



Secrétariat Général

Direction générale des
ressources humaines

Sous-direction du recrutement

MINISTÈRE
DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE

Concours du second degré – Rapport de jury

Session 2012

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

CONCOURS INTERNE ET CAER

SECTION : BIOTECHNOLOGIES

Option : BIOCHIMIE GENIE BIOLOGIQUE

**Rapport de jury présenté par Monsieur François MATRINGE
Président du 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 4
Epreuve d'admissibilité	
Composition d'Etude scientifique et technologique	
Rapport	Page 6
Epreuve d'admission	
Leçon portant sur les programmes des lycées et des classes post-baccalauréat	
Sujets	Page 11
Rapport	Page 40
Conclusion générale	Page 45
Extrait de l'arrêté 27 avril 2011 précisant les conditions de mise en œuvre de l'épreuve de reconnaissance des acquis de l'expérience (ANEXE II bis)	Page 47

COMPOSITION DU JURY

Président du jury

François MATRINGE - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de Toulouse

Vice-présidents

Joël CNOKAERT - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat d'Aix-Marseille

Secrétaire général

Fabrice MARTIN - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Membres

Sébastien BLANCHET - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Caroline BONNEFOY - Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de VERSAILLES

Christine CHEVALIER - Professeur Certifié - Lycée général et technologique René Char à AVIGNON

Pascal CHILLET - Professeur Agrégé - Lycée Polyvalent Jean Mermoz à MONTPELLIER

Laurent DESFARGES - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Christophe DOUCET - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Jean Pascal DUMON – Inspecteur Général de l'Education Nationale

Jean-Luc LESTRA – Inspecteur d'Académie/Inspecteur Pédagogique Régional - Rectorat de GRENOBLE

Pascal FRAPERIE - Professeur Agrégé - Lycée technologique St Louis à BORDEAUX

Emmanuelle GAY - Professeur Agrégé - Lycée général et technologique Prive Notre Dame à TOULON

Christine MONTIXI - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Jean-François TRUCCHI - Professeur Agrégé - Lycée technologique Marie Curie à MARSEILLE

Membre représentant de l'enseignement privé

Emmanuelle GAY - Professeur Agrégé - Lycée général et technologique privé Notre Dame à TOULON

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

CAPET INTERNE

Nombre de postes.....	3
Candidats inscrits.....	132
Candidats présents à l'épreuve d'admissibilité.....	42
Candidats admissibles.....	9
Candidats présents aux épreuves d'admission.....	9
Candidats proposés pour l'admission.....	3
<u>Epreuve d'admissibilité</u>	
Moyenne des candidats présents	8,21
Moyenne des candidats admissibles.....	16,17
Moyenne du dernier candidat admissible	14,50
Note maximale.....	17,50
<u>Epreuve d'admission</u>	
Moyenne des candidats présents	8,39
Moyenne des candidats admis	13,47
Note maximale	15,20
<u>Ensemble du concours</u>	
Moyenne des candidats présents	10,98
Moyenne la plus élevée	15,13
Moyenne des candidats admis	14,48
Moyenne du dernier candidat admis.....	13,97

RENSEIGNEMENTS STATISTIQUES

CAER

Nombre de postes	5
Candidats inscrits	39
Candidats présents à l'épreuve d'admissibilité	9
Candidats admissibles	5
Candidats présents aux épreuves d'admission	5
Candidats proposés pour l'admission	2
Epreuve d'admissibilité	
<hr/>	
Moyenne des candidats présents	11,00
Moyenne des candidats admissibles	12,70
Moyenne du dernier candidat admissible	10,50
Note maximale	17,50
Epreuve d'admission	
<hr/>	
Moyenne des candidats présents	8,76
Moyenne des candidats admis	14,80
Note maximale	14,80
Ensemble du concours	
<hr/>	
Moyenne des candidats présents	10,07
Moyenne la plus élevée	15,70
Moyenne des candidats admis	14,45
Moyenne du dernier candidat admis	13,20

*Epreuve d'admissibilité : Reconnaissance des acquis de
l'expérience professionnelle
(RAEP)*

Durée de l'épreuve : 5 heures

Coefficient 1

L'arrêté du 27 avril 2011 (NOR : MENH1109629A) modifiant les modalités d'organisation des concours internes donnant accès à certains corps de personnels enseignants du second degré et d'éducation, publié au journal officiel du 3 mai 2011, **a remplacé l'épreuve écrite d'admissibilité par un dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle (RAEP)** établi par le candidat. Ce dossier n'est pas rendu anonyme. Il est soumis à une double correction et est noté de 0 à 20. La note 0 est éliminatoire.

Ces nouvelles modalités concernent les concours internes du CAPET, les concours d'accès à l'échelle de rémunération correspondant sont également concernés.

En conséquence, les candidats n'ont naturellement pu profiter des commentaires du rapport 2011 de ce concours.

RAPPORT SUR L'ÉPREUVE DE RECONNAISSANCE DES ACQUIS DE L'EXPÉRIENCE PROFESSIONNELLE

Coefficient : 1

Rapport établi par : Mme CHEVALIER, M. BLANCHET, M. CHILLET, M. CNOKAERT, M. DUMON, Mme FALLER, M. FRAPERIE, Mme GAY

Résultats :

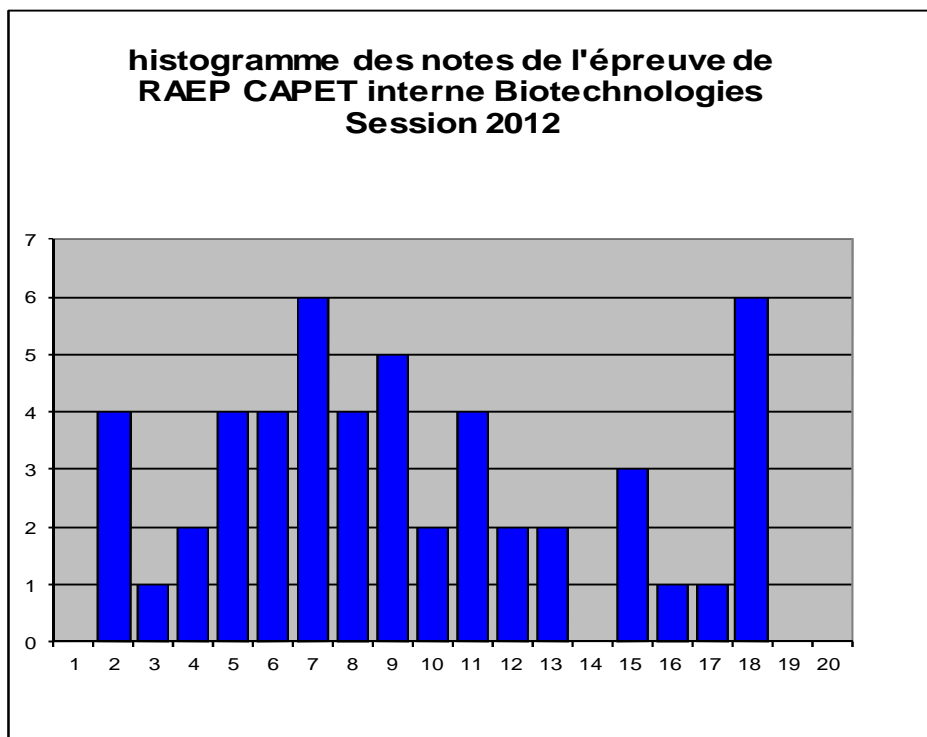
CAPET interne

Moyenne générale : 8,21

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 6	≥ 12 et < 13 1
≥ 1 et < 2..... 4	≥ 7 et < 8 3	≥ 13 et < 14 0
≥ 2 et < 3 1	≥ 8 et < 9 3	≥ 14 et < 15 2
≥ 3 et < 4 2	≥ 9 et < 10 2	≥ 15 et < 16 1
≥ 4 et < 5 4	≥ 10 et < 11 2	≥ 16 et < 17 1
≥ 5 et < 6 4	≥ 11 et < 12 1	≥ 17 et < 18 5

HISTOGRAMME



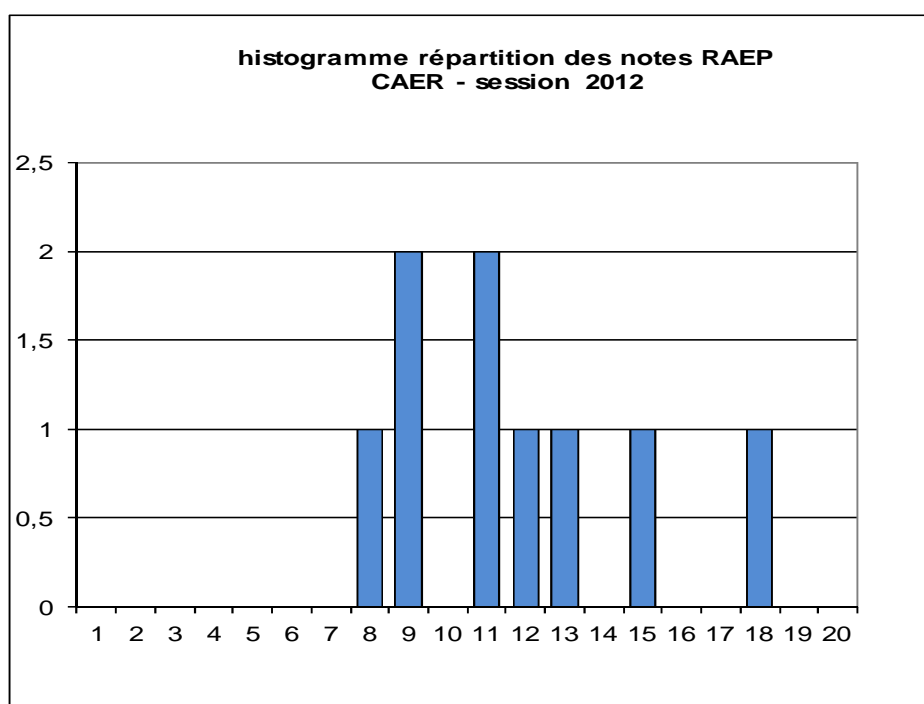
CAER

Moyenne générale : 8,71

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 0	≥ 12 et < 13 1
≥ 1 et < 2..... 0	≥ 7 et < 8 1	≥ 13 et < 14 1
≥ 2 et < 3 0	≥ 8 et < 9 2	≥ 14 et < 15 0
≥ 3 et < 4 0	≥ 9 et < 10 0	≥ 15 et < 16 0
≥ 4 et < 5 0	≥ 10 et < 11 2	≥ 16 et < 17 0
≥ 5 et < 6 0	≥ 11 et < 12 1	≥ 17 et < 18 1

HISTOGRAMME



Commentaires :

Cette session 2012, a vu des candidats à tous les concours internes et aux CAER correspondants confrontés à une épreuve commune nouvelle créée par l'arrêté du 27 avril 2011. Les textes régissant cette nouvelle épreuve ont été publiés, assortis de notes expliquant ses objectifs et sa mise en œuvre pratique. L'exercice était donc aussi nouveau pour le jury qu'il l'était pour les candidats.

Les critères d'évaluations des dossiers ont été explicités dans un texte global publié¹ sur Eduscol, texte éventuellement affiné ou complété par des notes spécifiques à chaque concours également publiées. Les candidats devaient respecter un cahier des charges clairement indiqué par les textes et les dossiers non conformes ont été réglementairement écartés.

¹ Un extrait (ANNEXE II) de l'arrêté est fourni en annexe à la fin du rapport

Le classement et la notation des dossiers ont naturellement été menés par le jury en tenant compte des critères définis et après explicitation d'indicateurs pertinents pour évaluer les compétences recherchées et évaluées.

Les candidats ont élaboré un dossier généralement satisfaisant qui devait comporter deux parties :

- dans la première (2 pages dactylographiées maximum), le candidat doit décrire les responsabilités qui lui ont été confiées durant son parcours professionnel dans le domaine de l'enseignement ;
- dans la seconde (6 pages dactylographiées maximum), le candidat doit développer une analyse précise d'une situation d'apprentissage parmi ses réalisations pédagogiques mise en oeuvre en responsabilité **dans la discipline concernée par le concours** à un niveau de classe défini. Cette analyse doit mettre en évidence et développer les apprentissages, les objectifs, les progressions et les résultats de la réalisation que le candidat a choisi de présenter.

