



Concours de recrutement du second degré

Rapport de jury

Concours : AGREGATION INTERNE ET CAERPA

Section : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Session 2016

Rapport de jury présenté par :
Jean-Pascal DUMON
Président du jury

SOMMAIRE

Renseignements statistiques.....	Page 2
Avant-propos du président.....	Page 4
Epreuves d'admissibilité	Page 6
Première épreuve	
Sujet.....	Page 9
Rapport.....	Page 28
Deuxième épreuve	
Sujet.....	Page 31
Rapport.....	Page 34
Epreuves d'admission	
Première épreuve	
Rapport.....	Page 38
Deuxième épreuve	
Sujet.....	Page 42
Rapport.....	Page 58
Conclusion générale.....	Page 61

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Agrégation interne

Nombre de postes	8
Candidats inscrits	126
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	68
Candidats admissibles	19
Candidats présents aux épreuves d'admission	19
Candidats proposés pour l'admission	8
<u>Epreuves d'admissibilité</u>	
Moyenne des candidats présents	06,27
Moyenne des candidats admissibles	08,95
Moyenne du dernier candidat admissible	07,50
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	06,19
Moyenne des candidats admissibles	08,82
Note maximale	14,03
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	06,15
Moyenne des candidats admissibles	09,07
Note maximale	13,55
<u>Epreuves d'admission</u>	
Moyenne des candidats présents	09,50
Moyenne des candidats admis	11,99
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	10,53
Moyenne des candidats admis	13,63
Note maximale	18,00
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	08,47
Moyenne des candidats admis	10,36
Note maximale	13,30
<u>Ensemble du concours</u>	
Moyenne des candidats présents	09,22
Moyenne la plus élevée	13,03
Moyenne des candidats admis	10,66
Moyenne du dernier candidat admis	09,48

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

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

Nombre de postes	1
Candidats inscrits	17
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	11
Candidats admissibles	1
Candidats présents aux épreuves d'admission	1
Candidats proposés pour l'admission	1
<u>Epreuves d'admissibilité</u>	
Moyenne des candidats présents	05,68
Moyenne des candidats admissibles	08,47
Moyenne du dernier candidat admissible	08,47
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	06,34
Moyenne des candidats admissibles	08,17
Note maximale	09,20
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	04,22
Moyenne des candidats admissibles	08,76
Note maximale	08,76
<u>Epreuves d'admission</u>	
Moyenne des candidats présents	10,65
Moyenne des candidats admis	
<u>1^{ère} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	
Moyenne des candidats admis	14,00
Note maximale	
<u>2^{ème} épreuve</u>	
Moyenne des candidats présents	
Moyenne des candidats admis	07,30
Note maximale	
<u>Ensemble du concours</u>	
Moyenne des candidats présents	
Moyenne la plus élevée	09,56
Moyenne des candidats admis	
Moyenne du dernier candidat admis	

Avant-propos

Le jury souhaite en tout premier lieu encourager l'ensemble des candidats qui se sont présentés à ce concours ou qui ambitionnent de le faire. Il s'agit d'un concours certes difficile, qui nécessite une préparation approfondie, tant dans l'approche des contenus scientifiques, que dans la prise en compte des attentes du jury pour chaque épreuve. Ce rapport est destiné à aider à cette préparation.

Le jury félicite tous les candidats admissibles de la session 2016, les lauréats, bien sûr, mais aussi ceux qui n'ont pas été retenus. Tous les candidats ayant traversé l'admission de cette session 2016, y compris les collègues qui enseignent en section ST2S depuis plusieurs années, ont en général fait preuve de qualité scientifique et professionnelle d'un excellent niveau

L'agrégation interne et le CAER interne de biochimie génie biologique ont pour vocation de permettre à des enseignants en activité d'accéder au grade de Professeur Agrégé de biochimie génie biologique.

La session 2016 a été ouverte pour la troisième année consécutive et nous nous félicitons que ce concours permette aux collègues enseignants d'accéder au grade d'agrégé. Sur les 146 candidats inscrits, 78 se sont présentés aux deux épreuves d'admissibilité soit un taux de présent à 53,4 %, un peu en retrait par rapport à la session 2015 (56,6 %).

Les domaines couverts par l'agrégation de biochimie génie biologique sont variés et vastes : biochimie, microbiologie, immunologie, biologie cellulaire, hématologie, biologie moléculaire, physiologie humaine...

Il importe donc pour espérer avoir quelques chances de réussite que les candidats se préparent sérieusement, non seulement pour mettre en valeur leurs compétences professionnelles, mais également pour intégrer les connaissances et les compétences scientifiques et technologiques attendues d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique. Ce rapport du jury a pour objectif d'indiquer aux futurs candidats les objectifs des différentes épreuves.

Les épreuves d'admissibilité conjuguent l'évaluation des connaissances scientifiques et technologiques, mais également les qualités attendues d'un enseignant. Le jury demande donc à ce que les candidats soient capables de construire un développement structuré, concis, scientifiquement à la pointe des connaissances, tout en faisant preuve, notamment, de qualités didactiques et pédagogiques.

La première épreuve s'inscrit dans la présentation de deux thèmes technologiques abordés dans leurs aspects technologiques et pédagogiques. A ce propos, le jury a souhaité favoriser l'identification du registre évalué en signalant les questions par des lettres « C » pour connaissance et « P » pour pédagogie. Le déterminisme de chaque question est donc ainsi sans ambiguïté.

La deuxième épreuve présente un caractère foncièrement scientifique. Elle place le candidat dans la construction d'une réponse disciplinaire à des questions de synthèse portant sur les domaines couverts par les secteurs de la spécialité. Le jury a choisi de limiter cette épreuve à deux questions. L'exercice est scientifiquement très exigeant en termes du niveau de connaissances requis ; aussi, le jury encourage fortement les candidats à préparer très en amont cette épreuve par un maintien rigoureux et une actualisation permanente de leurs connaissances. Il s'agit notamment de cerner avec précision et justesse chaque sujet.

La première épreuve d'admission s'inscrit dans une démarche de projet qui se doit de combiner une étude scientifique et technologique afin de construire une ou plusieurs transpositions pédagogiques pour un niveau de classe donné. L'étude peut avantageusement être associée à des aspects économiques, sociaux et humains. Cette démarche préfigure la situation d'un enseignant qui prend appui sur la réalité professionnelle afin d'ancrer son enseignement en lien avec les procédés de biotechnologies (production de biens et de services, recherche, R&D, analyse, contrôle qualité...) et l'évolution des activités dans les laboratoires. Dans cette perspective, l'enseignant s'emploie à approfondir ses savoirs fondamentaux, technologiques et techniques en empruntant aux entreprises ou aux laboratoires les activités effectivement réalisées dans leur contexte propre. Dans cette optique, la

démarche peut faire l'objet d'un stage massé ou perlé en entreprise ou laboratoire. Elle peut aussi prendre appui sur des publications scientifiques, des données économiques, des problématiques sociétales associées à des procédés biotechnologiques. A terme, cette démarche s'inscrit dans un projet technologique et pédagogique dédié aux élèves pour un niveau donné.

Le candidat envisage donc le(es) réinvestissement(s) possible(s) de son étude technologique (projet) dans le cadre d'un programme dont il a la responsabilité.

Le dossier peut donc légitimement comporter deux parties :

- une étude scientifique et technologique que le candidat prendra soin de replacer dans son contexte, notamment en lien avec la problématique à l'origine du projet. Si la réalisation d'un stage en entreprise n'est en rien obligatoire, les dossiers construits à partir d'un stage, d'une visite voire un partenariat d'entreprise, portent une dimension factuelle, réaliste, actualisée dont on ne peut nier l'intérêt ;

- une mise en application pour un niveau de classe donné, un référentiel, une progression choisie et justifiée. La problématique du transfert des activités technologiques et techniques décrites sera abordée afin de prendre en compte les contraintes propres à un environnement enseignant (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, sécurité...). Elle pourra décliner les modalités de mise en œuvre (opérationnalisation) en lien avec les objectifs de formations ambitionnés, les activités effectuées par les étudiants, les documents supports de ces activités, les évaluations. Des aspects interdisciplinaires peuvent également nourrir l'analyse des choix pédagogiques et opérationnels adoptés.

La deuxième épreuve place les candidats dans la réalisation d'activités technologiques. C'est une épreuve difficile et ce pour plusieurs raisons : tout d'abord, par sa durée, 8 heures, mais aussi par le fait qu'elle couvre des secteurs imposés et divers des biotechnologies. Ainsi, cette année, les candidats devaient mettre en œuvre des activités technologiques de biochimie analytique, biologie cellulaire, biologie moléculaire. Si les manipulations proposées se voulaient évaluer des compétences technologiques et techniques de base, elles obligeaient une polyvalence, une adaptabilité et une aptitude à intégrer voire à élaborer rapidement des protocoles opératoires parfois totalement nouveaux pour certains candidats. Certains professeurs, en poste depuis de nombreuses années sur des responsabilités parfois identiques d'années en années, éprouvent des difficultés à aborder des domaines nouveaux ou oubliés du laboratoire. Il est donc conseillé aux futurs candidats de réinvestir des techniques non pratiquées depuis quelques années mais aussi de s'informer voire mettre en œuvre des méthodologies et techniques récentes. La réappropriation de certains gestes techniques en amont de l'épreuve pourrait ainsi s'avérer une aide dans l'appréhension de l'épreuve.

D'autre part, l'épreuve ne se limitait pas à la mise en œuvre de protocoles opératoires mais demandait aussi de se placer dans une dimension métier de l'enseignant à travers des mises en situation. Ces dernières amenaient le candidat à faire des choix dans la mise en œuvre de certains protocoles.

Les candidats ont disposé d'une heure, à prendre en une seule fois ou fractionnée, afin de prendre un repas et s'hydrater. L'ensemble couvrait donc 9 heures dont 8 heures d'activités technologiques. Cette année encore et malheureusement, certains candidats ont fait le mauvais choix d'une activité à « marche forcée », durant plus de quatre heures consécutives, sans aucune respiration intellectuelle. Le phénomène dit de fringale ou d'épuisement intellectuel s'installe alors brutalement, occultant la lucidité indispensable pour mener à bien l'ensemble de l'épreuve.

Pour conclure cet avant-propos, le jury espère sincèrement que ce rapport sera très utile aux futurs candidats à l'agrégation interne de biochimie-génie biologique.

Jean-Pascal DUMON
Président du jury

EPREUVES D'ADMISSIBILITE

Première épreuve

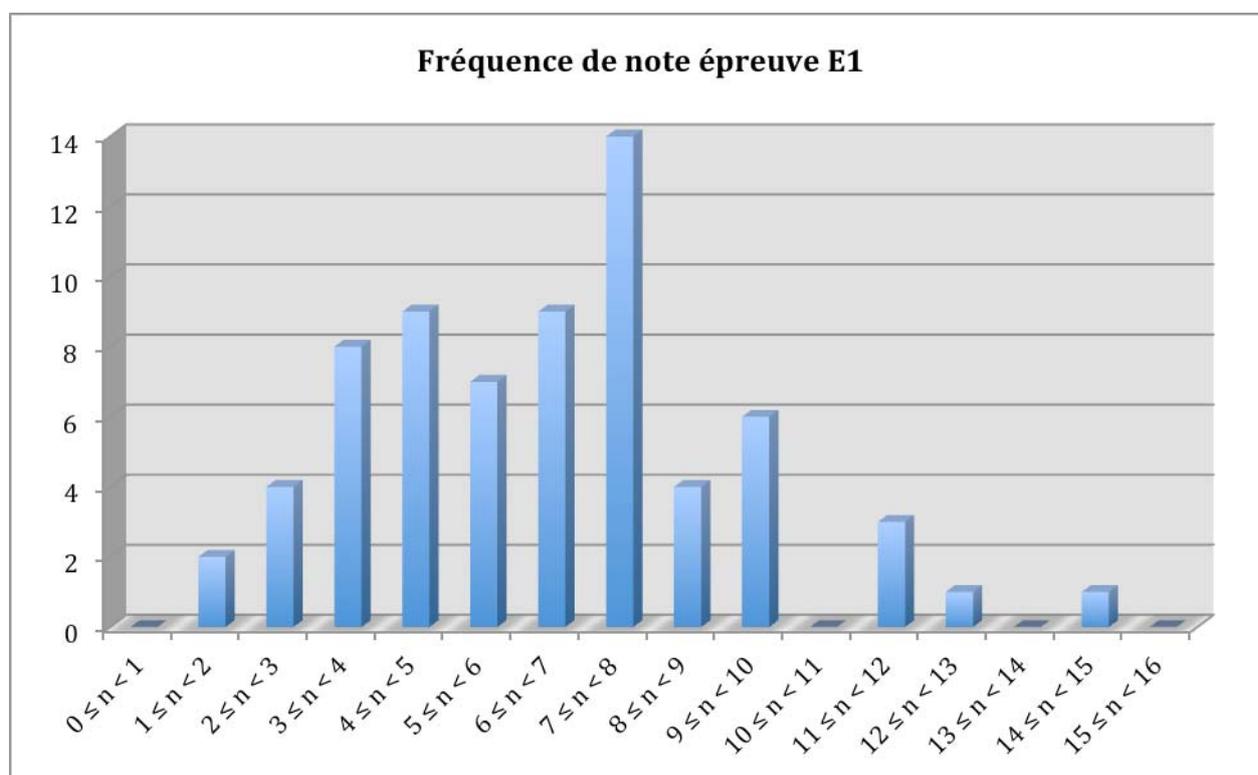
Durée : 6 heures

Coefficient : 1

Résultats :

Agrégation
Interne

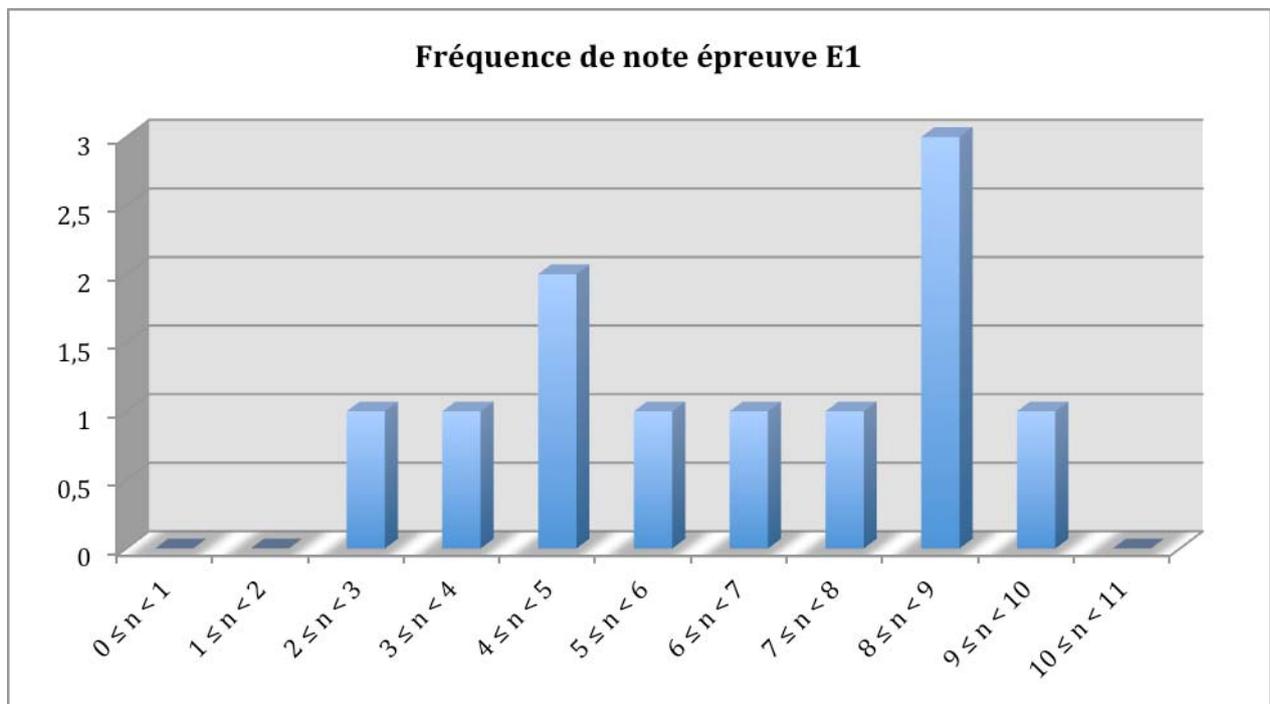
$0 \leq n < 1$	0	$10 \leq n < 11$	0
$1 \leq n < 2$	2	$11 \leq n < 12$	3
$2 \leq n < 3$	4	$12 \leq n < 13$	1
$3 \leq n < 4$	8	$13 \leq n < 14$	0
$4 \leq n < 5$	9	$14 \leq n < 15$	1
$5 \leq n < 6$	7	$15 \leq n < 16$	0
$6 \leq n < 7$	9	$16 \leq n < 17$	0
$7 \leq n < 8$	14	$17 \leq n < 18$	0
$8 \leq n < 9$	4	$18 \leq n < 19$	0
$9 \leq n < 10$	6	$19 \leq n < 20$	0



Résultats :

CAER
Agrégation

$0 \leq n < 1$	0	$10 \leq n < 11$	0
$1 \leq n < 2$	0	$11 \leq n < 12$	0
$2 \leq n < 3$	1	$12 \leq n < 13$	0
$3 \leq n < 4$	1	$13 \leq n < 14$	0
$4 \leq n < 5$	2	$14 \leq n < 15$	0
$5 \leq n < 6$	1	$15 \leq n < 16$	0
$6 \leq n < 7$	1	$16 \leq n < 17$	0
$7 \leq n < 8$	1	$17 \leq n < 18$	0
$8 \leq n < 9$	3	$18 \leq n < 19$	0
$9 \leq n < 10$	1	$19 \leq n < 20$	0



Rapport du jury sur la première épreuve

Dossier technique relatif à un problème biotechnologique.
Rapport du jury.

Résultats de l'épreuve :

82 candidats ont composé cette épreuve mais seuls ici sont pris en compte les résultats des 79 candidats ayant composé les deux épreuves :

- 2 ont obtenu une note supérieure ou égale à 12/20
- 3 ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12,
- 14 ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10,
- 25 ont obtenu une note supérieure ou égale à 6 et strictement inférieure à 8,
- 35 ont obtenu une note strictement inférieure à 6.

La moyenne générale de l'épreuve est de 6,39. La meilleure note est de 14,03/20.

