

Document
d'accompagnement
du référentiel
de formation



Inspection de l'Enseignement Agricole

Diplôme :
BTSA ANABIOTEC

Module : M 4
**Réalisation des analyses, des essais et des procédés
biotechnologiques**

Préambule

Les documents d'accompagnement ont pour vocation d'aider les enseignants à mettre en œuvre l'enseignement décrit dans le référentiel de diplôme en leur proposant des exemples de situations d'apprentissage permettant de développer les capacités visées. Ils ne sont pas prescriptifs et ne constituent pas un plan de cours. Ils sont structurés en items recensant les savoirs mobilisés assortis de recommandations pédagogiques.

L'enseignant a toute liberté de construire son enseignement et sa stratégie pédagogique à partir de situations d'apprentissage différentes de celles présentées dans les documents d'accompagnement. Il a aussi la liberté de combiner au sein d'une même situation d'apprentissage la préparation à l'acquisition d'une ou de plusieurs capacités.

Quels que soient les scénarios pédagogiques élaborés, l'objectif est l'acquisition des capacités présentées dans le référentiel de diplôme, qui nécessite de ne jamais perdre de vue l'esprit et les principes de l'évaluation capacitaire.

L'acquisition des capacités C4.1, C4.2 et C4.3 nécessite d'aborder un ensemble de techniques analytiques relevant de la biologie, de la microbiologie, de la biochimie et des sciences physiques appliquées aux différents domaines considérés.

La répartition des techniques dans les différents domaines correspondant aux capacités C4.1 à C4.3 est laissée à l'appréciation des équipes pédagogiques selon le contexte local.

De ce fait, les recommandations relatives à l'acquisition des capacités C4.1, C4.2 et C4.3 ont été regroupées dans ce document d'accompagnement.

Rappel des capacités visées

Capacité 4 correspondant au bloc de compétences B 4 : Mettre en œuvre des analyses, des essais et des procédés biotechnologiques

C4.1 – Réaliser des analyses ou des essais dans le domaine de la santé

C4.2 – Réaliser des analyses ou des essais dans le domaine agro-alimentaire

C4.3 – Réaliser des analyses ou des essais dans les domaines agricole et de l'environnement

C4.4 – Piloter un procédé biotechnologique

Finalités de l'enseignement

Cet enseignement répond au champ de compétences « Mise en œuvre d'un protocole d'analyses, d'essais ou d'un procédé biotechnologique » dont la finalité est « d'obtenir des résultats d'analyses conformément à une commande ». La fiche de compétences correspondante peut utilement être consultée.

L'enseignement vise à faire mobiliser de manière raisonnée par l'apprenant des techniques d'analyses dans les différents domaines professionnels (domaine de la santé, domaine agro-alimentaire, domaines agricole et de l'environnement). Cet enseignement doit être ouvert aux évolutions les plus récentes des techniques, y compris numériques, et des réglementations. Il favorise l'acquisition d'une démarche de veille scientifique et technologique.

Ce module amène les apprenants à réaliser des analyses microbiologiques, biologiques, biochimiques, physico-chimiques et biotechnologiques dans le respect des règles d'hygiène et de sécurité et adaptées au contexte professionnel.

Il développe la compréhension de l'organisation et du fonctionnement des systèmes vivants et la capacité à la mobiliser dans la mise en œuvre de technologies intégrant des systèmes vivants (organismes vivants et/ou populations) dans le cadre de la conduite de procédés biotechnologiques.

On attend de l'apprenant qu'il soit capable de donner des résultats valides et qu'il soit capable de vérifier la conformité des valeurs obtenues dans le but de répondre de manière fiable au commanditaire. Les outils mathématiques et numériques sont mobilisés à cette fin.

Ce module s'appuie sur une diversité de situations professionnelles dans les domaines concernés.

Le respect des réglementations, mais aussi des règles relatives à la sécurité des personnes et des biens, à la santé des consommateurs et à la protection de l'environnement font, dans ce module comme dans les autres modules professionnels, l'objet d'une attention particulière.

Les principales techniques doivent être abordées non pas de manière répétitive par capacités, mais l'ensemble des capacités visées doit permettre d'étudier les principales techniques d'analyses dans les domaines considérés.

Précisions sur les activités supports potentielles

Des visites en lien avec les différents domaines d'activités et/ou de laboratoires, des interventions de professionnels, des démonstrations d'utilisation de logiciels professionnels participent à la construction de cet enseignement ancré sur des situations concrètes.

