

Secrétariat Général

Direction générale des ressources humaines

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Sous-direction du recrutement

Concours du second degré – Rapport de jury Session 2011

CERTIFICAT D'APTITUDE AU PROFESSORAT DE L'ENSEIGNEMENT TECHNIQUE (CAPET)

CONCOURS EXTERNE ET CAFEP

SECTION: BIOTECHNOLOGIES

Option: BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

Rapport de jury présenté par Michel GAVRILOVIC Président de jury

Les rapports des jurys des concours sont établis sous la responsabilité des présidents de jury

SOMMAIRE

Composition du jury	Page 3
Renseignements statistiques	Page 5
Epreuves d'admissibilité	
Composition d'Epreuve de synthèse	
Sujet	Page 7
Rapport	Page 8
Composition d'Etude d'un système, d'un procédé ou d'une organisation	
Sujet	Page 11
Rapport	Page 18
Epreuves d'admission	
Leçon portant sur les programmes des lycées et des classes post-baccalauréat	
Sujets	Page 21
Rapport	Page 95
Epreuve sur dossier	
Rapport	Page 99
Conclusion générale	Page 104

COMPOSITION DU JURY

Président du jury

M. Michel GAVRILOVIC, Inspecteur général de l'éducation nationale

Vice-présidents

Mme Caroline BONNEFOY, Inspecteur d'academie/inspecteur pedagogique regional, Rectorat Academie de Versailles

M. David DUBAYLE, Maitre de conférences des universités, UFR biomédicale des st pères Université Paris Descartes – Paris 6

Secrétaire général

Mme Martine CHARRIN, Professeur Agrégée M. Christian PLAS, Professeur Agrégé

Membres

Mme Sylvie BARDES Professeur Agrégée Lycée General Et Technologique Vallee De Chevreuse GIF-SUR-YVETTE Mme Joëlle BISSERY Professeur Agrégée Lycée Pierre-Gilles De Gennes ENCPB PARIS

Mme Brigitte BLANC Professeur Agrégée LGT Honore D'Urfe ST ETIENNE

MIIe Martine BOBENRIETHER Professeur Agrégée Lycée General Et Technologique Georges De La Tour METZ

M. Pierre BOUDIER Professeur Agrégé Lycée Polyvalent Simone Weil DIJON

Mlle Sophie BOYS Professeur Agrégée Lycée Polyvalent Marguerite Yourcenar BEUVRY

Mme Emmanuelle BRASSELET Professeur Agrégée LGT Agricole Theodore Monod LE RHEU

Mme Géraldine CARAYOL Professeur Agrégée LGT Marie Curie VERSAILLES

Mme Anne CAZALOT Professeur certifiée Lycée Pierre-Gilles De Gennes ENCPB PARIS

M. Pascal CHAFFAUT Professeur Agrégé LGT des Métiers Hugues Libergier REIMS

Mme Martine CHARRIN Professeur Agrégée Lycée Pierre-Gilles De Gennes ENCPB PARIS

Mme Laurence CHAVANT Professeur certifiée Lycée Polyvalent Jean Rostand STRASBOURG

Mme Mireille CLAVE Professeur certifiée Lycée Polyvalent Jean Rostand STRASBOURG

Mme Nathalie COLOMB Professeur Agrégée LGT Léopold Sedar Senghor EVREUX

M. Joel DENDALETCHE Professeur Agrégé LGT La Decouverte DECAZEVILLE

M. Christian DEVAUX Professeur Agrégé LGT des Metiers Hugues Libergier REIMS

Mme Catherine DOSDA Professeur Agrégée LGT Raoul Dautry LIMOGES

Mme Pascale DUNET JUSTIN Professeur certifiée LGT Marie Curie VERSAILLES

M. Bruno DURAND Professeur Agrégé Lycée Polyvalent Jean Moulin ANGERS

Mme Odile DUSSERRE BRESSON Professeur certifiée LGT Henri Darras LIEVIN

Mme Catherine ETANCELIN Ecr professeur certifiée Lycée Gen. Et Technol. Prive Gregor Mendel VINCENNES

Mme Isabelle FALLER Inspecteur d'académie/inspecteur pédagogique régional Rectorat Académie de STRASBOURG

Mlle Véronique FAUTREZ Professeur Agrégée Lycée General Et Technologique Valentine Labbe LA MADELEINE Mme Thérèse FERLIN Professeur certifiée LGT Honore D'Urfe ST ETIENNE

Mme Patricia FERRON-RICART Professeur certifiée Lycée Polyvalent Du Golf DIEPPE

Mme Sigolène FOURCY GIRAUD Professeur Agrégée Lt Lycée Des Metiers Louise Michel GRENOBLE

M. Gilles FREMY Professeur certifié Lpo Lycée Des Métiers De La Plasturgie V De Garonne MARMANDE

Mme Martine FRUCHART Professeur certifiée Lycée General Et Technologique Marie Curie VERSAILLES

Mme Claude GAVRILOVIC Inspecteur d'académie/inspecteur pédagogique régional Rectorat Académie de PARIS

M. Cyrille GESTIN Professeur Agrégé LGT Ernest Renan ST BRIEUC

Mme Geneviève GOUZERH Professeur certifiée LGT Vallée De Chevreuse GIF-SUR-YVETTE

Mme Susanne HAEBERLE MULLER Professeur certifiée Lycée Polyvalent Lavoisier MULHOUSE

MIIe Marie-Armelle HOUQUE Professeur Agrégée IUT La Rochelle Université LA ROCHELLE

Mme Marie Pia LAZARUS ALTENBURGER Professeur certifiée LGT Marie Curie VERSAILLES

M. Yannick LAZZARONI Professeur certifié LGT Arthur Varoquaux TOMBLAINE

M. André LE TEXIER Professeur certifié Lycée Pierre-Gilles De Gennes ENCPB PARIS

M. Laurent LOKIEC Ecr professeur certifié Lycée Technologique Prive Ec Sup Tech Biologie Appliquée PARIS

MIIe Christine MONTIXI Professeur Agrégée Lycée Technologique Marie Curie MARSEILLE

M. Pierre NARBONNE Inspecteur d'académie/inspecteur pédagogique régional Rectorat Académie de RENNES

Mlle Lydie NOSSEREAU Professeur Agrégée Lycée Polyvalent Jean Moulin ANGERS

Mme Muriel PAJEAN-FORT Professeur Agrégée LGT Louis Armand CHAMBERY

Mlle Michèle PLANEILLE RESTANY Professeur certifiée Lycée Polyvalent Suzanne Valadon LIMOGES

M. Christian PLAS Professeur Agrégé Lycée Pierre-Gilles De Gennes ENCPB PARIS

Mme Catherine POCHET Professeur certifiée Lycée Polyvalent Jean Moulin ANGERS
M. Michel PRAT Inspecteur d'académie/inspecteur pédagogique régional Rectorat Académie de CRETEIL
Mme Bernadette ROMANET Professeur certifiée Lycée Technologique Marie Curie MARSEILLE
Mme Elisabeth SCHLICHTER Professeur certifiée LGT Robert Schuman HAGUENAU
M. Jean-François TRUCCHI Professeur Agrégé Lycée Technologique Marie Curie MARSEILLE
Mme Béatrice URING-LAMBERT Maitre de conférences des universités Nouvel Hôpital Civil STRASBOURG
Mme Françoise VINCENT Professeur Agrégée Lycée Technologique Marie Curie MARSEILLE

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

CONCOURS EXTERNE

Nombre de postes	28
Candidats inscrits	400
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	137
Candidats admissibles	63
Candidats présents aux épreuves d'admission	54
Candidats proposés pour l'admission	28
Epreuves d'admissibilité	
Moyenne des candidats présents	05.78
Moyenne des candidats admissibles	08.64
Moyenne du dernier candidat admissible	05.54
Epreuve de synthèse	
Moyenne des candidats présents	05.84
Moyenne des candidats admissibles	08.79
Note maximale	15.22
Etude d'un système, d'un procédé ou d'une organisation	
Moyenne des candidats présents	05.56
Moyenne des candidats admissibles	08.48
Note maximale	15.89
Epreuves d'admission	
Moyenne des candidats présents	10.50
Moyenne des candidats admis	13.80
Leçon portant sur les programmes des lycées et des	
classes post-baccalauréat	00.04
Moyenne des candidats présents	09.81
Moyenne des candidats admis	13.64
Note maximale	18.00
Epreuve sur dossier	40.57
Moyenne des candidats présents	10.57
Moyenne des candidats admis	13.96
Note maximale	19.00
Soutenance de dossier	07.05
Moyenne des candidats présents	07.05
Moyenne des candidats admis	09.84
Note maximale	14.00
Agir en fonctionnaire	
Moyenne des candidats présents	03.53
Moyenne des candidats admis	04.13
Note maximale	6.00
Ensemble du concours	
Moyenne des candidats présents	09.61
Moyenne la plus élevée	15.20
Moyenne des candidats admis	11.88
Moyenne du dernier candidat admis	09.43

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

Concours d'accès aux fonctions d'enseignement dans les établissements privés sous contrat (CAFEP)

Nombre de postes	10
Candidats inscrits	83
Candidats présents aux deux épreuves d'admissibilité	28
Candidats admissibles	8
Candidats présents aux épreuves d'admission	8
Candidats proposés pour l'admission	3
Epreuves d'admissibilité	
Moyenne des candidats présents	04.94
Moyenne des candidats admissibles	08.41
Moyenne du dernier candidat admissible	06.04
Epreuve de synthèse	
Moyenne des candidats présents	05.71
Moyenne des candidats admissibles	09.98
Note maximale	15.00
Etude d'un système, d'un procédé ou d'une organisation	
Moyenne des candidats présents	04.02
Moyenne des candidats admissibles	06.83
Note maximale	10.14
Epreuves d'admission	
Moyenne des candidats présents	08.94
Moyenne des candidats admis	13.00
Leçon portant sur les programmes des lycées et des	
classes post-baccalauréat	40.00
Moyenne des candidats présents	10.38
Moyenne des candidats admis	13.67
Note maximale	16.00
Epreuve sur dossier	
Moyenne des candidats présents	07.50
Moyenne des candidats admis	12.33
Note maximale	14.00
Soutenance de dossier	
Moyenne des candidats présents	05.00
Moyenne des candidats admis	08.67
Note maximale	10.00
Agir en fonctionnaire	
Moyenne des candidats présents	02.50
Moyenne des candidats admis	03.67
Note maximale	04.00
Ensemble du concours	
Moyenne des candidats présents	08.67
Moyenne la plus élevée	12.17
Moyenne des candidats admis	11.24
Moyenne du dernier candidat admis	10.02

Epreuve écrite d'admissibilité

ECRIT 1

EPREUVE DE SYNTHESE

Durée : 5 heures

Coefficient: 3

SUJET

Reconnaissance moléculaire spécifique en biologie

La reconnaissance moléculaire spécifique en biologie est assurée en majeure partie par les protéines.

Illustrer cette spécificité de reconnaissance par une étude comparée de la structure des enzymes, des anticorps et des toxines protéiques.

Pour ces trois groupes de protéines :

- étudier leurs physiologies à l'aide d'exemples pris chez les eucaryotes ou les procaryotes
- décrire les principales applications de laboratoire basées sur ces propriétés de reconnaissance spécifiques

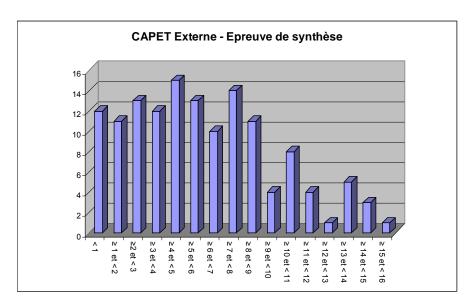
Rapport de l'épreuve de synthèse

Rapport établi par : Sylvie BARDES, Joëlle BISSERY, Martine BOBENRIETHER, Géraldine CARAYOL, Anne CAZALOT, Pascal CHAFFAUT, Joël DENDALETCHE, Christian DEVAUX, Pascale DUNET-JUSTIN, Bruno DURAND, Thérèse FERLIN, Sigolène FOURCY GIRAUD, Martine FRUCHART, Susanne HAEBERLE-MULLER, Armelle HOUQUE, Yannick LAZZARONI, André LE TEXIER, Lydie NOSSEREAU

Résultats :

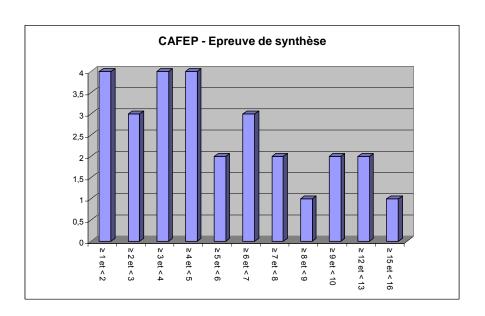
CAPET

< 1	12	\geq 6 et < 7	10	≥ 12 et < 13	1
≥ 1 et ≤ 2	11	\geq 7 et < 8	14	\geq 13 et < 14	5
≥2 et < 3	13	\geq 8 et < 9	11	≥ 14 et < 15	3
\geq 3 et < 4	12	\geq 9 et < 10	4	$\geq 15 \text{ et} < 16$	1
\geq 4 et < 5	15	$\geq 10 \text{ et} < 11$	8		
\geq 5 et < 6	13	≥ 11 et < 12	4		



CAFEP

≥ 1 et ≤ 2	4	\geq 5 et < 6	2	\geq 9 et < 10	2
\geq 2 et \leq 3	3	\geq 6 et < 7	3	≥ 12 et < 13	2
\geq 3 et \leq 4	4	\geq 7 et < 8	2	≥ 15 et < 16	1
> 4 et < 5	4	> 8 et < 9	1		



Commentaires:

Cette nouvelle épreuve définie par l'arrêté du 28 décembre 2009 modifié le 26 avril 2010 a pour objectif de conduire une synthèse sur un thème imposé.

Le sujet portait sur la reconnaissance moléculaire spécifique en biologie.

Commentaire sur la forme

Le jury a apprécié les efforts de rédaction fournis par les candidats et rappelle que la syntaxe, la grammaire et l'orthographe sont pris en compte dans l'évaluation de l'épreuve. Le soin apporté aux illustrations est également un élément d'appréciation des qualités pédagogiques des candidats.

Il est nécessaire de rédiger une introduction construite permettant de cerner le sujet, de définir les mots clé de l'énoncé et d'annoncer le plan qui sera développé. Dans le cas présent, les candidats pouvaient s'appuyer sur le plan proposé dans l'énoncé en se souvenant de l'intitulé général du sujet : « la reconnaissance moléculaire spécifique en biologie ».

Une transition doit faire le lien entre chaque partie. Le candidat pourra ainsi montrer la construction de sa réflexion sur le sujet posé.

La conclusion, même courte, doit répondre à la problématique posée dans l'introduction, proposer une synthèse du développement et permettre d'ouvrir des perspectives cohérentes avec le sujet.

Commentaire sur le fond

Le sujet proposait de développer certains aspects de la reconnaissance moléculaire spécifique. Les candidats devaient conserver ce fil conducteur à l'esprit et axer le développement de chaque partie autour de cette problématique.

Les exemples devaient être judicieusement choisis, et approfondis, pour illustrer en quoi la reconnaissance spécifique :

- est impliquée dans la physiologie des protéines étudiées (enzymes, anticorps, toxines protéiques),
- est le support des principales applications au laboratoire.

Le concours sélectionne les futurs professeurs de sciences et technologie en biotechnologies. Les illustrations doivent être contextualisées de façon précise (nom des molécules et des organismes) et détaillées.

Les candidats devaient montrer leur capacité à organiser leurs connaissances :

- Après avoir expliqué en quoi la structure primaire conditionne les structures tertiaires et quaternaires, et donc la reconnaissance spécifique (par complémentarité de forme et d'interactions chimiques faibles), le candidat devait développer les spécificités propres à chaque catégorie de protéine dans une étude comparée.
- Le jury a valorisé les copies dans lesquelles les candidats présentaient une démarche dans leur exposé : on pouvait par exemple organiser les connaissances en fonction du type d'interaction, et non en fonction de la catégorie de molécules : enzyme-substrat, anticorps- antigène, toxine-récepteur.
- De la même manière, le jury n'attendait pas une liste exhaustive de techniques, mais des applications diversifiées dans leur principe et dans leur but, la liaison spécifique de la protéine avec son ligand pouvant servir d'outil pour identifier (toxinotypie, enzyme bactérienne ...), quantifier (dosage de substrat, dosage d'enzyme, ELISA, Mancini...), séparer (chromatographie d'affinité).

<u>Conclusion :</u>
Le caractère pluridisciplinaire de l'épreuve impose aux candidats de maîtriser des connaissances contextualisées dans les multiples champs des biotechnologies.





SESSION 2011

CAPET CONCOURS EXTERNE ET CAFEP

Section : BIOTECHNOLOGIES
Option : BIOCHIMIE – GÉNIE BIOLOGIQUE

ÉCRIT 2 ETUDE D'UN SYSTÈME, D'UN PROCÉDÉ OU D'UNE ORGANISATION

Durée: 5 heures

L'usage de tout ouvrage de référence, de tout 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: Hormis l'en-tête détachable, 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.

Bioéthanol

En réponse aux instabilités d'approvisionnement en carburants et aux efforts de réduction des émissions de CO₂, le bioéthanol est devenu aujourd'hui un des carburants les plus prometteurs. Les sources de biomasse dont il est issu sont diverses. (Annexe 1)

Les procédés sont multiples ; il est possible de proposer un diagramme de production de bioéthanol à partir du blé. (Annexe 2)

Analyser en détail, les étapes conduisant à la production de sucres fermentescibles et celles qui conduisent à la production de bioéthanol en insistant sur les caractéristiques technologiques de l'hydrolyse enzymatique et de la conduite et de la fermentation.

Préciser les objectifs recherchés et indiquer les techniques conduisant à l'amélioration des souches industrielles de *Saccharomyces*.

Présenter différentes méthodes de dosage du bioéthanol susceptibles d'être utilisées pour suivre la production au laboratoire. En analyser les caractéristiques technologiques ; préciser pour chaque exemple retenu, le protocole expérimental susceptible d'être mis en œuvre.

ANNEXE 1

1. INTRODUCTION

Ces dernières années, principalement en réponse aux instabilités d'approvisionnement en carburants et aux efforts de réduction des émissions de CO2, le bioéthanol (comme le biodiesel) est devenu aujourd'hui un des carburants les plus prometteurs et est considéré comme l'unique alternative, à court et moyen terme, aux carburants fossiles en Europe et dans le monde. L'actuel engagement de l'UE grâce à la directive 2003/30/EC sur la promotion des biocarburants pour le transport fixe un objectif de 5,75 % de l'ensemble des carburants pour le transport d'ici a 2010. Le récent cahier de route de la Commission Européenne a maintenant augmenté cette part à 10% d'ici 2020.

Nous assistons actuellement à une forte attention politique et médiatique focalisée sur les biocarburants et les sujets concernant la sécurité alimentaire, le prix des aliments, les effets sur la biodiversité et les avantages perçus sur l'émission de CO2 face aux carburants d'origine fossile.

Considérant que les agriculteurs et les operateurs agricoles adoptent des modes de production de cultures énergétiques durable à l'aide d'une gestion et d'une planification durable ainsi que l'usage si possible des residus d'usines à dechets pour la fourniture d'énergie nécessaire à la production d'éthanol, alors il ne devrait pas y avoir d'effet environnemental négatif. D'autre part, la création d'emploi et le développement de l'économie rurale est un bénéfice non négligeable de la production de biocarburants. Les problèmes de prix des aliments et des évolutions du marché ne peuvent pas être facilement définis comme lié au seul facteur biocarburant. Ainsi, le prix du pétrole peut affecter celui des biocarburants. Le marché mondial du prix du sucre a créé un impact sur le prix et le niveau de production du bioéthanol. Le bioéthanol est reconnu comme une alternative valable car les cultures sources peuvent être cultivées de manière durable sous presque tous les climats du monde. De plus, l'usage de bioéthanol contribue à réduire les émissions de CO2. En effet, les émissions sont stoppées puisque durant la phase de croissance des cultures, le CO2 est absorbé par la plante et l'oxygène est relâché dans les mêmes volumes que le CO2 produit durant la combustion du carburant. Cela crée un large avantage sur les carburants fossiles qui émettent du CO2 ainsi que d'autres éléments polluants. Dans les années 70, le Brésil et les USA initièrent une production massive de Bioéthanol produit respectivement à partir de canne à sucre et de mais. Des productions à petite échelle ont vu le jour plus récemment en Espagne, France, Suède principalement à partir de blé et de betterave sucrière.

Ces dernières années le concept de bio raffinerie a émergé. Il s'agit par lequel il est possible d'intégrer des procédés et technologies de conversion de la biomasse afin de produire une variété de produits incluant carburant, énergie, produits chimiques, alimentation animale. De cette manière il est possible de tirer profit des différences naturelles de la composition chimique et structurelle des ressources en Biomasse.

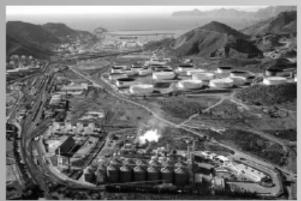
Le document publié par la Commission Européenne <u>"An EU strategy for biofuel"</u> rappelle ce concept de bio raffinerie dans le 7ème Programme Cadre (FP7) et fait partie des priorités. Le Project RESTMAC (création de marchés pour les Technologies Européennes d'Energies Renouvelables - Campagne de promotion des technologies RES) a pour objectif de développer et employer une approche thématique compréhensible et bien conçue afin d'encourager la consommation sur le marché des technologies RES sélectionnées. Dans le cadre du projet RETMAC, cette brochure présentera des informations concernant la production de bioéthanol et de ces coproduits. Elle se focalisera aussi sur l'usage et son développement en Europe.





ANNEXE 1 2/4

2. PRODUCTION DE BIOÉTHANOL



L'usine Abengoa's Ecocarburantes Españoles à Cartagène, Espagne, produit 100 millions de litres de bioethanol

La production de bioéthanol par les moyens traditionnels ou Bioéthanol de 1ère génération se base sur les cultu-res d'amidon comme le Maïs ou le blé et des cultures de sucre comme la canne à sucre ou la betterave sucrière (cf. les photos de cultures page suivante).

Cependant les cultures de sucre alternatives comme le Sorgho sucrier ouvre de nouvelles possibilités en Europe, spécialement dans les régions les plus chaudes et sèches comme le Sud et l'Est de l'Europe. Le Sorgho sucrier nécessite moins d'eau et de nutriments et possè-de une concentration en sucres fermentescibles plus importante que la canne à sucre, ainsi qu'une période de croissance plus courte. Dans quelques régions, comme l'Afrique, cela se traduit par 2 récoltes annuelles pour la même culture. De plus, le développement de technologies basées sur la lignocellulose implique que non seulement les cultures riches en amidon et en sucre peuvent être utilisées mais également la biomasse à base de bois et les résidus forestiers. Ce développement est connu sous le nom de biocarburant de 2nd génération. Ce procédé est encore couteux en comparaison à la production traditionnelle de bioéthanol. Le bioéthanol, ou plutôt l'éthanol, vient lui même de la famille chimique des alcools et possède une structure C2H5OH. C'est un liquide incolore à forte odeur.

Selon la biomasse utilisée, les différentes phases de production de bioéthanol sont :

- Stockage 1.
- 2. Broyage de la canne et extraction du jus
- 3.
- Hydrolyse de l'amidon et de la biomasse ligneuse 4. 5.
- Fermentation avec des levures et enzymes
- 6. Stockage du CO2 et récupération de l'éthanol
- 7. Evaporation
- 8. Distillation
- Traitement des eaux usées 9. 10.
- Stockage du carburant

Canne à sucre

Aujourd'hui les procédés de mouture (couper la canne en morceaux réguliers) et le raffinage du sucre brut sont habituellement effectués ensemble sur le même site. Durant la mouture, la canne à sucre est lavée, coupée et tranchée par des couteaux pivotants. La canne tranchée (20-25cm) alimente un moulin combiné qui écrase et extrait le jus de la canne à sucre. Le jus est filtré et pasteurisé (traitement de chaleur afin de tuer les impuretés micro bactériennes). La bagasse, matière résiduelle de la canne, peut être brulées afin de produire de la chaleur et de la vapeur pour un circuit autoalimenté. La canne à sucre est filtrée pour rejeter la vinasse (le liquide non alcoolique noir/rouge non désiré). La vinasse est considérée un produit résiduel gênant et comme un risque environnemental du fait de sa viscosité et sa forte acidité. Les usages de la vinasse sont la combustion ou comme fertilisant riche en potasse.

Une fois la vinasse retirée, le sirop est ensuite évaporé



Südzucker Bioethanol, basé à Mannheim, Allemagne, pro-duit de l'E85 à partir de leur récente installation (Fév. 2006) à Zeitz qui coûte 200 millions d'Euros. Elle produit 260 millions de litres de bioethnaol par an à partir de ressource à haute valeur proteinique, principalement le blé.

et cristallisé par refroidissement. Cela crée des cristaux clairs et de la mélasse. La mélasse est séparée des cristaux par centrifugation. D'autres procédés de pasteurisation et de fermentation ont lieu avant distillation à un plus haut degré d'alcool. La fermentation prend normalement entre 4 et 12 heures.

Cultures Céréalières

Pour les cultures d'amidon (céréales) la procédure est similaire aux cultures sucrières mais un procédé d'hydrolyse est ajouté afin de casser les polymères en monomères qui peuvent être cassés en simples sucres de composition C6. Après la mouture des graines, l'amidon libéré est dilué dans l'eau afin d'ajuster le volume de sucre dans le mou. La mixture est cuite avec des levures et tout l'amidon soluble se dissout dans l'eau. A l'aide d'autres hydrolyses acides ou d'enzymes, l'amidon est converti en sucre. Le liquide fermenté et non raffiné connu sous le nom de " bière " est produit et suite aux différents stades d'évaporation et de distillation l'éthanol qualité combustible est produit.

ANNEXE 1 3/4

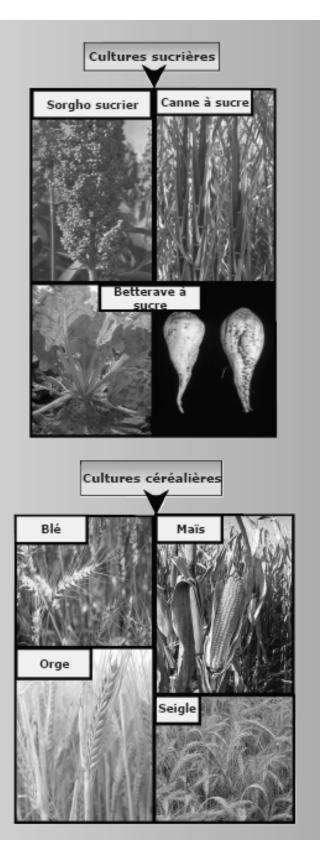
Bioéthanol ligno cellulosique

La différence dans les différentes phases du procédé entre la ressource en amidon et la lignocellulose est la phase d'hydrolyse plus compliquée, parce que la lignocellulose contient des polymères carbohydratés appelés cellulose. La cellulose est composée de longues chaines de glucose. Ainsi un lot d'enzymes plus complexe est requis. C'est pourquoi la production de bioéthanol à partir de lignocellulose requiert plus de technique et est donc plus coûteuse. La recherche tente actuellement d'améliorer les méthodes de prétraitement comme l'explosion à la vapeur d'ammoniac, procédés acides et enzymes de synthèse plus efficace. Les ressources les plus populaires pour le bioéthanol lignocellulosique sont les arbres à croissance rapide et les herbes comme l'eucalyptus, le chanvre et le miscanthus (cf. page suivante).