Définition et structure de l'épreuve

L'épreuve, qui prend appui sur un dossier technique relatif à un problème biotechnologique, s'organise en deux parties :

- la première permet d'évaluer les capacités du candidat à utiliser ses connaissances scientifiques et techniques pour expliciter ou valider les solutions retenues ;*
- la seconde permet d'évaluer les capacités du candidat à utiliser le support proposé pour élaborer un exercice permettant l'évaluation des connaissances et méthodes acquises par les élèves à un niveau de formation déterminé.*

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

Le sujet de 2016 était organisé en trois parties, comportant chacune des questions mobilisant des connaissances scientifiques et techniques et des questions pédagogiques. Chaque partie représentait un tiers du sujet.

Sujet 1ère épreuve

Stevia rebaudiana Bertoni est une plante vivace de la famille des *Asteraceae*. Elle est originaire d'Amérique du Sud, plus particulièrement du Paraguay où on la surnomme « *caá-êhé* », l'herbe douce. En effet, un très grand nombre d'agents édulcorants sont produits dans ses tissus foliaires. Ces molécules, principalement des glycosides diterpéniques, ont un pouvoir sucrant 30 à 320 fois supérieur à celui du saccharose. Il n'est donc pas étonnant que cette plante soit cultivée à des fins commerciales à une époque où la demande en produits d'origine naturelle se fait de plus en plus grande.



De nombreux procédés ont été développés afin d'isoler et d'identifier les différents dérivés diterpéniques contenus dans les feuilles de *Stevia rebaudiana*. Ces molécules sont issues du stéviol par isomérisation (isostéviol) ou glycosylation (stévioside, rebaudiosides, ...).

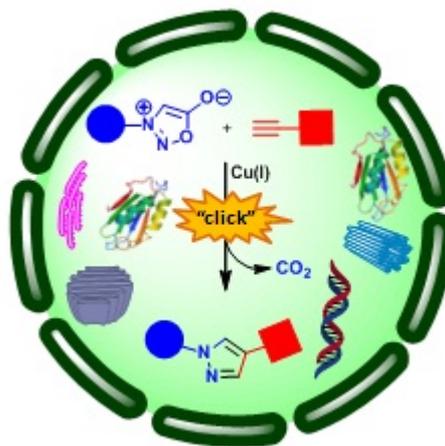
Des auteurs suggèrent qu'outre leur propriété hypocalorique, le stéviol et ses dérivés possèderaient diverses activités biologiques. De ce fait, ce seraient des cibles de choix pour les industries pharmaceutiques.

Les différentes parties du sujet visent à étudier trois aspects de la biologie de ces molécules d'intérêt :

- ✓ l'utilisation de dérivés d'isostéviol triazole en thérapie anti-tumorale ;
- ✓ une méthode de purification du stévioside ;
- ✓ l'utilisation d'extraits de *Stevia* comme agents de prévention des caries.

1 Synthèse et étude de nouvelles drogues anti-tumorales

La chimie « CLICK » est un procédé récent développé par deux équipes du CEA en 2013. Cette technique permet de connecter en une seule réaction deux molécules ou nanoparticules dans des milieux biologiques.



Une équipe de recherche américaine a utilisé ce procédé afin de synthétiser de nouvelles drogues anti-tumorales à partir d'isostéviol (Khaybullin et al., *Molecules* 2014). La stratégie consiste à combiner une molécule d'isostéviol et un « noyau » triazole (exemples **document 1**), l'objectif de l'association étant d'augmenter la demi-vie des différents types de conjugués formés.

On se propose d'étudier les effets cytotoxiques de ces molécules sur différentes lignées de cellules tumorales adhérentes et non adhérentes.

- C1** *Présenter sous forme d'un tableau comparatif les principales caractéristiques d'une lignée cellulaire établie et d'une culture primaire.*
- C2** *Citer les composants d'un milieu de culture complet pour cellules eucaryotes, préciser leur rôle et indiquer les conditions physico-chimiques de culture.*
- C3** *Présenter sous forme d'organigramme les étapes d'entretien de cultures de cellules eucaryotes adhérentes et non adhérentes. Préciser la liste des matériels et des réactifs nécessaires à cette manipulation.*

L'activité cytotoxique des conjugués isostéviol triazole est testée sur différentes lignées cellulaires adhérentes issues de tumeurs humaines : poumon (A549), pancréas (ASPC-1), sein (MDA-MB231), prostate (PC-3), colon (HCT116) et utérus (HeLa) (**document 2**).

- C4** *Justifier les différentes densités cellulaires initiales utilisées lors de l'ensemencement (**document 2a**).*

Le MTT est un sel de tétrazolium réduit sous la forme d'un précipité de formazan. en présence de la succinate déshydrogénase mitochondriale.

- C5** *Expliquer en quoi l'utilisation du MTT permet d'obtenir une estimation de la quantité cellulaire.*
- C6** *Analyser les résultats du **document 2b**.*

Dans le cadre de l'introduction d'une activité technologique en STS Biotechnologies portant sur l'analyse de toxiques, plusieurs points sont abordés.

- P1** *Exposer, en exploitant les **documents 2b et 2c**, l'organisation d'une séance de TD permettant d'introduire la notion d'IC50. Présenter les objectifs associés à chaque étape.*

Les différents conjugués sont également testés sur deux lignées de cellules tumorales non adhérentes, MOLT-4 et HL-60, en plaque de 96 puits selon le protocole utilisé précédemment à l'exception du coffret de dosage. En effet, le coffret CellTiter-Glo® (Promega) est utilisé cette fois-ci pour la réalisation des mesures de viabilité cellulaire. Une partie du protocole est décrite dans le **document 3**.

- C7** *Présenter le principe de la méthode de mesure de viabilité cellulaire.*

Afin de pouvoir être utilisé sur une culture cellulaire, le *CellTiter-Glo® Reagent* doit contenir un autre réactif, en plus de ceux cités dans le **document 3**.

- C8** *Identifier sa nature et préciser son intérêt.*

La viabilité cellulaire peut être mesurée par des méthodes différentes de celles citées précédemment.

C9 *Présenter le principe de l'une d'entre elles.*

Chez l'Homme, le stéviol est issu d'une hydrolyse de différents dérivés osidiques. Cette hydrolyse, très limitée, n'est le fait que de la flore intestinale. L'un des principaux dérivés contenu dans les extraits de *Stevia rebaudiana* est le stévioside ou 19-O- β -D-Glucopyranosyl-13-O-[β -D-Glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-Glucopyranosyl]-stéviol.

C10 *Ecrire la formule du dérivé 19-O- β -D-Glucopyranosyl-13-O-[β -D-Glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-Glucopyranosyl]-stéviol, à partir de la structure du stéviol présentée en **document 4**.*

2 Purification des stéviosides

Il existe différentes méthodes pour extraire et purifier les stéviosides à partir des feuilles de *Stevia rebaudiana*. Une méthode éco-responsable et peu onéreuse a été développée en 2012 (Adari Bhaskar Rao et al., *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2012). Elle utilise des procédés membranaires en mode tangentiel avec recirculation du rétentat permettant, non seulement d'améliorer le rendement, mais aussi les qualités organoleptiques et les propriétés antioxydantes du produit final. Les différentes étapes de l'extraction - purification sont présentées dans le **document 5**.

C11 *Proposer un schéma annoté des étapes membranaires permettant de suivre la circulation des différents fluides.
Dans un tableau, préciser la répartition des différents types de molécules présentes dans le produit à traiter entre les différents fluides.*

Le **document 6** présente l'évolution du débit lors d'une filtration frontale et d'une filtration tangentielle.

C12 *Analyser les graphiques et expliquer l'évolution du débit de filtration dans chaque cas.*

Le **document 7** regroupe les principaux paramètres caractérisant le fonctionnement du procédé d'ultrafiltration en mode tangentiel.

C13 *Expliquer les modifications du flux de perméation au cours du traitement du produit.*

La caractérisation de la sélectivité est illustrée par la courbe du **document 8**.

P2 *A l'aide de ce document, concevoir un exercice illustrant le principe de l'ultrafiltration en STS Bioanalyses et Contrôles. Indiquer les principaux éléments de corrigé.*

Une autre méthode utilisant également des procédés membranaires a été développée (Zhang Shi Qiu et al., *Food Research International*, 2000). Elle intègre une microfiltration

avant l'ultrafiltration et la nanofiltration. Ces trois opérations s'accompagnent d'une diafiltration. Le schéma des différentes étapes est présenté dans le **document 9**.

La diafiltration est une opération qui consiste, au cours d'une séparation par filtration, à ajouter de l'eau ou une solution appropriée au rétentat qui est retraité dans le module de filtration (recirculation) en mode tangentiel.

C14 *Expliquer en quoi cette opération permet d'améliorer les performances de la filtration.*

Lors de la mise en œuvre d'une ultrafiltration en STS Bioanalyses et Contrôles on se propose d'étudier le résultat du traitement de 100 mL de lactosérum ayant permis de recueillir 90 mL de perméat et 10 mL de rétentat. L'ultrafiltration est effectuée sans diafiltration avec recirculation du rétentat.

Après avoir réalisé l'ultrafiltration, les étudiants devront doser le lactose dans les trois fractions : lactosérum, perméat et rétentat, en utilisant le coffret de dosage Mégazyme, Lactose & D-galactose.

La composition du lactosérum est présentée dans le tableau du **document 10**.

Des extraits de la fiche technique du coffret de dosage sont présentés en **document 11**.

P3 *Concevoir des questions permettant d'introduire tous les calculs préliminaires nécessaires à la préparation des échantillons pour la réalisation du dosage et indiquer les éléments de correction.*

P4 *Concevoir des questions permettant d'introduire tous les calculs nécessaires à l'exploitation des résultats et indiquer les éléments de correction.*

Afin d'améliorer la qualité des résultats, il est possible de tenir compte des pertes liées à la préparation de l'échantillon en réalisant des expériences de récupération, c'est-à-dire en ajoutant une quantité connue de lactose ou de D-galactose à l'échantillon initial.

C15 *Présenter les calculs de concentration tenant compte du rendement de récupération.*

3 Etude de l'efficacité d'extraits de *Stevia rebaudiana* sur la croissance de bactéries cariogènes

La chlorhexidine a des effets irritants et allergisants ce qui conduit à chercher une alternative à cette molécule. Des études ont montré les effets antimicrobiens des extraits de *Stevia* sur les champignons et de nombreuses bactéries.

L'objectif de l'étude proposée est de comparer l'efficacité d'extraits aqueux et alcooliques de *Stevia rebaudiana* envers *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus acidophilus* à celle de la chlorhexidine, antiseptique et anti plaque dentaire utilisé en bain de bouche.

Les deux souches bactériennes testées sont réputées cariogènes. Présentes dans la salive, elles forment facilement un biofilm et produisent de l'acide lactique responsable de la déminéralisation dentaire.

Des extraits aqueux et alcooliques de *Stevia* ont été préparés selon le protocole décrit dans le **document 12**.

La méthode de diffusion en milieu gélosé a été utilisée pour tester leur efficacité ainsi que celle de la chlorhexidine sur *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus acidophilus*. Le **document 13** décrit les étapes du protocole.

C16 *Rappeler la signification d'ATCC. Préciser l'intérêt de l'utilisation de souches ATCC.*

P 5 *En exploitant le **document 14**, proposer un exercice permettant d'analyser un milieu de culture de microorganismes ; indiquer les éléments de corrigé.*

C17 *Analyser les résultats présentés dans le **document 13**.*

Lors de séances d'activités technologiques consacrées à la réalisation d'antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé, en première année de STS Analyses de Biologie Médicales, plusieurs mises en situation sont envisagées.

P6 *Proposer une séance d'activités technologiques permettant d'illustrer la nécessité de la standardisation d'un tel antibiogramme : lister les paramètres de cette standardisation, préciser l'organisation de la séance et les conditions matérielles de sa réalisation.*

Lors d'une séance de lecture d'un antibiogramme en milieu gélosé, les étudiants ont mesuré les diamètres d'inhibition de culture. Ils disposent d'abaques de lecture dont un extrait est présenté dans le **document 15**.

P7 *Dégager les notions essentielles à transmettre aux étudiants à l'aide de ce **documents15** afin d'exploiter leurs résultats.*

La CMI a été déterminée en milieu liquide selon le protocole présenté dans le **document 16a**. La suspension doit être ajustée à environ 10^5 micro-organismes par millilitre.

C18 *Expliquer l'importance de cet ajustage et indiquer une méthode rapide permettant de le réaliser.*

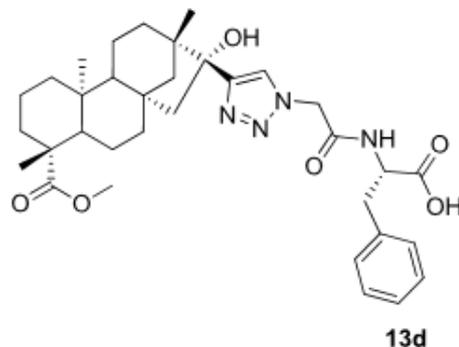
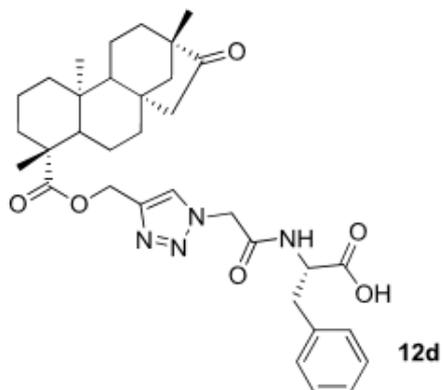
C19 *Construire un tableau complet de la manipulation.*

C20 *Déterminer la CMI dans chacun des cas à l'aide des résultats du **document 16b**. Analyser ces résultats et formuler des hypothèses pour expliquer les différences obtenues avec les deux extraits. Proposer une expérience complémentaire pour trancher entre ces hypothèses.*

Document 1

Deux exemples d'association entre une molécule d'isostéviol et un « noyau » triazole

(adapté de Khaybullin et al., *Molecules*, 2014)



Document 2

Etude de l'effet cytotoxique des différents conjugués

Document 2a

Etapes permettant la détermination de l'effet cytotoxique des différents conjugués

- Ensemencement des cellules en plaque 96 puits avec des densités cellulaires allant de 5000 à 12000 cellules par puits, en fonction du type cellulaire considéré.
- Traitement pendant 72 h avec différents conjugués, à différentes concentrations.
- Incubation pendant 4 h avec 100 μL de MTT à $0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (bromure de 3-(4,5-diméthyl-2-thiazolyl)-2,5-diphényl-2H-tétrazolium).
- Elimination du surnageant de culture et ajout du DMSO dans chaque puits.
- Lecture de l'absorbance à 570 nm.

Document 2b

Résultats des activités cytotoxiques des différents conjugués sur six lignées différentes issues de tumeur humaines adhérentes

Table 1. Cytotoxic activities of isosteviol derivatives against six human attached cancer cell lines ^a.

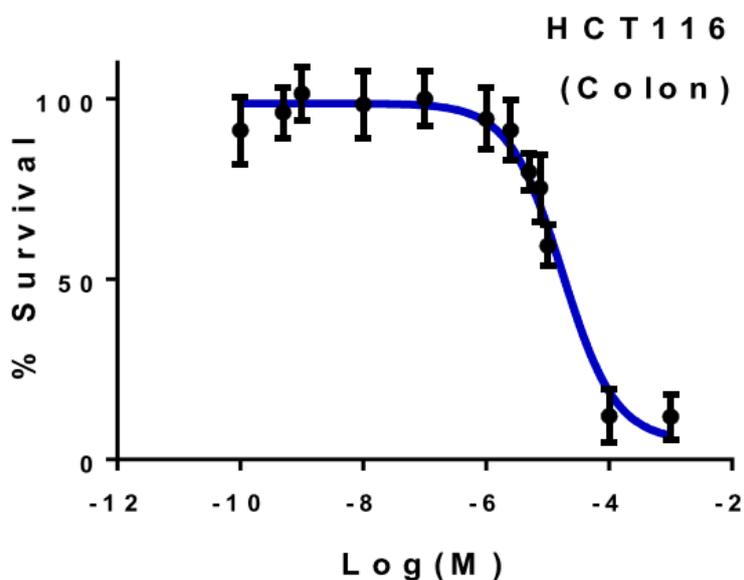
Compound	IC ₅₀ (μM)					
	A549 (Lung)	ASPC-1 (Pancreas)	MDA231 (Breast)	PC-3 (Prostate)	HCT116 (Colon)	HeLa (Cervical)
12a	9.95 ± 0.24	4.79 ± 0.18	13.76 ± 0.63	18.23 ± 0.95	6.60 ± 0.38	20.18 ± 1.03
12b	98.42 ± 5.63	>100	>100	>100	13.66 ± 0.41	5.83 ± 0.33
12c	63.71 ± 3.84	>100	>100	>100	>100	51.14 ± 3.65
12d	>100	>100	>100	>100	>100	>100
13a	43.52 ± 1.52	>100	69.2 ± 5.23	>100	45.95 ± 2.33	29.62 ± 1.52
13b	31.7 ± 1.84	>100	38.12 ± 1.82	73.65 ± 5.61	37.71 ± 1.03	30.72 ± 0.62
13c	56.4 ± 1.98	54.68 ± 3.28	50.13 ± 3.08	43.84 ± 1.33	48.9 ± 1.93	40.57 ± 2.81
13d	>100	>100	>100	>100	>100	>100

^a Cell viability was analyzed by the MTT assay. All measurements were performed in triplicate. Data was represented as mean ± standard deviation (SD).

