pour réaliser ce titrage, l'organisation internationale de la vigne et du vin préconise de commencer par préparer un échantillon de vin à analyser en plaçant le vin sous pression réduite réalisée à l'aide d'une trompe à eau et sous agitation pendant 1 à 2 minutes.

11. Justifier l'intérêt de cette étape préalable au titrage.

Expérience 3 : Détermination de l'acidité totale du vin à analyser

Réaliser la détermination de l'acidité totale du vin à analyser selon le protocole fourni par un membre du jury (étape préalable et titrage par la soude). Le résultat retenu sera la moyenne de 2 essais concordants à 0,10 mL près pour le volume versé à l'équivalence.

12. Noter l'ensemble des valeurs de volume versé à l'équivalence obtenues pour tous les essais réalisés, ainsi que la moyenne des deux résultats retenus.
13. Donner la valeur de l'acidité totale du vin à analyser en tenant compte d'une incertitude élargie relative de 1,5%. Comparer aux valeurs usuelles pour un vin.

II. Les terpènes : des composés aromatiques du vin

Plusieurs centaines de molécules participant à l'arôme du vin ont été identifiées parmi lesquelles on retrouve des alcools, esters et composés carbonyles.⁵ Ces composés sont souvent présents à l'état de trace. Toutefois, pour certains cépages très aromatiques (gewurztraminer et muscat notamment), les alcools terpéniques, tels le nérol et le géraniol, présentent une concentration de plusieurs mg par kg de fruit et sont alors majoritairement responsables de l'arôme du vin.

⁵ Schreier et col. *J. Agric. Food Chem.* **1976**, 24, 2331-336

Le mécanisme d'obtention de **1** passe par un intermédiaire cationique **5** cyclique, issu de la protonation (p-TsOH est un acide organique nommé acide paratoluènesulfonique) puis la perte d'une molécule d'eau.

20. Proposer une structure pour **5** ainsi que son mécanisme d'obtention.
21. Que peut-on dire de la stabilité du cation **5** ?
22. Ce cation **5** évolue ensuite pour donner **1**, **2** ou **3**. Pour chacune des étapes **5** → **1** et **5** → **2**, proposer un mécanisme.
23. Concernant la sélectivité de la réaction 2, proposer une explication au fait que le produit **3** est obtenu majoritairement.

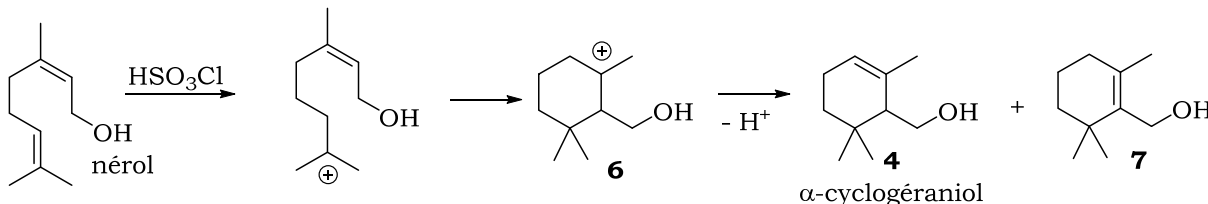
La réaction 1 menée dans le nitrométhane MeNO₂ conduit exclusivement au produit **1** alors que la réaction 2, menée dans le dichlorométhane conduit aux produits **1**, **2** et **3**.

24. Donner la structure de Lewis du nitrométhane.

Les auteurs de la publication⁸ justifient la sélectivité de la réaction 1 par la plus grande miscibilité de l'eau avec le nitrométhane qu'avec le dichlorométhane.

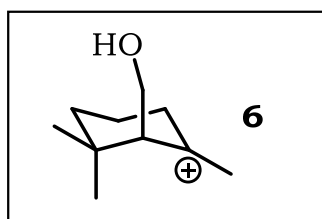
25. Pourquoi l'eau serait-elle plus miscible avec le nitrométhane qu'avec le dichlorométhane ?
26. En quoi cela explique-t-il une meilleure sélectivité ?

La réaction 3 fait appel à un superacide HSO₃Cl qui réagira préférentiellement avec une des doubles liaisons du nérol :



27. A priori, quel isomère de **6** peut être obtenu ? Écrire sa structure et expliquer pourquoi la réaction passe très majoritairement par **6**.
28. Lequel des composés **4** et **7** est le plus stable ?
29. Le composé **7** n'étant pas observé dans le brut réactionnel obtenu, peut-on dire que la réaction est sous contrôle cinétique ou thermodynamique ?

L'obtention préférentielle de **4** s'explique par le fait que la formation de la double liaison est consécutive à une déprotonation intramoléculaire de **6** par le groupe hydroxyle.



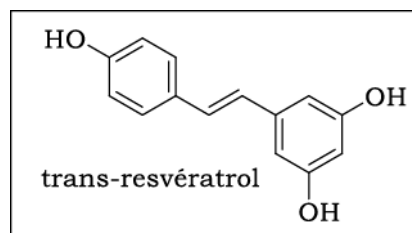
30. En partant de la structure du carbocation **6** proposée ci-dessus, écrire le mécanisme de la formation de **4** et expliquer la formation préférentielle de ce dernier sur **7**.

III. Un fongicide contenu dans le vin : le trans-resvératrol

La pellicule du raisin encore vert possède la capacité de synthétiser des phytoalexines en réponse à un stress biotique. Par exemple, lors de l'infection par un champignon, des composés aux propriétés fongicides sont produits par la vigne dont le trans-resvératrol.

Ce dernier composé fait l'objet de nombreuses recherches, car il aurait des effets anti-inflammatoires, antioxydants et une potentielle activité anti-cancer.

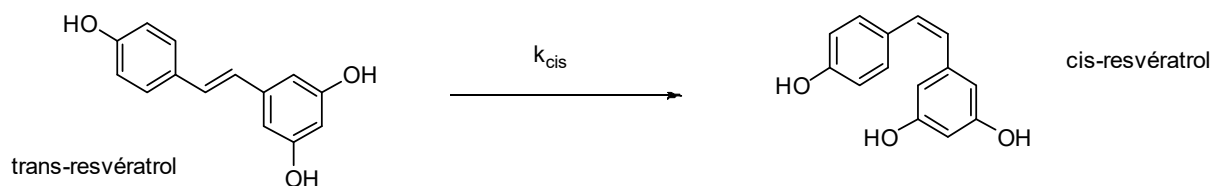
Le trans-resvératrol peut s'isomériser en cis-resvératrol (dont l'activité oxydante est 7 fois plus faible) sous l'effet de rayon ultraviolet.



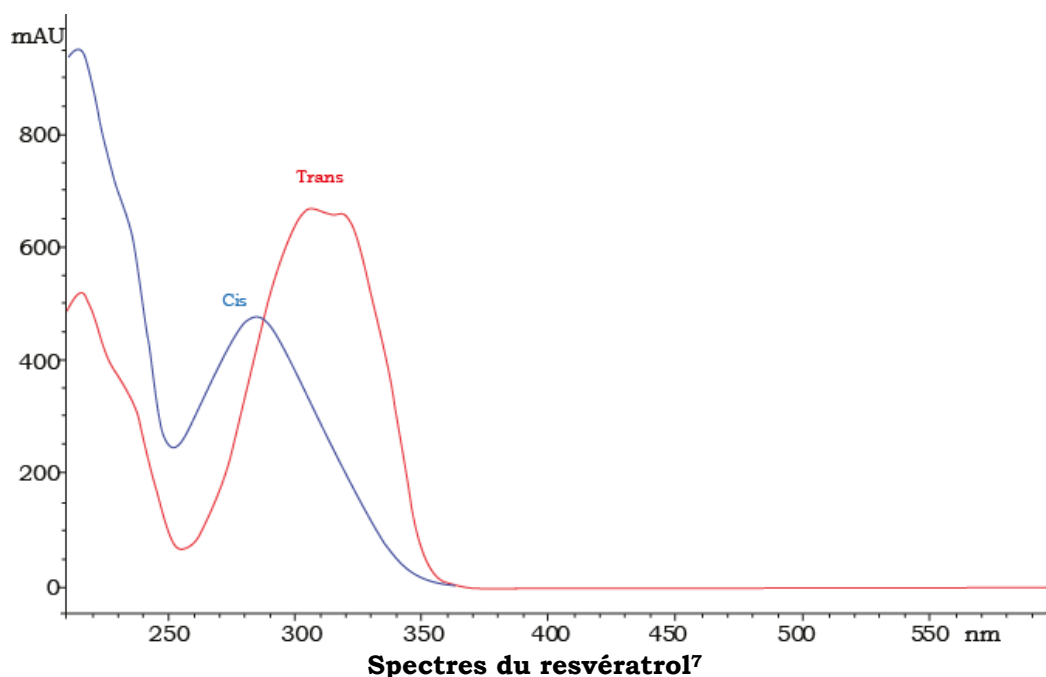
1. Étude cinétique de l'isomérisation du trans-resvératrol

L'objet de cette partie est d'étudier la cinétique d'isomérisation d'un échantillon de trans-resvératrol soumis à un rayonnement de longueur d'onde $\lambda = 350$ nm.

On peut modéliser la transformation chimique par le mécanisme simplifié suivant (ce qui revient, notamment, à négliger la réaction dans le sens indirect) :



31. Utiliser les spectres d'absorption des isomères du resvératrol pour justifier que la réaction cis-resvératrol \rightarrow trans-resvératrol soit négligeable.



⁷ Sanna et col. *Int J Nanomedicine*. **2012** ; 5501–5516.

Lorsque la réaction se déroule, un échantillon du milieu est prélevé à un instant précis, puis analysé par spectroscopie UV-visible. À partir des coefficients d'absorption molaire donnés dans le tableau suivant, il est possible d'en déduire la composition du système.

coefficient d'absorption molaire (λ)	trans-resvératrol ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)	cis-resvératrol ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)
$\epsilon_{289\text{ nm}}$	$2,17.10^4$	$1,37.10^4$
$\epsilon_{306\text{ nm}}$	$2,92.10^4$	$8,98.10^3$

Tableau : coefficient d'absorption molaire des stéréoisomères du resvératrol en solution dans le méthanol

Une solution de trans-resvératrol de concentration $40\ \mu mol.L^{-1}$ est irradiée (à $\lambda = 350\text{ nm}$) pendant 8 min. Un échantillon est prélevé et son spectre d'absorption est mesuré et présenté à l'annexe 3.

32. Écrire l'expression littérale de la loi de Beer Lambert donnant l'absorbance de la solution pour un mélange de cis et trans-resvératrol.
33. Déterminer la composition du système (en % de trans-resvératrol) au bout de 8 min d'irradiation.

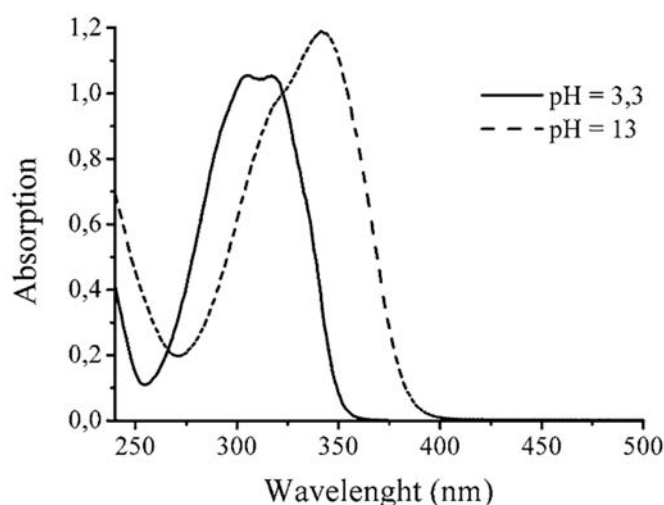
La composition de la solution irradiée est donnée ci-dessous en fonction du temps :

$t\text{ (min)}$	0	3	8	18	33
% trans-resvératrol	100	85,4	64,8	41,6	24,5

34. Vérifier que la réaction est d'ordre 1.
35. Déduire des mesures la constante de vitesse k_{cis} .
36. Calculer le temps de demi-réaction à partir de la valeur de k_{cis} .
37. Vérifier que la valeur du temps de demi-réaction déterminé à la question précédente est en cohérence avec les données expérimentales.