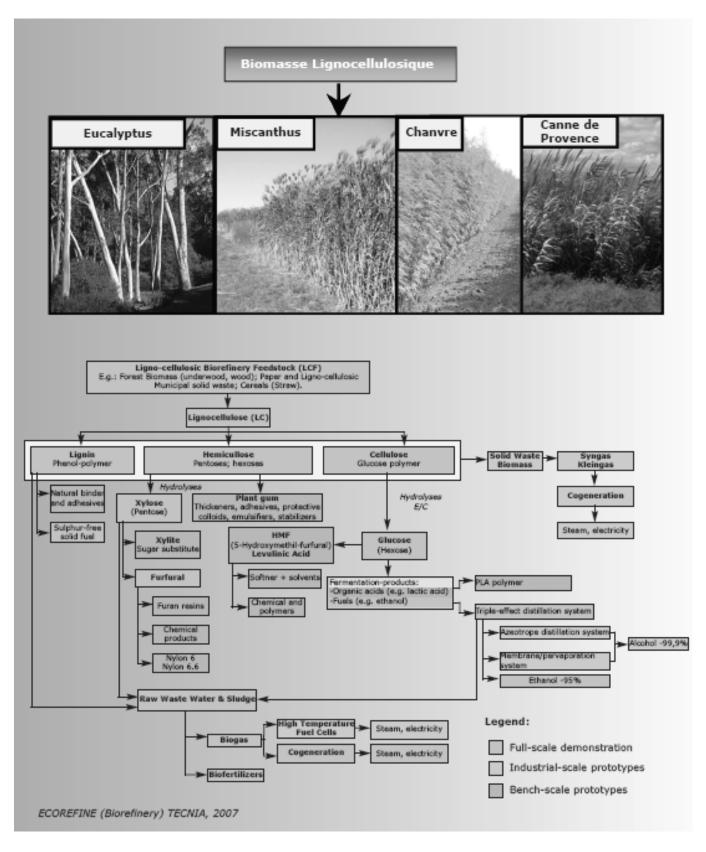
Un autre sujet de développement est la technologie de fractionnement afin d'utiliser d'autres biomasses plus variées comme les résidus de culture agricole et forestières et les déchets urbains. La structure chimique des résidus de cultures agricoles et forestières est très variable ce qui crée une complexité en plus comparé à l'homogénéité des culture d'amidon et de sucre.

Le concept de bio raffinerie est considéré comme une entreprise très prometteuse. Le diagramme sur la page suivante montre la complexité et le potentiel conséquent disponible d'un point de vue de la production. Le potentiel de production de coproduits et produits chimiques à partir de la production de bioéthanol a suscité un intérêt général.

Une production compétitive à grande échelle semble aujord'hui possible d'ici 8-12 ans. Beaucoup d'investissements vont dans l'étude enzymatique afin de casser le matériel cellulosique et le séparer de la lignine. Syngenta, une entreprise Suisse, a signé un contrat de 10 ans pour 16 millions de dollars avec une compagnie américaine, Diversa, pour la recherche et le développement d'enzymes pour la production de biocarburants (Bioenergy Busines, Feb. 2007).

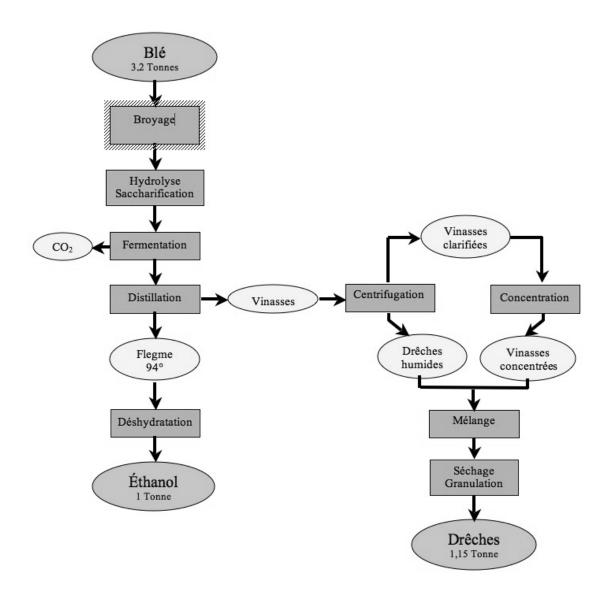


ANNEXE 1 4/4



ANNEXE 2

Diagramme du procédé de fabrication du bioéthanol à partir de blé selon le process de type A



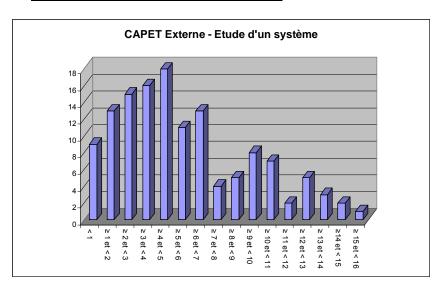
Rapport de l'étude d'un système, d'un procédé ou d'une organisation

Rapport établi par : Brigitte BLANC, Pierre BOUDIER, Sophie BOYS, Laurence CHAVANT, Catherine DOSDA, Odile DUSSERRE-BRESSON, Véronique FAUTREZ, Patricia FERRON-RICART, Gilles FREMY, Cyrille GESTIN, Geneviève GOUZERH, Michèle PLANEILLE RESTANY, Catherine POCHET, Bernadette ROMANET, Elisabeth SCHLICHTER, Jean-François TRUCCHI, Béatrice URING-LAMBERT, Françoise VINCENT

Résultats :

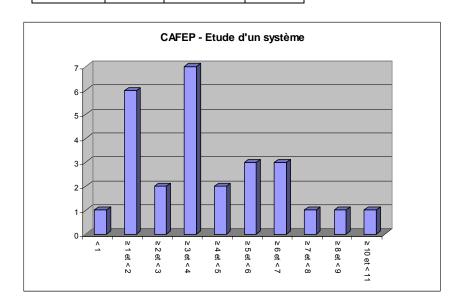
CAPET

< 1	9	\geq 6 et < 7	13	\geq 12 et < 13	5
≥ 1 et ≤ 2	13	\geq 7 et < 8	4	\geq 13 et < 14	3
≥ 2 et ≤ 3	15	$\geq 8 \text{ et} < 9$	5	≥14 et < 15	2
\geq 3 et < 4	16	\geq 9 et < 10	8	\geq 15 et < 16	1
\geq 4 et \leq 5	18	\geq 10 et < 11	7		
\geq 5 et < 6	11	$\geq 11 \text{ et} < 12$	2		



CAFEP

< 1	1	≥ 4 et < 5	2	≥ 8 et < 9	1
≥ 1 et < 2	6	≥ 5 et < 6	3	≥ 10 et < 11	1
≥ 2 et < 3	2	≥ 6 et < 7	3		
≥ 3 et < 4	7	≥ 7 et < 8	1		



Commentaires:

Cette nouvelle épreuve définie par l'arrêté du 28 décembre 2009 modifié le 26 avril 2010 a pour objectif de conduire une analyse critique de solutions technologiques et/ou d'établir le projet de protocoles dans un contexte défini, ici la production de bioéthanol.

La moyenne générale pour cette épreuve est de 5,29 / 20 avec :

6,67 /20 pour la forme rédactionnelle ;

5,71/20 pour la partie traitant production du bioéthanol;

2,54/20 pour l'optimisation des souches fermentaires ;

0,97/20 pour les dosages de l'éthanol.

Les résultats obtenus cette année montrent :

13,21 % de candidats ayant une moyenne supérieure ou égale à 10

8,80 % de candidats ayant une moyenne comprise entre 8 et 10

13,21 % de candidats ayant une moyenne comprise entre 6 et 8

21,38 % de candidats ayant une moyenne comprise entre 4 et 6

43,40 % de candidats ayant une moyenne inférieure à 4

Le jury souhaite rappeler que seuls doivent être intégrés dans le sujet les documents portant la mention « à rendre avec la copie ». Toute utilisation d'une autre partie sujet pourrait être assimilée à une levée d'anonymat de la copie.

Commentaires sur le travail effectué

Le jury a constaté que la plupart des candidats a fait un effort d'introduction construite annonçant la thématique et annonçant le plan du devoir. Cependant, dans un certains nombre de copies, celui-ci n'est ensuite pas suffisamment détaillé, ou pas suffisamment apparent ou incorrectement libellé.

La qualité de l'expression écrite est en général satisfaisante mais une amélioration de la conception et de la réalisation de schémas est nécessaire, afin d'évaluer les qualités pédagogiques des candidats pour présenter clairement des connaissances ou une synthèse, qualités indispensable à ce niveau de concours.

Cette nouvelle épreuve, basée sur l'étude de documents nécessite la mobilisation des connaissances technologiques qui se sont avérées nettement insuffisantes. Les candidats ne doivent pas paraphraser ou résumer les documents fournis qui ne sont qu'un support de la réflexion. Au contraire, chaque étape doit être analysée en justifiant son rôle dans les procédés et traitée sous l'angle technologique et industriel, en s'appuyant sur des connaissances scientifiques précises et une étude de faisabilité technique.

Exemples:

- le broyage n'a été que cité la plupart du temps alors que son rôle était attendu ;
- les hydrolyses enzymatiques sont connues mais insuffisamment approfondies sur le plan technologique ;
- la fermentation est souvent limitée à l'écriture de l'équation biochimique alors que les souches utilisées, leur origine, les paramètres de la fermentation devaient être détaillés ;
- la distillation a été mal, voire non traitée ;
- l'amélioration des souches a été abordée en général de manière peu précise voire superficielle, et manquant d'esprit critique ;
- les méthodes de dosage de l'éthanol ne sont, pour la plupart des candidats, pas connues voire fantaisistes.

Les conclusions manquent en général de perspectives.

Conclusion du jury

Le jury indique que la réussite de cette épreuve nécessite de solides connaissances technologiques qui seront réinvesties dans le contexte demandé par l'épreuve avec un esprit critique. Les documents support doivent faire l'objet d'une analyse orientée vers la problématique posée, cette analyse s'appuyant sur les connaissances scientifiques et technologiques du candidat, et donnant ensuite lieu à une synthèse claire.

EPREUVES PRATIQUES ET EPREUVES ORALES D'ADMISSION

LECON PORTANT SUR LES PROGRAMMES DES LYCEES ET DES CLASSES POST-BACCALAUREAT

EPREUVE SUR DOSSIER

LECON PORTANT SUR LES PROGRAMMES DES LYCEES ET DES CLASSES
POST-BACCALAUREAT Sujets 2011
Oujets 2011

SEQUENCE	Etude de la composition en glucides et vitamine C d'une boisson énergétique
SEANCE	Méthodes de dosage et de mise en évidence des glucides- Dosage de la vitamine C
OBJECTIF	Vérifier la composition en glucides et en vitamine C d'une boisson énergétique, annoncée sur l'étiquette.
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB
Manipulations proposées	Matière d'œuvre
Chromatographie sur couche mince des glucides (Protocole 1)	Boisson énergétique à étudier « BE » (2 mL en tube à hémolyse) Solutions de glucides témoins à 5g.L ⁻¹ (4 mL de chaque) : glucose «Glc», maltose «Mal», saccharose «Sac» et fructose «Fru»
Dosage du glucose par la méthode à la glucose oxydase (Protocole 2)	Boisson énergétique à étudier « BE » (2 mL en tube à hémolyse) Glucose pur et anhydre (en pilulier) «Réactif à la GOD» (en distributeur) 20 mL

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB Indications sur la prévention du risque chimique (**Annexe 1**)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Protocole de réalisation du dosage de la vitamine C par la méthode au 2,6-DCPIP et résultats (**Annexe 2**) Protocole de réalisation du dosage des glucides par la méthode à l'acide 3,5- DNS et résultats (**Annexe 3**)

Documents d'interprétation

Etiquette de la boisson énergétique (Annexe 4)

Acceptabilité des résultats expérimentaux et expression des résultats (Annexe 5)

A1/2011 page 1/8

Réalisation de la chromatographie sur couche mince

Protocole

- Préparer la « cuve à chromatographie » : verser un volume de solvant de migration permettant une migration par capillarité. Laisser saturer.
- Placer la plaque de chromatographie pendant au moins 30 minutes à l'étuve à 105°C.
- Réaliser les dépôts des solutions de glucides témoins et de la boisson étudiée : effectuer trois dépôts successifs en séchant au thermoventilateur entre chaque.
- Mettre la plaque dans la cuve. Laisser migrer (durée de migration voisine de 40 minutes).
- Après séchage, révéler par application du réactif de révélation. Placer la plaque à l'étuve à 105°C jusqu'à apparition des taches.

Matière d'oeuvre

Réactifs

- Sous la hotte, préparer une cuve à chromatographie (compter 15 minutes pour la saturation de l'atmosphère de la cuve).

Composition du solvant de migration : 1-butanol, acétone, eau distillée (4v, 5v, 1v)

- Sous la hotte, réactif de révélation et un pinceau pour application

Composition du réactif de révélation : 1-naphtol, éthanol, acide sulfurique concentré

Matériel

- « Cuve à chromatographie » : pot en verre avec couvercle
- 1 plaque de chromatographie : couche mince de gel de silice sur support aluminium
- Bécher de 500 mL
- Capillaires pour faire les dépôts
- Thermoventilateur
- Etuve à 105°C

A1/2011 page 2/8

Réalisation du dosage par la méthode à la GOD

Protocole

Le glucose est dosé en utilisant une séquence de 2 réactions enzymatiques permettant d'obtenir un produit coloré, la quinonéimine, dont l'absorbance est mesurée.

1) Étalonnage du spectrophotomètre

- A partir d'une pesée de glucose pur et anhydre, réaliser une gamme adéquate de 4 ou 5 solutions étalons.
- Introduire dans une microcuve :

 $10~\mu L$ de solution étalon

- 1 mL de réactif à la GOD
- Homogénéiser et attendre 20 minutes à température ambiante.
- Lire l'absorbance à 505 nm contre un blanc.

2) Dosage (2 essais)

Effectuer la réaction de coloration, sur la boisson énergétique, dans les mêmes conditions que pour la gamme d'étalonnage.

Données

Limite de détection analytique $\leq 0.013 \text{ g.L}^{-1}$

Limite de linéarité 4,00 g.L

Stabilité de la coloration : 1 heure à 20-25°C Masse molaire du glucose $M_{glucose} = 180 g.mol^{-1}$

Composants du réactif à la GOD :

tampon phosphate pH6,6	225 mmol.L ⁻¹
amino-4-antipyrine	0,3 mmol.L ⁻¹
phénol	8,5 mmol.L ⁻¹
EDTA	5 mmol.L ⁻¹
Péroxydase	\geq 300 U.L ⁻¹
Glucose oxydase	$\geq 10~000~\rm U.L^{-1}$

Ecart-type de répétabilité $s_r = 0.018 \text{ g.L}^{-1}$

Matériel

- Tubes à hémolyse avec support
- 1 fiole jaugée de 100 mL
- 1 bâton agitateur en verre
- 3 béchers 100 mL
- 1 coupelle de pesée
- Microcuves de spectrophotomètre + support
- 1 pipette automatique P20, P1000 + cônes
- Papier filtre et Joseph, film étirable
- 1 pissette d'eau distillée
- 1 compte-goutte en plastique
- Papier millimétré
- Chronomètre
- Balance de précision (pesée précise à partir de 0,1g)
- Spectrophotomètre
- Ordinateur avec logiciel permettant l'exploitation des résultats

Annexe 1 Indications sur la prévention du risque chimique

Produits non dilués	Pictogrammes	Mentions d'avertissement	Mentions de danger	Conseils de prudence
1 naphtol		Danger	H312 H302 H335 H315 H318	P280 P302+P352 P304+P340 P305+P351+P338 P309+P310
Acétone		Danger	H225 H319 H336	P210 P280 P305+P351+P338
Acide 3,5 dinitro- salicylique	!	Attention	H302	P301+P312
Acide méta- phosphorique		Danger	H314	P280 P301+P330+P331 P305+P351+P338 P309+P310
Acide sulfurique concentré		Danger	H314	P280 P301+P330+P331 P305+P351+P338 P309+P310
Butanol		Danger	H226 H302 H335 H315 H318 H336	P210 P243 P280 P302+P352 P304+P340 P305+P351+P338 P309+P310
Lessive de soude		Danger	H314	P280 P301+P330+P331 P305+P351+P338 P309+P310

A1/2011 page 4/8

Dosage de la vitamine C par méthode au 2,6-dichlorophénolindophénol

Protocole

- 1) Etalonnage de la solution de 2,6-DCPIP
- Dans une fiole d' Erlenmeyer, introduire : 20 mL d'eau distillée bouillie et refroidie 5 mL de solution étalon de vitamine C
- Verser à la burette la solution de 2,6-DCPIP jusqu'à une coloration rose stable au moins 30 secondes.
- 2) Dosage de la vitamine C dans la boisson énergétique (2 essais)
- Dans une fiole d'Erlenmeyer, introduire : 15 mL d'eau distillée bouillie et refroidie 10 mL de boisson énergétique
- Doser par la solution de 2,6-DCPIP comme ci-dessus.

Réactifs

- solution étalon de vitamine C à 1,25 mmol.L⁻¹dans l'acide métaphosphorique à 20g.L⁻¹
- eau distillée bouillie refroidie
- 2,6-dichlorophénolindophénol (= 2-6 DCPIP) à environ 0,5 mmol.L⁻¹

Données

- Une mole de vitamine C réagit avec une mole de DCPIP
- Le 2,6-DCIP est bleu à pH > 7 et rose à pH < 7, le dérivé réduit est incolore.
- Masse molaire de la vitamine C : $M_{vitc} = 176,13 \text{ g.mol}^{-1}$
- Ecart-type de répétabilité : $s_r = 0.0015 \text{ g.L}^{-1}$
- Acide métaphosphorique à 20 g.L⁻¹

Résultats

Volume de 2,6-DCPIP versé pour l'étalonnage = 11,2 mL

Volumes de 2,6-DCPIP versé pour le dosage = 6,90 mL (essai 1) 7,00 mL (essai 2)

A1/2011 page 5/8

Dosage des glucides par la méthode à l'acide 3,5-dinitrosalicylique

Protocole

1) Gamme d'étalonnage

- Dans une série de tubes à essai, introduire de 0,18 à 0,90 mg de glucose par tube à partir d'une solution étalon de glucose à 0,9 g.L⁻¹.
- Ajuster chaque tube à 1 mL avec de l'eau distillée.
- Ajouter 1 mL de réactif au 3,5 DNS.
- Boucher les tubes et homogénéiser.
- Porter les tubes au bain-marie bouillant 5 minutes exactement.
- Refroidir dans un bain d'eau froide.
- Ajouter 4 mL d'eau distillée.
- Après refroidissement, lire les absorbances à 530 nm contre un témoin réactif.

2) Dosage de la boisson énergétique diluée au 1/50 (2 essais)

Opérer dans les mêmes conditions que pour la gamme sur des prises d'essai de 1 mL de boisson diluée.

3) Contrôle

Opérer dans les mêmes conditions que pour la gamme sur une prise d'essai de 1 mL de solution contrôle.

Réactifs

- Solution étalon de glucose à 0,9 g.L⁻¹
- Echantillon de boisson énergétique «BE» diluée au 1/50
- Solution «contrôle» à 0,60 g .L⁻¹
- Réactif au 3,5 DNS:

acide 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoïque

lessive de soude

tartrate double de sodium et potassium

Données

- Les maltodextrines de la boisson, étant de longue taille, sont considérées comme non réductrices.
- Les glucides de la boisson ont le même pouvoir réducteur.
- Contrôle à 0,60 g.L⁻¹ (intervalle de validation 0,564 à 0,636 g.L⁻¹)
- $-s_r = 0.61 \text{ g.L}^{-1}$

Résultats

Tube	TR	1	2	3	4	5	Boisson diluée au 1/50		Contrôle
Masse de glucides réducteurs (mg par tube)	0	0,18	0,36	0,54	0,72	0,9	0,4047	0,4116	0,5969
Absorbance à 530 nm	0	0,251	0,564	0,891	1,136	1,436	0,640	0,651	0,950

- Tracé de la courbe d'étalonnage : écart relatif de 2 % et un coefficient de corrélation à 0,999

A1/2011 page 6/8

Les boissons énergétiques

Les sportifs utilisent de plus en plus des barres énergétiques ou des boissons énergétiques spécialement adaptées pour eux lors des efforts prolongés comme des courses cyclistes ou des marathons.

Les boissons énergétiques sont mises au point en laboratoire par des spécialistes en nutrition sportive. Leur composition en glucides, minéraux et vitamines est adaptée à la demande du sportif.

Leur composition est ensuite soumise à un laboratoire de contrôle qualité. Dans ce sujet, nous nous intéresserons plus particulièrement à une de ces boissons. Cette boisson énergétique est spécialement adaptée aux efforts de très longue durée nécessitant un apport énergétique maximum tout au long de l'effort.

Sa formule est une association entre autres de maltodextrines à assimilation lente et de fructose, apportant une diffusion énergétique constante tout au long de l'effort, et une réponse aux besoins hydriques, en vitamines et minéraux pendant les épreuves de grande endurance.

Le laboratoire de contrôle de la qualité des aliments doit analyser les différents composants de cette boisson énergétique.

L'étiquette de la boisson énergétique étudiée donne les indications suivantes pour 100 g de poudre.

Valeur énergétique	367 kcal (1559 kJ)		
Protéines	traces		
Glucides	91,6 g		
dont maltodextrines	70,98 g		
sucres dont fructose	5 g		
glucose	0,5 g		
Lipides:	traces		
dont acides gras saturés	traces		
Vitamine C	30 mg		
Vitamine B1	0,7 mg		
Vitamine B2	0,8 mg		
Vitamine B6	1 mg		
Potassium	190 mg		
Magnésium	30 mg		
Sodium	738 mg		

Liste des ingrédients

Maltodextrines, sirop de glucose, fructose, correcteurs d'acidité : citrate trisodique (E331) - citrate tripotassique (E332), arôme, sel, vitamines : C - B6 - B1 -B2, minéraux : oxyde de magnésium. Produit fabriqué dans un atelier qui utilise : céréales contenant du gluten, oeuf, lait, soja, fruits à coques, fruits secs, céleri, sulfites, lupin.

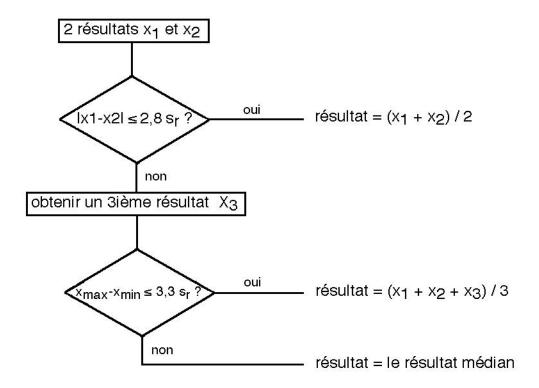
Conseil d'utilisation

En ration énergétique de préparation à l'effort, à consommer au repos : 100 g de poudre qsp 500 mL d'eau fraîche.

A1/2011 page 7/8

Acceptabilité et expression des résultats expérimentaux

Logigramme



Expression du résultat

Le dernier chiffre significatif du résultat sera à la même position décimale que le dernier chiffre significatif de l'écart type de répétabilité.

A1/2011 page 8/8

Etude chieuque des enzymes			
Les enzymes immobilisées Montrer l'influence de la température sur l'activité des enzymes immobilisées			
Matière d'œuvre			
Solution de phosphatase alcaline (PAL) Solution de chlorure de calcium à 150 mmol.L ⁻¹ Alginate de sodium à 0,75% (m/v)			
Solution de phosphatase alcaline (PAL) Solution de pNPP à 40 mmol.L ⁻¹ Tampon DEA			
Solution de phosphatase alcaline (PAL) Solution de pNPP à 40 mmol.L ⁻¹ Tampon DEA			

Étude cinétique des enzymes

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB Indications sur la prévention du risque chimique (**Annexe 1**)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Mesure de l'activité de l'enzyme immobilisée par une méthode cinétique par prélèvements (Annexe 2) Mesure de la température optimale de l'enzyme immobilisée (Annexe 3)

Mesure du coefficient d'absorbance moléculaire du pNP selon deux pH différents (Annexe 4)

Documents d'interprétation

Acceptabilité et expression des résultats (Annexe 5)

A2/2011 page 1/7

Immobilisation de la PAL par inclusion dans des billes d'alginate

- Verser environ 25 mL de solution de CaCl₂ à 0,5 % (m/v) dans un bécher.
- Placer le bécher dans la glace.
- Dans un tube à hémolyse jetable, prélever 2 mL d'alginate à 0,75 % (m/v) et préincuber dans la glace.
- Ajouter 500 µL de solution PAL.
- Vortexer.
- Centrifuger 2 minutes à 5000 rpm pour dégazer la solution.
- Aspirer la totalité du mélange alginate-enzyme dans une Paspette® (pipette compte-gouttes souple), sans aspirer d'air.
- Laisser tomber les billes gouttes à gouttes dans la solution de CaCl₂.
- Une fois toutes les billes devenues opaques, les récupérer en plaçant un "filtre de nylon" sur le haut du bécher, le fixer avec un élastique, et éliminer la solution de CaCl₂ par retournement audessus de l'évier.
- Rincer les billes avec de l'eau distillée, puis les laisser sécher sur un papier filtre légèrement humidifié dans une boîte de Pétri, maintenue dans la glace.
- Compter les billes.

Réactifs

- 1,1 mL de solution de phosphatase alcaline (PAL)
- 30 mL de solution de chlorure de calcium à 150 mmol.L⁻¹
- 5 mL d'alginate de sodium à 0,75% (m/v)

Matériel

- Pipette automatique P 1000 et cônes adaptés
- Papier filtre
- 1 bac à glace
- 1 tube à hémolyse jetable + portoir
- 1 vortex
- 1 paspette®
- 1 bécher de 50 mL
- 1 boîte de Pétri
- Filtre en nylon + élastique
- Centrifugeuse pour tubes à hémolyse

A2/2011 page 2/7

Détermination de l'activité par une méthode cinétique en continu de la solution de PAL à 37°C

- Mesurer l'activité de l'enzyme soluble par une méthode cinétique en continu, en cuve thermostatée à 37°C, contre un témoin adapté.
- Mesurer l'absorbance à 405 nm pendant 4 minutes, toutes les 20 secondes.
- Préincuber le substrat et le tampon à la température de travail 5 minutes.

