

SESSION 2023

AGRÉGATION
Concours interne et CAER

Section
BIOCHIMIE - GÉNIE BIOLOGIQUE

Première épreuve

L'épreuve prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique.

Durée : 6 heures

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

Il appartient au candidat de vérifier qu'il a reçu un sujet complet et correspondant à l'épreuve à laquelle il se présente.

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

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

Le fait de rendre une copie blanche est éliminatoire.

A

Tournez la page S.V.P.

INFORMATION AUX CANDIDATS

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

AGRÉGATION INTERNE BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIE

► **Concours interne de l'Agrégation de l'enseignement public :**

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EAI	7100A	101	0809

► **Concours interne de l'Agrégation de l'enseignement public :**

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EAI	7100A	101	0809

Cette épreuve prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique. Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :

- mobiliser ses connaissances scientifiques et technologiques pour expliciter ou valider les solutions retenues ;
- utiliser une des ressources proposées pour élaborer un support pédagogique permettant la transmission ou l'évaluation de connaissances et de méthodes par les élèves à un niveau de formation déterminé.

Le candidat doit situer l'exercice dans un processus d'apprentissage et doit le situer par rapport aux autres enseignements scientifiques ou technologiques qui lui sont associés.

Dans le sujet, les lettres **ST** identifient les questions mobilisant les compétences et connaissances scientifiques et technologiques, la lettre **P** identifie les questions d'ordre pédagogique.

Des extraits de référentiels et de programmes sont regroupés en annexe en fin de sujet.

Apport des biotechnologies dans l'industrie laitière

Les laits fermentés contenant des probiotiques sont consommés sur tous les continents. Des études montrent leurs effets bénéfiques, en lien avec le microbiote, sur certains processus biologiques comme la régulation du système immunitaire ou la prévention des maladies cardiovasculaires. D'autres éléments ayant des effets bénéfiques sur le microbiote ont également été caractérisés : les prébiotiques, les postbiotiques et les symbiotiques (**Document 1**).

Dans le cadre de l'enseignement optionnel de santé et social en classe de seconde, un projet local sur les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin est entrepris.

P1. Proposer un support pédagogique d'une page, présentant une synthèse sur les concepts de prébiotique, probiotique, postbiotique et symbiotique, à partir du **document 1**. L'objectif est de faire découvrir à des élèves de seconde les liens entre alimentation, microbiote et inflammation digestive.

Les deux premières parties du sujet portent sur des pistes d'amélioration de la production de laits fermentés contenant des probiotiques. La troisième partie présente une technique de détection rapide d'un contaminant dans le lait et ses produits dérivés. Les trois parties sont indépendantes.

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

La fabrication d'un lait fermenté riche en probiotiques nécessite des conditions de culture permettant à la fois une acidification suffisante du lait (pH 4,5) et une production de biomasse importante de bactéries probiotiques. La plupart des souches utilisées ont des vitesses de croissance faibles dans le lait. Des études sont menées afin d'améliorer la croissance de *Lactobacillus casei* dans le lait. Une approche courante est d'ajouter des suppléments de croissance, comme des extraits de levure et des peptones. Plus récemment, il a été envisagé d'utiliser des extraits de bactéries lactiques lysées. Ainsi l'utilisation de phages lytiques pourrait être une stratégie d'amélioration de la fabrication de lait fermenté enrichi en *L. casei*.

Le **document 2** présente les résultats des expériences de co-culture de *Lactobacillus casei* et de *Streptococcus thermophilus* en présence de phages lytiques.

- ST1.** Analyser les résultats et en déduire les conditions optimales de croissance de *L. casei*. L'analyse des phases et la détermination des paramètres de croissance est attendue.
- ST2.** Rédiger un mode opératoire en vue du dénombrement de *L. casei* au temps 72h pour la condition « LC ».
- ST3.** Discuter de l'intérêt de l'ajout de lysat de *S. thermophilus* pour la production d'un lait fermenté de pH égal à 4,5 riche en *L. casei*. Émettre une ou des hypothèses pouvant expliquer ces résultats.

Le **document 3** présente les résultats d'une expérience visant à étudier l'influence d'un extrait cellulaire de *S. thermophilus* (CCE) sur l'acidification du lait et sur la croissance de *L. casei*.

- P2.** Proposer un ou des documents de présentation de la démarche d'analyse du tableau à conduire en vue de permettre l'exploitation des résultats du **document 3**. Ces documents sont à cibler pour des étudiants de STS biotechnologies.

2. Amélioration des bactéries lactiques par transfert de gènes

L'amélioration génétique de bactéries lactiques est une stratégie industrielle en développement. Elle pourrait permettre, par exemple, de conférer de nouvelles propriétés à un lait fermenté telles qu'une texture lisse et crémeuse ou bien des activités probiotiques intéressantes pour la santé humaine.

Certaines espèces possèdent naturellement la capacité d'acquérir de l'ADN exogène en entrant dans un état physiologique appelé « compétence pour la transformation ». La transformation augmente l'adaptabilité des souches bactériennes en favorisant la plasticité du génome par l'échange de gènes. Le mécanisme d'entrée en compétence et de transformation repose sur l'activation de la synthèse de la machinerie capable d'importer de l'ADN exogène puis de le recombinaison au génome.

Le **document 4** présente un modèle de voie de signalisation chez *Streptococcus thermophilus* aboutissant à l'expression des gènes *com*, puis à l'entrée en compétence. Les gènes *com* précoces sont appelés *comS*, *comR* et *comX*. Ils induisent la transcription de gènes tardifs tels que *comGC*.

Un produit du gène *comS* serait un bon candidat pour l'activation de la transformation. Le **document 5** présente l'étude du taux de transformation de *Streptococcus thermophilus* en présence de différents peptides.

- ST4.** Argumenter l'utilisation de l'érythromycine pour la détermination du taux de transformation.
- ST5.** Analyser les résultats du **document 5** afin de mettre en évidence le rôle de l'étape 1 de la voie de signalisation présentée dans le **document 4**. En déduire, parmi les peptides synthétiques présentés dans le **document 5**, lequel doit être ajouté dans le lait pour induire l'entrée en compétence des bactéries lactiques.

La mesure de l'activité luciférase, à l'aide d'un test approprié, permet d'analyser le mécanisme de régulation transcriptionnelle des gènes contrôlés par le promoteur de *comX*. Un vecteur d'expression contenant le gène de la luciférase sous contrôle du promoteur de *comX* est introduit dans la cellule. Le substrat de la luciférase est rajouté dans le milieu de culture. Un suivi de croissance (OD₆₀₀) est réalisé parallèlement à la mesure de l'activité luciférase (RLU) dans des souches de *S. thermophilus* délétées ou non des gènes *comR* ou *comS*. Les résultats sont présentés dans le **document 6**.

- ST6.** Expliquer l'intérêt de la normalisation de l'activité luciférase (RLU) par rapport à la OD₆₀₀.
- ST7.** Montrer que les résultats présentés dans le **document 6** sont en cohérence avec le modèle proposé dans le **document 4**.

Afin d'étudier les mécanismes ultérieurs impliqués dans la transformation naturelle, les chercheurs s'intéressent à un opéron *comG* conservé dans toutes les souches transformables à Gram positif.

Une copie du gène codant la protéine de pilus Com GC, fusionnée du côté C-terminal à une étiquette (FLAG), a été introduite dans le chromosome bactérien de *S.pneumoniae* sous le contrôle d'un promoteur induisant l'état de compétence. Les résultats sont présentés dans le **document 7**.

ST8. Schématiser, au niveau moléculaire, le principe de la chromatographie d'affinité utilisée dans le **document 7**.

ST9. Proposer un rôle possible du pilus synthétisé par un streptocoque naturellement compétent dans le contexte de l'amélioration de souches dans l'industrie laitière.

Cette stratégie d'amélioration génétique des bactéries lactiques pourrait être utilisée par les industriels. Une réflexion doit préalablement être menée au regard de la réglementation en vigueur sur les OGM dont des extraits sont présentés dans le **document 8**.

ST10. Discuter l'appartenance des micro-organismes améliorés par compétence naturelle au groupe des OGM. En déduire les avantages de leur utilisation par l'industrie laitière.

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

Escherichia coli est une bactérie commensale du tube digestif des mammifères. Certaines souches sont pathogènes et, par conséquent, nécessitent d'être identifiées au cours des procédés de fabrication d'aliments transformés. *E.coli* O157:H7, agent causal de toxi-infection alimentaire collective, peut contaminer le lait et ses produits dérivés comme les yaourts et les laits fermentés. Son identification rapide dès la collecte du lait, participe à la maîtrise du risque sanitaire au cours de la production. L'amplification isotherme en temps réel assistée par une recombinaise (PMA-rRAA : Propidium MonoAzide - real time Recombinase Aided Amplification) est une méthode émergente permettant la détection en temps réel d'un ADN cible provenant de bactéries vivantes. Elle a également l'avantage d'être réalisable sur le terrain.