Les périodes de stage et la pluridisciplinarité intra ou inter-modulaires participent à l'enseignement attaché aux capacités C4.1, C4.2, C4.3 et C4.4.

Références documentaires ou bibliographiques pour ce module

Des ressources bibliographiques non exhaustives sont proposées dans le document d'accompagnement thématique « Bibliographie ».

Précisions sur les attendus de formation les capacités visées

Capacités évaluées	Critères d'évaluation	Savoirs mobilisés	Disciplines
C4.1. Réaliser des analyses ou des essais dans le domaine de la santé	Mise en œuvre d'un protocole relatif au domaine professionnel Formulation/Présentation des résultats selon les pratiques du domaine	Techniques d'analyses et pratiques spécifiques aux différents domaines professionnels	BMB BIOLOGIE PHYSIQUE-CHIMIE MATHEMATIQUES TIM
C4.2. Réaliser des analyses ou des essais dans le domaine agro-alimentaire			
C4.3. Réaliser des analyses ou des essais dans les domaines agricoles et de l'environnement			

Conditions d'atteinte des capacités

L'apprenant doit être en capacité de réaliser des analyses et des essais en relation avec **les domaines de la santé, de l'agro-alimentaire, agricoles et de l'environnement** dans le but de présenter des résultats au commanditaire et dans le respect des règles d'hygiène et de sécurité.

Il doit être capable de vérifier la conformité des valeurs obtenues afin de donner des résultats d'analyses valides dans le but de répondre de manière fiable au commanditaire.

L'apprenant doit être capable de traiter des données, de les représenter et de les communiquer à l'aide d'outils informatiques.

Précisions sur les attendus de la formation

Ce module doit amener l'apprenant à optimiser la mise en œuvre des techniques utilisées dans le cadre d'analyses physico-chimiques, biochimiques, biologiques, microbiologiques et biotechnologiques et à connaître leurs principales applications.

L'ensemble des techniques concourt à la réalisation d'analyses dans les domaines de la santé, de l'agro-alimentaire, de l'environnement et de l'agriculture. La répartition des techniques dans les différents domaines correspondant aux capacités C4.1 à C4.3 est laissée à l'appréciation des équipes pédagogiques.

Les techniques citées ci-dessous doivent être de préférence appliquées en TP.

Les matrices proposées sont données à titre d'exemple et ne constituent en aucun cas une liste exhaustive ou restrictive.

Mise en œuvre des techniques d'analyses dans les différents domaines professionnels (santé, agro-alimentaire, agricole et environnement)

Les techniques sont mises en œuvre dans le respect des règles d'hygiène et de sécurité.

Réalisation des techniques biologiques : cytologie, histologie, biologie moléculaire, immunologie, hématologie, parasitologie

Cytologie :

Différents types de microscopes : microscopes photoniques (fond clair, contraste de phase, fluorescence, confocal), électroniques (MEB et MET).

Techniques de préparation d'échantillons relatives.

Histologie :

- Mettre en œuvre les différentes étapes d'un diagnostic histologique en microscopie photonique à partir de coupes d'organes animaux et végétaux.

- Techniques histologiques :

Préparation de coupes tissulaires : fixation, inclusion en paraffine, coupe au microtome, coloration et montage des lames, avec principe des différentes techniques de colorations selon les cellules.

Reconnaissance des tissus et interprétation.

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

- **C4.1 : Santé :** Applications dans les laboratoires d'anatomopathologie

- **C4.3 : Agriculture et environnement :**

- Détection de maladies végétales au travers de coupes de tissus végétaux

- Coupe et coloration de feuilles de Romarin/ glandes sécrétrices d'huiles essentielles,...

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

Biologie moléculaire :

Génétique :

- Description des caractéristiques structurales du génome des procaryotes et eucaryotes (séquences satellites, minisatellites, microsatellites, transposons, séquences consensus).

Biologie moléculaire :

- Maîtrise des principes des techniques d'électrophorèse en gel d'agarose, transferts d'acides nucléiques ou protéines sur membrane (Southern blot, northern blot, western blot), puces à ADN, clonages moléculaires in vivo, amplification (PCR en point final, RT-PCR, PCR Multiplex, qPCR (SYBR Green ou sondes), transgénèse, obtention de fragments (RFLP, RAPD...), séquençage (méthode de Sanger, automatisation et séquençage à haut débit (technologies NGS)), transcriptomique. Calcul d'une température d'hybridation d'amorce.

Bioinformatique pour l'analyse de séquences, design de primers PCR, alignement de séquences nucléiques ou protéiques, recherche de sites de restriction, comparaisons de séquences aux banques...