Composition du milieu réactionnel

- 0.5 mL de tampon DEA
- 0.5 mL de solution de pNPP à 40 mmol.L⁻¹
- 10 µL de solution de PAL

Réaliser un essai

Données

Coefficient d'absorbance moléculaire du pNP = 18 000 L.mol⁻¹.cm⁻¹ à 405 nm dans les conditions utilisées.

Réactifs

- 25 µL de solution de phosphatase alcaline (PAL)
- 1.2 mL de solution de pNPP à 40 mmol.L⁻¹
- 1,2 mL de tampon DEA

Matériel

- Pipette automatique P 1000 et cônes adaptés
- Pipette automatique P 20 et cônes adaptés
- 3 semi microcuves + portoir
- Parafilm
- Papier Joseph
- Papier filtre
- 1 bac à glace
- 1 vortex
- 3 tubes à hémolyses en verre
- Spectrophotomètre visible thermostaté à 37°C
- Bain thermostaté à 37°C

A2/2011 page 3/7

Détermination de l'activité par une méthode deux points de la solution de PAL à 55°C

- Mesurer l'activité de l'enzyme soluble par une méthode 2 points, à 55 °C, entre les temps 0 et 2 minutes.
- Réaliser un témoin en parallèle.
- Mesurer l'absorbance à 405 nm.
- Préincuber le substrat et le tampon à la température de travail pendant 5 minutes.

Composition du milieu réactionnel

- 0,5 mL de tampon DEA
- 0,5 mL de solution de pNPP à 40 mmol.L⁻¹
- 10 µL de solution de PAL

Après 2 minutes à 55°C arrêter la réaction par ajout de la solution de 0,5 mL de NaOH à 2 mol.L⁻¹.

Réaliser trois essais

Données

Coefficient d'absorbance moléculaire du pNP = 18 500 L.mol⁻¹.cm⁻¹ à 405 nm dans les conditions utilisées.

CV de répétabilité = 3%; uc = 0.04 U.mL⁻¹

Unité d'enzyme (U) : quantité d'enzyme qui hydrolyse une micromole de substrat en une minute.

Réactifs

- 75 µL de solution de phosphatase alcaline (PAL)
- 3 mL de solution de pNPP à 40 mmol.L⁻¹
- 3 mL de tampon DEA

Matériel

- Pipette automatique P 1000 et cônes adaptés
- Pipette automatique P 20 et cônes adaptés
- 5 semi microcuves + portoir
- Parafilm
- Papier Joseph
- Papier filtre
- 1 bac à glace
- 5 tubes à hémolyse en verre + portoir
- 1 chronomètre
- 1 vortex
- Spectrophotomètre visible non thermostaté
- Bain thermostaté à 55°C

A2/2011 page 4/7

Annexe 1

<u>Indications sur la prévention du risque chimique</u>

Produits non dilués	Pictogrammes	Mentions d'avertissement	Mentions de danger	Conseils de prudence
DEA		Danger	H302 H315 H318 H335	P261 P280 P305+P351+P338
Lessive de soude		Danger	H314	P280 P301+P330+P331 P305+P351+P338 P309+P310
pNP et pNPP		Danger	H315 H318 H378	P280 P305+P351+P338

A2/2011 page 5/7

<u>Détermination de l'activité de l'enzyme immobilisée</u> <u>Méthode cinétique par prélèvements</u>

- Dans un tube à hémolyse en verre, verser 2 mL de tampon DEA et 2 mL de solution de pNPP à 40 mmol.L⁻¹.
- Incuber 5 minutes à 37 °C.
- Déclencher la réaction en ajoutant 5 billes.
- Homogénéiser souvent le mélange, en vortexant légèrement.
- Faire un prélèvement de 1 mL de phase liquide, toutes les 5 minutes, pendant 25 minutes, dans une semi microcuve de 1 mL.
- Lire l'absorbance à 405 nm, contre un témoin adapté.
- Reverser immédiatement la totalité du prélèvement après la lecture (le volume du bioréacteur utilisé doit rester constant).

Annexe 3

Détermination de la température optimale de l'enzyme immobilisée

Il s'agit de mesurer la vitesse initiale de la réaction, dans chaque tube, pour des températures différentes : 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C et 70 °C.

Pour chaque température :

- Préparer 1 tube à hémolyse en verre, contenant 2 mL de pNPP à 40 mmol.L⁻¹ et 2 mL de tampon DEA.
- Incuber 2 minutes à la température correspondante.
- Déclencher la réaction dans chaque tube par ajout de 5 billes.
- Prélever 1 mL de surnageant au bout de 7 minutes exactement (tout en homogénéisant souvent).
- Relever l'absorbance à 405 nm, contre un témoin adapté.

Données

Coefficient d'absorbance moléculaire du pNP = 18 000 L.mol⁻¹.cm⁻¹ à 405 nm dans les conditions utilisées.

T optimale théorique (PAL soluble) = 37 °C

Résultats expérimentaux :

Température (°C)	20	30	40	50	60	70
Absorbance à 405 nm	0,027	0,098	0,181	0,351	0,199	0,088
$V_i (\mu \text{mol.min}^{-1}.\text{mL}^{-1})$	$2,14.10^2$	$7,78.10^2$	$1,44.10^3$	$2,79.10^3$	$1,58.10^3$	$6,98.10^2$

$$Vi = \frac{dA}{dt} \times \frac{1}{\varepsilon l \times 10^6} \times 10^{-3}$$

 V_i : vitesse initiale t: temps

A : absorbance ε : coefficient d'absorbance moléculaire du pNP

A2/2011 page 6/7

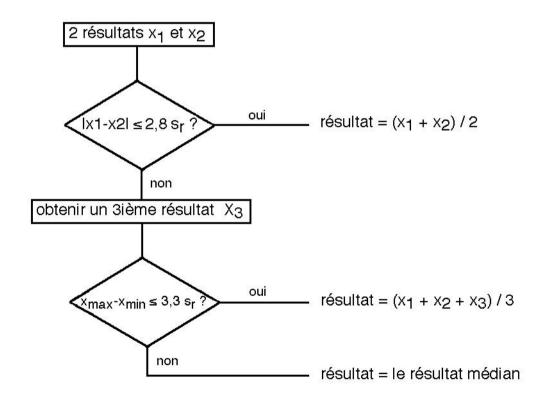
<u>Détermination du coefficient d'absorbance moléculaire du pNP selon deux pH différents</u>

A partir d'une solution de pNP à 5 mmol. L^{-1} solubilisé en eau distillée, préparer une gamme de 6 microcuves allant de 0 à 50 μ mol. L^{-1} , sous un volume total de 1 mL, en utilisant NaOH à 0,5 mol. L^{-1} comme diluant. Lire les absorbances à 405 nm.

A partir de la solution de pNP à 5 mmol.L⁻¹ solubilisé en tampon DEA, préparer une gamme de 6 microcuves allant de 0 à 50 µmol.L⁻¹, sous un volume total de 1 mL, en utilisant le tampon DEA comme diluant. Lire les absorbances à 405 nm.

Annexe 5

<u>Acceptabilité et expression des résultats expérimentaux</u>



- $sr = CV \times Cmax$
- Le dernier chiffre significatif du résultat est à la même position décimale que le dernier chiffre significatif de sr.

A2/2011 page 7/7

SEQUENCE	Biochimie clinique : réalisation d'analyses constitutives d'un bilan sanguin	
SEANCE	Recherche du glucose dans une urine et dosage de la glycémie dans le cadre d'une présomption de diabète	
OBJECTIF	Construire une approche transversale de l'équilibre glycémique et montrer l'apport du dosage du glucose dans le cadre d'une découverte de diabète	
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB	
Manipulations proposées	Matière d'œuvre	
Recherche de glucose dans les urines (Protocole 1)	Flacon contenant des urines du patient A Chronomètre Bandelette	
Dosage du glucose par méthode à la glucose oxydase à l'aide du kit Glucose RTU (Protocole 2)	Réactif à la glucose oxydase (GOD) Sérum du patient A en microtubes Sérum du patient B en microtubes prélevé aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes	
Etalonnage du spectrophotomètre pour la méthode à la glucose oxydase (Protocole 3)	Glucose pur et anhydre (M _{Glucose} = 180 g.mol ⁻¹)	

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Courbe d'étalonnage du spectrophotomètre (Annexe 1)

Résultats d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) chez le patient B (**Annexe 2**)

Extrait d'un bilan sanguin (Annexe 3)

Documents d'interprétation

Valeurs de référence de la glycémie et de la glycosurie (Pages 3 à 5)

Résultats d'interprétation de l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (Annexe 4)

02/2011 page 1/10

Protocole 1



Bandelettes Test qualitatif de détection du glucose dans l'urine réactives Clinistix® pour l'analyse de ('urine

peut vous avertir, vous et voire médech, de Accessité d'une melleure adaptation de vo-traitement ou de votre régime alimentaire. Respe-sorgneusement les horaires de tests adqués votre médecin. Les résultats seront d'autent ; utiles que les tests sont pratiqués régulièrement. d'un support plastique portant à son extrémité une zone réactive spécifique. Intempéte dans l'urina, celle-oi prend une coloration proportionnelle à la quantité de sucre trouvée. Une utilisation régulière de CLIMISTIX peut vous avertir, vous et votre mediach, de la récessité d'une meilleure adaptation ce votre La bandelette CLINISTIX** constitue un moyan sim et rapide de recherche du glucose dans l'unive par DESCRIPTION ET RECOMMANDATIONS D'USAGE diabetiques oux-mêmes. e dans furiwe par les Elle est ponstituée Respectes

RECUELL DE L'URINE: Vous pouvez soit receillir l'urine dans un récipient propre et sec, soit passer la bandeitte réactive dans le jet d'urine. Effectuez le test dans l'heure qui suit, sinon couvrez l'échartillon et mottraz-le au fais. Vous deviez alors attendre qu'il soit revenu à température ambiante avant de procédes au

Attention une exposition prolongée de l'urine à température ambiante peut entraîner une contamina-tion microbienne et une consommation du glucose par des bactéries.

CONSERVATION ET PRECAUTIONS D'EMPLOI: La bandelette réactive doit être conservée dans son

Etape 3

flacon d'origine, hermétiquement ferme

réactives la date à laquelle it est ouvri première fois. Les handeattes doivent êt dans les 6 mois suivant la date di ouverture, N'utilisez pas le produit (ouvr après la date de péremption 2 Notez sur l'étiquette du noon nent être utilisées late de première it (ouvert ou non) de DUVERT wert pour la

Le transfert des bandelettes dans un autre récip peut entraîner une détérioration du réactif, qui réagina plus correctement n autre récipient réactif, qui na

. Protégez le filiacon de la lumière du jour. ambiants entre 15 et 30 °C (59 et 86 °F).

Ne retirez pas le dessicant du flacon ; ne l'ouvrez pas dans une zone particul éroment humide ou citaude, comme une saile de bans

Sortez une bandelette réactive à la immédiatement le fiacon en veilla bien hermétique. veillant & fors et rebouchez int à ce qu'il soit

Suivez les instructions attentivement

 Ne touchez pas les la partie réactive de la bandelette et évitez le contact d'objets sales. realisation du test. HORS de W

compte des

flacon. We tenez

des couleurs figu

compte des changements éventuels se praduisant a

an-dedi

coloration di des 10

ap

TEBCOVES

sont à usage unique. exclusivement. Ne pas availer. ntegralité avant de procéder au test diagnostique CLINISTIX שא שיווע

Etape 1 Matériaux nécessaires vous scrupuleusement aux consignes. * Un récipient propre et sec Une bandelette réactive Clinistix*
 Un chronomètre ou une mon compteries secondes) une montre (capable

문

Etape 2 Requellez un échantillon d'urine fraiche dans un récipient propre et sic (vous pouvez également passer l'extrémité de tiest de la bandelette dans un jet d'urire). Sortez une bandelette du figon et rebouchez-le immédiatement. Examirez la bandelette magée et que la pour your assurer qu'elle n'est pas endomzone Bactive n'est

Plongez brièvement la totaité de l'extrémité réactive dans l'unne afin de re pas dissoudre les réactifs et égouttez la bandelette sur le passar l'extrémité bord du récipient assombrie, ni decoloree réactive sous le jet d'urine (Nous found show)



Etape 4. Pressez l'extrémi bond du récipient LISEZ H pour en enever l'excès de la bandelette contre

Etape 5.

mparant la zone test à l'echelle s couleurs figurant précisé-lumière, an

ment, à la lumier

test au bout de

comparant is

partir de l'échelle des oculeurs : ils pauwert être négatifs ou présenter divers degrés de positives indiquant la quantité relative de glucose présente. Les blocs de couleur sont désignés comme négatif clair, moyen et foncé. ourine. La locture des résultats qualitatifs s'effectue à partir de l'échelle des oculeurs : ils peuvent être quantité relative de glubbse (sucre) présente dans raduire une anomaire sommers. La couleur de la zone LECTURE DES RESULTATS: La couleur de la zone est l'imprégnation est éliquette du flacon. Les blocs de couleur rens secretari normalement une toute potite de glucose. De légères réactions colorées esultats négatifs pour l'échelle Purine normale. CLINISTIX figurant bien que TOURTH Sur

IMITES DE LA METHODE

Les

substances ile de l'urine, des colorants

% d'orthotolidine : 64,0 %

en poids de tampon

zolques (par example Pyridum, Gantrisin, nitrofurantoine (Macrodantin, Furadar

Furadantin) et

Gantanol

mme les médicaments contenant des

SI LES RÉSULTATS DU TEST SEMBLENT DOUTEUX :

1. Vérifiez que la date de péremption du flacon non ouvert indiquée sur l'étiquette du flacon n'est pas passée et que le produit n'a pas été utilisé plus de 6 mois après la première ouverture du flacon.

Répétez le test sur l'échantillon avec une bandelette réactive provenant d'un nouveau fiacon.

Demandez 1833 Demandez consel à votre r pharmacien sur les techniques votre medecin A ū resultats 8

ni assombris, détérioration. 20ne e reactive n'est indiquer décolorée

Les résultats obtenus avec les bandelettes réactives CLINISTIX ne doivent jamais servir de seule base à l'ajustement des doses d'instribre. Consultez votre médecire ou un professionnel de senté avent de prendre une décision d'agnossique ou thérapeutique sur la base des résultats obtenus avec CLINISTIX.

violet au bleu du peroxyde d'hydrogene avec re carunnya orthofolidine pour produire une coloration allant seconde enzyme, la peroxydase, catalyse la réaction -850da PRINCIPES CHIMIQUES D'8 TEST : Le principe du test peroxyde d'hydrogène par oxydation du glucose. formation Une enzyme, double d'acide la glucose-oxydase, de gluconique et de enzymanque сплотоделя Une di. 8

(0,4 U.I.): 0,4 % en poids de pe 8 peroxydase 8 glucose coydase lydase (900 U.I.) à moment 90

identer's of Bayer

Bayer HealthCare

Distribué par : / Distribuleur Distribution

1000

BENISE !

Bayer Phanna Diabetes Care 13 non-Jean-Jaurics Scenor Purity Autor Ostofia When Especia Diabeter 10 400 34 22 https://doi.org/10.000/14.22 Bryer s.a.-e.v. Dictories Care Average Laures B - 1000 Bryan Tel. 0800307.252

Dispersion of the country of the cou

9 SPECIFICITE OU TEST: Le taut est spécifique au glucose; les substances excrétées dans l'urine, autres ne que le glucose, ne donnent pas, à notre connaissance, si de résultaits posités. Les autres sucres réducteurs : 6 lactose, galactices, fractisse et certains métabolites de médicaments (salicylates, par exemple) ne donnert le aucune réaction avec CLINISTIX. Ce test peut être BIBLIOGRAPHIE:

1. Adams, E. C., Burkhart, E. and Free, A. H.: Specificity glucose coldage test for urine glucose. Science 125, I irovée dans l'urine est du giucose. Il est possible de détacter environ 0,1 % de giucose. La réactivée est influencies par la densité, la température et le pH de Des concentrations élevées d'acide ascorbique (vita mine C) réduisent la sensibilité du test. nboffavine, peuvent affecter la lisibilité de la zone feactive au glucose des bandelettes pour l'analyse de furne. Ces colorants peuvent masquer l'appartion to nistans Hoffman-La Roche Inc. guidates de communica 1083, 1957. comme une réaction faussement positive. provoquer une coloration pouvant être interprétée formale d'une coloration sur le tampon réactif ou BUILD ndium est une marque de pour déterminer si la substance réductrice 8000

Kark, R. M., Lawence, J. R., Muetroke, R. C. and Sha, H., ed., New York, Harper and Row, Fine, A. H., Adams, E. C., Kercher, M. Cook, M. H.: Simple specific test for chem. 3, 163-168, 1957. aux.n urate glucose, 3 % Plrant, C. H. M.

des 000 malques de de Warner do commence de Childon

Samble Pharmagydicals Puerto A Pharmaceutical Corporation adardin est une marque de commerce g 8 First Proditir Horizon

Bayer Consumer Care AG Postfach 4002 Basel, Switzerland

02/2011 page 2/10

1082-

CAN

2ng

Protocole 2

REF 61 269 / 61 270

07987 I - fr - 2010/07 🖪

Glucose RTU™

IVD

Dosage enzymatique du glucose dans urines, sérum et plasma humains.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1)

Le glucose constitue la principale source énergétique des cellules (glycolyse). Il est apporté par l'alimentation sous forme de polysaccharides (amidon, glycogène exogène) ou de disaccharides (saccharose, lactose, maltose). Ceux-ci sont hydrolysés au cours de la digestion en monosaccharides, dont le glucose.

Au niveau du foie et des muscles, le glucose est partiellement transformé en glycogène, polymère de stockage. En cas de besoins énergétiques accrus, il y a glycogénolyse et / ou biosynthèse de glucose (néoglucogénèse au niveau du foie).

L'homéostasie glycémique assure un apport énergétique permanent aux cellules. La régulation de la glycémie est complexe et fait intervenir des enzymes hépatiques régulatrices et des hormones (insuline, hormones thyroïdiennes, glucagon...) qui assurent une adaptation rapide.

La régulation de la glycémie est en relation avec celle d'autres métabolismes dont celui des protéines et celui des acides gras.

En conditions physiologiques normales, le glucose n'est pas excrété dans les urines.

En dehors du dépistage et de la surveillance des états diabétiques, le dosage du glucose est réalisé lors d'affections pancréatiques, métaboliques ou endocriniennes. La fièvre et la dénutrition protéique entraînent également une baisse de la glycémie.

PRINCIPE

Le glucose est dosé en utilisant la séquence glucose oxydase – peroxydase – chromogène :

glucose oxydase

Glucose + O₂ \longrightarrow acide gluconique + H₂O₂

L'eau oxygénée formée est dosée selon la réaction de TRINDER (2).

$$2H_2O_2$$
 + phenol + amino-4 $\xrightarrow{\hspace*{1cm}}$ peroxydase $\xrightarrow{\hspace*{1cm}}$ quinonéimine $+$ 4 H_2O

L'intensité de la coloration (quinonéimine), mesurée à 505 nm, est proportionnelle à la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

Code SFBC: H7

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET

(Réf. 61 269 : 400 tests - Réf. 61 270 : 1000 tests)

Glucose RTU™ - Réf. 61 269 : 4 x 100 ml (liquide)	Tampon phosphate pH 6,6 Amino-4-antipyrine	225 mmol/l 0,3 mmol/l
- Réf. 61 270 : 4 x 250 ml (liquide)	Phénol EDTA	8,5 mmol/l 5 mmol/l
	Peroxydase	≥ 300 U/I
	Glucose oxydase	≥ 10 000 U/I
1 notice		

REACTIF ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactif

Calimat (Réf. 62 321).

Matériel

Equipement général de laboratoire.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic in vitro uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret à 2-8°C.
- Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'il est conservé dans les conditions préconisées.
- Ne pas congeler le réactif.
- Réactif sensible à la congélation, éviter le contact avec les parois réfrigérantes.

ECHANTILLONS

Nature des échantillons (3, 4)

 Sérum ou plasma recueilli sur anticoagulant + antiglycolytique : EDTA + fluorure de sodium ou héparinate de lithium + fluorure de sodium.
 Conserver de préférence dans la glace jusqu'au moment de la centrifugation puis centrifuger à 1000 x q

Conserver de preference dans la glace jusqu'au moment de la centrifugation puis centrifuger à 1000 x g minimum pendant 10 minutes dans les meilleurs délais (1 heure au maximum après le prélèvement) pour limiter la glycolyse.

Utiliser de préférence le plasma.

 Urines de 24 heures pures ou diluées, si nécessaire, dans l'eau déminéralisée.

Stabilité du sérum et du plasma (3, 4, 5, 6)

- 48 heures à 18-25°C si séparé des hématies, des globules blancs et des plaquettes.
- 4 jours à 2-8°C si séparé des hématies, des globules blancs et des plaquettes.
- 3 mois à -25 ± 6°C.

Stabilité des urines (7)

Conserver les urines de 24 heures en flacon opaque et à 2-8 °C. Analyser sans délai.

bioMérieux SA Français - 1

02/2011 page 3/10

Glucose RTU™ 07987 I - fr - 2010/07

Interférences

Il n'a pas été observé, pour ce dosage, d'influence significative :

- de l'hémolyse, après surcharge d'échantillons en hémoglobine, jusqu'à 210 µmol/l de monomère,
- des triglycérides jusqu'à 6 mmol/l,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 139 µmol/l.

Il est néanmoins conseillé de ne pas utiliser d'échantillons visiblement hémolysés, lipémiques ou ictériques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

ETALONNAGE

Utiliser Calimat (Réf. 62 321) : calibrateur multiparamétrique.

MODE OPERATOIRE MANUEL

Préparation du réactif

Réactif prêt à l'emploi.

Stabilité après ouverture, dans le flacon d'origine

- 2 mois à 2-8°C.
- 21 jours à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : ______ 505 nm (492 à 550 nm) Zéro de l'appareil : ______ blanc réactif

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger.

Photométrer après une incubation de :

- 10 minutes à 37°C.
- 20 minutes à 20-25°C.

Stabilité de la coloration : ______1 heure à 20-25°C. Stabilité de l'étalonnage : Effectuer un étalonnage à chaque série de dosages.

RESULTATS ET INTERPRETATION

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Calcul

 $\label{eq:concentration} \text{Concentration de l'échantillon} = \frac{\begin{array}{c} \text{DO } \underline{\text{\'e}chantillon} \\ \text{DO } \underline{\text{\'e}talon} \end{array} \times n$

n = concentration de l'étalon

Pour les urines, multiplier, si nécessaire, le résultat obtenu par le facteur de dilution.

FACTEUR DE CONVERSION

 $mmol/I \times 0,180 = g/I$ $g/I \times 5,56 = mmol/I$ $mmol/I \times 18 = mg/dI$ $mg/dI \times 0,056 = mmol/I$

CONTROLE DE QUALITE

- LYOTROL™ N (Réf. 62 373)
- LYOTROL™ P (Réf. 62 383)
- MONOTROL™ (Réf. 62 472)
- UNITROL™ (Réf. 62 453)

Pour s'assurer de la validité de la série, effectuer un contrôle à chaque série de dosages. La valeur obtenue doit être dans l'intervalle d'acceptation.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

En cas d'hyperglycémie très élevée, supérieure à 50 mmol/l, une décoloration du milieu réactionnel est visible à l'œil nu et se traduit par une instabilité de la DO lors de la mesure. Ce phénomène peut donner un résultat faussement abaissé, dans le domaine de mesure. Dans ce cas, il est nécessaire de refaire le dosage sur l'échantillon dilué au 1/10 dans une solution de NaCl à 9 g/l.

VALEURS ATTENDUES

Ces valeurs sont données à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

Sérum ou plasma (1, 7)

	mmol/l	g/l	mg/dl
Prématurés	1,10 – 3,30	0,20 - 0,59	20 - 59
Nouveaux nés	1,70 – 3,30	0,31 – 0,59	31 - 59
Enfants	3,30 - 5,60	0,59 – 1,01	59 - 101
Femmes	4,10 - 5,90	0,74 - 1,06	74 – 106
Hommes	4,20 - 6,10	0,76 – 1,10	76 –110

Urines

En conditions physiologiques normales, le glucose n'est pas excrété dans les urines.

PERFORMANCES (8)

Les études du réactif Glucose RTU™ ont donné les résultats suivants

Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice.

Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

Les performances sont données à titre indicatif.

Limite de détection analytique

Elle a été déterminée à partir de dosages effectués sur de l'eau déminéralisée (moyenne + 5 x écart type).

La limite de détection est inférieure ou égale à 0,07 mmol/l (0,013 g/l ou 1,26 mg/dl).

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 22,2 mmol/l (4,00 g/l ou 400 mg/dl).

bioMérieux SA Français - 2

02/2011 page 4/10

Glucose RTU™ 07987 I - fr - 2010/07

Précision

Précision intra-série

Trois échantillons sériques ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	2,58	2,01
Niveau 2	20	7,49	1,20
Niveau 3	20	17,00	1,10

Trois échantillons urinaires ont été dosés dans la même série.

	n	n Moyenne (mmol/l)	
Niveau 1	20	1,21	3,45
Niveau 2	20	10,96	2,48
Niveau 3	20	31,50	2,15

Précision inter-séries

Trois échantillons sériques ont été dosés dans 20 séries différentes (1 série par jour).

	n Moyenne (mmol/l)		C.V (%)
Niveau 1	20	1,85	3,01
Niveau 2	20	6,44	0,87
Niveau 3	20	19,80	1,17

Corrélation

49 échantillons sériques ont été dosés comparativement à un réactif commercialisé utilisant une technique à l'hexokinase

L'équation de la droite d'allométrie obtenue est : y = 1,02 x + 0,16 (en mmol/l) avec un coefficient de corrélation de 0.996.