Le synoptique de la méthode PMA-rRAA ainsi que des résultats expérimentaux obtenus sur des laits contaminés artificiellement sont consignés dans les **documents 9 et 10**.

ST11. Argumenter la capacité de la technique à discriminer les bactéries vivantes des bactéries mortes.

ST12. Discuter, à partir de l'analyse du **document 10**, de la capacité de la méthode à détecter, quantifier *E. coli* O157:H7 dans les laits contaminés.

Le **document 11** présente le schéma de la réaction d'amplification assistée par une recombinaise qui a lieu au cours de la PMA-rRAA.

ST13. Décrire les événements moléculaires pour chaque étape de la réaction. Préciser, le cas échéant, la ou les activité(s) enzymatique(s) impliquée(s).

ST14. Expliquer pourquoi cette technique fonctionne en condition isotherme.

La protéine Uvs X, après s'être liée de manière coopérative à l'amorce simple brin, est responsable de la spécificité de la réaction. En effet, le complexe UvsX/amorces se déplace sur l'ADN matrice à la recherche de séquences homologues.

Uvs X est présente sous quatre états au cours de la réaction : un état libre et trois états liés : lié à l'amorce, lié à l'amorce et à l'ADN double brin, lié à l'amorce elle-même en cours d'hybridation à l'ADN homologue.

ST15. Expliciter les variations d'affinité d'UvsX au cours des étapes de la réaction.

Le **document 12** présente la méthode de détection mise en œuvre au cours de la PMA-rRAA.

ST16. Dégager du **document 12** le principe de la détection utilisée dans la PMA-rRAA.

L'identification d'*E.coli* O157:H7 par la PMA-rRAA repose sur l'amplification de l'allèle du gène *fliC* codant la forme H7 de la flagelline.

Le **document 13** présente un alignement des séquences du gène *fliC* de différentes souches d'*E.coli* dont des souches O157:H7.

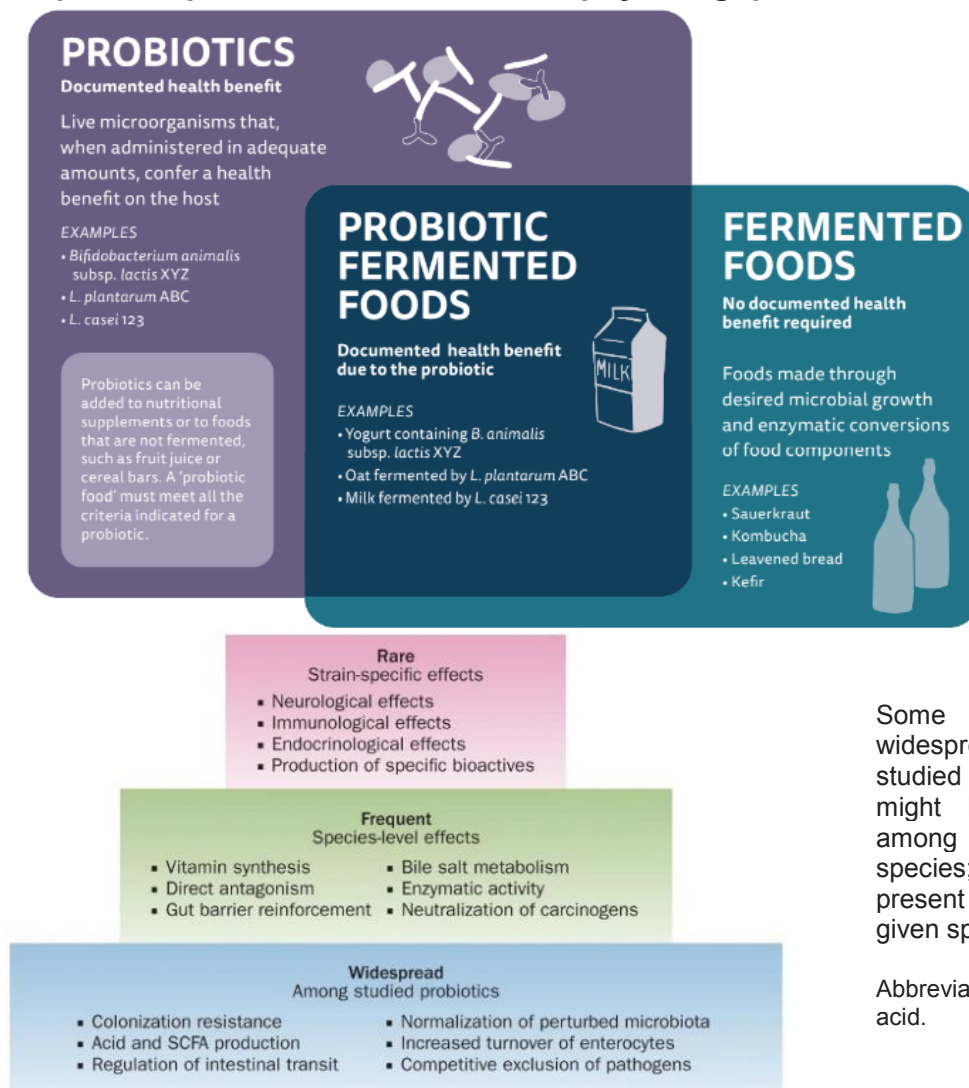
ST17. Expliquer les critères permettant de choisir les séquences des amorces et de la sonde. Illustrer la réponse en proposant une position possible pour chacune des séquences.

P3. Proposer un quizz de 5 à 7 questions à destination d'étudiants de CPGE TB, « Technologie et Biologie », permettant d'évaluer l'appropriation par l'étudiant du principe de la PMA-rRAA en comparaison au principe de la qPCR en temps réel. Ce quizz permettra également de vérifier que leurs avantages et leurs limites sont comprises.

Document 1 : Les différentes catégories de « biotiques »

Extrait de Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology, 2014,2017,2020, 2021

Les probiotiques : définitions et effets physiologiques

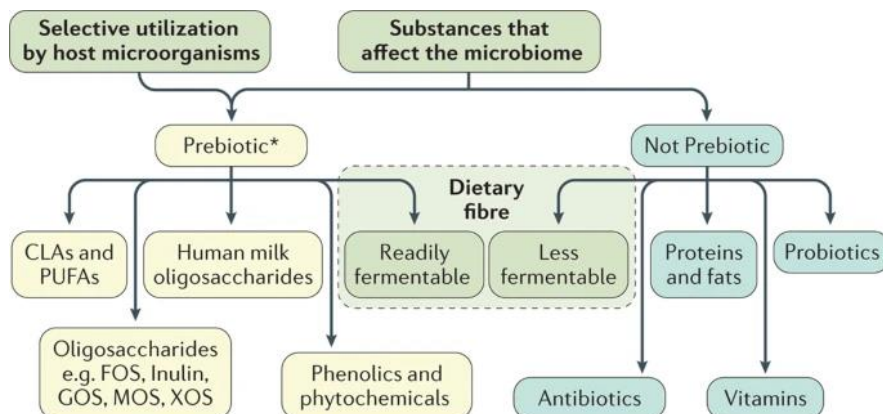


Some mechanisms might be widespread among commonly studied probiotic genera; others might be frequently observed among most strains of probiotic species; others may be rare and present in only a few strains of a given species.

Abbreviation: SCFA, short-chain fatty acid.

Les prébiotiques : composition et effets physiologiques

Dietary prebiotics must not be degraded by the target host enzymes.



*Abbreviations: CLA, conjugated linoleic acid; PUFA, polyunsaturated fatty acid; FOS, fructooligosaccharides; GOS, galactooligosaccharides; MOS, mannanoligosaccharide; XOS, xylooligosaccharide.