- Les étapes de la transgénèse et ses applications dans les domaines santé, agronomie, agroalimentaire et biotechnologie.

Mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire

- Utilisation des outils de biologie moléculaire (enzymes, système CRISPR-Cas9, vecteurs, sondes nucléiques),
- Extraction d'acides nucléiques (Nanodrop), dosage et contrôle de la pureté, séparation des acides nucléiques,
- Mise en œuvre de techniques d'électrophorèse en gel d'agarose, électrophorèse en champs pulsés (FIGE, CHEF,...) transferts d'acides nucléiques sur membrane, clonages, amplification (PCR en point final ou qPCR), obtention de fragments (RFLP, RAPD...).

Mise en évidence des nombreuses applications : thérapie génique

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

C4.1 : Santé :

- Détection de pathogènes virus, bactérie
- Diagnostic et suivi de certaines maladies

C4.2 : Agro-alimentaire :

- Recherche ou identification de germes pathogènes. Ex : Recherche de salmonelles dans une viande, un plat cuisiné...
- Recherche d'OGM dans un produit alimentaire
- Recherche de *Brettanomyces* par PCR

C4.3 : Agriculture et environnement :

- Amélioration et sélection végétale/ Marqueurs génétiques, empreintes génétiques
- Transgénèse bactérienne

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

Immunologie :

- Identification des caractéristiques des antigènes et des anticorps pour comprendre leur utilisation dans les tests immunologiques.
 - Maîtrise de la production des outils de diagnostics immunologiques : les anticorps polyclonaux, monoclonaux, et leur marquage.
- Mise en œuvre de techniques immunologiques :
- Mettre en œuvre des différentes techniques utilisées en diagnostic telles que techniques d'agglutination d'immuno-précipitation (Mancini, Ouchterlony), couplages avec l'électrophorèse, techniques immuno-enzymatiques (Kits ELISA; IDR ...), immunofluorescence en précisant les caractères physico-chimiques (affinité, zone d'équivalence, potentiel zéta), les avantages et les limites des différentes techniques.

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

C4.1 : Santé :

- Utilisation de kits immuno-enzymatiques : ELISA; IDR
- Tests rapides antigéniques ...

C4.2 : Agro-alimentaire :

- Tests rapides antigéniques détection d'allergènes en entreprise agro-alimentaire
- Test adultération du lait ELISA

- Dosage d'une protéine par méthode ELISA compétition

C4.3 : Agriculture et environnement :

- Recherche de phytopathogènes sur la vigne par ELISA

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

Hématologie :

Numération sanguine, formule leucocytaire, numération par cytométrie de flux, dénombrement

Parasitologie :

Exemples de risques parasitaires pouvant être rencontrés dans les différents domaines concernés

Exemples d'analyses dans le domaine de la santé animale et humaine

- **C4.1 : Santé :** techniques d'enrichissement d'oeufs d'Helminthes dans fécès de bovins ou ovins, reconnaissance et dénombrement par cellule de Mac Master
- **C4.2 : Agro-alimentaire :** Etude de quelques cycles parasitaires (taenias, anisakis, ascaris, douves... à partir de lames)
- **C4.3 : Agriculture et environnement :** techniques d'enrichissement d'oeufs d'Helminthes dans fécès de bovins ou ovins, reconnaissance et dénombrement par cellule de Mac Master (dans le cas par exemple d'épandage de boues)

Réalisation des techniques biochimiques, enzymatiques et microbiologiques

- Techniques biochimiques :

Pour chaque type de biomolécules on veille à citer les différentes méthodes d'analyses possibles.

Par ailleurs, les caractéristiques des principales biomolécules sont abordées dans les enseignements du module M7 dans le cadre de la capacité C7.3.

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

- **C4.1. Santé :** Glycémie par kit enzymatique, triglycérides et cholestérol dans le sérum sanguin (kits enzymatiques), chromatographie de glucides urinaires
- **C4.2 : Agro-alimentaire :** Matières grasses (méthode acido-butyrique, Soxhlet), glucides (kit enzymatique), protéines (Kjeldahl, méthode spectrales (Biuret, Folin-Lowry, Warburg (UV), Bradford, IRTF..) dans divers aliments.
- **C4.3 : Agriculture et environnement :** Protéines par Kjeldhal dans les eaux usées, nitrates...

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

- Techniques enzymatiques :

Enzymologie :

- Mettre en œuvre des études de cinétiques enzymatiques : A réaliser pour des enzymes michaéliennes puis calculer les paramètres d'activité des enzymes (K_m , V_m ou tout autre paramètre caractéristique) et montrer éventuellement la régulation de leur activité par des effecteurs.