2. Étude thermodynamique du trans-resvératrol

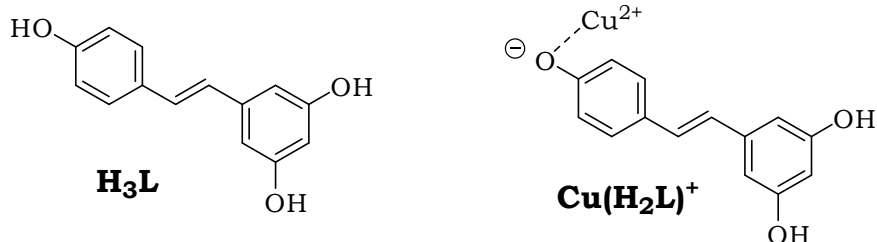
Le spectre d'absorption d'une solution aqueuse de trans-resvératrol ($4,9.10^{-5}\text{ mol.L}^{-1}$) et de NaCl ($0,5\text{ mol.L}^{-1}$) a été mesuré à différents pH⁸ :



38. Comment expliquer que les spectres soient différents si l'on modifie le pH ?

⁸ Manfredi et col. *J. Solution Chem.* **2017**, 46, 2214–2230

Pour la dernière question, on pose les notations suivantes :



On dispose d'une solution aqueuse du complexe $[Cu(H_2L)]^+$ à une concentration initiale de $C_0 = 1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

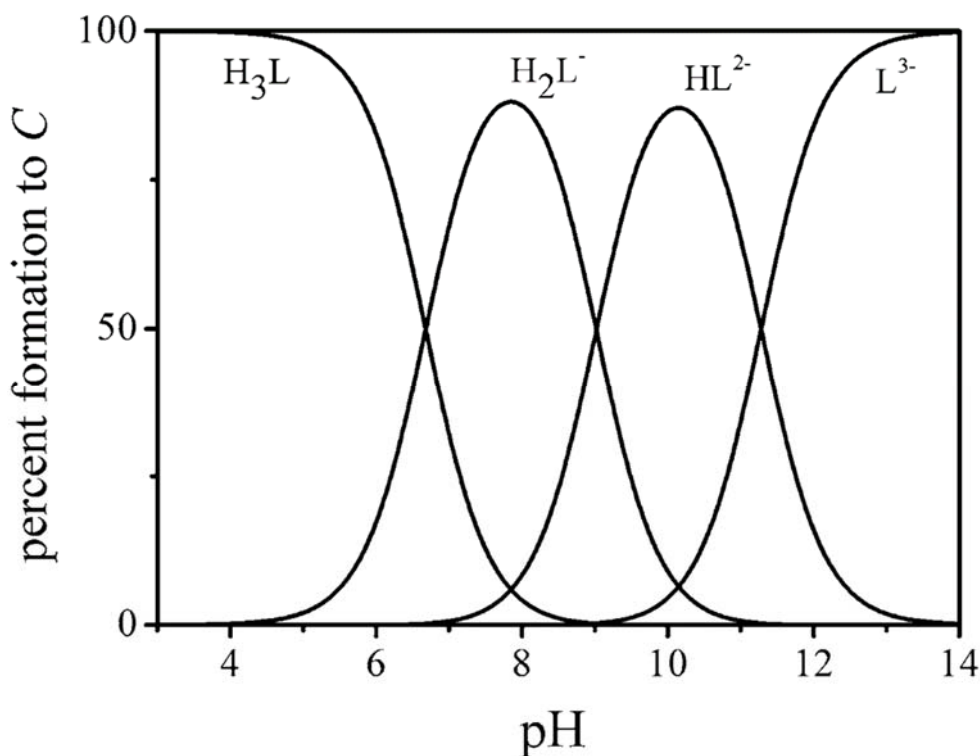
À l'équilibre, la forme acido-basique prédominante du trans-resvératrol est l'ampholyte H_2L^- .

39. Donner la composition du système à l'équilibre en utilisant les documents ci-dessous.


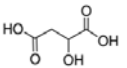
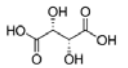
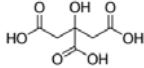
Document 1 : Constantes de réaction

Reaction	$-\log_{10} K$
$Cu^{2+} + H_3L + H_2O \rightleftharpoons Cu(H_2L)^+ + H_3O^+$	$-0,78 \pm 0,02$
$Mn^{2+} + H_3L + H_2O \rightleftharpoons Mn(H_2L)^+ + H_3O^+$	$-1,48 \pm 0,03$

Document 2 : Diagramme de distribution des espèces acido-basiques du trans-resvératrol (noté H_3L)



ANNEXE 1 : Données sur les substances et mélanges utilisés

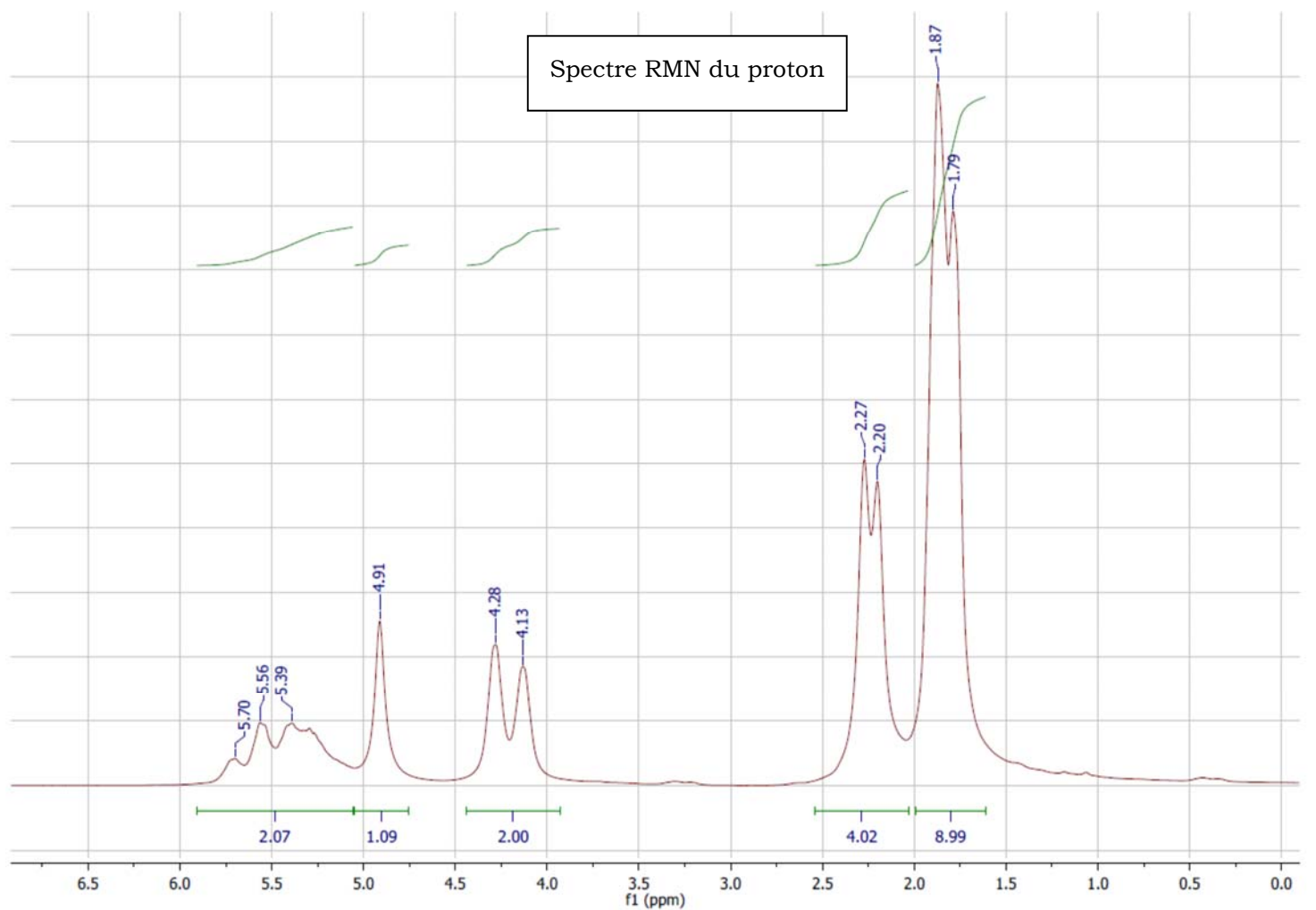
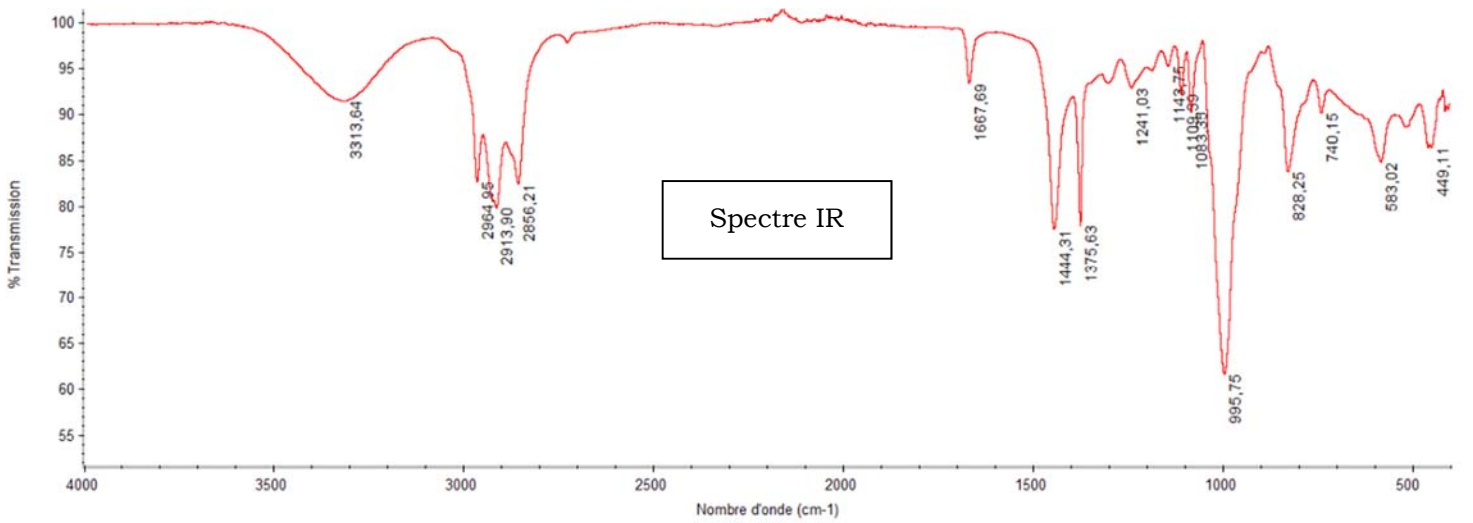
Acide organique	Lactique	Malique	Tartrique	Citrique
Formule brute	C ₃ H ₆ O ₃	C ₄ H ₆ O ₅	C ₄ H ₆ O ₆	C ₆ H ₈ O ₇
Formule topologique				
pK _A à 25°C	3,9	3,5 et 5,1	3,0 et 4,3	3,1 ; 4,8 et 6,4
M(g.mol ⁻¹)	90,1	134,1	150,1	192,1
Densité à 25°C	1,21			
Classes et catégories de danger	Irritation cutanée (Catégorie 2) Lésions oculaires graves (Catégorie 1)	Irritation oculaire (Catégorie 2)	Lésions oculaires graves (Catégorie 1)	Irritation oculaire (Catégorie 2)

Indicateur coloré acido-basique	Teinte pour pH < pH ₁	Zone de virage pH ₁ / pH ₂	Teinte pour pH > pH ₂	Classes et catégories de danger pour la substance pure ⁹
Bleu de bromophénol (BBP)	Jaune	2,8 / 4,6	Bleu	Sans danger
Hélianthine	Rouge	3,1 / 4,4	Jaune	Toxicité aiguë, Orale (Catégorie 3)
Vert de bromocrésol	Jaune	3,8 / 5,4	Bleu	Sans danger
Rouge de méthyle	Rouge	4,2 / 6,3	Jaune	Sans danger
Bleu de bromothymol (BBT)	Jaune	6,0 / 7,6	Bleu	Sans danger
Rouge de crésol	Jaune	7,2 / 8,8	Rouge	Sans danger
Phénolphtaléine	Incolore	8,2 / 10,0	Rose-violet	Mutagénicité sur les cellules germinales (Catégorie 2) Cancérogénicité (Catégorie 1B) Toxicité pour la reproduction (Catégorie 2)
Jaune d'alizarine	Jaune	10,0 / 12,0	Lilas	Toxicité aiguë, Orale (Catégorie 4) Irritation oculaire (Catégorie 2)

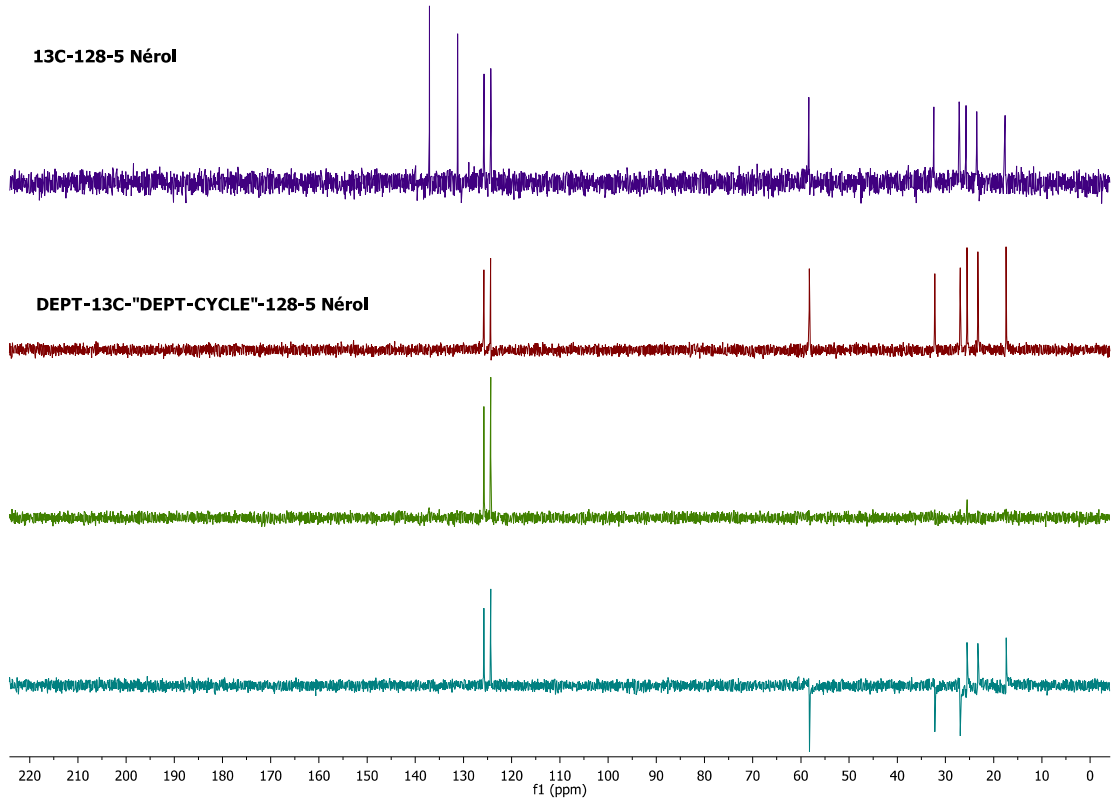
⁹ Les solutions préparées dans l'éthanol sont inflammables et présentent un danger d'irritation oculaire.