Examples of the effects of prebiotics

Health end point	Prebiotic used
Metabolic health: overweight and obesity; type 2 diabetes mellitus; metabolic syndrome and dyslipidaemia; inflammation	Inulin, GOS, FOS
Improved absorption of calcium and other minerals, bone health	Inulin, FOS
Immune function in elderly* individuals	GOS

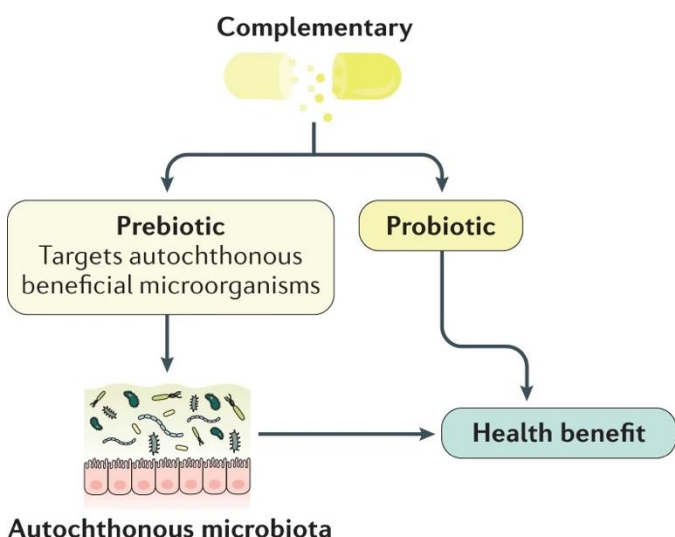
*elderly : agé

Health end point	Prebiotic used
Allergy	FOS, GOS
Inflammatory bowel disease	Inulin, lactulose
Constipation	Inulin

Les postbiotiques : exemple de résultats de tests cliniques

Participants	Intervention	Main conclusions
Patients with Irritable Bowel Syndrome with diarrhoea	Lacteol (inactivated <i>L. acidophilus</i> LB plus fermented culture medium), two capsules daily	Improved scores for pain, bloating, frequency of diarrhoea and quality of life
Chronic stress responses in medical students	Heat-inactivated, washed and dried <i>L. gasseri</i> strain CP2305 (1×10^{10} bacterial cells per two tablets)	Significant reduction in anxiety and sleep disturbance and resolution of stress-related microbiota changes
Patients with moderate, persistent asthma	Inhaled inactivated <i>Mycobacterium phlei</i> versus salmeterol xinafoate and fluticasone propionate powder	Symptom scores and spirometry improved to the same extent in both groups
Patients with recurrent respiratory tract infections	Lantigen B (Bruschettini Srl.), a suspension of bacterial antigens obtained from <i>S. pneumoniae</i> type 3, <i>S. pyogenes</i> group A, <i>B. catarrhalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>H. influenzae</i> type B and <i>K. pneumoniae</i> in oral drops	Significant reduction in the number of acute infectious episodes and use of antibiotics in the active group
Patients with cancer and leukopenia following chemotherapy	DEODAN, an oral preparation, obtained from lysozyme lysates of <i>Lactobacillus bulgaricus</i> strain	Recovery of white blood count between days 3 and 5 in all patients

Les symbiotiques complémentaires



Document 2 : Étude de l'influence de co-cultures sur la croissance d'un probiotique et sur son pouvoir acidifiant

Adaptée de Ma et al., International Journal of Food Microbiology, 2015

Le milieu de culture utilisé est composé de lait écrémé en poudre reconstitué et stérilisé. Il est inoculé avec des suspensions bactériennes à $5 \cdot 10^6$ UFC.mL⁻¹ à t=0h.

Les différentes conditions testées sont :

- LC: Lait fermenté par *L. casei*;
- LC-ST: Lait fermenté par *L. casei* et *S. thermophilus* ;
- LC-ST-P: Lait fermenté par *L. casei* et *S. thermophilus* en présence de phages lytiques de *S. thermophilus* (à $1 \cdot 10^2$ UFP.mL⁻¹).

Abréviations : UFC : unité formant colonie ; UFP : unité formant plaque.

Les courbes de suivi de croissance et d'acidification sont présentées dans les figures 1 et 2.

La croissance de *L. casei* est suivie toutes les 12h grâce à un dénombrement en surface d'une gélose MRS (de Man, Rogosa, Sharpe).

Figure 1 : Suivi de la croissance de *L. casei* au cours de la fermentation du lait

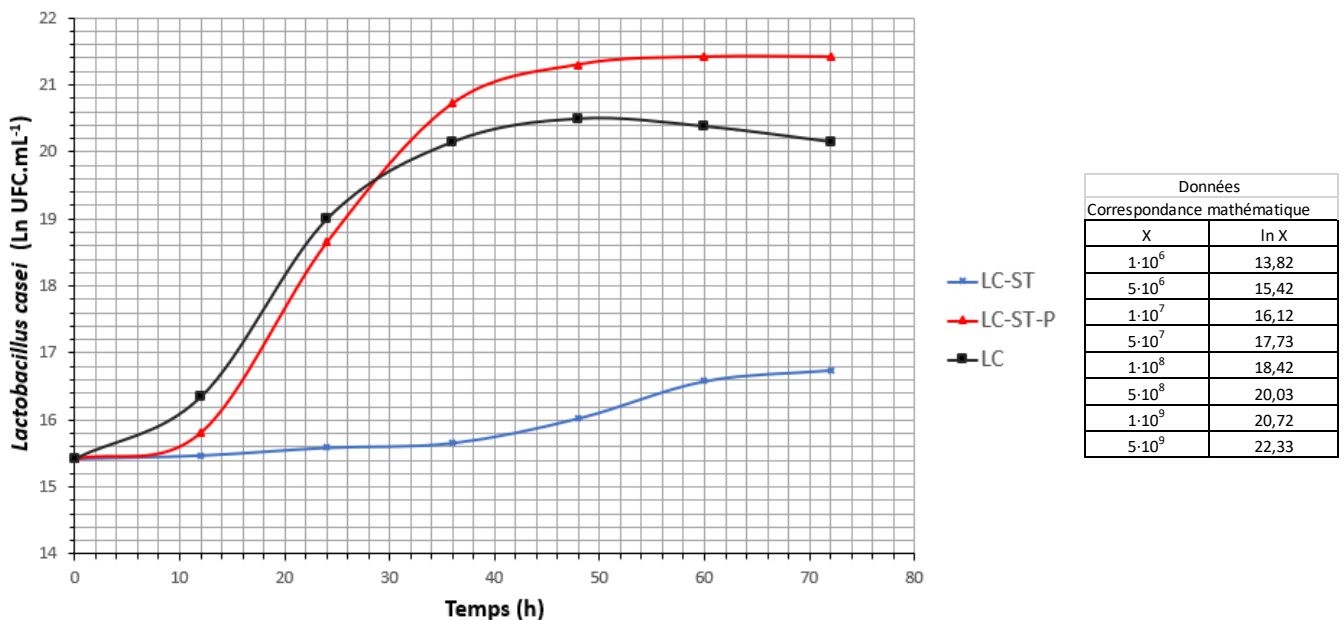
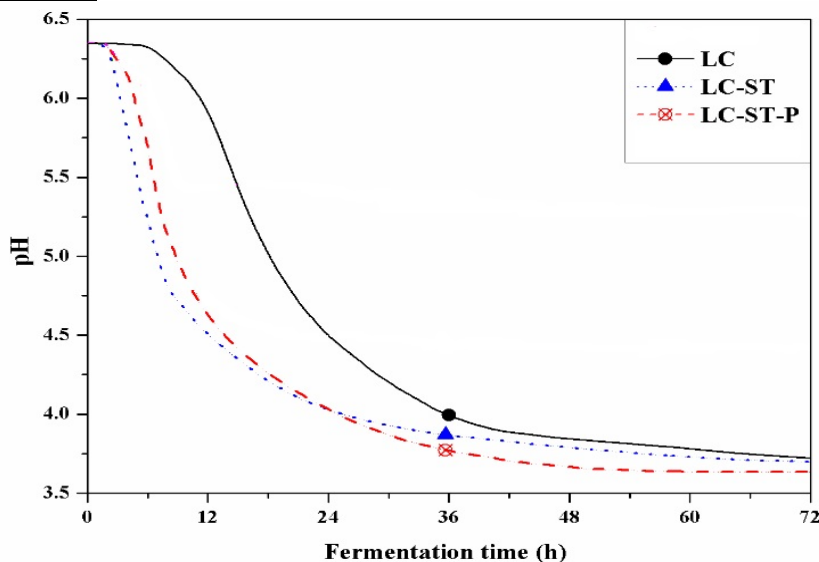


Figure 2 : Suivi de l'acidification du lait au cours de la fermentation



Document 3 : Étude de l'effet de différents lysats sur la croissance et le pouvoir acidifiant de *L. casei*

Adaptée de Ma et al., *International Journal of Food Microbiology*, 2015

Les conditions testées sont les suivantes :

- RSM: Lait fermenté sans supplémentation;
- CCE_{N 0,02%}, CCE_{N 0,2%} and CCE_{N 2,0%} : Lait fermenté contenant respectivement 0,02% ; 0,2% et 2,0% de CCE (extrait bactérien) **natif** ;
- CCE_{H 0,02%}, CCE_{H 0,2%} and CCE_{H 2,0%}: Lait fermenté contenant respectivement 0,02% ; 0,2% et 2,0% de CCE (extrait bactérien) **chauffé**.

