Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

REMPLACEMENT 2024
Métropole

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE
E7-1 ANALYSES ET CONTRÔLES

Option : ANABIOTEC

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Le sujet comporte 18 pages

Les documents et le contexte ont été adaptés pour les besoins de l'épreuve.

L'annexe A est à rendre avec la copie après avoir été numérotée

---

SUJET

ÉTUDE DE LA FABRICATION DE LA SPIRULINE

L'entreprise SPIRUBIO produit de la spiruline destinée à la fabrication de compléments à l'alimentation humaine. La spiruline est un produit fabriqué à partir de cyanobactéries du genre *Arthrospira.*

L'entreprise cultive des cyanobactéries et réalise ensuite la transformation industrielle et la commercialisation de la spiruline sous forme de paillettes. Cette production est très consommatrice d'eau, étant donné que les cultures de cyanobactéries se font en bassins de plusieurs centaines d'hectolitres.

Après plusieurs années de sécheresse estivale, les dirigeants de l'entreprise SPIRUBIO se proposent de mettre en œuvre un système de réutilisation des eaux de fabrication dans les bassins de cyanobactéries destinés à produire de la spiruline. Ces eaux après traitement par décantation seraient utilisables pour l'arrosage des cultures des fermes avoisinantes.

Pour mettre en place ce système, il est nécessaire de réaliser différentes analyses sur la qualité microbiologique de l'eau à réutiliser, celle-ci pouvant être contaminée par des germes indicateurs d'hygiène notamment *E.coli*.

En tant que technicien(ne) de laboratoire dans l'entreprise SPIRUBIO, vous êtes chargé(e) de réaliser différentes missions :

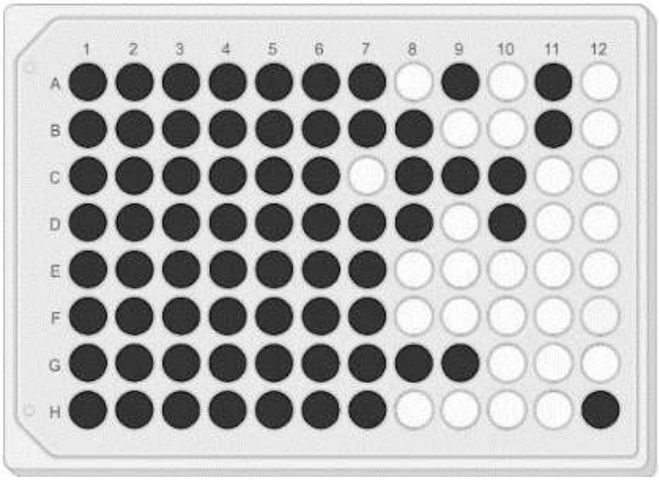
- Quantifier *E. coli* dans l'eau susceptible d'être redistribuée aux agriculteurs.
- Contrôler certains paramètres qualitatifs de la spiruline produite :
    - la teneur en fer dans le produit fini (SAA)
    - l'absence de toxines dans la spiruline.

PARTIE 1

Dénombrement d'*E coli* dans l'eau à réutiliser par la technique des microplaques selon la méthode NF EN ISO 9308-3 (5 points)

1.1 Justifier le choix de ce germe comme indicateur de la qualité des eaux à la sortie des bassins de décantation.

La recherche et le dénombrement des *E. coli* dans les eaux d'irrigation se fera selon la méthode par utilisation de microplaque MUG/EC (Biokar diagnostic).
La microplaque MUG/EC permet de pratiquer les recherche et dénombrement d'Escherichia coli dans les eaux, suivant la méthode NF EN ISO 9308-3.
L'emploi de microplaques, dont les puits contiennent un milieu spécifique adapté, a été développé pour une utilisation dans l'analyse de plusieurs types d'eaux, notamment les eaux de baignade en mer et en eau douce, les eaux de surface et les eaux résiduaires. La méthode est applicable à toutes les eaux, y compris celles qui sont riches en matières en suspension.
Le mode opératoire de cette méthode est décrit dans le **document 1**.
Un échantillon d'eau est prélevé en sortie de bassin de rétention de l'entreprise SPIRUBIO afin de réaliser un dénombrement d'*E. Coli.*
Après analyse, vous observez le résultat suivant :



On considère les colonnes 1 et 2 comme la dilution 1/2, les colonnes 3 et 4 comme la dilution 1/20 puis les colonnes 5 et 6 comme la dilution 1/200….
Les puits marqués « noirs » sont considérés comme « fluorescents » et donc positifs.