Le jury a pris en compte :

- au niveau pédagogique :
 - o la pertinence du choix de l'activité décrite : le caractère technologique de l'enseignements des biotechnologies intègre une réelle dimension de savoir-faire pratiques;
 - o la présentation d'une progression plaçant l'activité située dans la séquence choisie à un niveau de classe donné ;
 - o la justification de la démarche pédagogique adoptée : investigation, inductive, hypothético-déductive ;
 - o la formalisation de la séance : pré-requis, activité(s) de l'élève, du professeur, supports pédagogiques ;
 - o l'analyse de l'activité et des résultats obtenus : analyse des points forts, critiques, des échecs et propositions d'améliorations ;
 - o exploitation des Technologies de l'Information et de la Communication (TIC).
- au niveau didactique
 - o les objectifs : compétences/capacités que les élèves doivent acquérir ;
 - o la contextualisation de la situation exposée ;
 - o les problématiques abordées ;
 - o la pertinence des modalités d'évaluation ;
- au niveau scientifique : le jury a apprécié la rigueur du vocabulaire utilisé et la justesse des concepts développés ;
- au niveau de la forme :
 - o la qualité de l'expression, la structuration du propos et de la présentation du dossier.

Le jury souhaite tout d'abord relever une des difficultés rencontrées. Plusieurs candidats ont constitué un même dossier pour l'inscription à plusieurs concours CAPET, CAER, CAPLP internes dans des disciplines "cousines" : Biotechnologies Santé environnement, Biotechnologie Biochimie Génie Biologique, SVT... Les diplômes et expériences professionnels des candidats, en particulier dans le domaine des biotechnologies, doivent naturellement être mis en valeur et s'attacher à montrer en quoi les compétences professionnelles dont ils se prévalent sont mobilisables dans les enseignements de biotechnologies tout particulièrement concernant les candidats exploitant des séquences données dans d'autres disciplines. Le jury rappelle que la pertinence et l'actualisation des connaissances scientifiques et technologiques « dans la discipline concernée par le concours » sont indispensables à l'exercice du métier comme à la présentation de ce concours. Le contenu et la forme des dossiers de RAEP n'ayant pas permis de les détecter auparavant, de graves lacunes à ce sujet n'ont été relevées chez plusieurs candidats qu'à l'occasion des épreuves d'admission.

Le jury a toutefois apprécié les quelques candidats novateurs qui ont montré une culture scientifique large et interdisciplinaire, correspondant bien à l'esprit général de cette épreuve. Dans ce concours, les savoirs explorés doivent en effet chercher à s'inscrire dans une interdisciplinarité correspondant à l'esprit de la réforme du lycée en cours.

Epreuve d'admission

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

Durée de l'épreuve :

Travaux pratiques : 4 heures
Préparation exposé : 1
heure Exposé : 30 minutes
Entretien : 30 minutes

Coefficient 2

SESSION 2012

**CAPET INTERNE
ET CAER**

Section : BIOTECHNOLOGIES

Option : BIOCHIMIE – GENIE BIOLOGIQUE

**Épreuve pratique d'admission :
Leçon portant sur les programmes des lycées et
des classes post-baccalauréat**

Coefficient : 2

Travaux pratiques : 4 heures
Préparation de l'exposé : 1 heure
Exposé : 30 minutes
Entretien : 30 minutes

Le sujet comporte 26 pages

Le candidat doit s'assurer de disposer d'un exemplaire complet dès le début de l'épreuve

Sujet : Démarche diagnostique, contrôles et suivi thérapeutique en milieu hospitalier.

Niveau : STS analyses de biologie médicale

Au cours de son exposé, le candidat présente la séquence qu'il a conçue et les objectifs pédagogiques visés. Il justifie les manipulations retenues pour la séance présentée au sein de cette séquence. La séance peut intégrer une ou plusieurs disciplines. **Le candidat peut exploiter un ou plusieurs des trois items proposés dans le titre du sujet et s'appuyer éventuellement sur les éléments de contexte ci-dessous.**

Éléments de contexte exploitables

Monsieur X, âgé de 70 ans, a subi une biopsie hépatique suite à des résultats sanguins alarmants et des images échographiques anormales. Il est ensuite gardé en observation. 36 heures après cette exploration, Monsieur X présente une altération de l'état général, des pics de fièvres à répétition, des troubles évoquant des problèmes rénaux et une élévation du taux de protéines sériques, assez classique en cas de septicémie. A titre préventif, le patient a été placé sous traitement à base de vancomycine.

Ressources documentaires proposées annexées au sujet

- Protocole du dosage des protéines par la méthode de Lowry : Annexe 1.
- Protocole pour électrophorèse des protéines sériques : Annexe 2.
- Fiche technique : « Urée cinétique UV 250 » : Annexe 3.
- Fiche technique : « Enzyline GPT optimisée unitaire » : Annexe 4.
- Protocole de recherche de la coagulase libre : Annexe 5.
- Fiche technique : « API Staph » : Annexe 6.
- Extraits du bulletin de Janvier 2010 du CA-SFM : Annexe 7.
- Recherches particulières courantes lors de la réalisation d'un antibiogramme : Annexe 8.
- Protocole de dosage de la vancomycine par voie microbiologique: Annexe 9.
- Protocole d'identification bactérienne par technique PCR/ELISA : Annexe 10.
- Fiche technique : « Pastorex Staph Plus » : Annexe 11.

NB : le matériel nécessaire à la réalisation de ces protocoles est présent au poste ou éventuellement disponible sur demande auprès d'un examinateur.

Échantillons mis à disposition

- Subcultures, réalisées sur gélose au sang, des hémocultures aérobie et anaérobie du patient.
- Un bouillon cœur-cerveille ensemencé avec la même souche que celle des subcultures.
- Souche de *Bacillus*, présentée sur gélose Trypticase Soja.
- Souche de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) sur gélose Trypticase Soja.
- Une souche de *Staphylococcus capitis*, sur gélose Trypticase Soja.
- Échantillons de sérum du patient pour :
 - Dosage des protéines sériques et électrophorèse, noté « PS »
 - Détermination de l'urémie et dosage des enzymes hépatiques, noté « URE-HEP »

Remarque : les réactifs usuels du laboratoire de microbiologie sont à disposition pour des manipulations simples dont le protocole n'est pas forcément fourni.

ANNEXE 1 : Protocole de dosage des protéines par la méthode de Lowry

La solution protéique est dosée à la fois par la méthode du Biuret, CuSO_4 en milieu alcalin, et par celle de Folin-Ciocalteu, réactif phosphotungstique, qui s'appuie sur le pouvoir réducteur des résidus tyrosine et tryptophane.

1 / MATERIEL ET REACTIFS

- Solution mère de protéine à $0,50 \text{ g.L}^{-1}$,
- Solution standard de protéine à 75 mg.L^{-1} ,
- Eau physiologique,
- Solution alcaline de sulfate de cuivre,
- Réactif de Folin dilué au $\frac{1}{2}$,
- Microcuves.

2 / GAMME D'ÉTALONNAGE

A partir d'une solution mère de protéine à $0,50 \text{ g.L}^{-1}$, préparer une gamme d'étalonnage de 7 tubes renfermant de 0 à 30 microgrammes de protéines par tube.
Les dilutions s'effectuent en eau physiologique.

3 / DOSAGE

Protéines sériques totales normales : de l'ordre de 60 à 85 g.L^{-1} .

Composition d'un tube de mesure :

200 μL d'échantillon,

600 μL de solution alcaline de sulfate de cuivre,

Agiter fortement ; laisser reposer 10 minutes puis ajouter :

80 μL de réactif de Folin dilué au $\frac{1}{2}$,

Agiter fortement ; laisser reposer 30 minutes,

Lire les absorbances à 750 nm.

Réaliser l'ensemble des tubes dans les mêmes conditions :

- Gamme d'étalonnage,
- Témoin réactif,
- Contrôle : Standard dont la concentration est exactement de 75 mg.L^{-1} de protéines.

4 / EXPLOITATION DES RÉSULTATS

Tracer la courbe d'étalonnage à l'aide d'un logiciel (Open Calc) ou sur une feuille de papier millimétré.

Données : (XX = valeur fournie par les membres du jury).

$s_r = \text{XX}$

$s_R = \text{XX}$

$U_c = \text{XX}$

$k = 2$

ANNEXE 2 : Protocole pour électrophorèse des protéines sériques

1 / MATÉRIELS ET RÉACTIFS

- 2 Bandes d'acétate de cellulose,
- Cuve à électrophorèse reliée à un générateur,
- Pipette automatique,
- Pince pour manipuler des bandes,
- Tampon véronal pH = 8,8,
- Solution de coloration au rouge ponceau.
- Solution pour décoloration : acide acétique à 5 %.

2 / MODE OPÉRATOIRE

✓ Préparation du support : imprégnation

- Repérer la face de la bande d'acétate de cellulose sur laquelle le dépôt doit être effectué,
- Déposer la bande à la surface du tampon véronal pH 8,6, patienter une minute,
- Immerger les bandes quand elles sont suffisamment imbibées,
- Retirer les bandes après 5 minutes.
- Absorber l'excédent de tampon avec du papier Joseph,
- Placer les bandes dans la cuve d'électrophorèse.

✓ Dépôt du sérum patient et d'un sérum contrôle « Lyotrol N » :

- Prélever 10 µL de sérum à l'aide d'une pipette automatique,
- Procéder au dépôt à environ 2,5 cm de l'extrémité cathodique de la bande d'acétate de cellulose,
- Laisser le dépôt s'adsorber 10 secondes à la surface de la bande,
- Déposer la bande dans la cuve d'électrophorèse.

• Migration :

- Vérifier que les deux compartiments de la cuve électrophorèse seront suffisamment remplis de tampon,
- Fermer la cuve,
- Relier le générateur à la cuve,
- Paramétrer la différence de potentiel à 220 V,
- Laisser la migration se dérouler pendant 25 minutes.

1. Arrêt du générateur et traitement des bandes.

- Éteindre le générateur,
- Débrancher la cuve et récupérer les bandes,
- Colorer au rouge ponceau. Durée de mise en contact, 4 minutes,
- Décolorer du fond de la bande par 3 bains successifs en acide acétique 5 %. Durée de chaque bain environ 2 minutes.

LES BANDES SONT DONNÉES À L'EXAMINATEUR POUR LECTURE AU DENSITOMÈTRE.

- Exploiter les résultats fournis par le jury.

ANNEXE 3 : Fiche technique : « Urée Cinétique UV 250 » (3 pages)

Urée cinétique UV 250 (UREA UV 250)

IVD

Dosage enzymatique de l'urée dans urines, sérum et plasma humains.
Méthode à l'uréase - GLDH.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1, 2)

L'urée, produit ultime du catabolisme des acides aminés, est synthétisée dans le foie (uréogénèse) et s'élimine à 90% dans les urines.

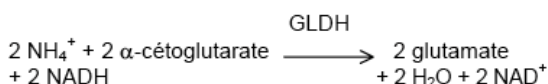
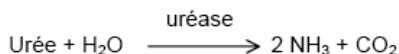
Les concentrations d'urée sérique et urinaire varient sensiblement chez le sujet sain car elles dépendent de la fonction rénale, des apports azotés alimentaires, du catabolisme protidique endogène, de l'état d'hydratation et de la diurèse.

Une chute de l'urée sérique au-dessous de 2 mmol/l chez l'adulte, accompagnée d'une diminution de l'urée urinaire, s'observe au stade terminal des grandes insuffisances hépatiques, en même temps que s'installe l'hyperammoniémie.

Plus fréquent est le syndrome de rétention azotée avec élévation de l'urée sérique, dans le cadre des insuffisances rénales aiguës et chroniques, où l'urée sérique peut atteindre jusqu'à 60 mmol/l. En pathologie rénale, le dosage de l'urée sérique est toujours associé à celui de la créatinine, car une urée sérique élevée n'est pas spécifique d'une atteinte rénale et peut s'observer en cas de régime riche en protéines, d'atteinte cardiaque, de déshydratation, de prise de diurétiques, d'hypercatabolisme azoté (brûlures, infections, fièvre, corticoïdes, période postopératoire, néoplasie...) et chez le sujet âgé.

PRINCIPE (3, 4)

Urée Cinétique UV permet le dosage entièrement enzymatique en mode cinétique de l'urée dans les urines, le sérum ou le plasma humains, en utilisant la séquence uréase - glutamate déshydrogénase (GLDH).



La diminution de DO à 340 nm, liée à la consommation du NADH, est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon.

