

TEXB

**CONCOURS EXTERNE DE TECHNICIEN
DE POLICE TECHNIQUE ET SCIENTIFIQUE
DE LA POLICE NATIONALE**

SESSION 2014

BIOLOGIE

**Epreuve écrite de connaissance
se rapportant à la spécialité choisie**

Durée de l'épreuve : 3 heures – Coefficient : 2

Il vous appartient de vous assurer que le sujet en votre possession comporte la totalité des pages (7 pages).

Il vous est demandé de répondre avec clarté à chaque question, sur votre feuille de composition (coin gommé).

***Matériel autorisé : calculatrice scientifique non programmable,
non alpha numérique***

Le sujet est noté sur un barème total de 50 points ; la note finale sera exprimée sur 20 points.

Sous peine d'annulation de leur épreuve, les candidats ne devront faire apparaître aucun signe ou mention pouvant permettre l'identification des copies et intercalaires.

QUESTION 1 (4 points)

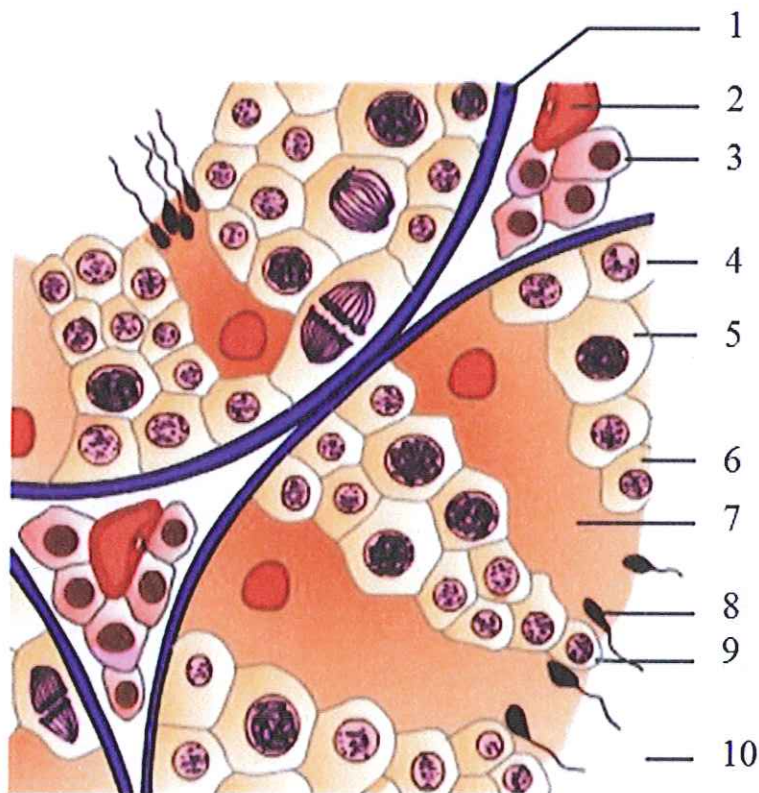
Distinguer, en les définissant brièvement, les termes suivants :

- Nucléoside et nucléotide
- Spermatogenèse et spermiogenèse
- Trisomie et tri-allélisme
- Centriole et centrosome

QUESTION 2 (3 points)

Intituler et légènder précisément la figure suivante :

(Reporter simplement le titre et les chiffres sur votre copie)



QUESTION 3 (2 points)

Citer toutes les possibilités de localisation de l'acide désoxyribonucléique au sein d'une cellule eucaryote.

EXERCICE 1 (8 points)

Un technicien dispose de deux échantillons biologiques, qu'il veut contrôler par PCR :

- De l'ADN de l'échantillon **Essai 1** à la concentration de **3 mg/mL**
- De l'ADN de l'échantillon **Essai 2** à la concentration de **2 mg/mL**

Tableau : Concentration des produits pour réaliser le mix PCR

	Solution mère	Concentration finale (mix)
Tampon réactionnel*	10 X	1 X
MgCl ₂	25 mM	5 mM
Amorce sens (FBXN)	10 μM	1 μM
Amorce antisens (RBXN)	10 μM	1 μM
Taq polymérase	2,5 U/μL	0,5 U/réaction

* NB : le tampon réactionnel contient des sels, des co-facteurs pour la Taq polymérase et de l'eau.

Pour chaque amplification, le volume de mix est de 18 μL, celui d'échantillon d'ADN de 2 μL. Vous devez préparer le mix pour 5 réactions.