- Choisir et mettre en œuvre des techniques enzymologiques en analyse et production : techniques immuno-enzymatiques Kit ELISA/ immobilisation d'enzymes (dans billes d'alginate) libre ou /électrodes à enzymes glucose oxydase ou urée/dosages enzymatiques de métabolites...

Mettre en œuvre des techniques d'extraction et de purification d'enzyme en lien avec des thèmes de recherche.

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

- **C4.1 : Santé :**

- Recherche d'une pathologie dans les laboratoires d'analyses médicales par des tests enzymatiques réalisés sur des prélèvements : Alanine aminotransférase (ALAT) Phosphatase alcaline (PAL)

- **C4.2 : Agro-alimentaire :**

- Dosage du glucose par méthode enzymatique

- Dosage de l'acide acétique dans les vins, jus de fruits, boissons et produits alimentaires

- Détermination efficacité pasteurisation du lait par recherche PAL

C4.3 : Agriculture et environnement :

- Recherche de mycotoxines

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

- Techniques microbiologiques :

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

C4.1. Santé :

Positionnement possible des contrôles

Contrôle qualité des matières premières, des produits en cours de fabrication et sur le produit fini dans les industries de cosmétologie et pharmacologie.

Recherche et développement dans tous les domaines de la santé : Challenge test en cosmétologie,

En santé animale et humaine, analyse des prélèvements biologiques (analyses d'urines, prélèvements vaginaux, ...) par les techniques de colorations, de mise en culture sur boîte de Petri, techniques immunologiques (Vitek), techniques sérologiques, de biologie moléculaire (PCR) et de spectrophotométrie de masse.

Techniques proposées :

- Microscopie et Colorations de Gram, des BAAR, des spores bactériennes, des parasites (protistes eucaryotes, ...)
- Milieux de culture solides (milieux non sélectifs, sélectifs (chromogènes), galeries biochimiques de type API®, Challenge test...) ou liquides (hémoculture, ...)
- ELISA, méthode sérologique, immunologique (LAL, ...), biologie moléculaire
- Antibiogrammes

C4.2. Agro-alimentaire :

- Positionnement possible des contrôles

Contrôle qualité des matières premières, des produits en cours de fabrication et sur le produit fini dans les industries agro-alimentaires.

Recherche ou dénombrement des critères de sécurité des produits alimentaires et des critères d'hygiène des procédés alimentaires selon le règlement 2073 du Paquet Hygiène.

Recherche de flores technologiques.

Techniques proposées :

- Microscopie et Colorations de Gram, ...
- Dénombrement de flores utiles, flores indicatrices d'hygiène, dénombrement ou recherche de flores pathogènes (préparation de l'échantillon sous PSM, mise en œuvre de normes ISO), identification (galeries biochimiques de type API®, confirmation bactérienne (recherche de l'entérotoxine de *Staphylococcus aureus*, test d'immunoprécipitation ...)
- Tests hygiène de surfaces, d'atmosphère et de personnels ; contrôle de l'efficacité du nettoyage (Ecouvillonnage, ATPmétrie, efficacité d'un détergent)
- Antibiogrammes

C4.3. Agriculture et environnement

Des contrôles de surfaces, d'air, de sol, d'eau sont possibles dans les domaines concernés.

Contrôles sur le végétal : amélioration végétale, pathologie végétale, contrôle de la pureté végétale,

....

- Microscopie et colorations diverses
- Préparation de la matrice (dilution d'une eau chargée ou filtration de l'eau d'alimentation)
- Dénombrement ou recherche de flores dans les eaux (utilisation de milieux de culture solides (ex : milieux chromogènes, milieux des normes ISO) et liquides (Colilert®, microplaque de dénombrement microbien type Biorad, ...))
- Identification (galeries biochimiques de type API®)
- ELISA, méthode sérologique, immunologique, biologie moléculaire

Certaines de ces applications peuvent être traitées en activités pluridisciplinaires.

Réalisation des techniques instrumentales physico-chimiques : techniques volumétriques et électrochimiques, optiques, spectrales, préparatives, chromatographiques et électrophorétiques.

La compréhension des principes de ces techniques instrumentales nécessite la maîtrise de connaissances scientifiques. Certaines d'entre elles peuvent déjà avoir été acquises dans le secondaire et ne nécessitent que des rappels théoriques, qui peuvent être apportés lors des séances de TP.

