

SESSION 2021

**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.

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

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

Tournez la page S.V.P.

A

Résistance aux antibiotiques

Évolution des méthodes de détection et stratégies alternatives de traitement

La recrudescence des résistances aux antibiotiques nécessite la mise en place de techniques de détection de plus en plus performantes pour proposer rapidement des traitements adaptés. Les méthodes de référence pour les détecter ne suffisent donc pas toujours et nécessitent d'être complétées par des méthodes plus performantes.

D'autre part, face aux échecs thérapeutiques de plus en plus nombreux de l'antibiothérapie, des traitements thérapeutiques alternatifs sont mis en place.

Première partie :

A partir du dossier documentaire et en particulier de l'analyse de résultats expérimentaux :

- illustrer l'évolution des techniques de détection de l'antibiorésistance, en soulignant leurs apports et leurs limites ;
- expliquer les stratégies pouvant être développées pour pallier les échecs de l'antibiothérapie. Dégager les intérêts thérapeutiques et sociétaux de ces alternatives.

Deuxième partie :

Dans la perspective d'un enseignement de biochimie, biologie et biotechnologies en classe de terminale « Sciences et technologies de laboratoire spécialité biotechnologies », proposer une séance détaillée au sein d'une séquence permettant aux élèves d'atteindre des objectifs choisis, en précisant la démarche pédagogique adoptée.

Cette proposition s'appuiera en particulier sur les extraits de programme présentés en fin de dossier documentaire, elle présentera également les liens possibles avec les différents aspects de la formation globale des élèves.

Sommaire des documents

Document 1 : Évolution de l'antibiorésistance

- 1a - Évolution comparée de la découverte des antibiotiques et de l'apparition des résistances
- 1b - Évolution en Europe des résistances bactériennes vis à vis des céphalosporines de 3^{me} génération
- 1c - Projection du nombre de morts dus à l'antibiorésistance en 2050

Document 2 : Les méthodes de référence pour la détection de l'antibiorésistance

- 2a - Extrait CASFM (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) v1.0 janvier 2019 (p42) sur les entérobactéries
- 2b - Extrait de la feuille de résultats ATB UR biomérieux (Ref 14339)
- 2c - Bandelette M.I.C.Evaluator d'Oxoid bandelette contenant un gradient prédéfini et continu de 15 concentrations d'antibiotique (TE : tétracycline ; CIP : ciprofloxacine)

Document 3 : Les méthodes phénotypiques complémentaires

- 3a - Détection présomptive des entérobactéries productrices de Bêta-Lactamase à Spectre Étendu (BLSE) avec une gélose CHROMID® BLSE (Biomérieux) après 18 heures d'incubation
- 3b - Recherche des carbapénémases par le test CarbaNP
- 3c - Recherche de *Staphylococcus aureus* méticilline résistant (SARM) par le « MRSA screen test »
- 3d - Détection de la PLP2a chez *S. aureus* avec le test immunochromatographique « Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test »

Document 4 : Les méthodes génotypiques

- 4a - Quelques tests commerciaux pour le diagnostic moléculaire des septicémies. Adapté de Mancini et al. (2010)
- 4b - Exemple de puce à ADN utilisée pour identifier les gènes de résistance présents chez *Klebsiella* : « Check-MDR CT102 » pour la détection rapide de β -lactamases à spectre étendu (TEM, SHV, and CTX-M) et de carbapénémases (KPC, OXA-48, VIM, IMP, et NDM-1)
- 4c - Identification des staphylocoques et détection du gène *mecA* par PCR multiplex

Document 5 : La phagothérapie

- 5a - Effets de phages individuels et en cocktail (mélange de phages) sur une population bactérienne mixte résistante au méropénem et à la colistine (antibiotiques de dernier recours)
- 5b - Etude de l'activité lytique des phages en présence d'antibiotiques sur une souche d'*E. coli* MFP sensible au phage ϕ MFP

Document 6 : Les anticorps monoclonaux

- 6a - Mode d'action du belzotoxumab
- 6b - Effet du belzotoxumab sur le taux de récidence à 30 jours des infections à *Clostridium difficile*

Document 7 : Les peptides antimicrobiens

- 7a - Mode d'action des PAM (Peptide AntiMicrobien) et des SNAPP (Structurally Nano engineered Antimicrobial Polypeptide Polymers)
- 7b - Activité d'un peptide antimicrobien, la clavanine, suite à une infection par *S. aureus*

Document 8 : La transplantation fécale utilisée pour traiter les infections récurrentes par des souches de *Clostridium difficile*

- 8a - FMT (Fecal Microbiota Transplantation) for patients with recalcitrant CDI
- 8b - Comparaison de la FMT et de l'antibiothérapie (fidaxomicine et vancomycine) sur les infections à *C. difficile*

Document 9 : Extraits du programme de Biochimie, Biologie et Biotechnologies

Classe de Terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies

INFORMATION AUX CANDIDATS

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

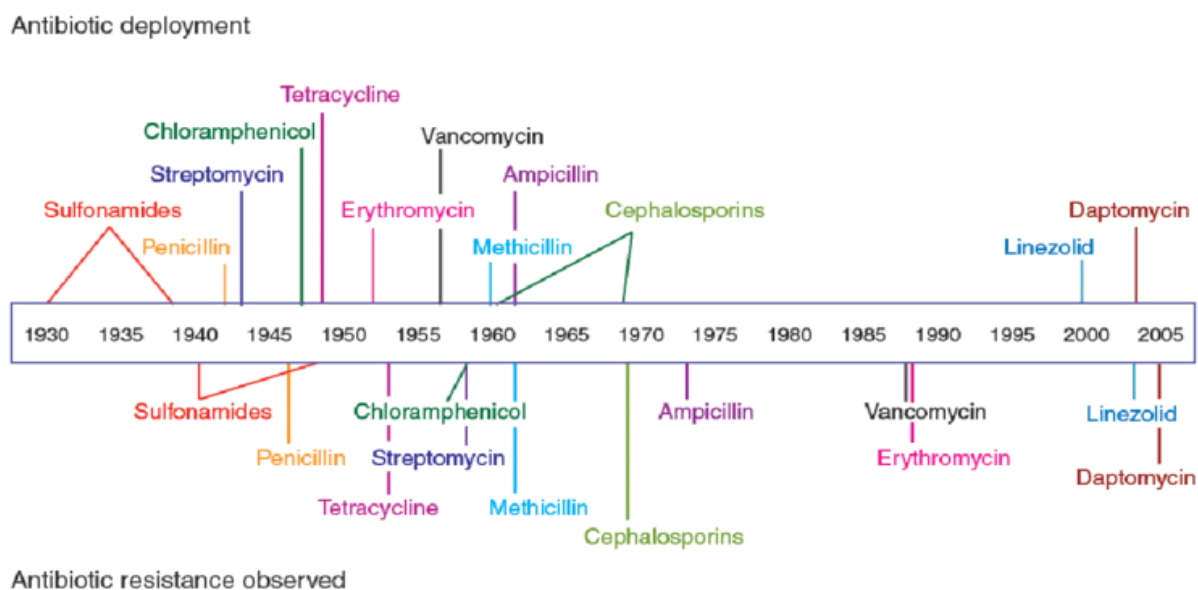
Ces codes doivent être reportés sur chacune des copies que vous remettrez.