Tableau de résultats :

Échantillon	Valeurs de pH				Dénombrement <i>L. casei</i> (log UFC · mL ⁻¹)
	0 h	24 h	48 h	72 h	
RSM	6,36 ± 0,03 ^a	4,98 ± 0,06 ^a	3,86 ± 0,05 ^a	3,74 ± 0,03 ^a	8,83 ± 0,16 ^a
CCE _{N 0,02%}	6,36 ± 0,03 ^a	4,92 ± 0,05 ^a	3,81 ± 0,04 ^a	3,73 ± 0,03 ^a	8,89 ± 0,15 ^a
CCE _{N 0,2%}	6,36 ± 0,03 ^a	4,61 ± 0,06 ^c	3,69 ± 0,06 ^b	3,59 ± 0,02 ^b	9,28 ± 0,10 ^b
CCE _{N 2,0%}	6,38 ± 0,03 ^a	4,28 ± 0,04 ^d	3,64 ± 0,04 ^b	3,57 ± 0,03 ^b	9,40 ± 0,17 ^b
CCE _{H 0,02%}	6,35 ± 0,03 ^a	4,99 ± 0,05 ^a	3,87 ± 0,07 ^a	3,75 ± 0,03 ^a	8,82 ± 0,12 ^a
CCE _{H 0,2%}	6,37 ± 0,03 ^a	4,97 ± 0,07 ^a	3,86 ± 0,06 ^a	3,73 ± 0,04 ^a	8,87 ± 0,11 ^a
CCE _{H 2,0%}	6,38 ± 0,03 ^a	4,80 ± 0,05 ^b	3,71 ± 0,05 ^b	3,62 ± 0,03 ^b	9,16 ± 0,14 ^b

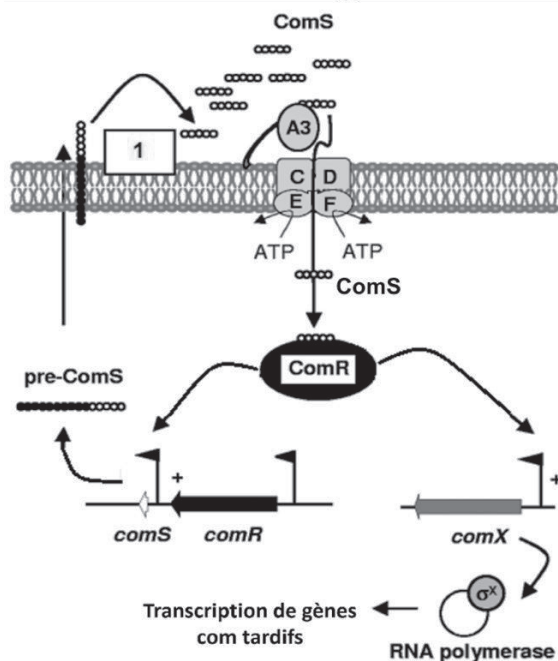
Chaque valeur est la moyenne de manipulations réalisées en triplicat.

Pour chacune des colonnes indépendamment, les lettres en exposant, a, b, c, d, indiquent les groupes de résultats significativement différents (p < 0.05), le cas échéant.

Conclusion : l'expérience montre une meilleure acidification du lait et une production de biomasse plus importante de *L. casei* en présence de 0,2 et de 2 % d'extraits cellulaires natifs de *S. thermophilus*.

Document 4 : Modèle de voie de signalisation rencontrée chez *Streptococcus thermophilus*

Adapté de Fontaine et al., *Journal of Bacteriology*, 2010



Document 5 : Étude du taux de transformation de *S. thermophilus* en présence de peptides synthétiques

Adapté de Fontaine et al., *Journal of Bacteriology*, 2010

Procédure opératoire

Une souche de *Streptococcus thermophilus* délétée du gène *comS* est mise en culture en présence de 1 µg de plasmide contenant un gène de résistance à l'érythromycine. Après 1h30 de culture, différents peptides synthétiques sont ajoutés à différentes concentrations dans le milieu de culture. Après 5 h de croissance, la culture est étalée sur un milieu contenant de l'érythromycine et incubée pendant 30 h. En parallèle, la culture est étalée sur un milieu sans érythromycine dans les mêmes conditions.

Le taux de transformation de *S. thermophilus* délété du gène *comS* est calculé en faisant le rapport entre le nombre d'UFC se développant sur le milieu contenant l'érythromycine pour un mL, et le nombre total d'UFC viables par mL.

Le gène *comS* code un prépeptide ComS dont la séquence est connue :

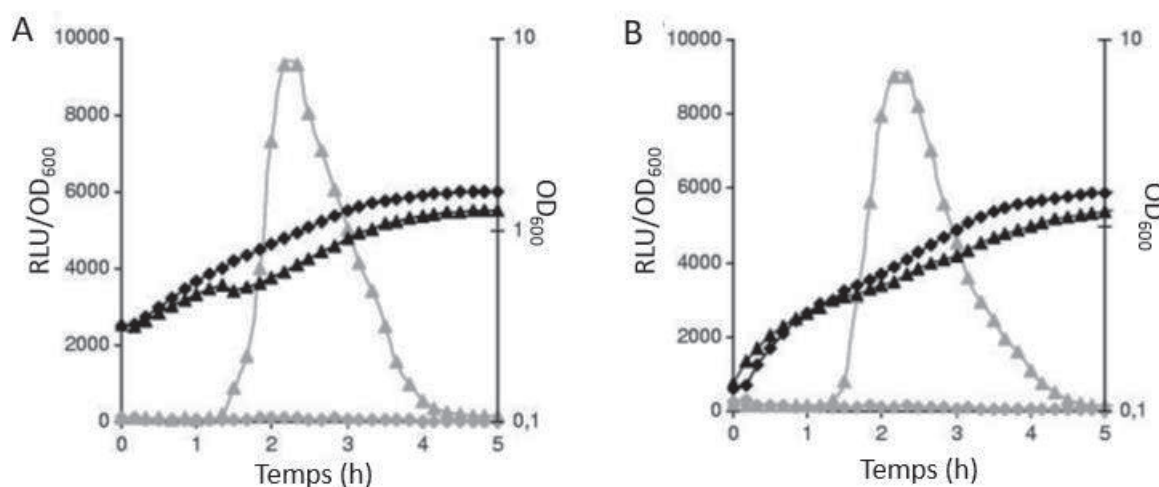
MKTLKIFVLFSLLIAILPYFAGCL

Résultats de l'étude de différents peptides synthétiques

Numéro du peptide	Séquence des différents peptides synthétiques	Taux de transformation
1	PYFAGCL	++++
2	LPYFAGCL	+++
3	ILPYFAGCL	++
4	AILPYFAGCL	+
5	MKTLKIFVLFSLLIAILPYFAGCL	-

Document 6 : Étude du rôle de ComR et de ComS dans l'activation du promoteur du gène *comX* chez *S. thermophilus*.

Adapté de Fontaine et al., *Journal of Bacteriology*, 2010



A. La croissance (OD₆₀₀; noir) et l'activité luciférase (RLU/OD₆₀₀; gris) sont présentées pour une souche sauvage (triangles) et une souche délétée dans le gène **comR** (losanges).

B. La croissance (OD₆₀₀; noir) et l'activité luciférase (RLU/OD₆₀₀; gris) sont présentées pour une souche sauvage (triangles) et une souche délétée dans le gène **comS** (losanges).

OD₆₀₀ : mesure de l'atténuation à 600 nm

Document 7 : Étude de l'interaction entre le pilus de transformation et un fragment d'ADN exogène des streptocoques.

Adapté de Laurenceau et al., Plos Pathogens, 2013

Protocole de purification par affinité du pilus (A)

Une culture de l'espèce *S. pneumoniae* recombinée avec le gène *comGC-FLAG* est incubée avec un peptide stimulant la compétence pendant 12 min à 37°C. La culture est centrifugée à 4°C pendant 15 min à 4500 g.

Le culot repris dans du milieu LB est vortexé pendant 1 min afin d'appliquer une pression mécanique.

La suspension est centrifugée 5 min à 13000 g afin de séparer les bactéries culottées d'un surnageant riche en pilus constitués de ComGC étiquetés.

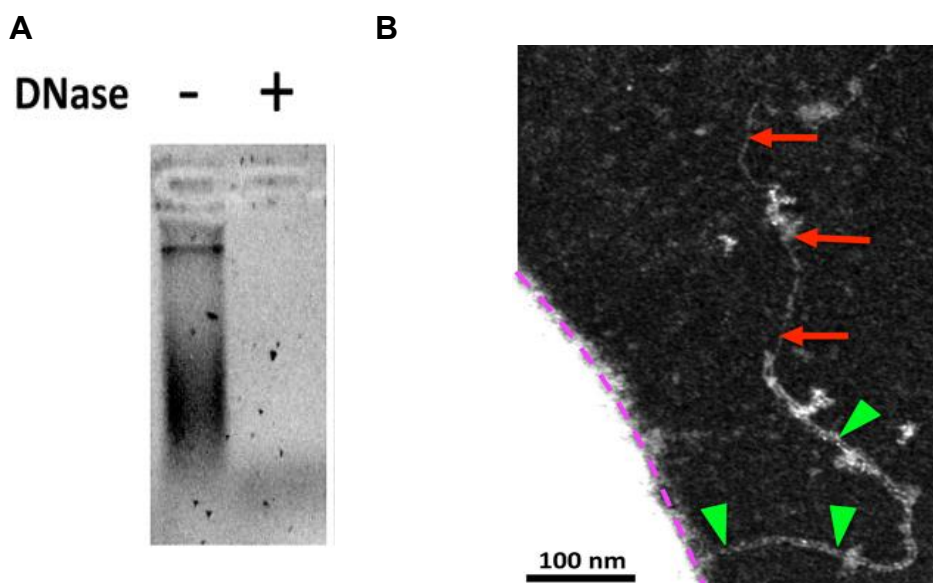
Le surnageant, précipité et purifié, est incubé toute la nuit à 4°C sous agitation sur une résine d'affinité contenant un anticorps anti-FLAG.