1.2 Présenter ce résultat sous forme de tableau, en vous aidant du **document 2.**

1.3 Calculer le NPP d'*E.coli* pour l'échantillon d'eau analysé en utilisant le **document 3**.

La réglementation impose un taux d'*E.coli* maximum de 250 UFC/100mL (Règlement CE 852/2004).

1.4 Conclure quant à la possibilité de réutiliser les eaux de fabrication.

PARTIE 2

Dosage du fer dans le produit commercialisé (10,5 points)

Pour chaque nouveau lot produit, l'entreprise SPIRUBIO réalise un dosage de la teneur en fer dans les paillettes de spiruline déshydratée afin de s'assurer que l'étiquetage nutritionnel du produit commercialisé est bien conforme avant la mise en vente.
Le protocole suivi pour ce dosage, mis au point par l'entreprise, est présenté dans le **document 4**.

2.1. Justifier l'utilité de l'étape de calcination (réduction de l'échantillon en cendres).

2.2. Préciser le type de cuves spectrophotométriques le plus adapté à ce protocole.

Les valeurs expérimentales d'absorbances pour la gamme étalon et l'échantillon obtenues lors de la dernière analyse réalisée sont présentées ci-dessous :

Étalon (ppm)	0	5	10	15	20	25
A_{480}	0,0003	0,1520	0,3142	0,4739	0,6320	0,7901

Absorbance de l'échantillon : A_{ech} = 0,4150
Masse de paillettes : 1,9754 g
Masse de cendres totale : 0,1250 g
Masse de cendres prélevée : 0,0812 g

2.3. Déterminer, à l'aide de ces valeurs, la teneur en élément fer dans le lot étudié, exprimé en mg de fer pour 100 g de produit.

La marge de tolérance quant à la teneur en minéraux pour les compléments alimentaires par rapport aux valeurs indiquées sur l'étiquette est de + 45 % et de – 20 %.

2.4. Commenter le résultat de l'analyse en vous appuyant sur le **document 5**.

La méthode utilisée n'étant pas normalisée, l'entreprise envisage de réaliser le dosage du fer en s'appuyant sur la norme européenne NF EN 16943 : 2017 « Produits alimentaires – Dosage du calcium, du cuivre, du fer, du magnésium, du manganèse, du phosphore, du potassium, du sodium, du soufre et du zinc par ICP-OES ».

2.5. Comparer la méthode utilisée par le laboratoire et la méthode normalisée, en vous appuyant sur les informations figurant dans le **document 6**.

SPIRUBIO impose dans son cahier des charges de produire une spiruline à teneur en fer supérieure à la valeur affichée sur l'étiquetage nutritionnel (**document 5**). L'entreprise expérimente, sur une cuve, un nouveau fertilisant pour enrichir la spiruline en fer. La spiruline fertilisée est analysée et les résultats obtenus sur la teneur en fer, sont les suivants :

Sachet	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Teneur en fer *	27,9	29,7	34,1	32,2	26,3	29,9	26,8	28,6	25,5	28,0

* exprimée en mg pour 100 g de paillettes

La normalité de la variable teneur en fer est vérifiée.

2.6. Réaliser un test au seuil de risque 0,05 dont vous justifierez le choix (**documents 7, 8**) pour déterminer si la teneur en fer de la spiruline ainsi obtenue répond au cahier des charges.

PARTIE 3

Recherche des microcystines dans le produit commercialisé (4,5 points)

Les toxines cyanobactériennes sont emmagasinées dans les cellules de certaines espèces de cyanobactéries. Ces toxines peuvent être séparées en différentes catégories : certaines d'entre elles peuvent attaquer le foie (hépatotoxines) ou le système nerveux (neurotoxines) alors que d'autres ne font qu'irriter la peau. Ces toxines sont normalement libérées dans l'eau lors de la rupture ou de la mort des cellules.

Vous réalisez le dosage de ces cyanotoxines ou microcystines produites par les cyanobactéries.

La réglementation indique une limite de concentration de microcystines dans la spiruline inférieure ou égale à 1 µg / g de spiruline.

Vous faites le choix d'utiliser le kit ELISA Novakits en raison de sa facilité d'emploi.
Les tests ELISA sont basés sur une réaction immunologique avec la microcystine. Ce test est basé sur la reconnaissance des microcystines par un anticorps anti-microcystines.