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

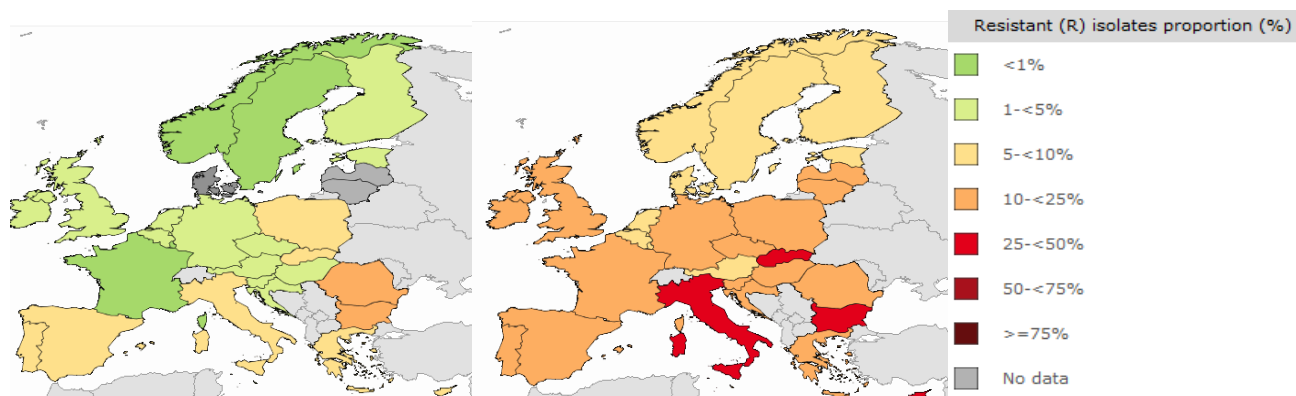
Concours	Section/option	Epreuve	Matière
EDE	7100E	102	5851

Document 1 : Évolution de l'antibiorésistance

1a : Évolution comparée de la découverte des antibiotiques et de l'apparition des résistances

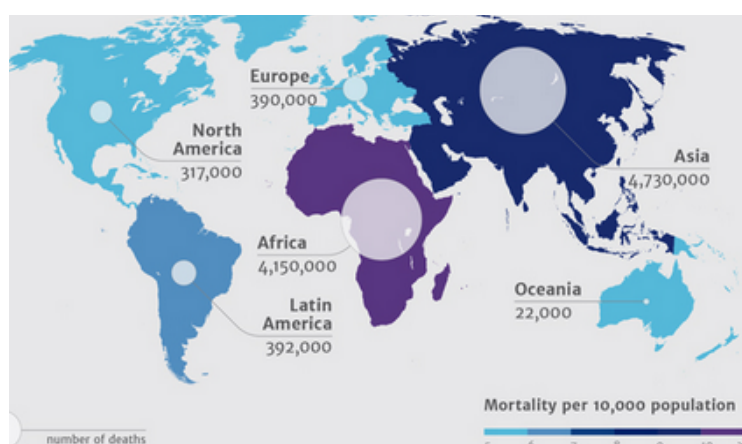


1b : Évolution en Europe des résistances bactériennes vis à vis des céphalosporines de 3^{ème} génération



Source : Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2004 et 2017 (www.ecdc.europa.eu)

1c : Projection du nombre de morts dus à l'antibiorésistance en 2050



Source : Deaths attributable to antimicrobial resistance every year by 2050. Review on Antimicrobial Resistance. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. 2014 (www.chemistryworld.com)

Document 2 : Les méthodes de référence pour la détection de l'antibiorésistance

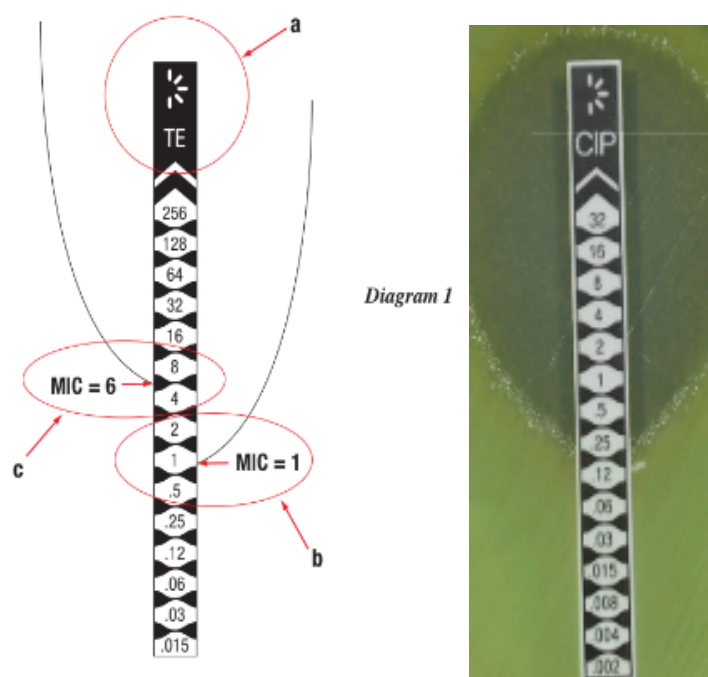
2a : Extrait CASFM (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) v1.0 janvier 2019 (p42) sur les entérobactéries

Céphalosporines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Céfaclor	-	-		-	-
Céfadroxil (cystites)	16	16	30	12	12
Céfalexine (cystites)	16	16	30	14	14
Céfazoline	-	-		-	-
Céfépime	1	4	30	27	21

2b : Extrait de la feuille de résultats ATB UR biomérieux (Ref 14339)

ATB UR			REF	14 339
Origine				
	c	C	R / I / S	c C mg/l
0	○	○		
AMO	○	○		4 - 16
AMC	○	○		4/2 - 16/2
TIC	○	○		16 - 64
CFT	○	○		8 - 32
CA1	○			1
CXT		○		8

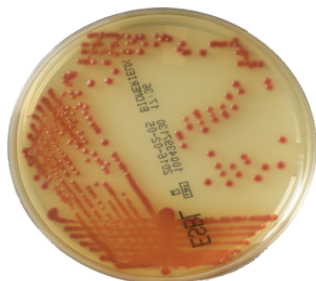
2c : Bandelette M.I.C.Evaluator d'Oxoid : bandelette contenant un gradient prédéfini et continu de 15 concentrations d'antibiotique (TE : tétracycline ; CIP : ciprofloxacine)



Document 3 : Les méthodes phénotypiques complémentaires

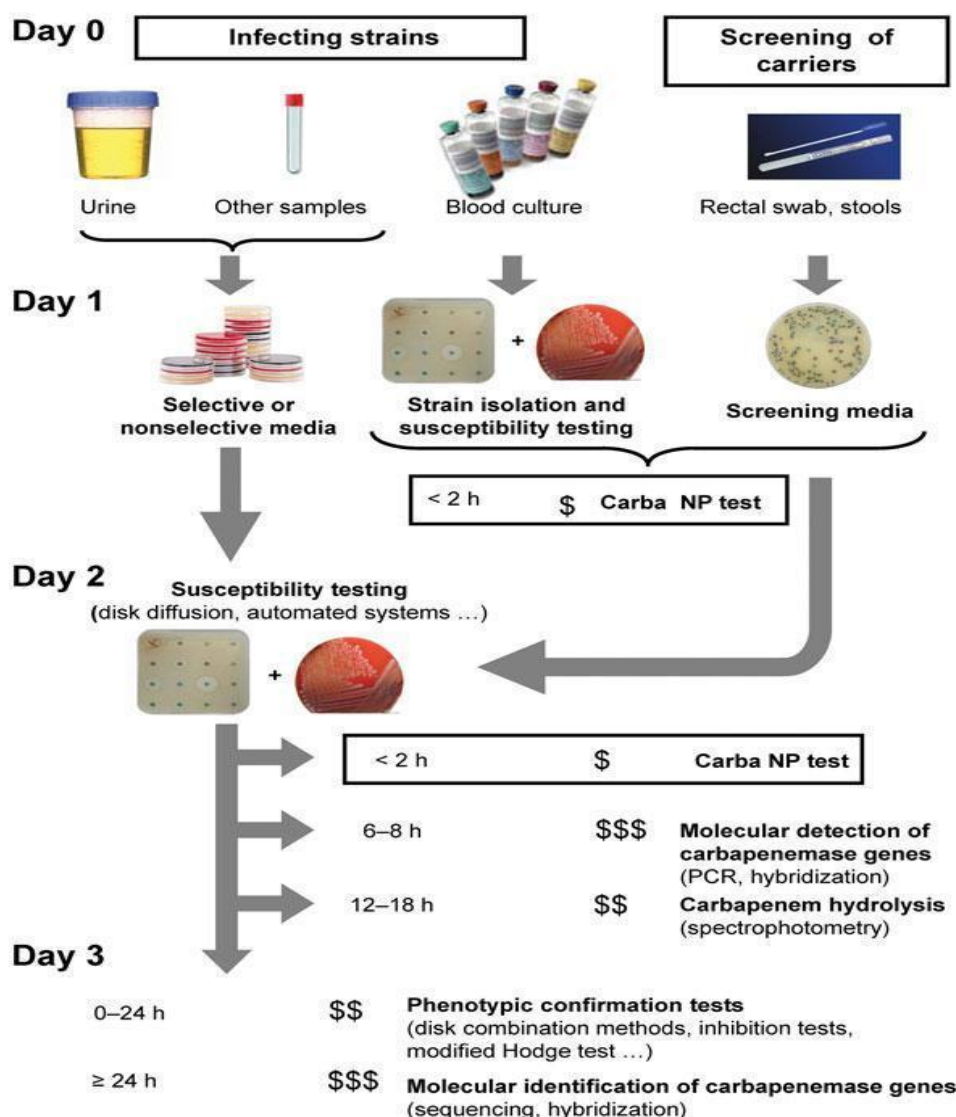
3a : Détection présomptive des entérobactéries productrices de Bêta-Lactamase à Spectre Étendu (BLSE) avec une gélose CHROMID® BLSE (Biomérieux) après 18 heures d'incubation

