



MINISTÈRE
DE L'ÉDUCATION
NATIONALE

EDE BGB 2

SESSION 2018

**CAPET
CONCOURS EXTERNE**

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

SECONDE ÉPREUVE

Durée : 5 heures

Le dictionnaire anglais-français est autorisé.

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

Dans le cas où un(e) candidat(e) repère ce qui lui semble être une erreur d'énoncé, il (elle) le signale très lisiblement sur sa copie, propose la correction et poursuit l'épreuve en conséquence.

De même, si cela vous conduit à formuler une ou plusieurs hypothèses, il vous est demandé de la (ou les) mentionner explicitement.

NB : *La copie que vous rendrez ne devra, conformément au principe d'anonymat, comporter aucun signe distinctif, tel que nom, signature, origine, etc. Si le travail qui vous est demandé comporte notamment la rédaction d'un projet ou d'une note, vous devrez impérativement vous abstenir de signer ou de l'identifier.*

Tournez la page S.V.P.

A

L'identification des microorganismes : une exigence de nombreux secteurs d'activité

Une identification rapide et sûre des microorganismes est une activité incontournable pour les laboratoires de nombreux secteurs d'activité.

Première partie :

A partir du dossier documentaire fourni, vous présenterez quelques exemples de techniques mises en œuvre pour identifier les microorganismes et vous les comparerez dans l'objectif de dégager leur pertinence pour une identification efficiente.

Seconde partie :

En vous appuyant sur le dossier documentaire fourni et dans la perspective d'un enseignement de Biotechnologies en terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies, vous proposerez une démarche pédagogique permettant aux élèves d'atteindre des objectifs choisis dans les deux thèmes suivants :

Les étapes de la recherche d'une flore particulière dans un produit polymicrobien

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Revivification. - Enrichissement sélectif ou non. - Isolement sélectif ou non. - Discrimination des colonies suspectes. - Identification. - Groupage ou sérotypage. <p>La mise en œuvre de la démarche prendra appui sur des exemples contextualisés qui seront choisis parmi les thématiques de projet. La dernière étape proposée sera étudiée en lien avec la partie « analyse immunologique des échantillons biologiques ».</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Isoler des microorganismes : <ul style="list-style-type: none"> . isoler les microorganismes recherchés dans un produit polymicrobien, . choisir des milieux sélectifs pertinents pour la recherche d'une catégorie de microorganisme. - Identifier des microorganismes : <ul style="list-style-type: none"> . choisir les tests discriminants pour identifier un microorganisme, . mettre en œuvre une identification de bactérie ou de levure par une galerie miniaturisée, . utiliser un logiciel d'identification et/ou une base de données taxonomique, . analyser un résultat de sérotypage sur un microorganisme. <p>En classe terminale, les compétences sur la culture et l'identification des bactéries seront renforcées et pourront être appliquées à l'étude des levures.</p>

Quelques applications de la biologie moléculaire et du génie génétique

Objectifs de formation et supports théoriques	Compétences transversales et technologiques
<ul style="list-style-type: none"> - Méthodes d'identification moléculaire : <ul style="list-style-type: none"> . spectrométrie de masse, gènes de l'ARN 16S, profils de restriction, séquençage, PCR, etc. - Clonage et OGM. - Séquençage des génomes. - Caractère génétique d'une maladie héréditaire et thérapie génique. - Identification des organismes et individus : médecine légale, contrôle alimentaire et vétérinaire, phylogénie, etc. <p>Il s'agira de sensibiliser les élèves à la diversité des applications de la biologie moléculaire et du génie génétique ainsi qu'à leurs limites actuelles, sans pour autant entrer dans le détail des technologies utilisées.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Exploiter des documents pour appréhender les limites, l'intérêt et le contexte d'utilisation de différentes méthodes. Les compétences techniques peuvent être acquises de manière indépendante ou intégrées dans une démarche de projet comme la réalisation et l'exploitation d'un marqueur de taille ou encore le clonage d'un insert.