3.1 Justifier l'emploi de ce kit par rapport à la réglementation.

Le kit est un test ELISA par compétition directe.

3.2 Compléter l'**annexe A** (à rendre avec la copie après avoir été numérotée) en vous appuyant sur le **document 9**, avec les schémas des différentes molécules impliquées dans la réaction :

- le puits n°1 représente l'absence de microcystine,
- le puits n°2 représente une forte présence de microcystine.

3.3 Présenter les mécanismes mis en jeu conduisant à l'apparition « d'une couleur bleue inversement proportionnelle à la concentration en microcystine. ».

Les résultats obtenus sur votre échantillon à analyser sont présentés sur le tableau suivant :

Gamme étalon en µg/g	Blanc (AT*)	0.062	0.312	1.58	3.556	8	Echantillon
Absorbance à 450 nm	3.00	0.94	0.701	0.271	0.128	0.054	0.175

*AT : Activité totale correspond à 0µg/g de microcystine.

3.4 Conclure quant à la conformité de l'échantillon analysé.

LISTE DES DOCUMENTS

Document 1 : Mode opératoire recherche et dénombrement des E. coli sur microplaques MUG

Document 2 : Exemple de calcul du NPP microplaques *E. coli*

Document 3 : Table des NPP pour 6 dilutions

Document 4 : Détermination de la teneur en fer

Document 5 : Étiquetage nutritionnel des paillettes de spiruline SPIRUBIO

Document 6 : La spectroscopie ICP-OES

Document 7 : Variables aléatoires de quelques tests statistiques

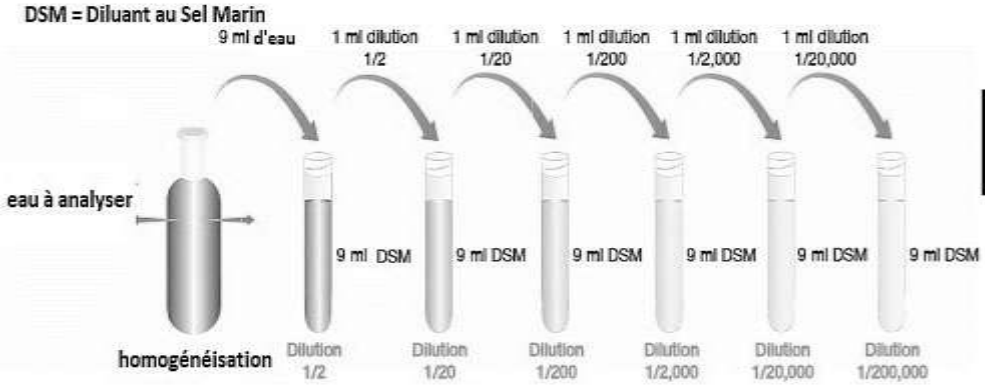
Document 8 : Fonctions de répartition

Document 9 : Fiche technique kit ELISA selon Novakits

<u>DOCUMENT 1</u> : Mode opératoire recherche et dénombrement des E. coli sur microplaques MUG