Par ailleurs, les principes relatifs aux différentes techniques mises en œuvre sont abordés dans les enseignements du module M7 dans le cadre de la capacité C7.3.

Les techniques utilisées classiquement dans les laboratoires d'analyse doivent être mises en œuvre (dosages en solution aqueuse, réfractométrie, chromatographies de type HPLC, CPG, CCM, méthodes électrophorétiques, méthodes spectrales de type spectrophotométrie d'émission et d'absorption...). Certaines techniques comme la spectrométrie de masse, la spectrométrie infra-rouge, la RMN, la spectrofluorimétrie... qui nécessitent un appareillage lourd, ne sont pas obligatoirement mises en œuvre mais doivent être présentées dans leurs principes.

Pour chaque appareillage, faire une description, montrer des applications potentielles.

L'enseignement de ce module doit tenir compte de l'évolution des techniques (UPLC, FTNIR...).

Les éléments relatifs à la sécurité et à l'environnement (réglementation REACH, connaissance des produits, des pictogrammes, stockage, toxicité, élimination des déchets) doivent accompagner les enseignements.

Lors des utilisations de l'informatique (tableur, vidéos, logiciels dédiés aux appareillages...), les enseignants veillent à mettre en évidence les compétences numériques mobilisées avec celles du cadre de référence européen DIGCOMP [Digital Competencies] et sa déclinaison française le cadre de référence des compétences numériques CRCN conformément à l'article D. 121-1 du Code de l'éducation en vue de la certification Pix qui intervient à la fin de la deuxième année du BTSA.

Si cela semble nécessaire, il est important de revenir sur certaines notions de base : calcul pour la préparation des solutions, nomenclature, conversion d'unités, calculs de concentration,...

- **Techniques volumétriques et électrochimiques :**

Il convient de présenter les différents types de dosage en solution aqueuse (acido-basique, oxydo-réduction, complexométrie, précipitation) en prenant des exemples pris dans le domaine professionnel. Faire la distinction entre dosage direct et indirect.

Pour les méthodes électrochimiques, on se limite aux méthodes conductimétriques et potentiométriques, utilisées classiquement dans les laboratoires.

Evoquer les titrateurs automatiques (en lien avec M6).

- **Techniques optiques :**

On se limite au réfractomètre.

- **Techniques spectrales :**

- **Spectrométries d'émission (SEA) et d'absorption (SAA) atomique**

Ne pas se limiter au photomètre de flamme et décrire également des techniques comme le plasma inductif (ICP-AES)... La spectroscopie d'absorption atomique (SAA) doit être traitée en tant que technique analytique d'importance.

- **Spectrophotométrie d'absorption moléculaire (visible, UV, proche et moyen IR, IRTF)**

Introduire et montrer expérimentalement la loi de Beer-Lambert.

Pour chaque technique, décrire les sources lumineuses, les monochromateurs et les détecteurs utilisés actuellement.

Traiter du proche infrarouge (analyseur dans le domaine agroalimentaire et pharmaceutique) et du moyen infrarouge.

Evoquer l'infrarouge à transformée de Fournier (IRTF) et ses nombreuses applications.

- **Photométrie des milieux troubles (opacimétrie, néphélométrie, turbidimétrie)**

Insister sur les applications dans l'analyse des eaux et en biotechnologie (biomasse).

- Spectrofluorimétrie

Évoquer les deux aspects du spectrofluorimètre : comme méthode d'analyse quantitative à part entière et comme détecteur d'HPLC. Insister sur sa sensibilité de détection.

- Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Présenter de manière succincte le principe et l'appareillage de la RMN et citer quelques applications.

- Spectrométrie de masse

Décrire succinctement le principe et connaître ses applications, notamment son utilisation en tant que détecteur (HPLC et CPG). La description succincte de l'appareillage rendra compte des modes d'ionisation et de séparations. L'analyse de spectres et les applications seront évoquées rapidement. Insister sur l'utilisation de la MS comme détecteur couplé à l'HPLC et la CPG.

- Techniques préparatives :

- Mélanges hétérogènes : Tamisage, décantation, centrifugation, filtration (microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration), distillation
- Mélanges homogènes : Transfert de phase (Extraction par solvant (ampoule à décanter, Soxhlet...), sur phase solide (SPE).
- Rupture de phase (ultracentrifugation, relargage).
- Changement d'état (distillation ...), ultrasons).

L'aspect pratique est mis en évidence à l'occasion des préparations des échantillons dans différents TP (défécation, relargage, centrifugation...) en fonction de l'équipement des laboratoires.