Document 2c

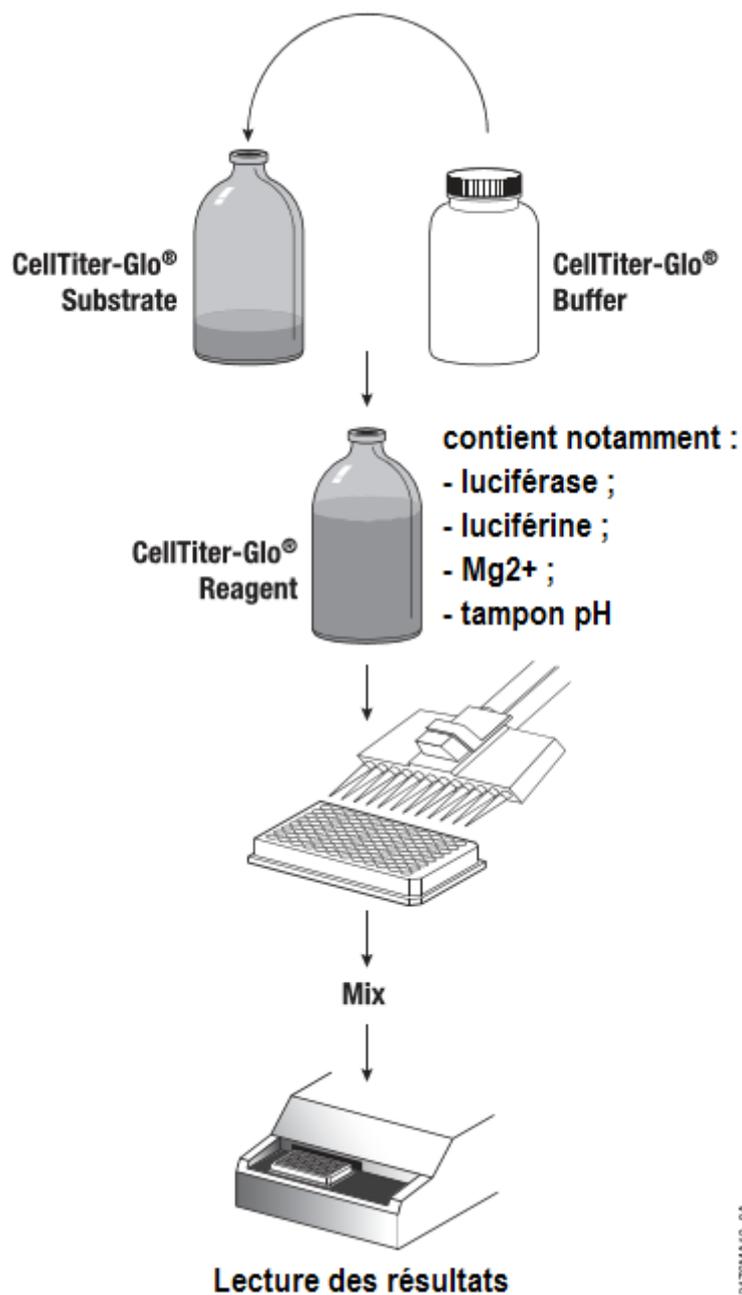
Résultats obtenus avec le conjugué 12a sur la lignée HCT116 dérivée d'un cancer du côlon

(M : concentration molaire du conjugué)



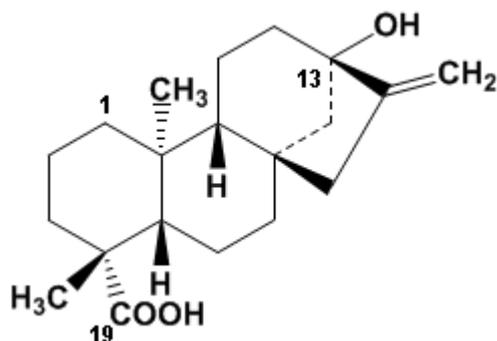
Document 3

Diagramme montrant le mode opératoire simplifié du coffret CellTiter-Glo® Reagent



Document 4

Structure semi-développée du stéviol



Document 5

Isolation and Purification of Steviosides

(Adari Bhaskar Rao, Ernala Prasad, Goka Roopa, Sundergopal Sridhar, Yerrapragada Venkata Lakshmi Ravikumar, *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2012, 3, 327-335)

The leaves (5 kg) of *Stevia rebaudiana* were initially air dried at 50°C and treated with non polar organic solvent to remove color pigments and waxy material present on the surface of stevia leaves. Thus obtained leaves were powdered to 20 - 30 mm mesh size and steviosides were extracted in aqueous solution (1:10) adjusted to pH 3, at 60°C, with agitation. On incubation for 6 hours the extract was subjected to pressurized hot water extractor (PHWE) operating at optimized conditions of 100 kPa pressure at temperatures of 100°C - 110°C for 10 minutes, for extraction of steviosides.

Thus, obtained crude extract was cooled and filtered solution was adjusted to pH 10 by adding 0.1 N sodium hydroxide and heated to 60°C for one hour, the precipitate formed was filtered and the stevioside rich solution was neutralized to pH 7 by adding dilute acid (0.1 N HCl).

The crude solution rich in stevioside was passed through ultrafiltration (UF) membrane of 30 kDa, molecular weight cut-off (MWCO), operating at a feed pressure of experimental conditions. The concentration of stevioside present in the extracts was determined 200 - 500 kPa, at room temperature. This process removes cell debris and helps in clarification of the leaf extract, in obtaining a clear solution containing sweet steviol glycosides. The UF membrane unit operation results in retaining leaf carotenoid pigments (70% - 80%); quantified through spectrophotometer.

The obtained filtrate was passed through nanofiltration membrane (NF) with a MWCO ranging of 250 Da, operated at a transmembrane pressure of 1500 kPa at a room temperature to concentrate the product stevioside in the retentate by removing 80% - 90% of water through permeate. Thus obtained stevioside rich solution was treated with active animal charcoal (20%) and filtered through ciliate (5%) for to obtain a clear solution enriched with steviosides, this on spray drying gave a white stevioside powder.

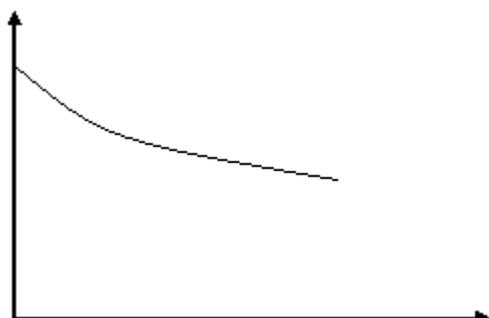
All the operating conditions carried out by UF/NF membrane process in isolation and purification steviosides from stevia leaves were carried at optimum by HPLC.

The structure of steviosides were confirmed by NMR and mass spectral studies (LC-Mass chromatogram) and compared with standard stevioside.

Document 6

Evolution du débit de filtration au cours du temps

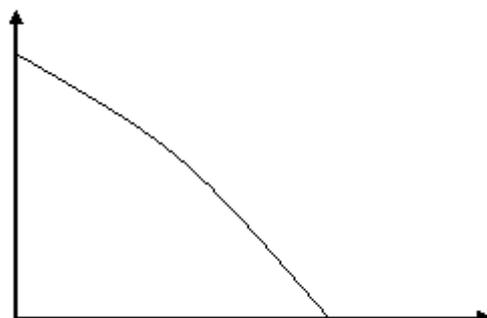
Débit



temps

Filtration tangentielle

Débit



temps

Filtration frontale

Document 7

Principaux paramètres caractérisant le fonctionnement du procédé d'ultrafiltration tangentielle

(Tableau adapté de Principes de base de la filtration membranaire de Patrice Bacchin)

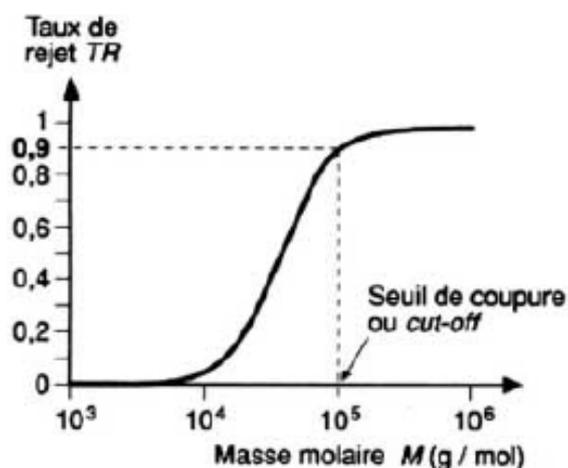
Paramètre	Signification	Expression mathématique
Pression transmembranaire (PTM)	Force agissante de l'opération définie par la moyenne des pressions alimentation P_A et rétentat P_R , à laquelle on soustrait la pression du compartiment perméat, P_P	$PTM = \frac{P_A + P_R}{2} - P_P$
Flux de perméation (J)	Productivité du procédé défini par le débit de perméation, Q_p , divisé par la surface membranaire S	$J = \frac{Q_p}{S}$
Taux de rejet (ou taux de rétention) (R)	Sélectivité du procédé : mesure le taux de rétention d'un soluté avec C_P = concentration dans le perméat et C_R = concentration dans le rétentat	$R = 1 - \frac{C_P}{C_R}$
Perméabilité de la membrane au solvant (L_P)	Paramètre intrinsèque de la membrane décrivant sa résistance hydraulique, R_m , vis à vis du solvant	$L_P = \frac{1}{R_m} = \frac{J}{PTM}$
Taux de conversion (Y)	Fraction de liquide qui traverse la membrane	$Y = \frac{Q_P}{Q_A}$

Lorsque l'échantillon est filtré le flux de perméation devient : $J = \frac{PTM - \Delta\pi}{R_m + R_c}$

Avec $\Delta\pi$ = contre-pression osmotique et R_c = résistance hydraulique supplémentaire.

Document 8

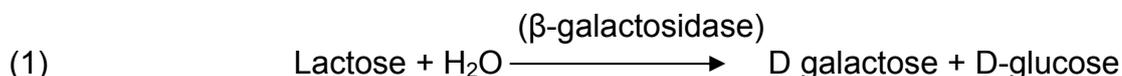
Caractérisation de la sélectivité d'une membrane



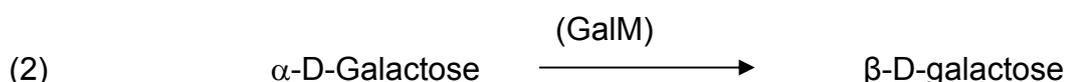
Document 11
Extraits de la fiche technique kit Mégazyme, Lactose & D-galactose

PRINCIPE

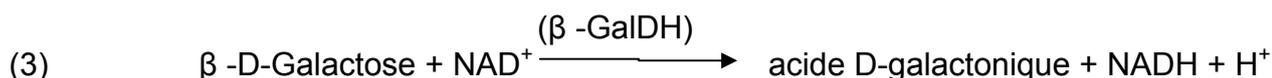
Dans cette procédure décrite (une modification de la méthode AOAC 984.15 ; lactose dans le lait) le lactose est hydrolysé en D-galactose et D-glucose en présence des β -galactosidases d'*Aspergillus niger* à pH 5,0 (1).



L'inter-conversion des formes α - et β - du D-galactose est catalysée présence de la galactose mutarotase (GalM) (2).



Le β -D-galactose est oxydé par le NAD^+ en acide D-galactonique en présence de β -galactose déshydrogénase (β -GalDH) à pH 8,6 (3).



SPECIFICITE, SENSIBILITE, LINEARITE ET PRECISION :

Les dosages sont spécifiques du lactose et D-galactose. La plus faible absorbance permettant une différenciation dans ce dosage est de 0,010 unité d'absorbance. Cela correspond à 1,48 mg.L⁻¹ de lactose (ou 0,74 mg de D-galactose.L⁻¹) de solution échantillon au volume maximal de 1,00 mL. La limite de détection est de 2,96 mg de lactose.L⁻¹, dérivée d'une différence d'absorbance de 0,020 pour le volume maximal d'échantillon de 1,00 mL. Le dosage est linéaire sur une gamme allant de 4 à 80 μg de D-galactose (ou 8 à 160 μg de lactose) par dosage. Dans les dosages en duplicat d'une solution échantillon, une différence d'absorbance entre 0,005 et 0,010 est possible. Avec un volume d'échantillon de 1,00 mL, cela correspond à une concentration de lactose d'environ 0,74 à 1,48 mg.L⁻¹ de solution échantillon. Si l'échantillon est dilué durant sa préparation, le résultat est multiplié par le facteur de dilution, F.

PROCEDURE A : (Procédure Standard)

Longueur d'onde : 340 nm

Cuve : trajet optique 1 cm (verre ou plastique)

Température : 25 °C

Volume final : 2,72 mL

Solution échantillon : 4 - 80 μg de D-galactose (ou 8 -160 μg de lactose) par cuve (dans un volume d'échantillon de 0,20 à 1,00 mL)

Effectuer la lecture par rapport à l'air (sans cuve dans le trajet optique) ou par rapport à l'eau.

Pipeter dans les cuves	Lactose		Galactose	
	Blanc	Echantillon	Blanc	Echantillon
Solution échantillon solution 4 (β -Galactosidase)	- 0,20 mL	0,20 mL 0,20 mL	- -	0,20 mL -
<p>S'assurer que toutes les solutions sont délivrées dans le fond de la cuve. Mélanger délicatement par agitation. Couvrir les cuves et les incuber 10 min à 25°C. Puis ajouter :</p>				
Eau distillée (à 25°C)	2,20 mL	2,00 mL	2,40 mL	2,20 mL
Solution 2 (tampon)	0,20 mL	0,20 mL	0,20 mL	0,20 mL
Solution 3 (NAD ⁺)	0,10 mL	0,10 mL	0,10 mL	0,10 mL
<p>Mélanger, lire les absorbances des solutions (A₁) après environ 3 min et démarrer les réactions par addition de :</p>				
Suspension 5 (β -GalDH/GalM)	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL	0,02 mL
<p>Mélanger, lire les absorbances des solutions (A₂) à la fin de la réaction (< 5 min). Si la réaction n'est pas terminée au bout de 6 min, continuer à lire les absorbances toutes les minutes jusqu'à ce que les absorbances restent identiques sur 1 min.</p>				

PREPARATION DES ECHANTILLONS

1. Dilution de l'échantillon

La quantité de D-galactose présent dans la cuve doit être comprise entre 4 et 80 μg (i.e. la quantité de lactose présent doit être comprise 8 et 160 μg).

2. Clarification de l'échantillon

a. Solutions

Solution de Carrez I. Dissoudre 3,60 g d'hexacyanoferrate de potassium (II) $\{\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}\}$ (Réf. Sigma P-9387) dans 100 mL d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

Solution de Carrez II. Dissoudre 7,20 g de sulfate de zinc ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Réf. Sigma Z-4750) dans 100 mL d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

Hydroxyde de sodium (NaOH, 100 mM). Dissoudre 4 g de NaOH dans 1 L d'eau distillée. Conserver à température ambiante.

b. Procédure

Pipeter l'échantillon liquide dans une fiole jaugée de 100 mL contenant environ 60 mL d'eau distillée, ou peser une quantité suffisante de l'échantillon dans une fiole jaugée de 100 mL et ajouter 60 mL d'eau distillée. Ajouter avec précaution 5 mL de solution de Carrez I, 5 mL de solution de Carrez II et 10 mL de solution de NaOH (100 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$). Mélanger après chaque addition. Compléter la fiole jaugée jusqu'à la marque, mélanger et filtrer.

3. Considérations générales

(a) Échantillons liquides : les échantillons liquides clairs, légèrement colorés et approximativement neutres, peuvent être utilisés directement pour le dosage.

(b) Échantillons acides : si plus de 0,1 mL d'échantillon acide doit être analysé non dilué (tel que du vin ou du jus de fruit), le pH de la solution doit être augmenté à environ 8,6 en utilisant du NaOH 2 mol.L⁻¹ et la solution doit être mise en incubation à température ambiante pendant 30 minutes.

(c) Dioxyde de carbone : les échantillons ayant une forte teneur en dioxyde de carbone, comme la bière, doivent être dégazés en augmentant le pH à environ 8,6 au moyen de NaOH 2 M et en les agitant doucement, ou en les agitant avec une baguette de verre.

(d) Échantillons colorés : dans le cas des échantillons colorés, il peut être nécessaire d'analyser un blanc supplémentaire, c'est-à-dire un échantillon sans β -GalDH/GalM.

(e) Échantillons fortement colorés : en cas d'utilisation non dilués, les échantillons fortement colorés doivent être traités par addition de 0,2 g de polyvinylpolypyrrolidone (PVPP)/10 mL d'échantillon. Agiter le tube vigoureusement pendant 5 min puis filtrer avec du papier filtre Whatman n°1.

(f) Échantillons solides : homogénéiser ou broyer les échantillons solides dans l'eau distillée et filtrer si nécessaire.

(g) Échantillons contenant des graisses : extraire ces échantillons à l'eau chaude à une température supérieure au point de fusion des graisses, par exemple dans une fiole jaugée de 100 mL à 60 °C. Ajuster à température ambiante et compléter la fiole jaugée jusqu'à la marque avec de l'eau. Conserver sur de la glace ou au réfrigérateur pendant 15 à 30 min puis filtrer. Éliminer les quelques premiers mL de filtrat et utiliser le surnageant clair (pouvant être légèrement opalescent) pour le dosage. Il est également possible de clarifier la solution au moyen des réactifs de Carrez.

(h) Échantillons contenant des protéines : déprotéiniser les échantillons contenant des protéines par addition d'un volume égal d'acide perchlorique glacial 1 mol.L⁻¹ et mélanger. Centrifuger à 1500 g pendant 5 minutes et neutraliser le surnageant avec KOH 1 mol.L⁻¹. Alternativement, clarifier au moyen des réactifs de Carrez.

Document 12

Préparation des extraits de Stevia

- Test materials used :

- a. *Stevia* leaf powder (dried *Stevia* leaf extract powder was procured from M/s Amruth Kesari Depot, Bangalore, Karnataka)
- b. Aqueous solution
- c. Ethanol

- Preparation of Stevia aqueous extract:

The powder was weighed up to 50 g and then mixed with 100 mL of sterile distilled water. The extract was then filtered. The concentration of the *Stevia* achieved is considered as 100%.

- Preparation of Stevia ethanolic extract:

The powder was weighed up to 50 g and then mixed with 100 mL of 70% (W/v) ethyl alcohol for a week. The extract was then filtered. The concentration of the *Stevia* achieved is considered as 100%.

Document 13

Etude de l'activité antimicrobienne par méthode de diffusion en milieu gélosé

Réactifs et milieux :

- a. Chlorhexidine à 0,2 %
- b. Extrait aqueux de *Stevia* 100 %
- c. Extrait alcoolique de *Stevia* 100 %
- d. Milieu gélosé Cœur cervelle (Brain Heart Infusion agar)

Microorganismes :

- a. *S.mutans* ATCC 25175
- b. *L.acidophilus* ATCC 4356

Protocole :

Deux boîtes de Pétri contenant 18 mL de milieu BHI agar ont été préparées. Chaque souche a été écouvillonnée en surface d'une gélose et des puits de 8 mm de diamètre ont été creusés à l'emporte-pièce. 100 µL de chaque extrait de *Stevia* ou de chlorhexidine ont été déposés dans les puits. Les boîtes sont alors incubées à 37 °C pendant 48 h. Le diamètre de la zone d'inhibition obtenue autour de chaque puits est mesuré en millimètre.