APPLICATIONS DISPONIBLES SUR DEMANDE

- Applications spectrophotomètres (11897B)
- AU 400 / 640 / 2700 (13733A)
- HITACHI 704 (11899B)
- HITACHI 717 (11900C)
- HITACHI 911 (11901C)
- KONELAB 20 / 30 / 60 (12886B)
- MASCOTT PLUS / LISA (11902C)
- MEGA (12887B)
- MIRA S / MIRA PLUS (11903B)
- RA 1000 / XT (11904B)
- SELECTRA 2 / E / XL (11905C)
- Synchron® Lx / DxC (16189A)
- TARGA / FALCOR 250 / BT 3000 plus (12888B)

ELIMINATION DES DECHETS

- · Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.
- Eliminer tous les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. GASPART E. P-Glucose. Variations biologiques et valeurs de référence - In SIEST G, HENNY and SCHIELE F. -Interprétation des examens de laboratoire - Ed. Karger, 1981 - p. 206-223 - ISBN 3-8055-2756-X.
- 2. TRINDER P. Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor - Ann. Clin. Biochem. - 1969, vol. 6, n°24, p. 24-27.
- 3. STAHL M., JORGENSEN L. G. M, HYLTOFT PETERSEN P., et al. - Optimization of preanalytical conditions and analysis of plasma glucose. 1. Impact of the new WHO and ADA recommendations on diagnosis of diabetes mellitus. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. - 2001, vol. 61, p. 169-180.
- 4. FOUCHER B., PINA G., DESJEUX G., et al. Stabilité de la glycémie avant centrifugation avec ou sans antiglycolytique -Ann. Biol. Clin. - 2004, vol. 62, p. 601-604.
- 5. BOYANTON B.L., Jr., and BLICK K.E. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. - Clin. Chem. - 2002, vol. 48, n° 12, p. 2242-2247.
- CHEVILLON I., LARROSE C., MOREAU N., et al. -Conservation des échantillons de sang avant analyse des paramètres biochimiques les plus courants. - Ann. Biol. Clin. - 1998, vol. 56, p. 200-204.
- 7. PRUDEN E.L., Mc PHERSON R.A., FUHRMAN S.A. Clinical guide to laboratory tests — Ed. TIETZ N.W. / SAUNDERS W.B. COMPANY, 1995 - 3th ed. - Section I: general clinical tests - p. 268-273 - ISBN 0-7216-5035-X.
- VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C. et al. Protocole de validation de techniques (document B) - Ann. Biol. Clin. - 1986, vol. 44, p. 686-745.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification	
REF	Référence du catalogue	
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro	
***	Fabricant	
1	Limites de température	
\square	Utiliser jusque	
LOT	Code du lot	
(1)	Consulter les instructions d'utilisation	

BIOMERIEUX, le logo bleu, RTU, LYOTROL et UNITROL sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs





69280 Marcy-l'Etoile / France Tél. 33 (0)4 78 87 20 00 Fax 33 (0)4 78 87 20 90 www.biomerieux.com



page 5/10 02/2011

Matière d'oeuvre protocole 2

- Réactif à la glucose oxydase (GOD)
- Sérum du patient A en microtubes
- Sérum du patient B en microtubes prélevé aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes
- Semi microcuves
- Parafilm
- Pipettes automatiques et cônes
- Spectrophotomètre

Protocole 3

Etalonnage du spectrophotomètre pour la méthode à la glucose oxydase

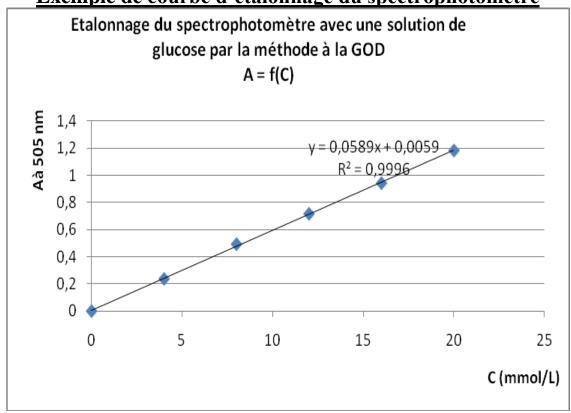
Préparer une solution étalon de glucose pour la réalisation d'une gamme d'étalons de glucose sous un volume final de 1mL.

Matière d'oeuvre

- Glucose pur et anhydre (M_{Glucose} = 180 g.mol⁻¹)
- Matériel de pesée
- Balance de précision
- Fiole jaugée de 100 mL
- Eau distillée
- Compte-gouttes
- Pipettes graduées de 1mL
- Tubes à hémolyse
- Réactif à la glucose oxydase (GOD)
- Spectrophotomètre

02/2011 page 6/10

Exemple de courbe d'étalonnage du spectrophotomètre



Annexe 2

Epreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)

Protocole de l'HGPO

- Le patient est à jeun depuis 12 heures.
- Il a eu une alimentation équilibrée dans les trois jours précédant l'épreuve.
- Il ingère 75g de glucose dans un minimum d'eau (<250 mL).

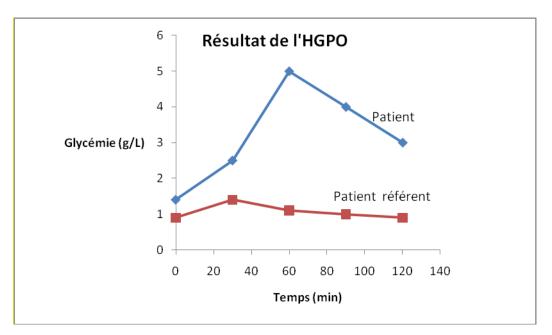
On détermine la glycémie et l'insulinémie avant l'absorption puis toutes les demi-heures pendant 2 heures.

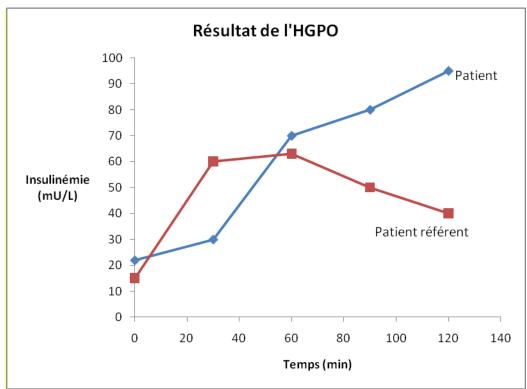
Parallèlement on recherche le glucose dans l'urine.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous.

		A jeun	30 min	60 min	90 min	120 min
Patient	Glycémie	1.4	2.5	5	4	3
	(g/L)					
	Insulinémie	22	30	70	80	95
	(mU/L)					
Patient	Glycémie	5.2	7.5	6.3	5.3	4.8
référent	(mmol/L)					
	Insulinémie	15	60	63	50	40
	(mU/L)					

02/2011 page 7/10





02/2011 page 8/10

Extrait d'un bilan sanguin

BIOCHIMIE

Milieu biologique : sérum ou plasma	Résultats	Val réf. Antérieurs
GLYCEMIE	0.83 g/l 4.61 mmol/l	0.70 à 1.05 3.88 à 5.83
EXPLORATION D'UNE ANOMALIE LIPIDIQU	JE	
Traitement : Pas de traitement normolipémiant.		
TRIGLYCERIDES	0.91 mmol/l	0.40 à 1.50 0.46 à 1.71
CHOLESTEROL TOTAL	2.06 g/l 5.31 mmol/l	inf. à 2.20 inf. à 5.68
HDL CHOLESTEROL	0.54 g/l 1.39 mmol/l	sup. à 0.40 sup. à 1.03
Rapport CHOLESTEROL TOTAL/HDL.	3.8	inf. à 4.8

02/2011 page 9/10

Résultats d'interprétation de l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale

Le dosage du glucose du sang veineux permet de diagnostiquer deux cas :

- une hyperglycémie et un probable syndrome de diabète sucré si la glycémie à jeun est supérieure à 7 mmol/L (1,26 g/L) deux fois de suite chez le patient (détermination dans le sang veineux par une méthode de dosage enzymatique).
- ⇒ hyperglycémie à jeun supérieure à 11,1 mmol/L (2,00 g/L) Le diabète est sévère; il est accompagné de signes cliniques (polyurie, polydipsie, polyphagie, asthénie, amaigrissement) et de signes biologiques (glycosurie, cétonurie).
- ⇒ hyperglycémie à jeun comprise entre 7 (1,26 g/L) et 11,1 mmol/L (2,00 g/L) Les signes cliniques et biologiques sont plus discrets. **Le diabète peut même être sans symptômes.**
- ⇒ pour les patients de moins de 70 ans, présentant deux fois de suite, une glycémie à jeun comprise entre 6,1 et 7 mmol/L (1,10 et 1,26 g/L), il est conseillé de pratiquer une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO), surtout en cas d'antécédent familial de diabète.
- une hypoglycémie si pour un adulte, la glycémie à jeun est inférieure à 2,8 mmol/L (0,50 g/L).

CLASSIFICATION ACTUELLEMENT UTILISÉE DES RÉPONSES À L'HYPERGLYCÉMIE PROVOQUÉE

Afin de simplifier l'interprétation des résultats en vue d'un pronostic, les réponses à l'hyperglycémie provoquée sont actuellement classées en trois catégories : **état normal, intolérance au glucose** et **état diabétique.**

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Association Européenne pour l'Étude du Diabète (AEED) ont sélectionné deux critères : la glycémie à jeun avant l'épreuve et la glycémie de 120 minutes (2 heures) après le début de l'épreuve.

La Commission nationale américaine sur le diabète (NDDG : National Diabetes Data Group) considère un critère de plus : la glycémie à 30, 60, 90 minutes après le début de l'épreuve.

	Glucose plasmatique veineux mmol/L (g/L)		
	À jeun	À 30, 60, 90 min	À 120 min
État normal	< 6,1 mmol/L (< 1,10 g/L)	< 9,0 mmol/L (< 1,60 g/L)	< 7 mmol/L (< 1,26 g/L)
Intolérance au glucose	<7mmol/L (<1,26 g/L)	· ·	$0 \le \le 11,1 \text{ mmol/L}$ $1,26 \le \le 2,00 \text{ g/L}$
État diabétique	≥ 7 mmol/L (≥ 1,26 g/L)	> 11,1 mmol/L (> 2,0 g/L)	$\geq 11,1 \text{ mmol/L}$ ($\geq 2,0 \text{ g/L}$)

02/2011 page 10/10

SEQUENCE	Les enzymes michaéliennes
SEANCE	Les paramètres cinétiques d'une enzyme michaélienne
OBJECTIF	Déterminer et comparer les constantes cinétiques, $v_{i \text{ max}}$ et K_{M} de la phosphatase alcaline dans différentes conditions.
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB
Manipulations proposées	Matière d'œuvre
Détermination des constantes cinétiques de la phosphatase alcaline (Protocole 1)	Solution de pNPP à 1 mmol.L ⁻¹ Tampon DEA pH = 9,8 Solution enzymatique de phosphatase alcaline (PAL) en tampon DEA pH 9,8 Solution de NaOH à 2,5 mol.L ⁻¹
Réalisation d'une gamme d'étalonnage de paranitrophénol (Protocole 2)	Solution de pNP à 1,2 mmol.L ⁻¹ Tampon DEA pH = 9,8 Solution de NaOH à 2,5 mol.L ⁻¹

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB Indications sur la prévention du risque chimique (**Annexe 1**)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Suivi d'une cinétique (Annexe 2)

Détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique (Annexe 3)

Etude d'effecteurs sur la cinétique enzymatique (Annexe 4)

Documents d'interprétation

Ordre de grandeur du $K_{\rm M}$: 0,4-0,6 mmol.L⁻¹

Le coefficient d'extinction molaire à 405 nm du pNP est de 18 500 mol⁻¹.L.cm⁻¹

C2/2011 page 1/6

Protocole 1

Détermination des constantes cinétiques K_{M} et $v_{i \text{ max}}$ de la phosphatase alcaline

On suit la cinétique d'hydrolyse du pNPP à 30° C et à pH = 9.8 et en présence d'ions Mg^{2+} .

$$pNPP + H_2O \rightarrow pNP + Phosphate$$

Le pNP, jaune en milieu alcalin, est dosé par spectrophotométrie à 405 nm.

Manipulation

Opérer comme indiqué dans le tableau ci-dessous dans des tubes à essai :

Tube n°	1	2	3	4	5
Solution de pNPP à 1 mmol.L ⁻¹ (mL)	0,5	0,7	1	2	4
Tampon DEA pH 9,8 (mL)	3,5	3,3	3	2	0

Préincuber à 30°C.

Ajouter 1 mL de solution de phosphatase alcaline. Homogénéiser. Incuber à 30°C.

Au bout de 4 minutes exactement, ajouter 1 mL d'hydroxyde de sodium à 2,5 mol.L⁻¹. Homogénéiser.

Lire les absorbances à 405 nm contre un témoin de composition judicieusement choisi.

Matière d'oeuvre

- Solution de pNPP à 1 mmol.L⁻¹
- Tampon DEA pH = 9.8
- Solution enzymatique de phosphatase alcaline (PAL)
- Solution de NaOH à 2,5 mol.L⁻¹
- Pipette automatique P1000 avec cônes
- Pipette graduée de 5 mL
- Tubes à essai
- Chronomètre
- Bain thermostaté
- Macrocuves
- Spectrophotomètre
- Vortex
- Ordinateur avec logiciel de régression

<u>Résultats</u>

Protocole 2

Réalisation d'une gamme étalon de paranitrophénol

Manipulation

A partir d'une dilution convenable d'une solution-mère de pNP à 1,2 mmol.L⁻¹ en tampon DEA pH 9,8, réaliser une gamme d'étalonnage allant de 0 à 0,6 µmol en tubes à essai sachant que le tube témoin réactif a la composition suivante :

- 5 mL de tampon DEA pH 9,8
- 1 mL de solution d'hydroxyde de sodium

Lire les absorbances à 405 nm.

Matière d'oeuvre

- Solution de pNP à 1,2 mmol.L⁻¹
- Tampon DEA pH = 9.8
- Solution de NaOH à 2,5 mol.L⁻¹
- Pipettes automatiques P1000
- Fioles jaugées de 100 mL et de 50 mL
- Pipette graduée de 5 mL
- Pipettes jaugées de 5 et 10 mL
- Macrocuves
- Tubes à essais
- Vortex
- Spectrophotomètre
- Ordinateur avec logiciel de régression

Résultats

Réaliser un tableau complet de colorimétrie.

Tracer la courbe d'étalonnage $A = f(C_{pNP})$.

C2/2011 page 3/6

Annexe 1

<u>Indications sur la prévention du risque chimique</u>

Produits non dilués	Pictogrammes	Mentions d'avertissement	Mentions de danger	Conseils de prudence
DEA		Danger	H302 H315 H318 H335	P261 P280 P305+P351+P338
Lessive de soude		Danger	H314	P280 P301+P330+P331 P305+P351+P338 P309+P310
pNP et pNPP		Danger	H315 H318 H378	P280 P305+P351+P338

C2/2011 page 4/6

Suivi d'une cinétique

La réaction étudiée est l'hydrolyse du 4-nitrophénylphosphate (pNPP) catalysée par la phosphatase alcaline (PAL).

Première méthode

Réaliser une cinétique à 30 °C en introduisant dans une microcuve 1 mL de solution de substrat préalablement incubé à 30°C et 100 µL de solution d'enzyme.

Enregistrer les absorbances à 405 nm jusqu'à ce que la réaction soit terminée (les résultats seront acquis par le logiciel de l'ordinateur couplé au spectrophotomètre).

Deuxième méthode

Effectuer dix essais en introduisant 1 mL de solution de substrat pré-incubé à 30°C :

- Déclencher la réaction en ajoutant 100 μL de solution d'enzyme.
- Arrêter la réaction respectivement au bout de 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 3 ; 4 ; 5 ; 7, 10 et 15 minutes en ajoutant 1 mL d'hydroxyde de sodium à 1 mol.L⁻¹.

Lire les absorbances à 405 nm en réglant le zéro du spectrophotomètre sur un témoin convenablement réalisé.

Annexe 3

<u>Détermination de la vitesse initiale</u> <u>d'une réaction enzymatique</u>

La réaction étudiée est l'hydrolyse du 4-nitrophénylphosphate (pNPP) catalysée par la phosphatase alcaline (PAL).

Première méthode

Réaliser une cinétique comme précédemment mais en relevant les absorbances à 405 nm toutes les 15 secondes pendant 2 minutes.

Deuxième méthode

Effectuer un essai en introduisant dans un tube à hémolyse 1 mL de solution de substrat pré-incubé à 30°C.

Déclencher la réaction en ajoutant 100 µL de solution d'enzyme.

Arrêter la réaction au bout de 2 minutes en ajoutant 1 mL de soude à 1 mol.L⁻¹.

Lire les absorbances à 405 nm en réglant le zéro du spectrophotomètre sur un témoin adapté.

C2/2011 page 5/6

Etude d'effecteurs sur la cinétique enzymatique

Protocole

La réaction étudiée est l'hydrolyse du 4-nitrophénylphosphate (pNPP) catalysée par la phosphatase alcaline (PAL).

Le mode opératoire est identique au précédent « Détermination des constantes cinétiques » : il est ajouté au préalable dans chaque tube $10~\mu L$, une solution de Na_2HPO_4 à $0.3~mol.L^{-1}$.

Résultats obtenus

pNPP en mmol.L ⁻¹	0,1	0,14	0,2	0,4	0,8
v_i en μ mol. L^{-1} .min ⁻¹	1,9	2,6	3,7	6,7	11,5

pNPP : concentration initiale en pNPP dans le mélange réactionnel en mmol.L⁻¹ v_i : vitesse initiale de la réaction en μ mol.L⁻¹.min⁻¹

Conclure sur l'influence des phosphates sur les valeurs de $v_{i \text{ max}}$ et de K_{M} .

C2/2011 page 6/6

SEQUENCE	Culture des bactéries aérobies		
SEANCE	Les milieux d'isolement		
OBJECTIF	Mettre en évidence les intérêts des milieux d'isolement sélectifs et/ou différentiels.		
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Première STL BGB		
Manipulations proposées	Matière d'œuvre		
Préparation d'une gélose au sang frais (Protocole 1)	Gélose de base Columbia en surfusion à 50°C Sang frais stérile de mouton		
Réalisation de frottis coloré(s) par la méthode de Gram (Protocole 2)	Un tube contenant mélange en bouillon avec <i>Serratia</i> marcescens et <i>Staphylococcus</i> (Cultures de 18 à 24h, en aérobiose, à 37°C)		
Réalisation d'isolements sur géloses en boîtes (Protocole 3)	Géloses coulées en boîte de Pétri : BCP, Chapman, Drigalski, TCBS, tubes de 10 mL d'eau physiologique stérile Le mélange est également fourni déjà isolé sur BCP, Chapman, Drigalski, TCBS et sur gélose au sang frais : culture de 24h en aérobiose à 37°C.		
Réalisation de tests enzymatiques (Protocole 4)	Réactif ou disque « oxydase » Flacon d' « eau oxygénée »		

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB

Composition de quelques milieux d'isolement et principes de lecture et d'utilisation : BCP, Chapman, Drigalski, TCBS, gélose au sang (Annexe 1)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Isolements du mélange sur BCP, Chapman, Drigalski, TCBS et sur gélose au sang frais : culture de 24h en aérobiose à 37°C

Isolement des bactéries aérobies et notion d'exigence (Annexe 2)

Documents d'interprétation

Composition de quelques milieux d'isolement et principes de lecture et d'utilisation : BCP, Chapman, Drigalski, TCBS, gélose au sang (Annexe 1)

Principaux inhibiteurs et bactéries inhibées (Annexe 3)

Composition des milieux d'isolement des bactéries aérobies (Annexe 4)

D1/2011 1/18

Protocole 1

Préparation d'une gélose au sang frais

- Placer une gélose de base (type Columbia ou Trypticase-Soja) au bain-marie bouillant pour la liquéfier.
- Laisser refroidir au bain-marie à température proche de 50°C pour maintenir la gélose en surfusion.
- Ajouter stérilement du sang stérile à la gélose en surfusion afin d'obtenir une concentration finale de 5%.
- Bien homogénéiser.
- Couler en boîte de Pétri.
- Laisser refroidir.

Matière d'œuvre

- Un flacon de 19 mL de gélose de base Columbia en surfusion à 50°C
- Un tube à hémolyse avec 3 mL de sang frais stérile de mouton
- Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre
- Pipettes Pasteur, pipettes graduées stériles de 1 et 2 mL

Protocole 2

Réalisation d'un frottis coloré à la méthode de Gram

Préparation du frottis

- Déposer une goutte d'une suspension bactérienne ou d'une culture en bouillon à la surface d'une lame propre et l'étaler sur une surface d'environ 3 cm².
- Laisser sécher.
- Fixer le frottis en le recouvrant d'alcool laissé sur la lame durant 3 à 5 minutes.
- Rincer délicatement le frottis à l'eau.

Coloration du frottis

- Colorer le frottis au violet de gentiane (ou cristal violet) durant une minute.
- Rincer délicatement le frottis à l'eau.
- Faire agir une solution de lugol durant une minute.
- Rincer délicatement le frottis à l'eau.
- Décolorer à l'alcool (éthanol) ou alcool-acétone durant une dizaine de secondes (plus ou moins selon l'épaisseur du frottis).
- Rincer délicatement le frottis à l'eau.
- Contre-colorer à la fuschine ou la safranine durant 30 secondes à une minute.
- Rincer le frottis à l'eau et sécher délicatement.

Observation

Observer le frottis coloré sec au microscope optique d'abord à l'objectif x40 pour faire la mise au point et choisir une zone d'observation intéressante puis utiliser l'objectif 100 à l'immersion pour une observation précise.

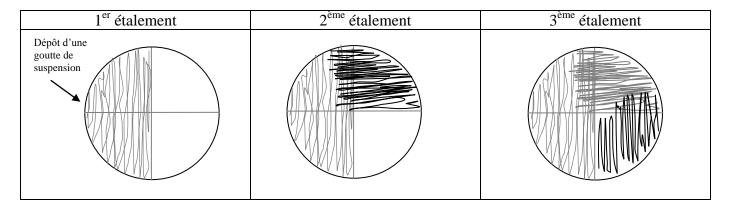
D1/2011 2/18

Protocole 3

Isolement selon la technique des quadrants

- Ensemencer à la pipette Pasteur boutonnée selon les étapes suivantes :
- Tremper l'instrument dans la suspension bactérienne
- Déposer une goutte à la surface de la gélose sur le bord de la boîte
- Etaler l'inoculum en stries très serrées sur une moitié de la boîte (quadrants 1 et 2)
- Faire pivoter la boîte d'un quart de tour et poursuivre les stries serrées sur le 3^{ème} quadrant en repassant légèrement sur les stries du 1^{er} étalement
- Répéter l'opération dans le 4^{ème} quadrant en terminant sans repasser sur les stries précédentes (voir schéma ci-dessous).

Il est possible de flamber l'instrument entre deux étalements pour éliminer l'excédent de bactéries ; dans ce cas, l'étalement est pratiqué en repassant de façon plus large sur les stries de l'étalement précédent.



Protocole 4

Tests enzymatiques

Technique de recherche de la catalase

- Déposer une goutte d' « eau oxygénée » à 10 volumes sur une lame propre .
- A partir d'une culture sur milieu gélosé, prélever une colonie isolée et la dissocier dans l' « eau oxygénée ».
- Rechercher l'apparition d'un dégagement gazeux (bulles).
- Un dégagement gazeux indique la présence d'une activité catalasique.

Technique de recherche de l'oxydase

- A partir d'une culture sur milieu gélosé, prélever une colonie isolée et la déposer sur un disque imprégné de réactif pour la recherche de l'oxydase (chlorhydrate ou oxalate de diméthyl- ou tétraméthyl-para-phénylène-diamine) (et préalablement humidifié). Le prélèvement des colonies ne doit pas être réalisé avec un instrument pouvant oxyder le réactif (oese métallique).
- Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une tâche colorée (bleu-violet), le plus souvent en moins de 30 secondes, au niveau de la zone de dépôt.

D1/2011 3/18

ANNEXE 1 COMPOSITION DES MILIEUX D'ISOLEMENT FOURNIS

D1/2011 4/18

Gélose BCP (BCP)

Isolement des micro-organismes courants

IVD

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La gélose BCP (Gélose Lactosée au Bromocrésol Pourpre) est un milieu d'isolement et de différenciation destiné au développement de tous les germes couramment rencontrés dans des prélèvements d'origines diverses (1).

Elle permet également de différencier les germes fermentant le lactose des germes non fermentatifs.

PRINCIPE

Les germes lactose (+) donnent des colonies jaunes par acidification du milieu.

Les germes non fermentatifs donnent des colonies bleues ou incolores.

PRÉSENTATION

Milieu prêt à l'emploi

REF 43 021 Coffret de 2x10 boîtes (90 mm)

BCP *

COMPOSITION

Formule théorique

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés:



MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

• Etuve bactériologique.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic in vitro uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale.
 La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).

- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline Révision en vigueur ". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- Ne pas utiliser des boites contaminées ou exsudées.
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE.

- Les boîtes se conservent entre 2°C et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
- Les boîtes peuvent être conservées 4 semaines à 15-25°C dans leurs coffrets.
- La durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à 2-8°C.

ECHANTILLONS

Les prélèvements peuvent être de toute nature et sont directement ensemencés sur la gélose.

Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements et de transport, adaptées à chaque type de prélèvement.

MODE OPERATOIRE

- 1. Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
- 2. Ensemencer le prélèvement.
- 3. Incuber à l'étuve, couvercle en bas, à 37°C. Le choix de la température d'incubation est de la responsabilité de l'utilisateur en fonction de l'application et des normes en vigueur. Les cultures sont examinées après 18 à 24 heures d'incubation. Le délai de lecture de 24 heures ne doit pas être dépassé.

LECTURE ET INTERPRETATION

- Après incubation, observer la croissance bactérienne et l'aspect des colonies :
 - colonies lactoses (+): jaunes.
 - colonies lactose (-): bleues ou incolores.
- L'identification du ou des micro-organismes isolés doit être poursuivie par des tests biochimiques voire immunologiques.

^{*} imprimé sur chaque boîte

Gélose BCP (BCP) 11614 C - fr - 2009/03

CONTROLE DE QUALITE

Protocole:

La fertilité du milieu peut être testée vis-à-vis de la souche suivante:

• Escherichia coli ATCC 25922

Résultats attendus :

Souche	Résultats à 33-37°C	
Escherichia coli ATCC 25922	Croissance en 24 heures	Colonies jaunes

Remarque:

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

LIMITES DU TEST

- Une durée d'incubation supérieure à 24 heures peut entraîner une réalcalinisation du milieu qui modifie la coloration des colonies.
- Le développement est fonction des exigences propres à chaque micro-organisme. Il est donc possible que certaines souches ayant des exigences spécifiques ne se développent pas.

PERFORMANCES

Les performances ont été évaluées, à 37°C, sur 34 souches bactériennes (entérobactéries lactose (+) et lactose (-), *Pseudomonas*, bactéries Gram (+)) et 1 levure (*Candida*).

Fertilité :

Les 35 souches testées se sont développées dès 18 heures d'incubation.

17 souches fermentant le lactose ont donné des colonies jaunes.

Les germes non fermentatifs donnent des colonies bleues ou incolores.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés et non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

 MEGRAUD F. – Bactériologie des infections intestinales en pédiatrie – Rev. Fr. Lab., avril 1991, vol. 220, p. 81-86.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
REF ou REF	Référence du catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
***	Fabricant
1	Limites de température
\square	Utiliser jusque
LOT	Code du lot
Œ	Consulter les instructions d'utilisation
Σ	Contenu suffisant pour "n" tests

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



bioMérieux SA au capital de 12 029 370 € RCS LYON 673 620 399

69280 Marcy-l'Etoile / France Tél. 33 (0)4 78 87 20 00 Fax 33 (0)4 78 87 20 90 http://www.biomerieux.com



bioMérieux et le logo bleu sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

D1/2011 6/18

Gélose Chapman 2 (MSA2)

Isolement sélectif des staphylocoques

IVD

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La gélose Chapman 2 (milieu gélosé mannitol-sel) est un milieu destiné à l'isolement sélectif des staphylocoques à partir de prélèvements d'origine humaine.

Dans l'industrie pharmaceutique, elle est utilisée pour la recherche des *S. aureus* lors du contrôle microbiologique des produits non stériles. Cette gélose est conforme aux exigences de performance des chapitres harmonisés des pharmacopées européenne, américaine et japonaise (1, 2, 3).