- 1) Schématiser le principe théorique de la technique PCR.
- 2) Expliquer comment préparer le mix demandé. Justifier vos calculs.
- 3) Donner le rôle du MgCl₂.
- 4) Quel est le résultat prévisible de la manipulation réalisée avec ce mix ?

EXERCICE 2 (6 points)

Le daltonisme chez l'homme est dû à un allèle récessif porté sur le chromosome X. On note « Xd^m » l'allèle muté et « Xd⁺ » l'allèle sauvage.

La calvitie est contrôlée par un gène localisé sur un autosome, mais son expression diffère selon le sexe : le phénotype de l'allèle responsable de la calvitie est dominant chez les hommes par rapport au phénotype sauvage (non chauve), et récessif chez les femmes. On note « c^m » l'allèle muté et « c⁺ » l'allèle sauvage.

Un homme « H » daltonien et hétérozygote pour le caractère « calvitie » se marie avec une femme « F » ni chauve, ni daltonienne, dont le père était daltonien mais non chauve et dont la mère était chauve, mais pas daltonienne.

- 1) Déterminer le génotype de chacun des deux individus « H » et « F ».
- 2) À l'aide d'un tableau de croisement, faire apparaître les différents génotypes et déterminer les différentes classes phénotypiques de leur descendance. Calculer leurs probabilités respectives.

PROBLEME (27 points)

(NB : toutes les questions sont indépendantes)

Vous êtes technicien dans un laboratoire. Dans le cadre d'une enquête sur un cas d'intoxication alimentaire ayant fait 37 victimes lors d'une manifestation publique, vous recevez des échantillons d'aliments sous vide.

A partir de ces échantillons, vous êtes chargés de déterminer l'origine de la bactérie responsable de cette intoxication.

Un de vos collègues se charge plus précisément d'analyser la flore mésophile présente dans les échantillons pendant que vous réalisez une recherche orientée des *Listeria monocytogenes*, bactéries pathogènes à Gram-positif. Ce type de bactéries faisant partie des microorganismes de classe II, vous devez réaliser toutes vos manipulations sous PSM de type II (environnement L2).

- 1) Définir le terme « mésophile ».
- 2) Schématiser la structure d'une bactérie à « Gram-positif ».
- 3) Expliquer ce que sont un microorganisme de classe II et un PSM de type II.

Vous choisissez d'utiliser la méthode de « dilution-étalement » pour réaliser votre recherche de *Listeria monocytogenes*. Vous aurez besoin tout au long de vos expérimentations de travailler avec du matériel stérile, pour éviter les contaminations externes.

- 4) Donner la technique de stérilisation des éléments suivants :
 - a. solution de NaCl 0,8%
 - b. solution antifongique d'Amphotéricine B
 - c. boîtes de Petri en plastique
 - d. erlen-meyer, éprouvettes et bechers en verre

Pour réaliser votre méthode de dilution-étalement, vous préparez une suspension en broyant 25 g d'échantillon dans 20 mL de solution physiologique (NaCl 0,8 %). A partir de cette suspension mère, vous réalisez des dilutions en cascade de 10^{-1} à 10^{-5} .

- 5) Expliquer comment réaliser ces dilutions (volume final de 5 mL), en précisant les précautions à prendre (hygiène et sécurité, précision des dilutions, matériel utilisé).

A partir de ces dilutions, vous souhaitez réaliser un étalement sur le milieu sélectif « Gélose Oxford ».

- 6) Donner la définition d'un milieu sélectif.

Pour vos étalements, vous avez besoin de préparer 80 boîtes de Petri contenant chacune 25 mL de milieu « Gélose Oxford » stérile, dont la composition est donnée ci-après : (tous les composants sont disponibles sous forme de poudre)

Pour 1L de milieu :

- Polypeptone	20,0 g
- Extrait autolytique de levure	3,0 g
- Chlorure de sodium	50 mM
- Céfotétan	0,05 mg
- Agar agar bactériologique	13,0 g

7) Calculer la quantité de chacun des composés à prélever.
(Rappel : masse molaire NaCl = 58 g/mol).

8) Indiquer brièvement le mode opératoire suivi pour préparer ces boîtes de Petri.

Vous étalez 100 µL de chaque dilution sur une boîte de Petri, en triplicat.