GLDH = Glutamate déshydrogénase

Code SFBC : GP

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET (250 tests)

Réactif 1 Étalon 1 x 3 ml (liquide)	R1	Urée	8,33 mmol/l (0,5 g/l)
Réactif 2 Tampon 4 x 75 ml (liquide)	R2	Tampon Tris pH 8 α cétoglutarate NaN ₃	50 mmol/l 4 mmol/l 1 g/l
Réactif 3 (repris par R2) Enzymes 10 x 25 ml (lyophilisé)	R3	NADH GLDH (origine bovine) Uréase ADP	0,33 mmol/l ≥ 1000 U/l ≥ 5000 U/l 0,4 mmol/l
1 notice			

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Équipement général de laboratoire.

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).
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.

- Le réactif contient un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- L'utilisation de matériel à usage unique est conseillée.
- Éviter toute contamination extérieure par les ions ammonium.
- Veiller à ce que la température de réaction soit constante.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret à 2-8°C.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature des échantillons

- Sérum ou plasma recueilli sur EDTA, héparinate de sodium, fluorure de sodium ou héparine-iodoacétate.
- Urines de 24 heures recueillies dans un flacon contenant 10 ml HCl 6 N afin d'éviter l'action des uréases bactériennes (5).
 - Les diluer au 1/100 dans l'eau déminéralisée.
 - Effectuer le dosage sur cette dilution.
 - En fonction du titre obtenu, renouveler le dosage sur une dilution adaptée.

Stabilité du sérum ou plasma (6)

- 4 jours à 2-8°C.
- 3 jours à 20-25°C.
- 3 mois à -25 ± 6°C.

Stabilité des urines (7)

4 jours à 2-8°C.

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 la lipémie, après surcharge d'échantillons en lipides, jusqu'à 7 mmol/l d'équivalent triglycérides,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 491 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. ou
- Utiliser le Réactif 1 (Réf. 61 974).
 - Titre du Réactif 1 : 8,33 mmol/l (0,5 g/l).
 - Solution aqueuse préparée à partir d'urée pure à 99,5%.

MODE OPERATOIRE MANUEL

Préparation du réactif

Reprendre le contenu d'un flacon de Réactif 3 par 25 ml de Réactif 2.

Laisser 15 minutes à température ambiante.

Éliminer toute solution de travail dont la DO est inférieure à 1,2 à 340 nm.

Stabilité dans le flacon d'origine

- 4 semaines à 2-8°C.
- 8 jours à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : _____ 340 nm (Hg 334 nm)

Température : _____ 37°C

Cuve : _____ trajet optique 1 cm

Zéro de l'appareil : _____ air ou eau déminéralisée

Introduire dans un tube ou une cuve de mesure thermostaté à 37°C :	
Réactif 3 repris et porté à 37°C Echantillon	1 ml 10 µl
Mélanger. Lire l'absorbance à t = 20 sec. (DO ₁) et à t = 80 sec. (DO ₂). Respecter rigoureusement les temps de lecture.	

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

$$\text{Concentration de l'échantillon} = \frac{\Delta \text{DO}_{\text{échantillon}}}{\Delta \text{DO}_{\text{étalon}}} \times n$$

$$\Delta \text{DO} = \text{DO}_2 - \text{DO}_1$$

n = concentration de l'étalon

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

FACTEUR DE CONVERSION

$$\text{mmol/l} \times 0,060 = \text{g/l}$$

$$\text{mmol/l} \times 6 = \text{mg/dl}$$

$$\text{g/l} \times 16,67 = \text{mmol/l}$$

$$\text{mg/dl} \times 0,167 = \text{mmol/l}$$

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.

VALEURS ATTENDUES (5)

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

	mmol/l	g/l	mg/dl
Nourrissons	1,00 – 3,00	0,06 – 0,18	6 - 18
Enfants	2,50 – 5,50	0,15 – 0,33	15 - 33
Adultes	2,50 – 7,50	0,15 – 0,45	15 - 45

Urines

- 250 – 500 mmol/24 h
- 15 – 30 g/24 h
- 15 000 – 30 000 mg/24 h

PERFORMANCES (8)

Les études du réactif Urée cinétique UV 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 0,90 mmol/l (0,054 g/l ou 5,4 mg/dl).

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 50 mmol/l (3 g/l ou 300 mg/dl).

Précision

Précision intra-série

Trois échantillons sériques ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	16	5,67	3,03
Niveau 2	16	10,70	3,97
Niveau 3	16	20,00	2,14

Trois échantillons urinaires ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	12	3,34
Niveau 2	20	249	2,85
Niveau 3	20	2093	2,27

Précision inter-séries (9)

Trois échantillons sériques ont été dosés en triple dans 15 séries différentes (3 séries par jour). La reproductibilité (précision inter-série) a été calculée selon les recommandations du NCCLS EP5-T2, vol.12, n°4.

	n	Moyenne (mmol/l)	C.V (%)
Niveau 1	45	6,41	5,49
Niveau 2	45	15,65	7,31
Niveau 3	45	29,21	6,80

Corrélation

50 échantillons sériques ont été dosés comparativement à un réactif commercialisé utilisant le même principe technique.

L'équation de la droite d'allométrie obtenue est :

$y = 0,99 x + 0,49$ (en mmol/l) avec un coefficient de corrélation de 0,996.

APPLICATIONS DISPONIBLES SUR DEMANDE

- Applications spectrophotomètres (12028A)
- AU 400 / 640 / 2700 (13664A)
- AU 600 (12029B)
- CX 5 / CX 7 / CX 9 (12030A)
- DAX (13060A)
- HITACHI 704 (12031A)
- HITACHI 717 (12032A)
- HITACHI 911 (12033A)
- KONELAB 20 (13061A)
- MASCOTT PLUS / LISA (12034A)
- MEGA (13062A)
- MIRA S / MIRA PLUS (12035A)
- MIRA S / MIRA PLUS (protocole urinaire) (12036A)
- RA 1000 / XT (12037A)
- SELECTRA 2 / E / XL (12038B)
- TARGA / FALCOR 250 / BT 3000 plus (13063A)

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou 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

1. VALDIGUIE P. - *Biochimie clinique* - 2^{ème} ed. - Editions Médicales Internationales, 2000 - ISBN 2-7430-0415-0.
2. WILLS M.R., SAVORY J. - *Biochemistry of renal failure.* - *Ann. Clin. Lab. Sci.* - 1981, vol. 11, n°4, p 292-299.
3. GUTMANN I., BERGMAYER H.U. - *Determination of Urea with glutamate dehydrogenase as indicator enzyme - Methods of enzymatic analysis New-York - 2nd ed - Academic Press - 1974, vol. 4, p. 1794-1798 - ISBN 0-12091-304-6.*
4. HALLETT C.J., COOK J.G.H. - *Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation.* - *Clin. Chim. Acta* - 1971, vol. 35, p. 33-37.
5. METAIS P. et al. - *Biochimie clinique* - vol 1 - 2^{ème} ed. - p. 101-103 - ISBN 2-85334-309-X.
6. CHEVILLON I., LARROSE C., MOREAU N., et al. - *Conservation des échantillons de sang avant analyse des paramètres biochimiques les plus courants.* - *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1998, vol. 56, p. 200-204.
7. TIETZ N.W. - *Clinical guide to laboratory tests* - 3^{ème} ed. - 1995, p. 622-625 - ISBN 0-7216-5035-X
8. VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C. et al. - *Protocole de validation de techniques (document B) - Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1986, vol. 44, p. 686-745.
9. *Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices* - Kennedy J.W. et al. - 2nd ed - vol. 12, n° 4, EP5-T2 - ISBN 1-56238-145-8.

ANNEXE 4 : Fiche technique « Enzyline optimisé unitaire » (3 pages)

Enzyline[®] GPT optimisé unitaire

IVD

Mesure cinétique de l'activité alanine aminotransférase dans sérum et plasma humains selon les recommandations de la Société de Chimie Clinique Allemande (DGKC).

Méthode avec tampon phosphate.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1, 2, 3)

Les transaminases sont présentes en grande quantité dans certains tissus comme le foie (ALAT/GPT et ASAT/GOT) ou le cœur (principalement ASAT/GOT). Leur apparition dans le sang reflète une nécrose de ces tissus. Le dosage de l'ALAT sérique est d'un grand intérêt dans le dépistage précoce des hépatites et des désordres hépatiques en général, et dans le suivi d'évolution de ces maladies.

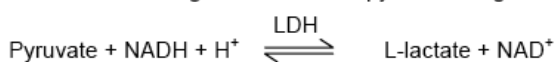
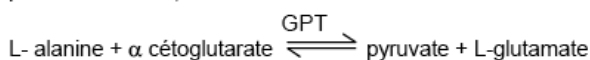
Dans le cas de désordres hépatiques, une augmentation importante des transaminases témoigne d'une cytolyse. Le rapport ASAT/ALAT (avec élévation des 2 activités) est habituellement > 1 chez des patients avec cirrhose alcoolique, congestion hépatique et cancer métastatique du foie, et < 1 chez des patients avec hépatite aiguë, hépatite virale ou mononucléose infectieuse.

Dans le cadre d'un bilan cardiaque, les transaminases sont des indicateurs de l'infarctus du myocarde. Elles s'élèvent dès la 10^{ème} heure et se normalisent en 3 à 6 jours. Les ASAT/GOT sont plus élevées que les ALAT/GPT.

En dehors de ces 2 bilans, les ALAT/GPT s'élèvent de façon modérée dans diverses affections.

PRINCIPE (4)

Enzyline[®] GPT optimisé unitaire permet la détermination cinétique de l'activité alanine aminotransférase avec couplage à une réaction indicatrice à NAD réduit, en tampon phosphate 80 mM pH 7,4, dans le sérum et le plasma humains, selon les réactions suivantes :



On mesure la vitesse de disparition du NADH à 340 nm, qui est proportionnelle à l'activité catalytique de la GPT dans l'échantillon.

GPT = glutamate pyruvate transaminase.

LDH = lactate déshydrogénase.

Code SFBC : KA

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET (66 tests)

Réactif 1 L-alanine 1 x 75 ml (liquide)	R1	L-alanine NaN ₃	960 mmol/l 1 g/l
Réactif 2 (repris par R1) Enzymes-coenzyme 20 x 3 ml (lyophilisé)	R2	Tampon phosphate pH 7,4 NADH α céto glutarate LDH (origine porcine)	96 mmol/l 0,23 mmol/l 22 mmol/l ≥ 1200 U/l
1 notice			

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Equipement général de laboratoire.

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).
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Le réactif contient un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret à 2-8°C.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS (5)

Nature des échantillons

Sérum ou plasma recueilli sur EDTA ou héparinate de lithium.

Stabilité

- 5 jours à 2-8°C.
- 24 heures à 20-25°C.

Interférences

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

- de l'hémolyse, après surcharge d'échantillons en hémoglobine, jusqu'à 183 µmol/l,
- de la lipémie, après surcharge d'échantillons en lipides, jusqu'à 7 mmol/l d'équivalent triglycérides,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 542 µmol/l,
- du pyruvate jusqu'à 500 µmol/l.

Il est néanmoins conseillé d'être vigilant sur les échantillons visiblement hémolysés, lipémiques ou icteriques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

MODE OPERATOIRE MANUEL

Préparation des réactifs

Prendre le contenu d'un flacon de Réactif 2 par 3 ml de Réactif 1.

Stabilité dans le flacon d'origine

- 4 jours à 2-8°C.
- 24 heures à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : — 340 nm (Hg 334 nm – Hg 365 nm)

Température : — 30°C ou 37°C

Cuve : — trajet optique 1 cm

Zéro de l'appareil : — air ou eau distillée

Introduire dans un tube ou une cuve de mesure thermostaté à 30°C ou 37°C :	
Réactif 2 repris et porté à 30°C ou 37°C	900 µl
Echantillon	150 µl
Mélanger. Attendre 1 minute environ à 30°C ou 37°C. Mesurer la diminution moyenne de DO par min (n) pendant 1 à 3 minutes.	

- Pour une variation moyenne de DO par min $\geq 0,16$, à 340 nm, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/5 ou 1/10 dans une solution de NaCl à 9 g/l.
- **Une variation de DO moyenne par minute très faible peut indiquer une consommation totale du NADH avant lecture (DO de départ < 1,0) et donc signifier une activité transaminasique élevée et / ou une concentration en pyruvate endogène exceptionnellement élevée (6). Refaire la détermination après dilution de l'échantillon.**

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

340 nm _____ U/l = n x 1111

334 nm _____ U/l = n x 1133

365 nm _____ U/l = n x 2059

CONTROLE DE QUALITE

- Lyotrol® P (Réf. 62 383)
- Unitrol® (Réf. 62 453)
- Zymotrol® (Réf. 62 952)

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.