Isolement et détection des BLSE grâce à une base nutritive additionnée à un mélange d'antibiotiques, dont le Cefpodoxime (céphalosporine de 3^{ème} génération, marqueur de choix de ce mécanisme de résistance). Identification immédiate et directe des entérobactéries les plus fréquentes, après 18 à 24 heures d'incubation.



- *Escherichia coli* : coloration rose à bordeaux des souches productrices de β -glucuronidase
- *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* : coloration brune à marron des souches exprimant une désaminase.
- *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* : coloration verte-bleue à verte-brune des souches productrices de β -glucosidase
- Inhibition sélective des bactéries Gram positif et des levures

3b : Recherche des carbapénémases par le test CarbaNP



Strategy for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*.

The time needed to perform the test is indicated before each test.

The number of flasks indicates the degree of specialization needed to perform the test.

The number of \$ indicates the relative cost of each test

The Carba NP test is a novel phenotypic method developed for carbapenemase detection. It is based on *in vitro* hydrolysis of imipenem by a bacterial lysate, which is detected by changes in pH values using the indicator phenol red (red to yellow/orange).

Source : Faculté de Médecine Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre and Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris, France (P. Nordmann, L. Poirel, L. Dortet) ; Emerging Infectious Diseases (www.cdc.gov/eid), Vol. 18, No. 9, September 2012

3c : Recherche de *Staphylococcus aureus* méticilline résistant (SARM) par le « MRSA screen test »

The MRSA screen test is a latex agglutination test based on the reaction of latex particles sensitized with monoclonal antibodies against PBP 2a of *S. aureus* and PBP 2a extracted from tested colonies.

PCR detection	Total no. of isolates	No. of isolates			
		MRSA screen test		Oxacillin agar screen test	
		Positive	Negative	Growth	No growth
<i>mecA</i> positive	267	263	4	250	17
<i>mecA</i> negative	296	0	296	0	296

Remarques :

- L'oxacilline et la méticilline font parties des pénicillines M.
- Le gène *mecA* de *S.aureus* code pour une protéine à l'origine de la résistance à la méticilline

Evaluation of MRSA screen test and oxacillin agar screen test versus PCR detection for detection of oxacillin resistance in *S. aureus* isolates ($n = 563$)

Source : d'après "van Griethuysen A, Pouw M, van Leeuwen N, et al. Rapid slide latex agglutination test for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1999;37(9):2789–2792.

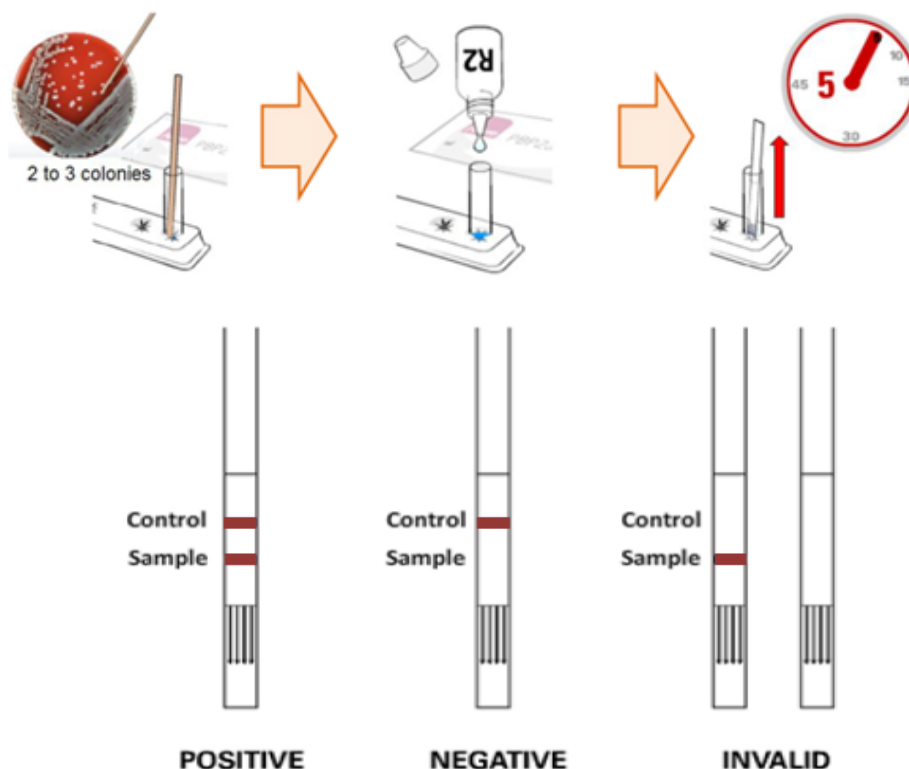
3d : Détection de la PLP2a chez *S. aureus* avec le test immunochromatographique « Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test »

La famille des β -Lactamines est privilégiée pour le traitement des infections à staphylocoques. La détection précise et rapide des staphylocoques résistants à la méticilline (SARM) est une étape clé dans la prise en charge des patients infectés.

Alere™ PBP2a SA Culture Colony Test permet de détecter en 5 minutes l'expression de la PLP2a codée par le gène *mecA* chez *S. aureus* directement à partir d'une culture primaire.

Ce test utilise des anticorps monoclonaux recombinant (rFab) détectant spécifiquement la PLP2a.

Au niveau des lignes Sample et Control de la bandelette, sont fixés respectivement des anticorps anti PLP2a et des anticorps anti Ac générique.



Source : d'après W. Mouton, V. Tafani, C. Bouveyron, R. Schnel, M. Bes, A. Tristan, O. Dumitrescu, F. Vandenesch, C. Dupieux, F. Laurent, Centre National de Référence des Staphylocoques, France ; Centre International de Recherche en Infectiologie – Inserm U1111 ; Hospices Civils de Lyon, France

Document 4 : Les méthodes génotypiques

4a : Quelques tests commerciaux pour le diagnostic moléculaire des septicémies. Adapté de Mancini *et al.* (2010)

Type d'échantillons	Fabricant	Méthode moléculaire	Pathogènes ^a / Gènes de résistance ciblés	Référence
Hémoculture				
Hyplex Blood Screen	BAG, Lich, Allemagne	PCR multiplexe combinée avec une hybridation sur ELISA	10 pathogènes / <i>mecA</i> ; <i>van</i>	Wellinghausen et al., 2004
Prove-it Sepsis	Mobidiag, Helsinki, Finlande	PCR multiplexe combinée avec une hybridation sur puce à ADN	50 pathogènes / <i>mecA</i>	Tissari et al., 2010
Sang				
Septi Test	Molzym, Bremen, Allemagne	PCR et séquençage	>300 pathogènes	Mühl et al., 2010
Vyoo	SIRS-Lab, Jena, Allemagne	PCR multiplexe et électrophorèse sur gel	>40 pathogènes / <i>mecA</i> ; <i>vanA</i> ; <i>vanB</i> ; <i>vanC</i> ; <i>bla_{shv}</i>	Mancini et al., 2010
Septi Fast	Roche Molecular Systems, Branchburg, NJ	PCR multiplexe en temps réel	25 pathogènes	Josefson et al., 2011