PRINCIPE

Les micro-organismes fermentant le mannitol donnent des colonies jaunes.

Ce caractère est un critère d'orientation pour l'identification de Staphylococcus aureus.

La teneur élevée en chlorure de sodium du milieu limite le développement de certains germes autres que Staphylococcus (4).

PRESENTATION

	Milieux prêts à l'emploi
REF 43 671	Coffret de 2x10 boîtes (90 mm)
REF 43 679	Coffret de 10x10 boîtes (90 mm)
	MSA2 *

^{*} imprimé sur chaque boîte

COMPOSITION

Formule théorique :

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés.

Extrait de viande (bovin ou porcin)		
Peptone de caséine (bovin et porcin)	5 🤅	j
Peptone de viande (bovin et porcin)	5 g	j
Chlorure de sodium	75 g	1
D Mannitol	10 ह	j
Agar	15 g	j
Rouge de phénol	25 mg	1
Eau purifiée	1`	ĺ
·		

pH 7,4

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

• Etuve bactériologique.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic in vitro et pour contrôle microbiologique.
- · Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale.
 La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition " ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- Ne pas utiliser des boîtes contaminées ou exsudées.
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Les boîtes se conservent entre 2°C et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
- Les boîtes peuvent être conservées 4 semaines à 15-25°C dans leurs coffrets.
- La durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à 2-8°C.

Gélose Chapman 2 (MSA2) 12791 E - fr - 2009/03

ECHANTILLONS

Utilisation en bactériologie médicale :

Les prélèvements peuvent être de toute nature et sont directement ensemencés sur la gélose.

Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements et de transport, adaptées à chaque type de prélèvement.

Utilisation en bactériologie industrielle :

- Pour le contrôle des produits pharmaceutiques non stériles, suivre les recommandations des chapitres harmonisés des pharmacopées pour la préparation des échantillons.
- En raison de la diversité des échantillons testés, il est de la responsabilité de l'utilisateur de valider ce milieu dans son application.

MODE OPERATOIRE

Utilisation en bactériologie médicale :

- 1. Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
- 2. Ensemencer le prélèvement.
- 3. Incuber à l'étuve, couvercle en bas, à 37°C. Le choix de la température d'incubation est de la responsabilité de l'utilisateur en fonction de l'application et des normes en vigueur. Les cultures sont examinées après 24 heures d'incubation. En cas de résultat négatif à 24 heures, réaliser une autre lecture à 48 heures.

Utilisation en bactériologie industrielle :

- Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
- Se reporter au mode opératoire décrit dans les chapitres harmonisés des pharmacopées.

La température d'incubation optimale est de 35°C.

LECTURE ET INTERPRETATION

- Après incubation, observer la croissance bactérienne et l'aspect des colonies: les colonies de S. aureus fermentant le mannitol sont jaunes et associées à une décoloration jaune autour de la colonie qui diffuse dans le milieu
- L'identification du ou des micro-organismes isolés doit être réalisée par des tests biochimiques et/ou immunologiques.

CONTROLE DE QUALITE

Utilisation en bactériologie médicale :

Protocole:

La fertilité du milieu peut être testée vis-à-vis de la souche suivante :

Staphylococcus aureus ATCC[®] 25923

Résultats attendus :

Souche	Résultats à 33-37°C		
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Croissance après 24 heures	Colonies jaunes	

Remarque:

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

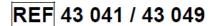
Utilisation en bactériologie industrielle :

Le contrôle est conforme aux recommandations des chapitres harmonisés des pharmacopées.

LIMITES DU TEST

- La fermentation du mannitol n'est pas spécifique de l'espèce Staphylococcus aureus. Il est donc nécessaire de réaliser une identification complète par des tests biochimiques et/ou immunologiques.
- Certains germes autres que les staphylocoques peuvent se développer sur ce milieu.
- Certaines souches oxydase positive (microcoques et certains staphylocoques) peuvent, sur ce milieu, donner des résultats négatifs avec le test oxydase (Oxidase Reagent Réf. 55 635).
- Le développement est fonction des exigences propres à chaque micro-organisme. Il est donc possible que certaines souches de staphylocoques sensibles à la concentration de NaCl présent dans le milieu soient partiellement inhibées.
- En fonction des prélèvements analysés, il est recommandé d'associer le milieu Chapman 2 avec des milieux non inhibiteurs (par exemple : gélose Columbia + 5% sang de mouton).

D1/2011 8/18



Gélose Columbia + 5% de sang de mouton (COS)

Isolement des bactéries exigeantes. Recherche des hémolyses



INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La gélose Columbia décrite par Ellner et al. est un milieu d'isolement destiné à faciliter la croissance de microorganismes exigeants (2, 5).

Additionnée de sang de mouton, elle constitue un apport nutritif très riche adapté à la croissance de la majorité des espèces bactériennes quel que soit leur métabolisme.

PRINCIPE

Elle contient un mélange de peptones particulièrement adapté à la culture des micro-organismes exigeants (streptocoques, *Listeria* ...).

La présence de sang de mouton permet l'expression de l'hémolyse qui est un critère de base de l'orientation de l'identification bactérienne (1, 3).

Cette gélose convient également pour l'isolement des germes anaérobies (4, 6).

PRÉSENTATION

	Milieux prêts à l'emploi
REF 43 041	Coffret de 2x10 boîtes (90 mm)
REF 43 049	Coffret de 10x10 boîtes (90 mm)
	COS *

^{*} imprimé sur chaque boîte

COMPOSITION

Formule théorique

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés :

Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)	10 g
Hydrolysat de protéines animales (bovin ou porcin)	10 g
Peptone de cœur (bovin ou porcin)	3 g
Amidon de maïs	1 g
Chlorure de sodium	5 q
Agar	
Sang (mouton)	50 ml
Eau purifiée	11
pH 7,3	

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Générateurs d'atmosphère contrôlée.
- Jarres.
- Etuve bactériologique.

Ou

Enceintes thermorégulées à atmosphère contrôlée.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic in vitro uniquement.
- · Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale.
 La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).

- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "NCCLS M29-A, Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- Ne pas utiliser des boites contaminées, hémolysées ou exsudées.
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Les boîtes se conservent entre 2°C et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
- La durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à 2-8°C.

ECHANTILLONS

Les prélèvements peuvent être de toute nature et sont directement ensemencés sur la gélose.

Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements et de transport, adaptées à chaque type de prélèvement (6).

Ce milieu peut être utilisé pour le repiquage des souches bactériennes afin d'obtenir des cultures pures.

MODE OPERATOIRE

- Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
- Ensemencer le prélèvement.
- Placer la boîte en atmosphère appropriée en utilisant éventuellement des générateurs d'atmosphère contrôlée.
- 4. Incuber à l'étuve, couvercle en bas, à 37°C. Le choix de la température d'incubation est de la responsabilité de l'utilisateur en fonction de l'application et des normes en vigueur. La durée d'incubation varie selon le type de prélèvement et la nature des microorganismes recherchés. Les cultures sont examinées généralement après 24 à 48 heures d'incubation. Dans certains cas, il peut être nécessaire de prolonger l'incubation.

LECTURE ET INTERPRETATION

- Après incubation, observer la croissance bactérienne.
- Noter la présence éventuelle d'hémolyses caractéristiques:
 - hémolyse α : coloration verdâtre autour de la colonie.
 - hémolyse β: zone d'éclaircissement autour de la colonie ou sous la colonie.
- L'identification du ou des micro-organismes isolés doit être poursuivie par des tests biochimiques voire immunologiques.

CONTROLE DE QUALITE

Protocole:

La fertilité du milieu peut être testée vis-à-vis des souches suivantes (incubation sous atmosphère enrichie en CO₂):

- Streptococcus pyogenes ATCC ® 19615
- Streptococcus pneumoniae ATCC [®] 6305

Résultats attendus :

Souche	Résultats à 33-37°C	
Streptococcus pyogenes ATCC® 19615	Croissance	Hémolyse β
Streptococcus pneumoniae ATCC [®] 6305	après 24 heures	Hémolyse α

Remarque:

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

LIMITES DU TEST

- Le développement est fonction des exigences propres à chaque micro-organisme. Il est donc possible que certaines souches ayant des exigences spécifiques (atmosphère d'incubation...) ne se développent pas.
- La nature des hémolyses est dépendante de l'espèce considérée et du comportement propre à chaque souche.
- En fonction des prélèvements analysés et selon les micro-organismes recherchés, il est recommandé d'associer la gélose Columbia + 5% de sang de mouton avec des milieux complémentaires (milieux sélectifs, géloses Chocolat...).

PERFORMANCES

Les performances ont été évaluées, à 37°C, sur 96 souches bactériennes (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, streptocoques D / enterocoques, autres streptocoques, *Streptococcus pneumoniae*, staphylocoques, *Listeria*, autres bactéries Gram (+), bacilles Gram (-) et bactéries anaérobies) et 2 levures (*Candida*).

Fertilité:

Toutes les souches testées se sont développées en 24 à 48 heures, à l'exception de 3 souches anaérobies et de 2 souches de *Bartonella* qui se sont développées en 72 heures.

Hémolyse:

Les hémolyses observées sur les souches testées après 24 heures d'incubation sont les suivantes :

- Hémolyse β pour les 17 souches de Streptococcus pyogenes et pour 3 des 4 souches de Listeria (L. monocytogenes et L. ivanovii).
 Remarque: L'hémolyse β n'est pas spécifique de ces
- Remarque : L'hemolyse β n'est pas specifique de ces espèces : certains staphylocoques et *Streptococcus* agalactiae ont également donné des hémolyses β.
- Hémolyse α pour les 11 souches de Streptococcus pneumoniae testées.

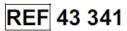
ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés et non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DELMAS P., FRENEY J. Les streptocoques. Lyon Pharm., 1989, vol. 40, n°5, p. 353-369.
- ELLNER P.D., STOESSEL C.J., DRAKENFORD E. and al. A new culture medium for medical bacteriology - Am. J. Clin. Pathol., 1966, vol. 45, p. 502 - 504.
- FACKLAM R.R., PADULA J.F., MORTHAM E.C. and al. Presumptive identification of group A, B, and D streptococci on agar plate media. – J. Clin. Microbiol., 1979, vol. 9, n°6, p. 665-672.
- FLANDROIS J.P., CHOMARAT M. Bactériologie médicale pratique - MEDSI / Mac GRAW-HILL, 1989 – ISBN 2-86439-161-9.
- MURRAY P.R., BARON E.J., PFALLER M.A. and al. -Manual of Clinical Microbiology - 6th Ed.- ASM Press, 1995 – ISBN 1-55581-086-1.
- RODLOFF A.C., APPELBAUM P.C., ZABRANSKY R.J. -Cumitech 5A. Practical anaerobic bacteriology - American Society for Microbiology, 1991 – ISBN 1-55581-C05A.



Gélose Drigalski (DRIG)

Isolement sélectif des entérobactéries et autres bactéries Gram (-)

IVD

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La gélose Drigalski est un milieu d'isolement sélectif et de différenciation destiné à la recherche des entérobactéries et autres bactéries Gram (-) à partir des prélèvements cliniques (1, 2).

PRINCIPE

Les micro-organismes qui fermentent le lactose donnent des colonies jaunes ou jaune-vert, les autres des colonies bleues, vertes ou bleu-vert.

La présence de désoxycholate de sodium et de cristal violet inhibe la croissance des bactéries Gram (+).

PRÉSENTATION

Milieu prêt à l'emploi

REF 43 341 Coffret de 2x10 boîtes (90 mm)

DRIG *

COMPOSITION

Formule théorique

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés:

Peptone de gélatine(bovin ou porcin)	15 g
Extrait de viande (bovin ou porcin)	3 g
Extrait de levure	3 g
Désoxycholate de sodium (bovin ou ovin)	1 g
Thiosulfate de sodium	1 ğ
Lactose (bovin)	15 g
Cristal violet	0,005 g
Bleu de bromothymol	0,08 g
Agar	11 g
Eau purifiée	

pH 7,4

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

• Etuve bactériologique.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic in vitro uniquement-
- · Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale.
 La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).

- · Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH, Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
 Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- Ne pas utiliser des boites contaminées ou exsudées.
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Les boîtes se conservent entre 2°C et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.
- Les boîtes peuvent être conservées 4 semaines à 15-25°C dans leurs coffrets.
- La durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à 2-8°C.

ECHANTILLONS

La gélose Drigalski est utilisée pour la mise en évidence des entérobactéries et des autres bactéries Gram (-) dans les selles, les urines ou autres prélèvements biologiques. Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements et de transport, adaptées à chaque type de prélèvement.

MODE OPERATOIRE

- 1. Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
- Ensemencer le prélèvement.
- 3. Incuber à l'étuve, couvercle en bas, à 37°C. Le choix de la température d'incubation est de la responsabilité de l'utilisateur en fonction de l'application et des normes en vigueur. La durée d'incubation varie selon le type de prélèvement et la nature des microorganismes recherchés. Les cultures sont examinées généralement après 24 à 48 heures d'incubation.

^{*} imprimé sur chaque boîte

Gélose Drigalski (DRIG) 11692 C - fr - 2009/07

LECTURE ET INTERPRETATION

- Après incubation, observer la croissance bactérienne et l'aspect des colonies :
 - colonies jaunes à jaune-vert : bactéries lactose (+).
 On peut éventuellement observer un précipité de sels biliaires autour des colonies.
 - colonies bleues, vertes ou bleu-vert : bactéries lactose (-).
- L'identification du ou des micro-organismes isolés doit être poursuivie par des tests biochimiques voire immunologiques.

CONTROLE DE QUALITE

Protocole:

La fertilité du milieu peut être testée vis-à-vis de la souche suivante:

Escherichia coli ATCC[®] 25922

Résultats attendus :

Souche	Résultats à	33-37°C
Escherichia coli ATCC [®] 25922	Croissance après 24 heures	Colonies jaunes

Remarque:

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

LIMITES DU TEST

- Une durée d'incubation supérieure à 24 heures peut entraîner une réalcalinisation du milieu qui modifie la coloration des colonies.
- Le développement est fonction des exigences propres à chaque micro-organisme. Il est donc possible que certaines souches ayant des exigences spécifiques ne se développent pas.
- En fonction des prélèvements analysés et selon les micro-organismes recherchés, il est recommandé d'associer la gélose Drigalski avec des milieux complémentaires.

PERFORMANCES

Les performances ont été évaluées, à 37°C, sur 48 souches bactériennes (entérobactéries, autres bactéries Gram (-) et Gram (+)) et 2 levures (Candida).

Fertilité

Les 35 souches de bactéries Gram (-) testées se sont développées dès 24 heures.

10 des 11 souches fermentant le lactose ont présenté des colonies jaunes à jaune-vert.

Sélectivité:

Les 13 souches de bactéries Gram (+) et les 2 levures testées ont été inhibées en 48 heures.

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés et non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGOGNE-BEREZIN E. Actualisation de l'examen cytobactériologique des urines – Rev. Fr. Lab., Fév. 1988, vol. 169, p. 49-55.
- DUPEYRON C.M., GUILLERMIN G.A., LELUAN G.J. Rapid diagnosis of gram negative urinary infections: identification and antimicrobial susceptibility testing in 24 hours – J. Clin. Pathol., Feb. 1986, vol. 39, n°2, p. 208-11.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
REF ou REF	Référence du catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
***	Fabricant
1	Limites de température
	Utiliser jusque
LOT	Code du lot
Œ	Consulter les instructions d'utilisation
Σ	Contenu suffisant pour "n" tests

bioMérieux, le logo bleu sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales. ATCC est une marque utilisée, déposée et/ou enregistrée appartenant à American Type Culture Collection. Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



bioMérieux SA au capital de 12 029 370 € RCS LYON 673 620 399

69280 Marcy-l'Etoile / France Tél. 33 (0)4 78 87 20 00 Fax 33 (0)4 78 87 20 90 http://www.biomerieux.com





MODE D'EMPLOI – MILIEUX EN BOITES DE PETRI PRETS A L'EMPLOI

CE

PA-254432.02 Rev.: Juin 2003

BD TCBS Agar

APPLICATION

La **BD TCBS Agar** (gélose TCBS à base de thiosulfate-citrate-sels biliaires-saccharose) est un milieu différentiel non sélectif utilisé pour l'isolement et la culture de *Vibrio cholerae* et d'autres *Vibrio* spp. partir d'échantillons cliniques et d'autres matières.

PRINCIPES ET EXPLICATION DE LA METHODE

Méthode microbiologique.

Dans le monde entier, les eaux saumâtres et les eaux salines constituent l'habitat naturel des vibrions. 1,2 Les infections intestinales rencontrées chez l'homme sont souvent associées à la consommation d'eau, de fruits de mer ou de poissons contaminés. *Vibrio cholerae* est l'agent étiologique d'une diarrhée sécrétoire (le choléra), dont la contagion s'effectue par l'absorption d'eau et de denrées contaminées, et par la voie oro-fécale. Plusieurs autres *Vibrio* spp., p. ex. *V. parahaemolyticus* et *V. fluvialis*, sont responsables de la gastro-entérite aiguë. En outre, diverses *Vibrio* spp., p. ex. *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, et *V. damsela*, sont associées à des infections extraintestinales, telles que les infections de plaies, septicémies, méningites, et autres. 1-3 Il a été montré que les infections de plaies à *Vibrio* se produisent principalement chez les patients qui ont été en contact avec de l'eau salée ou saumâtre. 2,3

Lorsqu'elle est préparée conformément à la formule élaborée par Kobayashi *et al.*, la **BD TCBS Agar** correspond à une version modifiée du milieu sélectif de Nakanishi. Hormis *V. hollisa*e, la totalité des *Vibrio* spp. pathogènes pour l'homme se développent dans ce milieu. Recommandé pour l'isolement des *Vibrio* spp. à partir d'échantillons fécaux^{1,2,6}, ce milieu est cité dans les méthodes standard pour l'analyse des aliments (Standard Methods for food testing). Il s'agit d'un milieu hautement sélectif, qui satisfait aux besoins nutritionnels des *Vibrio* spp., et permet aux vibrions d'entrer en compétition avec la flore intestinale. Tous les membres du genre sont susceptibles de se développer dans des milieux à fortes concentrations de sel et certaines espèces sont halophiles.

Dans la **BD TCBS Agar**, l'extrait de levure et la peptone fournissent au milieu l'azote et les vitamines nécessaires. Le citrate de sodium, le thiosulfate de sodium, la bile de bœuf et le cholate sont des agents sélectifs qui permettent d'obtenir un pH alcalin pour inhiber les microorganismes Gram positifs et éliminer les coliformes. Le pH du milieu est augmenté afin de faciliter le développement de *Vibrio cholerae* car ce microorganisme est sensible aux environnements acides. La forte concentration de sodium favorise la croissance de *Vibrio cholerae*, qui est tolérant au sel, et celle d'autres *Vibrio* spp., dont la plupart sont halophiles. Le saccharose est un glucide fermentescible, et le chlorure de sodium stimule la croissance. Le thiosulfate de sodium sert de source de soufre et agit avec le citrate ferrique pour jouer le rôle d'indicateur de production d'acide sulfhydrique. Le bleu de bromothymol et le bleu de thymol sont des indicateurs de pH.

REACTIFS BD TCBS Agar

Formule* par litre d'eau purifiée

i orinate par ila e a caa pariilee			
Extrait de levure	5,0 g	Saccharose (Sucrose)	20,0 g
Digestion pancréatique de caséine	5,0	Chlorure de sodium	10,0
Digestion peptique de tissu animal	5,0	Citrate ferrique	1,0
Citrate de sodium	10,0	Bleu de bromothymol	0,04
Thiosulfate de sodium	10,0	Bleu de thymol	0,04
Bile de bœuf	5,0	Gélose	14,0
Cholate de sodium	3,0		

 $pH 8,6 \pm 0,2$

PA-254432.02 - 1 -

D1/2011 13/18

*Ajustée et/ou complémentée en fonction des critères de performances imposés.

PRECAUTIONS

. A usage professionnel uniquement.

Ne pas utiliser de boîte de Pétri présentant des signes de contamination microbienne, décoloration, dessiccation ou fissure, ou d'autres signes de détérioration.

Consulter le document **MODE D'EMPLOI GENERAL** pour plus d'informations concernant les procédures de manipulation aseptique, les risques biologiques et l'élimination des produits usagés.

STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION

Dès réception, conserver les boîtes de Pétri dans l'obscurité entre 2 et 8 °C, dans leur emballage d'origine, jusqu'au moment de leur utilisation. Ne pas les congeler ni les surchauffer. Les boîtes peuvent être ensemencées jusqu'à la date de péremption indiquée (voir l'étiquette de l'emballage), et incubées pendant les durées recommandées.

Des boîtes provenant d'une pile ouverte de 10 boîtes sont utilisables pour une semaine lorsqu'elles sont conservées entre +2 et +8 °C dans un endroit propre.

CONTROLE DE QUALITE PAR L'UTILISATEUR

Ensemencer des échantillons représentatifs avec les souches suivantes (pour plus de détails, voir le document **MODE D'EMPLOI GENERAL**). Incuber en conditions aérobie pendant 18 à 24 h, entre 35 et 37 °C.

Souches	Croissance
V. cholerae NCTC 8021 ou ATCC 9459	Croissance moyenne à importante ; zones de couleur jaune en périphérie des colonies
	· · ·
V. parahaemolyticus ATCC 17802	Croissance moyenne à importante ; colonies vertes à bleu vert ; milieu pratiquement inchangé
V. alginolyticus ATCC 17749	Croissance moyenne à importante ; zones de couleur jaune en périphérie des colonies
E. faecalis ATCC 29212	Inhibition partielle à complète ; petites colonies jaunes
E. coli ATCC 25922	Inhibition partielle à complète ; colonies de petite taille, translucides
Ps. aeruginosa ATCC 27853	Inhibition partielle à complète ; colonies bleues
Sans ensemencement	Colonies de couleur verte à bleu-vert

METHODE

Matériaux fournis

BD TCBS Agar (boîtes de Pétri Stacker de 90 mm). Produits contrôlés microbiologiquement.

Matériaux non fournis

Milieux de culture auxiliaires, réactifs et matériel de laboratoire requis.

Types et transport des échantillons

Ce milieu est utilisé pour l'isolement des *Vibrio* spp. à partir d'échantillons fécaux (en particulier si les patients ont consommé du poisson ou des fruits de mer) ou à partir d'échantillons cliniques extraintestinaux si la présence de *Vibrio* spp. est présumée (voir aussi **CARACTERISTIQUES DES PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE**). Il est également possible d'utiliser des échantillons tels que les écouvillons rectaux, le vomi et les échantillons alimentaires. Pour transporter les écouvillons, il convient d'utiliser le milieu de transport Cary-Blair car les *Vibrio* spp. sont particulièrement sensibles au dessèchement.² Tous les échantillons intestinaux et alimentaires peuvent être placés dans des tubes additionnés d'eau alcaline peptonée afin d'empêcher toute dessiccation des matières, et doivent être transportés sans tarder jusqu'au laboratoire. Les délais d'acheminement de plus de 8 h réduisent la viabilité des échantillons. Ne pas congeler les échantillons !

D1/2011 14/18

Mode opératoire du test

Strier l'échantillon sur une **BD TCBS Agar** dès son arrivée au laboratoire, en utilisant une technique de striation approuvée. Les échantillons alimentaires et autres peuvent être écouvillonnés directement, ou après avoir procédé à une homogénisation minutieuse (en particulier si les échantillons testés sont du poisson ou des fruits de mer). Eviter tout dessèchement lors de la manipulation. Il convient d'inclure un milieu moins sélectif, tel que la **BD DCLS Agar**, qui s'est révélée plus efficace qu'une MacConkey Agar en matière d'isolement des *Vibrio* spp. Tous les échantillons extraintestinaux (p. ex. les échantillons prélevés sur des plaies, etc.) doivent également être étalés sur un milieu non sélectif à base de gélose au sang, p. ex. une **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, et dans une boîte de **BD MacConkey II Agar**, afin de permettre de déceler la présence éventuelle d'autres pathogènes susceptibles d'être impliqués dans l'apparition de l'infection. Incuber les boîtes de Pétri en conditions aérobie entre 35 et 37 °C pendant 18 à 24 h. Si le résultat est négatif, incuber pendant 18 à 24 h supplémentaires.

Il est possible de commencer par enrichir les échantillons, cliniques et autres, dont on présume qu'ils contiennent de faibles comptes de *Vibrio*, en incubant une aliquote de l'échantillon dans une eau alcaline peptonée, à 35 ± 2 °C. ^{2,8} Effectuer des repiquages sur gélose TCBS et au sang au bout de 8 h, puis de nouveau après 18 h d'incubation.

Résultats

Sur **BD TCBS Agar**, les vibrions qui fermentent le saccharose (*V. cholera*e, *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. cincinnatiensis*, *V. fluvialis*, *V. furnissii*, *V. metschnikovii*) apparaissent sous forme de colonies de taille moyenne, lisses, opaques et jaunes. La plupart des autres vibrions importants au plan clinique, notamment *V. parahaemolyticus*, ne fermentent pas le saccharose et se présentent sous forme de colonies vertes.² Des tests biochimiques et/ou sérologiques sont nécessaires pour obtenir une identification définitive et pour la différenciation des espèces capables de fermenter le saccharose de celles qui ne le sont pas.^{1,2,7,8}

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ET LIMITES DE LA PROCEDURE

La **BD TCBS Agar** est un milieu standard pour l'isolement de *Vibrio cholera* ou d'autres *Vibrio* spp. à partir d'échantillons fécaux issus de patients atteints de diarrhée, surtout s'ils ont consommé du poisson ou des fruits de mer, ou si des cas de choléra sont présumés. ^{1,2,6,7} Ce milieu peut aussi être utilisé pour déceler la présence éventuelle de *Vibrio* dans des échantillons extraintestinaux.

La **BD TCBS Agar** est aussi un milieu standard pour l'isolement de *Vibrio* dans les produits alimentaires. ^{8,9}

Les besoins nutritionnels des microorganismes étant variables, il est possible que certaines souches se développent peu dans ce milieu. Par conséquent, il convient d'utiliser un milieu moins sélectif adapté à la mise en évidence des *Vibrio* spp. et d'autres pathogènes intestinaux (p. ex. *Salmonella* et *Shigella*) ; la **BD DCLS Agar** peut être recommandée à cette fin. Sur **BD TCBS Agar**, *V. parahaemolyticus* est susceptible de présenter un aspect similaire aux *Aeromonas hydrophila, Plesiomonas shigelloides* et *Pseudomonas* spp. Les *Proteus* spp. qui fermentent le saccharose produisent des colonies jaunes, susceptibles de ressembler aux colonies de *Vibri*o. Quelques souches de *V. cholerae* sont vertes ou incolores sur **BD TCBS Agar**, en raison d'un retard dans la fermentation du saccharose.

Les milieux TCBS ne sont pas adaptés à l'application du test d'oxydase sur les *Vibrio* spp. ² Des tests supplémentaires sont nécessaires pour obtenir une identification complète et confirmer l'identification des *Vibrio* spp. isolées dans ce milieu. Consulter les documents cités en référence. ^{2,6-9}

REFERENCES

 Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Finegold. 1994. Vibrio and related species, Aeromonas, Plesiomonas, Campylobacter, Helicobacter, and others, p. 429-444. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.