VALEURS ATTENDUES (7, 8)

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.

	30°C *	37°C *
Hommes	≤ 28 U/l	≤ 40 U/l
Femmes	≤ 25 U/l	≤ 35 U/l

* valeurs recalculées. Pour obtenir les valeurs attendues à 30°C et à 37°C à partir des valeurs attendues à 25°C, les facteurs utilisés sont respectivement de 1,31 et 1,88.

PERFORMANCES (9)

Les études du réactif Enzyline® GPT optimisé unitaire ont donné les résultats suivants à 37°C.

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 distillée (moyenne + 5 x écart type).

La limite de détection est inférieure ou égale à 4 U/l.

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 180 U/l.

Précision

Précision intra-série

Trois échantillons ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	17	1,51
Niveau 2	20	40	4,34
Niveau 3	20	147	1,78

Précision inter-séries (10)

Trois échantillons ont été dosés en triple dans 15 séries différentes (3 séries par jour). La reproductibilité (précision inter-série) a été calculée selon les recommandations du NCCLS EP5-T2, vol.12, n°4.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	45	42	5,66
Niveau 2	45	145	3,90
Niveau 3	45	153	4,61

Corrélation

50 échantillons de patients ont été dosés comparativement à un réactif bioMérieux utilisant la méthode avec tampon Tris, sans phosphate de pyridoxal. L'équation de la droite d'allométrie obtenue est :
 $y = 1,01 x - 0,41$ (en U/l) avec un coefficient de corrélation de 1,000.

APPLICATION DISPONIBLE SUR DEMANDE

Application spectrophotomètres (12288A)

ELIMINATION DES DECHETS

Eliminer les réactifs utilisés ou 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

1. PAPPAS N.J. - Enhanced cardiac enzyme profile. - *Clin. Lab. Med.* - 1989, vol. 9, n° 4, p. 689-716.
2. REICHLING J.J., KAPLAN M.M. - Clinical use of serum enzymes in liver disease. - *Dig. Dis. Sci.* - 1988, vol. 33, n° 12, p. 1601-1614.
3. DUFOUR D.R., LOTT J.A., NOLTE F.S., et al. - Diagnosis and monitoring of hepatic injury. - *Clinical Chemistry* - 2000, vol. 46, n°12, p. 2027-2049 (Part I : Performance characteristics of laboratory tests), p. 2050-2068 (Part II : Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring).
4. BERGMAYER H.U., et al - Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie : Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. - *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.* - 1970, vol. 8, p. 658-660 ; 1972, vol. 10, p. 182-192.
5. MATHIEU M., GUIDOLLET.J., JUNIEN C., et al. - Recommandations pour la détermination dans le sérum humain de la concentration catalytique de l'Alanine aminotransférase à +30°C. *Ann. Biol. clin.* - 1982, vol. 40, p 117-122.

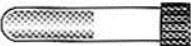

6. BERGMAYER H.U., HORDER M., REJ R. - Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part 3. IFCC Method for Alanine Aminotransferase. - *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* - 1986, vol. 24, p. 481-495.
7. THEFELD W., HOFFMEISTER H., BUSCH E.W., et al. Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden. - *Dtsch. Med. Wschr.* - 1974, vol. 99, p. 343-351.
8. PENNEL C. et al - chap. 50 Référence information for the clinical laboratory - In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, W.B. SAUNDERS COMPANY, Philadelphia, 1999 - p. 1800 - ISBN 0-7216-5610
9. VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C. et al. - Protocole de validation de techniques (document B) - *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1986, vol. 44, p. 686-745.
10. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices - Kennedy J.W. et al. - 2nd ed - vol. 12, n° 4, EP5-T2 - ISBN 1-56238-145-8.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
REF	Numéro de référence
	Pour usage "in vitro"
	Fabricant
	A conserver entre X - Y°C
	Date de péremption
	Numéro de lot
	Se reporter aux instructions d'utilisation

ANNEXE 5 : Protocole de recherche de la coagulase libre

(D'après « Microbiologie Technique, Tome 1, dictionnaire des technique », Jean-Noël Joffin, Guy Leyral - CRDP d'Aquitaine

RECHERCHE DE LA COAGULASE (libre)		
Milieu et réactif	Technique	Résultats
Milieu Bouillon cœur-cervelle ou Bouillon pour coagulase	– Réaliser la culture en bouillon. – Étuver 24 h à 37 °C.	 Prise en masse du contenu du tube : coagulation du plasma. Coagulase+
Réactif Plasma de lapin oxalaté	– Mettre dans un tube à hémolyse : 4 gouttes de plasma de lapin oxalaté 4 gouttes de bouillon agité. – Placer le tube au bain d'eau à 37 °C durant 2h à 24 h. – Observer toutes les heures.	 Le contenu du tube reste liquide : pas de coagulation du plasma. Coagulase-
Causes d'erreur – Bouillon coagulase+ (faire un témoin du lot de bouillons utilisés). – Bouillonensemencé mal agité avant le prélèvement. – Proportions non égales du bouillon et du plasma.		

ANNEXE 6 : Fiche technique : « API STAPH » (3 pages)

Système d'identification des staphylocoques, microcoques et apparentés

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API Staph est un système standardisé pour l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* comprenant des tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'Identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API Staph comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests)

- 25 galeries API Staph
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API Staph Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API Staph est reportée dans le tableau de lecture de cette notice.

Milieu

API Staph Medium 6 ml	Extrait de levure Bactopeptone (origine bovine/porcine) NaCl Oligoéléments Eau déminéralisée pH : 7,0 - 7,4	0,5 g 10 g 5 g 10 ml qsp 1000 ml
-------------------------------------	---	--

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs :

- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Réactifs : VP 1 + VP 2 (Réf. 70 422)
NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
ZYM A + ZYM B (Réf. 70 472)
- McFarland Standard (Réf. 70 900)
- Catalogue Analytique API Staph (Réf. 20 590) ou logiciel d'identification (consulter bioMérieux)

Matériel :

- Pipettes ou PSlpettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoules
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

• Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle micro-biologique.

• 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 "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline* - December 1997". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)," ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.

Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption. Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.

Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, sachet déshydratant ouvert, ...

Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :

-
- Placer l'ampoule dans le protège-ampoules.
 - Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
 - Bien enfoncer le bouchon.
 - Recouvrir la partie inclinée du bouchon avec la première phalange du pouce.
 - Exercer une pression avec le pouce à la base de la partie inclinée du bouchon avec un mouvement vers l'extérieur de façon à casser l'extrémité de l'ampoule à l'intérieur du bouchon.
 - Retirer l'ampoule du protège-ampoules et conserver le protège-ampoules pour une utilisation ultérieure.
 - Enlever délicatement le bouchon.

Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API Staph ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre. Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation.)
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang (ou Agar P) 18-24 H à 36°C ± 2°C.
- Vérifier l'appartenance de la souche à la famille des *Micrococcaceae* (morphologie, Gram, catalase...), ainsi que sa pureté.
- Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation".
- Préparer une suspension bactérienne **homogène**, d'opacité égale à **0,5 de McFarland**. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSlpette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSlpette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Créer une anaérobiose dans les tests **ADH** et **URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

- Après incubation, lire les réactions conformément au Tableau de Lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :
 - Test VP : VP 1 et VP 2.
Attendre 10 minutes. Une couleur **rose franche** ou **violette** indique une réaction **positive**. Une couleur **rose pâle** ou **rose claire** obtenue après 10 minutes doit être considérée **négative**.
 - Test NIT : NIT 1 et NIT 2.
Attendre 10 minutes. Une coloration **rouge** indique une réaction **positive**.
 - Test PAL : ZYM A et ZYM B.
Attendre 10 minutes. Une coloration **violette** indique une réaction **positive**.
- Noter les résultats sur la fiche de résultats.

Test de résistance à la lysostaphine

Déterminer la résistance à la lysostaphine sur milieu Agar P selon la procédure suivante ou selon les recommandations du fabricant.

Pour cela, ensemercer par inondation la surface d'une gélose Agar P avec une suspension bactérienne d'environ 10⁷ germes/ml.

Laisser sécher 10-20 min à 36°C ± 2°C.

Déposer à la surface de la gélose, une goutte d'une solution de lysostaphine à 200 µg/ml.

Incuber 18-24 H à 35-37°C.

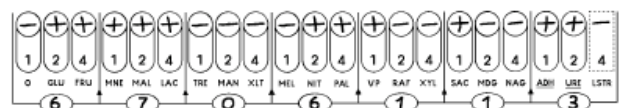
Une lyse totale ou subtotale de la culture bactérienne indique une sensibilité à l'enzyme.

Ce test constitue le 21^{ème} test de la galerie. Il est considéré positif en cas de résistance à la lysostaphine.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique.
- Identification :
Elle est réalisée à partir de la base de données (V 4.0)
* à l'aide du Catalogue Analytique :
 - Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
* à l'aide du logiciel d'identification :
 - Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.



6 706 113 *Staphylococcus epidermidis*

CONTROLE DE QUALITE

Les milieux, galeries et réactifs font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication. Un contrôle bactériologique des tests de la galerie est de plus réalisable par l'utilisateur avec la souche

1. *Staphylococcus xylosus* ATCC 700404 de préférence ou l'une des souches suivantes :

2. *Staphylococcus lentus* ATCC 700403 3. *Staphylococcus capitis* ATCC 35661

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
1.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	V	-	+	+	-	+	-	+
2.	-	+	+	+	+	+	+	+	V	+	+	V	V	+	+	+	+	+	-	-
3.	-	+	+	+	-	-	-	V	-	-	+	-	+	-	-	-*	-	-	+	-

* Ce résultat peut varier en fonction du milieu de culture utilisé.

Profils obtenus après culture des souches sur gélose au sang de mouton.

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

- Le système API Staph est destiné à l'identification des espèces mentionnées dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice), et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

• Microcoques/*Kocuria*

171 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 87,72 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 7,60 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 4,68 % des souches ont été mal identifiées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

ELIMINATION DES DECHETS

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.

PERFORMANCES

- Staphylocoques
2104 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :
 - 92,49 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
 - 4,42 % des souches n'ont pas été identifiées.
 - 3,09 % des souches ont été mal identifiées.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β-naphthyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	ZYM A + ZYM B / 10 min jaune violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / 10 min incoloro-rose pâle violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Les tests d'acidification doivent être lus comparativement aux témoins négatif (0) et positif (GLU).

* Les tests MNE et XLT peuvent être oranges, lorsqu'ils sont entourés ou précédés de tests positifs. On doit alors les considérer comme négatifs.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

**ANNEXE 7 : Extraits du bulletin de janvier 2010 du Comité de
l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) –
Réalisation de l'antibiogramme.**

CONDITIONS TECHNIQUES GENERALES POUR LES METHODES DE DILUTION ET DE DIFFUSION EN MILIEU GELOSE (Bull. Soc. Fr. Microbiol., 1993, 8, 156-66 ; Clin. Microbiol. Infect. 1996, 2, Suppl. 1)

Enterobacteriaceae*, bacilles à Gram négatif non fermentaires (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* ...), *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.

- Inoculum

A partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~10⁸ UFC/mL). Cette suspension peut également être préparée à partir d'une culture en bouillon Mueller-Hinton obtenue après incubation à 37° C au bain-marie agité pendant 3 à 5 h, et dont la densité est ajustée au standard McFarland 0,5.

- Milieu

Gélose Mueller-Hinton

- Ensemencement

- méthode de dilution : diluer la suspension inoculum au 1/10 et déposer 1 à 2 µL, soit ~ 10⁴ UFC par spot.
- méthode de diffusion : ensemencer par écouvillonnage avec la suspension inoculum diluée au 1/10 (~10⁷ UFC/mL) ou ensemencer par inondation avec la suspension inoculum diluée au 1/100 (~ 10⁶ UFC/mL) en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- Lecture

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C.

Cas particulier :

Pour *Staphylococcus aureus* et pour l'oxacilline (*recherche de la résistance à la méticilline, NDLR*) , diluer la suspension inoculum au 1/10 (~ 10⁷ UFC/ml) et incuber à 30°C sur milieu non supplémenté en chlorure de sodium ou à 37°C sur milieu hypersalé (2 à 4%). Prolonger éventuellement l'incubation jusqu'à 48 h si la croissance apparaît faible après 24 h.

Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp

- Inoculum

A partir d'une culture de 18-24 h sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~10⁸ UFC/mL)

- Milieu

Gélose Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton. Pour le cotrimoxazole, utiliser une gélose Mueller-Hinton + 5 % de sang de cheval hémolysé.

- Ensemencement

- méthode de dilution : diluer la suspension inoculum au 1/10 et déposer 1 à 2 µL, soit ~ 10⁴ UFC par spot.
- méthode de diffusion : ensemencer par écouvillonnage sans diluer ou par inondation en diluant la suspension inoculum au 1/10 (~ 10⁷ UFC/mL) en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- Lecture

Après 18-24 h d'incubation à 35-37°C

Pour la réalisation des antibiogrammes, sont mis à disposition :

- Une gélose Mueller Hinton coulée en boîte de Petri de 90 mm de diamètre.
- Une gélose Mueller Hinton hypersalée, coulée en boîte de Petri de 50 mm de diamètre.
- 7 disques d'antibiotique, dont un disque d'oxacilline

ANNEXE 8

Antibiogramme – Recherches particulières.

ANNEXE 9: Protocole de dosage de la vancomycine par voie microbiologique. (2 pages)

1 / MATERIEL ET REACTIFS

- Tube de Mac Farland d'opacité 0,5
- Tube d'eau physiologique 9 mL
- Solution mère de vancomycine à $40 \mu\text{g.mL}^{-1}$
- Tampon pH 7,9
- Pipette graduée 1 mL, pipettes automatiques type « P20 », « P200 », « P1000 »
- 60 mL de gélose Mueller Hinton maintenue en surfusion en bain thermostaté à 56°C .
- Boîte de Pétri carrée, de 120 mm de côté.
- 16 Disques non imprégnés
- Logiciel « OpenCalc », sur poste informatique, et tutoriel au format numérique.

2 / ENSEMENCEMENT ET COULAGE DU MILIEU GELOSE

- Préparer une suspension correspondant à une opacité de 0,5 sur l'échelle de Mac Farland, et procéder à une dilution au 1/10 de celle-ci.
- Ensemencer les 60 mL de gélose Mueller Hinton maintenue en surfusion, avec 2 mL de la dilution précédemment préparée,
- Couler dans la boîte de Pétri carrée de 120 mm de côté,
- Laisser solidifier à température ambiante,
- Déposer 16 disques de papier non imprégnés selon le gabarit fourni.

3 / PREPARATION DE LA GAMME ETALON DE VANCOMYCINE

Préparer une gamme étalon de vancomycine de 7 tubes aux concentrations suivantes : 40-30-20-15-10-5-2 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Ces dilutions seront effectuées dans la solution tampon pH 7,9 fournie et sous un volume final de 1 mL.

4 / REALISATION DU DOSAGE

- Déposer 10 μL des solutions étalons sur chaque disque ; chaque solution étalon étant distribuée deux fois.
- Déposer 10 μL de la solution X (en double essai)
- Incuber 24 h à 37°C .

5 / LECTURE

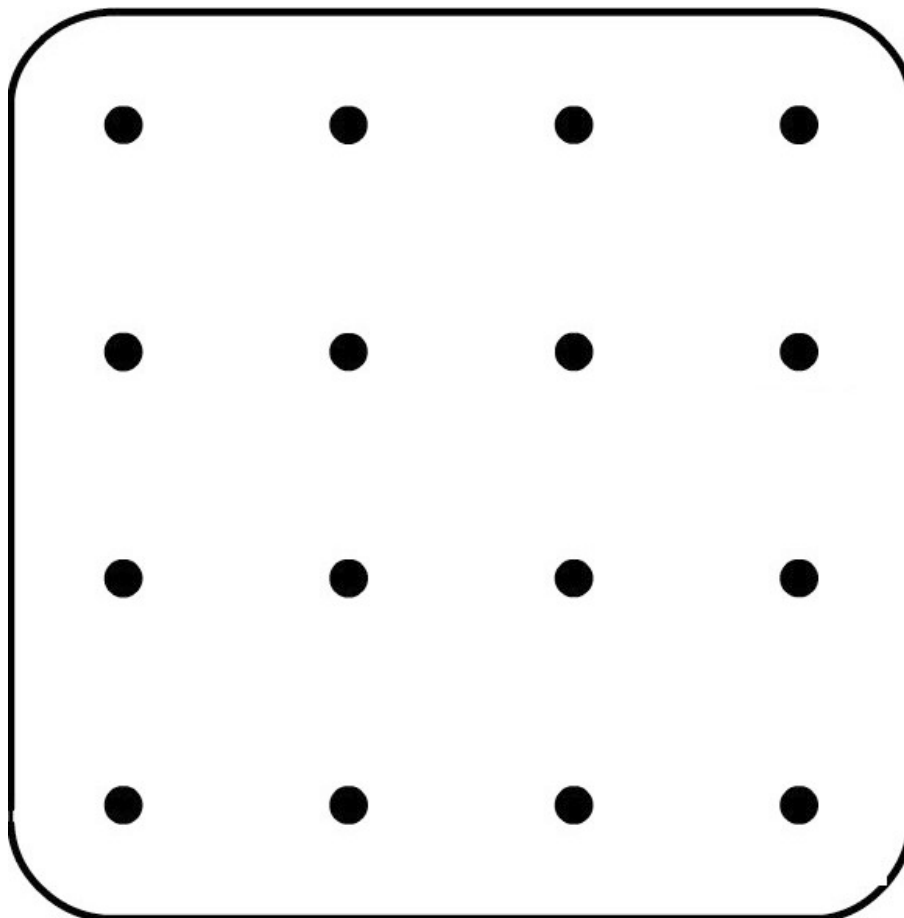
Mesurer les diamètres des zones d'inhibition et les reporter dans un tableau.

Exploiter les résultats fournis par le jury.

Tracer la droite d'étalonnage « Diamètre d'inhibition = f (log [vancomycine]), à l'aide du logiciel OpenCalc, ou sur feuille de papier millimétré. En déduire la concentration en vancomycine de l'échantillon et conclure.

NB : une aide à l'utilisation d'OpenCalc pour ce travail est disponible sous forme de tutoriel en format numérique.

Gabarit à utiliser pour le dosage d'antibiotique et plan de dépôt des échantillons



E1	E7	E3	X
E3	E5	E6	E4
E4	E1	E6	E2
E2	X	E7	E5

Aide à l'interprétation pour le dosage d'antibiotique

Extrait de l'article « Comment optimiser le taux sérique de vancomycine dans le traitement des infections à Staphylococcus aureus ? »

E.Bingen, P. Mariani-Kurkdjian, B. Nebbad, « Médecine et maladies infectieuses », volume 36, 439-442, Septembre 2006.

La vancomycine représente actuellement le traitement de première intention des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Le taux résiduel (TR) sérique est un paramètre corrélé au succès thérapeutique en raison de l'activité bactéricide temps dépendante de la vancomycine. La valeur recommandée pour le TR est de 15 à 20 mg/L pour le traitement des infections sévères à staphylocoques et en particulier celles pour lesquelles la pénétration de la vancomycine est faible.

ANNEXE 10 : Protocole de l'identification des SARM par PCR/ELISA (4 pages)

Face à la recrudescence des infections nosocomiales aux *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), de nouvelles techniques ont été développées pour la détection rapide de ceux-ci, et permettent d'avoir une réponse parfois, directement à partir de prélèvements biologiques souvent monomicrobiens (urines, sang...). Des tests d'agglutination existent, mais face à des résultats faussement négatifs, la mise en évidence du gène *mecA*, responsable de la synthèse de la PLP (protéine liant les pénicillines) de faible affinité des bactéries, reste un moyen sûr de ne pas passer à côté d'un diagnostic. Une méthode par PCR/ELISA a été mise au point et est présentée ci dessous.

1 / PRINCIPE

La méthode consiste à amplifier un fragment du gène *mecA* responsable, chez les SARM, de leur résistance accrue aux **β -lactamines**, par diminution de l'affinité de la PLP aux molécules d'antibiotique.

La présence d'amplicons est ensuite mise en évidence par une technique immuno-enzymatique ELISA.

Pour l'amplification, utiliser :

- une amorce sens notée A1 marquée à l'extrémité 5' par de la biotine,
- une amorce antisens notée A2 marquée à l'extrémité 5' par de la digoxygénine.

Pour la détection des amplicons par technique ELISA, utiliser :

- un support sensibilisé par de l'avidine,
- des anticorps anti-digoxygénine marqués par de la peroxydase.

2 / ECHANTILLONS FOURNIS

- Les colonies présentées sur gélose au sang, et préalablement identifiées comme provenant d'une souche de *Staphylococcus aureus*.
- Une souche de *Bacillus* sur gélose Trypticase Soja, afin de réaliser un témoin négatif.
- Une souche de SARM, présentée sur gélose Trypticase Soja, afin de réaliser un témoin positif.

3 / MODE OPERATOIRE

3.1 / Traitement des échantillons : à réaliser au poste de microbiologie

Souche à identifier : en tube « Eppendorf » préparer 1 mL de suspension en eau « qualité BM » à partir de 2 colonies prélevées sur la subculture aérobie ou anaérobie.

Témoins négatif et positif: Préparer en tube « Eppendorf », respectivement 1mL d'une suspension en eau « qualité BM », à partir de 1 colonie de *Bacillus* et 2 colonies de SARM.

Placer les tubes, à 100°C pendant 10 min, sur portoir flottant (après les avoir couverts de paraffine), puis les conserver dans la glace.

3.2 / Amplification par PCR du gène mecA

Composition du « premix »

Réactifs	Concentrations des solutions fournies	Concentrations ou quantités voulues dans le mélange réactionnel
<i>Tampon amplification</i>	10X	1X
<i>Solution de dNTPs</i>	10 mmol.L ⁻¹	200 µmol.L ⁻¹
<i>Amorce A1</i>	2 µmol.L ⁻¹	0,2 µmol.L ⁻¹
<i>Amorce A2</i>	2 µmol.L ⁻¹	0,2 µmol.L ⁻¹
<i>Taq polymérase</i>	1U.µL ⁻¹	2U
<i>MgCl₂</i>	5 µmol.L ⁻¹	1 µmol.L ⁻¹

NB : Réaliser la PCR avec 20 µL de matrice, et compléter, avec de l'eau « qualité BM » à 120 µL.

Préparation du mélange réactionnel :

Port de gants obligatoire,

Homogénéiser et centrifuger tous les réactifs avant utilisation,

Les conserver dans la glace,

Utiliser du matériel traité avec une solution d'HCl à 0,1 mol.L⁻¹.

Préparer un mélange contenant tous les réactifs hormis l'ADN, pour n+1 PCR, dans un microtube, placé dans la glace.

Réactifs	Volume (µL) pour la réalisation de n+1 PCR
<i>Eau « qualité BM »</i>	
<i>Tampon d'amplification</i>	
<i>Solution de dNTPs</i>	
<i>Amorce A1</i>	
<i>Amorce A2</i>	
<i>MgCl₂</i>	
<i>Taq polymérase</i>	

Préparation des échantillons à amplifier :

Tubes	Mélange réactionnel (µL)	Echantillons traités (µL)
<i>Souche à tester, témoin positif, témoin négatif</i>	100	20

Remarque :

Homogénéiser les tubes avant de prélever les 20 µL à travers la paraffine.

Amplification en thermocycleur (NON REALISEE)

Programmation :

1.	94°C	8 min	
2.	57°C	3 min	
3.	72°C	1 min	2. x 1
4.	94°C	30 sec	
5.	57°C	30 sec	
6.	72°C	30 sec	4. x 29
7.	72°C	1 min	
8.	4°C	pause	

Conserver les échantillons à 4°C jusqu'à la révélation par la technique ELISA

NB : des échantillons traités par le centre du concours sont mis à disposition pour la suite de la manipulation.

3.3 / Détection par technique ELISA de l'amplicon du gène mecA.

Préparation de la barrette de microtitration (DEJA REALISEE) :

- Dépôt de 200 µL d'avidine à 10µg.mL⁻¹ en tampon PBS par puits
- Incubation 72 h à 4°C
- Dépôt de 200µL par puits de SAB à 3% en PBS
- Incubation 2 h à 37°C

Mode opératoire :

Le puits D correspond à l'amplifiat à tester.

Le puits E correspond à l'amplifiat du témoin négatif.

Le puits F correspond à l'amplifiat du témoin positif.