Résultats de la méthode de diffusion en milieu gélosé

Echantillon	Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour <i>S.mutans</i>	Diamètre de la zone d'inhibition en mm pour <i>L.acidophilus</i>
Extrait aqueux de <i>Stevia</i> 100 %	22,8	10,8
Extrait alcoolique de <i>Stevia</i> 100 %	24,7	12,3
Chlorhexidine à 0,2 %	26,5	13,2

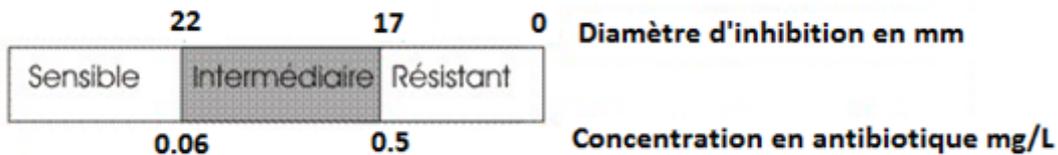
Document 14
Composition du milieu Brain Heart Infusion (BHI agar)

Formule en g par litre d'eau purifiée :

Infusion cœur-cerveille (matières solides)	8,0
Digestion pepsique de tissu animal	5,0
Digestion trypsique de caséine	16,0
Chlorure de sodium	5,0
Glucose	2,0
Phosphate d'hydrogène disodique	2,5
Agar	13,5

pH 7,4 ± 0,2

Document 15
Extrait d'un abaque de lecture relatif à la Rifampicine



Document 16
Document 16a : Protocole de détermination de la CMI en milieu liquide

Réactifs et milieux :

- a. Extrait aqueux de *Stevia* 100%
- b. Extrait alcoolique de *Stevia* 100%
- c. Bouillon Cœur cerveau (BHI)

Microorganismes :

- a. *S.mutans* ATCC 25175
- b. *L.acidophilus* ATCC 4356

Protocole :

- **Préparation de l'inoculum :**
A partir d'une culture de 24 h à 37 °C en bouillon BHI des deux souches étudiées, préparer une suspension ajustée à 10⁵ micro-organismes par millilitre en utilisant un étalon 0,5 Mc Farland.
- **Dilution en série des extraits de *Stevia* :**
Réaliser dans 10 tubes à hémolyse stériles, une série de dilutions de raison 1/2 de chacun des deux extraits de *Stevia* sous un volume final de 200 µL, en bouillon BHI. Le premier tube correspond à l'extrait non dilué.
- **Ensemencement :**
Ajouter 200 µL de l'inoculum dans chacun des tubes à hémolyse préparés précédemment.
- **Incubation :**
Incuber 48 h à 37 °C.

Document 16b : Résultats de la détermination de la CMI en milieu liquide

	Concentration de l'extrait aqueux de <i>Stevia</i> en pourcentage									
Micro-organisme	50	25	12,5	6,25	3,1	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09
<i>S.mutans</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>L.acidophilus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ trouble / - absence de trouble

	Concentration de l'extrait alcoolique de <i>Stevia</i> en pourcentage									
Micro-organisme	50	25	12,5	6,25	3,1	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09
<i>S.mutans</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>L.acidophilus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

+ trouble / - absence de trouble

**Sciences et Technologies
Bioindustrielles**

L'enseignement de Sciences et technologies bioindustrielles sera assuré par un professeur de Biochimie-Génie Biologique. Il est recommandé que ce professeur intervienne également dans un autre enseignement professionnel (cours et/ou activités technologiques) de cette formation.

Module 2

Filières, produits, procédés

Le choix des filières proposées permet :

- d'appréhender la diversité du secteur des bioindustries ;
- d'aborder les principales opérations unitaires ;
- de placer les analyses et contrôles dans un contexte de production ou de recherche développement.

L'approche de chaque filière comprendra l'étude :

- des matières premières et additifs, leurs évolutions au cours du temps et durant les opérations de transformation ;
- des opérations unitaires et de leur enchaînement (diagramme de production) ;
- des mécanismes des altérations physicochimiques et biologiques des matières premières, des produits en cours de transformation et des produits finis ;
- des analyses et contrôles réalisés sur les installations et produits, dans un objectif de qualité ou d'optimisation.

La nature des processus biologiques se déroulant au cours des transformations ou des altérations nécessite que cet enseignement soit réalisé en étroite collaboration avec les autres enseignements professionnels. Ainsi, les méthodologies des analyses mises en œuvre sur les produits sont étudiées dans les enseignements de biochimie, microbiologie, biologie cellulaire et moléculaire et des exemples d'analyses sont vus durant les activités technologiques.

Chacune des opérations unitaires du programme est mentionnée en association avec l'une des filières. Ces associations sont des exemples. D'autres associations peuvent être choisies, l'objectif étant d'étudier l'ensemble des opérations suivantes :

- stabilisation : congélation, pasteurisation, stérilisation, atomisation, lyophilisation, séchage, fumage ;
- séparation : centrifugation, filtration, procédés membranaires (osmose inverse, ultrafiltration), échange d'ions ;
- mélange et mise en forme : agglomération, émulsion, mélange ;
- conditionnement : conditionnement aseptique et sous atmosphère modifiée ;
- fermentation.

Contenus filières, produits	Contenus procédés
3.3.1. Fromages <ul style="list-style-type: none">- Classification, réglementation- Ferments utilisés (<i>en liaison avec le cours de microbiologie</i>)- Un exemple de fabrication : lignes de fabrication, opérations unitaires, analyses et contrôles 3.3.2. Produits dérivés : lactosérum, lactose, concentrés de protéines <ul style="list-style-type: none">- Lignes de fabrication, opérations unitaires- Analyses et contrôles	Osmose inverse, ultrafiltration <ul style="list-style-type: none">- Principes, définition- Paramètres de fonctionnement- Différents types de membranes et modules- Equipements

Activités Technologiques d'Opérations Unitaires

Ces activités technologiques consistent en la réalisation d'une fabrication relevant des domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique.

Elles comprennent :

- - la préparation du pilote, des matériels et produits nécessaires ;
- - l'identification des points de consigne et de contrôle ;
- - la conduite de la fabrication (pilotage manuel ou informatique), l'acquisition et le traitement des données ;
- - la réalisation des prélèvements ;
- - la réalisation des analyses associées à la fabrication ;
- - la gestion des déchets ;
- - l'optimisation des paramètres de fonctionnement afin que le produit fini réponde aux spécifications préconisées : paramètres organoleptiques, physico – chimiques, biologiques ;
- - le nettoyage et la désinfection de l'installation.

Ces activités sont rattachées à une discipline technologique. Elles sont cependant l'occasion d'un travail interdisciplinaire pour la réalisation des contrôles et analyses ainsi que pour leur exploitation.

Opérations unitaires	Mises en œuvre dans les activités technologiques suivantes
1. Fermentation Domaine alimentaire ou pharmaceutique	Microbiologie
2. Pasteurisation ou stérilisation Domaine alimentaire ou pharmaceutique	Microbiologie
3. Ultrafiltration ou échange d'ions Domaine alimentaire	Biochimie
4. Formulation ou émulsion Domaine alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique	Biochimie

Commentaire général

Le jury a apprécié les réponses synthétiques et concises, attestant de connaissances solides et d'une lecture attentive des documents du dossier technique.

A l'inverse, un manque de connaissances de la part des candidats s'est traduit par la reprise ou la reformulation du sujet sur la copie, des paraphrases ou traductions simples du document, des réponses peu ciblées donc trop vagues ou développées de façon trop large tant sur le plan scientifique que pédagogique.

Le jury a pu apprécier le soin avec lequel la plupart des candidats ont rédigé leur copie.

Cependant nombre d'entre eux n'ont pas présenté leurs réponses sous la forme attendue, eu égard au libellé des questions (schémas, tableaux...).

Il est fortement conseillé aux futurs candidats d'être attentifs aux consignes qui permettent le plus souvent d'organiser les réponses de façon synthétique et concise. Ces qualités sont en effet essentielles pour un enseignant.

Pour les questions pédagogiques, le jury attend des questions formulées de façon à être compréhensibles par des élèves ainsi qu'un corrigé suffisamment détaillé.

Le barème du sujet étant globalement équilibré pour les trois parties, le jury a apprécié cette année qu'une majorité de candidats ait composé sur les trois parties du sujet.

Pour les questions pédagogiques, le jury attend des questions formulées de façon à être compréhensibles par des élèves ainsi que des éléments de corrigé suffisamment détaillés.

Elles doivent être synthétiques et le contexte des exercices ou activités technologiques proposés doit être clairement présenté. De nombreux candidats ont présenté des éléments de corrigés ce que le jury a apprécié.

Partie 1

Un tiers des candidats a de bonnes connaissances en culture cellulaire.

Cependant, il est surprenant que la majorité des candidats ne connaisse pas les différences entre une lignée cellulaire établie et une culture primaire et n'ait manifestement jamais réalisé les étapes d'entretien d'une culture cellulaire.

Les constituants des milieux de culture pour cellules animales sont souvent méconnus et parfois confondus avec ceux nécessaires à la culture de microorganismes.

La mesure de la viabilité grâce au MTT n'a souvent pas été présentée de façon satisfaisante.

L'analyse du document présentant les résultats des activités cytotoxiques des différents conjugués a d'une façon générale été bien faite.

Il est à déplorer quelques contresens graves liés à la méconnaissance de la signification de l'IC50.

L'unique question pédagogique de cette partie a été traitée globalement de manière décevante. Bien que les candidats aient souvent proposé une définition de l'IC50, ainsi qu'une détermination graphique de cette dernière, le lien entre toxicité et concentration efficace du toxique n'a pas souvent été mis en évidence. Par ailleurs, lors de la présentation générale de la séance de TD, les candidats ne se sont que trop peu appuyés sur les protocoles précédemment abordés lors de l'épreuve et n'ont pas mis en exergue les grandes étapes qui avaient permis d'obtenir les résultats présentés dans les documents 2c et 2b.

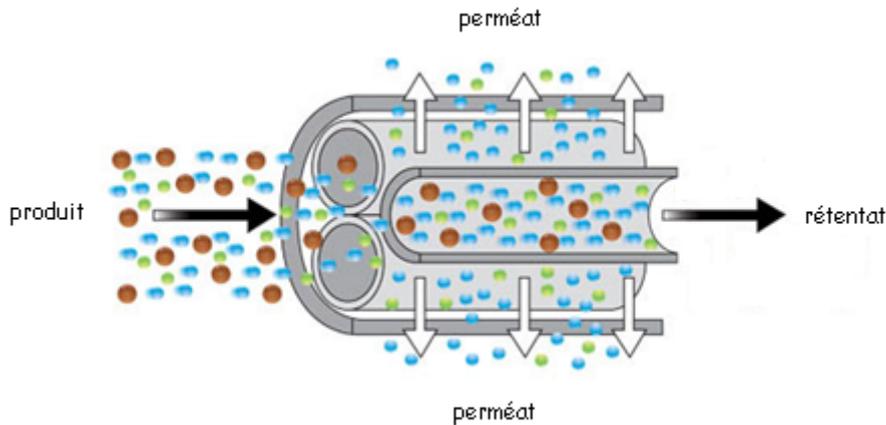
La question C7 a été globalement bien traitée. Le jury déplore néanmoins quelques confusions (fluorescence à la place de chimioluminescence, hydrolyse à la place d'oxydoréduction).

La question C8 a été très mal traitée. Le jury attendait simplement d'aborder la nécessité de lyser les cellules à l'aide d'un détergent pour mettre en commun les réactifs et l'ATP cellulaire nécessaire à la réaction du dosage.

La question C9 a été globalement bien traitée par deux-tiers des candidats. Le jury regrette que trop de candidats confondent encore les notions de colorant vital et de colorant d'exclusion.

Partie 2.

Les candidats ont très généralement mal répondu à la question posée sur les étapes membranaires. D'une part, de nombreux candidats ont présenté inutilement toutes les étapes de la purification alors qu'il n'était attendu que l'ultrafiltration et la nanofiltration. D'autre part, une très grande majorité n'a pas compris la répartition des molécules entre le rétentat et le perméat dans les procédés mis en œuvre. Il fallait indiquer que les molécules capables de passer la membrane de filtration se distribuent de la même façon dans le perméat et le rétentat et que leur concentration est au final la même que dans le produit à traiter (cf. schéma ci-dessous).



Seules les grosses molécules piégées dans le rétentat voient leur concentration augmentée.

	Produit initial	Rétentat UF	Perméat UF	Rétentat NF	Perméat NF
Molécule haut PM > 30 kDa	+	++	0	0	0
Molécule moyen PM entre 250 et 30 kDa Stévioside	+	+	+	++	0
Molécules petit PM < 250 Da	+	+	+	+	+

Pour expliquer les modifications du flux de perméation, il fallait raisonner sur la formule donnée lorsque l'échantillon est filtré :

$$J = \frac{PTM - \Delta\pi}{R_m + R_c}$$

Pour la question P2, de nombreux candidats ont réduit la proposition à une simple description de la courbe. Il était intéressant, comme l'ont d'ailleurs fait certains candidats, d'utiliser l'expression

mathématique du taux de rejet fournie : $R = 1 - \frac{C_P}{C_R}$

Les principaux objectifs pédagogiques attendus par le jury étaient : la compréhension de la notion de seuil de coupure et de la répartition des molécules entre rétentat et perméat avec la variation du taux de rejet entre 0 et 1.

Un seul candidat a compris l'intérêt d'une diafiltration, en faisant le lien avec la dialyse. L'intérêt de ce procédé est d'épuiser le rétentat en petites molécules capables de traverser la membrane. En effet, celles-ci restent à la même concentration dans le rétentat et le perméat. La

seule façon de diminuer leur concentration dans le rétentat est de diluer ce dernier au fur et à mesure de sa recirculation.

Concernant l'exploitation de la fiche de dosage du lactose (questions P3 et P4), mis à part le fait que la répartition du lactose n'ait pas été comprise, le jury a été surpris par la mauvaise utilisation des données.

À ce niveau de concours, il est inadmissible de confondre limite de détection et limite de quantification du dosage.

Les candidats ont rarement tenu compte de l'indispensable déprotéinisation du lactosérum et du rétentat. Trop peu ont trouvé les bonnes dilutions à proposer.

Les formules de calcul de la concentration du lactose ont souvent été plus qu'originales...

Aucun candidat n'a présenté un calcul de concentration tenant compte du rendement de récupération totalement satisfaisant.

3^{ème} partie : Etude de l'efficacité d'extraits de *Stevia rebaudiana* sur la croissance de bactéries cariogènes.

Cette partie nécessitait de mobiliser des connaissances classiques de microbiologie.

Il est surprenant de constater que de nombreux candidats ne connaissent pas le sens d'ATCC, ni l'intérêt de l'utilisation de telles souches.

Les candidats qui proposent une activité pédagogique sans s'appuyer sur le document imposé pour cette question (ex : document 14) se pénalisent d'eux-mêmes. Il en est de même pour les candidats qui n'ont pas proposé de contexte introductif et surtout les éléments de corrigé qui étaient stipulés dans la consigne de la question P5.

Certains candidats ont fait un réel effort de synthèse et de clarté dans le cadre de l'analyse des documents 13 et 16b. Pour d'autres candidats, le jury déplore des oublis majeurs ou des hypothèses d'interprétation parfois farfelues.

La question P6 proposait une séance d'activité technologique destinée à illustrer la nécessité de standardisation d'un antibiogramme par la technique de diffusion en milieu gélosé. Si tous les candidats ont évoqué la nécessité de travailler en petits groupes, très peu d'entre eux ont construit un tableau clair permettant d'illustrer les paramètres à faire varier. Les développements sur cette question ont souvent été très lourds et finalement confus.

Certains candidats ont proposé des expérimentations peu réalistes comme celle qui consiste à tester une épaisseur de gélose de dix centimètres en boîte de Pétri.

Si certains candidats maîtrisent les paramètres à aborder pour lire un antibiogramme par la technique de diffusion en milieu gélosé, pour d'autres candidats, les subtilités de l'abaque de lecture restent obscures.

Pour la question C18, quand le jury demande d'expliquer l'importance de l'ajustage de la suspension bactérienne à 10^8 CFU.mL⁻¹, certains candidats se contentent de réaffirmer l'importance de cet ajustage sans pour autant le justifier par la nécessité d'une absence de trouble de la suspension de départ et de la possibilité d'obtenir un trouble après incubation.

Les résultats de la CMI proposée ne présentaient pas de témoin(s). Le jury félicite les candidats qui ont proposé le(s) témoin(s) nécessaire(s) pour valider les manipulations.

La réalisation d'un simple tableau de manipulation intégrant des dilutions en série a posé des problèmes à quelques candidats.