Extraits du programme de Biotechnologies de Terminale STL spécialité Biotechnologies

Liste des documents du dossier technique

Document 1A : principes des méthodes d'identification

Source: Sakhno NG and Gunar OV. (2016). *Microbial Identification Methods in Pharmaceutical Analysis: Comparison and Evaluation*. *M J Phar.* 1(1): 001

Document 1B : kits commerciaux utilisant les différentes méthodes d'identification

Source: Sakhno NG and Gunar OV. (2016). *Microbial Identification Methods in Pharmaceutical Analysis: Comparison and Evaluation*. *M J Phar.* 1(1): 001

Document 2 : principe de la technique MALDI-TOF

Source : *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology*, *Clin. Microbiol. Rev.* July 2013 vol. 26 no. 3 547-603

Document 3 : principe du VIDAS® (Biomérieux)

Source : Biomérieux

Document 4 : notice technique d'un milieu chromogénique pour l'identification des *E.coli* dans l'eau

Source : CHROMagar

Document 5 : résultat de ribotypage pour l'identification de *Vibrio cholerae* O139 dans la selle diarrhéique d'une patiente

Source : *Characterization of a Toxigenic Vibrio cholerae O139 Strain Belonging to a New Ribotype and Isolated from a Diarrheal Patient*, *Journal of Clinical Microbiology*, Dec. 2002, Vol. 40, N°12, p. 4779–4781

Document 6 : chromatogramme des acides gras totaux extraits de trois espèces bactériennes obtenu avec un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC/MS)

Source : *Differentiation of bacteria using fatty acid profiles*, *J Sci Food Agric* 2010; 90: 1380–1383

INFORMATION AUX CANDIDATS

Vous trouverez ci-après les codes nécessaires vous permettant de compléter les rubriques figurant en en-tête de votre copie.

Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

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

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EDE	7100E	102	5851

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

Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EDF	7100E	102	5851

Document 1A : principes des méthodes d'identification

Method Types	Examples
Phenotypic methods	Biochemical assays based on physiological reactions
	Immunological methods
	Fatty acid profiles
Proteotypic methods	Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy
	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) mass-spectrometry
Genotypic methods	Nucleic acid amplification techniques
	Genetic fingerprinting (ribotyping)

Source: Sakhno NG and Gunar OV. (2016). *Microbial Identification Methods in Pharmaceutical Analysis: Comparison and Evaluation*. *M J Phar.* 1(1): 001

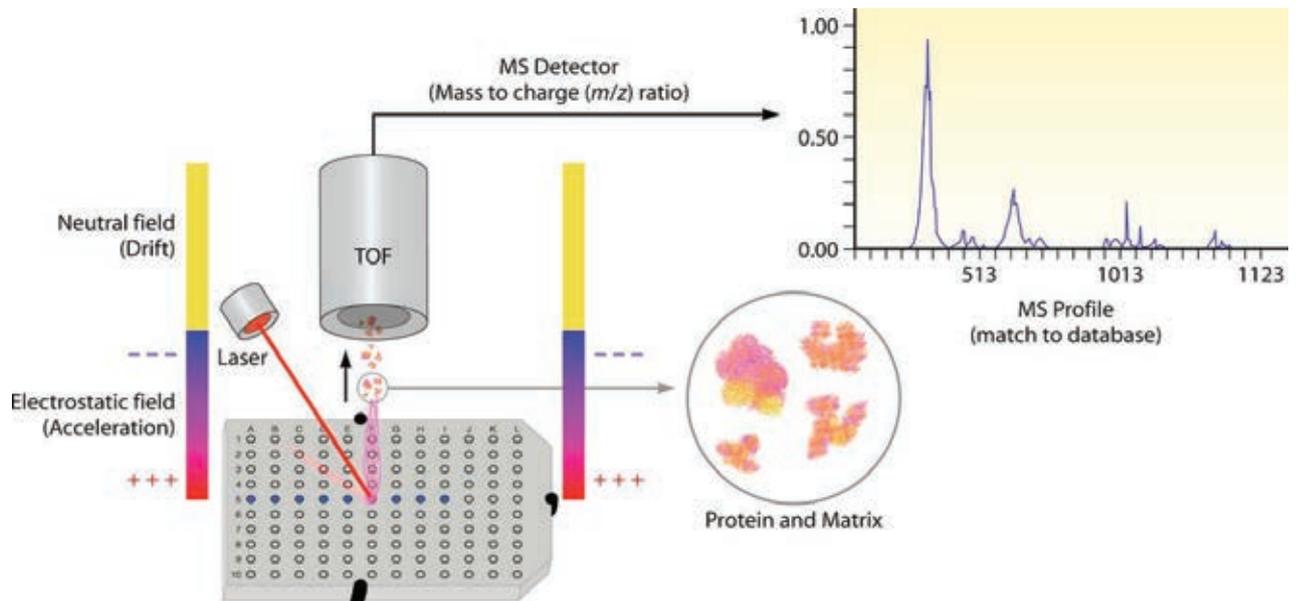
Document 1B : kits commerciaux utilisant les différentes méthodes d'identification