Solutions et résine	Composition	Classes et catégories de danger
Solution 1	acide formique/acide acétique/eau 1/3/4 en volume	Corrosion cutanée (Catégorie 1B) Irritation oculaire (Catégorie 2)
Solution 2	butan-1-ol/isobutanol/2-méthylbutan-2-ol 1/1/1 en volume	Liquide inflammable (Catégorie 2) Toxicité aiguë, Inhalation (Catégorie 4) Toxicité aiguë, Orale (Catégorie 4) Irritation cutanée (Catégorie 2) Lésions oculaires graves (Catégorie 1) Toxicité spécifique pour certains organes cibles - exposition unique (Catégorie 3), Système respiratoire Toxicité spécifique pour certains organes cibles - exposition unique (Catégorie 3), Système nerveux
Solution titrante	Solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol.L ⁻¹	Sans danger
Résine	Résine échangeuse de cations fortement acide Amberlite IR 120	Sans danger

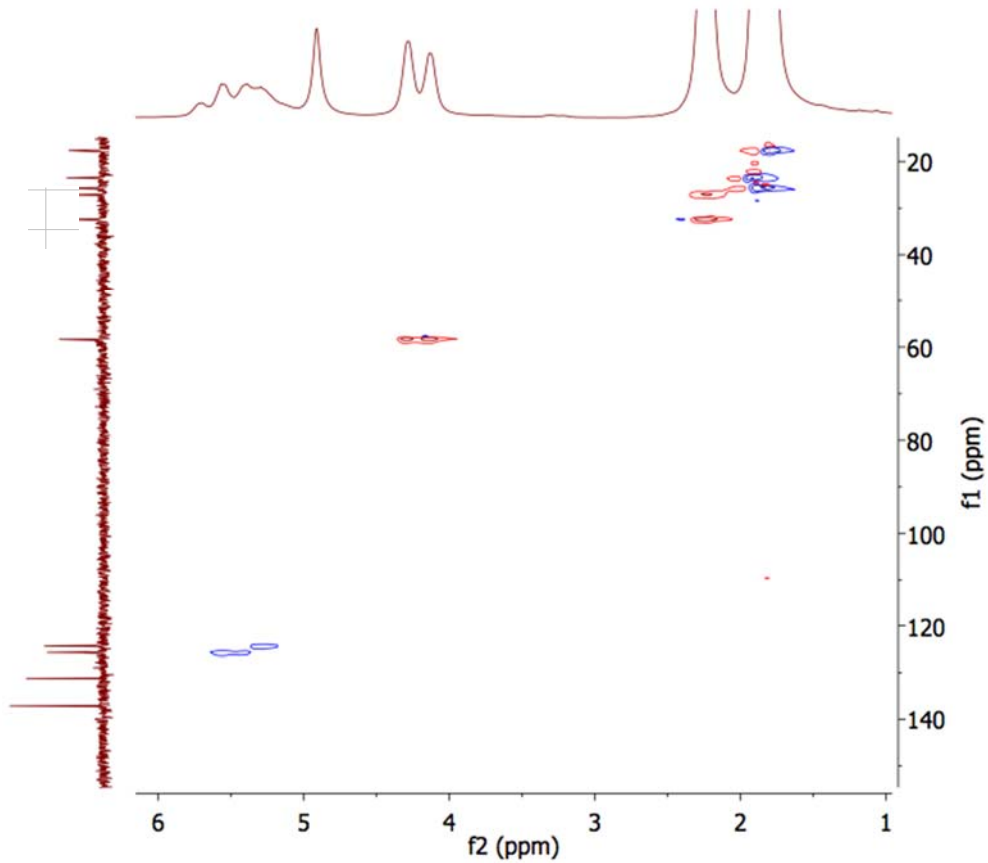
ANNEXE 2 : Spectres IR, RMN 1H, RMN 13C avec DEPT et RMN 2D (corrélation proton/carbone) du Nérol



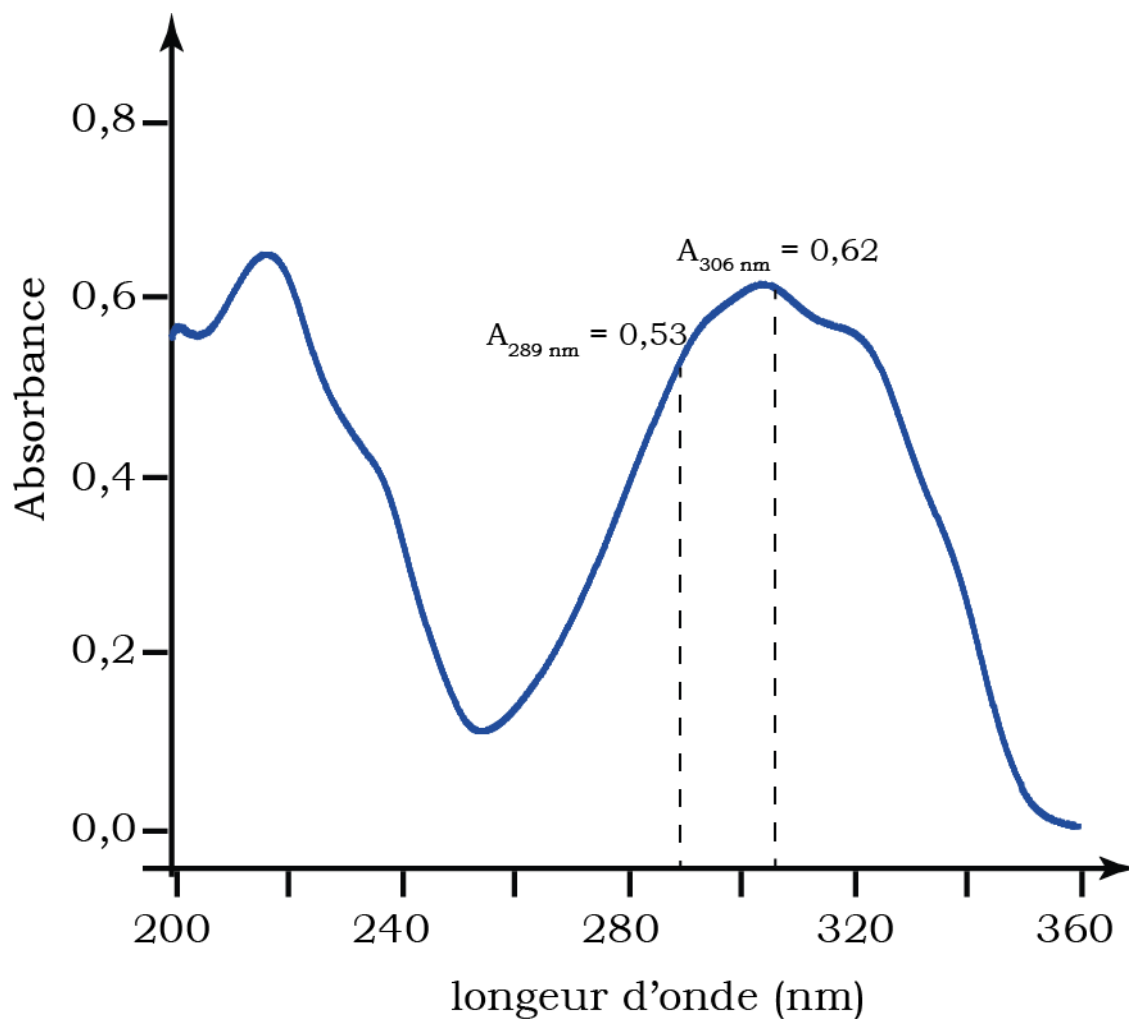
Spectre RMN du carbone 13
avec découplage du proton et séquences DEPT



Spectre RMN-2D de corrélation ^1H - ^{13}C



ANNEXE 3 : Spectre d'absorption UV d'une solution de trans-resvératrol

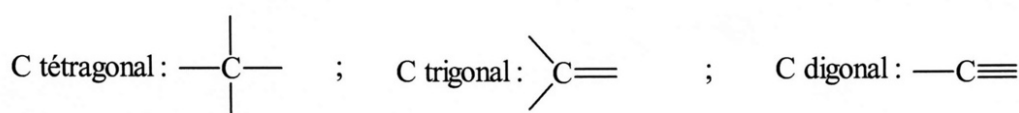


Spectre d'une solution de trans-resvératrol dans du méthanol de concentration initiale $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$ qui a été préalablement irradiée (à 350 nm) pendant 8 min

ANNEXE 4 : Données en spectroscopie infrarouge

Liaison	Nature	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Intensité
O-H alcool libre	Valence	3590-3650	F ; fine
O-H alcool lié	Valence	3200-3600	F ; large
N-H amine primaire : 2 bandes secondaire: 1 bande	Valence	3300-3500	m
N-H amide	Valence	3100-3500	F
C _{di} -H	Valence	≈ 3300	m ou f
C _{tri} -H	Valence	3030-3100	m
C _{tri} -H aromatique	Valence	3000-3100	m
C _{tet} -H	Valence	2850-2970	F
C _{tri} -H aldéhyde	Valence	2700-2900	m
O-H acide carboxylique	Valence	2500-3200	F à m ; large
C≡C	Valence	2100-2260	f
C≡N nitriles	Valence	2200-2260	F ou m
C=O anhydride	Valence	1800-1850	F ; 2 bandes
		1740-1790	
C=O chlorure d'acide	Valence	1790-1815	F
C=O ester	Valence	1735-1750	F
C=O aldéhyde et cétone	Valence	1700-1740	F
		abaissement de 20 à 30 cm ⁻¹ si conjugaison	
C=O acide carboxylique	Valence	1700-1725	F
C=O amide	Valence	1650-1700	F
C=C	Valence	1620-1690	m
C=C aromatique	Valence	1450-1600	Variable ; 3 ou 4 bandes
N=O (de -NO ₂) conjugué	Valence	1500-1550	F ; 2 bandes
		1290-1360	
N=N	Valence	1400-1500	f ; parfois invisible
C=N	Valence	1640-1690	F ou m
N-H amine ou amide	Déformation	1560-1640	F ou m
C _{tet} -H	Déformation	1430-1470	F
C _{tet} -H (CH ₃)	Déformation	1370-1390	F ; 2 bandes
O-H	Déformation	1260-1410	F
C _{tet} -O-C _{tet} (étheroxydes)	Valence	1070-1150	F
C _{tet} -OH (alcools)	Valence	1010-1200	
C _{tet} -O-C _{tri} (esters)	Valence	1050-1300	F ; 1 ou 2 bandes
C _{tri} -O-C _{tri} (anhydrides)			
C-N	Valence	1020-1220	m
C-C	Valence	1000-1250	F
C _{tri} -H de -HC=CH- (E)	Déformation	960-970	F
(Z)	Déformation	670-730	m
C _{tri} -H aromatique monosubstitué	Déformation	730-770 et 680-720	F ; 2 bandes
C _{tri} -H aromatique o-disubstitué	Déformation	735-770	F
m-disubstitué	Déformation	750-800 et 680-720	F et m ; 2 bandes
p-disubstitué	Déformation	800-860	F
C _{tet} -Cl	Valence	600-800	F
C _{tet} -Br	Valence	500-750	F
C _{tet} -I	Valence	≈ 500	F

F : fort ; m : moyen ;
f : faible



ANNEXE 5 : Données en RMN du proton et du carbone

Domaines de déplacements chimiques de divers protons

Type de proton	δ en ppm	Type de proton	δ en ppm
$>C(\text{cycle})=CH_2$	4,6	-CO-OH	8,5-13
$>C=CH_2$	5,3	$>C=C-OH$	11-17
-C=CH-	5,1	Ph-H	7,2
-C=CH- (cyclique)	5,3	R-OH	0,5-5,5
R-C \equiv C-H	3,1	N-OH	7,0-10,0
Ar-H (externe au cycle)	7,0-9,0	Ar-OH	4,0-7,5
$>C=CH-CO-$	5,9	Ar-OH (avec liaison H intramoléculaire)	5,5-12,5
-CH=C-CO-	6,8	R-NH-	
R-CHO	9,9	Ar-NH	0,5-3,0
Ar-CHO	9,9	R-CO-NH-	3,0-5,0
H-CO-O-	8	CHCl ₃	5,0-8,5
H-CO-N<	8	H ₂ O	7,2

Ar désigne un groupe aryle : substituant aromatique.