PA-254432.02 - 3 -

D1/2011 15/18

Isolement des bactéries aérobies et notion d'exigence

Protocole

Isoler chacune des suspensions bactériennes à disposition sur chacun des milieux fournis.

Matériel

- 4 exemplaires de chacun des milieux suivants en boîtes de pétri : gélose blanche, GN, gélose au sang frais, gélose au sang cuit

- Suspensions bactériennes en milieu liquide :

Tube A : *E. coli*

Tube B : Streptococcus B

Tube C: *Hæmophilus parainfluenzæ*

Tube D : mélange E. coli et Streptococcus B

Résultats

	Gélose « blanche »	Gélose nutritive ordinaire	Gélose au sang frais	Gélose au sang cuit
Suspension A		Bonne culture Un type de colonies	Bonne culture Un type de colonies	Bonne culture Un type de colonies
A		isolées	isolées	isolées
Suspension B		Aucune ou très faible culture	Bonne culture Un type de colonies isolées	Bonne culture Un type de colonies isolées
Suspension C	Aucune culture	Aucune ou très faible culture	Aucune ou très faible culture	Bonne culture Un type de colonies isolées
Suspension D		Un seul type de colonies isolées semblables à celles issues de A	Deux types de colonies isolées (A et B)	Deux types de colonies isolées (A et B)

D1/2011 16/18

PRINCIPAUX INHIBITEURS ET BACTERIES INHIBEES		
Inhibiteurs	Principales bactéries inhibées	Principales bactéries sélectionnées
Chlorure de sodium à forte concentration (75 g/L)	Nombreuses bactéries Gram -, Streptococcus	Staphylococcus, Culture possible de certaines souches de Micrococcus, Enterococcus, Corynebacterium
Bile ou désoxycholate de sodium (un sel biliaire)	Nombreuses bactéries Gram +	Bactéries Gram -, Enterococcus
Cristal violet	Bactéries Gram +	Bactéries Gram -
ANC (Acide Nalidixique-Colimycine)	Nombreuses bactéries Gram -	Nombreuses bactéries Gram +
Cétrimide		Pseudomonas
Tellurite	Nombreuses bactéries Gram -	Staphylococcus, Corynebacterium, Listeria
Vert brillant	Nombreuses bactéries Gram +	Nombreuses bactéries Gram -

D1/2011 17/18

Composition des milieux d'isolement des bactéries aérobies

Composants	Quantité (par litre d'eau)	Utilisation/Lecture
Agar	15,0 g	
Peptones	5,0 g	
Extraits de viande	1,0 g	
Extraits de levure	2,0 g	Milieu ordinaire permettant l'isolement des
Chlorure de sodium	5,0 g	bactéries à culture facile
Agar	15,0 g	
	pH = 7,4	
Peptones	23,0 g	Gélose enrichie par l'apport de sang frais.
Amidon	1,0 g	Le sang frais est source de facteurs de croissance et neutralise certains inhibiteurs
Chlorure de sodium	5,0 g	présents dans la gélose ou libérés par les
Agar Agar	10,0 g	bactéries. Il permet, en outre, de mettre en
	5 % rajouté à la gélose	évidence le caractère hémolytique des
_		bactéries.
		La « cuisson » du sang permet de libérer
		certains facteurs de croissance présent dans
Agar		les hématies et/ou associés à des protéines du
		sang.
		Le chauffage permettrait également la
Sang frais stérile		destruction de certains inhibiteurs.
	Agar Peptones Extraits de viande Extraits de levure Chlorure de sodium Agar Peptones Amidon Chlorure de sodium	Agar 15,0 g Peptones 5,0 g Extraits de viande 1,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Agar 15,0 g Agar 15,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Apar 15,0 g Apar 15,0 g Amidon 1,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Agar 10,0 g Sang frais stérile 5 % rajouté à la gélose en surfusion Peptones 23,0 g Amidon 1,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Sang frais stérile 5 % rajouté à la gélose en surfusion Peptones 23,0 g Amidon 1,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Som apar 10,0 g Som apar 10,0 g Chlorure de sodium 5,0 g Agar 10,0 g Som apar 10,0 g

D1/2011 18/18

SEQUENCE	Contrôles microbiologiques dans les industries agro-alimentaires	
SEANCE	Analyses bactériologiques d'eaux	
OBJECTIF	Comparer des techniques de dénombrement des bactéries	
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB	
Manipulations proposées	Matière d'œuvre	
Dénombrement <i>d'Escherichia coli</i> par filtration sur membrane (Protocole 1)	Eau de réseau : 300 mL Culots de 15 mL de gélose lactosée au tergitol en surfusion à 55°C Solution de chlorure de triphényl-tétrazolium (TTC) à 0,25% Gélose ensemencée fournie : gélose lactosée au TTC-tergitol résultant d'une filtration précédente après incubation 24h à 30°C.	
Dénombrement dans la masse des micro- organismes aérobies revivifiables à 37°C (Protocole 2)		
Résultats expérimentaux d'un dénombrement de coliformes totaux (Protocole préalablement réalisé)	Milieux ensemencés fournis : bouillons biliés lactosés au vert brillant (BLBVB) + cloches, ensemencés par 3 dilutions décimales de l'eau étudiée, Eau douce superficielle , à raison de 3 tubes par dilution et de 1 mL par tube, incubés 24h à 30°C.	

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB

Milieux de culture courants utilisables pour l'analyse d'eaux (Annexe 1)

Extrait du Journal Officiel de la République Française du 22/12/01 donnant les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (**Annexe 2**)

Extrait de la norme ISO 7218 : 1996- Paragraphe 9.3 présentant le dénombrement par utilisation d'un milieu solide (à disposition dans le laboratoire).

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Document présentant les résultats d'un dénombrement des micro-organismes aérobies revivifiables sur une eau embouteillée après incubation à 37°C correspondant au **protocole 2**

Résultats expérimentaux d'un dénombrement de coliformes totaux sous forme de milieux ensemencés

Documents d'interprétation

Milieux de culture courants utilisables pour l'analyse d'eaux (Annexe 1)

Extrait du Journal Officiel de la République Française du 22/12/01 donnant les limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine (**Annexe 2**)

Extrait de la norme ISO 7218 : 1996 : dénombrement en milieux solide et liquide (à disposition dans le laboratoire).

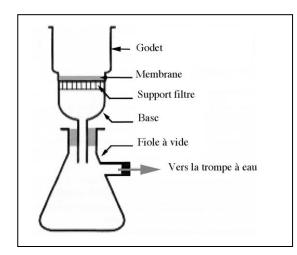
E1/2011 Page 1/7

Protocole 1

Dénombrement d'Escherichia coli par filtration sur membrane

Matière d'œuvre

- Eau de réseau : 300 mL
- 1 appareil à filtrer
- 2 membranes filtrantes en acétate de cellulose (porosité 0,45 μm)
- Pinces métalliques
- 2 boîtes de Pétri 60 mm
- 1 pipette automatique 200 μL
- 1 éprouvette stérile
- 300 mL d'eau distillée stérile
- 3 mL solution de chlorure de triphényl-tétrazolium (TTC) à 0,25%
- 2 culots de 15 mL de gélose lactosée au tergitol en surfusion à 55°C



L'appareil est un simple système de filtration sous pression réduite (trompe à eau). Il contient un support filtre qui reçoit, sur une partie à larges pores, la membrane de filtration. Le godet permet de recevoir l'eau à analyser. Les deux parties doivent s'assembler de manière solide. L'ensemble est stérile ou stérilisable.

Les membranes utilisées (en ester de cellulose) sont généralement quadrillées, et les pores ont un diamètre de 0,45 mm.

Technique

- Le matériel doit être situé en zone stérile près du bec électrique.
- Poser la membrane stérile sur le support à l'aide de la pince stérilisée et refroidie (quadrillage au dessus).
- Placer le godet sur le support.
- Verser doucement le volume d'échantillon à analyser : 100 mL d'eau du réseau
- Créer l'aspiration et filtrer l'échantillon.
- Prendre de l'eau stérile et la verser dans le flacon qui contenait l'échantillon, puis la filtrer dans le godet afin d'être certain de ne pas laisser de bactéries de l'échantillon dans le flacon ou sur la paroi du godet.
- Faire sécher la membrane en effectuant plusieurs petits vides.
- Interrompre l'aspiration et oter le godet.

Mise en culture

- Retirer la membrane à l'aide de deux pinces stérilisées et refroidies
- La positionner sur la gélose lactosée au TTC-tergitol (préalablement coulée en boîte de Pétri de 60 mm), quadrillage au-dessus, sans faire de bulles.
- Incuber, sans retourner le milieu de culture, à 30°C pendant 24 heures.

Résultats

Les résultats issus d'une filtration précédente sont fournis sur gélose lactosée au TTC-tergitol après incubation 24h à 30°C.

E1/2011 Page 2/7

Dénombrement dans la masse des micro-organismes aérobies revivifiables à 37°C

- A partir de l'échantillon d'eau, réaliser des dilutions décimales jusqu'à 10⁻³.
- Ensemencer les géloses pour dénombrement à raison de 1 mL par boîte et 2 essais par dilution.

Matière d'œuvre

- Eau embouteillée: 50 mL
- Tubes de 9 mL de diluant
- Boîtes de Pétri 90 mm
- Pipettes graduées stériles 1 mL
- 1 flacon de 120 mL de gélose pour dénombrement en surfusion à 55°C

Résultats

Les résultats isus d'un dénombrement précédent sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Dilutions			
	10 ⁻¹	10-2	10-3
Nombre de	10	10	10
colonies par boîte			
Essai 1	280	24	4
Essai 2	261	26	0

E1/2011 Page 3/7

Annexe 1

Milieux de culture courants utilisables pour l'analyse d'eaux

Gélose pour dénombrement (PCA)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose glucosée à l'extrait de levure, appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" ou PCA, est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychrotrophes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

PRINCIPE

Les substances nutritives apportées par la Tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à dénombrer.

PREPARATION

- Mettre en suspension 20,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

PROTOCOLE

- Avec les milieux prêts-à-liquéfier (ou bien si le milieu est préparé à l'avance à partir du milieu déshydraté), faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.
- Refroidir et maintenir à 44-47°C.
- Transférer 1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales successives dans des boîtes de Pétri stériles.
- Couler 10 à 15 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler éventuellement 4 mL de gélose blanche stérile.
- Laisser solidifier à nouveau.
- Incuber :
 - à 30°C pendant 72 heures pour la recherche des microorganismes mésophiles
 - à 55°C pour les microorganismes thermophiles
 - à 6,5°C pendant 10 jours pour les microorganismes psychrophiles

LECTURE

Procéder au comptage des colonies pour chaque boîte contenant entre 10 au minimum et 300 colonies au maximum, suivant les normes appliquées. Lorsqu'elles sont cultivées sur PCA additionné de lait, les bactéries caséolytiques forment un halo plus clair autour de chaque colonie (protéolyse de la caséine du lait).

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone 5,0 g - Extrait autolytique de levure. 2,5 g - Glucose 1,0 g - Agar agar bactériologique 12,0 g pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25° C : $7,0 \pm 0,2$.

E1/2011 Page 4/7

Gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée au TTC et au Tergitol 7 permet d'effectuer les recherches et dénombrements des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux, notamment celles destinées à la consommation humaine, par la méthode des membranes filtrantes.

PRINCIPE

- Le Tergitol 7 inhibe la croissance des microorganismes à Gram positif, limite l'envahissement par les *Proteus* et favorise la récupération des coliformes.
- Les coliformes présentent des colonies de coloration jaune ou orangée, à l'intérieur d'un halo jaune visible sous la membrane. Celui-ci est provoqué par l'acidification du lactose en présence de l'indicateur coloré, le bleu de bromothymol.
- Les autres microorganismes présentent des colonies dont la coloration rouge est due à la réduction du TTC en formazan insoluble.
- Les microorganismes qui ne fermentent pas le lactose présentent des colonies entourées d'un halo bleu.

PREPARATION

- Mettre en suspension 51,1 g de milieu de base déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons, à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

PROTOCOLE

- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Ajouter stérilement 1 mL de supplément TTC reconstitué par flacon de 100 mL de milieu.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Pétri stériles (l'épaisseur de gélose doit être égale à au moins 5 mm).
- -Laisser solidifier sur une surface froide.
- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé ramené préalablement à température ambiante, déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à $(36 \pm 2)^{\circ}$ C pendant (21 ± 3) h et (44 ± 4) h [si nécessaire, pour les boîtes ne présentant pas de colonies typiques après (21 ± 3) h].

LECTURE

Examiner les membranes et considérer comme typiques toutes les bactéries lactose-positif, quelle que soit leur taille, si le milieu sous la membrane présente une coloration jaune.

Repiquer un nombre représentatif de toutes les colonies typiques obtenues sur une gélose caséine- soja non sélective et dans un bouillon au tryptophane afin de réaliser le test à l'oxydase ainsi que celui de la révélation de la production d'indole à partir du tryptophane, dans le cadre de l'essai standard décrit dans la norme NF EN ISO 9308-1 parue en septembre 2000.

Compter comme coliformes toutes les colonies typiques pour lesquelles la recherche de l'oxydase est négative. Toutes les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase, mais positive à l'indole, seront considérées comme étant des *Escherichia coli*.

FORMULE - TYPE du milieu complet (pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande	10,0 g
- Extrait de viande	5,0 g
- Extrait autolytique de levure	6,0 g
- Lactose	20,0 g
- Tergitol 7	0,1 g
- Bleu de bromothymol	50,0 mg
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium	25,0 mg
- Agar agar bactériologique	10,0 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25° C : 7.2 ± 0.2 .	

E1/2011 Page 5/7

Bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB)

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon lactosé bilié au vert brillant est utilisé pour les recherche et dénombrement des coliformes, des coliformes thermotolérants et d'*Escherichia coli* (Test de Mackenzie) dans le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires, les eaux d'alimentation et les eaux résiduaires.

PRINCIPE

- La présence simultanée de bile de bœuf et de vert brillant provoque l'inhibition de la presque totalité des microorganismes à Gram-positif et des bactéries à Gram-négatif autres que les coliformes.
- La teneur en vert brillant est spécialement déterminée afin d'empêcher la croissance des anaérobies fermentant le lactose à 44°C, ce qui évite l'obtention de résultats faussement positifs.
- Le développement des coliformes se manifeste par l'apparition d'une turbidité, associée à une production de gaz dans la cloche de Durham par suite de la fermentation du lactose.

PROTOCOLE

- Ensemencer les tubes de bouillon ainsi préparés ou de milieu prêt-à-l'emploi avec 1 mL d'inoculum et de ses dilutions décimales successives.
- Pour les coliformes, incuber pendant 24 et 48 heures à 30 ou à 37°C, suivant la norme analytique à respecter.
- Pour les coliformes thermotolérants, incuber pendant 24 et 48 heures à 44°C.

LECTURE

La fermentation du lactose, qui se traduit par l'apparition de gaz dans les cloches de Durham (volume au minimum égal au 1/10ème du volume de la cloche) en moins de 48 heures, indique la présence de coliformes. L'identification des microorganismes peut être pratiquée à partir des tubes gazogènes au moyen de subcultures sur des milieux gélosés appropriés : gélose lactosée au BCP ou gélose EMB (Levine).

Pour confirmer la présence d'Escherichia coli, on peut pratiquer le test de Mackenzie de la manière suivante :

- Inoculer à la fois dans un tube de BLBVB muni d'une cloche et dans un tube d'eau peptonée exempte d'indole une öse bouclée du contenu des tubes gazogènes.
- Incuber à (44.0 ± 0.5) °C dans un bain thermostaté pendant 24 et 48 heures.
- Dans ces conditions, Escherichia coli présente simultanément les caractères suivants :
 - culture sur BLBVB : positive et gazogène.
 - production d'indole (réactif d'Ehrlich-Kovacs) : positive.

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Bile de bœuf déshydratée 20 g - Peptone 10 g - Lactose 10 g - Vert brillant 0,0133 g pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25° C : 7.2 ± 0.2

E1/2011 Page 6/7

Annexe 2

Extrait du Journal Officiel de la République Française du 22/12/2001

(...)

I -1. Limites de qualité des eaux destinées à la consommation humaine

Partie A - Paramètres microbiologiques

Les eaux de distribution doivent respecter les valeurs suivantes :

1	
PARAMETRES	LIMITE DE QUALITE
	(nombre/100 mL)
Escherichia coli (E.coli)	0
Entérocoques	0

Les eaux vendues en bouteille ou en conteneurs doivent respecter des valeurs inférieures ou égales aux limites suivantes à l'exception des eaux de source préemballées pour lesquelles les limites sont celles fixées par l'article 14bis et par le 1-3 de l'annexe 1 du décret 89-369 du 6 juin 1989 modifié :

Tixees par i arriere i 1015 et par le 1 5 de 1 arriere 1 da decret 05 305 da 0 juin 1505 modifie :						
PARAMETRES	LIMITE DE QUALITE					
Escherichia coli (E.coli)	0/250 mL					
Entérocoques	0/250 mL					
Pseudomonas aeruginosa	0/250 mL					
Germes aérobies revivifiables à 22°C	100/mL					
Germes aérobies revivifiables à 37°C	20/mL					
Bactéries sulfito-réductrices, y compris les spores	0/50 mL					

(...)

I-3 Limites de qualité microbiologique des eaux douces superficielles utilisées ou destinées à être utilisées pour la production d'eaux destinées à la consommation humaine

Les eaux doivent respecter des valeurs inférieures ou égales aux limites suivantes ou être comprises dans les intervalles suivants :

G : valeur guide ; I : valeur impérative (pas de nombre en microbiologie)

A1, A2, A3 : type de traitement à appliquer dans la station de production d'eau potable

()

()								
PARAMETRES	A1	l	A2		A3			
I ARAMETRES	G	I	G	I	G	I		
Coliformes totaux 37°C (/100 mL)	50		5 000		50 000			
Escherichia coli (/100 mL)	20		2 000		20 000			
Entérocoques (/100 mL)	20		1 000		10 000			
Salmonelles	0 / 5 000 mL		0 / 1 000 mL					
Traitements préconisés	Physique simple + désinfection		Physico-chimique + désinfection		Physico-chimique + affinage + désinfection			

E1/2011 Page 7/7

SEQUENCE	Les techniques immunologiques d'agglutination
SEANCE	Les agglutinations de particules sensibilisées
OBJECTIF	Montrer comment les techniques d'agglutination permettent d'évaluer le statut immunologique d'un patient vis-à-vis de la toxoplasmose
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB
Manipulations proposées	Matière d'œuvre
Réalisation d'une recherche d'anticorps anti-toxoplasme Toxo Latex Fumouze® (Protocole 1 : technique qualitative)	Sérum du patient en tube <i>Eppendorf</i> (100 μL) noté « L »
Dosage d'anticorps anti-toxoplasme Méthode Toxo HAI Fumouze® (Protocole 2)	Sérum du patient dilué au 1/40 ^{ème} en tube <i>Eppendorf</i> (300 μL) noté « H »

Ressources documentaires techniques fournies

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB

Fiche technique Toxo Latex Fumouze®: détection d'anticorps anti-toxoplasme (Protocole 1)

Méthode Toxo HAI Fumouze® : dosage d'anticorps anti-toxoplasme (**Protocole 2**)

Fiche de sécurité (Annexe 1)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux

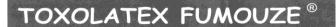
Groupage sanguin pour les marqueurs du système ABO et Rhésus standard (Annexe 2)

Documents d'interprétation

Fiche technique Toxo Latex Fumouze®

Méthode Toxo HAI Fumouze®

E2/2011 Page 1/6





TEST AU LATEX SUR LAME POUR LA DETECTION DES ANTICORPS SERIQUES DIRIGES CONTRE Toxoplasma gondii

BUT DU TEST :

TOXOLATEX FUMOUZE® est un test au latex d'agglutination sur lame permettant la détection rapide des anticorps sériques dirigés contre *Toxoplasma gondii*.

PRINCIPE

TOXOLATEX FUMOUZE® est basé sur le principe de l'agglutination de particules de latex sensibilisées par un antigène toxoplasmique qui permet de détecter à la fois les anticorps de type IgG et de type IgM. La présence d'anticorps anti-*Toxoplasma gondii* sériques entraîne l'apparition d'une agglutination, visible à l'œil nu, des particules de latex. En l'absence d'anticorps spécifiques, on n'observe aucune agglutination.

TOXOLATEX FUMOUZE® permet donc un dépistage rapide des sérums qui seront ensuite testés par les techniques quantitatives habituelles (Dye-test, Hémagglutination Indirecte, Immunofluorescence, Agglutination Directe, Techniques immuno-enzymatiques...).

La manipulation est simple et rapide. Les résultats sont obtenus en 6 minutes maximum.

COMPOSITION DU COFFRET :

- Réactif latex
- Contrôle positif (origine animale)
- Contrôle négatif (origine animale)
- Tampon glycocolle pH 8,2
- 1 compte-gouttes spécial
- Agitateurs à usage unique
- Lames à usage unique
- Notice d'utilisation

Remarque: Utiliser exclusivement le compte-gouttes fourni dans le coffret.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI:

- Micropipette distribuant 25 μL, micropipette 100-1000 μL
- Tubes à hémolyse
- Conteneur pour déchets contaminés

STOCKAGE DES REACTIFS:

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Ils doivent être stockés à +2°...+8°C. Après ouverture, ils sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret. Ne pas congeler.

RECUEIL / PREPARATION / CONSERVATION DES ECHANTILLONS :

Utiliser du sérum fraîchement prélevé.

Les échantillons sériques peuvent être conservés 24 heures à +2°...+8°C. Si le test n'est pas effectué dans les 24 heures qui suivent le prélèvement, ils doivent être congelés à -20°C. Il est recommandé de préparer des aliquots pour éviter les congélations et décongélations successives.

Ne pas décomplémenter le sérum.

Ne pas utiliser de sérum hémolysé, trouble ou contaminé.

PRECAUTIONS D'UTILISATION:

Pour usage in vitro.

E2/2011

- Pour usage professionnel uniquement.
- Ne pas utiliser de réactif latex ni de contrôles provenant de lots différents.
- Respecter les instructions de la notice d'utilisation.
- Laisser les réactifs et les échantillons revenir à température ambiante avant d'effectuer le test.
- Les lames fournies dans le coffret sont à usage unique.
- Ne pas toucher les surfaces des lames destinées aux réactions.

- Agiter soigneusement le réactif latex avant utilisation.
- Lors de la distribution du réactif latex, veiller à ce que le compte-gouttes soit parfaitement vertical.
 Vérifier l'absence de bulles d'air dans les gouttes, afin que les volumes délivrés soient constants.
- En cas de versement accidentel de réactif, nettoyer le plan de travail à l'aide de papier absorbant et rincer avec de l'eau. En cas de versement de sérum, nettoyer à l'aide d'eau de Javel et de papier absorbant.
- Eviter tout contact de réactif avec la peau, les yeux et les muqueuses. Ne pas ingérer.
- Les sérums, les réactifs ainsi que le matériel et les produits contaminés doivent être éliminés dans un conteneur pour déchets contaminés, selon les recommandations et la réglementation en vigueur.
- Le réactif latex, les contrôles et le tampon glycocolle contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%). L'azide de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des composés explosifs. Il est donc recommandé de ne pas jeter les réactifs dans un évier sans rincer abondamment
- Le réactif latex et les contrôles contiennent du matériel d'origine animale. Par conséquent, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés avec précaution.

MODES OPERATOIRES:

Laisser les réactifs et les sérums à analyser revenir à température ambiante avant utilisation.

TECHNIQUE QUALITATIVE

- a. A l'aide d'une micropipette, déposer 25 µL de sérum à analyser sur une des cases de la lame.
- Agiter soigneusement le réactif latex et en déposer 1 goutte à l'aide du compte-gouttes fourni dans le coffret
- c. Mélanger les deux gouttes à l'aide d'un agitateur à usage unique et les étaler sur toute la surface de la case
- d. Appliquer à la lame un lent mouvement de rotation, jusqu'à 6 minutes si nécessaire, et observer la présence ou l'absence d'agglutination.

TECHNIQUE SEMI-QUANTITATIVE

En cas de résultat positif sur sérum pur, il est possible d'évaluer le taux d'anticorps toxoplasmiques en testant des dilutions croissantes du sérum à analyser en tampon glycocolle (6), jusqu'à obtention d'une réaction négative.

a. Préparer une série de dilutions du sérum dans le tampon glycocolle, comme indiqué ci-dessous :

Tube 1	0,25 mL d'échantillon	0,75 mL de tampon glycocolle	Dilution 1/4
Tube 2	0,5 mL du tube 1	0,5 mL de tampon glycocolle	Dilution 1/8
Tube 3	0,5 mL du tube 2	0,5 mL de tampon glycocolle	Dilution 1/16
Tube 4	0,5 mL du tube 3	0,5 mL de tampon glycocolle	Dilution 1/32
Tube 5	0,5 mL du tube 4	0,5 mL de tampon glycocolle	Dilution 1/64

 Effectuer un test sur lame avec chaque dilution en suivant la technique décrite au paragraphe "TECHNIQUE QUALITATIVE".

CONTROLE DE QUALITE INTERNE :

Chaque coffret TOXOLATEX FUMOUZE® contient des contrôles positif et négatif. Ils sont prêts à l'emploi et doivent être traités comme les sérums à analyser. Ils permettent de valider le test. Le contrôle positif doit présenter une agglutination et le contrôle négatif une absence d'agglutination. Si tel n'est pas le cas, le test n'est pas valide.

INTERPRETATION DES RESULTATS:

REACTION POSITIVE: Agglutination visible à l'œil nu avec éclaircissement du milieu.

⇒ Présence d'anticorps anti-toxoplasme témoignant, soit d'une infection

ancienne, soit d'une toxoplasmose évolutive.

REACTION NEGATIVE: Pas d'agglutination.

➡ Absence d'anticorps anti-toxoplasme et absence d'immunité probable.

Le titre est donné par la plus haute dilution donnant une agglutination nette, visible à l'œil nu. Le titre en Ul/mL est égal à l'inverse de cette dilution limite multiplié par le seuil de sensibilité du réactif indiqué sur le coffret.

<u>Exemple</u>: Si un sérum est positif jusqu'à la dilution 1/64, et que le seuil de sensibilité est de 5 Ul/mL, le titre de ce sérum sera alors de $64 \times 5 = 320 \text{ Ul/mL}$.

Remarques:

- La cinétique de la réaction d'agglutination du TOXOLATEX FUMOUZE® est souvent liée au taux d'anticorps anti-toxoplasme du sérum testé. Ainsi, dans la zone des titres élevés en IgG, ou en présence de sérums de toxoplasmose débutante contenant des IgM, l'agglutination peut apparaître dans les 30 premières secondes. Par contre, pour les taux limites, l'agglutination peut être plus lente et n'apparaître qu'après 5 minutes.
- Une légère granulation de fond, sans éclaircissement du milieu, ne doit pas être confondue avec une agglutination et doit être considérée comme une réaction négative.
- Des sérums fortement positifs peuvent donner, exceptionnellement, un phénomène de prozone. En cas de doute, répéter le test sur le sérum dilué au 1/3 ou au 1/5.