Deuxième épreuve

Durée : 8 heures

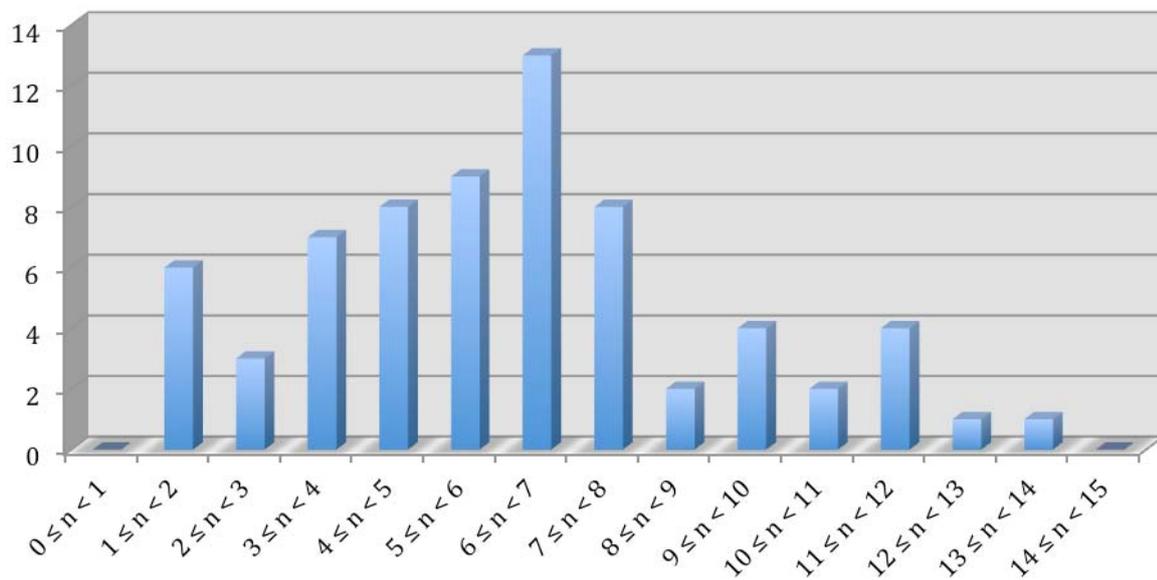
Coefficient : 1

Résultats

Agrégation
interne

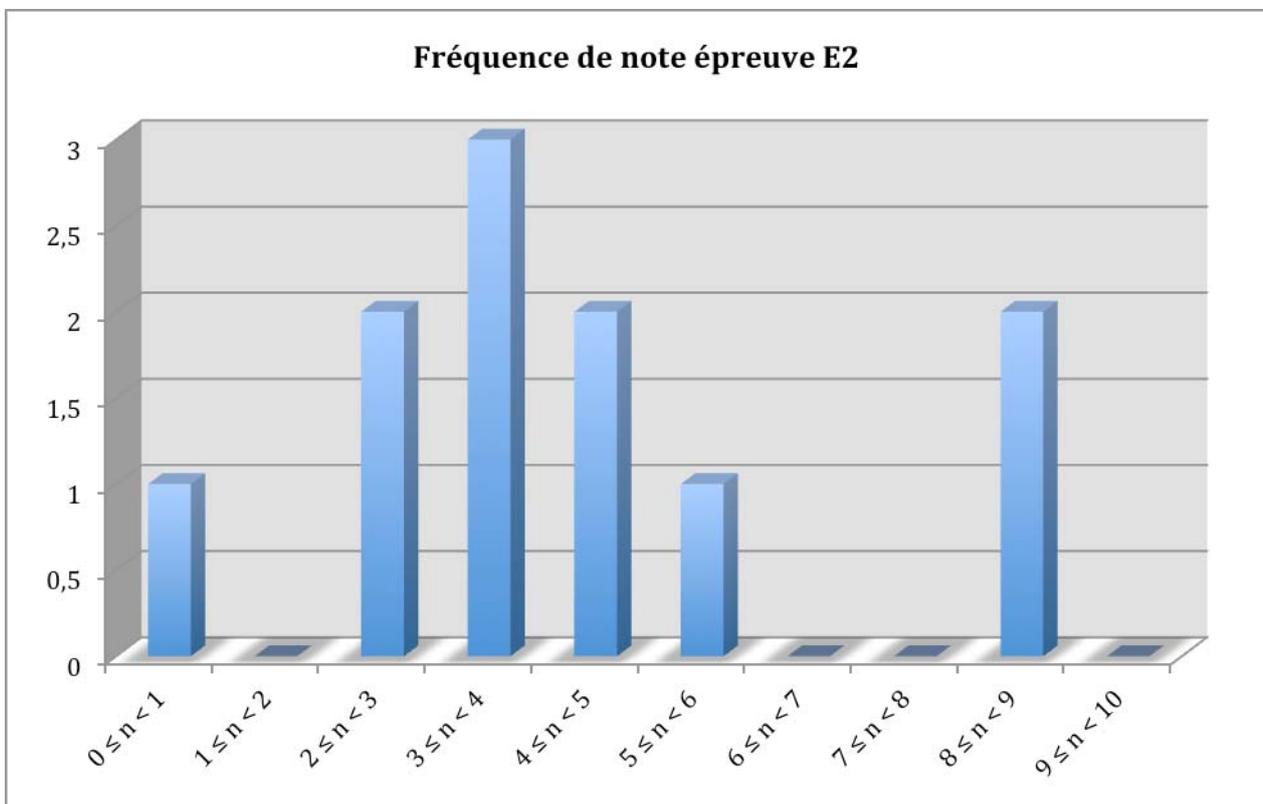
$0 \leq n < 1$	0	$10 \leq n < 11$	2
$1 \leq n < 2$	6	$11 \leq n < 12$	4
$2 \leq n < 3$	3	$12 \leq n < 13$	1
$3 \leq n < 4$	7	$13 \leq n < 14$	1
$4 \leq n < 5$	8	$14 \leq n < 15$	0
$5 \leq n < 6$	9	$15 \leq n < 16$	0
$6 \leq n < 7$	13	$16 \leq n < 17$	0
$7 \leq n < 8$	8	$17 \leq n < 18$	0
$8 \leq n < 9$	2	$18 \leq n < 19$	0
$9 \leq n < 10$	4	$19 \leq n < 20$	0

Fréquence de note épreuve E2



CAER
agrégation

$0 \leq n < 1$	1	$10 \leq n < 11$	0
$1 \leq n < 2$	0	$11 \leq n < 12$	0
$2 \leq n < 3$	2	$12 \leq n < 13$	0
$3 \leq n < 4$	3	$13 \leq n < 14$	0
$4 \leq n < 5$	2	$14 \leq n < 15$	0
$5 \leq n < 6$	1	$15 \leq n < 16$	0
$6 \leq n < 7$	0	$16 \leq n < 17$	0
$7 \leq n < 8$	0	$17 \leq n < 18$	0
$8 \leq n < 9$	2	$18 \leq n < 19$	0
$9 \leq n < 10$	0	$19 \leq n < 20$	0



Sujet 2^{ème} épreuve

Première question

Les mécanismes bactériens et viraux d'échappement au système immunitaire.

Deuxième question

Les adaptations mises en jeu en réponse à un exercice musculaire. Après avoir présenté les adaptations métaboliques survenant au niveau d'une cellule musculaire en activité, exposer les mécanismes de régulation survenant à l'échelle de l'organisme afin de satisfaire les besoins cellulaires. Les notions relatives à l'entraînement ne seront pas abordées.

Rapport du jury sur la deuxième épreuve

Résultats de l'épreuve :

79 candidats ont composé :

- 2 ont obtenu une note supérieure à 12
- 6 ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12,
- 8 ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10,
- 21 ont obtenu une note supérieure ou égale à 6 et strictement inférieure à 8,
- 42 ont obtenu une note strictement inférieure à 6.

La moyenne générale de l'épreuve est de 5,88. La meilleure note est de 13,55/20.

Comme lors de la session précédente, l'épreuve était composée de deux parties totalement indépendantes et pondérées de manière identique. Ainsi, une durée de travail équivalente pouvait leur être consacrée. Les sujets de synthèse proposés permettaient de couvrir les grands champs disciplinaires de notre spécialité notamment, pour cette session, les mécanismes immunitaires dans un cadre d'infection bactérienne ou virale pour la première question et la biochimie énergétique et la physiologie de l'exercice musculaire pour la seconde question. Même si des focales disciplinaires précitées s'imposaient, l'épreuve sollicitait de la part des candidats des connaissances dans de nombreux domaines de la biochimie métabolique, la microbiologie, la biologie cellulaire et moléculaire de la cellule. Ces domaines fondamentaux illustrent la richesse et la diversité des thématiques abordées dans nos enseignements.

Le jury a conscience que de traiter deux questions ouvertes en huit heures est un exercice difficile. Il souligne cependant que le choix de limiter l'épreuve à deux questions permet aux candidats de prendre le temps de cerner chaque question, mobiliser les connaissances appropriées, construire un plan logique et articulé à l'appui de courtes transitions. Malgré ces difficultés, le jury se réjouit de constater que quelques candidats ont su se distinguer par une composition de qualité, associant une réflexion pertinente et intégrée des sujets proposés ainsi qu'une mise en exergue de connaissances actualisées.

La nature de cette épreuve impose aux candidats d'avoir une gestion correcte du temps ainsi qu'une capacité à mobiliser efficacement et de façon pertinente leurs connaissances. Ceci implique de s'octroyer un temps réel de réflexion face aux intitulés des sujets afin, d'une part, de construire un plan logique tant dans sa forme que dans son contenu et, d'autre part, d'éviter toute digression hors-sujet. Le jury déplore que, mis à part quelques rares exceptions, ce travail de réflexion en amont ne semble pas être correctement réalisé, ce qui se ressent ensuite cruellement dans l'élaboration des devoirs. Ainsi, beaucoup trop de candidats ont élaboré des développements hors de propos et déconnectés des attentes des sujets.

De manière générale, le jury a apprécié la qualité de rédaction et de présentation de la majorité des copies dans lesquelles, hormis quelques rares exceptions, l'orthographe et la syntaxe sont correctement respectées. Il tient également à souligner l'effort manifeste de la plupart des candidats dans le soin apporté à la construction de transitions logiques et didactiques entre les différentes parties et sous-parties de leurs compositions.

Le jury regrette pourtant que de trop nombreuses prestations se soient aventurées dans des hors sujets et rappelle que de tels sujets, de par leur ampleur et leur richesse, ne pouvaient supporter des digressions. Les candidats qui n'ont pas cerné, dès l'introduction, les attendus des questions posées et qui se sont souvent égarés dans des verbiages et étalages de connaissances déconnectés du contexte, se sont systématiquement lourdement auto-pénalisés.

Comme l'année dernière, le jury s'inquiète du niveau de langage bien trop faible des candidats et d'une absence de rigueur scientifique dans les mots et expressions employés. Cet aspect représente pourtant un élément important car tout mode de communication, et qui plus est celui de nos disciplines scientifiques, repose sur l'usage d'un vocabulaire précis qui ne peut souffrir les approximations et les verbiages communs.

Le jury rappelle également qu'un devoir doit contenir une introduction de qualité qui positionne correctement le sujet et présente la construction du devoir. Un plan apparent, détaillé, rigoureux et pertinent, articulé de transitions apportant de la fluidité et de la légitimité au récit, était également attendu. Enfin, un devoir doit également contenir une conclusion pertinente, point souvent très mal ou très maladroitement abordé par les candidats. Celle-ci pouvait aisément faire un rapide bilan des notions essentielles abordées et surtout proposer un (des) élargissement(s) en lien avec la thématique.

1^{ère} question

Le jury est globalement déçu de la façon dont les candidats ont abordé la question : « Les mécanismes bactériens et viraux d'échappement au système immunitaire ».

Les candidats devaient, avant tout, s'efforcer de cerner le plus précisément possible le sujet avant de commencer leur composition. En effet, il semble important de rappeler que la note n'est en aucun cas proportionnelle à la quantité de texte rédigé. Les longues digressions, même correctes scientifiquement, ne sont pas utiles et ne donnent pas lieu à une quelconque valorisation. Si le sujet portait sur les bactéries et les virus, il n'était pas utile de s'appesantir sur la structure des procaryotes et virus, ou sur leur cycle de vie. Le sujet ne le nécessitait pas et ce type de développement a fait perdre un temps précieux au candidat. D'autre part, il n'était aucunement attendu de la part des candidats un long (souvent plus de la moitié de la copie, voire parfois 2/3 de la copie) développement à propos du système immunitaire, le sujet portant sur les mécanismes d'échappement et non le système immunitaire considéré connu. Cela reflète *a minima* un manque de lecture et de compréhension du sujet.

Il ne s'agissait surtout pas d'ambitionner l'exhaustivité mais de présenter des stratégies correctement positionnées au niveau des étapes clefs de la réponse immunitaire et ayant valeur de modèle. Le commentaire de l'épreuve n'a pas non plus prétention à l'exhaustivité. De même, aux exemples cités peuvent se substituer des situations tout aussi pertinentes. Pour cette raison, le jury a pratiqué une correction ouverte sur la composition de chaque candidat dans le déterminisme d'apprécier le niveau scientifique, la qualité de la structuration et la pertinence des exemples choisis. Ainsi, il apparaissait que 6-8 exemples correctement choisis pouvaient être largement suffisants mais aussi nécessaires pour traiter correctement le sujet. Une brève introduction de chaque grande partie pouvait intégrer une liste de mécanismes attachés à l'item développé suivi des noms des exemples choisis pour une présentation plus détaillée.

Le sujet imposait clairement que les mécanismes mis en jeu soient correctement présentés. Les exemples donnés par les candidats n'étaient que très rarement explicités avec détails et les aspects moléculaires des mécanismes ont été quasiment toujours absents. Les molécules et structures impliquées dans la stratégie présentée étaient trop souvent occultées. Les propos des candidats étaient trop peu souvent accompagnés de schéma (de synthèse ou de détail) pouvant servir de support à la compréhension et à la valorisation de la copie.

Fréquemment, le lien entre les exemples cités et l'échappement au système immunitaire n'était pas clairement montré ne permettant pas aux correcteurs d'apprécier si le candidat maîtrisait son sujet. Les exemples devaient systématiquement s'appuyer avec précision sur une bactérie ou un virus. Des expressions telles que « la capsule permet... » ou « certains virus restent latents... » devaient s'accompagner, d'un microorganisme modèle, clairement nommé, pour le type de stratégie discuté. Que dire des candidats qui se sont aventurés dans la présentation détaillée de la conjugaison bactérienne, des expériences de Griffith ou de la synthèse des protéines.

Les approximations scientifiques doivent être évitées notamment par l'utilisation d'un vocabulaire et d'un discours compatible avec un enseignement scientifique de haut niveau que requiert une copie d'agrégation. L'exposé doit, d'autre part, bannir les lieux communs de type « journalistique » ou « guerrier » qui desservent le propos du candidat.

Notamment, il était attendu que les candidats traitent des points suivants :

- le franchissement des barrières immunitaires naturelles,
- les variations antigéniques des bactéries et virus,
- la capacité à bloquer la présentation des peptides sur les molécules du CMH,
- les mécanismes interférant avec les différentes étapes de la phagocytose,
- les mécanismes interférant avec le complément,
- la persistance dans l'organisme à long terme, notamment en lien avec la position cellulaire de certaines bactéries telles *Listéria*, les rickettsiales et les chlamydiales ;
- la capacité à bloquer le chimiotactisme des cellules phagocytaires,
- les possibilités d'inhiber la réaction humorale.

Une introduction pouvait préciser les besoins trophiques en lien avec la pathogénicité des bactéries et virus, notamment énergétiques et carbonés, ainsi que la dépendance des virus vis-à-vis de leurs cellules hôte (associée à leur parasitisme obligatoire). Une deuxième partie de l'introduction permettait de présenter les différents niveaux et stratégies d'actions du système immunitaire ainsi que le plan de la composition.

Une première partie pouvait aborder les stratégies permettant le franchissement des barrières immunitaires naturelles grâce par exemples au mimétisme des adhésines bactériennes (*E. coli*), à l'action de toxines déstabilisatrices des jonctions épithéliales (*Vibrio cholerae*), à la construction d'îlots de pathogénicité (*Yersinia*, *E.coli* enteropathogène, *Pseudomonas*, ...) ou à la résistance à l'acidité gastrique maintenant relativement bien connue chez *Helicobacter pylori*.

Une seconde partie pouvait être consacrée aux mécanismes de contournement de l'immunité innée notamment par actions sur la phagocytose, échappement au système du complément, actions au sein des cellules immunitaires, mécanismes affectant le chimiotactisme, les cellules NK.

Les stratégies d'action affectant la phagocytose mobilisent des stratégies diversifiées telles l'inhibition liée à la capsule bactérienne (*Streptococcus pneumoniae*), l'action de la coagulase de *Staphylococcus aureus* sur le réseau de fibrine qui limite l'accès aux macrophages (mais intervient aussi sur l'activité C9 du complément) et dont la protéine A affecte la liaison des anticorps (RFc) aux macrophages. Le virus *Influenza* ou de l'hépatite C perturbent la production de cytokines, d'autres microorganismes par contre favorisent leur phagocytose grâce à la libération d'un peptide doué d'un pouvoir attractif sur les polynucléaire neutrophiles. Un mécanisme particulier mis en œuvre par *Listeria* permet à la bactérie phagocytée d'échapper à son maintien dans le phagosome (action d'une listeriosine) afin de persister et se développer dans le cytoplasme cellulaire.

De nombreuses bactéries (pneumocoques) et virus (*HSV*, *vaccine*) affectent les actions respectives du C3b ou du C4b du système du complément.

Listeria ou les Poxvirus développent d'autres stratégies notables qui entraînent une diminution de la réaction inflammatoire : les Poxvirus produisent un analogue structural de IL-1 qui se lie au récepteur correspondant alors que *Listeria*, une fois « installée » dans le cytoplasme cellulaire, produit une protéine dont l'activité intra nucléaire entraîne la prise de contrôle de l'expression de certains gènes impliqués dans la réponse immunitaire.

Une autre stratégie d'action sur l'immunité innée consiste en des mécanismes affectant directement les cellules immunitaires : les staphylocoques et streptocoques sont capables d'entraîner une autolyse cellulaire par dégranulation intracellulaire des lysosomes sous l'effet d'une leucocidine. Ces germes ont aussi des toxines de type hémolysines qui sont souvent aussi des leucocidines détruisant les globules blancs... *Mycobacterium tuberculosis* développe un mécanisme d'inhibition de la fusion lysosome – phagosome et possède, d'autre part, des activités enzymatiques de surface (catalase, superoxyde dismutase) permettant de lutter contre les dérivés oxygénés.

Une autre stratégie mise en œuvre, notamment par le virus de la vaccine, consiste à produire un analogue des chaînes lourdes du CMH I afin d'inhiber la reconnaissance des cellules cibles infectées par les cellules NK.

On peut signaler, enfin, même s'il ne s'agit pas d'un mécanisme d'échappement à part entière, que certains virus, herpes, varicelle – zona, peuvent persister toute une vie dans l'organisme infecté en se dans un état de latence dans les cellules des ganglions nerveux situé à proximité de la zone de primo infection. A côté du camouflage, l'HSV produit une protéine bloquant la cascade signalétique de l'INF.

Les stratégies de contournement de la réponse adaptative sont également subtiles et diversifiées. Une tentative de classification regrouperait les mécanismes d'échappement à la reconnaissance par biodiversité des protéines de surface ou blocage de la présentation antigénique ; une perturbation des fonctions des cellules T ; une inhibition des réactions humorales.

La biodiversité des protéines de surface est bien connue chez le virus de la grippe dont l'absence de système de relecture-corréction post réplication entraîne une grande diversité des protéines virales de l'enveloppe. Chez le HIV, l'absence de mécanismes post répliatifs aboutit au concept de quasi espèce virale dont la production journalière de virions est estimée de l'ordre de 10^9 - 10^{10} chez un patient séropositif asymptomatique. Chez les bactéries (pneumocoques, salmonelles, colibacilles), les nombreux sérovars contribuent à des problèmes de reconnaissance spécifique. La variabilité génétique et phénotypique d'adhésines essentielles est décrite chez *Neisseria* et *Bartonella*.