Après lavage de la résine, l'élué est réalisé par ajout d'un peptide FLAG à 100 µg.mL⁻¹, à température ambiante sous agitation.

Pour la détection de l'ADN naturellement lié au pili, 20 µg de pili élués sont déposés sur gel d'agarose 1% contenant du Gel green.

En microscopie électronique (B),

la culture de bactéries est mélangée avec de l'ADN exogène avant l'observation.



A. La protéine de pilus Com GC étiquetée (Com GC-FLAG) est purifiée par immuno-chromatographie d'affinité à l'aide d'anticorps anti-FLAG. L'ADN co-purifié avec la protéine Com GC, traité ou non à la DNase, est révélé après migration sur gel d'agarose marqué par un intercalant de l'ADN (Gel Green).

B. Observation en microscopie électronique à transmission d'ADN double brin linéaire (flèches rouges) et de pilus (flèches vertes) de *S. pneumoniae* rendu compétent ; l'enveloppe de la bactérie est délimitée par des tirets violets.

Document 8 : Extraits législatifs concernant les OGM

Extraits :

- Directive 2001/18/CE : directive européenne encadrant la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement.
- Règlement CE n° 1829/2003 concernant les denrées alimentaires et les aliments génétiquement modifiés.
- Code de l'environnement

La directive européenne 2001/18/CE définit un « organisme génétiquement modifié » ou "OGM", comme un organisme vivant, capable de se reproduire, et dont le matériel génétique a été modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelles.

Elle prévoit qu'un OGM ne peut être mis sur le marché ou disséminé dans l'environnement sans autorisation préalable. Cette autorisation ne peut être délivrée qu'après une évaluation au cas par cas des risques pour la santé et l'environnement.

Selon l'arrêt du 25 juillet 2018, la Cour de justice de l'Union européenne considère que les organismes obtenus par mutagenèse sont des OGM au sens de la directive sur les OGM, dans la mesure où les techniques et méthodes de mutagenèse modifient le matériel génétique d'un organisme d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement.

Le règlement CE n°1829/2003 concerne les denrées alimentaires et les aliments génétiquement modifiés. Il définit :

- Les « denrées alimentaires génétiquement modifiées » consistent en, ou contiennent des OGM, ou sont produites à partir d'OGM.
- Un « produit obtenu à partir d'OGM », est issu, en tout ou en partie, d'OGM, mais n'est pas un OGM et n'en contient pas : il s'agit d'un produit issu de la transformation d'un OGM (par exemple, de la farine obtenue après broyage de graines). On utilise également l'expression « produit dérivé ».

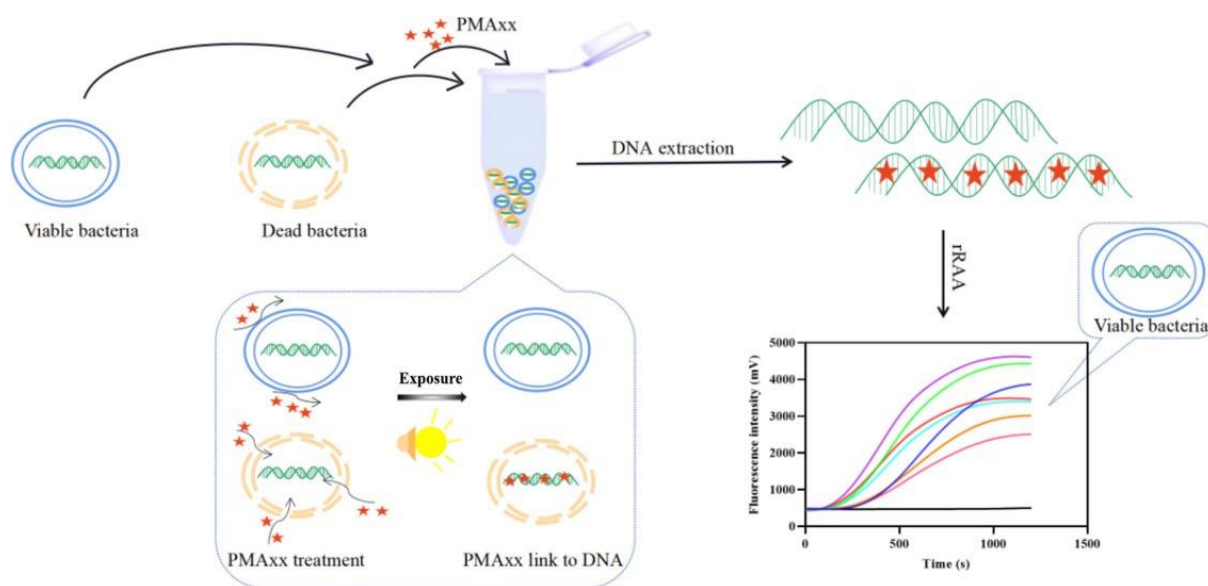
Il précise que les denrées alimentaires génétiquement modifiées doivent faire l'objet d'une autorisation basée sur une évaluation des risques, préalablement à leur mise sur le marché. Personne ne peut mettre sur le marché des denrées alimentaires génétiquement modifiées à moins qu'ils ne soient couverts par une autorisation européenne (articles 4.2 et 16.2 du règlement (CE) n° 1829/2003) : le principe de la « tolérance zéro » pour des OGM non autorisés s'applique en Europe.

Le code de l'environnement précise dans l'article D. 531-1 les techniques de modification génétique :

- Les techniques de recombinaison de l'acide nucléique impliquant la formation de nouvelles combinaisons de matériel génétique par l'insertion de molécules d'acides nucléiques produites par quelque moyen que ce soit, en dehors d'un organisme, dans un virus, dans un plasmide bactérien ou dans tout autre système vecteur, et leur incorporation dans un organisme hôte dans lequel elles ne sont pas présentes à l'état naturel mais dans lequel elles peuvent se multiplier de façon continue ;
- Les techniques impliquant l'incorporation directe dans un micro-organisme ou dans un organisme de matériaux héréditaires préparés à l'extérieur du micro-organisme, ou de l'organisme, la macro-injection, la micro-injection, la micro-encapsulation et la macro-encapsulation, l'électroporation et l'utilisation de micro projectiles ;
- Les techniques de fusion cellulaire (y compris la fusion de protoplastes) ou d'hybridation dans lesquelles des cellules vivantes présentant de nouvelles combinaisons de matériaux génétiques héréditaires sont constituées par la fusion de deux cellules ou davantage, au moyen de méthodes ne survenant pas de façon naturelle.

Document 9 : Synoptique de la mise en œuvre de la méthode PMA-rRAA dans le cadre de la recherche d'*E.coli* O157.H7 dans le lait.

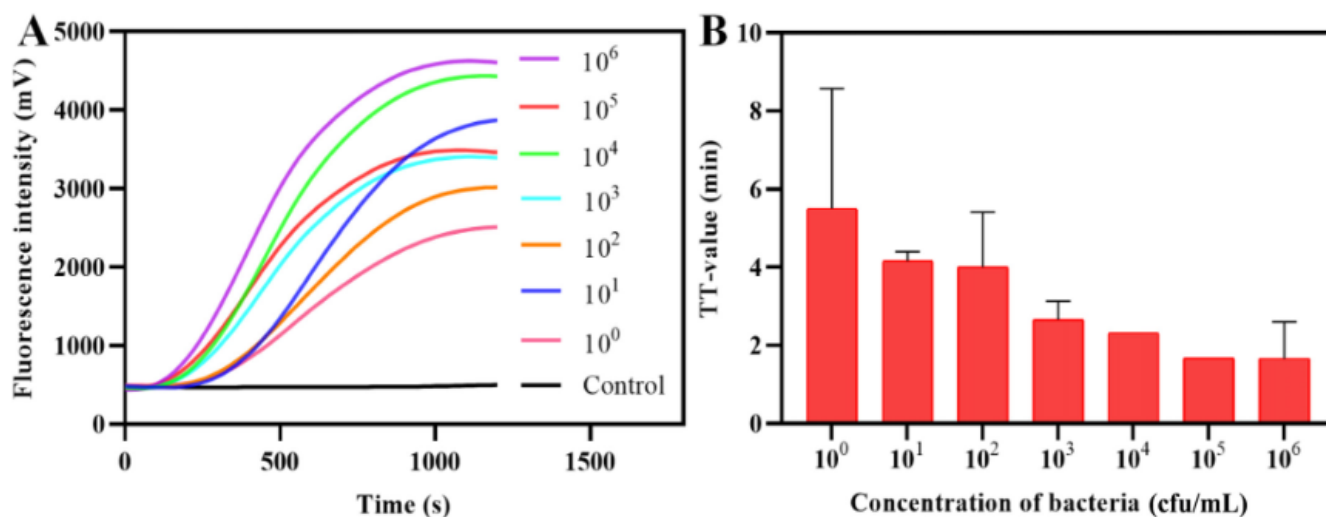
Adapté de Mu et al., Journal of Dairy Science, 2022



The first step is PMAxx treatment. PMAxx (propidium monoazide) permeates impaired membrane of dead bacteria in the dark. In bright visible light, the azide group of PMAxx is turned to a nitrene with high reactivity. The nitrene reacts with DNA bases to form an irreversible covalent bond that can inhibit DNA amplification. Viable bacteria with intact membrane keep PMAxx out. The second step (rRAA) is the isothermal amplification of genomic DNA at 39 °C and read-out of fluorescence signal at 520 nm specific of viable bacteria DNA.