RESULTATS EXPRIMÉS EN UNITES INTERNATIONALES / ML:

Le seuil de sensibilité du réactif en UI/mL est indiqué sur le coffret.

Lors de la réponse immunitaire, l'individu développe plusieurs types d'anticorps, dirigés contre les antigènes toxoplasmiques différents. Le pourcentage relatif de chacun de ces anticorps dans le sérum peut varier d'un sujet à l'autre, et, chez un même sujet, selon le stade d'évolution de l'infection.

La sensibilité des techniques proposées pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose vis-à-vis de chacun de ces anticorps varie selon la nature de l'antigène utilisé dans la réaction.

De plus, l'étalon international peut contenir un pourcentage relatif en chacun des anticorps, différent de celui du sérum à tester.

Le titre exprimé en Ul/mL peut donc varier significativement selon les méthodes utilisées.

C'est pourquoi, il est indispensable de préciser la technique utilisée pour rendre les résultats du diagnostic en unités internationales.

PERFORMANCES

Le réactif TOXOLATEX FUMOUZE® est constitué de particules de latex sensibilisées par un antigène toxoplasmique total mixte qui comprend à la fois les constituants endogènes et les constituants membranaires du toxoplasme. Il assure sensibilité et spécificité à la réaction.

membranaires du toxoplasme. Il assure sensibilité et spécificité à la réaction.

Ainsi, les résultats des évaluations du test montrent une sensibilité de 98,8 % et une spécificité de 97,2 %.

De plus, lorsque ce réactif est associé au TOXO-HAI FUMOUZE®, on obtient alors une corrélation allant de 98,2 (6) à 99,8 % (3) selon la technique de référence utilisée.

Lors de la "Réévaluation de 40 trousses de réactifs pour la détection des anticorps anti-toxoplasmose de type IgG" par l'Agence du Médicament en mars 1998 (7), 40 sérums différents ont été testés par le **TOXOLATEX FUMOUZE***:

- 9 sérums négatifs ont donné des résultats négatifs ;
- 7 réactions positives ont été trouvées sur 7 sérums positifs-limites testés ;
- 24 sérums positifs ont été identifiés comme tels.

Limites de la méthode :

Une réaction positive du **TOXOLATEX FUMOUZE**° indique la présence d'anticorps anti-toxoplasme dont la nature IgG ou IgM doit être précisée par une autre méthode (IEA, IF, etc...).

La nomenclature française des actes de biologie médicale précise que l'on doit réaliser deux tests simultanément pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. L'interprétation globale de cette sérologie devra donc être faite en fonction des résultats des différentes techniques utilisées.

Dans tous les cas, il est nécessaire d'intégrer l'ensemble des données cliniques, épidémiologiques et biologiques avant d'établir le diagnostic final.

SERODIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE : Kit TOXO HAI Fumouze®

Principe

La détection d'anticorps agglutinant anti-toxoplasme est réalisée par agglutination d'hématies de mouton formolées et sensibilisées par un antigène toxoplasmique total (constituants endogènes solubles et constituants membranaires insolubles du toxoplasme). Une dilution en série du sérum du sujet permet de titrer les anticorps anti-toxoplasme.

Matière d'oeuvre

Sérum du patient adsorbé dilué au 1/40ème (H) :	Microplaque à fond conique
300 μL	
Hématies sensibilisées (GRS) : 500 μL	Pipette automatique P20, P100 avec cônes
Hématies non sensibilisées (GRNS) : 100 μL	Agitateur vibrant pour plaques 96 puits
Solution tampon phosphate pH 7,2 (Tp) : 2mL	Gants
Sérum de contrôle positif (S+) : 150 μL	Miroir de lecture
Sérum de contrôle négatif (S-): 150 μL	Conteneur pour DASRI

- Remarques : le sérum du patient a été préalablement adsorbé sur des globules de mouton et dilué au 1/40^{ème} en tampon phosphate pH 7,2.
 - la technique peut être réalisée en parallèle sur un sérum de contrôle positif titré afin de valider quantitativement la manipulation.

Mode opératoire

- Travailler sur une ligne de la plaque à fond conique.
- Dilutions en série du sérum du sujet : dans les cupules 2 à 8, réaliser une série de dilutions du sérum:
 - o de raison 2
 - o en tampon phosphate pH 7,2
 - o permettant d'obtenir les dilutions 1/80 à 1/5120
 - o sous un volume final de 50 μL.
- Témoins et contrôles qualité :
 - O Déposer 50 μL de sérum au 1/40 de la cupule 1.
 - o Distribuer 50 µL de tampon dans les cupules 11 et 12.
 - o Délivrer 50 µL de sérum contrôle positif en cupule 9 et de sérum contrôle négatif en cupule 10.
- Ajouter un volume de 20 µL:
 - o de globules rouges sensibilisés dans les cupules 2 à 11.
 - o de globules rouges non sensibilisés dans les cupules 1 et 12.
- Tapoter la plaque ou homogénéiser sur un agitateur.
- Laisser incuber à la température du laboratoire (sans vibration) 1 heure 30

Lecture et interprétation

- Observer, après incubation, les fonds des cupules en y recherchant un voile d'agglutinats ou un bouton de sédimentation.
- Interpréter les témoins, valider la technique à l'aide des contrôles puis donner le titre du sérum correspondant à la dilution la plus forte du sérum donnant encore une agglutination.
- Conclure en sachant que le seuil est supérieur au 1/80ème pour un taux d'anticorps significatif d'une toxoplasmose ancienne (immunité) ou évolutive.

E2/2011 Page 4/6

Annexe 1

Fiche de sécurité

Kits	Identification des dangers	Mesures préventives
Toxo-Latex Fumouze®	 Produits classés non dangereux selon la directive 1999/45/CE Aucun effet néfaste pour la santé humaine et l'environnement Contient des substances d'origine animale donc doit être considéré comme potentiellement infectieux 	 Port des gants, éviter le contact avec la peau et les yeux, ne pas ingérer Port d'un vêtement de protection approprié Elimination après décontamination (autoclave ou trempage à l'eau de javel) ou par emploi de container spécial
Toxo-HAI Fmouze®	 Produits classés non dangereux selon la directive 1999/45/CE Aucun effet néfaste pour la santé humaine et l'environnement Contient des substances d'origine animale et peut contenir des substances d'origine humaine donc doit être considéré comme potentiellement infectieux 	 Port des gants, éviter le contact avec la peau et les yeux, ne pas ingérer Port d'un vêtement de protection approprié Elimination après décontamination (autoclave ou trempage à l'eau de javel) ou par emploi de container spécial

E2/2011 Page 5/6

Annexe 2

GROUPAGES SANGUINS: SYSTEME ABO ET RHESUS STANDARD

Principe:

Les agglutinogènes et des agglutinines sont mis en évidence par agglutination active directe. L'utilisation de sérums test et d'hématies test permet de détecter la présence respective d'agglutinogènes et d'agglutinines par formation d'un réseau de complexes immuns formant des grains visibles à l'œil nu.

Produits biologiques, matériel et réactifs

→ **Produit biologique** : sang du sujet prélevé sur EDTA.

→ Réactifs :

- sérums tests anti A, anti B, anti A + anti B et anti D
- hématies tests de groupe A, B, O et rhésus +
- plaque pour groupage à usage unique
- équipements de protection individuelle
- conteneur pour DASRI

Technique:

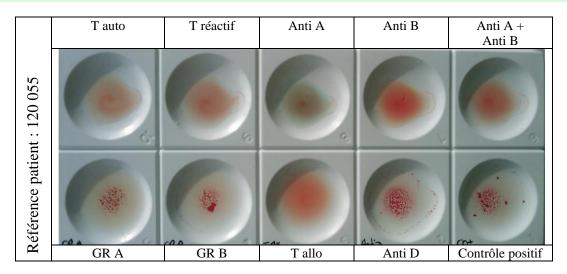
- Centrifuger le sang du sujet 4 minutes à 750 g.
- Séparer le plasma des hématies.
- Diluer les hématies du sujet à 10% en eau physiologique.
- Référencer la plaque de groupage à usage unique.
- Déposer les réactifs puis les hématies diluées et/ou le plasma du sujet selon le schéma du tableau cidessous.

Témoin auto (T auto)	Témoin « réactif » (T réactif)		Anti B	Anti A + Anti B (anti A.B)	GR A	GR B	Témoin allo (T allo)	Rhésus (anti D)	Contrôle positif
II sérum	I réactif	I réactif	I réactif	I réactif	I GR A	I GR B	I GR O	I réactif	I réactif
du sujet	diluant	anti A	anti B	anti A +				antiD	anti D
				anti B					
I GR	I GR	I GR	I GR	I GR	II plasma	II plasma	II plasma	I GR	I GR
du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	du sujet	Rhésus+

I: 1 goutte; II: 2 gouttes; GR: hématies

- Homogénéiser la plaque par oscillations.
- Observer les éventuels agglutinats.

Résultats:



Interprétation:

Interpréter les résultats obtenus et conclure sur les groupes sanguins ABO et Rhésus du sujet.

E2/2011 Page 6/6

SEQUENCE	L'hémogramme
SEANCE	Bilan leucocytaire
OBJECTIF	Effectuer, rendre et interpréter un bilan leucocytaire à partir d'un échantillon de sang recueilli sur anticoagulant par techniques manuelle et automatisée
NIVEAU D'ENSEIGNEMENT	Terminale STL BGB
Manipulations proposées	Matière d'œuvre
Réalisation de frottis sanguins (Protocole 1)	Tube de sang d'un patient A
Coloration de frottis sanguins par la méthode de May Grünwald Giemsa (MGG) (Protocole 2)	Tube de sang d'un patient A
Réalisation d'une formule leucocytaire (Protocole 3)	Frottis sanguin coloré au MGG

Ressources documentaires techniques

Extrait du programme du baccalauréat STL BGB Indications sur la prévention du risque (Annexe 1) Fiche d'identification des différents leucocytes (Annexe 2)

Protocoles et/ou résultats expérimentaux fournis

Résultats de la numération leucocytaire (Annexe 3)

Résultats de l'hémogramme automatisé d'un patient B (Annexe 4)

Documents d'interprétation

Valeurs de référence de l'hémogramme (Annexe 5)

Intervalle de confiance – Table statistique selon Rumke (Annexe 6)

Principe de fonctionnement de l'hémogramme automatisé (Beckman Coulter) (Annexe 7)

F2/2011 Page 1 sur 11

Réalisation des frottis sanguins

- Préparer le matériel et référencer les lames.
- Déposer une petite goutte de sang préalablement homogénéisé à l'extrémité d'une lame.
- Placer l'étaleur au niveau de la goutte et laisser diffuser toute la goutte de sang.
- Déplacer l'étaleur grâce à un mouvement de translation horizontale (angle étaleur-lame ≈ 45°), mouvement régulier sans appuyer sur la lame (juste garder le contact) jusqu'à épuisement du sang (au bout de la lame).
- Laisser sécher le frottis obtenu par déshydratation.

Matière d'œuvre

- Etaleur
- Pipette automatique avec cônes adaptés
- Pipette jetable à pointe effilée
- Conteneur pour déchets piquants coupants
- Gants
- Lot de pissettes pour nettoyage-désinfection
- 10 lames dégraissées avec zone dépolie

F2/2011 Page 2 sur 11

Réalisation de la coloration au May Grünwald Giemsa

- Recouvrir la lame de la solution pure de May Grünwald durant 3 minutes pour fixer le frottis par le méthanol.
- Ajouter sur le colorant un volume approximativement identique d'eau neutre et laisser agir 1 minute.

L'eau neutre est préparée en neutralisant de l'eau déminéralisée par de l'eau du robinet en présence d'un indicateur coloré, le bleu de bromothymol, permettant de visualiser un pH de 7,6

- Rincer la lame à l'eau neutre.
- Plonger la lame, frottis vers le bas, dans une solution de Giemsa dilué dans les proportions de 3 gouttes de colorant pour 2 mL d'eau neutre, présente dans une boite de Laveran et laisser agir 20 minutes.
- Rincer la lame à l'eau neutre.
- Nettoyer l'arrière de la lame.
- Laisser sécher en position verticale.

Matière d'œuvre

- Cuvette avec support pour lame
- Flacon d'Erlenmeyer
- Eprouvette de 25 mL graduée
- Boîte de Laveran
- Compte-gouttes
- Flacon de Bleu de bromothymol
- Flacon de May Grünwald
- Flacon de Giemsa
- Chronomètre
- Pissette d'eau de Javel à 0,4 % (1,2° de chlore actif)

F2/2011 Page 3 sur 11

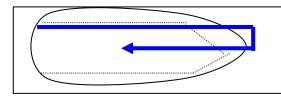
Réalisation d'une formule leucocytaire

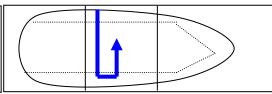
- Réaliser une observation au petit grossissement (x 400) pour apprécier la richesse cellulaire et repérer d'éventuels éléments de grande taille.
- Identifier et dénombrer les cellules rencontrées observées à fort grossissement (x1000 immersion) en utilisant un parcours de déplacement rigoureux et adapté à la richesse cellulaire et à la taille du frottis.

Les traits en pointillé indiquent la séparation entre les zones les plus riches en éléments les plus lourds (périphérie) et éléments légers (centre)

Cas d'un frottis de taille normale et d'une richesse cellulaire normale

Cas d'un frottis long ou d'une richesse cellulaire augmentée





Matière d'œuvre

- frottis de collection coloré au MGG
- compteur manuel

F2/2011 Page 4 sur 11

Annexe 1

<u>Indications sur la prévention du risque chimique</u>

Produits	Pictogrammes	Mentions d'avertissement	Mentions de danger	Conseils de prudence
Giemsa		Danger	H225 H331 H311 H301 H370	P210 P243 P280 P302+P352 P304+P340 P309+P310
May- Grünwald		Danger	H225 H331 H311 H301 H370	P210 P243 P280 P302+P352 P304+P340 P309+P310

F2/2011 Page 5 sur 11

Annexe 2 Fiche d'identification des différents types de leucocytes

mottes



GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) NEUTROPHILE

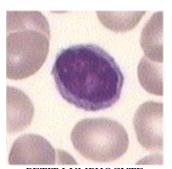
Aspect général Taille 12 à 14 µm et forme ronde

Taille: rapport N/P =1

Forme: polylobée (2 à 5) Chromatine dense en

allongées

Cytoplasme acidophile clair rempli de très nombreuses granulations fines, irrégulières et neutrophiles



PETIT LYMPHOCYTE

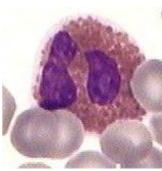
Aspect général Taille 9 à 12 µm Forme ronde Novau

Taille: rapport N/P >>1

Forme : ronde

Chromatine dense en mottes rondes

Cytoplasme basophile soutenu sans granulations



GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) **EOSINOPHILE**

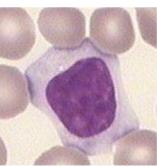
Aspect général Taille 12 à 14 µm et forme ronde

Taille: rapport N/P =1 Forme : polylobée (2)

Chromatine dense en mottes allongées

Cytoplasme

clair Acidophile rempli nombreuses granulations moyennes, régulières et éosinophiles



GRAND LYMPHOCYTE

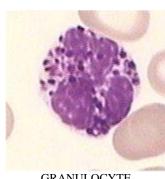
Aspect général Taille 10 à 15 µm Forme ronde ou déformée Noyau Taille : rapport $N/P \ge 1$

Forme: ronde, ovalaire ou en drapeau Chromatine légère avec quelques

mottes rondes

Cytoplasme basophile clair contenant quelques parfois granulations

moyennes et azurophiles



GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) **BASOPHILE**

Aspect général Taille 11 à 13 µm et forme ronde

Taille: rapport N/P >>1

Forme: polylobée (3 à 4) lobes

ronds

Chromatine dense

allongées Cytoplasme

Acidophile clair rempli de quelques grosses granulations basophiles

(parfois décolorées)



MONOCYTE

Aspect général

Taille 15 à 21 µm et forme ronde ou

déformée Noyau

Taille : rapport $N/P \le 1$

Forme: très polymorphe Chromatine légère et filamenteuse

Cytoplasme basophile clair rempli de très nombreuses et très fines granulations azurophiles (poussière)

F2/2011 Page 6 sur 11

Annexe 3

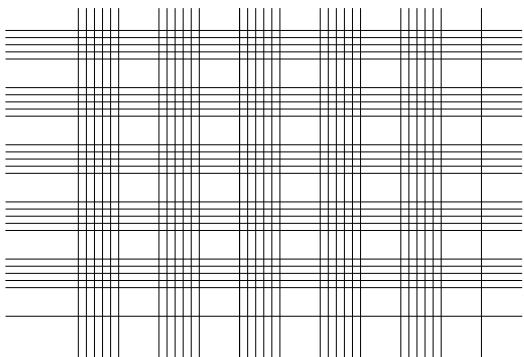
Résultats de la numération leucocytaire

Le dénombrement réalisé sur une dilution du sang au 1/20 dans une solution à base d'acide acétique à 3 % et sur la totalité de la cellule de Malassez a donné les résultats suivants :

Premier dénombrement : 394

Deuxième dénombrement : 406

Caractéristiques du quadrillage de MALASSEZ



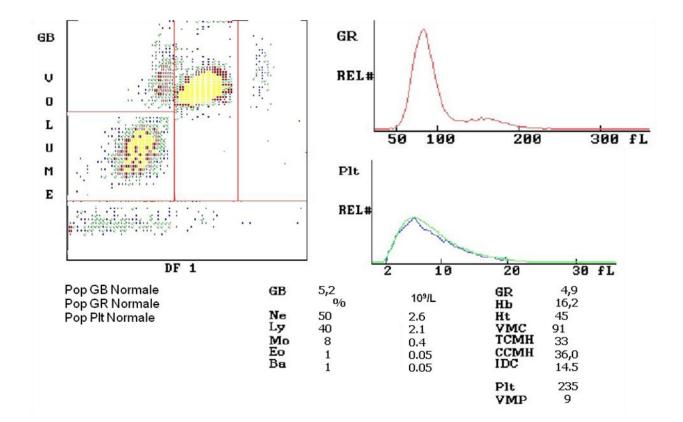
Surface 2,5 mm x 2 mm = 5 mm^2

Profondeur 1/5 mm

F2/2011 Page 7 sur 11

Annexe 4

Résultats de l' hémogramme automatisé d'un patient B (Automate Beckman Coulter)



DF1 : lumière diffractée REL : quantité relative

Les résultats de l'hémogramme sont souvent fournis avec :

- les résultats des dénombrements ou dosages réellement effectués
 - Nombre des érythrocytes (GR, ERC, RBC),
 - o Nombre des globules blancs (GB, WBC, LKC)
 - o Nombre des thrombocytes (Plt)
 - o Dosage de l'hémoglobine (Hb),
 - Volumes moyens: VGM (VMC), VPM (VMP)
- les calculs
 - O De l'hématocrite (Ht),
 - o Des indices érythrocytaires (TGM ou TCMH, CCHM ou CCMH)
- les résultats des histogrammes de distribution
- les calculs des indices de distribution des populations
 - o IDR (Indice de Distribution des Rouges = IDC ou RDW) < 15%
 - o IDP (Indice de Distribution Plaquettaire)
- les populations leucocytaires localisées selon plusieurs critères (plusieurs axes)

F2/2011 Page 8 sur 11

Annexe 5
Valeurs de référence de l'hémogramme

			VALEURS DE REFERENCE		
		UNITES	HOMME	FEMME	
	Numeration	10 ¹² (ou T)/L de sang	4,5 – 5,5	4-5	
BILAN	HEMATOCRITE	L GR/L sang	0,40-0,50	0,37-0,47	
ERYTHROCYTAIRE	HEMOGLOBINE	g/L sang	140-180	120-160	
	VGM	fL	80-1	.00	
	ТСМН	pg	27-32		
	ССНМ	g/L Globules rouges	320-370		
	Numeration	10 ⁹ (OU G)/L DE SANG	4 - 10		
			%	10 ⁹ /L	
		GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) NEUTROPHILE	50 - 70	2 - 7	
BILAN		GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) EOSINOPHILE	1-3	< 0,5	
LEUCOCYTAIRE	FORMULE LEUCOCYTAIRE	GRANULOCYTE (POLYNUCLEAIRE) BASOPHILE	0 - 1	< 0,2	
		L үмрносүте	20 - 40	0,8 - 4	
		MONOCYTE	5 - 10	<1,5	
BILAN THROMBOCYTAIRE	Numeration	10 ⁹ (OU G)/L DE SANG	200-	400	

F2/2011 Page 9 sur 11

Annexe 6
<u>Intervalle de confiance pour la formule leucocytaire</u>
Table statistique selon Rumke (1977)

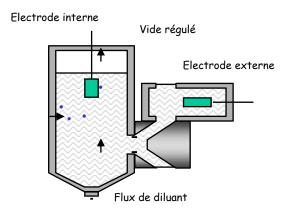
Cellules comptées	N =	= 50	N =	100	N =	200	N =	500	N =	1000
Écart	de	à	de	à	de	à	de	à	de	à
%										
Moyenne %	0		0	4	0	2	0	1	0	1
0	0	6	0	4	0	2	0	1	0	1
1	0	8	0	6	0	4	0	3	0	2
2	0	10	0	8	0	5	0	4	1	4
3	0	11	0	9	1	7	1	5	2	5
4	0	12	1	10	1	8	2	7	2	6
5	0	14	1	12	2	10	3	8	3	7
6	0	15	2	13	3	11	4	9	4	8
7	0	16	2	14	3	12	4	10	5	9
8	1	18	3	16	4	13	5	11	6	10
9	2	19	4	17	5	14	6	12	7	11
10	2	20	4	18	6	16	7	13	8	13
15	6	26	8	24	10	21	11	19	12	18
20	10	32	12	30	14	27	16	24	17	23
25	14	37	16	35	19	32	21	30	22	28
30	19	42	21	40	23	37	26	35	27	33
35	23	48	25	46	28	43	30	40	32	39
40	28	53	30	51	33	48	35	45	36	44
45	33	58	35	56	37	53	40	50	41	49
50	37	63	39	61	42	58	45	55	46	54
55	42	67	44	65	47	63	50	60	51	59
60	47	72	49	70	52	67	55	65	56	64
65	52	77	54	75	57	72	60	70	61	68
70	58	81	60	79	63	77	65	74	67	73
75	63	86	65	84	68	81	70	79	72	78
80	68	90	70	88	73	86	76	84	77	83
85	74	94	76	92	79	90	81	89	82	88
90	80	98	82	96	84	94	87	93	87	92
91			83	96	86	95	88	94	89	93
92			84	97	87	96	89	95	90	94
93			86	98	88	97	90	96	91	95
94			87	98	89	97	91	96	92	96
95			88	99	90	98	92	97	93	97
96			90	99	92	99	93	98	94	98
97			91	100	93	99	95	99	95	98
98			92	100	94	100	96	100	96	99
99			94	100	96	100	97	100	98	100
100			96	100	98	100	99	100	99	100

F2/2011 Page 10 sur 11

Annexe 7 Principe de fonctionnement de l'hémogramme automatisé

Les cellules sanguines sont mauvaises conductrices du courant électrique.

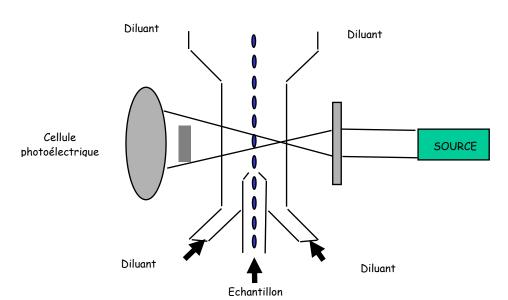
Le passage de ces globules entre deux électrodes soumises à une différence de potentiel entraîne un saut de tension par augmentation de la résistance. Cette impulsion amplifiée est proportionnelle au volume des cellules.



Les dénombrements des globules rouges et des plaquettes sont réalisés sur la même dilution. L'analyse des impulsions selon des courbes de distributions des volumes permet ensuite de faire un tri entre les deux types cellulaires.

Les globules blancs sont comptés sur une dilution moins forte qui détruit les autres cellules et permet également le dosage de l'hémoglobine.

Les cellules sanguines diffractent la lumière. Il y a nécessité d'associer la cytométrie en flux (mesure sur des cellules alignées les unes derrière les autres) et la diffraction lumineuse. La source de la lumière peut être un laser ou une lampe au tungstène.



La diffraction est mesurée à l'aide de capteurs placés à différents angles mesurant des paramètres telle que le volume de la cellule, de son contenu : noyau, granulations, ses colorations (à l'aide de filtres). La formule leucocytaire peut être établie selon les fabricants par exploitation de différents critères :

Volume ou taille cellulaire

Principe Coulter pour le volume ou mesure optique pour la taille

Conductivité ou Radio Fréquence (RF)

Structure de la cellule par un courant haute fréquence

Diffraction lumineuse

Diffraction de la lumière par la cellule

Cytochimie

Coloration de la cellule

Cytolyse

Lyses différentielles des cellules

Marquage par des anticorps monoclonaux et fluorochromes.