<i>Puits</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>F</i>
	Rejeter le contenu présent dans les puits					
PBS Tween	3 lavages					
Amplifiat (μL)				100	100	100
PBS (μL)	100	100	100			
Couvrir (papier adhésif) et incuber 20 min à 37°C						
PBS Tween	3 lavages					
Conjugué : Ac anti DIG-POD (μL)			100	100	100	100
PBS (μL)	100	100				
Couvrir (papier adhésif) et incuber 20 min à 37°C						
PBS Tween	3 lavages					
Solution chromogène OPD (μL)		100	100	100	100	100
PBS (μL)	100					
Incuber 2 minutes						
Solution H_2SO_4 à 2 mol.L^{-1} (μL)	20	20	20	20	20	20
Lecture à 492 nm						

✓ Lecture :

Abs corrigée (492 nm)	INTERPRETATION
< 0,200	L'échantillon est présumé SARM négatif .
> 0,800	L'échantillon est SARM positif .
> 0,200 et < 0,800	Le résultat pour les SARM est douteux : résultat à contrôler avec un deuxième prélèvement.

ANNEXE 11 : Fiche technique : « Pastorex Staph Plus » (4 pages).

1. INTÉRÊT CLINIQUE

PASTOREX™ STAPH-PLUS est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène ("clumping factor"), de la protéine A et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

2. RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Staphylococcus aureus est l'un des germes pathogènes les plus fréquemment isolés dans les prélèvements cliniques. La distinction rapide entre cette espèce et d'autres espèces de staphylocoques, moins virulentes, est d'une grande importance pour une prise en charge correcte des patients. Le test de détection de la production de coagulase libre permet l'identification de *Staphylococcus aureus* (11,12). Cependant, ce test demande de 4 à 24 heures et le plasma peut présenter, d'un lot à l'autre, des variations altérant la réaction (16).

Des réactifs d'agglutination ont été développés, permettant une détection plus rapide et plus fiable de *Staphylococcus aureus* (3). Ces tests d'agglutination sont constitués de latex sensibilisé par du fibrinogène et des IgG afin de détecter le facteur d'affinité pour le fibrinogène et la protéine A, qui sont des protéines caractéristiques de *S. aureus*. Toutefois, il a été observé que certaines souches de *Staphylococcus aureus* (principalement celles résistantes à la pénicilline) ne sont pas agglutinées par ces tests (15). Une étude de ces souches a montré qu'elles possédaient toutes des polysaccharides capsulaires (4). Il est donc vraisemblable que la capsule polysaccharidique qui recouvre toute la bactérie dans certaines conditions (isolement frais, conditions de culture, clone bactérien) masque la protéine A et le facteur d'affinité pour le fibrinogène et empêche ainsi l'agglutination des particules de latex sensibilisées uniquement par le fibrinogène et les IgG.

3. PRINCIPE DU TEST

Le réactif PASTOREX™ STAPH-PLUS permet la recherche simultanée : 1-du facteur d'affinité pour le fibrinogène, également appelé coagulase liée ou "clumping factor" ; 2-de la protéine A qui possède une affinité pour le "fragment cristallisable" (Fc) des immunoglobulines gamma (IgG) ; 3-des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Ce réactif est constitué de particules de latex sensibilisées d'une part avec du fibrinogène et des IgG, et d'autre part avec des anticorps monoclonaux spécifiques des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus* (1, 5, 6, 8, 10) (brevet Institut Pasteur). L'association, dans un même réactif, de fibrinogène, d'IgG et d'anticorps anti-polysaccharides capsulaires permet de reconnaître aussi bien les souches de *Staphylococcus aureus* très capsulées que les souches peu capsulées. En effet, pour les souches très capsulées, ce sont les anticorps anti-polysaccharides capsulaires qui agglutinent les bactéries. Pour les souches sensibles ayant perdu leur capsule polysaccharidique, les bactéries sont agglutinées par le fibrinogène et les IgG.

Les isolats de *Staphylococcus aureus* sont mélangés avec le réactif au latex sur une carte d'agglutination. Après avoir bien mélangé, la carte est examinée à l'œil nu : la formation d'agglutinats indique la présence de *Staphylococcus aureus*.

4. PRESENTATION

4.1. PASTOREX™ STAPH-PLUS, coffret de 50 tests, code 56356, contenant :

- Latex test : 1 flacon compte-gouttes de 1 ml de latex rouge sensibilisé par du fibrinogène, des IgG et des anticorps monoclonaux anti-polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*. Contient 0,02 % de merthiolate et une quantité < 0,1 % d'azoture de sodium.
- Négative central : 1 flacon compte-gouttes de 1 ml de réactif témoin négatif de latex rouge sensibilisé par une solution d'albumine bovine. Contient 0,02 % de merthiolate et une quantité < 0,1 % d'azoture de sodium.
- 1 sachet 16 cartes d'agglutination jetables
- 1 sachet de 150 bâtonnets

4.2. PASTOREX™ STAPH-PLUS, coffret de 5 x 50 tests, code 56353, contenant :

- Latex test : 5 flacons compte-gouttes de réactif test (1 ml)
- Négative central : 5 flacons compte-gouttes de réactif témoin négatif (1 ml)
- 4 sachets de 16 cartes d'agglutination jetables
- 3 sachets de 100 bâtonnets

5. CONSERVATION

Après ouverture, les réactifs conservés à +2-8°C et en l'absence de contamination sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Conserver les réactifs latex verticalement.

NE JAMAIS CONGELER LES RÉACTIFS LATEX.

6. MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Osés pour le prélèvement des colonies bactériennes.
- Bac désinfectant ou autoclavable pour élimination du matériel usagé.

7. PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

le test PASTOREX™ STAPH-PLUS est uniquement destiné à la confirmation de cultures pures et fraîches et ne doit pas être utilisé directement sur des prélèvements cliniques.

La qualité des résultats dépend du strict respect des bonnes pratiques de laboratoire.

- Tous les réactifs doivent être utilisés à une température comprise entre 18 et 30°C.
- Ne pas passer les doigts sur les surfaces réactionnelles d'agglutination.
- Agiter les flacons de latex avant utilisation.
- Essuyer l'embout compte-gouttes du réactif afin d'obtenir des gouttes bien calibrées.
- Tenir le flacon de latex en position verticale lors du dépôt de la goutte.
- Utiliser les bâtonnets en plastique fournis dans le kit pour mélanger le latex et la suspension bactérienne. Ne pas utiliser de bâtonnets en bois.
- Changer de bâtonnet mélangeur pour chaque réaction.
- Après usage, éliminer les cartes d'agglutination et les bâtonnets dans une poubelle autoclavable ou un bac désinfectant.

CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

Observer à tout moment les techniques et précautions en vigueur en matière de protection contre les dangers microbiologiques.

- Tous les réactifs latex contiennent de l'azoture de sodium. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.
- L'azoture de sodium peut réagir avec le plomb ou le cuivre présents dans les tuyaux d'évacuation et produire ainsi des azotures métalliques explosifs. Lors de leur élimination, rincer abondamment à grande eau pour éviter la formation de dépôts d' azoture.

8. MODE OPÉRATOIRE

8.1. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons utilisés avec ce test doivent être purs et frais. Les milieux d'isolement recommandés (ou équivalents) sont les suivants :

- Milieux gélosés

Gélose trypto-caséine soja

Gélose au sang

Gélose Columbia + sang de mouton

Milieu de Chapman

Gélose Columbia

Milieu de Baird-Parker avec additifs

Effectuer une coloration de Gram et une recherche de la catalase sur les bactéries cultivées. Les colonies testées avec le réactif PASTOREX™ STAPH-PLUS doivent être des cocci Gram-positifs catalase +.

8.2. RÉACTION D'AGGLUTINATION

- Bien homogénéiser le réactif latex. Mélanger à l'aide d'un vortex si nécessaire.
- Déposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.

- Déposer une goutte de réactif latex témoin négatif sur un autre cercle.
- Prélever 1 à 3 colonies de *coccis* Gram-positifs catalase + avec une ose ou un bâtonnet en plastique, puis les émulsionner avec une goutte de latex pendant 10 secondes.
- Procéder de la même façon pour le réactif latex témoin négatif.
- Homogénéiser en effectuant un mouvement rotatif de la carte. La lecture doit se faire pendant les 30 secondes qui suivent le début des mouvements rotatifs de la carte.
- Effectuer la lecture, puis jeter la carte dans un récipient désinfectant. Ne pas réutiliser.

9. INTERPRETATION DES RESULTATS

Réaction positive : Une réaction est positive lorsqu'il y a formation d'agrégats uniquement avec le latex test, visibles à l'œil nu sous un éclairage normal, en moins de 30 secondes. Les agrégats de particules de latex peuvent être de taille plus ou moins importante, avec un fond rosé plus ou moins laiteux. L'apparition d'une réaction lente et faible peut traduire une réaction non spécifique.

Réaction négative : Dans le cas d'une réaction négative, la suspension ne présentera pas d'agrégats et gardera son aspect laiteux.

Résultats non interprétables : L'indication d'un résultat non interprétable est donnée dans le cas d'une agglutination du réactif contrôle négatif. Dans ce cas, rechercher la présence de la coagulase libre et de la DNase thermostable.

10. CONTROLE QUALITÉ DU TEST

Valider le réactif "latex" avant chaque utilisation en vérifiant l'absence d'agglutination lors du dépôt du latex sur la carte. Le latex doit être périodiquement testé avec des souches déjà identifiées de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis*. Le réactif latex test doit donner une agglutination avec *Staphylococcus aureus* et pas d'agglutination avec *Staphylococcus epidermidis*.

11. CONTROLE QUALITÉ DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

12. PERFORMANCES

Les performances du test PASTOREX™ STAPH-PLUS ont été évaluées dans plusieurs laboratoires (2, 13, 14). Au total, 440 souches de *Staphylococcus aureus* et 138 autres souches de staphylocoques ont été testées avec ce coffret. Les cultures ont été identifiées par coloration de Gram, recherche de catalase et de coagulase. Les échantillons discordants ont été vérifiés au moyen d'une analyse biochimique et d'un test rapide du commerce. Les souches de *S. aureus* ont par ailleurs fait l'objet d'un test de sensibilité à la méticilline.

Les résultats des essais de sensibilité sur les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) et sensibles à la méticilline (SASM), ainsi que l'ensemble des résultats pour *Staphylococcus aureus*, sont reportés dans le Tableau 1. Les résultats des essais de spécificité sur des souches de staphylocoques autres que *S. aureus* sont reportés dans le Tableau 2.

Tableau 1 : Performances du test Pastorex™ STAPH-PLUS avec des souches SARM et SASM

	Total	Positives	Négatives	Sensibilité
SARM	217*	217	0	100%
SASM	222	222	0	100%
Total <i>S. aureus</i>	439*	439	0	100%

* Un résultat non interprétable a été exclu

S. aureus résistant à la méticilline

Comme le montre le Tableau 1, sur 217 isolats de SARM bien définis, 217 ont été correctement identifiés par le test PASTOREX™ STAPH-PLUS. La sensibilité du test PASTOREX™ STAPH-PLUS pour les SARM a été estimée à 100 %, en excluant le résultat non interprétable qui représente 0,4 % des souches analysées.

S. aureus sensible à la méticilline

Toutes les souches SARM cultivées (222 au total) ont donné un résultat positif avec le test PASTOREX™ STAPH-PLUS, comme le montre le Tableau 1. La sensibilité du test était de 100 % avec cette population bactérienne.

Autres staphylocoques

Tableau 2 : Performances du test Pastorex™ STAPH-PLUS avec d'autres souches de staphylocoques

	Total	Positives	Négatives	Spécificité
Autres souches de staphylocoques	138	1	137	99,3%

138 isolats de staphylocoques autres que *S. aureus*, dont *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*, *S. schleiferi*, *S. lugdunensis* et d'autres espèces, ont également été analysés avec le test PASTOREX STAPH-PLUS. Un résultat négatif a été obtenu pour 137 des 138 isolats, comme le montre le Tableau 2.

La souche discordante a été identifiée comme étant *S. lugdunensis* et a également donné un résultat positif avec le test rapide alternatif.

13. LIMITES D'UTILISATION

Staphylococcus lugdunensis et *Staphylococcus schleiferi* qui possèdent un facteur d'affinité pour le fibrinogène (7, 9) peuvent donc donner une réaction positive avec le test de détection de ce facteur, en fonction des souches et du milieu d'isolement. Certaines souches de staphylocoques, notamment *Staphylococcus saprophyticus*, peuvent provoquer une agglutination non spécifique des particules de latex ; il est recommandé d'utiliser le latex témoin fourni dans le coffret avec chaque souche testée. *Staphylococcus intermedius* et *Staphylococcus hyicus*, retrouvés en pathologie animale mais très rarement isolés chez l'homme, peuvent donner une réaction positive avec les tests classiques de coagulase et donc, théoriquement, réagir aussi avec les tests de détection du facteur d'affinité pour le fibrinogène.