Domaines de déplacements chimiques de divers ¹³C

Type de carbone	δ en ppm	Type de carbone	δ en ppm
RCH ₃	5-35	CHCl ₃	77
R ₂ CH ₂	15-50	RCH ₂ NH ₂	20-70
R ₃ CH	30-60	RCH ₂ OH et RCH ₂ OR'	50-90
R ₄ C	25-40	RNO ₂	60-80
R ₂ C=CR ₂	100-150	RC \equiv N	110-130
RC \equiv CR'	50-95	RCONH ₂	150-170
aromatique	110-175	RCOCl et RCO-O-COR	150-170
RCH ₂ I	10-40	RCO ₂ R'	150-180
RCH ₂ Br	20-40	RCO ₂ H	160-190
RCH ₂ Cl	25-90	RCHO et RCOR'	190-220

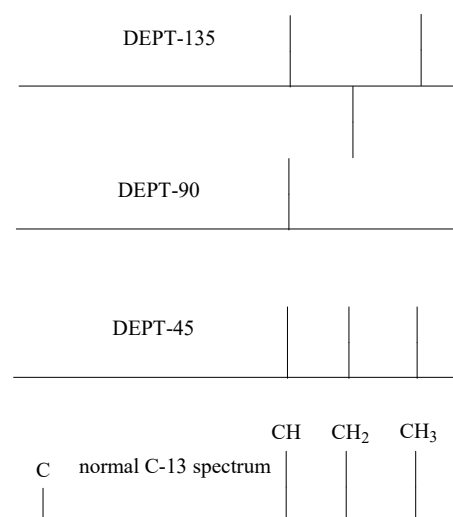
Séquences DEPT en RMN-¹³C

En RMN du carbone 13, les séquences DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer) permettent d'identifier le nombre d'atomes d'hydrogène liés à chaque atome de carbone donnant le signal. Ainsi les signaux des CH, CH₂, CH₃ et des carbones quaternaires (liés à aucun H) sont différenciés.

Un spectre DEPT 135 fait apparaître les signaux des CH et CH₃ d'un côté du plan défini par la ligne de base, et les signaux des CH₂ de l'autre côté du plan.

Un spectre DEPT 90 ne fait apparaître des signaux que pour des carbones liés à un seul atome d'hydrogène : CH.

Quelle que soit la séquence DEPT (45, 90 ou 135), aucun signal n'apparaît pour un carbone quaternaire.



ANNEXE 6 : Classification périodique des éléments

6. Classification périodique

légende

numéro atomique → 4

masse atomique en $g \cdot mol^{-1}$ (1) → 9,0

symbole (2) → **Be**

nom → Béryllium

notes : (1) basé sur le ^{12}C .
 (2) état physique du corps pur simple à 25 °C et 1,013 bar :
 noir = solide ; rouge = gaz ; vert = liquide ; violet = préparé par synthèse

I	1 1,0 H Hydrogène	2 4,0 He Hélium																	2 4,0 He Hélium																																																		
II	3 6,9 Li Lithium	4 9,0 Be Béryllium	5 10,8 B Bore	6 12,0 C Carbone	7 14,0 N Azote	8 16,0 O Oxygène	9 19,0 F Fluor	10 20,2 Ne Néon	11 23,0 Na Sodium	12 24,3 Mg Magnésium	13 27,0 Al Aluminium	14 28,1 Si Silicium	15 31,0 P Phosphore	16 32,1 S Soufre	17 35,5 Cl Chlore	18 39,9 Ar Argon	19 39,1 K Potassium	20 40,1 Ca Calcium	21 45,0 Sc Scandium	22 47,9 Ti Titane	23 50,9 V Vanadium	24 52,0 Cr Chrome	25 54,9 Mn Manganèse	26 55,8 Fe Fer	27 58,9 Co Cobalt	28 58,7 Ni Nickel	29 63,5 Cu Cuivre	30 65,4 Zn Zinc	31 69,7 Ga Gallium	32 72,6 Ge Germanium	33 74,9 As Arsenic	34 79,0 Se Sélénium	35 79,9 Br Brome	36 83,8 Kr Krypton	37 85,5 Rb Rubidium	38 87,6 Sr Strontium	39 88,9 Y Yttrium	40 91,2 Zr Zirconium	41 92,9 Nb Niobium	42 95,9 Mo Molybdène	43 99 Tc Technétium	44 101,1 Ru Ruthénium	45 102,9 Rh Rhodium	46 106,4 Pd Palladium	47 107,9 Ag Argent	48 112,4 Cd Cadmium	49 114,8 In Indium	50 118,7 Sn Étain	51 121,8 Sb Antimoine	52 127,6 Te Tellure	53 126,9 I Iode	54 131,3 Xe Xénon	55 132,9 Cs Césium	56 137,3 Ba Baryum	57 138,9 La Lanthane	58 140,1 Ce Cérium	59 140,9 Pr Praséodyme	60 144,2 Nd Néodyme	61 145 Pm Prométhium	62 150,4 Sm Samarium	63 152,0 Eu Europium	64 157,3 Gd Gadolinium	65 158,9 Tb Terbium	66 162,5 Dy Dysprosium	67 164,9 Ho Holmium	68 167,3 Er Erbium	69 168,9 Tm Thulium	70 173,0 Yb Ytterbium	71 175,0 Lu Lutétium
VI	87 223 Fr Francium	88 226 Ra Radium	89 227 Ac Actinium	90 232,0 Th Thorium	91 231,0 Pa Protactinium	92 238,0 U Uranium	93 237,0 Np Neptunium	94 242 Pu Plutonium	95 243 Am Americium	96 247 Cm Curium	97 247 Bk Berkélium	98 251 Cf Californium	99 254 Es Einsteinium	100 253 Fm Fermium	101 256 Md Mendélévium	102 254 No Nobélium	103 257 Lr Lawrencium																																																				

ANNEXE 7 : Document réponse 1¹⁰

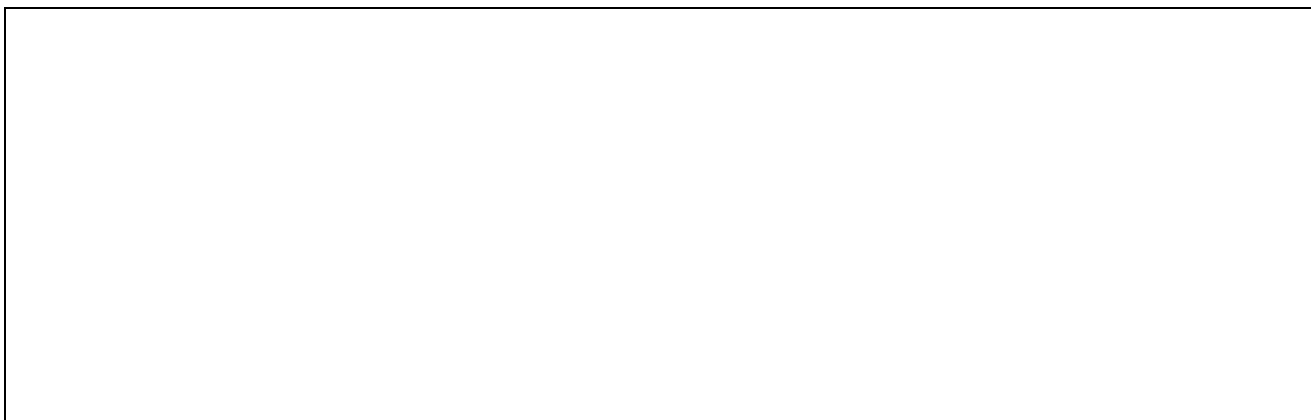
NUMERO DE POSTE :

Analyse des acides organiques du vin

Schématisation du chromatogramme :



Interprétation du chromatogramme :



Proposition d'optimisation de la méthode :



¹⁰ Si vous n'avez pas assez de place, vous pouvez écrire au verso.

ANNEXE 8 : Document réponse 2¹¹

NUMERO DE POSTE :

Détermination de l'acidité totale

Raisonnement et protocole proposé pour le titrage de l'acidité totale

¹¹ Si vous n'avez pas assez de place, vous pouvez écrire au verso.

RAPPORT DU JURY DE TP DE CHIMIE

Le vin : analyse et étude de ses composés

Statistiques des résultats

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,40 / 20**
- Meilleure note : **16,00 / 20**
- Note la plus basse : **04,20 / 20**
- Nombre de notes supérieures ou égales à 10 / 20 : 9 notes sur 23 (**39 %**)
- Moyenne des candidats admis : **11,90 / 20**

L'épreuve de travaux pratiques de chimie de cette année s'intéressait à l'analyse et l'étude des composés du vin.

La partie expérimentale (partie I : acidité du vin) portait sur la réalisation :

- d'une chromatographie sur papier permettant l'analyse des acides organiques du vin à partir de solutions de référence préparées par les candidats,
- du titrage de l'acidité totale du vin par détection visuelle de l'équivalence, les candidats devant proposer un protocole avant la mise en œuvre de celui fourni par le jury.

La seconde partie s'intéressait aux terpènes, des composés aromatiques présents dans le vin, et permettait d'aborder des concepts de chimie organique (stéréochimie, nomenclature, mécanisme réactionnel, régiosélectivité...) et l'analyse de spectres (IR, RMN ^1H et ^{13}C mono et bidimensionnelle).

La troisième partie concernait l'étude d'un fongicide contenu dans le vin : le trans-resvératrol. Elle abordait une étude cinétique de son isomérisation par spectroscopie UV-Visible ainsi que les propriétés acido-basiques et complexantes du trans-resvératrol pour déterminer la composition d'un système chimique à l'équilibre.

Le jury rappelle que la note finale prend en compte la partie expérimentale et la partie théorique. Dès lors, une copie même brillante ne pourra compenser une absence de résultats expérimentaux.

Bien que le temps accordé à la manipulation et aux questions expérimentales par les candidats ait été conséquent, le jury a constaté des difficultés quant à la mise en œuvre et la compréhension des manipulations réalisées. Ces difficultés ont conduit les candidats à consacrer trop peu de temps aux réponses aux questions.

Le jury a noté une différence de début de mise en œuvre des expériences selon les laboratoires (23 candidats répartis dans 3 laboratoires). Le jury préconise aux candidats de commencer plus rapidement les manipulations, de mieux organiser et planifier les expériences à réaliser, et de ne pas attendre qu'un autre candidat se lève pour commencer à manipuler.

Le soin apporté aux copies est inégal et souvent insuffisant pour de futurs enseignants.

I. Acidité du vin

Sécurité au laboratoire de chimie :

Le jury rappelle qu'une tenue de sécurité complète en laboratoire de chimie comporte des chaussures fermées avec des chevilles non nues et le port des lunettes de sécurité en permanence à partir du moment où un candidat manipule dans le laboratoire.

Les manipulations doivent être réalisées debout. Afin de permettre des déplacements fluides et sécurisés pendant l'épreuve, les tabourets doivent être placés sous les paillasses dès qu'un candidat se lève.

L'utilisation de gants au laboratoire de chimie doit se faire de manière raisonnée. En particulier, ils doivent être ôtés en l'absence de manipulation (utilisation d'un crayon, d'une calculatrice...).

Expériences 1 et 2 : Préparation des solutions de référence pour la chromatographie et identification des principaux acides organiques d'un vin par chromatographie sur papier.

Réponses aux questions posées :

- Une grande partie des candidats a mis une heure pour traiter la première question portant sur l'élaboration de protocoles de dissolution (calcul d'une masse à peser) et de dilution (facteur de dilution de 2 et 5), et n'a pas identifié la donnée de 90 % concernant l'acide lactique comme une pureté (pourcentage massique). Certains candidats confondent masse volumique d'une solution et concentration massique d'un soluté en solution.
- Pour l'évaluation de l'incertitude, des formules aberrantes ont été utilisées.
- Le principe de la chromatographie est globalement bien connu.
- Certains candidats associent uniquement le trouble présenté lors du mélange de deux liquides à la formation d'un précipité ou à une transformation chimique, sans penser à l'apparition d'une émulsion.
- L'analyse de chromatogrammes ne nécessite pas obligatoirement le calcul des rapports frontaux.