F2/2011 Page 11 sur 11

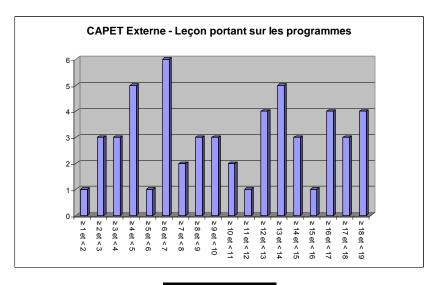
RAPPORT DE L'EPREUVE DE LECON PORTANT SUR LES PROGRAMMES DES LYCEES ET DES CLASSES POST-BACCALAUREAT

Rapport établi par :Sylvie BARDES, Joëlle BISSERY, Sophie BOYS, Anne CAZALOT, Pascal CHAFFAUT, Mireille CLAVE, Christian DEVAUX, Catherine DOSDA, Pascale DUNET-JUSTIN, Bruno DURAND, Odile DUSSERRE-BRESSON, Thérèse FERLIN, Patricia FERRON-RICART, Martine FRUCHART, Geneviève GOUZERH, Susanne HAEBERLE-MULLER, Marie Pia LAZARUS ALTENBURGER, Yannick LAZZARONI, Lydie NOSSEREAU, Muriel PAJEAN-FORT, Michèle PLANEILLE-RESTANY, Catherine POCHET, Elisabeth SCHLICHTER, Françoise VINCENT

Résultats:

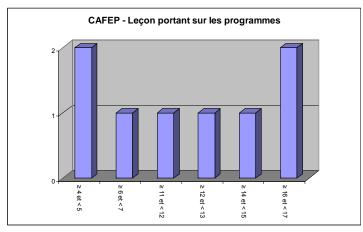
CAPET

≥ 1 et < 2	1	≥ 7 et < 8	2	≥ 13 et < 14	5
≥ 2 et < 3	3	≥ 8 et < 9	3	≥ 14 et < 15	3
≥ 3 et < 4	3	≥ 9 et < 10	3	≥ 15 et < 16	1
≥ 4 et < 5	5	≥ 10 et < 11	2	≥ 16 et < 17	4
≥ 5 et < 6	1	≥ 11 et < 12	1	≥ 17 et < 18	3
≥ 6 et < 7	6	≥ 12 et < 13	4	≥ 18 et < 19	4



CAFEP

≥ 4 et < 5	2
≥ 6 et < 7	1
≥ 11 et < 12	1
≥ 12 et < 13	1
≥ 14 et < 15	1
≥ 16 et < 17	2



Commentaires:

Durée de l'épreuve : 6 heures Activités technologiques : 4 heures Préparation de l'exposé: 1 heure

Exposé: 30 minutes; Entretien: 30 minutes

Définition de l'épreuve

Cette épreuve vise à évaluer chez le futur enseignant des compétences essentielles relatives à l'exercice du métier de professeur de biotechnologies :

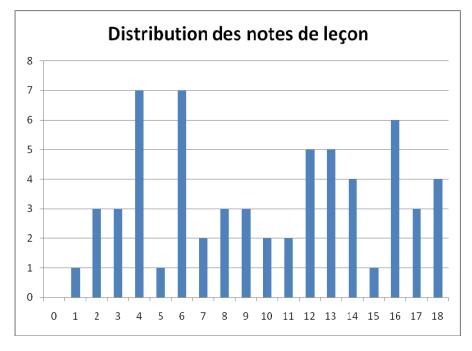
- Concevoir et mettre en œuvre son enseignement
- Maîtriser les disciplines et avoir une bonne culture générale et scientifique
- Organiser le travail de la classe
- Prendre en compte la diversité et le niveau des élèves
- Maîtriser les technologies de l'information et de la communication
- Maîtriser la langue française pour enseigner et communiquer

A partir des sujets fournis, les candidats devaient **concevoir et construire une séquence** pédagogique de biotechnologies (biochimie – microbiologie - biologie humaine) portant sur le programme d'une classe de la filière, cette année : classe de première et de terminale STL BGB. Une des séances constitutives de la séquence devait être développée pour répondre à l'objectif proposé dans le sujet.

Dans le temps des 4 heures de manipulation, le candidat devait construire une **démonstration de manipulation cohérente et pertinente** à présenter au jury, obtenir des **résultats expérimentaux** et identifier les **points critiques** de ces manipulations.

Résultats obtenus lors de la session 2011

Moyenne: 9,89 Note minimale: 1 Note maximale: 18



Les activités technologiques permettent au jury d'évaluer l'attitude du candidat face à la mise en œuvre pratique au laboratoire et son aptitude à analyser un protocole en vue de le réaliser afin d'obtenir des résultats exploitables sur lesquels il doit également s'appuyer pour élaborer la séance pédagogique.

Les activités technologiques ne présentaient pas de difficultés majeures :

- Dosage d'un substrat par méthode enzymatique
- Chromatographie de glucides sur couche mince

- Réalisation de solutions étalon par pesée ou dilution
- Réalisation d'une gamme d'étalonnage
- Détermination semi quantitative d'une concentration de glucose sur bandelette
- Immobilisation d'enzyme par inclusion en billes d'alginate
- Détermination d'activités enzymatiques par deux méthodes
- Réalisation d'un frottis sanguin et coloration au MGG
- Observation et identification des cellules sanguines
- Réalisation d'un frottis bactérien et coloration au Gram
- Observation microscopique des frottis colorés
- Préparation de milieux gélosés en boîtes de Pétri
- Isolements sur milieux gélosés en boîtes de Pétri
- Réalisation de dilution en série en tubes afin de réaliser un dénombrement microbien
- Ensemencement des dilutions réalisées.
- Filtration d'un échantillon d'eau de réseau et mise en culture
- Réalisation de tests enzymatiques d'orientation
- Réalisation de techniques d'agglutination

Les objectifs des leçons concernaient :

- Le contrôle qualitatif et quantitatif en glucides et en vitamine C d'une boisson énergétique de composition connue
- L'influence de la température lors de l'immobilisation d'une enzyme sur l'activité enzymatique
- L'intérêt de la mise en évidence du glucose dans l'urine et du dosage du glucose dans un sérum dans le cadre d'une découverte de diabète.
- La détermination des constantes cinétiques v_{imax} et K_M de la phosphatase alcaline dans des conditions différentes (avec et sans inhibiteur)
- La réalisation et l'interprétation d'un bilan leucocytaire
- L'intérêt des milieux d'isolement sélectifs et/ou différentiels
- La comparaison des techniques de dénombrement des bactéries
- L'utilisation de techniques d'agglutination pour évaluer un statut immunitaire.

Le jury constate que quelques candidats bien préparés ont fait d'excellentes prestations en s'appropriant parfaitement cette épreuve mais que de nombreux candidats ne possèdent pas les **connaissances technologiques et fondamentales exigibles** pour un futur enseignant des sections concernées. Le jury déplore également que certains candidats n'aient pas su mettre en œuvre des protocoles pourtant détaillés de techniques simples et classiques. De plus, des connaissances sur la sécurité au laboratoire telles que l'installation d'un poste de travail, l'utilisation des gants de protection, le travail aseptique, la gestion des déchets ... font souvent défaut.

Lors de l'exposé de 30 minutes, le jury a évalué l'aptitude du candidat :

- à mobiliser ses connaissances scientifiques et technologiques,
- à recenser les points critiques en termes de difficultés techniques, organisation et chronologie des activités, prévention des risques, gestion des déchets, afin de rendre réalisable cette manipulation par des élèves et de la présenter lors d'une séance pédagogique,
- à produire des documents adaptés à la leçon,
- à proposer une **séance** intégrée dans une **séquence positionnée dans l'année** en prenant appui sur les **documents proposés**.

Les candidats se sont efforcés globalement de respecter le temps imparti de 30 minutes.

Le jury a pu constater très souvent le manque de lien entre l'activité technologique réalisée pendant les 4 heures et l'exposé réalisé par le candidat et il regrette la qualité pédagogique parfois médiocre des documents projetés. Quelques candidats n'ont pas utilisé le référentiel pour resituer la séance au sein d'une séquence.

Lors de l'entretien de 30 minutes, le jury apprécie les connaissances, les qualités de réflexion et de pédagogie du candidat.

Le jury a regretté, chez certains candidats, le manque d'écoute, l'insuffisance de réactivité et d'adaptabilité aux questions.

Cette nouvelle épreuve a déstabilisé certains candidats insuffisamment préparés à ces dimensions technologiques et pédagogiques.

Le jury recommande aux futurs candidats de prêter attention à la définition de l'épreuve et leur rappelle qu'il est indispensable de se présenter en ayant une **formation scientifique et technologique pluridisciplinaire** rigoureuse. Il rappelle également que, si cette épreuve s'appuie sur des activités technologiques préalables permettant au candidat d'identifier les points délicats des concepts, des protocoles et des résultats proposés, il s'agit d'une épreuve de leçon, dans laquelle doit apparaître :

- la construction didactique à l'échelle d'une séquence d'une part, et à l'échelle d'une séance d'autre part
- les aptitudes du candidat à se questionner et à ensuite expliquer les aspects spécifiques à une séance d'activité technologique (principe et rôle des étapes du protocole et des réactifs, environnement matériel, gestuelle spécifique, prévention du risque, exploitation des résultats, ...).

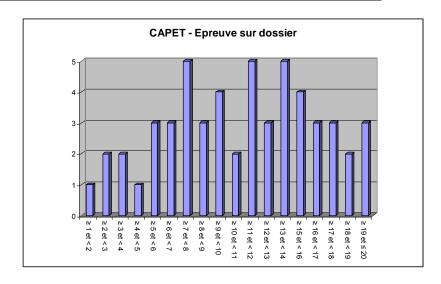
RAPPORT DE L'EPREUVE SUR DOSSIER

<u>Rapport établi par</u>: Emmanuelle BRASSELET, Géraldine CARAYOL, Laurence CHAVANT, Nathalie COLOMB, Isabelle FALLER, Claude GAVRILOVIC, Cyrille GESTIN, Marie-Armelle HOUQUE, Christine MONTIXI, Pierre NARBONNE, Michel PRAT, Bernadette ROMANET

Résultats:

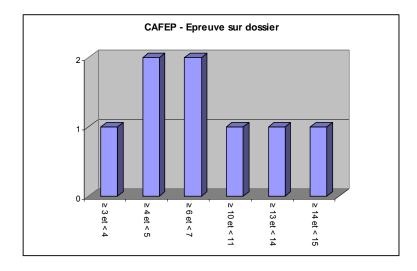
CAPET

≥ 1 et < 2	1	≥ 6 et < 7	3	≥ 11 et < 12	5	≥ 17 et < 18	3
≥ 2 et < 3	2	≥ 7 et < 8	5	≥ 12 et < 13	3	≥ 18 et < 19	2
≥ 3 et < 4	2	≥ 8 et < 9	3	≥ 13 et < 14	5	≥ 19 et ≤ 20	3
≥ 4 et < 5	1	≥ 9 et < 10	4	≥ 15 et < 16	4		
≥ 5 et < 6	3	≥ 10 et < 11	2	≥ 16 et < 17	3		



CAFEP

≥ 3 et < 4	1	≥ 10 et < 11	1
≥ 4 et < 5	2	≥ 13 et < 14	1
≥ 6 et < 7	2	≥ 14 et < 15	1



Commentaires:

A) Durée de l'épreuve et points attribués à chaque partie :

Extrait de l'arrêté du 28 décembre 2009 fixant les sections et les modalités d'organisation des concours du certificat d'aptitude au professorat de l'enseignement technique :

« Épreuve sur dossier comportant deux parties : 14 points sont attribués à la première partie et 6 points à la seconde (durée de la préparation : une heure trente minutes ; durée totale de l'épreuve : une heure ; coefficient 3).

Première partie : soutenance de dossier technique et scientifique réalisé par le candidat dans un des domaines de la spécialité préparée, suivie d'un entretien (présentation n'excédant pas vingt minutes ; entretien avec le jury : vingt minutes).

[...]

Seconde partie : interrogation portant sur la compétence « Agir en fonctionnaire de l'État et de façon éthique et responsable» (présentation : dix minutes ; entretien avec le jury : dix minutes). »

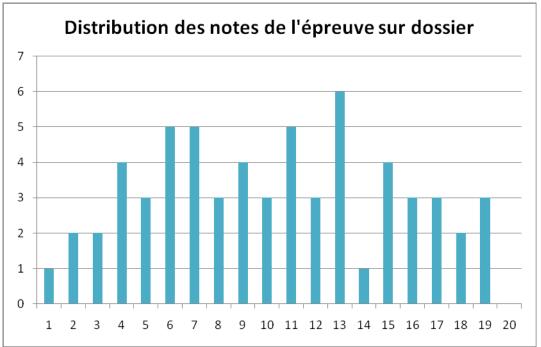
B) Coefficient 3

C) Résultats obtenus lors de la session 2011

moyenne : 10,1 note minimale : 01 Note maximale : 19

La distribution des notes obtenues à l'épreuve sur dossier est très étalée, avec une médiane à 10,0 et une moyenne à 10,1. Quinze candidats ont eu d'excellents résultats avec une note d'épreuve sur dossier supérieure ou égale à 15. Douze candidats ont obtenu une note inférieure ou égale à 5.

À de rares exceptions près, les candidats reçus ont tous eu une très bonne note à l'épreuve sur dossier, la moyenne des candidats admis étant de 14 (min : 07 ; max :19) ; seuls deux candidats ont eu une note en dessous de la moyenne, compensée par de très bons résultats à l'écrit et en leçon.



D) Soutenance de dossier technique et scientifique

« L'épreuve porte sur les programmes des lycées et, le cas échéant, des sections de techniciens supérieurs.

L'exposé et l'entretien permettent d'apprécier l'authenticité et l'actualité du problème choisi par le candidat, sa capacité à en faire une présentation construite et claire, à mettre en évidence les questionnements qu'il suscite et à en dégager les points remarquables et caractéristiques de la discipline. Ils permettent également au candidat de mettre en valeur la qualité de son dossier et l'exploitation pédagogique qu'il peut en faire dans le cadre d'un enseignement de précentation de la discipline de la disc

En utilisant les moyens courants de présentation (vidéoprojecteur et informatique associée, en particulier), le candidat présente le support technique qu'il a choisi pour l'épreuve, ainsi que les investigations et développements qu'il a conduits pour s'en approprier le fonctionnement et les évolutions potentielles. Lors de la présentation, le candidat justifiera le choix du support d'étude et les investigations conduites qui pourraient, selon lui, donner lieu à des exploitations pertinentes en lycée.

Les dossiers doivent être déposés au secrétariat du jury cinq jours francs au moins avant le début des épreuves d'admission »

Dossier:

Les dossiers présentés par les candidats étaient de niveaux scientifique et technologique hétérogènes :

- rapport de stage de BTS ou de DUT à peine retravaillé ou sans prise de recul, travail de recherche bibliographique, extrait ou compilation de travaux universitaires, compte-rendu d'observations effectuées en laboratoire.
- thématique de biotechnologies appréhendée avec une démarche didactique attestant de véritables aptitudes pédagogiques chez le candidat

Le dossier doit dans tous les cas présenter des méthodes s'appuyant sur les biotechnologies, contextualisés dans un environnement professionnel défini. Les méthodes présentées doivent être suffisamment maîtrisées pour les aspects théoriques et pratiques, maîtrise qui nécessite le plus souvent que ces méthodes aient été mises en œuvre par le candidat. Les principes qui sous-tendent les méthodes utilisées doivent être connus et compris pour être expliquées au jury le cas échéant. Il est surprenant que certains candidats redécouvrent les méthodes et techniques de base de la microbiologie ou de la biochimie, suite aux questions du jury portant sur les méthodes présentées dans le dossier! Le jury rappelle que le dossier doit porter sur une problématique dont le jury apprécie « l'authenticité et l'actualité ».

Concernant la forme, il convient de :

- rédiger le dossier de façon claire et synthétique, en prenant en compte les finalités de l'épreuve,
- veiller à relire le dossier pour éviter les fautes d'orthographe et de syntaxe,
- prévoir un titre concis, explicite, et reflétant la problématique choisie par le candidat.

Concernant les contenus scientifique et technologique, il convient de :

- s'approprier l'ensemble des concepts scientifiques et technologiques présentés dans le dossier,
- expliciter la dimension technologique des méthodes ou techniques présentées et utilisées en milieu professionnel,
- présenter la thématique de biotechnologies choisie, souvent très pointue, avec une démarche didactique ainsi que des explications mettant en évidence de véritables aptitudes pédagogiques chez le candidat.
- limiter la juxtaposition de résultats de laboratoire de recherche en effectuant des choix pertinents pour étayer la présentation des méthodes développées.

Exposé:

«L'exposé et l'entretien permettent d'apprécier l'authenticité et l'actualité du problème choisi par le candidat, sa capacité à en faire une présentation construite et claire, à mettre en évidence les questionnements qu'il suscite et à en dégager les points remarquables et caractéristiques de la discipline. »

Certains candidats ont eu la volonté d'adapter la présentation de leur problématique à un exposé oral, tandis que d'autres sont restés trop proches de l'écrit du dossier, se contentant d'extraire des données ou pages de leur dossier sans les retravailler.

Le jury souhaite que soient présentés les éléments essentiels permettant une compréhension immédiate du dossier dont l'appropriation, par le candidat, est bien entendu essentielle. La qualité du support de la présentation orale est un élément d'appréciation des compétences pédagogiques du candidat. La présentation de l'exploitation pédagogique doit être approfondie et en adéquation avec la partie scientifique et technique.

Exploitation pédagogique

Quelques candidats n'ont pas présenté d'exploitation pédagogique ou ont exposé une exploitation pédagogique dans des sections sans rapport avec le concours présenté (séquence en collège ou en lycée professionnel).

Le jury rappelle l'arrêté du 28 décembre 2009 qui précise que « L'exposé et l'entretien [...] permettent [...] au candidat de mettre en valeur la qualité de son dossier et l'exploitation pédagogique qu'il peut en faire dans le cadre d'un enseignement. ». Par ailleurs, la lecture du même arrêté montre que « l'épreuve porte sur les programmes des lycées et éventuellement des sections de techniciens supérieurs » et que le questionnement posé par le candidat doit le conduire à développer « les points remarquables et caractéristiques de la discipline » dans laquelle peut enseigner le titulaire d'un CAPET section biotechnologies, option biochimie génie biologique.

En règle générale, les candidats qui avaient développé une exploitation pédagogique dans leur dossier disposaient d'un support et d'une réflexion préalables qui leur ont permis d'être souvent plus performants à l'oral. Cependant il était possible de réserver cette partie pour la présentation orale, à condition de lui donner une place suffisante et de pouvoir montrer son appropriation, ce qui est un exercice difficile en un temps relativement restreint.

Il ne suffit pas de proposer de reproduire en lycée l'expérience faite au cours d'un stage, mais de présenter une séquence pédagogique construite et réaliste introduite par un contexte motivant, d'actualité, comprenant entre autres :

- des objectifs pédagogiques cohérents avec le référentiel, et à visée formative,
- une réelle analyse raisonnée des risques pour mettre en place une prévention adaptée à la situation,
- une réflexion sur l'accompagnement des élèves pour la mise en œuvre des activités proposées.

Cela suppose de :

- savoir situer, dans une progression pédagogique, les activités technologiques qui sont proposées. A titre d'illustration, les techniques dont l'acquisition est attendue au baccalauréat doivent être vues en première année d'un cycle et non en fin de deuxième année,
- connaître les spécificités des enseignements technologiques (connaissance des principes des techniques, gestion des risques, faisabilité en terme de coût de l'activité et d'équipement, organisation pédagogique...).

Il s'agit de montrer le potentiel de réflexion didactique du candidat même si la maîtrise de la construction de séquence ou de séance n'est pas encore aboutie, et d'amener le candidat à se montrer capable de convaincre le jury du bien fondé de ses choix didactiques et pédagogiques. Il montre ainsi une véritable réflexion en amont, retranscrite en une démarche visant à atteindre les objectifs de formation qu'il s'est fixé, au sein du référentiel choisi.

Entretien

L'entretien permet, entre autres, de vérifier la maitrise de l'ensemble des concepts scientifiques et technologiques abordés dans le dossier. Si des candidats brillants ont su montrer leurs connaissances et leur réflexion approfondies tant au plan scientifique que technologique, le jury a constaté chez certains candidats de profondes lacunes sur les fondamentaux scientifiques et technologiques en lien avec la thématique choisie. Certains candidats n'ont pas su répondre aux questions relatives aux supports (dossier technique et scientifique, diaporama) dont ils sont pourtant l'auteur et pour lesquels ils ont pratiqué une investigation qui doit être la plus approfondie possible.

Il permet également d'évaluer les qualités d'écoute du candidat et ses capacités d'analyse des questions posées par le jury pour répondre en temps réel à celles qu'il n'avait pas anticipées, situation très fréquente dans une classe avec des élèves.

Analyse et conseils

Les candidats qui ont réussi l'épreuve bénéficient souvent d'une véritable expérience en laboratoire de biotechnologies (recherche, industrie, laboratoire d'analyse médicale, vétérinaire, qualité, etc..) qui n'est pas une simple observation mais qui s'accompagne d'une réalisation pratique à la paillasse facilitant la prise de conscience de la réalité des difficultés.

Ces candidats ont fait preuve de qualités pédagogiques dans chacun des champs de l'épreuve et ont réussi à présenter de façon claire et fluide une thématique souvent pointue, à un auditoire de scientifiques non obligatoirement expert de cette thématique.

En outre, ces candidats ont appréhendé à sa juste valeur la dimension technologique des différentes techniques développées dans le dossier ou sa présentation orale, et ont su trouver, dans une expérience professionnelle dans le domaine des biotechnologies, le substrat donnant lieu à une exploitation pédagogique en lycée technologique.

Leur réflexion sur les exploitations pédagogiques possibles a été menée de façon pertinente dans la mesure où ces candidats avaient une bonne connaissance :

- des sections au niveau desquelles la discipline est enseignée,
- des différences d'exigence de l'enseignement technologique en enseignement d'exploration de seconde, en filières pré bac et post bac.
- des grandes lignes du programme du niveau dans leguel est proposée l'exploitation pédagogique,
- des spécificités et les contraintes de l'enseignement des biotechnologies en lycée technologique.

Il convient de rappeler que la présentation d'une séquence, dans laquelle il faut positionner une ou plusieurs séances pour les apprentissages proposés, doit pouvoir être argumentée en incluant les aspects suivants :

- choix des objectifs visés de la séance, compétences à construire qui sous tendent des pré requis,
- choix des contenus à transmettre (savoirs, savoir faire, savoir être),
- choix des activités technologiques.
- réflexion sur les pré-requis : adaptés aux objectifs de la séance.

Conclusion:

Les candidats qui, à partir d'un exemple précis, ont su se projeter dans la mise en œuvre d'une séance d'enseignement comprenant à la fois l'organisation pédagogique, des supports à destination des élèves et une réflexion sur l'évaluation avec prise en compte des pré-requis et des objectifs visés, ont montré au jury leur aptitude à enseigner.

Les éléments de cette réflexion apparaissant dans le rapport écrit, ils constituent un support sur lequel le candidat peut s'appuyer, et qui favorise son développement à l'oral (exposé et entretien).

E) Agir en fonctionnaire de l'état de façon éthique et responsable

« Seconde partie : interrogation portant sur la compétence « Agir en fonctionnaire de l'Etat et de façon éthique et responsable » (présentation : dix minutes ; entretien avec le jury : dix minutes).

Le candidat répond pendant dix minutes à une question, à partir d'un document qui lui a été remis au début de l'épreuve, question pour laquelle il a préparé les éléments de réponse durant le temps de préparation de l'épreuve. La question et le document portent sur les thématiques regroupées autour des connaissances, des capacités et des attitudes définies, pour la compétence désignée ci-dessus, dans le point 3 « Les compétences professionnelles des maîtres » de l'annexe de l'arrêté du 19 décembre 2006. L'exposé se poursuit par un entretien avec le jury pendant dix minutes. »

Les sujets étaient tous construits sur un schéma identique : un extrait de texte règlementaire (arrêté, circulaire,...) une mise en situation et une question relative à la situation proposée. Il n'était pas obligatoirement attendu de réponse univoque ou dogmatique mais au minimum un questionnement prenant en compte le caractère délicat de certaines situations rencontrées en lycée.

En règle générale, le temps imparti à l'exposé a été respecté par les candidats qui n'ont cependant pas toujours su se détacher de leurs notes. Les exposés étaient construits et structurés mais leur contenu reprenait trop souvent les éléments d'information donnés dans le texte règlementaire sans prise de recul par rapport à ces éléments. Les candidats ont, le plus souvent, été capables de réagir de façon réaliste et adaptée à la situation proposée. La réflexion menée pendant l'heure et demie de préparation permettait au candidat de s'adapter à une nouvelle situation proposée par le jury à l'oral. Dans ce cadre, une attitude responsable et réaliste a été particulièrement valorisée.

L'attitude bienveillante mais ferme attendue pour un professionnel de la formation pouvait alors être mise en évidence par la projection du candidat dans la situation professionnelle proposée.

Les exposés et les réponses aux questions posées ont montré des candidats inégalement préparés à cette épreuve dont certains étaient gênés par leur manque de connaissance dans les domaines suivants :

- fonctionnement de l'établissement scolaire (en particulier, rôles du chef d'établissement),
- méconnaissance de la hiérarchie des textes règlementaires,
- méconnaissance du processus de décision dans les établissements (différence entre instance consultatifs et instance décisionnelle).

S'il est évident que de futurs enseignants ne peuvent maîtriser intégralement ces textes, la connaissance du positionnement des acteurs dans le fonctionnement des EPLE au sein du système éducatif semble nécessaire à la prise en main de leur futur métier.

La lecture de revues ou de ressources spécialisées, la consultation de sites internet (www.education.gouv.fr, www.education.gouv.fr, www.education.gouv.fr, www.education.gouv.fr) aideront les candidats à construire ce socle de connaissances qui comprend en particulier :

- les dix compétences des professeurs http://www.education.gouv.fr/cid52614/menh1012598a.html
- les récentes évolutions du système éducatif (réforme du lycée, socle commun de connaissance et de compétence...)

Une expérience ou des observations en établissement aideront le candidat à se projeter dans le métier par une analyse des différentes situations auxquelles pourrait être confronté un professeur. Elle permettra au candidat d'analyser le fonctionnement des établissements, de mieux comprendre les rôles respectifs des différents acteurs, les missions des instances consultatives et décisionnelles, ainsi que la réalité du métier de l'enseignant dans la classe et dans l'établissement.

En conclusion, concernant les deux sous-épreuves, le jury a apprécié non seulement une certaine maîtrise de connaissances (institutionnelles, scientifiques et technologiques), mais également la capacité du candidat à réagir de façon cohérente et responsable aux situations auxquelles il pourrait être confronté. Son attitude (ses qualités d'écoute, sa présence, son ouverture, son authenticité ...) pendant l'ensemble de l'épreuve contribuent à l'évaluation de sa prestation. Certaines prestations ont impressionné le jury, tant par la maîtrise des savoirs et savoir faire disciplinaires propres aux biotechnologies, par la capacité à concevoir des séquences pédagogiques et une réflexion déjà très avancée sur le métier de professeur.

CONCLUSION GENERALE

Le jury félicite les candidats admis au CAPET et au CAFEP Biotechnologies option biochimie génie biologique et se réjouit de les compter bientôt comme futurs collègues. Il conseille fortement aux futurs candidats, pour prétendre enseigner les biotechnologies, de bien préparer le concours afin de posséder :

- les solides connaissances scientifiques pluridisciplinaires,
- les savoirs et savoir-faire technologiques,
- la réflexion pédagogique indispensable.

La nécessaire pluridisciplinarité scientifique attendue de l'épreuve écrite de synthèse, donne une part significative à la physiologie humaine, ce qui permet de valider les connaissances et les compétences attendues pour assurer l'enseignement de biologie (et physiopathologie) humaine(s), en particulier dans les sections de baccalauréat ST2S. La seconde épreuve écrite, valide des compétences d'exploitation de documents, ancrée dans les connaissances des candidats. Le réinvestissement des savoirs fondamentaux, pluridisciplinaires, dans une analyse et une interprétation des documents fournis, permet de répondre précisément à une problématique et montre les aptitudes du candidat à enseigner dans une formation scientifique et technologique. Les qualités pédagogiques du candidat, sont évaluées sur l'ensemble des quatre épreuves proposées, à partir de supports différents.

Le Jury tient à remercier Jean-Claude LAFAY, Proviseur de l'Ecole Nationale de Chimie, Physique Biologie de Paris, les Proviseurs adjoints, Madame l'Intendante, Madame le Chef de travaux, Mesdames et Messieurs les Professeurs de Biochimie - Génie Biologique responsables de la préparation, de l'organisation et du déroulement des épreuves pratiques et orales, Mesdames et Messieurs les personnels de laboratoire, ainsi que tous les personnels du lycée dont la compétence et le dévouement ont permis que ce concours se déroule dans d'excellentes conditions.