Comme pour toute technique immunologique, on ne doit pas écarter la possibilité de réactions croisées. Certains streptocoques possèdent une protéine ayant une affinité pour le fragment Fc des immunoglobulines et peuvent donc réagir avec le latex. Des réactions non spécifiques aux techniques latex ont également été signalées avec plusieurs espèces, dont *Escherichia coli* et *Candida albicans* (17). Il est recommandé d'effectuer une coloration de Gram et une recherche de catalase sur les colonies à tester.

Des réactions faussement négatives peuvent s'observer si la souche de *Staphylococcus aureus* isolée ne produit pas de facteur d'affinité pour le fibrinogène ("clumping factor"), de protéine A ou de polysaccharides capsulaires correspondant aux anticorps monoclonaux préparés. Des résultats faussement négatifs peuvent apparaître avec un inoculum insuffisant.

ANNEXE 12

Contenu du dossier numérique

FICHES TECHNIQUES

- API_50_CHL
- Codex_produits_laitiers
- Coffret_Biorad_Protein_Assay (méthode_Bradford)
- Coffret_dosage__acide DL_Lactique
- Milieu_MRS

LOGICIELS

- Regressi
- LibreOffice
 - LibreOfficeCalcPortable
 - LibreOfficeDrawPortable
 - LibreOfficeImpressPortable
 - LibreOfficeWriterPortable

PREVENTION DES RISQUES

- FDS_reactif_Bradford
- FDS_Soude_1M
- Site_3RB

REFERENTIELS ET PROGRAMMES

- Programme_1STL_bgb_biochimie
- Programme_1STL_bgb_microbiologie
- Programme_TSTL_bgb_biochimie
- Programme_TSTL_bgb_biologie_humaine
- Programme_TSTL_bgb_microbiologie
- Referentiel_BTS_Analyses_biologie_medicale
- Referentiel_BTS_bioanalyses_et_controls
- Referentiel_BTS_biotechnologies

ANNEXE 13

Liste des ouvrages scientifiques et technologiques disponibles

Précis de biochimie. Harper
Dictionnaire des techniques de microbiologie. CRDP
Les produits laitiers (2° Éd.). TEC et DOC
Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. LAVOISIER
Science des aliments : Biochimie - Microbiologie - Procédés - Produits. (Volume 1 + Volume 2). LAVOISIER
Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. FLAMMARION
Alimentation, sécurité et contrôles microbiologiques. EDUCAGRI
Aliments et boissons - Filières et produits. CRDP
Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. CRDP
Microbiologie alimentaire. Les fermentations alimentaires. TEC et DOC
Microbiologie. DUNOD
Microbiologie. PRESCOTT

Rapport de l'épreuve d'étude scientifique et technologique

Rapport établi par : M. BLANCHET, Mme BONNEFOY, Mme CHEVALIER, M. CHILLET, M. CNOKAERT, M. DESFARGES, M. DOUCET, Mme FALLER, M. FRAPERIE, Mme GAY, M. LESTRA, Mme MONTIXI, , M. TRUCCHI.

Résultats :

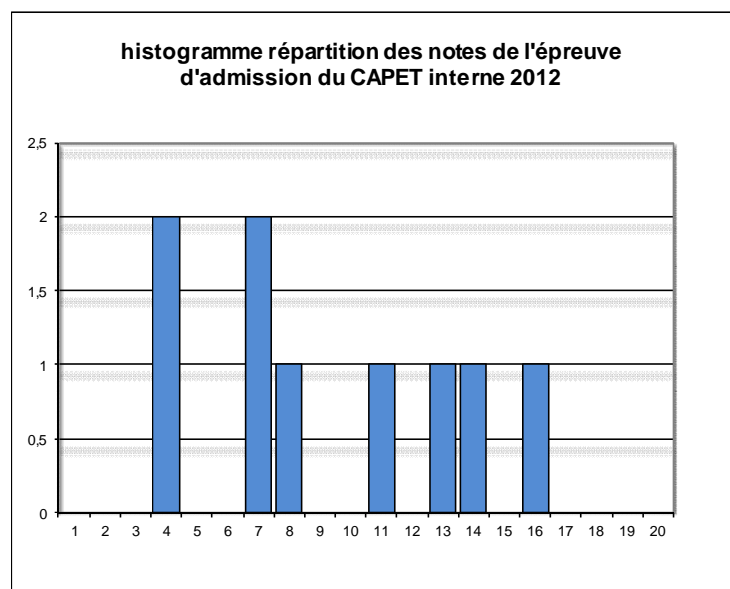
CAPET interne

Moyenne générale : 8,39

Répartition des notes :

<1..... 0	≥ 6 et < 7 2	≥ 12 et < 13 1
≥ 1 et < 2..... 0	≥ 7 et < 8 1	≥ 13 et < 14 1
≥ 2 et < 3 0	≥ 8 et < 9 0	≥ 14 et < 15 0
≥ 3 et < 4 2	≥ 9 et < 10 0	≥ 15 et < 16 1
≥ 4 et < 5 0	≥ 10 et < 11 1	≥ 16 et < 17 0
≥ 5 et < 6 0	≥ 11 et < 12 0	≥ 17 et < 18 0

HISTOGRAMME :



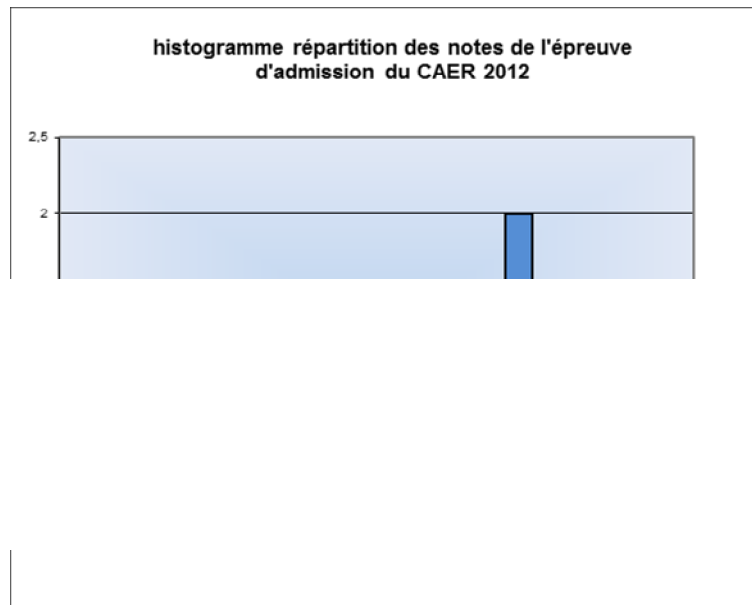
CAER

Moyenne générale : 8,76

Répartition des notes :

<1.....	0	≥ 6 et < 7	1	≥ 12 et < 13	0
≥ 1 et < 2.....	0	≥ 7 et < 8	0	≥ 13 et < 14	0
≥ 2 et < 3	1	≥ 8 et < 9	0	≥ 14 et < 15	2
≥ 3 et < 4	0	≥ 9 et < 10	0	≥ 15 et < 16	0
≥ 4 et < 5	0	≥ 10 et < 11	0	≥ 16 et < 17	0
≥ 5 et < 6	1	≥ 11 et < 12	1	≥ 17 et < 18	0

HISTOGRAMME



Commentaires :

Compte tenu du faible effectif des candidats admissibles, directement lié naturellement au nombre de postes ou contrats ouverts, l'analyse des statistiques ci-dessus n'offre guère d'intérêt autre qu'informatif.

A l'issue de cette seconde session du CAPET, le jury estime utile de rappeler, et peut-être de compléter, les conseils et indications apportées par le premier rapport qui concernait cette épreuve introduite l'an dernier dans le concours.

Objectifs :

Comme le précisent les textes, « l'épreuve a pour but d'évaluer l'aptitude du candidat à concevoir et organiser une séquence de formation pour un objectif pédagogique imposé et un niveau de classe donné ». L'épreuve vise à évaluer la capacité de futurs professeurs à élaborer des enseignements technologiques conformément à un niveau et sur un thème fixés par le sujet. L'exposé des candidats devant le jury permet de mettre en évidence à la fois l'ensemble de leurs compétences : didactiques, pédagogiques, scientifiques et technologiques. L'essentiel de l'évaluation porte sur l'exposé qui s'appuie sur la présentation et

l'exploitation des activités technologiques au laboratoire de biotechnologies. Elle intègre cependant également une évaluation de la partie expérimentale effectuée au laboratoire

Explicitation des attentes du jury :

« L'épreuve prend appui sur les investigations et les analyses effectuées au préalable par le candidat au cours de travaux pratiques à partir d'un ou plusieurs protocoles et comporte un exposé suivi d'un entretien avec les membres du jury. La séquence de formation s'inscrit dans les programmes de lycée ou de classes post baccalauréat du lycée dans la discipline considérée. »

L'épreuve vise à construire une séquence pédagogique sur le thème et au niveau d'enseignement définis par le sujet, conformément au référentiel et/ou programme, puis à exposer l'organisation et les contenus précis d'une des séances constitutives de cette séquence.

Le jury tient à préciser que la séquence pédagogique représente un ensemble continu ou discontinu de séances articulées entre elles dans le temps, exploitant une progression visant au développement de compétences (incluant des attitudes) et de savoirs savants.

Cette construction s'appuie naturellement sur des activités technologiques conduites au laboratoire. Le choix des manipulations par le candidat dépend ainsi du contenu de la séance présentée lors de l'exposé. Ces manipulations seront en effet au cœur de la séance présentée à l'oral.

La partie expérimentale de 4 heures poursuit deux objectifs :

- opérer un choix pertinent de la démonstration effectuée devant le jury pour mettre en évidence ses compétences technologiques d'une part, ses qualités pédagogiques dans l'explication de la manipulation (principe, gestes, points critiques, conditions...) d'autre part ;
- réaliser les manipulations choisies afin d'obtenir des résultats exploitables durant l'exposé pour mettre en évidence et permettre l'évaluation des compétences technologiques détenues : prise en compte de l'environnement spécifique du laboratoire, comportement du manipulateur, maîtrise de la gestuelle et, en particulier, repérage des points critiques associés.

L'heure de **préparation** doit permettre aux candidats de finaliser l'exposé oral. Comme lors de la précédente session, quelques ouvrages, dont la liste était fournie en annexe du sujet, étaient mis à leur disposition en salle de préparation afin d'étayer leur présentation.

Le jury attend des candidats un **exposé** structuré (introduction, conclusion...) comprenant :

- la présentation et le positionnement de la **séquence** dans le cycle de formation,
- la place de la **séance** au sein la séquence, assortie d'objectifs pédagogiques explicites, du contenu : pré-requis, activités technologiques et résultats expérimentaux, supports à destination des élèves, des modalités d'évaluation enfin.

Conformément à la note figurant au bas de la définition de l'épreuve de RAEP du concours, les membres du jury réservent dix minutes de l'épreuve d'admission, pour un **échange sur ce dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience présenté par le candidat**.

Ressources :

Tout au long de l'épreuve, les candidats disposaient d'un dossier numérique sous la forme d'une clé USB personnelle. Le contenu initial de cette ressource, identique pour tous les candidats, était fourni en annexe du sujet. Les candidats étaient invités à utiliser ce support pour préparer la partie orale de l'épreuve, un ordinateur personnel étant fourni à chaque stade de l'épreuve : laboratoire de travaux pratiques, salle de préparation, salle d'exposé enfin.

Le sujet apportait sous forme papier les ressources documentaires nécessaires à la partie pratique : protocoles, fiches techniques, référentiels, normes.

Au laboratoire, chaque candidat disposait des échantillons et matériels nécessaires pour réaliser la (ou les) manipulation(s) choisie(s) parmi celles proposées dans le sujet.

Commentaires sur l'épreuve :

Cette année, le sujet de l'épreuve se rapportait à la démarche diagnostique, aux contrôles et au suivi thérapeutique en milieu hospitalier, le niveau visé étant la Section de Techniciens Supérieurs en analyses de biologie médicale.

Le candidat avait la possibilité d'exploiter un ou plusieurs des trois items proposés dans le titre du sujet et de s'appuyer éventuellement sur des éléments de contexte. De durée et de difficulté variées, les protocoles opératoires proposés permettaient d'explorer différents domaines technologiques (biochimie, microbiologie, biologie moléculaire).