Les techniques de minéralisation seront aussi développées (minéralisation par voie humide : avec acides, avec micro-ondes... et par voie sèche).

- Techniques chromatographiques :

- Caractéristiques d'un chromatogramme (temps de rétention, largeur et surface d'un pic).
- Caractéristiques d'une séparation (efficacité N, HEPT et résolution R). Présentation des caractéristiques principales fonctionnelles des colonnes (composition de la phase stationnaire, granulométrie, diamètre interne, longueur...) en se référant aux catalogues fournisseurs.
- Instrumentation : CCM, colonne en phase liquide à pression ambiante, HPLC et UHPLC, CPG. Pour chaque appareillage, description détaillée, phases utilisées, injecteurs, types de détecteurs, applications...
Le but est de décrire les appareillages actuellement utilisés et de suivre leurs évolutions.

Pour chaque technique, il faut insister sur les applications dans les différents domaines d'activité.

- Techniques électrophorétiques :

- Différents types d'électrophorèses :
 - Électrophorèse horizontale (acétate de cellulose, gel d'agarose, gel de polyacrylamide)
 - Électrophorèse verticale (gel de polyacrylamide, SDS-PAGE)
 - Électrofocalisation, immunoélectrophorèse, électrophorèse capillaire.

Exemples d'analyses dans les différents domaines :

- C4.1. Santé :

- Dosage des chlorures dans un sérum physiologique (méthode de Mohr, de Charpentier Volhard, par potentiométrie, par conductimétrie), dosage de la vitamine C par oxydo-réduction, dosage de l'aspirine, titre d'une eau oxygénée, degré chlorométrique d'une eau de Javel
- Dosage du glucose par réfractométrie dans une solution de perfusion, dosage de l'aspirine par spectrophotométrie UV/Visible, dosage du potassium sérique par SEA (photométrie de flamme), dosage du sodium par SEA (photométrie de flamme) dans une eau d'hémodialyse. Dosage du zinc dans les cosmétiques par SAA, identification de matières premières (réalisation de spectres) par spectroscopie moléculaire UV/Visible ou infrarouge en cosmétologie et pharmaceutique
- Dosage de la vitamine C par HPLC, dosage des conservateurs dans les cosmétiques par HPLC. Dosage des Esters Méthyliques d'Acides Gras dans les huiles végétales cosmétiques par CPG, identification et dosage des huiles essentielles par CCM et CPG, séparation des protéines sériques par électrophorèse sur acétate de cellulose, sur gel d'agarose ou par électrophorèse capillaire.
- Synthèse de l'aspirine avec contrôle de pureté (point de fusion, IRTF, spectres UV, CCM, HPLC).

- C4.2. Agro-alimentaire :

- Acidité d'un vinaigre, acidité d'un vin, dosage de l'acide phosphorique dans une boisson au cola, indices de caractérisations des huiles (indice d'acide, indice d'iode...), méthode de Kjeldhal, dosage SO₂ dans le vin, dosage de l'alcool dans les vins par ébulliométrie, *Teneur en eau par Karl Fischer*.
- Dosage des glucides par réfractométrie dans une boisson (jus de pomme...), contrôle qualité des huiles par réfractométrie, dosage des nitrites dans la charcuterie par spectrophotométrie d'absorption moléculaire, dosage des glucides par le 3,5 DNS, dosage multi-paramétrique (MS, protéines, sel, pH...) par FTNIR dans divers aliments, dosage multi-paramétrique (SO₂, acidité totale...) par FTNIR en œnologie.
- Identification des sucres ou des acides organiques par CCM. Dosage des sucres, acides organiques par HPLC avec détection en réfractométrie différentielle. Dosage des méthylxanthines par HPLC. Dosage d'alcools par chromatographie en phase gazeuse (CPG), dosage des glucides dans les jus de fruits par HPLC. Séparation de colorants sur colonne basse pression par gel-filtration. Purification de biomolécules sur colonne basse pression par échange d'ions. Séparation des protéines du blanc d'œuf par électrophorèse sur gel d'agarose. Détection de l'adultération de la viande par électrophorèse sur gel d'agarose.

- C4.3. Agriculture et environnement :

- Dosage du fer dans un antimousse de jardin par potentiométrie, dosage des chlorures dans les eaux, alcalinité de l'eau, indice de permanganate, DCO, DBO, dureté de l'eau, comparaison de la conductivité des différents types d'eaux utilisées au laboratoire, dosage du calcium dans les sols par calcimètre de Bernard.