Réalisation des solutions de référence et de la chromatographie :

- Les quantités d'acide utilisées n'ont pas toujours été minimisées, un candidat ne doit pas hésiter à laver la verrerie pour la réutiliser.
- La préparation de solutions de référence pour une analyse qualitative par chromatographie sur papier ne nécessite pas une concentration exactement connue, l'utilisation d'éprouvettes graduées est donc possible à la place de pipettes et fioles jaugées.
- Une filtration avec papier filtre plissé nécessite l'utilisation d'un erlenmeyer et d'un entonnoir.
- La réalisation d'une chromatographie passe par un dépôt de faible diamètre des solutions à analyser et la préparation de la cuve d'élution à l'avance. La cuve ne doit pas être déplacée en cours d'élution.

Expérience 3 : Détermination de l'acidité totale d'un vin à analyser.

Réponses aux questions posées et élaboration du protocole de titrage :

Le jury indique que :

- afin de justifier du titrage de plusieurs acidités simultanément, un critère numérique sur la différence de valeurs de pKA des acides faibles présent est attendu,
- l'exploitation d'un titrage nécessite l'écriture préalable d'une équation de réaction support de titrage,
- la relation entre quantité de matière de réactifs introduits à l'équivalence inclut la prise en compte des nombres stoechiométriques de l'équation de réaction support de titrage, en particulier pour un diacide titré par une base forte un facteur 2 est présent, la relation $C_a.V_a = C_b.V_b$ n'est donc pas toujours valable,

- la mise au point d'un protocole de titrage par détection visuelle inclut la détermination de la prise d'essai de la solution à titrer et le choix d'un indicateur coloré, en justifiant précisément les choix effectués,
- lors de l'expression d'un résultat de titrage, la concentration déterminée et l'incertitude élargie associée doivent être données avec un nombre de décimales identique pour la même puissance de dix.

Réalisation du dégazage du vin et du titrage :

- Certains candidats ont semblé découvrir l'utilisation d'une trompe à eau. Un montage sous pression réduite doit être sécurisé par l'utilisation d'une potence et d'une pince trois doigts pour maintenir la fiole à vide.
- Lors d'un titrage par détection visuelle, quand deux volumes versés à l'équivalence non concordants sont obtenus, un troisième titrage est au minimum attendu.

II. Les terpènes : de composés aromatiques du vin

- Les terpènes : des composés aromatiques du vin
- Lors de la détermination de stéréodescripteurs, il est nécessaire de préciser les ordres de priorité des différents substituants.
- L'analyse des spectres RMN ^{13}C n'a pas été abordée et ceux de RMN ^1H sont traités de façon lacunaire et trop souvent erronée.
- Les bandes d'absorption en IR doivent être associées à des liaisons et non à des groupes fonctionnels.
- Les mécanismes réactionnels, quand ils sont traités, le sont de manière correcte.

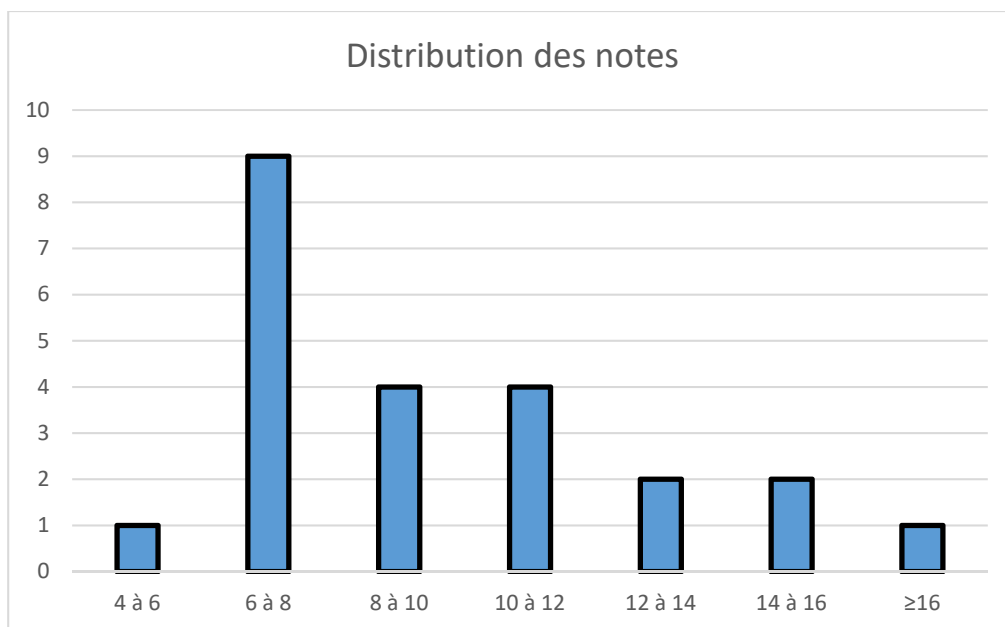
III. Un fongicide contenu dans le vin : le trans-resvératrol

Cette partie a été traitée par un nombre très faible de candidats.

L'additivité de la loi de Beer-Lambert et son application n'est pas maîtrisée.

Répartition des taux de réponses et des pourcentages de bonnes réponses du sujet

Moyenne **09,4 / 20**
Ecart type **3,1**



	I. 1. Analyse des acides organiques du vin							
N° question	1	2	3	4	5	6	7	8
% réponses	100	83	100	70	83	70	61	91
% bonnes réponses	60	25	85	57	37	45	55	49

	I.2. Détermination de l'acidité totale				
N° question	9	10	11	12	13
% réponses	91	100	70	100	96
% bonnes réponses	40	17	34	74	47

	II. Les terpènes : des composés aromatiques du vin									
N° question	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
% réponses	78	91	78	87	70	57	48	43	30	
% bonnes réponses	54	37	42	68	47	23	44	30	61	

	II. Les terpènes : des composés aromatiques du vin (suite)									
N° question	23	24	25	26	27	28	29	30		
% réponses	30	61	57	26	17	48	43	22		
% bonnes réponses	38	42	85	33	50	45	90	73		

	III. Un fongicide contenu dans le vin : le trans-resvératrol									
N° question	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
% réponses	43	78	30	30	13	9	9	26	4	
% bonnes réponses	40	78	18	54	83	100	100	63	0	

ÉPREUVE ORALE DE LEÇON

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

SUJETS

BIOCHIMIE	MICROBIOLOGIE	BIOLOGIE CELLULAIRE ET PHYSIOLOGIE
Les acteurs moléculaires impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire.	Systèmes de sécrétion bactérienne.	L'apoptose.
Les mouvements de molécules au niveau cellulaire.	Le microbiote intestinal.	Les rôles du calcium dans l'organisme.
L'oxygène, une molécule centrale dans la biochimie des cellules et des organismes.	Les bactériophages.	Les molécules d'adhérence : relations structure-fonctions.
De la reconnaissance à la catalyse : les interactions enzyme-substrat et leurs caractérisations.	Les anthroozoonoses.	Le neurone : une cellule spécialisée.
Mécanismes de contrôle et d'adaptation des quantités des protéines cellulaires.	Diversité des vaccins.	Le trafic intracellulaire des protéines en cours de synthèse.
Méthodes de caractérisation expérimentale des protéines : de leur découverte à leur exploration fonctionnelle.	Agents pathogènes transmis par l'eau.	L'immunité innée.
Diversité et rôles des reconnaissances de signaux dans les acides nucléiques.	Mécanismes d'échappement des agents pathogènes au système immunitaire.	Les canaux potassium et leurs implications dans les fonctions de l'organisme.
Bases moléculaires de la différenciation cellulaire.		La signalisation par les récepteurs à activité tyrosine kinase.

RAPPORT DU JURY DE LEÇONS

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **10,91 / 20**
- Meilleure note : **19,00 / 20**
- Note la plus basse : **04,00 / 20**
- Nombre de notes supérieures ou égales à 10 / 20 : 11 notes sur 23 (**48 %**)
- Moyenne des candidats admis : **15,00 / 20**

Commentaires généraux

L'épreuve de leçon est avant tout une épreuve de synthèse de différentes données provenant éventuellement de plusieurs domaines. Il s'agit d'une épreuve didactique au niveau le plus élevé des connaissances actuelles dans l'une des trois disciplines explicitement indiquée sur le sujet (« Biochimie », « Microbiologie » ou « Biologie Cellulaire et Physiologie »). Il conviendra de respecter ce champ disciplinaire dans le cadre de la leçon, même si celle-ci pourrait être traitée dans d'autres disciplines.

L'épreuve nécessite un travail de fond durant toute la préparation au concours permettant au candidat de présenter très clairement, une leçon structurée et illustrée, qui met en avant les connaissances actuelles dans un domaine donné. Le candidat doit donc faire l'effort d'un vrai travail de synthèse et d'organisation pédagogique. Même si la leçon s'intègre prioritairement dans une discipline, celle-ci doit être traitée à toutes les échelles possibles, de la molécule à l'organisme dans son environnement, qui doit lui aussi être pris en compte si le sujet proposé le permet. Il est fondamental de ne pas restreindre l'exposé à une succession de mécanismes moléculaires en oubliant ou en négligeant de les replacer dans un contexte plus général. La leçon doit montrer une intégration des relations structure-fonction jusqu'à l'échelle de la molécule et ne pas rester aux niveaux supérieurs d'organisation, même dans le cadre de leçon de physiologie (et biologie cellulaire) ou de microbiologie. La problématique du sujet doit être cernée, les idées hiérarchisées et le choix de concepts et notions à présenter est indispensable dans le temps évidemment limité de la leçon.

À chaque fois que cela est possible, la présentation des concepts, notions ou modèles, devrait pouvoir s'appuyer sur une démarche de démonstration fondée sur des observations biologiques notamment d'origine expérimentale.

Une bonne connaissance des ouvrages mis à disposition est un atout majeur afin de se constituer une bibliographie permettant d'être efficace au cours de la préparation. Il est en effet illusoire d'imaginer réaliser une synthèse d'un nombre trop important d'ouvrages en quatre heures de préparation.

Remarques sur la présentation

Le candidat dispose de 45 minutes sans interruption pour présenter sa leçon, temps suivi de 15 minutes d'entretien.

Le jury rappelle que l'introduction doit permettre de cerner le sujet et d'apporter quelques notions permettant de dégager la problématique centrale. Le jury est donc particulièrement attentif à la contextualisation de la leçon au cours de l'introduction et les approches historiques pour montrer l'évolution des concepts scientifiques sont très appréciées. De même, le jury apprécie que les candidats commencent leur démonstration avec des résultats expérimentaux qui amèneront la démonstration ultérieure.

La leçon, pour être pédagogique, doit être structurée en parties qui sont amenées par des questions posées lors de l'introduction et rappelées lors des transitions entre les parties. Il est important pour

la compréhension de la leçon que le plan reste apparent tout au long de l'exposé (sur le tableau ou dans un bandeau sur les diapositives).

Enfin, la conclusion ne peut être réduite à un simple résumé des notions évoquées au cours de la leçon. Elle doit tirer avantage d'une démarche d'ouverture sur des projets de recherche, des enjeux éthiques, économiques, sociétaux, de santé publique et/ou des applications biotechnologiques ou biomédicales.

En ce qui concerne les supports (images et photos), le jury rappelle aux candidats que la possibilité de prendre des photos ne doit pas faire oublier qu'il est primordial d'effectuer des choix pertinents pour les supports utilisés. Toute illustration présentée doit être vraiment exploitée et expliquée pour étayer la démonstration. Le jury apprécie tout particulièrement la construction de documents didactiques personnels (schémas, tableaux, organigrammes, cartes heuristiques...), qui témoignent de l'appropriation et de la maîtrise du sujet. Le tableau noir doit rester avant tout un support dynamique pour étayer la démonstration (schémas explicatifs, équations, schémas ou tableaux de synthèse...).

Rappelons aussi que doivent figurer sur les diapositives, les illustrations supportant le propos et un texte de longueur raisonnable permettant au candidat de présenter des notions et concepts qu'il souhaite développer dans sa leçon. Des diapositives support d'un texte lu dans son intégralité n'ont aucune valeur pédagogique et affranchissent le candidat d'une réelle posture communicante avec l'auditoire. Le jury regrette également que certains diaporamas soient presque exclusivement constitués de clichés photographiques, souvent illisibles (flous, de trop petite dimension, pas assez contrastés donc peu visibles), s'affranchissant d'un plan et support de commentaires généralement lus et souvent mal structurés. Le tableau pourrait être davantage utilisé en cours d'exposé (illustrations, schémas de synthèse, construction de tableau, courbes, croquis, ...).

Dans le respect du droit d'auteur, il est attendu que la source de chaque illustration soit mentionnée. Cependant, au regard des contraintes de temps de préparation, il est toléré que la liste des ouvrages utilisés soit indiquée au terme de la présentation.

Le jury a apprécié les grandes qualités de communication de certains candidats : respect du temps imparti, structuration de l'exposé, dynamisme et posture enseignante, qualité des supports, du plan, des conclusions partielles, des transitions, l'ensemble apportant de la légitimité au propos. Globalement, la communication orale a été de qualité pour ce qui concerne la syntaxe et le vocabulaire choisi ; le jury a apprécié les candidats capables de se détacher de leurs notes pendant leur présentation, comme celles et ceux qui s'attachaient à regarder le jury auquel ils ou elles s'adressaient.