Document 10 : Étude de la détection d'*Escherichia coli* O157:H7 par PMA-rRAA dans des échantillons de lait contaminé.

Adapté de Mu et al., Journal of Dairy Science, 2022

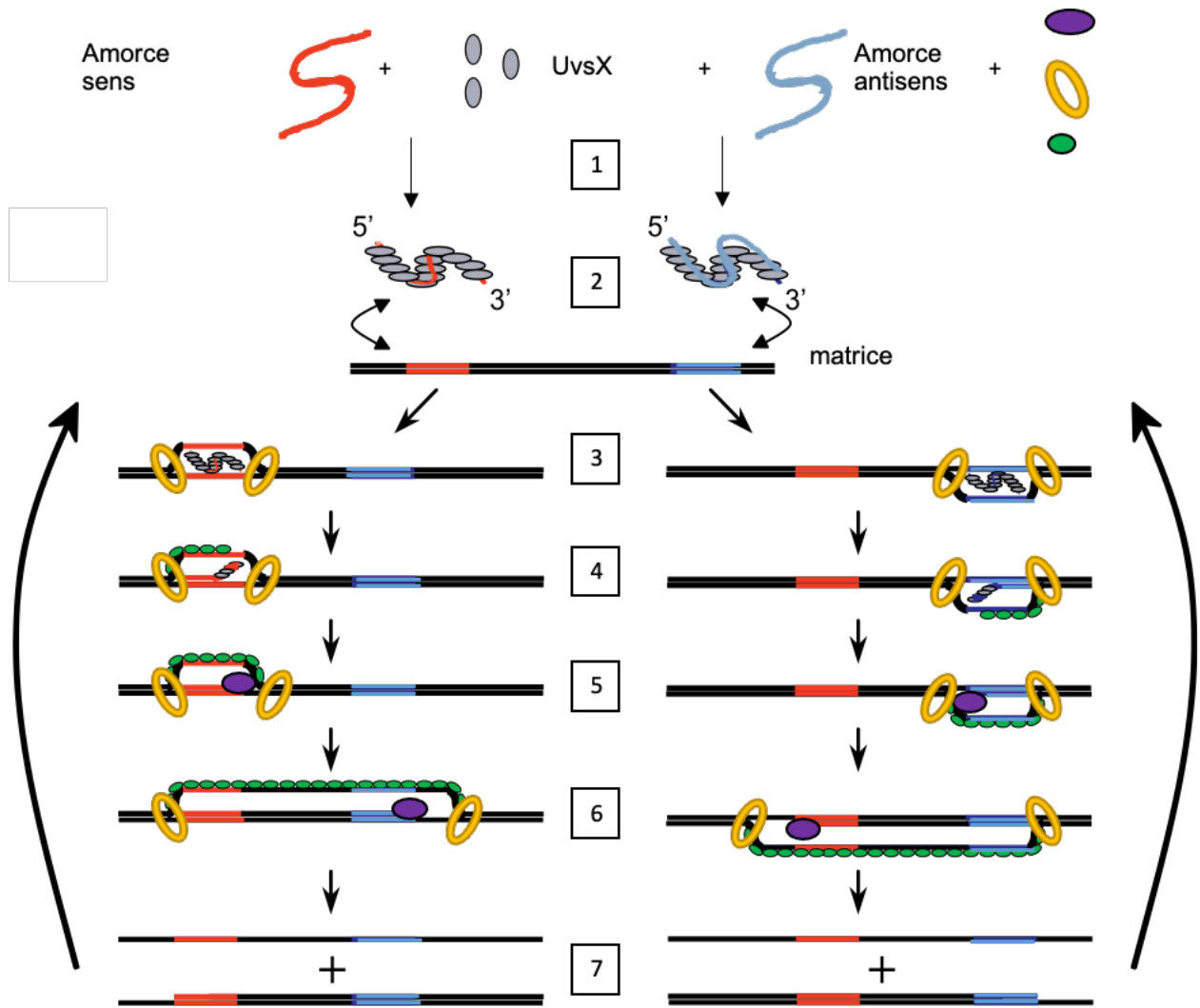


A. Courbes d'amplification pour différentes concentrations bactériennes d'*Escherichia coli* O157:H7 allant de 10⁰ à 10⁶ UFC.mL⁻¹.

B. Valeurs des temps-seuils (*time threshold* ou TT) correspondant aux différentes concentrations. Le temps-seuil correspond au temps de réaction permettant de dépasser une intensité de fluorescence seuil (intensité minimale significativement différente du bruit de fond). Les barres d'erreur représentent l'écart-type de 3 expériences indépendantes ; certaines barres d'erreur sont trop courtes pour être visibles.

Document 11 : Schéma de l'amplification assistée par une recombinaise

Adapté de Piepenburg et al., Plos Biology, 2004



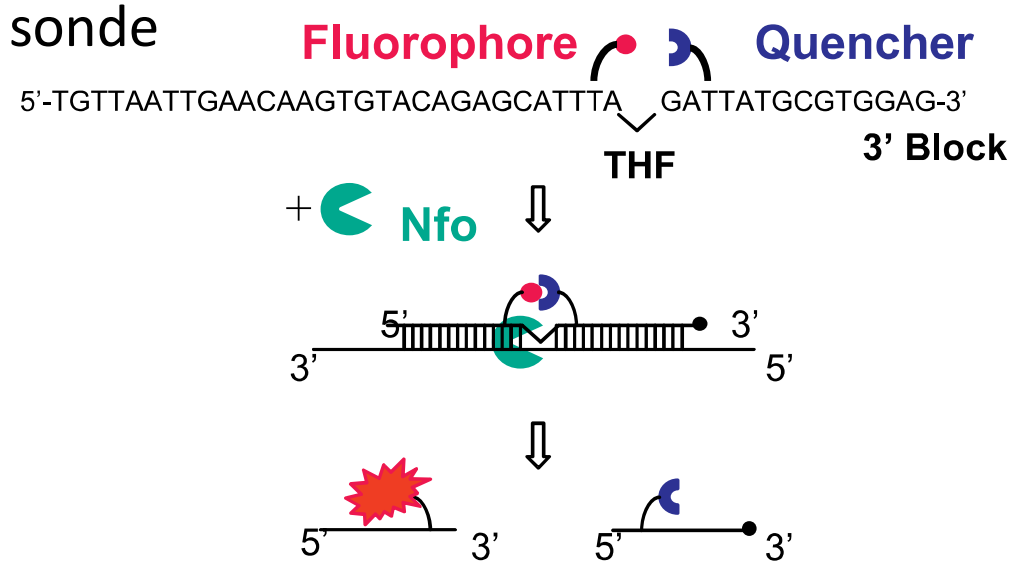
Réactifs nécessaires à l'amplification : Uvs W (hélicase), Uvs X (recombinaise), gp32 (protéine de liaison à l'ADNsb), amorces, ADN polymérase Bsu dépourvue d'activité 5'-3' exonucléase, dNTPs, tampon adéquat contenant du Mg^{2+} et de l'ATP.