Method	System	Manufacturer	Database size	Time	Accuracy, %
Biochemical	API® and ID32	Biomerieux, France	> 600 species of bacteria and yeast	18 – 48 h (2 h – for <i>Neisseria spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>)	
	BBL™ Crystal™	Becton Dickinson, USA	> 400 taxons and 120 genera of clinically important organisms	4 – 24 h	
	Biolog Microbial ID System	Biolog Inc., USA	> 2500 species of bacteria, yeast and mold	4 – 26 h	47,5 ^b – 97,5
	Vitek 2 Compact	Biomerieux, France	> 450 taxons	2 – 24 h	42,5 ^a – 94,0
	BD Phoenix™	Becton Dickinson, USA	> 200 taxons	4 – 24 h	75,6 – 96,1
Fatty acid methyl ester analysis	MIDI Sherlock	MIDI, USA	> 2500 species including 700 environmental aerobic, 620 anaerobic microorganisms and 200 yeast	Overnight	75,0 – 77,8
MALDI-TOF mass-spectrometry	MALDI-Biotyper	Bruker Daltonik GmbH, Germany	> 2500 species (5600 strains) of microorganisms	Minutes	79,0 ^c – 98,7
	Vitek MS	Biomerieux, France	755 clinically important species	Less than 2 minutes	
Fourier transform–infrared (FT-IR) spectroscopy	IFS-28B FT-IR spectrometer	Bruker Daltonik GmbH, Germany	730 bacteria strains covering 220 species out of 46 genera, 332 yeast strains covering 74 species out of 18 genera	Minutes	
Nucleic acid extraction, PCR amplification and rRNA base sequencing	MicroSeq™ Identification System	Applied biosystems, USA	> 2300 bacteria species, 1100 fungi species	2 – 4 h	55,9 ^c – 97,0
Ribotyping	RiboPrinter® System	DuPont Nutrition & Health, USA	> 5700 patterns covering more than 180 genera, 1200 species	8 h	81,0 – 93,8

a- *Bacillus subtilis* b- *Staphylococcus aureus* c- Filamentous fungus

Source: Sakhno NG and Gunar OV. (2016). *Microbial Identification Methods in Pharmaceutical Analysis: Comparison and Evaluation*. *M J Phar.* 1(1): 001

Document 2 : principe de la technique MALDI-TOF



Source : *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology, Clin. Microbiol. Rev. July 2013 vol. 26 no. 3 547-603*

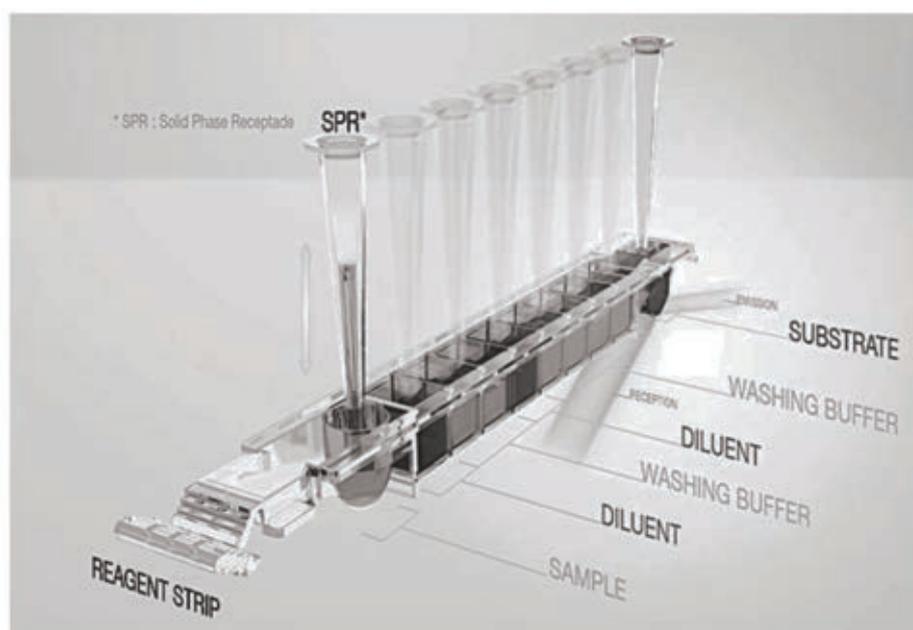
Document 3 : principe du VIDAS® (Biomérieux)

Le principe VIDAS® repose sur l'interaction de deux éléments : le récipient SPR®, contenant des antigènes ou des anticorps, et le Strip, constitué d'une série de puits contenant la bonne quantité de réactif nécessaire au test.