^aTous les tests commerciaux détectent des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

Source : d'après « Développement de puces à ADN microfluidiques pour la détection de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram positif responsables des septicémies », Julie Beauregard, 2012 (Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Laval, Québec)

4b : Exemple de puce à ADN utilisée pour identifier les gènes de résistance présents chez *Klebsiella* - « Check-MDR CT102 » pour la détection rapide de β -lactamases à spectre étendu (TEM, SHV, and CTX-M) et de carbapénémases (KPC, OXA-48, VIM, IMP, et NDM-1)

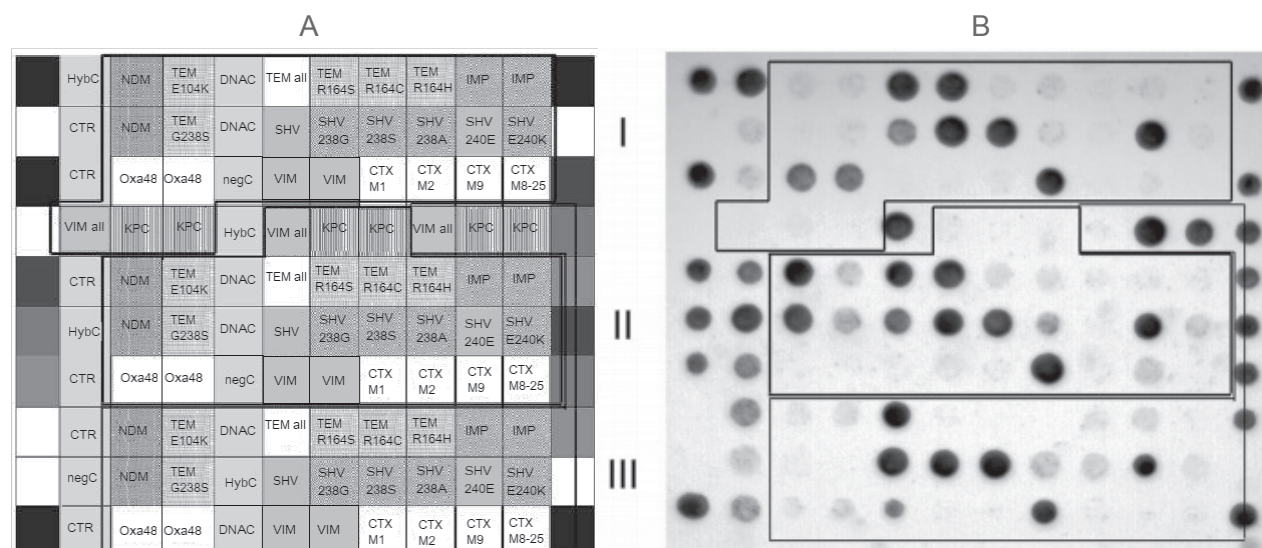


FIG. 1. Typical DNA microarray pictures obtained with the Check-MDR CT102 microarray setup. This format uses a DNA microarray fixed at the bottom of a microreaction vial. The microarray consists of unique complementary (cZIP) oligonucleotides targeting individual probes. When hybridization of the PCR-amplified ligation products to the microarray is complete, colorimetric detection of the positive reactions is initiated. Panels in the array are outlined. Each panel defines the typing results of one strain and consists of control spots and specific marker spots, which are numbered from 1 to 96. (A) Theoretical display of the array probes for strain 1 (panel I), strain 2 (panel II), and strain 3 (panel III). (B) Array results for *K. pneumoniae* HPA-1 ([9]; (OXA-48, SHV-1, TEM-1, CTX-M-15; panel I), *K. pneumoniae* Afr 2 ([22]; (NDM-1, SHV-1, TEM-1, CTX-M-15, CMY-2; panel II), and *K. pneumoniae* 16 ([10]; (KPC-2, SHV-1 CTX-M-15; panel III). HybC, hybridization control; CTR, control; negC, negative control; DNAC, DNA control.

Source : d'après Naas T, Cuzon G, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P, Evaluation of a DNA microarray (Check-M CT102) for rapid detection of TEM, SHV, and CTX-M extended-spectrum β -lactamases and of KPC, OXA-48, VIM, IMP, and NDM-1 carbapenemases. *J Clin Microbiol.* 2011;49(4):1608–1613.

doi:10.1128/JCM.02607-10

4c : Identification des staphylocoques et détection du gène *mecA* par PCR multiplex

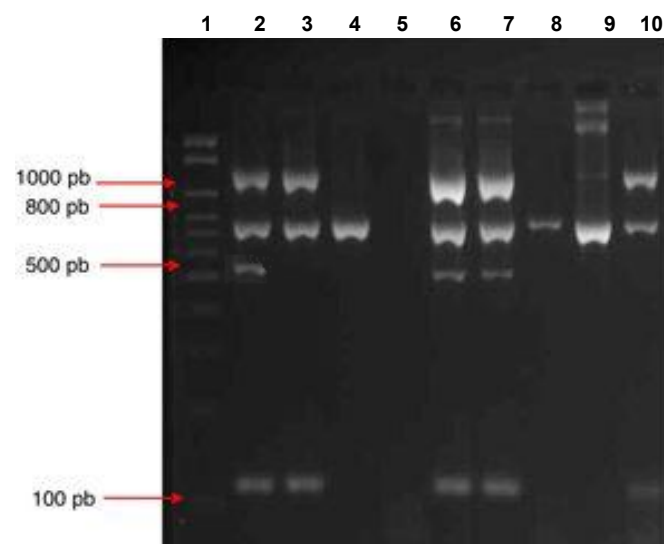


Fig. 1 – Electrophoresis gel (3% agarose) of the products of multiplex amplification in blood cultures for the detection of *Staphylococcus* spp. and the *mecA* gene. Lane 1: 100–2000 bp Ladder; lane 2: ATCC 33591 (*mecA*-positive *S. aureus*); lane 3: ATCC 25923 (*mecA*-negative *S. aureus*); lane 4: ATCC 12228 (*mecA*-negative *S. epidermidis*); lane 5: negative control; lanes 6 and 7: *mecA*-positive *S. aureus* isolate; lanes 8 and 9: *mecA*-negative CoNS isolate; lane 10: *mecA*-negative *S. aureus* isolate.

Table 1 – Primers used for the detection of *Staphylococcus* spp., *S. aureus* and the *mecA* gene by multiplex PCR.

Gene	Primer	Amplicon(bp)
<i>S. aureus</i> ²⁴	SAU327 – GGA CGA CAT	1250
	TAG ACG AAT CA	
	SAU1645 – CGG GCA	
	CCT ATT TTC TAT CT	
16S rRNA ²⁵	16S ₁ – 5' CCTATAA-	791
	GACTGGGATAACTTCGGG	
	3'	
	16S ₂ – 3'	
Coq ²⁶	COA ₁ – 5' GTA GAT TGG	117
	GCA ATT ACATTT TGG	
	AGG 3'	
	COA ₂ – 5' CGC ATCAGC	
<i>mecA</i> ²⁷	TTT GTT ATC CGA TGT	533
	A 3'	
	MRS ₁ – 5' AAAATC-	
	GATGGTAAAGGTTGGC	
	3'	
	MRS ₂ – 3' AGTTCT-	
	GCAGTACCGGATTTCG	
	5'	