Remarques sur l'entretien

Le jury, au cours d'un entretien de 15 minutes, demande au candidat :

- d'éclaircir, d'approfondir et de compléter certains points de la leçon ;
- d'élargir le sujet dans des domaines connexes ou non abordés.

Pour cet entretien, le jury attend un niveau d'expression orale en rapport avec la posture de futur-e professeur-e agrégé-e de Biochimie – Génie Biologique, tant au niveau du vocabulaire scientifique que de la pratique de la langue française.

Le plus souvent, les candidats ont fait preuve de qualité d'écoute, de réactivité et de probité intellectuelle. Une bonne maîtrise des fondamentaux technologiques et scientifiques, une approche réfléchie sont des atouts pour compenser, du moins partiellement, une prestation orale jugée perfectible.

Lors de l'entretien, il est attendu que le candidat fasse preuve de bon sens, de recul par rapport au sujet traité. Pour cela, il doit posséder des connaissances qui ne se limitent pas au cadre parfois trop restreint de son étude.

Le jury a apprécié que certains candidats fournissent des réponses très argumentées, étayées par des schémas ou dessins. Au contraire, l'échange n'a pas été véritablement possible avec certains

qui n'ont pas adopté une posture réflexive ou qui ont formulé des réponses trop laconiques. Inversement, il n'est pas conseillé aux candidats d'étendre exagérément leur temps de réponse afin de réduire le nombre de questions posées : chaque membre du jury apprécie d'avoir le temps de poser quelques questions.

Le jury rappelle que l'entretien n'est pas qu'une succession de réponses ponctuelles aux questions posées mais, le plus souvent l'occasion de réfléchir à voix haute en prolongeant l'échange, par une communication véritable entre biologistes.

Rapport sur les leçons de Biochimie

Les sujets posés en biochimie cette année proposaient aux candidats de faire une synthèse autour d'une problématique énoncée dans le titre de la leçon. Un effort était donc nécessaire pour cibler de manière claire la problématique associée à la leçon afin de sélectionner les exemples les plus pertinents pour éclairer les divers concepts associés. Pour réussir sa leçon, le candidat devait donc 1) bien analyser les termes du sujet pour dégager la problématique, 2) faire appel à des connaissances précises couvrant un large champ de la biochimie, 3) organiser son exposé afin de dégager les principes et concepts liés à sa leçon, tout en illustrant la diversité des processus biologiques associés.

Cette année, le jury a été impressionné par deux leçons sur la biochimie des protéines qui ont répondu pleinement à ce double objectif d'une conceptualisation appuyée par des exemples précis et diversifiés couvrant l'ensemble de la question posée. D'autres candidats ont présenté des leçons satisfaisantes en construisant un plan articulé autour de concepts clés associés au sujet. Cependant, le jury a regretté que cette mise en problématique n'ait pas pu être appuyée par des connaissances suffisamment précises.

Néanmoins, en plus d'un manque de connaissances en biochimie sur le sujet posé, l'absence de réussite des candidats à présenter une leçon satisfaisante s'explique souvent par une mauvaise analyse des termes de l'énoncé du sujet (contrôle et adaptation, signaux des acides nucléiques, mouvement, molécule d'oxygène et non atome d'oxygène). De plus, dans certains cas, le jury a déploré l'absence de traitement de parties importantes, voire essentielles associées au sujet comme par exemple la photosynthèse dans la leçon consacrée à la molécule d'oxygène.

Un autre exemple est la leçon sur le contrôle et l'adaptation des quantités de protéines où après avoir bien défini la quantité de protéine comme un équilibre entre synthèse et dégradation, la leçon a consisté essentiellement à présenter les mécanismes de traduction et de la dégradation protéique en occultant les étapes transcriptionnelles et post-transcriptionnelles de l'expression des protéines et ceci, sans analyse des mécanismes spécifiques assurant des variations quantitatives et dynamiques des diverses protéines cellulaires.

Enfin, nous rappelons que l'interprétation de l'intitulé d'une leçon doit être fait dans le cadre de la discipline dans laquelle cette leçon est posée. Ainsi, la leçon sur la molécule d'oxygène devait s'inscrire dans le cadre d'une leçon de biochimie et non de physiologie, même si certains des processus concernaient l'organisme dans son entier. C'est donc plus l'aspect biochimique du transport de l'oxygène avec un focus sur la molécule d'hémoglobine qui aurait dû être présenté plutôt qu'une analyse des transports de l'oxygène au niveau alvéolaire et tissulaire.

Enfin, le jury a parfois constaté non seulement le manque de maîtrise des concepts fondamentaux de la biochimie (par exemple la notion d'affinité) mais aussi des techniques expérimentales associées. De même, les structure de molécules centrales en biochimie (ATP par exemple) ne sont pas toujours connues, ni la relation entre leur structure et leurs propriétés (cas de la molécule d'eau). À ce titre, le jury rappelle que la spécialité de l'agrégation à laquelle se présentent les candidats est « Biochimie – Génie Biologique ». En conséquence, les futurs professeurs agrégés doivent démontrer un niveau Master mais aussi être capables de maîtriser le socle des bases fondamentales de la discipline qu'ils auront à transmettre à leurs étudiants.

Rapport sur les leçons de Microbiologie

La microbiologie, au sens large du terme, nécessite des connaissances dans des domaines classiques et variés tels que la biochimie, la biologie cellulaire, la biologie moléculaire, la génétique, l'immunologie, la physiologie, afin de comprendre d'une façon intégrée, les interactions établies entre les microorganismes entre eux, avec l'environnement ou avec leurs hôtes infectés.

Les sujets proposés cette année étaient relativement classiques, sans difficulté majeure pour les candidats ayant préparé l'épreuve de microbiologie de façon intégrée, comme mentionné ci-dessus. Pour chacun des sujets proposés, la matière ne manquait pas et nécessitait parfois de faire des choix. Il était donc important de bien définir le sujet en introduction, de le replacer dans le contexte, afin d'en définir les contours, la problématique, puis de traiter chacune des parties de façon intégrée et sans oublier de s'appuyer sur des données expérimentales moléculaires et cellulaires, avant de conclure et d'élargir le sujet. Il est important de mentionner que la microbiologie est généralement richement illustrée dans les livres mis à disposition et il est donc important d'illustrer, autant que possible, les démonstrations expérimentales et les microorganismes mentionnés.

Certains candidats ont excellé dans l'exercice proposé, avec un exposé dynamique, vivant, intégré, richement illustré mais d'autres ont malheureusement rencontré plus de difficultés à élever le niveau de leur exposé qui est resté superficiel ou ils n'ont pu réaliser qu'une description succincte et très incomplète du thème proposé.

Rapport sur les leçons de Biologie Cellulaire et Physiologie

Les sujets de « biologie cellulaire et physiologie » concernent un large champ notionnel, de la molécule à l'organisme dans son environnement.

Leur libellé, souvent très général (comme par exemple « Les rôles du calcium dans l'organisme ») impose aux candidats de proposer un plan construit sur des concepts plutôt que de rechercher une exhaustivité dans les notions.

Les sujets de biologie cellulaire et physiologie doivent donc être abordés à toutes les échelles possibles (du moléculaire à l'organisme) et étayés par des mécanismes physico-chimiques replacés dans leur contexte physiologique. Les complémentarités et coopérations entre systèmes et/ou organes sont à considérer ainsi que les interactions de l'organisme avec l'environnement.

Dans certains cas, le jury a regretté l'absence de traitement de parties importantes de certaines leçons comme par exemple lors de la leçon « Le trafic intracellulaire des protéines en cours de synthèse », la leçon a consisté en une présentation du trafic des protéines synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique rugueux, sans aborder, la notion de séquence signal, ni les protéines qui étaient synthétisées au niveau des polysomes libres dans le cytosol.

Enfin, il est rappelé que la structure et le fonctionnement du système nerveux font partie du programme de l'agrégation. À ce titre des notions fondamentales doivent être travaillées par les candidats : potentiel de repos, genèse des potentiels d'action. Le jury a parfois déploré le manque de précision sur les termes employés « canaux sodium » au lieu de « canaux sodium voltage dépendants ».

Pour l'illustration des structures cellulaires et tissulaires, les candidats ont trop souvent tendance à utiliser des schémas alors que la présentation de photos de préparations microscopiques et d'images de microscopie électronique serait souvent plus pertinente. Les schémas pouvant alors être proposés dans un deuxième temps, par exemple pour intégrer la dimension fonctionnelle ou pour faire un résumé.

Le jury souhaite tout de même féliciter certains candidats qui ont réussi à proposer des exposés synthétiques, construits à partir d'une problématique pertinente et des documents sur lesquels ils ont su appuyer leurs démonstrations.

ÉPREUVE ORALE D'ÉTUDE CRITIQUE DE DOSSIER SCIENTIFIQUE ET/OU TECHNIQUE

Durée de l'épreuve : 4 heures + 1 heure

Coefficient : 3

SUJETS

Combattre la poly-spécificité des anticorps.	Chuang GY, Zhang B, McKee K, O'Dell S, Kwon YD, Zhou T, Blinn J, Lloyd K, Parks P, Von Holle T, Ko SY, Kong WP, Pegu A, Wang K, Baruah K, Crispin M, Mascola JR, Moody MA, Haynes BF, Georgiev IS, Kwong PD Eliminating antibody polyreactivity through addition of N-linked glycosylation <i>Protein Science</i> , 2015, vol. 24, p. 1019-1030 (+ SUPPLEMENTAL MATERIAL sur la clé)
	Kaur H, Salunke DM Antibody Promiscuity: Understanding the Paradigm Shift in Antigen Recognition <i>International Union of Biochemistry & Molecular Biology (IUBMB) / Life</i> , 2015, vol. 67 (7), p. 498-505
Chercher l'inspiration dans les venins.	Latinović Z, Leronardi A, Kovačić L, Koh CY, Šribar J, Trampuš Bakija A, Venkateswarty D, Kini RM, Križaj I The First Intrinsic Tenase Complex Inhibitor with Serine Protease Structure Offers a New Perspective in Anticoagulant Therapy <i>Thrombosis and Haemostasis</i> , 2018, vol. 118 (10), p. 1713-1728 (+ SUPPLEMENTARY FIGURES sur la clé)
	McCleary RJR, Kini RM Non-enzymatic proteins from snake venoms: A gold mine of pharmacological tools and drug leads <i>Toxicon</i> , 2013, vol. 62, p. 56-74
Faites entrer le fructose !	Nomura N, Verdon G, Kang HJ, Shimamura T, Nomura Y, Sonoda Y, Hussien SA, Qureshi AA, Coincon M, Sato Y, Abe H, Nakada-Nakura Y, Hino T, Arakawa T, Kusano-Arai O, Iwanari H, Murata T, Kobayashi T, Hamakubo T, Kasahara M, Iwata S, Drew D Structure and mechanism of the mammalian fructose transporter GLUT5 <i>Nature</i> , 2015, vol. 526, p. 397-401 + METHODS (+ EXTENDED DATA + SUPPLEMENTARY VIDEOS sur la clé)
	Chen LQ, Cheung LS, Feng L, Tanner W, Frommer WB Transport of Sugars <i>Annual Review of Biochemistry</i> , 2015, vol. 84, p. 865-894
Alzheimer et la petite chaperone.	Nachman E, Wentink AS, Madiona K, Bousset L, Katsinelos T, Allinson K, Kampinga H, McEwan WA, Jahn TR, Melki R, Mogk A, Bukau B, Nussbaum-Krammer C Disassembly of Tau fibrils by the human Hsp70 disaggregation machinery generates small seeding-competent species <i>Journal of Biological Chemistry</i> , 2020, vol. 295 (28), p. 9676-9690 (+ SUPPORTING INFORMATION sur la clé)
	Zeinab Breijyeh Z, Rafik Karaman R Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment <i>Molecules</i> , 2020, vol. 25 (24), art. 5789, p. 1-28
Parasiter le système immunitaire.	Saito F, Hirayasu K, Satoh T, Wang CW, Lusingu J, Arimori T, Shida K, Palacpac NMQ, Itagaki S, Iwanaga S, Takashima E, Tsuboi T, Kohyama M, Suenaga T, Colonna M, Takagi J, Lavstsen T, Horii T, Arase H Immune evasion of <i>Plasmodium falciparum</i> by RIFIN via inhibitory receptors <i>Nature</i> , 2017, vol. 552, p. 101-105 + METHODS (+ EXTENDED DATA + SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Milner DA Jr Malaria Pathogenesis <i>Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine</i> , 2018, vol. 8, p. 1-11