Document 12 : Principe du système de détection utilisé au cours de la rRAA

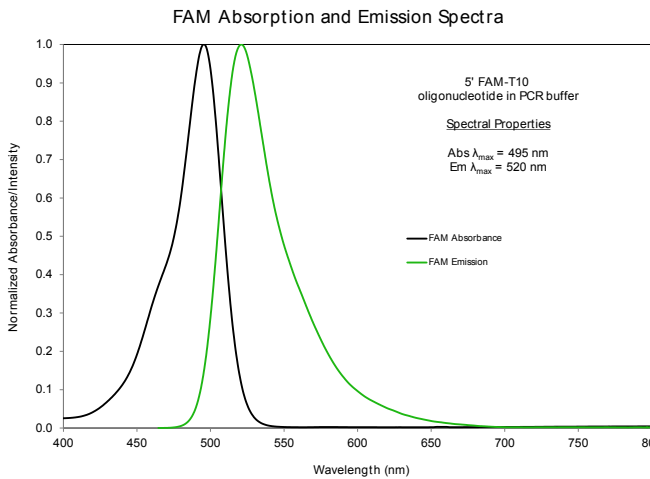
Adaptés de

- A. Piepenburg et al., Plos Biology, 2004
- B. et C. <https://biosearch-cdn.azureedge.net/>

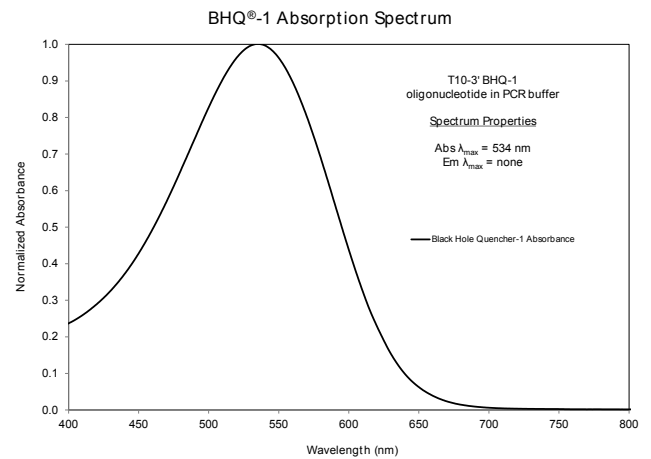
A.



B.



C.



A. Schéma du principe moléculaire du système de détection au cours de la rRAA.

La sonde porte un fluorophore (FAM), un extincteur ou « quencher » (BHQ-1) et un tétrahydrofurane (THF) qui imite un site abasique. L'endonucléase IV (Nfo) d'*Escherichia coli* est une métalloprotéine qui aide à la réparation des sites abasiques dans l'ADN double brin endommagé. Elle hydrolyse le brin endommagé au niveau du site abasique. L'amplification est détectée par la mesure de l'intensité de fluorescence à 520 nm.

B et C. Propriétés spectroscopiques du fluorophore FAM et de l'extincteur ou « quencher » BHQ-1

Document 13 : Résultat de l'alignement des séquences du gène *fliC* (flagelline) de six souches différentes d'*E. Coli* obtenu avec clustal Omega

<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>

1. ATAAAGTCACAGTTGGCGGCTAGATTATACTTACAACGCTAAATCTGGTGATTTTACTA 739	1. CCTCTC---TGACATTCAATGGCACAGAATATACCATCGCAAAAGCAACTCCTGCGACAA 1096
2. ATAAAGTCACAGTTGGCGGCTAGATTATACTTACAACGCTAAATCTGGTGATTTTACTA 739	2. CCTCTC---TGACATTCAATGGCACAGAATATACCATCGCAAAAGCAACTCCTGCGACAA 1096
3. ATAAAGTCACAGTTGGCGGCTAGATTATACTTACAACGCTAAATCTGGTGATTTTACTA 739	3. CCTCTC---TGACATTCAATGGCACAGAATATACCATCGCAAAAGCAACTCCTGCGACAA 1096
4. ATTCTGTGGCGTGTGCTGCTCAGAAATATACTTATAACGCATCGACCAATGATTTTACGA 840	4. AATCCTCGATTGATTTTGGCGGGAAAAAATACGAATTTGCTGGTGGCAATTCTACTAA-- 1159
5. ATTCTGTGGCGTGTGCTGCTCAGAAATATACTTATAACGCATCGACCAATGATTTTACGA 736	5. AATCCTCGATTGATTTTGGCGGGAAAAAATACGAATTTGCTGGTGGCAATTCTACTAA-- 1055
6. ATTCTGTGGCGTGTGCTGCTCAGAAATATACTTATAACGCATCGACCAATGATTTTACGA 736	6. AATCCTCGATTGATTTTGGCGGGAAAAAATACGAATTTGCTGGTGGCAATTCTACTAA-- 1055
.. * * * * *	.. * * * * *
1. CCACTAAATCTACTGCTGGTACGGGTGTAGACGCCGCGGCAGGCTGCTGATTCAGCTT 799	1. CCACTCCAGTAGCTCCGTTAATCCCTGGTGGGATTACTTATCAGGCTACAGTGAGTAAAG 1156
2. CCACTAAATCTACTGCTGGTACGGGTGTAGACGCCGCGGCAGGCTGCTGATTCAGCTT 799	2. CCACTCCAGTAGCTCCGTTAATCCCTGGTGGGATTACTTATCAGGCTACAGTGAGTAAAG 1156
3. CCACTAAATCTACTGCTGGTACGGGTGTAGACGCCGCGGCAGGCTGCTGATTCAGCTT 799	3. CCACTCCAGTAGCTCCGTTAATCCCTGGTGGGATTACTTATCAGGCTACAGTGAGTAAAG 1156
4. CAGAAAAATACAGTAGCGACAGGCACCTGC-----AACGACAGATC----- 879	4. ----T-----GGTGGCGGCTTAAATTCAAAAGACACGGTGTCTTCTG 1197
5. CAGAAAAATACAGTAGCGACAGGCACCTGC-----AACGACAGATC----- 775	5. ----T-----GGTGGCGGCTTAAATTCAAAAGACACGGTGTCTTCTG 1093
6. CAGAAAAATACAGTAGCGACAGGCACCTGC-----AACGACAGATC----- 775	6. ----T-----GGTGGCGGCTTAAATTCAAAAGACACGGTGTCTTCTG 1093
* * * * *	* * * * *
1. CAAAACGTGATGCGTTAGCTGCCACCCCTCATGCTGATGTGGGTAATCTGTAAATGGTT 859	1. ATGTAGTATTGAGCGAAACCAAAGCGGCT-----GCCGCGACATCTTCAATTACCTTTA 1210
2. CAAAACGTGATGCGTTAGCTGCCACCCCTCATGCTGATGTGGGTAATCTGTAAATGGTT 859	2. ATGTAGTATTGAGCGAAACCAAAGCGGCT-----GCCGCGACATCTTCAATTACCTTTA 1210
3. CAAAACGTGATGCGTTAGCTGCCACCCCTCATGCTGATGTGGGTAATCTGTAAATGGTT 859	3. ATGTAGTATTGAGCGAAACCAAAGCGGCT-----GCCGCGACATCTTCAATTACCTTTA 1210
4. -----TTGGCGTACTCTGAAGGCTGCTGCTGGGCAGAGTCAATCAGGTA 924	4. ACGCGCTTTTGGCTCAGGTTAAAGCGGATAGTACTGCTAATAATGTAAATAACCTTTA 1257
5. -----TTGGCGTACTCTGAAGGCTGCTGCTGGGCAGAGTCAATCAGGTA 820	5. ACGCGCTTTTGGCTCAGGTTAAAGCGGATAGTACTGCTAATAATGTAAATAACCTTTA 1153
6. -----TTGGCGTACTCTGAAGGCTGCTGCTGGGCAGAGTCAATCAGGTA 820	6. ACGCGCTTTTGGCTCAGGTTAAAGCGGATAGTACTGCTAATAATGTAAATAACCTTTA 1153
* * * * *	* * * * *
1. CTTACACCACAAAAGATGGTACTGTTTCTTTCGAAACGGATTGACAGGTAATATCACCA 919	1. ATTCGGGTGACTGAG-----CAAAACTATTGGGTTTACC CGGGTGAAT 1255
2. CTTACACCACAAAAGATGGTACTGTTTCTTTCGAAACGGATTGACAGGTAATATCACCA 919	2. ATTCGGGTGACTGAG-----CAAAACTATTGGGTTTACC CGGGTGAAT 1255
3. CTTACACCACAAAAGATGGTACTGTTTCTTTCGAAACGGATTGACAGGTAATATCACCA 919	3. ATTCGGGTGACTGAG-----CAAAACTATTGGGTTTACC CGGGTGAAT 1255
4. CATATACCTTTGCAAAATGGTAAAGTAACTTTGATGTTGATGCAAGCGGTAATATCACTA 984	4. ACAATGGTCTCTGTCATTCACTGCATCGTTCCAAAATGGTGTATCTGGCTCCGCGGCAT 1317
5. CATATACCTTTGCAAAATGGTAAAGTAACTTTGATGTTGATGCAAGCGGTAATATCACTA 880	5. ACAATGGTCTCTGTCATTCACTGCATCGTTCCAAAATGGTGTATCTGGCTCCGCGGCAT 1213
6. CATATACCTTTGCAAAATGGTAAAGTAACTTTGATGTTGATGCAAGCGGTAATATCACTA 880	6. ACAATGGTCTCTGTCATTCACTGCATCGTTCCAAAATGGTGTATCTGGCTCCGCGGCAT 1213
* * * * *	* * * * *
1. TCGGTGGAAGCCAGGCATACGTAGACGATGACAGCAACTTGACGACTAACAAACGCTGGTA 979	1. CCAGTGATGCTGCGAAGTCTTATGTGGATGATAAAGGTGGTATCACTAACGTTGCCGACT 1315
2. TCGGTGGAAGCCAGGCATACGTAGACGATGACAGCAACTTGACGACTAACAAACGCTGGTA 979	2. CCAGTGATGCTGCGAAGTCTTATGTGGATGATAAAGGTGGTATCACTAACGTTGCCGACT 1315
3. TCGGTGGAAGCCAGGCATACGTAGACGATGACAGCAACTTGACGACTAACAAACGCTGGTA 979	3. CCAGTGATGCTGCGAAGTCTTATGTGGATGATAAAGGTGGTATCACTAACGTTGCCGACT 1315
4. TTGGCGGCGAAAAGGCTTTCTTGGTTGGTGGAGC---GCTGACTACTAACGATCCACCG 1041	4. CGAATGCA-----GCCTACATTGATAGCGAAGGCGAAGTACAACTACTGAATCCT 1368
5. TTGGCGGCGAAAAGGCTTTCTTGGTTGGTGGAGC---GCTGACTACTAACGATCCACCG 937	5. CGAATGCA-----GCCTACATTGATAGCGAAGGCGAAGTACAACTACTGAATCCT 1264
6. TTGGCGGCGAAAAGGCTTTCTTGGTTGGTGGAGC---GCTGACTACTAACGATCCACCG 937	6. CGAATGCA-----GCCTACATTGATAGCGAAGGCGAAGTACAACTACTGAATCCT 1264
* * * * *	* * * * *
1. GCGCAGCTAAAGCTGATATGAAAGCGTGTCTCAAAGCAGCGAGCGAAGGTAGTGACGGTG 1039	1. ATACAGTCTCTTACAGCGTTAAACAAGGATAACGGCTCTGTGACTGTTGCCGGTATGCTT 1375
2. GCGCAGCTAAAGCTGATATGAAAGCGTGTCTCAAAGCAGCGAGCGAAGGTAGTGACGGTG 1039	2. ATACAGTCTCTTACAGCGTTAAACAAGGATAACGGCTCTGTGACTGTTGCCGGTATGCTT 1375
3. GCGCAGCTAAAGCTGATATGAAAGCGTGTCTCAAAGCAGCGAGCGAAGGTAGTGACGGTG 1039	3. ATACAGTCTCTTACAGCGTTAAACAAGGATAACGGCTCTGTGACTGTTGCCGGTATGCTT 1375
4. GCTCCACTCCAGCAACGATGTCTTCCCTGTTTAAAGGCCGCGGATGACAAGAGATGCCGCTC 1101	4. ACAACACAAAATATTCCGTAGACAAAGACACGGGGGCTGTAAGTGTACAGGGGGGAG-- 1426
5. GCTCCACTCCAGCAACGATGTCTTCCCTGTTTAAAGGCCGCGGATGACAAGAGATGCCGCTC 997	5. ACAACACAAAATATTCCGTAGACAAAGACACGGGGGCTGTAAGTGTACAGGGGGGAG-- 1322
6. GCTCCACTCCAGCAACGATGTCTTCCCTGTTTAAAGGCCGCGGATGACAAGAGATGCCGCTC 997	6. ACAACACAAAATATTCCGTAGACAAAGACACGGGGGCTGTAAGTGTACAGGGGGGAG-- 1322
* * * * *	* * * * *