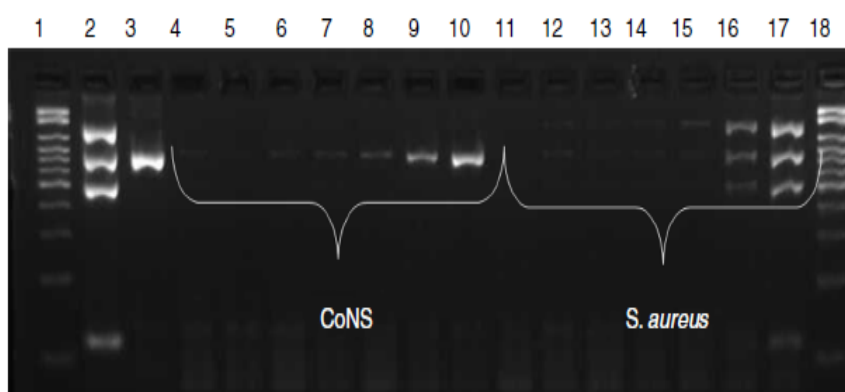


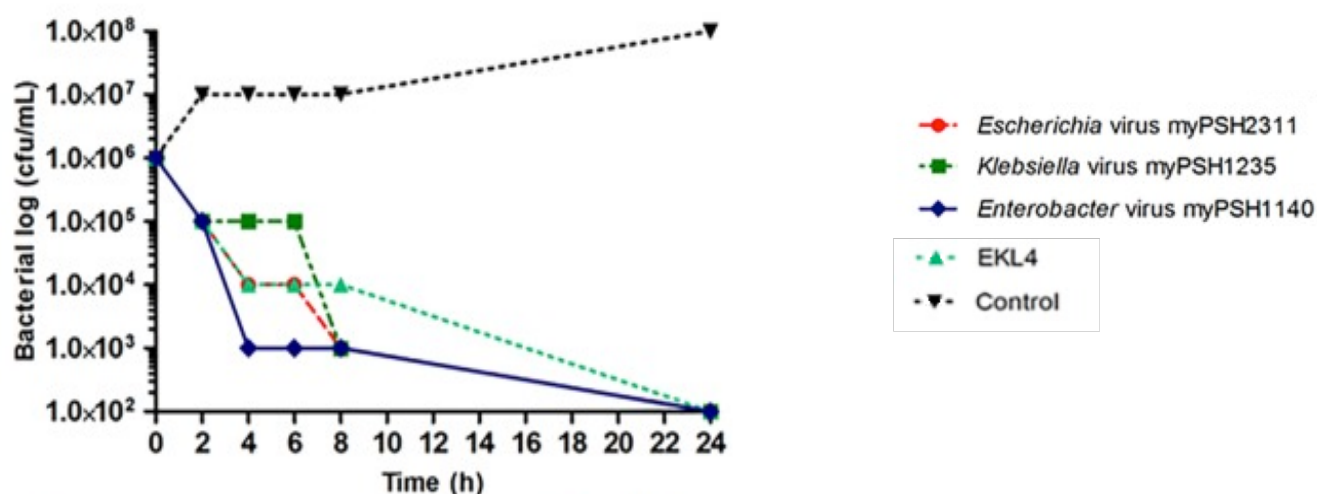
Fig. 2 – Sensitivity of multiplex PCR. Electrophoresis gel showing the amplification of different dilutions of CoNS and *S. aureus*. Lane 1: 100–2000 bp molecular weight marker; 2: *mecA*-positive *S. aureus* ATCC; 3: *S. epidermidis* ATCC; 4: CoNS 10^{-7} dilution (10^1 CFU/mL); 5: 10^{-6} (10^2 CFU/mL); 6: 10^{-5} (10^3 CFU/mL); 7: 10^{-4} (10^4 CFU/mL); 8: 10^{-3} (10^5 CFU/mL); 9: 10^{-2} (10^6 CFU/mL); 10: 10^{-1} (10^7 CFU/mL); 11: *S. aureus* 10^{-7} dilution (10^1 CFU/mL); 12: 10^{-6} (10^2 CFU/mL); 13: 10^{-5} (10^3 CFU/mL); 14: 10^{-4} (10^4 CFU/mL); 15: 10^{-3} (10^5 CFU/mL); 16: 10^{-2} (10^6 CFU/mL); 17: 10^{-1} (10^7 CFU/mL); 18: 100–2000 bp molecular weight marker.

Source : d'après " The Brazilian Journal of Infectious Diseases, Detection of the *mecA* gene and identification of *Staphylococcus* directly from blood culture bottles by multiplex polymerase chain reaction" ;

<https://doi.org/10.1016/J.BJID.2018.02.006> ; © 2018 Sociedade Brasileira de Infectologia. Published by Elsevier Editora Ltda

Document 5 : La phagothérapie

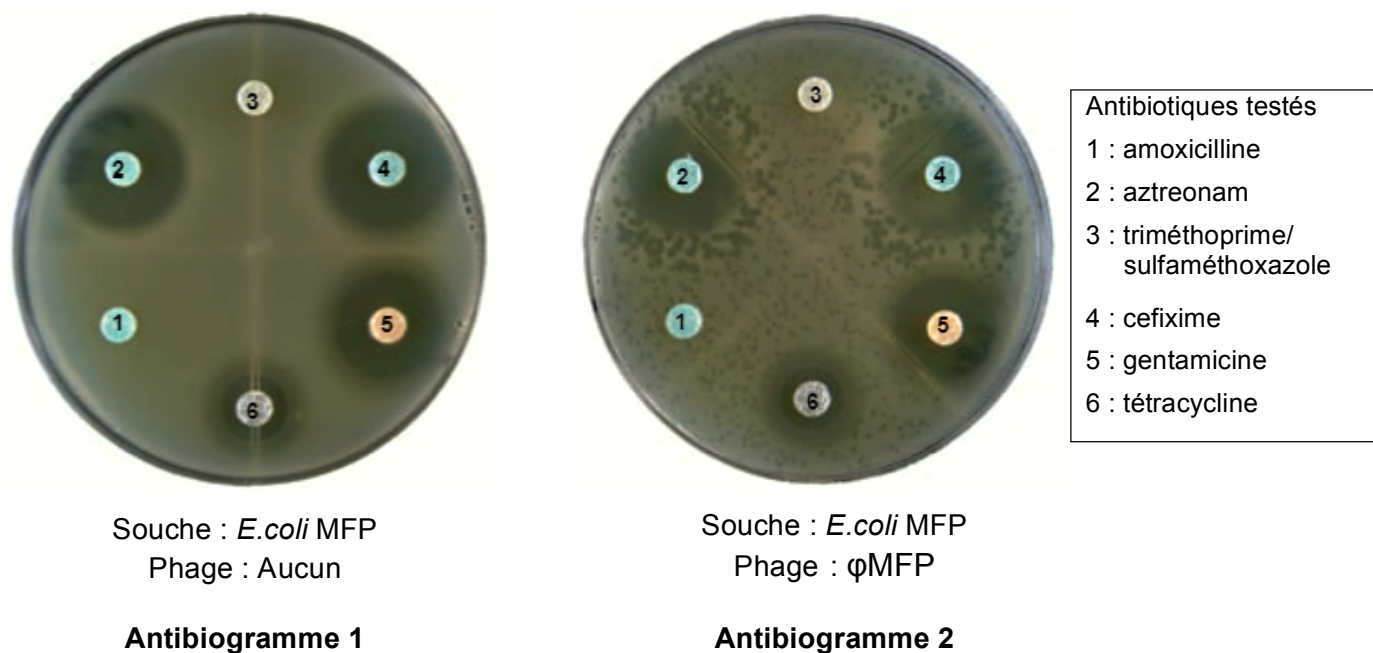
5a : Effets de phages individuels et en cocktail (mélange de phages) sur une population bactérienne mixte résistante au méropénem et à la colistine (antibiotiques de dernier recours)



In vitro phage activity of prepared phage cocktails : Activity of *Escherichia* virus myPSH2311, *Klebsiella* virus myPSH1235, *Enterobacter* virus myPSH1140 and their combination (EKL4) (Control for all the experiments-bacterial growth without antibacterial agents and phages).