1- Dilution en DSM

DSM = Diluant au Sel Marin



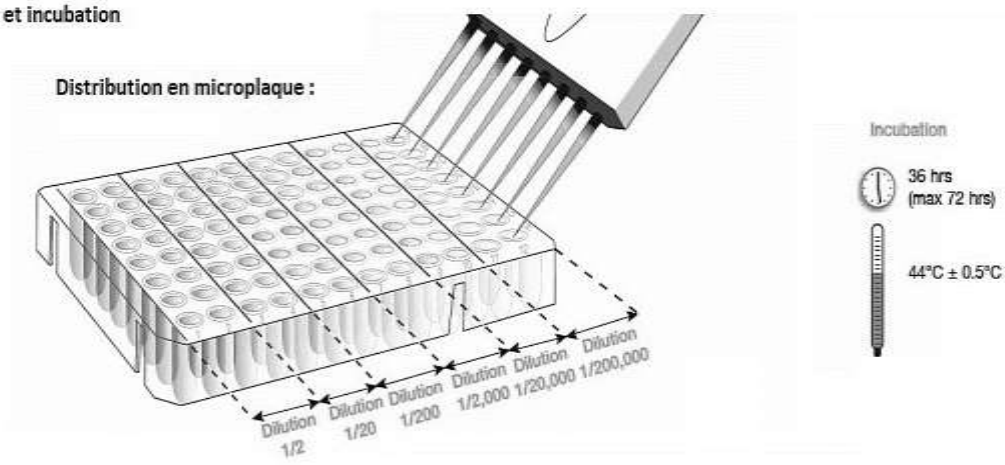
"Vortexer" chaque tube avant de pipeter

2-Transfert en boîte de Pétri



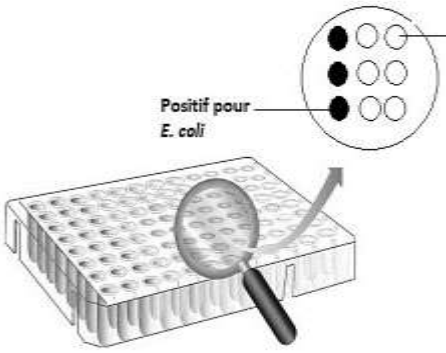
Répéter l'opération pour chaque dilution préparée précédemment

3-Distribution et incubation



4-Lecture





Placer chaque microplaque sous une chambre d'observation UV.
Considérer comme positif tous les puits fluorescents (sur ce schéma, la fluorescence apparaît en noir)

Source : document technique Biokar diagnostic

DOCUMENT 2

Exemple de calcul du NPP microplaques *E. coli*

NPP = Nombre le Plus Probable

Dilution	Facteur de dilution	Nombre de puits positifs/16	
1/2	1	16/16	
1/20	10	16/16	
1/200	100	16/16	
1/2 000	1 000	**11**/16	**Nombre caractéristique**
1/20 000	10 000	**4**/16	
1/200 000	100 000	**0**/16	

Pour chaque dilution choisie, noter le nombre de puits positifs. Lorsque 3 dilutions ou plus ont été inoculées, un nombre caractéristique constitué de 3 chiffres sera obtenu. Dans tous les cas, le plus petit nombre caractéristique constitué à partir de 3 dilutions successives doit être choisi.

Dans cet exemple, 11/4/0 est le nombre caractéristique retenu. Ce nombre caractéristique est reporté dans la table des NPP afin de déterminer le nombre le plus probable.

Extrait de la table des NPP pour l'exemple ci-dessus :

			NPP	**Limite de confiance à 95%**	
				Limite <	**Limite >**
11/16	4/16	0/16	13.86	7.97	24.11
11/16	4/16	1/16	14.91	8.62	25.79
11/16	4/16	2/16	15.98	9.27	27.54
11/16	4/16	3/16	17.07	9.93	29.33

Formule du NPP :

NPP = Valeur de la table x facteur de dilution x 100 (*)

(*) = Pour un résultat rendu pour 100 mL d'eau

Prendre le facteur de dilution correspondant au premier chiffre retenu. Dans notre exemple, on retient 1000 comme facteur de dilution.

On lit sur la table la valeur NPP = 13,86 :

En appliquant la formule ci-dessus on trouve :

NPP = 13,86 x 1000 x 100

= 1 386 000 *E. coli* / 100 ml

Limite inférieure de confiance à 95% : 797 000 *E.coli* / 100mL

Limite supérieure de confiance à 95% : 2 411 000 *E. coli* / 100 mL

<u>DOCUMENT 3</u> : Table des NPP pour 6 dilutions

Tables statistiques pour microplaques 6 dilutions (16 puits/dilution)