<p>Muter pour s'échapper.</p>	<p>Hoffmann M, Arora P, Groß R, Seidel A, Hörnich BJ, Hahn AS, Krüger N, Graichen L, Hofmann-Winkler H, Kempf A, Winkler MS, Schulz S, Jäck HM, Jahrsdörfer B, Schrezenmeier H, Müller M, Kleger A, Münch J, Pöhlmann S SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies <i>Cell</i>, 2021, vol. 124, p. 2384-2393 (+ <i>STAR METHODS</i> + <i>SUPPLEMENTAL INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses <i>Nature Reviews / Microbiology</i>, 2016, vol. 14, p. 523-534</p>
<p>Complément et CoViD-19 : une piste inexploitée ?</p>	<p>Carvelli J, Demaria O, Vély F, Batista L, Chouaki Benmansour N, Fares J, Carpentier S, Thibult ML, Morel A, Remark R, André P, Represa A, Piperoglou C, the Explore COVID-19 IPH group, the Explore COVID-19 Marseille Immunopole group, Cordier PY, Le Dault E, Guervilly C, Simeone P, Gainnier M, Morel Y, Ebbo M, Schleinitz N, Vivier E Association of COVID-19 inflammation with activation of the C5a-C5aR1 axis <i>Nature</i>, 2020, vol. 588, p. 146-150 + METHODS (+ <i>EXTENDED DATA</i> + <i>SUPPLEMENTARY INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>Mellors J, Tipton T, Longet S, Carroll M Viral Evasion of the Complement System and Its Importance for Vaccines and Therapeutics <i>Frontiers in Immunology</i>, 2020, vol. 11, art. 1450, p. 1-20</p>
<p>Se protéger de la toxicité cellulaire de l'interféron.</p>	<p>Gato-Cañas M, Zuazo M, Arasanz H, Ibañez-Vea M, Lorenzo L, Fernandez-Hinojal G, Vera R, Smerdou C, Martisova E, Arozarena I, Wellbrock C, Llopiz D, Ruiz M, Sarob P, Breckpot K, Kochan G, Escors D PDL1 Signals through Conserved Sequence Motifs to Overcome Interferon-Mediated Cytotoxicity <i>Cell Reports</i>, 2017, vol. 20, p. 1818-1829 (+ <i>SUPPLEMENTAL INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>Lazear HM, Schoggins JW, Diamond MS Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons <i>Immunity</i>, 2019, vol. 50, p. 907-923</p>
<p>Système de sécrétion et lutte contre les bactéries intracellulaires obligatoires.</p>	<p>Zhang W, Lin M, Yan Q, Budachetri K, Hou L, Sahni A, Liu H, Han NC, Lakritz J, Pei D, Rikihisa Y An intracellular nanobody targeting T4SS effector inhibits <i>Ehrlichia</i> infection <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA (PNAS)</i>, 2021, vol. 118 (18), art. e2024102118, p. 1-12 (+ <i>SUPPLEMENTARY INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>Lina TT, Farris T, Luo T, Mitra S, Zhu B, McBride JW Hacker within! <i>Ehrlichia chaffeensis</i> Effector Driven Phagocyte Reprogramming Strategy <i>Frontiers in Cellular and Infection Microbiology</i>, 2016, vol. 6, art. 58, p. 1-17</p>
<p><i>Helicobacter pylori</i> : encore un facteur de virulence !</p>	<p>Marques MS, Costa AC, Osório H, Pinto ML, Relvas S, Dinis-Ribeiro M, Carneiro F, Leite M, Figueiredo C <i>Helicobacter pylori</i> PqqE is a new virulence factor that cleaves junctional adhesion molecule A and disrupts gastric epithelial integrity <i>Gut Microbes</i>, 2021, vol. 13 (1), art. e1921928, p. 1-21 (+ <i>SUPPLEMENTAL MATERIAL</i> sur la clé)</p> <p>Ansari S, Yamaoka Y <i>Helicobacter pylori</i> Virulence Factors Exploiting Gastric Colonization and its Pathogenicity <i>Toxins</i>, 2019, vol. 11 (11), art. 677, p. 1-26</p>
<p>Microbiote intestinal et lutte contre le stress thermique.</p>	<p>Raza MF, Wang Y, Cai Z, Bai S, Yao Z, Awan UA, Zhang Z, Zheng W, Zhang H Gut microbiota promotes host resistance to low-temperature stress by stimulating its arginine and proline metabolism pathway in adult <i>Bactrocera dorsalis</i> <i>PLoS Pathogens</i>, 2020, vol. 16 (4), art. e1008441, p. 1-29 (+ <i>SUPPORTING INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>Lesperance DN, Broderick NA Microbiomes as modulators of <i>Drosophila melanogaster</i> homeostasis and disease <i>Current Opinion in Insect Science</i>, 2020, vol. 39, p. 84-90</p>
<p>Vers un nouveau vaccin contre le coronavirus SRAS-CoV2 ?</p>	<p>Tian JH, Patel N, Haupt R, Zhou H, Weston S, Hammond H, Logue J, Portnoff AD, Norton J, Guebre-Xabier M, Zhou B, Jacobson K, Maciejewski S, Khatoon R, Wisniewska M, Moffitt W, Kluepfel-Stahl S, Ekechukwu B, Papin J, Boddapati S, Wong CJ, Piedra PA, Frieman MB, Massare MJ, Fries L, Bengtsson KL, Stertman L, Ellingsworth L, Glenn G, Smith G SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 immunogenicity in baboons and protection in mice <i>Nature Communications</i>, 2021, vol. 12, art. 372, p. 1-14 (+ <i>SUPPLEMENTARY INFORMATION</i> sur la clé)</p> <p>Li F Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins <i>Annual Review of Virology</i>, 2016, vol. 3, p. 237-261</p>

<p>Quorum sensing et quorum quenching.</p>	<p>Packiavathy IASV, Kannappan A, Thiyagarajan S, Srinivasan R, Jeyapragash D, Paul JBJ, Velmurugan P, Ravi AV AHL-Lactonase Producing <i>Psychrobacter</i> sp. From Palk Bay Sediment Mitigates Quorum Sensing-Mediated Virulence Production in Gram Negative Bacterial Pathogens <i>Frontiers in Microbiology</i>, 2021, vol. 12, art. 634593, p. 1-12 (+ SUPPLEMENTARY MATERIAL sur la clé)</p> <p>Borges A, Simões M Quorum Sensing Inhibition by Marine Bacteria <i>Marine Drugs</i>, 2019, vol. 17, art. 427, p. 1-25</p>
<p>Agents anti-biofilm : un écran contre les MRSA ?</p>	<p>Abd El-Hamid MI, Y El-Naenaeey ES, M Kandeel T, Hegazy WAH, Mosbah RA, Nassar MS, Bakhrebah MA, Abdulaal WH, Alhakamy NA, Bendary MM Promising Antibiofilm Agents: Recent Breakthrough against Biofilm Producing Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Antibiotics</i>, 2020, vol. 9, art. 667, p. 1-15</p> <p>Van Acker H, Van Dijck P, Coenye T Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms <i>Trends in Microbiology</i>, 2014, vol. 22 (6), p. 326-333</p>
<p>Quelques rôles des pompes à efflux chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.</p>	<p>Laborda P, Alcalde-Rico M, Chini A, Martínez JL, Hernando-Amado S Discovery of inhibitors of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> virulence through the search for natural-like compounds with a dual role as inducers and substrates of efflux pumps <i>Environmental Microbiology (SFAM)</i>, 2021, p. 1-16 (<i>ahead of print</i>) (+ SUPPLEMENTAL TABLES + FILM sur la clé)</p> <p>Housseini B Issa K, Phan G, Broutin I Functional Mechanism of the Efflux Pumps Transcription Regulators From <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Based on 3D Structures <i>Frontiers in Molecular Biosciences</i>, 2018, vol. 5, art. 57, p. 1-20</p>
<p>Bactériophage transposable : une source de diversité chez <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ?</p>	<p>Wu H, Zhang Y, Jiang Y, Wu H, Sun W, Huang YP Characterization and Genomic Analysis of ϕSHP3, a New Transposable Bacteriophage Infecting <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Journal of Virology</i>, 2021, vol 95 (9), art. e00019-21, p. 1-15 (+ SUPPLEMENTAL MATERIAL sur la clé)</p> <p>Toussaint A, Rice PA Transposable phages, DNA reorganization and transfer <i>Current Opinion in Microbiology</i>, 2017, vol. 38, p. 88-94</p>
<p>Motivation et lipides.</p>	<p>Ducrocq F, Walle R, Contini A, Oummadi A, Caraballo B, van der Veldt Q, Boyer ML, Aby F, Tolentino-Cortez T, Helbling JC, Martine L, Grégoire S, Carabert S, Vancassel S, Layé S, Kang JX, Fioramonti X, Berdeaux O, Barreda-Gomez G, Masson E, Ferreira G, Ma DWL, Bosch-Bouju C, De Smedt-Peyrusse V, Trifilieff P Causal Link between n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Deficiency and Motivation Deficits <i>Cell Metabolism</i>, 2020, vol. 31, p. 755-772 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL INFORMATION sur la clé)</p> <p>Ducrocq F, Trifilieff P Déficits motivationnels et acides gras polyinsaturés <i>Médecine Sciences</i>, 2021, vol. 31, p. 15-18</p>
<p>Macroautophagie et diabète.</p>	<p>Pasquier, A, Vivot K, Erbs, E, Spiegelhalter C, Zhang Z, Aubert V, Liu Z, Senkara M, Maillaird E, Pinget M, Kerr-Conte J, Pattou F, Marciniak G, Ganzhorn A, Ronchi P, Shieber NL, Schwab Y, Saftig P, Goginashvili A, Ricci R Lysosomal degradation of newly formed insulin granules contributes to β cell failure in diabetes <i>Nature Communications</i>, 2019, vol. 10, art. 3312, p. 1-14 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)</p> <p>Kaur J, Debnath J Autophagy at the crossroads of catabolism and anabolism <i>Nature Reviews / Molecular Cell Biology</i>, 2015, vol. 16, p. 461-472 (<i>published online : n° 1 à 13 ici</i>)</p>
<p>Sénescence et immunité.</p>	<p>Hari P, Millar FR, Tarrats N, Birch J, Quintanilla A, Rink CJ, Fernández-Duran I, Muir M, Finch AJ, Brunton VG, Passos JF, Morton JP, Boulter L, Acosta JC The innate immune sensor Toll-like receptor 2 controls the senescence-associated secretory phenotype <i>Science Advances</i>, 2019, vol. 5, art. eaaw0254, p. 1-14 (+ SUPPLEMENTARY MATERIALS sur la clé)</p> <p>Herranz N, Gil J Mechanisms and functions of cellular senescence <i>The Journal of Clinical Investigation</i>, 2018, vol. 128 (4), p. 1238-1246</p>

Rôle de la protéine Ambra1 dans le mélanome.	Di Leo L, Bodemeyer V, Bosisio FM, Claps G, Carretta M, Rizza S, Faienza F, Frias A, Khan S, Bordi M, Pacheco MP, Di Martino J, Bravo-Corder JJ, Daniel CJ, Sears R, Donio M, Madsen DH, Guldberg P, Filomeni G, Sauter T, Robert C, De Zio D, Cecconi F Loss of Ambra1 promotes melanoma growth and invasion <i>Nature Communications</i> , 2021, vol. 12, art. 2550, p. 1-17 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Cianfanelli V, De Zio D, Di Bartolomeo S, Nazio F, Strappazzon F, Cecconi F Ambra1 at a glance <i>Journal of Cell Science</i> , 2015, vol. 128, p. 2003-2008
Signalisation lysosomale.	Ramachandran PV, Savini M, Folick AK, hu K, Masand R, Graham BH, Wang MC Lysosomal Signaling Promotes Longevity through Adjusting Mitochondrial Activity <i>Developmental Cell</i> , 2019, vol. 48 (5), p. 685-696 (+ STAR METHODS + SUPPLEMENTAL INFORMATION sur la clé)
	Alassaf A, Mignotte B Une signalisation lysosomale permet un dialogue inter-organites améliorant l'activité métabolique, l'homéostasie redox et augmentant la longévité chez <i>Caenorhabditis elegans</i> <i>Médecine Sciences</i> , 2021, vol. 37, p. 192-193
Autophagie et cellules souches.	Wei Q, Pinho S, Dong S, Pierce H, Li H, Nakahara F, Xu J, Xu C, Boulais PE, Zhang D, Maryanovich M, Cuervo AM, Frenette PS MAEA is an E3 ubiquitin ligase promoting autophagy and maintenance of haematopoietic stem cells <i>Nature Communications</i> , 2021, vol. 12, art. 2522, p. 1-10 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Ianniciello A, Rattigan KM, Helgasson GV The Ins and Outs of Autophagy and Metabolism in Hematopoietic and Leukemic Stem Cells: Food for Thought <i>Frontiers in Cell and Developmental Biology</i> , 2018, vol. 6, article 120, p. 1-15
ARN non codant et problème de cœur.	Sato M, Kadomatsu T, Miyata K, Warren JS, Tian Z, Zhu S, Horiguchi H, Makaju A, Bakhtina A, Morinaga J, Sugizaki T, Hirashima K, Yoshinobu K, Imasaka M, Araki M, Komohara Y, Wakayama T, Nakagawa S, Franklin S, Node K, Araki K, Oike Y The lncRNA <i>Caren</i> antagonizes heart failure by inactivating DNA damage response and activating mitochondrial biogenesis <i>Nature Communications</i> , 2021, vol. 12, art. 2529, p. 1-21 (+ SUPPLEMENTARY INFORMATION sur la clé)
	Fatica A, Bozzoni I Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development <i>Nature Reviews / Genetics</i> , 2014, vol. 15, p. 7-21

RAPPORT DU JURY D'ECD

Statistiques des résultats de l'épreuve

- Moyenne des notes obtenues à cette épreuve : **09,39 / 20**
- Meilleure note : **18,00 / 20**
- Note la plus basse : **02,00 / 20**
- Nombre de notes supérieures ou égales à 10 / 20 : **9 notes sur 23 (39 %)**
- Moyenne des candidats admis : **12,60 / 20**

Rapport sur l'épreuve d'ECD

Chaque dossier comporte un article de recherche associé à une revue ou un commentaire qui sert à contextualiser la problématique abordée dans l'article de recherche. La présentation doit être centrée sur l'article de recherche. Elle doit présenter la ou les questions scientifiques posées ainsi que la démarche scientifique pour y répondre. Il est donc préférable d'éviter de donner la conclusion de l'article de recherche en introduction. Cela permettra de présenter la logique liant les différentes expériences pour arriver à cette conclusion. La structure de la présentation ne nécessite pas

forcément un plan différent de celui de l'article. Elle peut être basée sur celui de l'article qui est constitué d'une introduction, de résultats analysés et d'une conclusion associée à des perspectives. Sans être une leçon, cet exercice doit permettre à l'ensemble du jury de comprendre la problématique posée et les éléments de réponses apportés par cette publication scientifique.