Source : d'après Manohar P, Tamhankar AJ, Lundborg CS, Nachimuthu R. Therapeutic Characterization and Efficacy of Bacteriophage Cocktails Infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* Species. *Front Microbiol.* 2019;10:574. Published 2019 Mar 21. doi:10.3389/fmicb.2019.00574

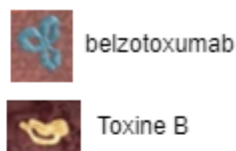
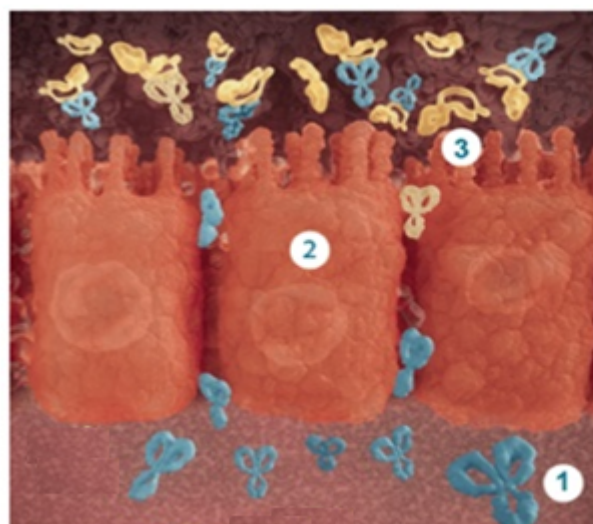
5b : Etude de l'activité lytique des phages en présence d'antibiotiques sur une souche d'*E. coli* MFP sensible au phage ϕ MFP



Source : d'après Comeau, André & Tétart, Françoise & Trojet, Sabrina & Prere, Marie-Francoise & Krisch, Henry. (2008). The discovery of a natural phenomenon, «Phage-Antibiotic Synergy». Implications for phage therapy. *Médecine sciences : M/S.* 24. 449-51. 10.1051/medsci/2008245449.

Document 6 : Les anticorps monoclonaux

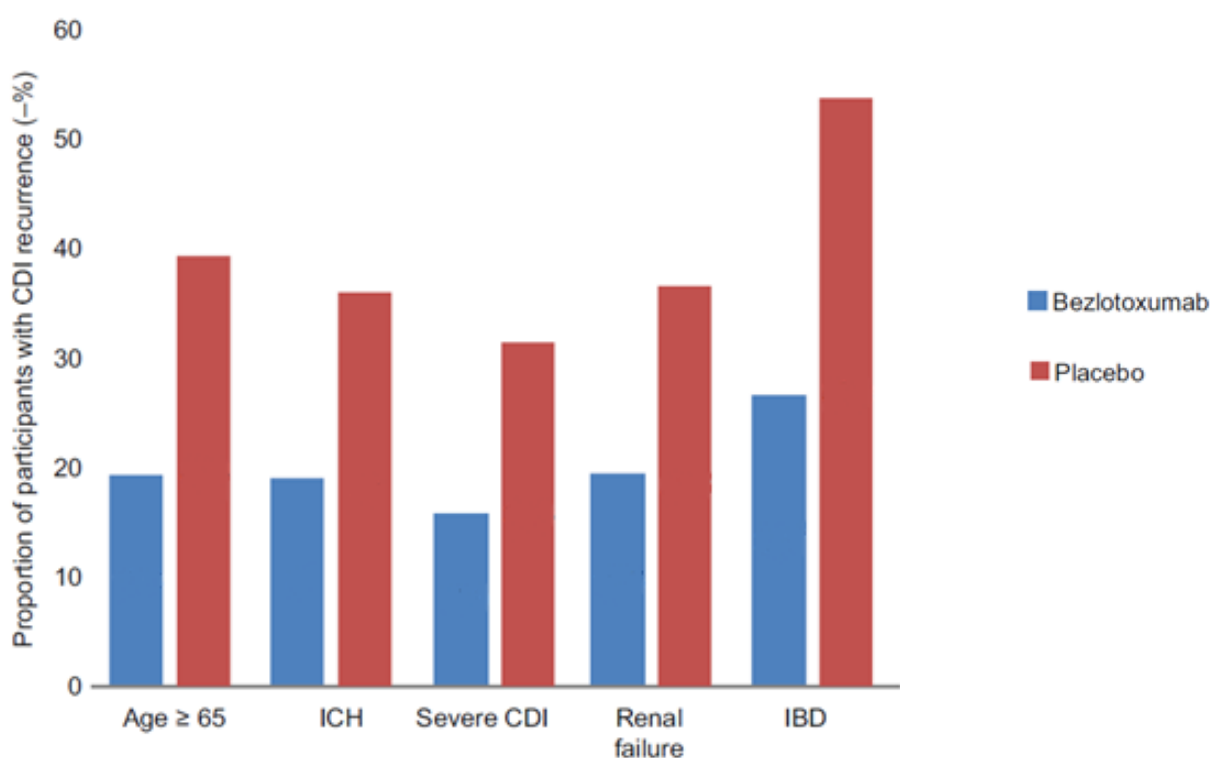
6a : Mode d'action du belzotoxumab



1. bezlotoxumab injecté dans la circulation sanguine
2. cellules lésées de l'épithélium intestinal
3. toxine B de *Clostridium difficile*

Source : d'après Merckconnect.com adapté de Zhang Z et al. *Infect Immun.* 2015;83(1):405-416

6b : Effet du belzotoxumab sur le taux de récurrence à 30 jours des infections à *Clostridium difficile*



Absolute reduction in recurrent CDI (rCDI) in special populations treated with bezlotoxumab.

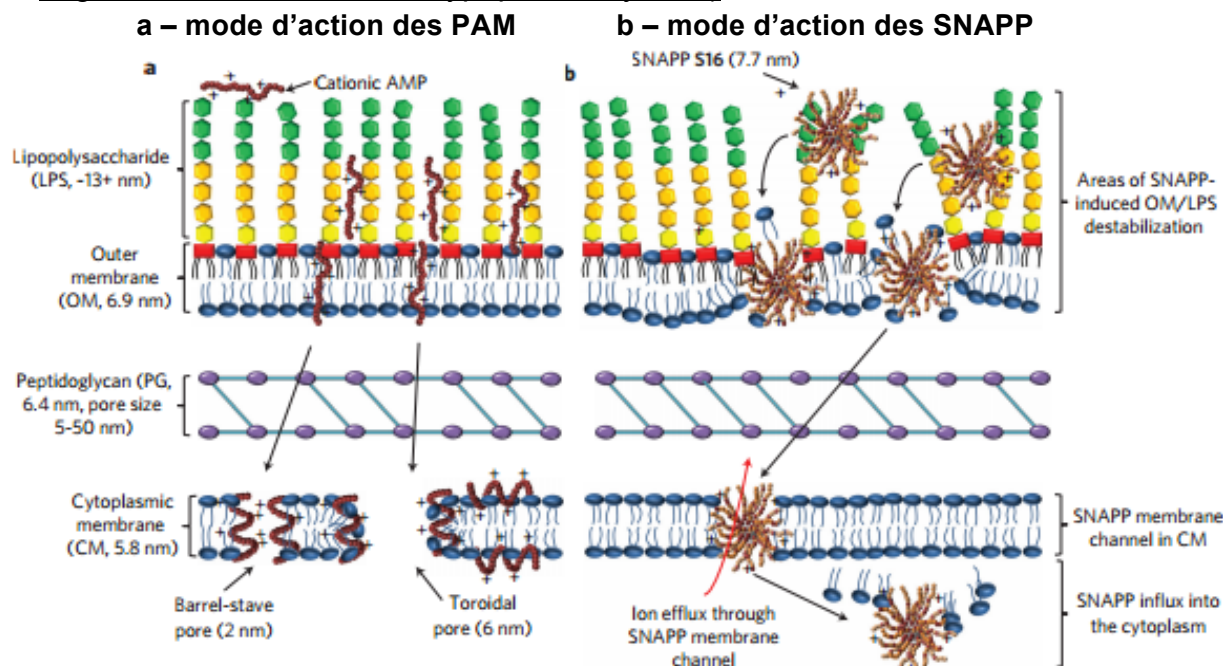
Abbreviations : CDI : *C. difficile* infection ; ICH : immunocompromised host ; IBD : inflammatory bowel disease.

Clostridium difficile infection (CDI) is a leading nosocomial disease estimated to cause nearly half a million cases in the United States annually. Bezlotoxumab is the first of its kind monoclonal antibody directed against *C. difficile* toxin B and indicated for prevention of recurrent CDI in at-risk patients.