- Dosage du sodium, potassium, magnésium... par SEA ou SAA dans les eaux. Turbidité des eaux par néphélométrie ou turbidimétrie, dosage des phosphates, nitrates ou ammonium dans les sols par SAM (spectrophotométrie d'absorption moléculaire).
- Dosage de anions dans l'eau par HPLC ionique, dosage de pesticides dans les eaux ou les boues, séparation et dosage des ions et PCB dans l'eau par électrophorèse capillaire. Dosage des AMPA (résidus du glyphosate) dans les sols par CPG.
- Dosage volumétrique du Carbone Organique Total (COT) dans un échantillon de sol; dosage par SAA d'un oligoéléments tels le Molybdène (Mo) ... ; dosage de l'azote par méthode NTK.

Certaines de ces applications peuvent être traitées en pluridisciplinarité.

En fonction des équipements et du contexte du territoire de chaque établissement, la liberté est laissée aux équipes d'aborder toute technique d'analyses qui leur semblerait opportune.

Validation des résultats

Il convient de se référer au document d'accompagnement thématique « Utilisation des mathématiques dans des situations favorisant l'acquisition de capacités en BTS Anabiotec ».

Collecte et traitement des données

L'enseignement est à réaliser dans le cadre de l'acquisition de la première des 3 capacités (C4.1, C4.2 ou C4.3) évaluée au cours du cursus.

Ces apprentissages sont évalués dans le cadre de la capacité C8.

Les enseignants veillent à mettre en évidence les compétences numériques mobilisées avec celles du cadre de référence européen DIGCOMP [Digital Competencies] et sa déclinaison française le cadre de référence des compétences numériques CRCN conformément à l'article D. 121-1 du Code de l'éducation en vue de la certification Pix qui intervient à la fin de la deuxième année du BTS.

- Planification du travail

Les outils de gestion de projet sont mobilisés afin de favoriser le travail collaboratif.

- Collecte et traitement des données

- La gestion des données est abordée.

- Il s'agit de traiter de l'importation des différents types de données.

- L'utilisation du tableur permettra d'aborder le tableau croisé dynamique en fonction du projet.

- Représentation graphique à l'aide d'un tableur et d'un outil d'analyse programmable

- Les choix de représentations graphiques des résultats s'effectuent en lien avec le tableau croisé dynamique et en lien avec le domaine étudié.

- L'utilisation d'un langage (visual basic, python, C++,...) ou d'un outil programmable permet éventuellement de réaliser des représentations graphiques des résultats en lien avec le domaine étudié.

- Communication des résultats

- La réalisation de documents de communication s'effectue à l'aide d'une solution bureautique tant à l'écrit qu'à l'oral.

La sécurité des données est traitée ainsi que leurs modalités de diffusion. (critères de confidentialité professionnelle).

Capacité évaluée	Critères d'évaluation	Savoirs mobilisés	Disciplines
C4.4. Piloter un procédé biotechnologique	Réalisation de la préparation du système Conduite du procédé	Procédés biotechnologiques	BMB BIOLOGIE MATHEMATIQUES TIM

Conditions d'atteinte de la capacité

L'apprenant doit être en capacité de mettre en œuvre les différentes étapes de préparation et de conduite d'un procédé de fabrication en biotechnologie.

Il mobilise les techniques analytiques abordées dans le cadre de l'acquisition des capacités C41, C42 et C43.

Attendus de la formation

Caractéristiques des organismes vivants utilisés et des molécules

Caractérisation des systèmes vivants utilisés

Conditions d'utilisation des systèmes vivants mis en œuvre dans les bioréactions en s'appuyant sur l'étude de leurs conditions de développement, de croissance ou de fonctionnement selon que l'on utilise des cellules procaryotes ou eucaryotes ou des molécules actives (acides nucléiques, enzymes...).

Caractérisation des voies métaboliques utilisées en biotechnologies

Voies métaboliques liées à la respiration et aux principales fermentations (alcoolique, lactique...) et à la photosynthèse.

Procédés de production biotechnologiques

Identification et rôles des différentes matières ou composants utilisés

Différentes étapes de préparation : milieux de culture, matériel associé aux bioréacteurs dans les conditions d'asepsie...

Raisonner la préparation de milieux en fonction des systèmes vivants utilisés, les conditions de culture.

Calculs pour la préparation des milieux et rôles des composants.

Caractérisation des principaux procédés

Principaux procédés : discontinu (batch), semi discontinu, discontinu alimenté (fed batch), continu, continu multiétagé. Pour chacun expliquer le fonctionnement et l'évolution prévisible des paramètres caractéristiques et présenter les modèles mathématiques correspondants.