Nombre Caractéristique			NPP	Limite <	Limite >
10/16	9/16	0/16	17.41	10.14	29.89
11/16	0/16	0/16	9.66	5.32	17.54
11/16	0/16	1/16	10.62	5.93	19.02
11/16	0/16	2/16	11.6	6.55	20.54
11/16	0/16	3/16	12.59	7.17	22.09
11/16	1/16	0/16	10.67	5.96	19.09
11/16	1/16	1/16	11.65	6.58	20.62
11/16	1/16	2/16	12.65	7.21	22.18
11/16	1/16	3/16	13.66	7.85	23.79
11/16	1/16	4/16	14.7	8.49	25.45
11/16	2/16	0/16	11.7	6.62	20.7
11/16	2/16	1/16	12.71	7.25	22.28
11/16	2/16	2/16	13.73	7.89	23.9
11/16	2/16	3/16	14.77	8.53	25.56
11/16	2/16	4/16	15.82	9.18	27.28
11/16	3/16	0/16	12.77	7.28	22.37
11/16	3/16	1/16	13.79	7.93	24
11/16	3/16	2/16	14.84	8.57	25.68
11/16	3/16	3/16	15.9	9.23	27.41
11/16	3/16	4/16	16.98	9.88	29.19
11/16	4/16	0/16	13.86	7.97	24.11
11/16	4/16	1/16	14.91	8.62	25.79
11/16	4/16	2/16	15.98	9.27	27.54
11/16	4/16	3/16	17.07	9.93	29.33
11/16	5/16	0/16	14.98	8.66	25.91
11/16	5/16	1/16	16.06	9.32	27.67
11/16	5/16	2/16	17.16	9.99	29.47
11/16	5/16	3/16	18.27	10.65	31.34
11/16	6/16	0/16	16.14	9.37	27.8
11/16	6/16	1/16	17.24	10.04	29.62
11/16	6/16	2/16	18.37	10.71	31.5
11/16	6/16	3/16	19.51	11.38	33.44
11/16	7/16	0/16	17.33	10.09	29.77
11/16	7/16	1/16	18.46	10.77	31.66
11/16	7/16	2/16	19.62	11.44	33.62
11/16	8/16	0/16	18.56	10.82	31.83
11/16	8/16	1/16	19.72	11.5	33.81
11/16	8/16	2/16	20.9	12.19	35.85
11/16	9/16	0/16	19.83	11.57	33.99
11/16	9/16	1/16	21.02	12.25	36.05

DOCUMENT 4

Détermination de la teneur en fer
Document interne SPIRUBIO

Solutions mères

Solution à 100 ppm en élément fer (100 µg.mL^{-1}) : dissoudre 0,217 g de nitrate de fer (III) $Fe(NO_3)_3$ dans 100 mL d'eau distillée, ajouter 2 mL d'une solution d'acide chlorhydrique (H_3O^+,Cl^-) concentré. Ajuster le mélange à 500 mL à l'aide d'eau distillée.

Solution d'acide chlorhydrique à 0,1 mol.L^{-1} : diluer 8,2 mL d'acide chlorhydrique concentré à 37% pour fabriquer 1 litre de solution.

Solution de thiocyanate de potassium (K^+,SCN^-)à 0,1 mol.L^{-1} : dissoudre 4,86 g de thiocyanate de potassium KSCN dans 500 mL d'eau distillée.

Préparation de la gamme étalon

Préparer 5 solutions étalons à 5, 10, 15, 20 et 25 ppm en élément fer en diluant respectivement 5, 10, 15, 20 et 25 mL de la solution mère à 100 ppm dans 100 mL d'acide chlorhydrique à 0,1 mol.L^{-1}.

L'acide chlorhydrique à 0,1 mol.L^{-1} constitue la 6ème solution étalon de concentration 0 ppm.

Courbe d'étalonnage

Dans 6 tubes à essai, introduire 10 mL respectivement de chaque solution étalon. Ajouter 5 mL de thiocyanate de potassium à 0,1 mol.L^{-1} et homogénéiser.

Transvaser dans des cuves spectrophotométriques et mesurer sans attendre (la coloration s'estompe à partir de 15-20 minutes) l'absorbance à 480 nm de chaque mélange en utilisant l'acide chlorhydrique à 0,1 mol.L^{-1} comme blanc.

Traitement des échantillons

Peser environ 2 g de paillettes déshydratées dans un creuset de porcelaine taré. Calciner 10 heures à 580 °C dans un four à moufle, refroidir au dessiccateur puis peser la masse totale de cendres obtenues.

Disperser 80 mg de cendres dans 20 mL de solution d'acide chlorhydrique à 0,1 mol.L^{-1}, mélanger soigneusement et filtrer.

Dans un tube à essai, introduire 10 mL de filtrat. Ajouter 5 mL de solution de thiocyanate de potassium à 0,1 mol.L^{-1} et homogénéiser.

Procéder à la lecture de l'absorbance à l'identique des solutions de la gamme étalon.

DOCUMENT 4 (suite et fin)

Résultats

La concentration C (ppm) du filtrat de cendres est obtenue en s'appuyant sur un calcul de régression linéaire appliqué aux valeurs d'absorbance mesurées.