Après 24h à 48h d'incubation à 37°C, vous dénombrez les UFC sur vos boîtes de milieu :

Dilution	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Boîte 1	Tapis bactérien	3472	260	34	3
Boîte 2	Tapis bactérien	3274	280	31	4
Boîte 3	Tapis bactérien	3724	270	25	2

9) Donner la signification des termes « UFC » et « tapis bactérien ».

10) Déterminer le taux de *Listeria monocytogenes* présent :

- dans la suspension-mère (en UFC/mL)
- dans l'aliment sous vide (en UFC/g)

Conclure, sachant que le niveau de *Listeria monocytogenes* dans un aliment prêt à l'emploi ne doit pas dépasser 1000 UFC par portion de 25 g.

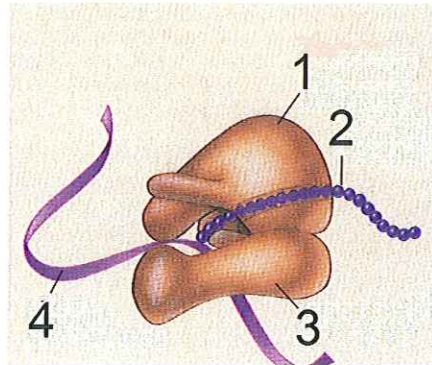
Par la suite, vous décidez de confirmer la présence de *Listeria monocytogenes* en utilisant des outils de biologie moléculaire. Pour cela, vous choisissez une méthode d'hybridation d'acides nucléiques, basée sur l'utilisation d'une sonde ADN spécifique de l'ADNr 16 S de la bactérie ciblée.

11) Expliquer le principe d'une hybridation d'acides nucléiques.

12) Définir ce qu'est une sonde ADN.

13) Expliquer ce qu'est l'ADNr 16 S (préciser notamment la signification de la lettre « S »).

14)a - Légénder et intituler le schéma suivant :
(Reporter simplement le titre et les chiffres sur votre copie)



b - Expliquer, à l'aide d'un schéma, le mécanisme cellulaire dans lequel cette structure est impliquée.

Pour cette méthode d'hybridation, vous préparez un bouillon de culture, dans un milieu spécifique de *Listeria monocytogenes*, à partir de 1 g d'échantillon. Ce bouillon vous sert à réaliser une extraction d'ADN.

L'extraction d'ADN est contrôlée en réalisant une dilution au 1/200 de cette solution et en mesurant l'absorbance à 260 nm et 280 nm. Vous trouvez pour cette dilution une valeur d'absorbance de 0,50 unité à 260 nm et de 0,28 unité à 280 nm.

15) Évaluer la pureté de votre extrait d'ADN. Justifier votre raisonnement.

16) Déterminer la concentration en ADN de votre solution en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, sachant qu'une solution d'ADN de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ donne une absorbance de 1 unité à 260nm.

Pour réaliser votre hybridation, vous choisissez la technique du Dot-Blot sur membrane de nylon chargée positivement. Pour cela, vous devez successivement déposer un échantillon d'ADN dénaturé sur la membrane puis traiter cette membrane avec une solution d'ADN de sperme de hareng avant d'appliquer la sonde fluorescente.

17) Expliquer l'intérêt de la positivité de la membrane.

Le protocole Dot-Blot dont vous disposez conseille de déposer un volume de 10 μL de solution contenant 1 μg d'ADN dénaturé.

18) Expliquer comment vous devez procéder. Justifier vos calculs.

19) Citer deux méthodes permettant de dénaturer l'ADN.

20) Expliquer l'intérêt du traitement de la membrane à l'ADN de sperme de hareng.

Vous décidez également de déposer sur votre membrane une solution d'ADNr 16 S de

Listeria monocytogenes déjà prête, concentrée à 6 mg/mL.

21) Expliquer la nécessité de ce dépôt.

Une fois toutes vos manipulations de microbiologie et biologie moléculaire terminées, l'assistant de prévention de votre laboratoire vous demande de veiller à éliminer correctement vos déchets.

22) Donner les méthodes d'élimination des déchets suivants :

- a. pipettes en verre usagées, contaminées par du sperme de hareng
- b. bouillon liquide de *Listeria monocytogenes*
- c. chloroforme
- d. solution de bromure d'éthidium
- e. cônes de pipette usagés
- f. solution HCl concentrée
- g. boîte de Petri contaminée
- h. lames de scalpels contaminées par l'échantillon alimentaire

*

* *