Toutes les réactions se produisent au sein du SPR® en deux phases clés :

- réaction immunologique
- réaction enzymatique

L'ensemble de l'opération est entièrement automatisé : de l'incubation, au lavage et à la lecture finale, le temps d'incubation et le nombre de cycles de lavage sont optimisés pour assurer des performances optimales.



Document 4 : notice technique d'un milieu chromogénique pour l'identification des *E.coli* dans l'eau

AquaCHROM™ ECC

Notice d'utilisation

OBJECTIF DU MILIEU

Milieu chromogénique pour la détection des *E.coli* et des Coliformes dans des échantillons d'eau.

Les coliformes, entérobactéries capables de fermenter le lactose (Enterobacteriaceae lactose positif), sont des bactéries présentes dans la flore intestinale des animaux à sang chaud, dans le sol et l'eau. Les coliformes sont la preuve de contamination biologique, de l'environnement ou des matières fécales. La contamination fécale, en raison de coliformes provenant de déchets d'origine animale, se compose principalement d'*Escherichia coli* et *Klebsiellas* thermotolérants. Des règles strictes existent pour la présence de *E.coli* / coliformes dans les échantillons d'eau et de nourriture. Cela peut s'expliquer par l'importance de ces germes dans la détermination de la qualité de l'eau et la sécurité alimentaire.

INOCULATION

Les échantillons associés peuvent être traités comme suit:



1. Vider une dose pré-pesée de milieu dans 100ml d'échantillon d'eau dans un récipient transparent stérile.



2. Refermer puis remuer jusqu'à dissolution.

18-24h 35-37°C



3. Incuber à 35-37°C pendant 18-24h.



4. Lire les résultats (*E.coli* / coliformes).

INTERPRETATION

Microorganisme	Apparence typique
<i>E.coli</i>	→ bleu
Autres coliformes	→ jaune
Autres bactéries	→ incolore ou inhibé

COMPOSITION

Total g/L	22.3 g/L
Composition g/L	Peptone et facteurs de croissance 20.0 Mix Chromogénique et sélectif 2.3
Aspect	Poudre
STOCKAGE	15-30°C
pH DU MILIEU FINAL	7.1 +/- 0.2

PERFORMANCE & LIMITATIONS

- Des rares souches de *E.coli* comme *E.coli* O157 peuvent donner une coloration jaune.
- Quelques rares souches de *Salmonella* peuvent aboutir à une coloration bleu foncée du milieu.
- Une absence de coloration peut être observée avec certaines souches atypiques de coliformes.

CONTRÔLE QUALITÉ

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'utilisation du milieu et les normes locales de contrôle qualité.

La bonne performance du milieu peut être testée grâce à l'inoculation de souches ATCC ci-dessous:

Microorganisme	Apparence typique
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	→ bleu - vert
<i>C. freundii</i> ATCC® 8090	→ jaune
<i>S.aureus</i> ATCC® 25923	→ inhibé