La teneur en élément fer du produit commercialisé (en mg pour 100 g de paillettes) est obtenue à l'aide de la relation suivante :

$$\text{Teneur en fer (mg/100 g)} = \frac{2 \times \text{C(ppm)} \times \text{m}_{\text{cendres totale}}(\text{g})}{\text{m}_{\text{cendres prélevées}}(\text{g}) \times \text{m}_{\text{échantillon}}(\text{g})}$$

DOCUMENT 5

Étiquetage nutritionnel des paillettes de spiruline SPIRUBIO
(document élaboré pour les besoins de l'épreuve)

	Pour 100 g de produit
Valeur énergétique	305 kcal
Protéines	58,5 g
Glucides	22,3 g
Lipides	7,7 g
Fibres	3,6 g
Humidité	5,7 g
Sodium	1,05 g
Fer	28,5 mg
Magnésium	195 mg

DOCUMENT 6

La spectroscopie ICP-OES

Document adapté à partir du site eurofins.fr

La spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES) est une technique permettant de fournir une composition élémentaire quantitative d'une grande variété de types d'échantillons, y compris des poudres, des solides, des liquides et des suspensions.

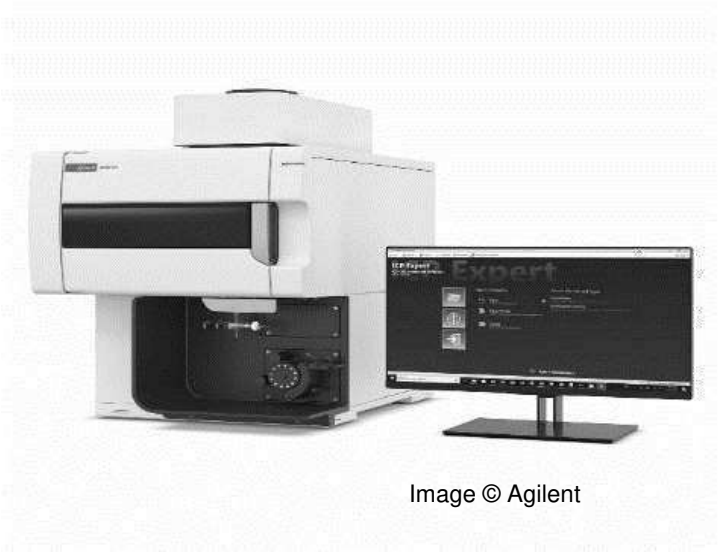


Image © Agilent

Les échantillons solides sont généralement dissous ou digérés à l'aide d'une combinaison d'acides dans un système micro-ondes fermé, retenant ainsi les espèces d'analytes potentiellement volatiles.

La solution d'échantillon résultante est ensuite nébulisée dans un plasma d'argon, où des températures d'environ 9000 K sont atteintes.

À de telles températures, la solution nébulisée est vaporisée et les éléments à analyser sont atomisés, ionisés et excités thermiquement. Chaque élément peut ensuite être détecté et quantifié avec un spectromètre d'émission optique (OES), qui mesure l'intensité du rayonnement de désexcitation émis à la longueur d'onde caractéristique de l'élément.

Les mesures d'intensité sont converties en concentration élémentaire par comparaison avec des courbes d'étalonnage.

La gamme de prix de ce type d'appareillage est comprise entre 80 k€ et 200 k€, en fonction des caractéristiques.

Utilisations idéales de l'ICP-OES

- Analyse chimique quantitative des éléments majeurs, mineurs et traces dans les solides, les liquides et les suspensions
- Contrôle de la qualité et contrôle des processus, et recherche et développement

DOCUMENT 6 (suite et fin)

Points forts

- Gamme d'éléments détectés : du lithium (numéro atomique 3) à l'uranium (numéro atomique 92), à quelques exceptions près (voir plus bas)
- Durée d'un cycle de mesures : quelques minutes (hors préparation des échantillons)
- Plusieurs éléments peuvent être analysés en un seul cycle de mesure
- L'analyse peut être automatisée, améliorant l'exactitude, la précision et le débit d'échantillons
- Utilisable dans une large gamme de concentrations élémentaires, des composants principaux jusqu'aux composants à l'état de traces (jusqu'à 1 ppb) avec une grande précision

Limites

- L'échantillon à analyser doit être complètement digéré ou dissous avant l'analyse
- Le spectre d'émission peut être complexe, et des interférences spectrales sont possibles si la longueur d'onde de l'élément d'intérêt est très proche ou chevauche celle d'un autre élément
- Les effets liés à la matrice peuvent créer des problèmes de quantification
- Le carbone, l'azote, l'hydrogène, l'oxygène et les halogènes ne peuvent pas être déterminés à l'aide de cette technique