Les stratégies de blocage ou d'inhibition de la présentation des antigènes sont diversifiées. On pouvait développer un ou deux exemples parmi les mécanismes suivants :

- inhibition de la dégradation des protéines virales par le protéasome au moyen de motifs répétés acides aminés de la protéine EBNA-1 de l'EBV ;
- diminution de l'expression des gènes codant pour le CMH I par le CMV et l'adénovirus (protéine E9 qui forme un complexe stable avec le CMH 1 dans le réticulum endoplasmique, ce qui bloque leur transport vers la surface cellulaire) ;
- production par le HIV d'un analogue viral de l'IL-9 qui entraîne une réduction de l'expression de la TAP ;
- production d'une protéine liant TAP par l'EBV ;
- perturbation du trafic intracellulaire du CMH II par le CMV ;
- inhibition par les papillomavirus de la surexpression du CMH II induite par INF γ ;
- inhibition par la protéine ICP47 du Cytomegalovirus de la translocation des peptides viraux par la CPA.

Une autre stratégie associée au processus infectieux du HSV aboutit à une modulation (voire une mise sous contrôle) des activités des cellules T par un mécanisme dit "fratricide" qui aboutit à un épuisement de la population des lymphocytes T CD8⁺. La présentation directe des épitopes viraux aux cellules T cytotoxique (TCR CD8⁺ - CMH I) entraîne leur internalisation. Les lymphocytes T cytotoxiques deviennent ainsi la cible directe des autres lymphocytes. Ce mécanisme pourrait servir à contrôler négativement la réponse immune et pourrait également être bénéfique pour l'hôte, en modulant les effets pathologiques dus à une réponse CD8 trop importante.

L'inhibition de la réponse humorale peut consister (EBV) en la production d'analogues de cytokines telle l'IL-10 ou en la stimulation de la production naturelle de cette IL (*Brucella*), ce qui entraîne une inhibition des productions de l'INF- γ et de l'IL-12 par les macrophages. *Streptococcus pneumoniae* produit une protéase dirigée contre les IgA.

Les bactéries et virus pathogènes développent donc des stratégies d'échappement au système immunitaire prenant appui sur chacune des étapes des mécanismes de l'immunité. Les virus sont les plus dépendants de leur cellule-hôte pour l'accomplissement de leur cycle et leur persistance. De ce fait, ils sont les plus exposés à la reconnaissance par les effecteurs de la réponse immunitaire, notamment celle à médiation cellulaire. Ils multiplient les approches moléculaires afin d'économiser leur matériel génique et de poursuivre leur principal objectif qui est de survivre dans l'organisme infecté. L'ensemble des stratégies ne vise pas la destruction des cellules qu'ils parasitent, ni l'annihilation du système immunitaire, mais à en limiter la pression afin de maintenir un équilibre avec leur hôte. Au cours de l'évolution, une grande partie du génome des bactéries et virus pathogènes a été utilisé afin de développer des mécanismes d'échappement qui ne sont encore totalement élucidés, voire totalement inconnus. Les nouvelles approches d'analyse du génome (puces à ADN, PCR en temps réel), les nouvelles générations de séquençage tel le « Genome editing » (le système CRISPR/Cas 9) vont permettre d'accélérer l'acquisition des connaissances sur les modifications de l'expression des gènes induites par l'infection d'un agent pathogène. Il est déjà possible d'examiner les interactions entre la cellule hôte et un agent infectieux avec infiniment plus de précision et surtout de quantifier simultanément l'expression de plusieurs dizaines de milliers de gènes. L'une des conséquences de ces approches sera de pouvoir caractériser les mécanismes impliqués dans les pathogénies bactériennes et virales en fonction des phases de l'infection.

2^{ème} question

La seconde question de l'épreuve faisait appel à des connaissances de biochimie et de physiologie humaine. La construction du plan étant largement suggérée dans l'intitulé de la question, les candidats ont, dans leur plus grande majorité, tenu compte à bon escient de cette suggestion. L'épreuve consistait donc à présenter, dans un premier temps, les aspects métaboliques de la contraction musculaire au niveau d'une cellule striée squelettique, puis à se positionner à une échelle plus large et replacer l'exercice musculaire dans un contexte physiologique intégré.

Dans la première partie, il était attendu que soient mises en évidence et commentées les différentes voies d'approvisionnement en ATP de la cellule en fonction de la durée de l'exercice musculaire. Ainsi, devaient être abordés l'épuisement rapide en molécules d'ATP au niveau local, suivi par l'utilisation rapide du stock de créatine phosphate, puis l'utilisation des réserves locales de glycogène en anaérobiose, suivis des mécanismes oxydatifs incluant le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire lorsque les apports en dioxygène le permettent. A ce niveau de la composition, et au vu de l'intitulé du sujet, il n'était donc absolument pas attendu que les candidats développent les aspects moléculaires de la contraction musculaire si ce n'est, a minima, pour introduire la nécessité d'approvisionner en ATP la cellule musculaire en activité. Bien évidemment, la présentation détaillée de la jonction neuromusculaire était totalement hors-sujet. Le jury a constaté des erreurs majeures, comme par exemple l'évocation séquentielle temporelle de processus anaérobies succédant aux métabolismes aérobie, ou la production d'acide lactique par les cellules musculaires. Pour ce dernier point, la différence entre lactate et acide lactique est peut-être subtile mais néanmoins de taille pour raisonner ensuite sur les modifications de pH extracellulaire survenant au voisinage d'une cellule en activité. D'autre part, le jury regrette que beaucoup trop de candidats se soient perdus dans une présentation détaillée des voies métaboliques intracellulaires sans les replacer dans le contexte des adaptations métaboliques survenant au niveau d'une cellule musculaire en activité. Ceci était d'autant plus regretté que ces présentations donnaient souvent lieu à des notions erronées comme celle par exemple d'indiquer, en s'appuyant sur la réaction simplifiée mais fautive : glycogène (n + 1) \rightarrow glycogène (n) + glucose », que la glycogénolyse permet la production de glucose. La régulation de ces voies métaboliques était un point important à évoquer du moment que celle-ci s'inscrivait dans un contexte physiologique intégré. A

ce propos, le rôle des hormones dans la régulation d'un exercice musculaire de courte durée a donné lieu à des interprétations et développements surprenants.

Dans les seconde et troisième parties, le jury attendait que soient présentées les adaptations cardiovasculaires et respiratoires à l'exercice musculaire en lien avec les voies d'approvisionnement en ATP au niveau de la cellule musculaire en activité. Cette partie a été très rarement développée et se limitait bien trop souvent à une description très sommaire de ces adaptations. Le jury a ainsi fortement regretté l'absence de connaissances de la grande majorité des candidats dans ce domaine. Seuls quelques candidats ont traité le sujet dans son intégralité.

Les adaptations à l'origine de l'augmentation du rythme et du débit cardiaques devaient aborder les notions de fréquence cardiaque, de volume d'éjection systolique ainsi que les processus associés tels que le retour veineux. La définition de la pression artérielle était aussi attendue, de même que les éléments susceptibles de la moduler. Seule une minorité de candidats a présenté l'organisation du baroréflexe comme mise en œuvre des adaptations de la pression artérielle. Le sujet imposait que soient également présentés de façon intégrée les mécanismes nerveux (arcs réflexes, centre d'intégration des signaux...) conduisant à la régulation de ces différents paramètres et comment ceux-ci participent à la bonne réalisation de l'exercice musculaire. L'adaptation du système vasculaire devait être explicitée de façon complète en précisant comment s'effectue la redistribution pertinente de la masse sanguine et en présentant l'avantage physiologique d'une telle redistribution. Les effets des métabolites sur la vasodilatation, le contrôle extrinsèque de l'hyperémie faisaient partie des développements attendus.

Enfin, une dernière partie devait être consacrée à la présentation des adaptations respiratoires mises en jeu lors d'un exercice musculaire et participant à fournir les besoins métaboliques des cellules en activité. Le jury attendait donc que soient exposés l'intérêt d'une telle régulation et les acteurs qui y participent (nature des signaux déclencheurs, voies de régulation empruntées, arc réflexe, centres d'intégration, nature des effecteurs, mécanismes moléculaires...). Ainsi, les notions de pH, de concentration en CO₂ et O₂, d'effet Haldane étaient incontournables et devaient être soigneusement présentées et expliquées.

Le jury regrette que, mis à part quelques rares copies, le sujet n'ait pas été abordé dans sa dimension physiologique intégrée et que les deux dernières parties mentionnées ci-dessus n'aient, en règle générale, pas du tout été abordées. Etant tous confrontés régulièrement à la réalisation d'un exercice physique, les notions de régulation de rythme cardiaque et respiratoire devaient tomber sous le sens de l'observation personnelle déductive. D'autre part, le jury s'est étonné des erreurs et contresens biologiques et physiologiques récurrents (ex : utilisation des protéines musculaires comme source énergétique lors d'un exercice musculaire) et du niveau très faible, voire inexistant, des connaissances des candidats sur les mécanismes impliqués dans les régulations cardiaque et respiratoire lors d'un exercice musculaire.

Le jury souligne que la réalisation d'un devoir d'agrégation demande un minimum de rigueur et que les candidats doivent, notamment par correction envers les membres du jury, écrire intégralement les mots et ne pas user d'un style télégraphique non conventionnel. De même, si un schéma correctement légendé est toujours un support très apprécié, il ne peut se substituer totalement à du texte.

EPREUVES D'ADMISSION

Première épreuve

Rapport de la première épreuve

Résultats de l'épreuve

20 candidats, agrégation et CAER confondus candidats ont composé :

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

La moyenne générale de l'épreuve est de 12,22. La meilleure note est de 17/20.

Le jury tient très sincèrement à féliciter l'ensemble des candidats qui ont unanimement respecté l'esprit de l'épreuve, que ce soit dans le cadre de la démarche de projet ou dans celui de la présentation et de l'entretien avec le jury.

Le dossier pouvait légitimement comporter deux parties :

- une étude scientifique et technologique que le candidat aura pris soin de replacer dans son contexte, notamment en la positionnant en relation avec la problématique à l'origine du projet. Il s'agit d'une étude s'appuyant sur des données scientifiques ou technologiques actualisées et dont les prolongements, économiques, sociétaux sont abordés ;

- une mise en application pour un niveau de classe donné, un référentiel, une progression choisie et justifiée. La problématique du transfert des activités technologiques et techniques décrites devait être abordée afin de prendre en compte les contraintes propres à un environnement enseignant (matériels disponibles, horaires, groupe classe, coût, sécurité,...). Elle pouvait décliner les modalités de mise en œuvre (opérationnalisation) en lien avec les objectifs de formations ambitionnés, les activités effectuées par les étudiants, les documents support de ces activités et les évaluations. Des aspects interdisciplinaires pouvaient également nourrir l'analyse des choix pédagogiques et opérationnels adoptés.

Remarques sur les dossiers

L'évolution très positive dans la qualité d'élaboration des dossiers tant dans leur présentation (figures, orthographe, syntaxe) que dans leurs contenus se confirme dans le prolongement du constat fait lors de la session 2015. En effet, ceux-ci comportaient dans leur ensemble une partie scientifique approfondie, construite à partir de données récentes de la littérature ainsi qu'une transposition pédagogique souvent cohérente et circonstanciée en lien avec la première partie. Le jury insiste sur le fait que le caractère novateur de l'application pédagogique n'est absolument pas un prérequis indispensable. Toutefois, le jury est néanmoins particulièrement sensible aux propositions réalistes et rigoureuses permettant l'introduction théorique et/ou pratique de nouvelles approches technologiques auprès des élèves/étudiants. Il est important de clairement positionner ces nouvelles approches par rapport au pré-existant, et d'être objectif quant aux apports et faiblesses des unes par rapport aux autres.

Les dossiers particulièrement appréciés ont très souvent été construits à partir d'une problématique d'enseignement cherchant - trouvant une issue dans la prise de contact avec une entreprise et non l'inverse, qui consisterait à effectuer un stage et une étude scientifique à partir desquels le candidat tente une mise en situation d'enseignement. Souvent artificielle ou réduite à une séance de travaux dirigés en fin de deuxième année de STS biotechnologies, elle se révèle alors décevante voire contre-productive. La transposition pédagogique doit présenter une mise en application ordonnée et hiérarchisée mettant clairement en évidence le déroulement de la (les) séquence(s) pédagogiques, les connaissances fondamentales et pratiques apportées ainsi que les notions de sécurité et de coût de réalisation.

Certains dossiers étaient cependant beaucoup trop longs. Le candidat doit être capable de concision, d'un esprit de synthèse et faire des choix tant dans la structuration que dans les contenus présentés.

Remarques sur la forme des présentations orales:

Le jury a, de nouveau, particulièrement apprécié les présentations structurées à l'aide de diaporamas de très bonne qualité, illustrés et didactiques dont certains étaient opportunément complétés d'animations vidéo ou de photographies saisies en entreprise ou en laboratoire. Il rappelle, d'une part, qu'il convient d'effectuer un choix pertinent parmi les notions présentées dans le dossier afin de ne pas surcharger dans le temps imparti l'exposé oral et, d'autre part, qu'une construction « allégée » en texte des diapositives possède bien souvent une valeur pédagogique ajoutée. A ce titre, le jury félicite la plupart des candidats pour les qualités didactiques de leurs présentations notamment celles réalisées sans support papier. En effet, ce dernier, bien que reconnu comme une « roue de secours » pour le candidat, génère bien trop souvent un propos peu fluide et décousu qui ne joue pas, en faveur du candidat qui devient alors « lecteur ».

Comme lors de la précédente session, le jury tient donc à souligner l'importance qui doit être accordée au support de la présentation. En effet, de mauvais choix de documents, des images de piètre qualité, des constructions peu didactiques, un mauvais contraste entre l'écrit et le fond peuvent parfois irrémédiablement assombrir une prestation pour autant honorable.

L'ancrage du projet sur un secteur professionnel (recherche, R&D, bio-analyse et contrôle...) et sa contextualisation concrète apportent sans conteste de la consistance et du sens au projet et à la présentation. A ce titre, le développement de la séquence pédagogique en lien avec le contexte « régional », lorsqu'il était possible, a été apprécié.

Le jury tient à souligner la qualité de la posture communicante de la plupart des candidats : voix audible mais pausée ; volonté de transmettre un message avec conviction ; vitesse d'élocution confortable. En effet, le jury rappelle que l'agrégation est certes un concours exigeant qui requiert une polyvalence et une mise à jour des savoirs mais qu'il est également un concours de recrutement d'enseignants dont les compétences en communication sont évidemment essentielles, tout comme l'est l'attitude générale devant un auditoire. Le jury se plaît à féliciter la majorité des candidats qui se sont prêtés avec enthousiasme et dans un état d'esprit positif au jeu des questions-réponses voulu comme un exercice de réflexion et d'échange constructif.

A de très rares exceptions près, les candidats ont scrupuleusement respecté la durée d'exposé de 30 minutes. En tout état de cause, dans un souci d'équité et en cas d'un possible dépassement du temps imparti, il était aimablement indiqué aux candidats l'impératif de conclure dans les plus brefs délais.

Remarques sur le fond

Le jury a particulièrement apprécié certains sujets ancrés sur une thématique intéressante, contextualisée et présentant des aspects technologiques novateurs en adéquation avec l'évolution actuelle des techniques. Il souligne de nouveau l'importance portée sur le fait que le candidat, porteur et acteur de son sujet, est censé l'avoir étudié en profondeur afin d'en dominer l'intégralité des aspects scientifiques et technologiques. Il est notamment attendu qu'il soit capable d'expliquer et de justifier les méthodologies présentées, d'expliquer les techniques et les principes scientifiques associés, de situer ces nouvelles méthodologies par rapport à celles qui existent, mais également d'assurer l'analyse approfondie des résultats présentés.

Le « projet original » est d'abord personnel et destiné à répondre à une problématique clairement identifiée. Ainsi, il ne convient pas de l'assimiler à l'exigence professionnelle commune à tous les enseignants : répondre aux attentes de l'institution en lien avec les responsabilités confiées. Il s'agit au contraire d'une démarche volontariste et originale, qui se doit de dépasser l'exécution d'un programme pour lui donner du sens, de l'épaisseur et de la hauteur. Certains candidats ont construit leur dossier à partir d'activités technologiques déjà mises en œuvre avec leurs élèves. L'étude scientifique s'en trouve alors artificielle, en général essentiellement livresque et manquant sensiblement de pertinence et de réalisme professionnel.

Certains dossiers prenant appui sur des activités liées à un stage de formation en laboratoire ou sur la préparation d'une thèse ont été d'un niveau scientifique très satisfaisant. Il convient cependant de ne pas oublier le fond de l'épreuve qui s'inscrit dans la mise en œuvre d'un projet pédagogique, le support scientifique étant au service du projet et non l'inverse. Il est crucial de veiller à respecter un équilibre *ad hoc* entre le contexte scientifique et technologique présenté et leur contextualisation pédagogique pertinente. Ainsi, certaines études technologiques et techniques, impossibles à mettre en œuvre dans le contexte d'un établissement scolaire, ont donné lieu à des applications pédagogiques pour le moins peu opportunes.

Il est attendu d'un professeur agrégé qu'il soit capable de faire évoluer les pratiques au sein de son établissement. Cela implique la mise en œuvre de stratégies pédagogiques novatrices, pragmatiques et réalistes qui donnent sens aux apprentissages. Ces activités doivent être construites, certes en appui sur une réalité professionnelle, mais également économique pour l'établissement et transposables à un groupe d'élèves en lien avec des objectifs de formation et la réglementation en vigueur.

Bien que peu nombreuses, il était dommage que certaines présentations se soient révélées par trop descriptives et incapables de s'affranchir d'un effet catalogue déclinant une succession de séances associées aux processus d'évaluation. Le jury a néanmoins apprécié certaines présentations synthétiques et concises s'appuyant de façon pertinente sur un organigramme mettant en relief les objectifs, méthodologies, stratégies pédagogiques et démarches d'évaluation d'une séquence préalablement positionnée au sein d'une progression. Cette présentation synoptique laisse ensuite toute légitimité à une approche détaillée de l'opérationnalisation choisie. Le jury a également été sensible à la prise en compte des contributions des autres disciplines, dans une approche pédagogique moderne et interdisciplinaire.

Au cours de l'entretien, le jury a particulièrement apprécié le comportement remarquable des candidats, faisant preuve de motivation mais aussi d'une probité intellectuelle très appréciée.