Le tableau suivant montre que toutes les manipulations proposées ont été mises en œuvre par les candidats, mais de façon inégale.

Manipulations	Nombre de candidat ayant réalisé ces manipulations
Coloration de Gram	7
Pastorex®	6
Test enzymatique	5
Antibiogramme	4
Dosage des protéines par méthode de Lowry	3
Dosage urée cinétique UV250	3
Dosage enzymatique ALAT	3
Electrophorèse sur acétate de cellulose	3
API Staph®	3
Dosage de la Vancomycine	3
Détection par PCR-ELISA	3
Coagulase	2
Antibiogramme SARM	1

Bien qu'elle soit peu représentative sur le plan statistique, l'analyse des notes obtenues à cette épreuve révèle une forte hétérogénéité concernant la performance des candidats. En effet,, comme mentionné dans les commentaires de l'épreuve d'admissibilité, certains candidats ne possèdent peu des compétences technologiques fondamentales, et des connaissances associées. En ce qui les concerne, ces lacunes de nature disciplinaire n'ont pas permis de satisfaire à l'objectif de l'épreuve, les contenus de la séance devant nécessairement s'appuyer sur un fond scientifique et technologique solide.

Les meilleurs candidats ont su valoriser leur savoir-faire technologique et pédagogique par :

- la démonstration commentée faite devant jury au laboratoire, l'identification des points critiques et l'obtention de résultats exploitables ;
- une présentation logique et convaincante du déroulement de la séance présentée, tenant compte du référentiel, des manipulations réalisées et des résultats expérimentaux exploités.

Bien souvent, les qualités et compétences révélées au moment de la démonstration préfiguraient celles de l'exposé.

Lors de l'exposé, la séquence devait être reliée au référentiel du BTS analyses de biologie médicale disponible sur le support numérique et justifiée par la mise en place progressive de compétences technologiques fondées sur des connaissances scientifiques et technologiques.

La séance présentée devait ensuite faire apparaître la totalité des aspects attendus lors une séance d'activité technologique au laboratoire de biotechnologie : environnement du laboratoire (dont prévention des risques et bonnes pratiques), manipulations, résultats expérimentaux obtenus par le candidat ou non, aspects métrologiques, enfin, prise en compte de l'évaluation des performances des étudiants. Dans la plupart des cas, un support réalisé pendant les cinq heures précédentes a permis au candidat de mettre en valeur sa présentation.

Le jury s'est attaché à évaluer la compétence didactique des candidats, mais également les connaissances scientifiques et technologiques relatives aux contenus proposés pour la séance, minimum requis pour pouvoir enseigner la biochimie, la biologie et les biotechnologies au laboratoire.

Les meilleurs candidats ont parfaitement saisi l'esprit de l'épreuve, trois d'entre eux ayant obtenu une note supérieure à 14 sur 20 à cette épreuve d'admission.

En outre, le jury a pu apprécier les qualités d'écoute des meilleurs candidats et leur aptitude à se questionner sur les différents aspects de sa présentation. L'analyse des questions du jury et le questionnement en temps réel ont permis de mettre en évidence les capacités d'analyse réflexive indispensables au métier d'enseignant. De même, des réponses honnêtes et concises ont montré des qualités indispensables au respect des élèves.

Pour conclure, le jury invite les futurs candidats à relire la définition de l'épreuve et les consignes publiées sur le site Eduscol pour se placer dans les meilleures conditions de réussite. Selon leur situation personnelle, il leur appartient de compléter les acquis de l'expérience par un renforcement à la fois des compétences scientifiques et technologiques indispensables, mais également didactiques et pédagogiques des niveaux concernés.

Des indications sont mises en ligne sur le site EDUCNET du ministère en vue d'accompagner les futurs candidats au concours dans leur préparation

Conclusion générale du Président du jury

La précédente session des concours internes avait vu la réforme de l'épreuve d'admission. Cette année, c'est l'épreuve d'admissibilité qui a subi une réforme importante, l'épreuve traditionnelle étant remplacée par l'épreuve de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle introduite par l'arrêté du 27 avril 2011.

Cette nouvelle forme d'épreuve a été instaurée pour la plupart des concours de recrutement de la fonction publique. Concernant l'Education Nationale, elle concerne l'ensemble des concours internes de recrutement.

La session 2012 du CAPET interne et du CAER de Biotechnologies : Option Biochimie Génie Biologique est d'abord marquée par une baisse significative du nombre des candidats inscrits, respectivement de 26% et 30%. De plus, on constate que seulement 32% des candidats au CAPET interne et 23% des inscrits au CAER (contre 41% et 45% en 2011) ont présenté un dossier de RAEP et ainsi validé leur participation au concours.

On constate donc une baisse d'attractivité des concours. Le taux d'attractivité, mesuré par le rapport entre le nombre de candidats présents aux épreuves d'admissibilité et le nombre de postes ouverts ou de contrats offerts, est passé de 24,33 à 14 pour le CAPET interne, avec un taux de pression qui reste convenable, mais de 2,50 à 1,80 pour le CAER ce qui paraît insuffisant. Le fait que seuls deux candidats ont été admis au CAER alors que 5 contrats étaient offerts doit être mis en relation avec cette évolution. Compte tenu du changement de l'épreuve d'admission, la comparaison des performances des candidats avec la session précédente n'a guère de sens. Nous nous bornerons à souligner que la note du dernier admis aux deux concours confondus est de 13,20, attestant d'un bon niveau de recrutement.

A l'heure où l'institution s'interroge sur la difficulté croissante de recruter des enseignants qualifiés, une réflexion sur cette diminution préoccupante des taux de pression sur les concours de recrutement mérite d'être conduite. Concernant des concours internes, le déficit de vocations pour le métier ne peut constituer la seule cause de cette désaffection. Il faut donc en chercher ailleurs les causes. Toutes choses étant égales par ailleurs, il semble que cette nouvelle forme d'épreuve d'admissibilité n'ait pas provoqué un grand engouement chez des candidats en dépit des textes publiés sur Eduscol. On peut se demander si cette forme d'épreuve d'admissibilité aux concours de recrutement dans la fonction publique est bien adaptée à un concours de recrutement de professeurs.

Le jury qui avait mission de mettre en œuvre cette nouvelle épreuve a constaté et relevé plusieurs difficultés d'ordre et d'importance variés.

L'évaluation puis la notation qui permettent d'établir la liste des candidats admissibles sont largement fondées sur l'analyse de la seconde partie des dossiers de RAEP. Or, ce document de six pages est purement déclaratif sans que les éléments disponibles permettent au jury d'en évaluer le caractère personnel, ni même la sincérité, seulement attestée par la validation d'un chef d'établissement. Certains problèmes constatés lors des épreuves d'admission peuvent laisser penser que cette validation est fréquemment formelle.

Le jury s'est naturellement attaché à bâtir une grille d'évaluation performante pour analyser le contenu des dossiers, hiérarchiser les items et indicateurs retenus afin de décerner une note.

Les dossiers eux-mêmes ont donc été évalués le plus équitablement possible, mais jusqu'à quel point cette évaluation rend-elle compte des compétences réellement détenues par les candidats ?

Par ailleurs, l'analyse des dossiers, portant essentiellement sur les compétences professionnelles, ne prend en compte ni le niveau de maîtrise, ni l'adéquation et l'actualisation des connaissances définies dans le programme du concours. Comme le jury l'a constaté, plusieurs candidats ont présenté le même dossier dans des disciplines de concours voisines, s'exonérant ainsi de cette exigence. Les écarts entre les attentes du concours et la valeur scientifique réelle des candidats se sont cruellement révélés lors des épreuves d'admission. Comme le soulignent les commentaires sur l'épreuve d'admission, cette année encore, plusieurs candidats présentant des lacunes scientifiques et technologiques notables n'ont pas été en mesure de satisfaire aux attentes. Le jury constate *a contrario* une amélioration nette des performances des meilleurs candidats.

Par ailleurs et sur le plan de la promotion sociale, l'instauration de cette épreuve a, de fait, écarté du bénéfice de ces concours des personnels tels que les techniciens de laboratoire qui peuvent pourtant réglementairement y prétendre. Les formes anciennes de concours ont régulièrement enregistré plusieurs succès de ces candidats qui sont par la suite devenus des enseignants reconnus pour leur efficacité. L'accompagnement organisé en cours d'année pour soutenir ces candidatures à travers l'organisation de stages encadrés par des professeurs chevronnés ne leur a pas permis de réussir cette épreuve d'admissibilité. La constitution même du dossier de RAEP s'avère particulièrement problématique dans leur cas.

Il paraît nécessaire de rappeler ici que la liste des compétences nécessaires à l'exercice du métier de professeur dans la voie technologique intègre nécessairement l'excellence disciplinaire dans les multiples domaines qui font la richesse des biotechnologies et la maîtrise des technologies mises en œuvre dans ce secteur essentiel d'activité.

Extrait de l'arrêté 27 avril 2011 précisant les conditions de mise en oeuvre de l'épreuve de reconnaissance des acquis de l'expérience

ANNEX E II bis

ÉPREUVE DE RECONNAISSANCE DES ACQUIS DE L'EXPÉRIENCE

PROFESSIONNELLE (RAEP) DU CONCOURS INTERNE DU CAPET

Le dossier de reconnaissance des acquis de l'expérience professionnelle comporte deux parties.

Dans une première partie (2 pages dactylographiées maximum), le candidat décrit les responsabilités qui lui ont été confiées durant les différentes étapes de son parcours professionnel, dans le domaine de l'enseignement, en formation initiale (collège, lycée, apprentissage) ou, le cas échéant, en formation continue des adultes.

Dans une seconde partie (6 pages dactylographiées maximum), le candidat développe plus particulièrement, à partir d'une analyse précise et parmi ses réalisations pédagogiques dans la discipline concernée par le concours, celle qui lui paraît la plus significative, relative à une situation d'apprentissage et à la conduite d'une classe qu'il a eue en responsabilité, étendue, le cas échéant, à la prise en compte de la diversité des élèves, ainsi qu'à l'exercice de la responsabilité éducative et à l'éthique professionnelle. Cette analyse devra mettre en évidence les apprentissages, les objectifs, les progressions ainsi que les résultats de la réalisation que le candidat aura choisie de présenter.

Le candidat indique et commente les choix didactiques et pédagogiques qu'il a effectués, relatifs à la conception et à la mise en œuvre d'une ou de plusieurs séquences d'enseignement, au niveau de classe donné, dans le cadre des programmes et référentiels nationaux, à la transmission des connaissances, aux compétences visées et aux savoir-faire prévus par ces programmes et référentiels, à la conception et à la mise en œuvre des modalités d'évaluation, en liaison, le cas échéant, avec d'autres enseignants ou avec des partenaires professionnels. Peuvent également être abordées par le candidat les problématiques rencontrées dans le cadre de son action, celles liées aux conditions du suivi individuel des élèves et à l'aide au travail personnel, à l'utilisation des technologies de l'information et de la communication au service des apprentissages ainsi que sa contribution au processus d'orientation et d'insertion des jeunes.

Chacune des parties devra être dactylographiée en Arial 11, interligne simple, sur papier de format 21 x 29,7 cm et être ainsi présentée :

- dimension des marges :
- droite et gauche : 2,5 cm ;
- à partir du bord (en-tête et pied de page) : 1,25 cm ;

— sans retrait en début de paragraphe.

A son dossier, le candidat joint, sur support papier, un ou deux exemples de documents ou de travaux, réalisés dans le cadre de l'activité décrite et qu'il juge utile de porter à la connaissance du jury.

L'authenticité des éléments dont il est fait état dans la seconde partie du dossier doit être attestée par le chef d'établissement auprès duquel le candidat exerce ou a exercé les fonctions décrites.

Les critères d'appréciation du jury porteront sur :

- la pertinence du choix de l'activité décrite ;
- la maîtrise des enjeux scientifiques et techniques, didactiques et pédagogiques de l'activité décrite ;
- la structuration du propos ;
- la prise de recul dans l'analyse de la situation exposée ;
- la justification argumentée des choix pédagogiques opérés ;
- la qualité de l'expression et la maîtrise de l'orthographe et de la syntaxe.

Coefficient 1.

Nota. — Pendant l'épreuve d'admission, dix minutes maximum pourront être réservées, lors de l'entretien, à un échange sur le dossier de RAEP qui reste à cet effet à la disposition du jury. »