Légende :

1. <i>E.coli</i> souche Sakai sérotype O157:H7	4. <i>E.coli</i> B38
2. <i>E.coli</i> souche C664-1992 sérotype O157:H7	5. <i>E.coli</i> souche 2147-59
3. <i>E.coli</i> souche EH7 sérotype O157:H7	6. <i>E.coli</i> serotype H49

Annexe

Extrait du programme d'enseignement optionnel de santé et social de seconde générale et technologique

L'enseignement « Santé et social » a pour finalité de permettre aux élèves d'explorer des questions de société relevant du champ de la santé et du social. Il offre la possibilité d'envisager une poursuite d'études dans les secteurs médical, médico-social et social. Cet enseignement contribue à la formation civique des élèves par une meilleure compréhension des enjeux sociaux, environnementaux et de santé.

Objectifs de formation

L'enseignement technologique « Santé et social » a pour objectif de faire découvrir les questions sociales et de santé au niveau des individus et de la société, d'expliquer comment les territoires sont organisés pour offrir des prestations et des services à l'individu, aux groupes sociaux, à la population. Les élèves sont initiés à l'analyse des questions essentielles liées au maintien de la santé et du bien-être au travers des principales problématiques du champ de la santé publique et de la cohésion sociale à l'échelle d'un territoire.

Cet enseignement vise la découverte des enseignements de sciences et techniques sanitaires et sociales (STSS) et de la biologie et physiopathologie humaines (BPH) concourant ensemble à l'approche du domaine santé-social telle que menée en série Sciences et technologies de la santé et du social (ST2S). Les élèves sont initiés à la démarche technologique partant de la question ou du besoin, de son analyse pour aller vers l'étude des réponses apportées. Au travers d'activités s'appuyant en particulier sur des exemples de terrain ou d'actualité, cet enseignement vise à faire comprendre le lien existant entre la santé et le social, la place des organisations et des acteurs appelés à intervenir dans les champs de la santé et du social auprès de la population.

Extrait du référentiel du BTS biotechnologies

CAPACITE: C3- Analyser et concevoir
COMPETENCE: C3-1- Analyser et exploiter des données ou des résultats

Compétence détaillée	Données	Indicateurs de performance
- Mettre en forme et traiter les données et les résultats bruts collectés lors d'une phase de travail technique	<ul style="list-style-type: none">- Données et résultats bruts collectés- Critères de validation des données et résultats- Modèles de traitements des données et résultats- Matériels de traitement et de représentation des données et des résultats	<ul style="list-style-type: none">- Validation critique pertinente- Mise en forme exploitable des données et des résultats- Traitement correct et représentation adaptée des données et résultats collectés
- Analyser et exploiter des données techniques et/ou scientifiques dans le cadre d'une problématique définie	<ul style="list-style-type: none">- Problématique- Documentations scientifiques et techniques- Résultats traités et mis en forme	<ul style="list-style-type: none">- Pertinence de l'interprétation et conclusions

Extrait du programme de biotechnologies de la classe préparatoire aux grandes écoles Technologie et biologie (TB)

Le programme de Biotechnologies est constitué de quatre parties thématiques et d'une cinquième partie « compétences expérimentales technologiques ».

Les concepts transversaux de biotechnologies, explicités dans la partie « compétences expérimentales technologiques » et se rapportant aux quatre parties thématiques, font partie intégrante des objectifs de formation et des attendus du programme. Ces compétences dépassent l'aspect technique et intègrent une dimension d'amélioration, de transposition, d'optimisation voire de conception d'une procédure opératoire afin de viser une formation adaptée à la préparation aux écoles et formations du supérieur.

Les savoirs et les compétences acquis au cours de la formation doivent permettre à l'étudiant, futur ingénieur, chercheur, enseignant ou vétérinaire, de développer ses capacités de synthèse. D'autre part, l'esprit critique doit s'exercer pour permettre le recul nécessaire sur les technologies qui entraînent des modifications du vivant. Une réflexion éthique, menée à partir de documents d'actualité évoquant l'impact des biotechnologies sur la santé et sur l'environnement conduit à développer des arguments pour répondre aux questions sociétales.

Les compétences argumentatives sont également développées, à partir d'une réflexion portant sur des objets d'étude scientifique ou technologique, inédits pour l'étudiant. L'analyse de nouvelles informations est alors à confronter avec un modèle connu et cette application du modèle sur l'objet permet de vérifier la compréhension des éléments du modèle.

PARTIE 5 : COMPÉTENCES EXPÉRIMENTALES TECHNOLOGIQUES

En biotechnologies, la mise en œuvre des activités expérimentales s'appuie sur des procédures rigoureuses et exigeantes qui nécessitent une maîtrise des technologies associées. Ces technologies s'appuient sur des concepts qu'il est nécessaire de maîtriser pour leur mise en œuvre raisonnée. Les compétences expérimentales technologiques mobilisées sur l'ensemble des champs thématiques sont ainsi développées.

Cette partie doit notamment permettre aux étudiants de faire des liens entre les différentes parties thématiques du programme et ainsi prendre du recul vis-à-vis des différentes technologies, en identifiant les analogies et les différences.

Les compétences technologiques visées vont au-delà de la maîtrise technique : gestes techniques, maîtrise de l'utilisation des outils et appareils, gestion des risques, appropriation de l'environnement du laboratoire, elles intègrent une dimension d'optimisation ou de conception de procédure ou d'éléments de procédure expérimentale.

Les parties concernant la modélisation à partir de nuages de points obtenus par l'expérience sont à mettre en lien avec les mathématiques (fonction hyperbole, fonction linéaire ou affine, fonction exponentielle, fonction logarithmique, régression linéaire ou polynomiale).