Utilisation des équipements associés

- Matériels utilisables en distinguant les différents types d'agitation (turbines, hélices, cuves rotatoires, air lift...), les géométries de cuves, les capteurs (sondes de température : Pt 100, thermocouple, thermistor – de mesure de la pO_2 : sondes ampérométrique, optiques... – de mesure du pH : sonde potentiométrique) et les régulations. Pour ces dernières, présenter en particulier les régulations tout ou rien et proportionnelle et évoquer la régulation PID.

Les différentes étapes de la mise en œuvre à présenter sont les suivantes :

- installation d'un bioréacteur sur pilote
- préparation du bioréacteur : Décrire la stérilisation, en précisant que dans bon nombre de cas elle n'est pas nécessaire (vinification, fermentation de produits laitiers...).
- calibrage et placement des sondes
- préparations des éléments bioréactifs (précultures, solutions enzymatiques...)
- ensemencement du bioréacteur

- Pour la culture in vitro : étuve à CO_2 , armoire climatisée, microscope inverse, centrifugeuse, spectrophotométrie

Maîtrise des différents procédés

On peut, pour atteindre l'objectif d'optimisation, réaliser des plans d'expériences en prévoyant la variation de certains facteurs (composition du milieu, température, pH...), puis mettre en œuvre les essais retenus et déterminer les meilleures conditions de réalisation.

Choisir les techniques de contrôle les mieux adaptées aux objectifs. Aborder la méthode de transposition d'une production de laboratoire à une production pilote puis à une production industrielle (scale up).

Conduite et suivi de production

Réalisation de prélèvements et analyse des cultures

- mettre en œuvre des bioréactions selon les objectifs définis, réaliser des prélèvements
- récupération des produits, analyses
- nettoyage des matériels et maintenance
- calculs

Il est souhaitable d'illustrer chaque étape par des exemples judicieusement choisis.

Utilisation de l'appareillage associé à la mise en route et au suivi

Branchement du pilote, Sondes, Stérilisation

Suivi cinétique par le calcul des paramètres caractéristiques et par la réalisation de bilans de production

Déterminer des concentrations cellulaires et les concentrations en substrats et en produits :

Quantification de la biomasse, techniques de photométrie des milieux troubles, techniques chromatographiques : HPLC; CPG, cellules de comptage, microscopes, techniques colorimétriques, techniques physico-chimiques, techniques enzymatiques (kits,...).

Calculs des paramètres caractéristiques et établir les bilans de production (rendements, productivités).

Exemples : suivi d'une fermentation alcoolique avec *S.cerevisae*, d'une fermentation lactique avec bactéries lactiques,...

Repiquage des cellules animales et végétales, étude de cytotoxicité

Mise en œuvre des techniques de cultures in vitro de cellules végétales et/ou animales en s'appuyant sur les connaissances de la structure et de l'ultrastructure cellulaire, du cycle cellulaire, de sa régulation et de l'influence des facteurs de l'environnement cellulaire.

Exemples : réalisation de cultures primaires ou secondaires de lignées de cellules animales en assurant leur conservation et leur entretien, suivi de croissance d'une lignée cellulaire.

Mise en évidence de l'effet cyto-toxique d'une substance sur une culture, l'effet cytopathogène d'une souche virale ou pathogène.

Réalisation d'explants végétaux et leurs mises en culture (en s'appuyant sur les notions de différenciation et de dédifférenciation). Insister sur les particularités de la cellule végétale, et des cycles cellulaires végétaux. Mettre cette partie pratique en relation avec la partie histologique (coupes anatomiques végétales).

Des cultures d'algues peuvent également être proposées.

Présentation de quelques applications industrielles de la CIV : micropropagation, conservation d'espèces, améliorations végétales...

Champs d'application des biotechnologies dans les différents domaines professionnels

Présentation à différentes échelles et dans différents domaines de l'utilisation de procédés biotechnologiques : production de biomasse, biosynthèses, biodégradations, production de métabolites. Parmi les champs d'application, on peut développer les domaines alimentaires, pharmaceutiques, cosmétologiques, les domaines environnementaux (ex : épuration) et les domaines émergents (ex bioéthanol...).

Etude de l'utilisation de cellules animales en bioréacteurs. Ex : production d'anticorps monoclonaux, productions de vaccins, production de molécules d'intérêt, production de tissus...

L'organisation de visites d'entreprises de biotechnologie est recommandée.