Les réponses données aux questions posées ont permis, dans la très grande majorité des cas, d'éclairer le jury sur certains points du projet, notamment sur son déterminisme et les solutions techniques adoptées, mais aussi d'explicitier, de préciser certaines données scientifiques abordées ou décrites dans le dossier. Elles ont également favorisé l'appropriation des démarches pédagogiques choisies ou conçues. En effet, par ce questionnement large, le jury souhaite également apprécier la maîtrise didactique de la discipline ou la position du candidat sur des éléments non mentionnés dans le dossier mais directement associés à la problématique.

Bien évidemment, au cours de cette épreuve, les qualités d'expression et de communication, le sens de l'écoute positive, l'adéquation des réponses aux questions sont aussi des paramètres pris en compte dans la notation.

Deuxième épreuve

AGREGATION DE BIOCHIMIE – GENIE BIOLOGIQUE

Concours interne

Session 2016

EPREUVES D'ADMISSION

DEUXIEME EPREUVE

Durée : 8 heures

Coefficient : 1

Cette épreuve consiste à exploiter des documents techniques et pédagogiques relatifs à une séquence de « travaux pratiques » ou à une séquence à caractère expérimental, élément d'un processus d'apprentissage.

Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :

- proposer et justifier les principes, méthodes et modes opératoires à mettre en œuvre et à dégager les concepts auxquels ils se rattachent ;
- réaliser, pour tout ou partie, selon la durée impartie, l'activité prévue.

Le programme du concours est défini par référence aux programmes des BTS et DUT de la spécialité.

Cette épreuve consiste à exploiter des documents techniques et pédagogiques relatifs à une séquence de « travaux pratiques » ou à une séquence à caractère expérimental, élément d'un processus d'apprentissage

Elle permet d'évaluer les capacités du candidat à :

- proposer et justifier les principes, méthodes et modes opératoires à mettre en œuvre et à dégager les concepts auxquels ils se rattachent*
- réaliser, pour tout ou partie, selon la durée impartie, l'activité prévue.*

Le programme du concours est défini par référence aux programmes des BTS et DUT de la spécialité.

Le sujet comporte deux parties indépendantes :

- 1. Mise au point d'une étape de la fabrication du sucre au laboratoire**
- 2. Etude de l'action de la camptothécine sur des cellules murines en culture**

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

Les données de sécurité sur les réactifs et cellules utilisés sont regroupées dans le document 12.

Mise au point d'une étape de la fabrication du sucre au laboratoire.

Une des étapes de la fabrication du sucre à partir de la betterave sucrière consiste en une décalcification du produit en cours de fabrication suite à un chaulage (voir diagramme de fabrication **document 1**).

Le passage au pilote industriel nécessite une étape préalable de mise au point en laboratoire de recherche et développement.

La décalcification est réalisée par chromatographie d'échange d'ions sur une résine Amberlite IR120 Plus, commercialisée par l'entreprise Sigma sous forme sodique. Les caractéristiques de cette résine sont présentées dans le **document 2**.

Une même résine peut être utilisée plusieurs fois. Malgré la procédure de régénération mise en œuvre entre chaque utilisation (voir **document 3**) la capacité d'échange résiduelle de la résine diminue au cours des cycles d'utilisation.

Détermination de la capacité d'échange résiduelle de la résine après 10 utilisations.

Matériel et réactifs à disposition

- Colonne à chromatographie (diamètre interne 10 mm, diamètre externe 13 mm, hauteur maximale 600 mm)
- Erlenmeyer de 250 mL
- Burette 25 mL
- Bêchers
- Règle graduée
- Résine Amberlite IR120 Plus. 
Cette résine a été utilisée 10 fois et a subi la procédure de régénération à l'issue de la dernière utilisation.
- HCl à 1 mol.L⁻¹  150 mL
- NaOH à 1 mol.L⁻¹ 150 mL
- NaCl à 2 mol.L⁻¹ 300 mL
- Papier pH
- Indicateurs de pH : Bleu de bromothymol (BBT), Bleu de thymol (BT), (zones de virages **document 4**).
- Eau distillée : L'eau distillée à disposition est produite sur site par échange d'ions. Elle est légèrement acide.

Proposer un protocole détaillé permettant de déterminer la capacité résiduelle d'échange de la résine fournie.

Mettre en œuvre le protocole.

Présenter les résultats.

Calculer la capacité résiduelle d'échange de la résine.

En déduire le taux de régénération de la résine.

En s'appuyant sur la manipulation mise en œuvre, élaborer une présentation du principe de la chromatographie d'échanges d'ions pour des étudiants de BTS.

Détermination du volume de jus sucré décalcifiable

Le jus sucré à décalcifier contient entre 0,1 et 0,2 moles de calcium par litre.

Doser le calcium de ce jus selon le protocole du document 5.

Exploiter les résultats obtenus.

Rédiger pour des étudiants de BTS, un document de synthèse expliquant le principe du dosage.

Calculer le volume de jus décalcifiable avec le volume de résine mis à disposition.

Etude de l'action de la camptothécine sur des cellules murines en culture

La camptothécine est un antibiotique dont l'implication dans l'apoptose fait l'objet de l'étude proposée.

Cette étude porte plus particulièrement sur les modifications de la membrane plasmique et de l'ADN nucléaire, caractéristiques de ce processus cellulaire. En effet, dès le début du phénomène d'apoptose, la phosphatidylsérine est transloquée de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule. Ce n'est qu'à un stade plus avancé de l'apoptose que l'ADN est fragmenté.

Les cellules étudiées, appelées P815, sont issues d'un mastocytome murin. Ces cellules sont cultivées en suspension et sont aisément dissociables mécaniquement.

Chaque candidat dispose d'une plaque 6 puits :

- puits 1 : cellules P815 non traitées,
- puits 2 : cellules P815 traitées pendant 18 heures par la camptothécine à $4 \mu\text{g.mL}^{-1}$.

*La plaque sera maintenue sur la glace tout au long de la séance.
Aucune manipulation ne sera réalisée sous PSM.*

Observation, dénombrement et viabilité cellulaires.

Décrire la morphologie des cellules observées au microscope inversé.

Déterminer la concentration cellulaire initiale et le pourcentage de viabilité après numération en hématimètre de Malassez (document 6) d'une dilution au demi des cellules dans du bleu de Funk (colorant d'exclusion).

Marquage des cellules à l'annexine V-FITC

L'annexine V est une protéine qui se fixe spécifiquement sur la phosphatidylsérine. Elle est utilisée couplée avec un fluorochrome, le FITC (isothiocyanate de fluorescéine).

L'iodure de propidium (IP) utilisé conjointement est un fluorochrome hydrophile. Sa fluorescence est exacerbée lorsqu'il est intercalé dans l'ADN.

Les propriétés spectrales des deux fluorochromes sont présentées dans le **document 7**.

Présenter les résultats susceptibles d'être obtenus suite au marquage des cellules étudiées.

Mettre en œuvre le protocole présenté dans le document 8.

Présenter et analyser les résultats obtenus.

Rappeler le principe de la fluorescence et préciser les réglages à effectuer sur le microscope dans le contexte de l'étude.

Extraction purification de l'ADN cellulaire et migration sur gel.

Proposer un schéma synoptique du protocole d'extraction - purification présenté dans le document 9. Indiquer le rôle de chaque étape.

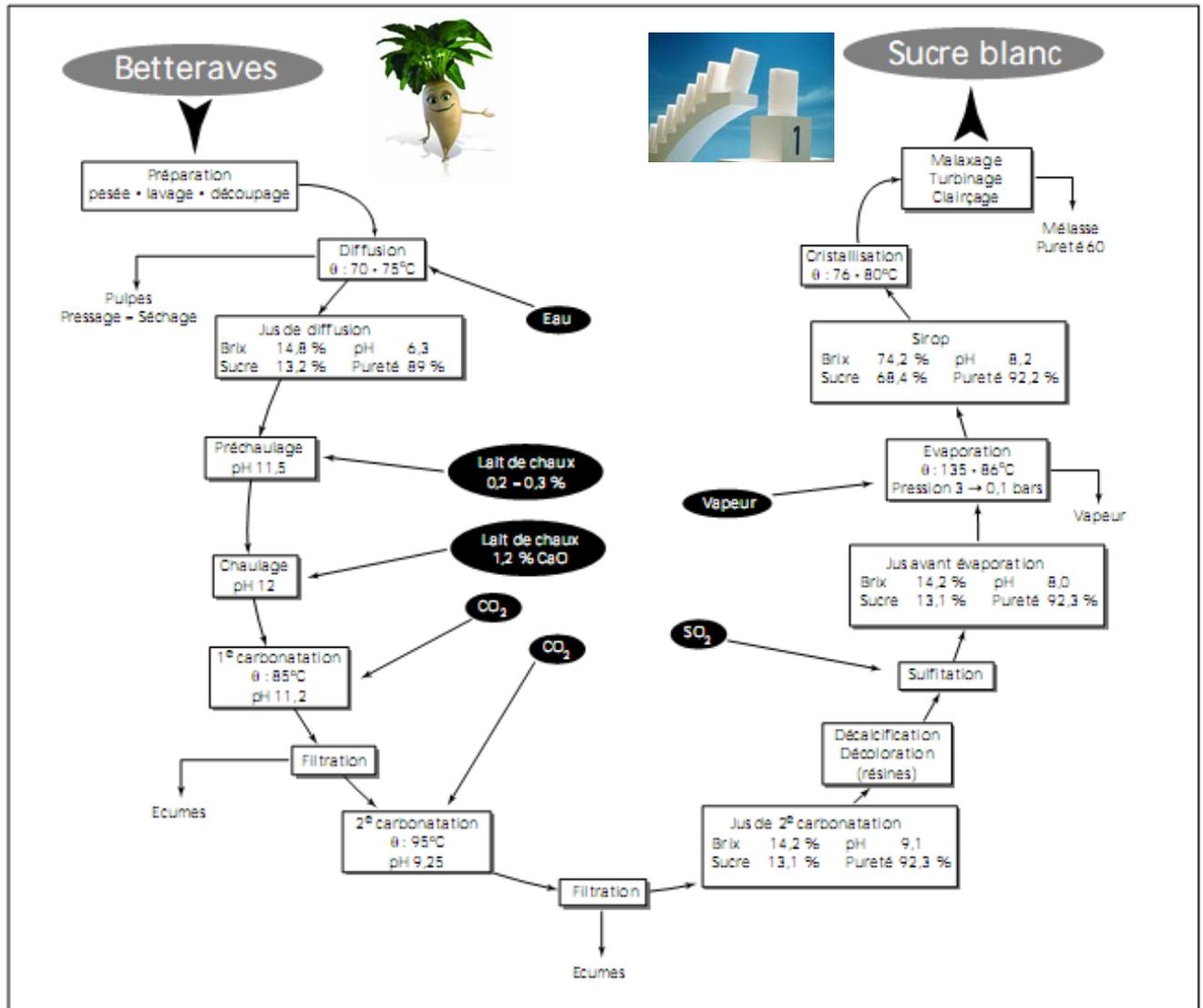
Mettre en œuvre le protocole d'extraction-purification.

Analyser par électrophorèse sur gel d'agarose 1% les préparations obtenues (document 10).

Effectuer le bilan de l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus.

Document 1

Organigramme simplifié de la fabrication du sucre



Document 2

Caractéristiques de la résine Amberlite IR120 plus Sigma.

Propriétés

Related Categories	Amberlite, Amberlite Strong Cation Exchangers, Analytical/Chromatography, Cation, Cation Exchange Media, Plus...
vapor density	>1 (vs air)
vapor pressure	17 mmHg (20 °C)
crosslinking	8 % cross-linked
autoignition temp.	800 °F
cross-linkage	8%
moisture	45%
matrix	styrene-divinylbenzene (gel)
particle size	16-50 mesh
capacity	2.0 meq/mL by wetted bed volume

Groupement fonctionnel : $-\text{SO}_3^-/\text{Na}^+$

Rappel : un équivalent (eq) correspond à une mole de charge.

Document 3

Procédure de régénération de la résine Amberlite IR120 plus.

Après chaque utilisation, pour un volume de résine V_R , traiter la résine de la façon suivante.

- Rincer la colonne avec $2 V_R$ d'eau distillée.
- Régénérer avec $2 V_R$ d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 mol.L^{-1} .
- Rincer à l'eau distillée jusqu'au retour du pH de l'effluent proche du pH de l'eau distillée.

Document 4

Zones de virage des indicateurs de pH

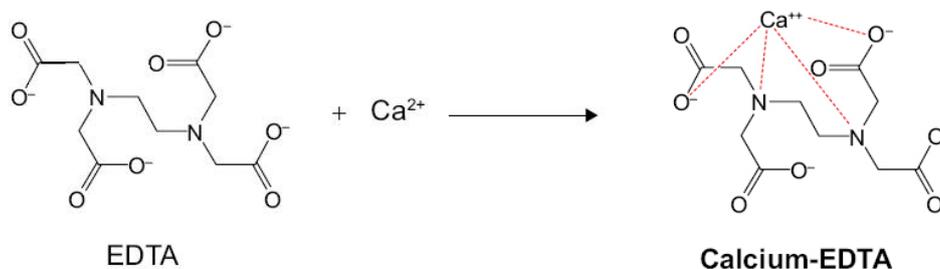
NOM USUEL	pK	Virage		pH limites de virage	
		acide	alcalin	acide	alcalin
Bleu de thymol (1 ^{er} virage)	2,0	rouge	jaune	1,2	2,8
Bleu de thymol (2 ^{ème} virage)	8,8	jaune	bleu	8,0	9,6
Bleu de bromothymol	6,9	jaune	bleu	6,2	7,6

Document 5

Dosage du calcium par complexométrie

Principe

L'EDTA est une molécule qui chélate les cations divalents.
En milieu alcalin la réaction de chélation du calcium est la suivante :



Réactifs

solution étalon de sulfate de magnésium à exactement 0,100 mol.L⁻¹ 40 mL

10 mL de tampon ammoniacal pH 10  40 mL

Noir Eriochrome T (NET)

Solution EDTA à environ 0,1 mol.L⁻¹  80 mL

Mode opératoire

- Introduire dans un erlenmeyer :
 - 10 mL de solution étalon de sulfate de magnésium à exactement 0,100 mol.L⁻¹
 - 10 mL de tampon ammoniacal pH 10
 - une pointe de spatule de Noir Eriochrome T (NET).
- Verser la solution d'EDTA à environ 0,1 mol.L⁻¹ jusqu'au virage de l'indicateur.
- Relever V₁ le volume d'EDTA versé.
- Remettre la burette à zéro.
- Ajouter dans l'erlenmeyer précédant 5 mL de jus de diffusion décalcifiable de betterave.
- Verser la solution d'EDTA jusqu'au virage de l'indicateur.
- Relever V₂ le volume d'EDTA versé.

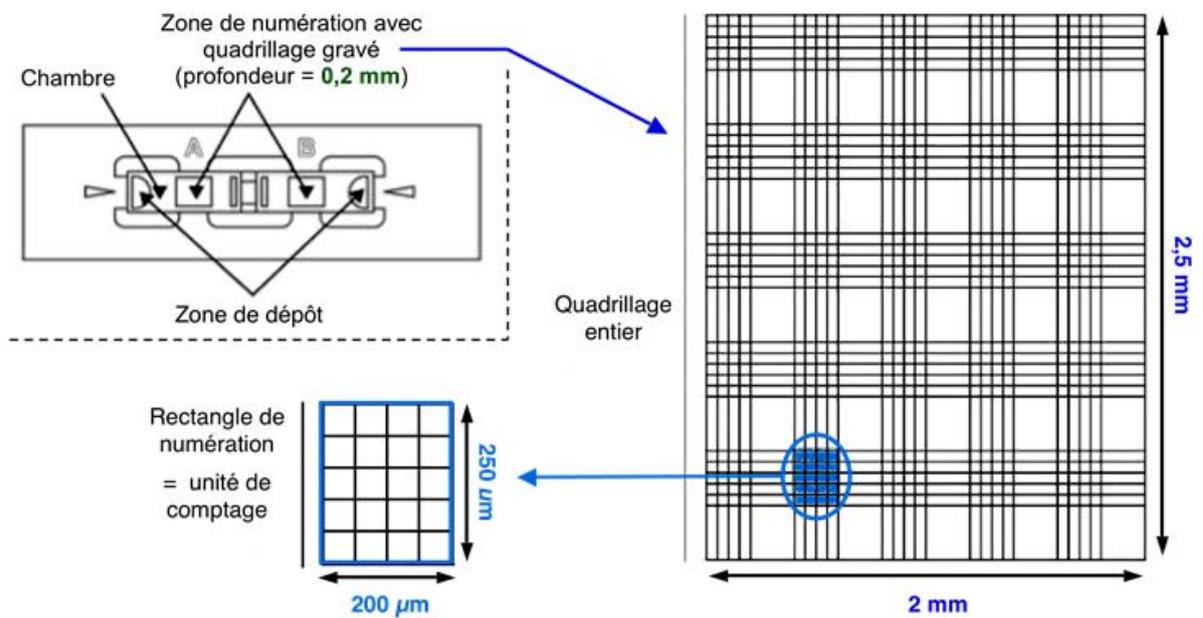
Constantes de dissociation des différents complexes susceptibles de se former

- EDTA-Ca : 10⁻¹¹ mol.L⁻¹
- EDTA-Mg : 10⁻⁹ mol.L⁻¹
- NET-Mg : 10⁻⁷ mol.L⁻¹
- NET-Ca : 10^{-5,4} mol.L⁻¹

Couleur de l'indicateur	Incertitudes
Le NET complexé est rouge. Le NET libre est bleu.	$CV_r = 1 \%$ $u_c = i \times \text{valeur retenue avec } i = 2 \%$

Document 6

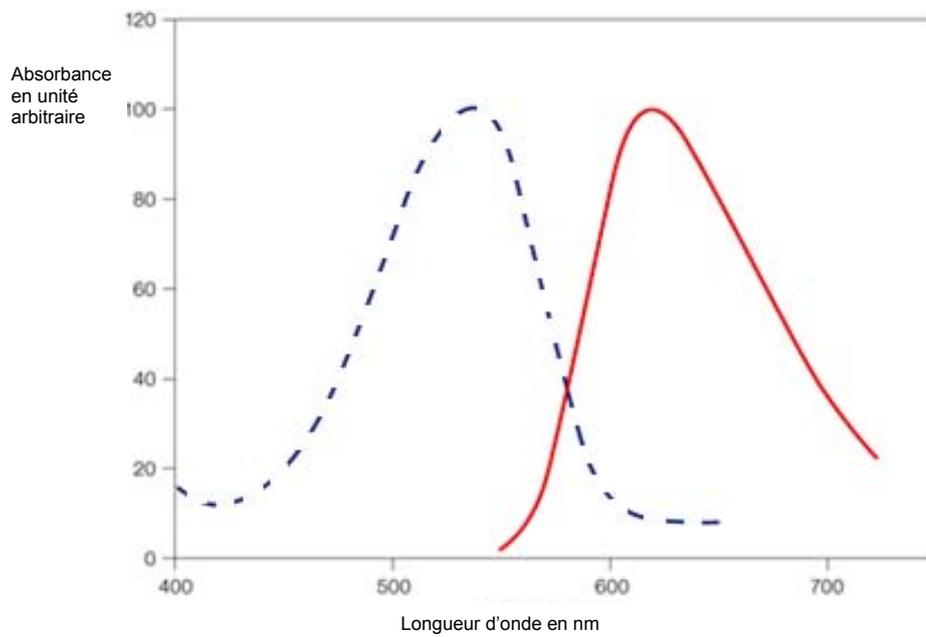
Caractéristiques de l'hématimètre de Malassez



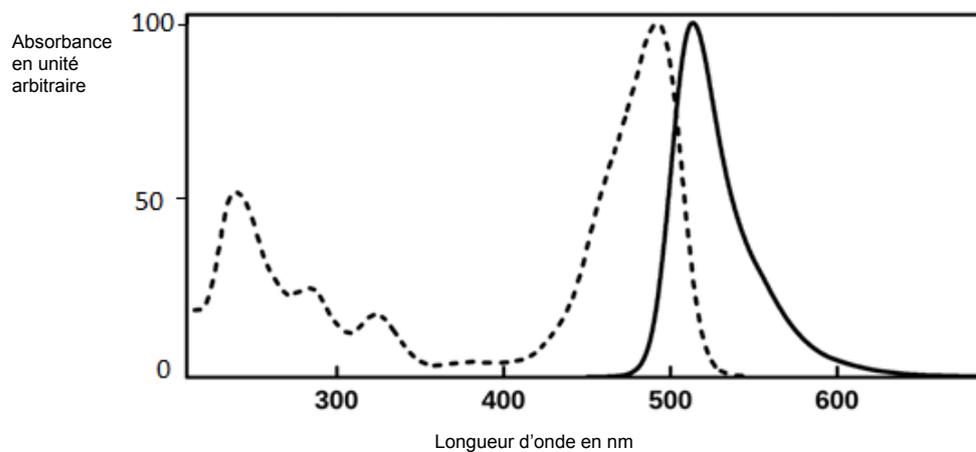
Document 7

Spectres d'absorption et d'émission des fluorochromes.