Dans l'introduction, il est important de resituer l'étude dans un contexte plus large, scientifique voire sociétal si le sujet s'y prête de façon synthétique et pertinente par rapport au sujet traité dans l'article. L'introduction n'excédera pas un tiers du temps de la présentation. La question scientifique à laquelle l'article de recherche répond doit être clairement posée ainsi que les connaissances scientifiques préalables à l'étude. Ces connaissances sont fournies dans le document annexe et/ou dans l'introduction de l'article de recherche. Enfin, l'accès à internet constitue une autre source d'information tant que ces sources sont mentionnées.

La présentation doit s'appuyer sur la description, l'analyse des expériences de recherche et ne pas présenter uniquement une série de conclusions. Elle ne doit pas forcément être un exposé linéaire et exhaustif des différentes expériences mais un choix justifié pour expliciter la démarche scientifique. Les efforts des candidats pour illustrer leurs propos par des documents issus des articles ou de sites internet et retravaillés sont appréciés par le jury. La copie *in extenso* de figures complexes d'article ou de tableaux sans remise en forme aboutit dans certains cas à des projections illisibles (parfois par le candidat lui-même). Chaque diapositive doit étayer une idée ou illustrer une technologie en s'appuyant sur un choix pertinent de figures, de données et de texte associé. Nous rappelons aux candidats que lors de leur présentation, ils doivent s'appuyer sur les figures pour présenter les résultats et étayer leurs propos. Le lien et les transitions entre les différentes expériences, ainsi que les conclusions intermédiaires, sont attendus.

En cas de technique originale ou d'approche expérimentale complexe, une description du principe de l'expérience peut s'avérer utile. Il peut parfois être pertinent de souligner au fil de l'exposé une partie perfectible d'expériences (contrôles supplémentaires, taille de l'échantillon, analyse statistique, ou interprétation) qui doit être justifiée par le candidat.

En conclusion, un schéma récapitulatif et/ou une synthèse des messages clefs sont attendus. Le jury appréciera également des perspectives réalistes et une analyse critique globale de l'étude présentée.

L'utilisation du tableau en plus de la vidéo projection peut être un atout pédagogique, sauf quand il s'agit de répéter les plans déjà projetés.

Remarques sur l'entretien

Enfin, les questions représentent la moitié du temps de l'épreuve. Cet aspect de l'épreuve est aussi important que la présentation et permet au jury d'évaluer l'ensemble des connaissances théoriques, techniques et pédagogiques du candidat. Elles sont l'occasion pour le jury de sonder le candidat sur la pleine compréhension de l'article de recherche, sur l'étendue et la solidité de ses connaissances (technologiques et théoriques) et sa capacité à répondre à des questions hors du domaine du dossier. Le temps imparti pour les questions se répartit entre l'ensemble des membres du jury. Le membre du jury ayant proposé l'article disposera d'un temps supérieur pour questionner le candidat. La capacité d'écoute, la précision du vocabulaire utilisé ainsi que la concision des réponses sont toutes des qualités appréciées par le jury.

Conseils

Afin de se préparer au mieux à cette épreuve d'ECD, le jury invite les futurs candidats à lire régulièrement de la littérature scientifique en langue anglaise, notamment certains journaux généralistes comme « *PNAS* », « *Frontiers in...* », « *Nature* » ou « *Cell* ». Ils sont en libre accès et permettront aux candidats non seulement de s'améliorer pour cette épreuve mais aussi de réactualiser leurs connaissances scientifiques et technologiques. La composante critique de cette

épreuve d'oral doit uniquement concerner les données scientifiques et technologiques présentées dans l'article de recherche.

Le jury encourage les candidats à utiliser au moins les 30 minutes qui leur sont allouées pour présenter l'article. Le jury souhaite rappeler que les supports doivent être visibles et que la présentation orale doit être audible par l'ensemble des membres du jury.

Rapport sur les questions relatives à la Chimie

L'épreuve de l'ECD fait l'objet de questions de chimie. Ces dernières peuvent porter sur les notions abordées par le candidat lors de sa présentation ou pendant l'entretien avec le jury.

Il est indispensable que toute technique analytique évoquée lors de l'épreuve (méthodes spectroscopiques ou chromatographiques par exemple) soit maîtrisée, ainsi que l'utilité de certains réactifs.

Le (la) candidat(e) devra connaître les unités couramment utilisées dans le domaine de la biochimie comme le Da ainsi que les unités du système international.

Certaines structures électroniques des atomes sont connues mais pas nécessairement le lien avec la réactivité de l'atome en question. La règle de distribution des électrons dans les sous-couches électroniques n'est pas suffisamment maîtrisée, de même que l'électronégativité des atomes.

Les notions liées à la fluorescence sont connues mais parfois expliquées avec peu de précision dans le vocabulaire. Il faudrait que le (la) candidat(e) puisse donner la relation entre l'énergie E et λ , la charge et la masse d'un photon, définir le spectre d'excitation et d'émission, préciser les particularités des groupements chimiques des fluorophores...

Les molécules de bases ne sont pas toujours connues des candidat(e)s (bases puriques, pyrimidiques, sucres simples ou diholosides, acides gras, triglycérides...). Les représentations sont parfois approximatives. Le (la) candidat(e) devrait aussi connaître les règles de numérotation des atomes de ces molécules.

La notion de pKa, en particulier pour les acides aminés (courbe de titration), et celle de solution tampon n'est pas complètement assimilée. Certain(e)s candidat(e)s ont néanmoins su tracer des courbes de titration avec les axes correctement légendés (certains les inversent) et avec précision des points particuliers.

Les différents types d'isomérisation ne sont pas connus. La chiralité est l'isomérisation la plus fréquemment citée mais elle n'est pas la seule. Certain(e)s candidat(e)s ont su expliquer certaines règles de détermination des configurations L et D ou R et S. Les configurations L et D ne doivent pas être confondues avec le pouvoir rotatoire levogyre et dextrogyre.

Les réactions d'oxydo-réduction doivent être maîtrisées, en particulier la détermination du degré d'oxydation, la règle du gamma, la loi de Nernst.

Les expressions des constantes (constante d'acidité, produit de solubilité...) manquent de rigueur dans leur écriture. Les activités de certains composés sont assimilées à des concentrations alors qu'il s'agit d'une molécule sous forme solide.

Le lien entre les constantes d'équilibre et ΔG° ainsi que la signification de ΔG° et de ΔG n'est pas maîtrisée.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les candidats présents aux épreuves d'admissibilité et d'admission venaient, comme chaque année, d'horizons assez différents, y compris les docteurs, l'agrégation externe pour les docteurs n'étant pas ouverte cette année.

Les résultats aux épreuves d'admissibilité et d'admission révèlent une fois de plus qu'un concours d'enseignement technologique de ce niveau scientifique nécessite de consolider ses connaissances et d'actualiser ses savoirs dans chaque champ mentionné dans le programme, la biochimie, la microbiologie, l'immunologie, la biologie cellulaire, l'hématologie, la biologie moléculaire ou la physiologie humaine. Ce n'est qu'à ce prix que les candidats peuvent construire une expertise disciplinaire nécessaire aux enseignements en série technologique et en BTS de biologie appliquée.

Cette année encore, le jury des épreuves d'admission s'est réparti en deux commissions travaillant en parallèle pour le passage des épreuves orales, une par épreuve. Cette organisation permet d'une part l'évaluation équitable des prestations des candidats lors de l'étude critique de dossier et lors de la leçon, car chaque commission voit chaque candidat une fois. Cela permet d'autre part le déroulement des épreuves sur deux jours consécutifs pour chaque candidat.

Évaluer la capacité des candidats à assurer une mise à niveau de leurs connaissances est un des objectifs assignés à ce concours parce que l'évolution continue des techniques et des connaissances dans les champs disciplinaires couverts par le programme nécessite une remise en question permanente de la part des futurs agrégés.

Chaque épreuve nécessite d'autre part, comme cela a été précisé dans les rapports spécifiques, d'aborder le sujet par un temps de réflexion pour cerner le sujet et la problématique, de faire preuve de bon sens, d'avoir présent à l'esprit la volonté de transmettre un message qui aidera, certes, à la structuration d'une composition écrite ou d'une présentation orale, mais aussi à distinguer l'essentiel de l'accessoire. Il convient de ne pas oublier que l'agrégation est un concours d'enseignement qui évalue également l'aptitude des candidats à organiser, structurer, présenter un propos et de le faire avec une didactique efficace. L'esprit de synthèse et les choix qui en découlent sont des qualités essentielles pour un professeur et cela encore plus lorsque le corpus de connaissances attendues est très important.

Les travaux pratiques, qui constituent une des originalités de ce concours ont pu cette année, remplir leur rôle, emblématique de cette agrégation, préfigurant une part non négligeable des enseignements auxquels sera confronté le futur agrégé de Biochimie-Génie Biologique. Il a en effet été possible cette session, d'évaluer les compétences qui se déploient dans les laboratoires de biochimie de microbiologie, de biologie humaine de biologie moléculaire, de biologie cellulaire, indispensables pour assurer la formation en STL biotechnologies, en BTS de biologie appliquée, en CPGE Technologie Biologie ou en BUT de génie biologique, dans lesquelles enseignent les professeurs agrégés de BGB. Ces compétences sont également indispensables pour la mise en œuvre de manipulations en laboratoire de recherche en biologie pour ceux qui choisiront la recherche.

Pour l'épreuve d'étude critique de dossier, l'accès à Internet représente incontestablement une aide lors de l'épreuve, aussi bien en matière de traduction des articles fournis très souvent en anglais scientifique, que pour découvrir certains concepts du dossier scientifique. Cependant, cette perspective faussement rassurante ne doit pas abuser les futurs candidats car elle ne peut en aucun cas pallier l'absence de maîtrise des concepts majeurs *a priori*. Cette épreuve nécessite également de développer une pratique de la lecture et de l'analyse d'articles scientifiques nombreux et variés afin de se familiariser avec cette approche bibliographique de la recherche pour bien se préparer à l'épreuve.

Certains candidats ont impressionné le jury par leur maîtrise de l'analyse des articles ou du sujet, et de la présentation de concepts, scientifiques ou technologiques complexes. Il encourage les candidats non reçus à persévérer dans leur projet, d'autant que tous ont fait preuve de qualités remarquables dans certaines épreuves.

Au nom de l'ensemble du jury, je tiens à remercier Madame Nora MACHURÉ, Provisure de l'ENCPB et son équipe : proviseurs-adjoints, DDFPT, professeurs agrégés de Biochimie-Génie Biologique (concepteurs de sujet et préparateurs des épreuves pratiques), qui ont anticipé et préparé les TP avec l'aide des personnels de laboratoire de chimie, de biochimie, de microbiologie, de biologie cellulaire et moléculaire, avant d'évaluer les prestations des candidats. Le jury remercie également le personnel administratif, ainsi que le personnel d'accueil et d'entretien, pour l'accueil et le travail efficace concernant l'organisation et l'application du protocole sanitaire tout au long du déroulement de ce concours. Grâce à l'engagement de chacun des acteurs impliqués dans sa préparation et son organisation, la session 2021 de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique a pu avoir lieu dans des conditions très satisfaisantes malgré les contraintes liées à la crise sanitaire.

Les membres du jury du TP de microbiologie souhaitent remercier chaleureusement Samia Hicham et Ivo Gomperts Boneca de l'Unité de Biologie et Génétique de la paroi bactérienne de l'Institut Pasteur pour leur expertise précieuse, la fourniture de matériels, milieux de culture et souches d'*H. pylori*.

Enfin, je rends hommage au vice-président, Monsieur Henri-Jean BOULOUIS, professeur à l'école vétérinaire de maison Alfort, pour son engagement sans faille dans ce concours, tout d'abord auprès de Jean FIGARELLA, Inspecteur Général de biotechnologies qui fut doyen du groupe STI, puis auprès des autres inspecteurs généraux qui lui ont succédé dans le directoire de l'agrégation de Biochimie-Génie Biologique. Qu'il soit remercié pour avoir fortement contribué à maintenir un concours de très haut niveau, avec une forte exigence scientifique aussi bien que des qualités humaines essentielles dans nos métiers de relation.