Source : d'après Alonso CD, Mahoney MV. Bezlotoxumab for the prevention of *Clostridium difficile* infection: a review of current evidence and safety profile. *Infect Drug Resist.* 2018;12:1–9. Published 2018 Dec 17.
doi:10.2147/IDR.S159957

Document 7 : Les peptides antimicrobiens

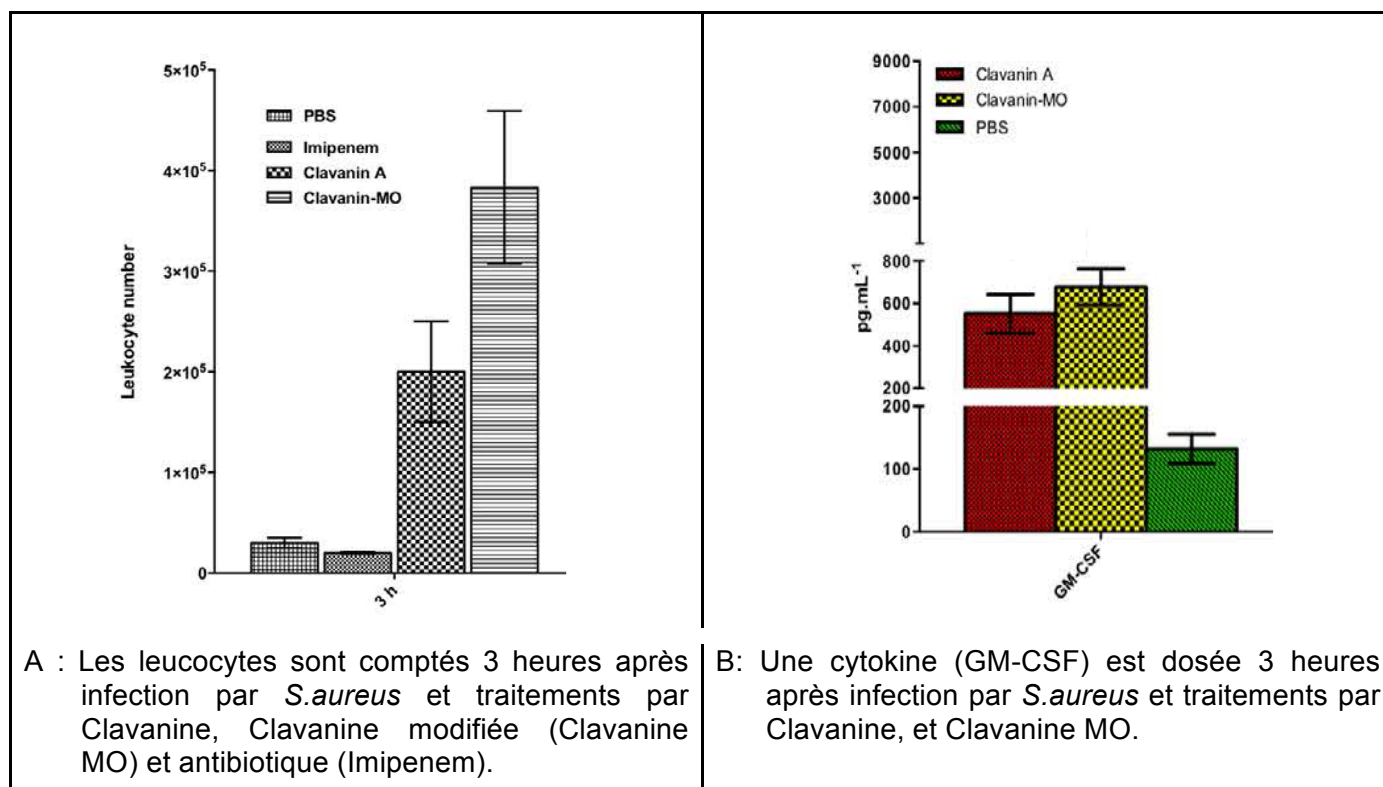
7a : Mode d'action des PAM (Peptide AntiMicrobien) et des SNAPP (Structurally Nano engineered Antimicrobial Polypeptide Polymers)



SNAPP appear to pose no threat to healthy tissue, they only attack bacteria. This is in marked contrast to antibiotics that are known to have unpleasant side-effects under certain conditions because they damage both bacteria and healthy tissue.

Source : Science Research Communication, Alex Sarkis, Feb 6 2017

7b : Activité d'un peptide antimicrobien, la clavanine, suite à une infection par *S.aureus*

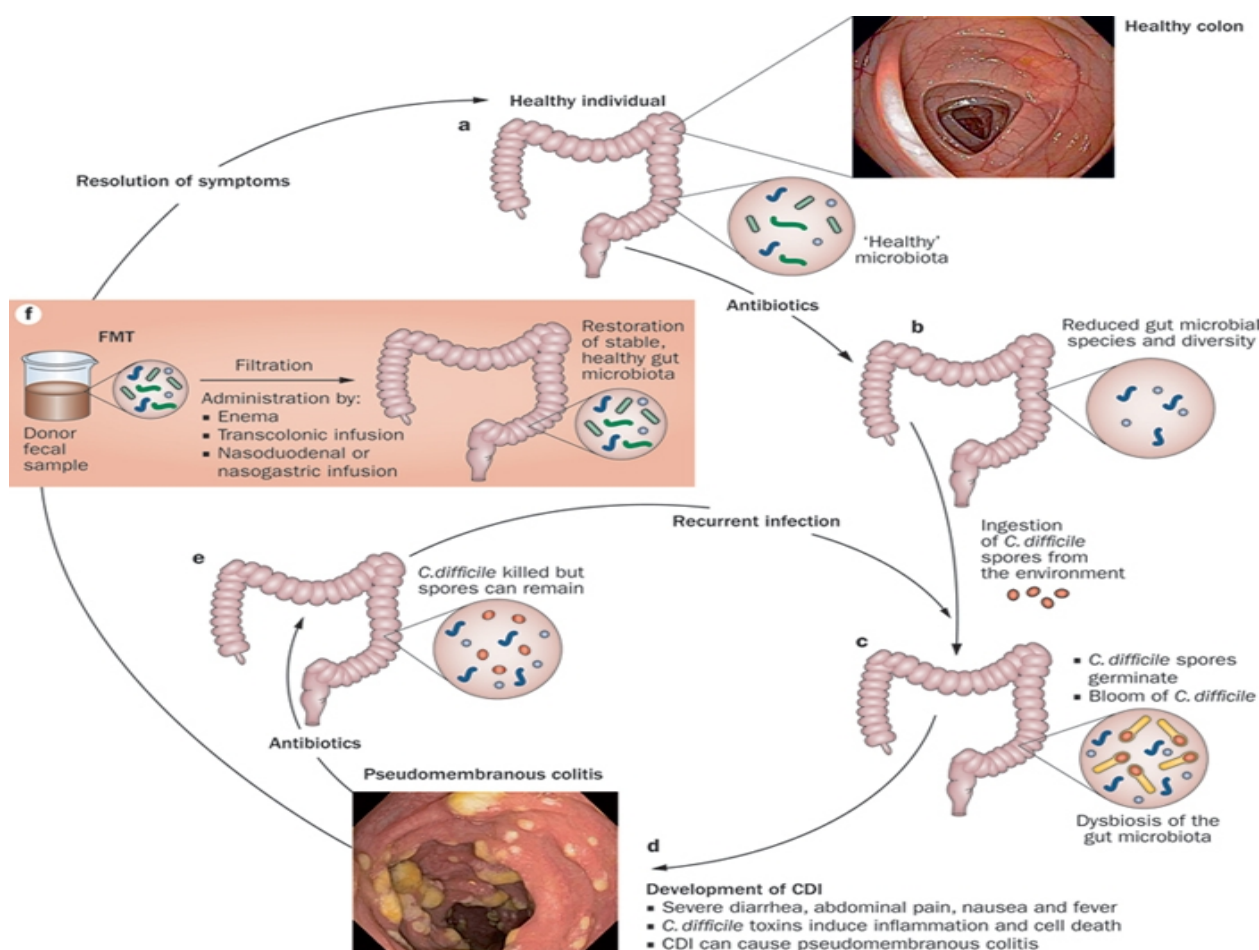


Dans ces expériences, le PBS sert de témoin.