DOCUMENT 7

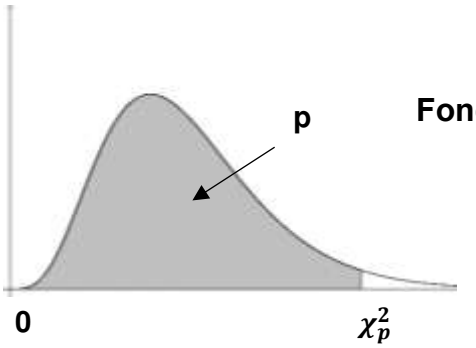
Variables aléatoires de quelques tests statistiques

<table>
<tr><td rowspan="3">Moyenne</td><td>Test de conformité</td><td>$U = \dfrac{\overline{X} - \mu_0}{\dfrac{\sigma}{\sqrt{n}}}$
U est distribuée selon la loi Normale centrée réduite

$T = \dfrac{\overline{X} - \mu}{\dfrac{S}{\sqrt{n-1}}}$
T est distribuée selon la loi de Student à $n-1$ degrés de liberté</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Comparaison</td><td>$T = \dfrac{\overline{D}}{\dfrac{S_d}{\sqrt{n-1}}}$
T est distribuée selon la loi Student à $n-1$ degrés de liberté</td></tr>
<tr><td>$T = \dfrac{\overline{X}_1 - \overline{X}_2}{\sqrt{\left(\dfrac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}\right)\left(\dfrac{1}{n_1} + \dfrac{1}{n_2}\right)}}$
T est distribuée selon la loi Student à $n_1 + n_2 - 2$ degrés de liberté</td></tr>
<tr><td>Variance</td><td>Test de conformité</td><td>$K = \frac{nS^2}{\sigma^2}$
K est distribuée selon la loi du Chi2 (χ^2) à $n-1$ degrés de liberté</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Proportion</td><td>Test de conformité</td><td>$U = \dfrac{F - \pi}{\sqrt{\dfrac{\pi(1-\pi)}{n}}}$
U est distribuée selon la loi normale centrée réduite</td></tr>
<tr><td>Comparaison</td><td>$U = \frac{F_1 - F_2}{\sqrt{p(1-p)\left(\frac{1}{n_1}+\frac{1}{n_2}\right)}}$ avec $p = \frac{n_1 f_1 + n_2 f_2}{n_1 + n_2}$
U est distribuée selon la loi normale centrée réduite</td></tr>
</table>

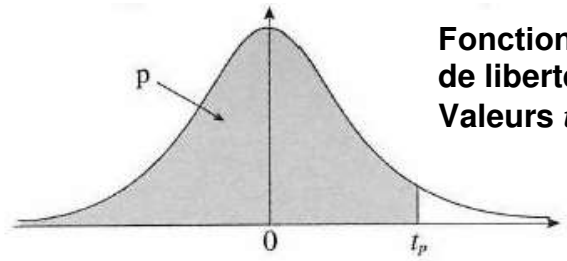
DOCUMENT 8

Fonctions de répartition



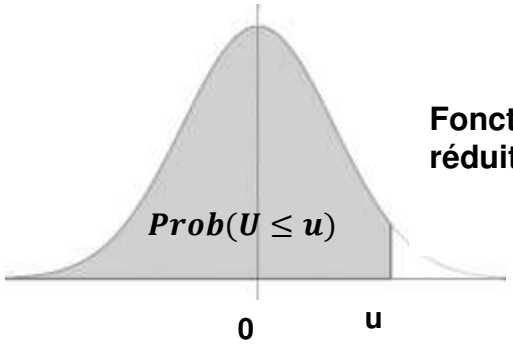
Fonction de répartition d'une variable du Khi2 (χ^2) à k degrés
Valeurs χ_p^2 telles que $prob(\chi^2 \leq \chi_p^2)$=p

k \ p	0,005	0,025	0,05	0,1	0,90	0,95	0,975	0,995
50	27,99	32,36	34,76	37,69	63,17	67,50	71,42	79,49
100	67,33	74,22	77,93	82,36	118,50	124,34	129,56	140,17
150	109,14	117,98	122,69	128,28	172,58	179,58	185,80	198,36
250	196,16	208,10	214,39	221,81	279,05	287,88	295,69	311,35