- Iodure de propidium



- Isothiocyanate de fluorescéine



Document 8

Marquage des cellules

Réactifs

- Cellules P815 ensemencées dans 2 puits d'une boîte de 6 puits, incubées la nuit dans du milieu complet avec ou sans la camptothécine ($4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ final).
- Tampon PBS 10 mL
- Tampon annexine 3 mL

Au poste dédié

- Annexine V-FITC



- Iodure de propidium (IP)

Mode opératoire

- Introduire $5 \cdot 10^5$ à $5 \cdot 10^6$ cellules dans un tube conique de 1,5 mL.
- Centrifuger pendant 5 minutes à 2000 rpm.
- Laver les cellules avec du tampon PBS froid.
- Remettre les cellules en suspension dans 1 mL de tampon annexine froid.
- Introduire 100 μL de suspension cellulaire dans un tube conique de 1,5 mL.
- Ajouter 1 μL d'annexine-FITC et 5 μL d'iodure de propidium.
→ *étape à réaliser devant un examinateur au poste dédié*
- Mélanger doucement et incubé 15 min à 4°C à l'abri de la lumière. (papier aluminium autour du tube et placer en glace).
- Ajouter 400 μL de tampon annexine froid.
- Monter sur cellule de Malassez, observer au microscope à fluorescence avec les filtres nécessaires.
- Réaliser une analyse semi-quantitative sur quelques champs microscopiques.

Document 9

Extraction-Purification de l'ADN

Réactifs

- Cellules P815 ensemencées dans 2 puits d'une boîte de 6 puits, incubées la nuit dans du milieu complet avec ou sans la camptothécine ($4 \mu\text{g.mL}^{-1}$ final).
- Tampon A   : Tris 50 mM, pH 7,4 ; EDTA 20 mM ; Triton X100, protéinase K 1 mg.mL^{-1} , 1 mL
- RNase A (10 mg.mL^{-1}) 80 μL
- Acétate d'ammonium 7,5 M 500 μL
- Ethanol 100%,   2 mL
- Tampon TE :  Tris 10 mM, pH 8 ; EDTA 1 mM 100 μL .

Mode opératoire

- Transvaser $4 \cdot 10^6$ cellules dans des tubes coniques de 1,5 mL
- Centrifuger les tubes à 2000 rpm pendant 5 min
- Eliminer soigneusement le surnageant
- Reprendre le culot dans 200 μL de « tampon A »
- Homogénéiser délicatement par aspirations-refoulements
- Incuber 30 min à 50°C
- Refroidir en glace
- Ajouter 20 μL de RNase A et homogénéiser délicatement
- Incuber 10 minutes à 37°C
- Ajouter 0,5 volume d'acétate d'ammonium 7,5 M
- Homogénéiser par retournement
- Ajouter 2,5 volumes d'éthanol 100% froid (le maintenir à -20°C jusqu'à l'emploi)
- Homogénéiser par retournement
- Incuber 30 minutes à -20°C
- Centrifuger 10 min à 13 000 rpm en prenant soin d'orienter les charnières vers l'extérieur
- Eliminer le surnageant
- Laisser sécher le culot à l'air libre (20 minutes)
- Remettre délicatement en suspension le culot avec 30 μL de tampon TE.

Document 10

Réalisation de l'électrophorèse en gel d'agarose

Réactifs

- Tampon de charge 6X composé d'EDTA  20 mM, de glycérol 50%, de bleu de bromophénol 0,1% pH 8 20 µL
- Tampon TAE  50 X composé de tris base, d'acide borique et d'EDTA 10 mL

Aux postes dédiés

- Agarose
- Marqueur de taille préparé en tampon de charge : 100 pb Ladder Biorad (**Document 11**)
- Red gel 10 000 X (agent intercalant fluorescent) au poste dédié

Préparation du gel

- Pour préparer un mini gel : peser la masse d'agarose nécessaire et ajouter 35 mL de tampon TAE 1X à préparer à partir de tampon TAE 50 X en eau distillée.
- Faire fondre l'agarose sur une plaque chauffante en surveillant l'évaporation et en bouchant l'erlen avec un bouchon en mousse.
- Préparer les plaques à électrophorèse en scotchant les bords (scotch de peintre).
- Laisser refroidir l'agarose jusqu'à 50 °C environ.
- Ajouter le volume adéquat de Red Gel.

Attention ne pas couler le gel trop chaud (risque de déformation du support)

- Couler le gel.
- Placer un peigne sur le support.
- Éliminer les éventuelles bulles à l'aide d'un cône jaune.
- Attendre la prise en masse (5 à 15 minutes).
- Enlever les scotchs.
- Placer le gel dans la cuve à électrophorèse sous contrôle d'un examinateur.
- Immerger le gel avec le tampon TAE 1X juste affleurant (1 à 2 mm au-dessus du gel) (environ 400 mL par cuve).
- Enlever le peigne.

Préparation et dépôt des échantillons

- Ajouter un volume de tampon de charge adéquat à chaque préparation d'ADN.
- Réaliser deux dépôts de 10 µL du marqueur de taille.
- Pour chacun des deux échantillons réaliser 3 dépôts respectivement de : 2,5 – 5 et 10 µL.

Migration

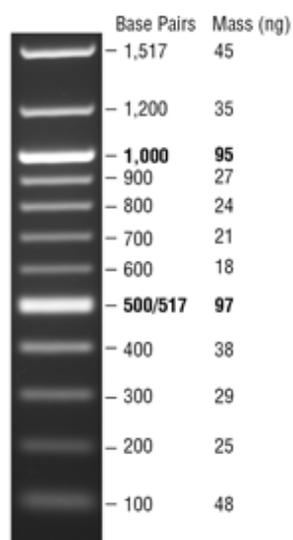
- Faire migrer le gel (ddp 120 V) dans le tampon TAE.
- Arrêter la migration quand le bleu a atteint les $\frac{3}{4}$ du gel.
- Observer le gel à l'aide de la table à UV.

Document 11

100 pb Ladder Biorad

A number of proprietary plasmids are digested to completion with appropriate restriction enzymes to yield 12 bands suitable for use as molecular weight standards for agarose gel electrophoresis. The digested DNA includes fragments ranging from 100-1,517 base pairs. The 500 and 1,000 base pair bands have increased intensity to serve as reference points. The approximate mass of DNA in each of the bands is provided (assuming a 0.5 μg load) for approximating the mass of DNA in comparably intense samples of similar size.

Comes supplied with 1 vial of Gel Loading Dye, Purple (6X), no SDS



100 bp DNA Ladder visualized by ethidium bromide staining on a 1.3% TAE agarose gel. Mass values are for 0.5 μg /lane.

Document 12

Données de sécurité sur les réactifs et cellules utilisés.

RISQUES BIOLOGIQUES

Cellules P815	Cellules d'un mastocytome murin
Risque biologique classique, équivalent à une souche bactérienne de classe 1	

RISQUES CHIMIQUES

Résine Amberlite IR120 plus Sigma  Danger Provoque une sévère irritation des yeux.	HCl  Danger Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires.
Triton X-100  Danger Nocif en cas d'ingestion. Provoque des lésions oculaires graves.	NaOH  Danger Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires.
Tampon de migration : TAE  Danger Provoque une irritation cutanée. Peut provoquer une allergie cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.	Tampon ammoniacal pH 10  Danger Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires. Peut irriter les voies respiratoires.

Ethanol absolu



Danger

Provoque une sévère irritation des yeux.
Liquide et vapeurs très inflammables

Iodure de propidium



Danger

Provoque une sévère irritation des yeux.
Provoque une irritation cutanée.
Susceptible d'induire des anomalies génétiques.

Camptothécine



Danger

Nocif en cas d'ingestion

EDTA



Danger

Provoque une sévère irritation des yeux.

Red gel



Danger

Provoque une sévère irritation de la peau

Éléments de correction de la deuxième épreuve

Résultats de l'épreuve

20 candidats ont composé (19 candidats agrégation, 1 candidat CAER - agrégation) :

- 2 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 12,
- 4 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 10 et strictement inférieure à 12,
- 3 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 8 et strictement inférieure à 10,
- 7 candidats ont obtenu une note supérieure ou égale à 6 et strictement inférieure à 8,
- 4 candidats ont obtenu une note inférieure à 6.

La moyenne générale de l'épreuve est de 8,41 / 20

La meilleure note est de 13,2 / 20.

Observations générales du jury :

Le jury tient à féliciter les candidats pour leur attitude et leur capacité à rester concentrés tout au long de l'épreuve.

Une lecture rapide du sujet permettait d'organiser dans le temps l'ensemble des manipulations à effectuer et d'exploiter au maximum les temps d'attentes. Il était, par exemple, fortement conseillé de démarrer l'étude de l'action de la camptothécine.

Le sujet comportait plusieurs manipulations indépendantes explorant différentes facettes des activités technologiques au programme des enseignements de biotechnologie. L'ensemble des manipulations nécessitait de la rigueur, tant au niveau de leur préparation que pour leur mise en œuvre et l'exploitation des résultats (traçabilité...).

Cette année encore, le jury a intégré une heure de pause qui s'ajoute aux huit heures d'épreuves.

Les candidats disposent à leur gré de cette heure qu'ils peuvent prendre en une ou plusieurs fois. Si la majorité des candidats a correctement géré ce temps, quelques-uns n'ont pas respecté cette pause et se sont trouvés dans une forme d'épuisement intellectuel dans les dernières heures de l'épreuve. Le jury rappelle aux futurs candidats l'importance d'une fine organisation du travail qui inclue des périodes de pause afin de rester concentré sur toute la durée de l'épreuve.

Partie I : Mise au point d'une étape de la fabrication du sucre au laboratoire

Détermination de la capacité résiduelle d'une résine échangeuse de cations.

Très peu de candidats ont été capables de proposer un protocole permettant de déterminer la capacité résiduelle d'échange de la résine fournie. De plus, malgré les indications fournies par le jury, au bout de 6 h d'épreuve aux candidats "en panne" seuls quelques uns ont finalement mené à terme les manipulations et exploité convenablement les résultats. Le jury a été surpris de constater que certains candidats ne maîtrisaient pas le principe de la chromatographie échangeuse d'ions.

Par contre, la plupart des candidats a su déterminer la concentration de calcium dans le jus à décalcifier. Le jury a apprécié les propositions de documents de synthèse à destination des étudiants de BTS que certains ont particulièrement bien construits.

Par contre, la plupart des candidats a su déterminer la concentration de calcium dans les jus à décalcifier. Le jury a apprécié les propositions de documents de synthèse à destination des étudiants de BTS que certains ont particulièrement bien construits.

Partie II : Etude de l'action de la camptothécine sur des cellules murines en culture

2.1. Observation, dénombrement et viabilité cellulaires

2.1.1. Cette question a été globalement décevante avec des erreurs notables :

- certains candidats ont observé, du fait d'un manque d'homogénéisation de la culture avant observation, des cellules adhérentes alors qu'il s'agissait de cellules non adhérentes) ;
- d'autres candidats ont observé des détails structuraux impossibles à déterminer avec un microscope inversé (fragmentations cytoplasmique et nucléaire...).

2.1.2. Détermination de la densité cellulaire initiale et du % de viabilité en hématimètre de Malassez

Le jury a apprécié les efforts de synthèse (tableaux notamment) de la part de certains candidats. Néanmoins, il a souvent déploré être contraint de devoir refaire les calculs des différents totaux découlant des résultats expérimentaux des candidats.

Le calcul du % de viabilité est globalement maîtrisé. Néanmoins, certains candidats effectuent des calculs à partir de résultats précédents déjà arrondis, ce qui fausse finalement les résultats qu'ils devaient trouver.

2.2. Marquage des cellules à l'annexine V-FITC

Les volumes à pipeter d'annexine V-FITC et d'iodure de propidium étaient respectivement de 1 μ L et de 5 μ L. Il est étonnant qu'avec des volumes aussi faibles, de nombreux candidats n'aient pas pris le temps de vérifier que les deux réactifs étaient bien introduits dans le tube contenant les cellules et bien mélangés aux cellules. Des gants étaient mis à la disposition des candidats mais le jury a malheureusement constaté des erreurs dans la bonne utilisation de ces derniers (absence de gants lors des pipetages de réactifs dangereux, port des gants pour repartir avec les tubes de cellules à l'issue des pipetages).

2.2.1. Présentation des résultats attendus

Le marquage à l'annexine V a été globalement compris ce qui n'a pas été le cas pour celui à l'iodure de propidium. Ce dernier est un fluorochrome hydrophile qui ne peut pénétrer dans la cellule que lorsque cette dernière a perdu son intégrité membranaire, à savoir dans les cas de nécrose et d'apoptose tardive (visible *in vitro*).

2.2.2. Mise en œuvre du protocole

Le jury a été particulièrement sensible aux volumes choisis par les candidats afin d'obtenir la densité cellulaire souhaitée.

Généralement, les candidats se sont rapidement adaptés au microscope à fluorescence et les observations réalisées ont été satisfaisantes. Seuls quelques candidats ont éprouvé des difficultés d'observation liées à une quantité insuffisante de cellules marquées.

2.2.3. Présentation et analyse des résultats obtenus

Le jury a apprécié les efforts de synthèse réalisés par certains candidats. Cette question a permis une évaluation, non seulement des résultats expérimentaux et de l'analyse associée mais également, de la cohérence entre ces deux aspects.

2.2.4. Principe de la fluorescence et réglages

La question a globalement été bien traitée en ce qui concerne le principe de la fluorescence. Néanmoins, le choix des longueurs d'onde pour les réglages a souvent été mal compris. Il s'agissait, en comparant les spectres d'excitation et d'émission des deux fluorochromes, de déterminer une longueur d'onde d'excitation commune et deux longueurs d'onde d'émission différentes permettant ainsi de discriminer les deux marquages. Le filtre à utiliser devait ainsi répondre à ce « cahier des charges ».

2.3. Extraction purification de l'ADN cellulaire et migration sur gel

Tous les candidats ont réalisé les manipulations menant à la séparation d'ADN sur gel. Malheureusement, les approximations techniques ont été pénalisantes puisque seulement 1/3 des candidats a obtenu les résultats attendus à l'issue de la migration.

Le schéma synoptique demandé, concernant les étapes de préparation de l'ADN, ne devait pas se limiter au recopiage du protocole mais devait permettre aux candidats de montrer leurs connaissances en expliquant l'utilité de chaque étape ainsi que les rôles des principaux réactifs

utilisés. Si le candidat ne connaît pas certains rôles ou buts, il doit avant tout éviter les erreurs, souvent grossières, qui pénalisent le propos.

L'analyse du gel était évidemment essentielle. Trop de candidats font une analyse partielle des informations apportées par le gel. Les approximations sont fréquentes (confusion entre smear et bandes par exemple) ainsi que l'absence de discussion sur le marqueur de taille ou de regard critique sur la qualité du gel (notamment pour les gels ayant migré trop longtemps). De plus, l'analyse devait s'appuyer sur son intérêt dans le cadre de la manipulation, ici la mise en évidence d'une éventuelle apoptose.

CONCLUSION GENERALE

Le jury félicite les 9 candidats admis à la session 2016 de l'agrégation interne de biochimie génie biologique.

Le jury encourage les candidats non admis à persévérer dans leur projet. Les moyennes générales, notamment aux épreuves d'admission, attestent de la qualité des candidats à ce concours d'excellence.

Comme cela a été indiqué tout au long de ce rapport, il est nécessaire que les candidats se préparent aux épreuves dans l'objectif de témoigner des compétences attendues d'un professeur agrégé de biochimie génie biologique.

Le jury tient à remercier Madame la proviseure du lycée Pierre Gilles de Gennes, ENCPB et son équipe : proviseurs adjoints, enseignants, techniciens, et personnels administratifs, pour l'accueil et l'aide efficace apportés tout au long de l'organisation et du déroulement de ce concours qui s'est effectué dans d'excellentes conditions.