CHROMagar
The Chromogenic Media Pioneer



CHROMagar 4 place du 18 juin 1940
75006 Paris - France

Email: CHROMagar@CHROMagar.com

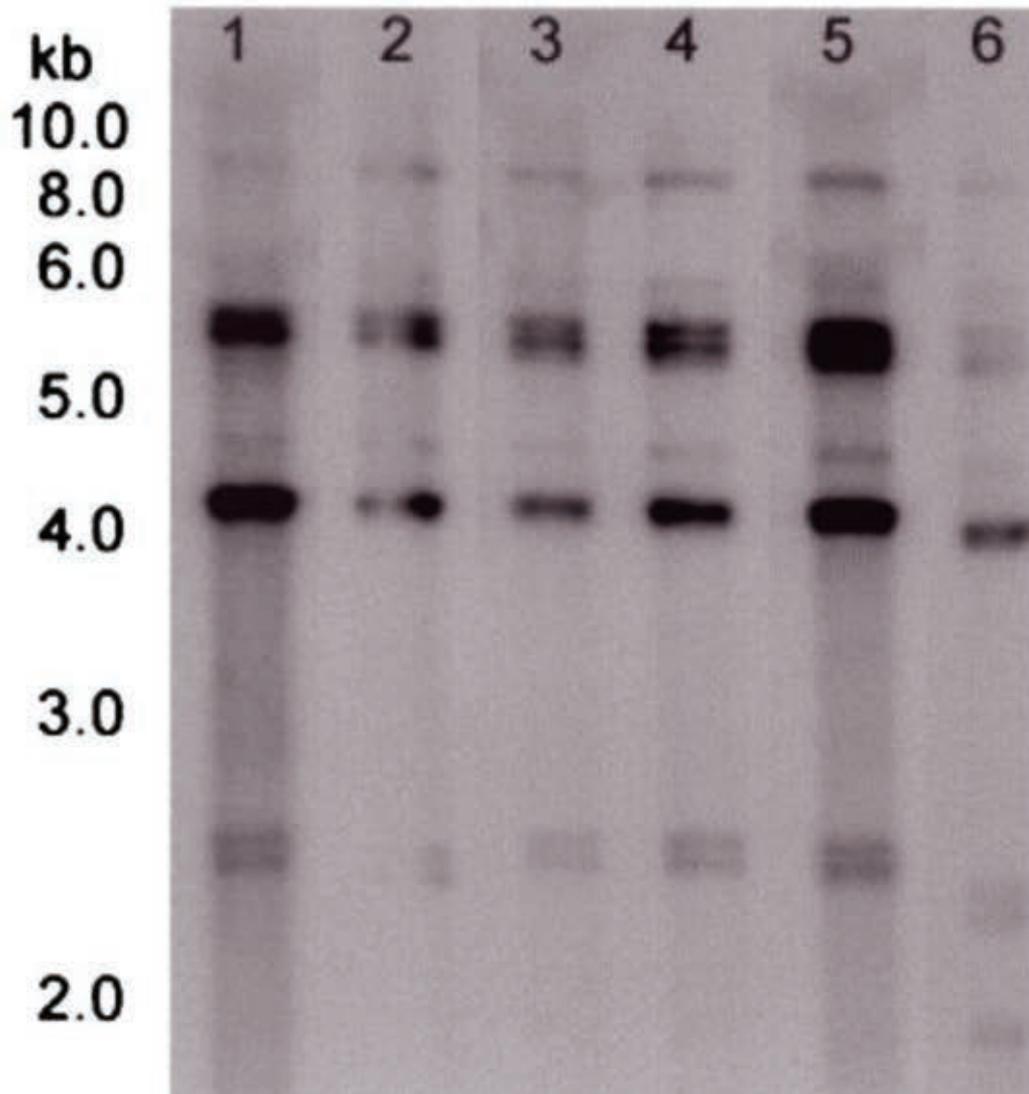
Tel +33 (0)1.45.48.05.05. Website: www.CHROMagar.com

Document 5 : résultat de ribotypage pour l'identification de *Vibrio cholerae* O139 dans la selle diarrhéique d'une patiente

Au plus fort de l'épidémie au Kerala (Inde), en 2000, l'émergence de nouveaux clones de la souche *Vibrio cholerae* O139 Bengal, telle que la souche ALO95 d'une patiente diarrhéique de 66 ans hospitalisée, a été mise en évidence par des techniques ribotypage.

Un ribotypage a été réalisé à partir de cette souche ALO95 et d'autres souches de *V. cholerae* O139 de référence, avec une sonde correspondant à une séquence consensus intergénique répétitive entérobactérienne (ERIC) retrouvée chez de nombreuses espèces (*E.coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio cholerae*, ...) marquée par du [³²P]dCTP.

L'ADN génomique des souches étudiées a été digéré à l'aide de BglI et sondé à l'aide d'un fragment de 7,5 kb de BamHI du clone ARNr 16 et 23S d'*Escherichia coli* pKK3535 (ERIC).