Source : d'après Silva ON, de la Fuente-Núñez C, Haney EF, et al. An anti-infective synthetic peptide with dual antimicrobial and immunomodulatory activities. Sci Rep. 2016;6:35465. Published 2016 Nov 2. doi:10.1038/srep35465

Document 8 : La transplantation fécale utilisée pour traiter les infections récurrentes par des souches de *Clostridium difficile*

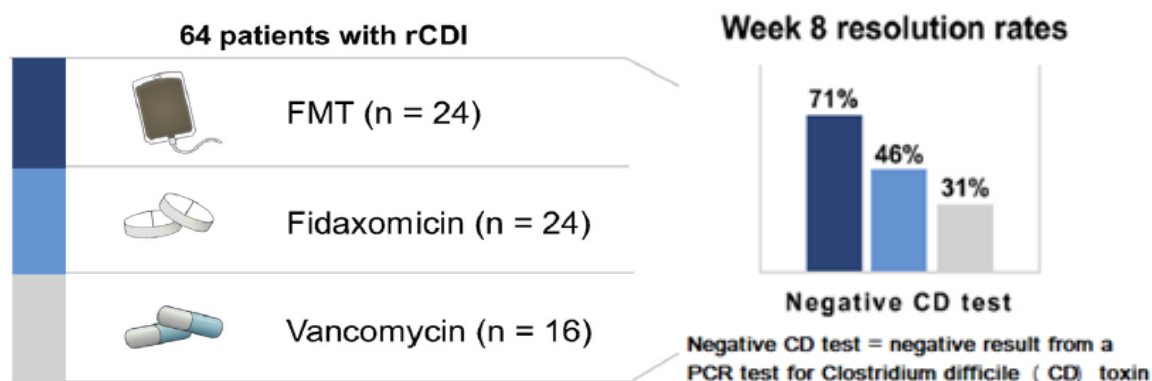
8a : FMT (Fecal Microbiota Transplantation) for patients with recalcitrant CDI



CDI (*Clostridium difficile* infection) causes severe diarrhea, intestinal inflammation and cell death as a result of toxin-mediated infection with the pathogenic bacteria. Patients with CDI are typically treated with antibiotics, which not only kill the pathogenic *C. difficile* but also exhibit activity against the dominant colonic microbiota phyla. Incomplete antibiotic eradication of *C. difficile* can result in recurrent CDIs.

Source : Borody TJ, Khoruts A. Fecal microbiota transplantation and emerging applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012 ;9:88-96.

8b : Comparaison de la FMT et de l'antibiothérapie (fidaxomicine et vancomycine) sur les infections à *C. difficile*



Source : d'après *Fecal Microbiota Transplantation Is Superior to Fidaxomicin for Treatment of Recurrent Clostridium difficile Infection* ; Christian LodbergHvas, Simon Mark Dahl Jørgensen, Søren Peter Jørgensen, Merete Storgaard, Lars Lemming, Mette Mejlbj Hansen, Christian Erikstrup, and Jens Frederik Dahlerup ; *Gastroenterology* 2019;156:1324–1332

Document 9 : Extraits du programme de Biochimie Biologie Biotechnologies en classe de Terminale Sciences et Technologies de Laboratoire spécialité Biotechnologies

Les savoir-faire et concepts sont organisés en trois parties :

- une partie Scientifique (S) pose les concepts en amont des applications biotechnologiques,
- une partie Technologique (T) présente les concepts et savoir-faire spécifiques des activités technologiques et expérimentales du laboratoire de biotechnologies ;
- une partie transversale au Laboratoire (L) présente différentes approches communes à toutes les activités.

L'ensemble des activités proposées mobilise les trois parties (S, T et L) du programme. La construction de l'enseignement fait donc appel à l'initiative et à la liberté pédagogique du professeur.

S : développer les concepts Scientifiques de biochimie-biologie-biotechnologies

S3 – Propriétés de l'ADN et réplication

S4 – Microorganismes et domaines d'application des biotechnologies

L : travailler ensemble au Laboratoire de biotechnologies

L2 – Pratiquer une démarche de prévention des risques au laboratoire de biotechnologies

L3 – Obtenir des résultats de mesure fiables

L4 – Mobiliser les outils numériques en biotechnologies

T : développer les fondamentaux Technologiques expérimentaux des biotechnologies

T2 – Cultiver des micro-organismes, suivre ou limiter leur croissance

T9 – Utiliser les technologies de l'ADN

T2.1 Analyse d'un produit polymicrobien – culture sélective du micro-organisme recherché		
Identifier les étapes d'une procédure de recherche de micro-organisme d'intérêt à partir d'un produit polymicrobien.	- Caractère d'intérêt. - Enrichissement. - Milieu d'isolement*.	 Recherche et identification d'une bactérie d'intérêt dans un produit polymicrobien (pathogène, témoin de contamination, à métabolisme dépolluant...). ⇔ Module T3.

T2.2 Modélisation de la croissance en milieu non renouvelé		
Mettre en œuvre un suivi de croissance en tenant compte des points critiques. Faire le lien entre l'atténuation et la biomasse.	- Courbe de croissance. - Biomasse. - Atténuation.	  Mise en œuvre et suivi d'une culture pour produire de la biomasse (levure), réaliser une fermentation (lactique, alcoolique) ou produire un métabolite (antibiotique). ⇔ Mathématiques. ⇔ Module L4.
Identifier les phases de la croissance. Déterminer les paramètres cinétiques de la croissance.	- Phases de croissance. - Temps de génération. - Vitesse spécifique en phase exponentielle de croissance.	
Identifier des paramètres influençant la croissance.	- Conditions physico-chimiques de culture*.	  Comparaison du suivi de croissances à différents pH ou températures.
Repérer les étapes de la mise en œuvre industrielle d'une croissance en bioréacteur.	- Bioréacteur.	 Suivi de la mise en œuvre d'une bioproduction à l'échelle pilote ou industrielle.

T2.3 Les agents antimicrobiens inhibiteurs de la croissance		
Classer les agents antimicrobiens en agents physiques et agents chimiques. Identifier, à l'aide de documents, des modes d'action d'agents antimicrobiens.	- Microbicide / microbiostatique. - Antibiotique. - Antiseptique. - Désinfectant.	  Identification des différents types d'agents antimicrobiens dans la composition de produits d'utilisation courante.
Exploiter les résultats d'un antibiogramme pour proposer un antibiotique adapté à la souche bactérienne à neutraliser.	- Concentration critique. - Spectre d'action. - Méthode standardisée. - Sensibilité. - Résistance.	 Mise en œuvre d'un antibiogramme dans des conditions de standardisation.   Étude de l'influence des paramètres de standardisation sur les résultats d'un antibiogramme.
Identifier, à l'aide de documents, des cibles cellulaires des antibiotiques. Justifier l'usage raisonné des antibiotiques.	- Résistance naturelle / résistance acquise. - Bactéries multi-résistantes.	 Comparaison des parois Gram + et Gram – pour mettre en évidence la résistance naturelle aux pénicillines.  Comparaison de résultats d'antibiogrammes d'une bactérie sauvage et d'une souche multi-résistante. Exploitation d'articles scientifiques.

T9.2 Amplification d'un fragment d'ADN par une technique de PCR		
Distinguer, selon les objectifs et le contexte, une PCR préparative d'une PCR analytique. Déterminer le rôle de chaque composant du réactif de PCR en lien avec les mécanismes de réplication.	- Gène d'intérêt. - Séquence-cible. - Amorces. - Spécificité*.	  Analyse des objectifs et des modes opératoires de PCR dans différents contextes.
Repérer les étapes des réactions d'un cycle de PCR à partir d'une procédure. Expliquer l'intérêt de la répétition des cycles de PCR.	- Dénaturation. - Hybridation. - Élongation. - Amplification - Amplicon.	  Prévion du nombre théorique d'amplicons en fonction du nombre de cycles. ⇔ Mathématiques.  Réalisation d'une PCR en bain thermostaté ou à l'aide d'un thermocycleur. ⇔ Module T5.
Mettre en œuvre une technique de PCR en respectant les points critiques.	- Marche en avant.	
Vérifier le résultat et la qualité de la PCR par électrophorèse.	- Charge. - Marqueur de taille. - Témoins*.	 Analyse du produit de la PCR par électrophorèse.  Schématisation du résultat prévisionnel de l'électrophorèse.