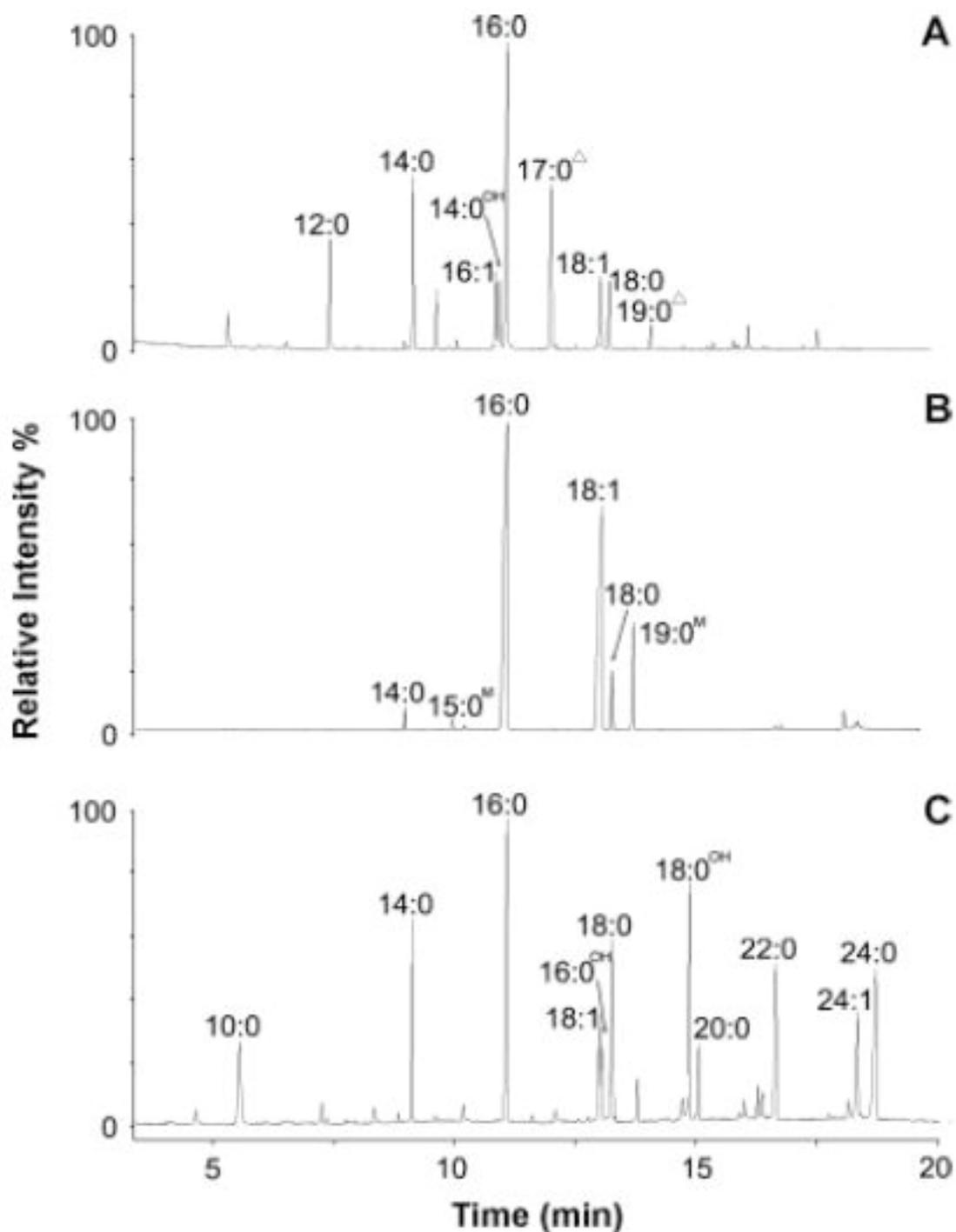


Résultat de l'hybridation des gènes des ARNr des souches O139 de *V. cholerae* de référence et de la souche ALO95 avec une sonde issue d'une séquence consensus d'*E.coli*

Les profils de restriction correspondant aux ribotypes dérivés de souches de référence sont montrés dans les pistes 1 à 5 et le profil correspondant à la souche ALO95 de *V. cholerae* O139, isolé de la patiente diarrhéique, est montré dans la piste 6.

Source : *Characterization of a Toxigenic Vibrio cholerae* O139 Strain Belonging to a New Ribotype and Isolated from a Diarrheal Patient, *Journal of Clinical Microbiology*, Dec. 2002, Vol. 40, N°12, p. 4779-4781

Document 6 : chromatogramme des acides gras totaux extraits de trois espèces bactériennes obtenu avec un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC/MS)



Source: *Differentiation of bacteria using fatty acid profiles*, *J Sci Food Agric* 2010; 90: 1380–1383