Fonction de répartition d'une variable de Student à k degrés de liberté.
Valeurs t_p telles que $Prob(T \leq t_p) = p$

k \ p	0,90	0,95	0,975	0,995	0,999	0,9995
10	1,37	1,81	2,23	3,17	4,14	4,59
50	1,30	1,68	2,01	2,68	3,26	3,50
100	1,29	1,66	1,98	2,63	3,17	3,39
150	1,29	1,66	1,98	2,61	3,15	3,36
250	1,28	1,65	1,97	2,60	3,12	3,33



Fonction de répartition de la loi normale centrée réduite

u	0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
1,6	0,9452	0,9463	0,9474	0,9484	0,9495	0,9505	0,9515	0,9525	0,9535	0,9545
1,7	0,9554	0,9564	0,9573	0,9582	0,9591	0,9599	0,9608	0,9616	0,9625	0,9633
1,8	0,9641	0,9649	0,9656	0,9664	0,9671	0,9678	0,9686	0,9693	0,9699	0,9706
1,9	0,9713	0,9719	0,9726	0,9732	0,9738	0,9744	0,9750	0,9756	0,9761	0,9767

DOCUMENT 9

Fiche technique kit ELISA selon Novakits

	**CARACTÉRISTIQUES DU TEST :** Coffret prêt à l'emploi, complet et comprenant : plaque, réactifs et standards. Microplaque de 96 puits (12 barrettes de 8 puits) **Temps d'incubation :** 2h30 **Limite de détection :** 0 à 10 (µg/g) **Gamme de quantification :** 0 – 10 µg/g **Longueur d'onde :** 450 nm

Principe du test :

Ce test est un ELISA de compétition directe pour la détection des microcystines. Il est basé sur la reconnaissance des microcystines par un anticorps monoclonal. Les puits de la microplaque sont coatés (recouverts) par des anticorps secondaires.

L'échantillon et un conjugué (microcystine couplé à la peroxydase) sont ajoutés en même temps dans les puits. Ils entrent alors en compétition pour la fixation sur les sites de liaison des anticorps anti-microcystine.

Les anticorps anti-microcystine se lient ensuite aux anticorps secondaires fixés aux puits.

Après une étape de lavage et ajout de la solution de substrat (TMB) un signal coloré est généré. L'intensité de la couleur bleue est inversement proportionnelle à la concentration de microcystines présentes.

Protocole :

1) Ajouter 100 µL d'étalon, de contrôle ou d'échantillon dans les puits des barrettes.
2) Ajouter 50 µL de la solution de conjugué (Microcystine couplé à la peroxydase) dans chaque puits,
3) Ajouter 50 µL de la solution d'anticorps antimicrocystine dans chaque puits,

Couvrir les puits avec du parafilm et mélanger le contenu par un mouvement circulaire au poste pendant 30 secondes.

Incuber 90 minutes à température ambiante.

DOCUMENT 9 (suite et fin)

4) Enlever le parafilm, vider les puits à l'aide d'une seringue, sécher la plaque en la retournant sur du papier absorbant,

Laver les puits trois fois avec 250 µL de la solution tampon de lavage 1X

5) Après chaque lavage, vider la plaque par retournement et la sécher sur du papier absorbant comme précédemment,

6) Ajouter 150 µL de substrat de la peroxydase à chaque puits

Couvrir les puits avec du parafilm et mélanger le contenu par un mouvement circulaire au poste pendant 30 secondes

Incuber 20 à 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière.

7) Ajouter 100 µL de la solution stop dans chaque puits.

8) Lire les absorbances à 450 nm dans un lecteur de microplaques.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)
Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

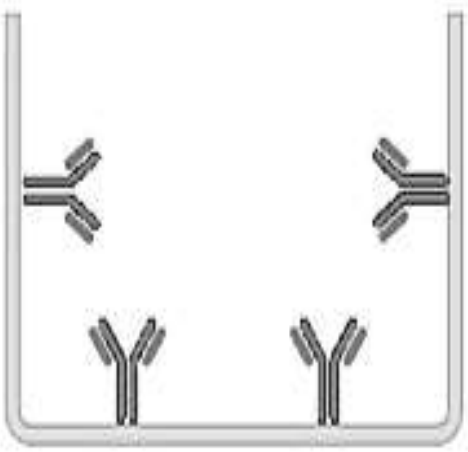
N° ne rien inscrire

ANNEXE A ***(à compléter, numéroter et à rendre avec la copie)***

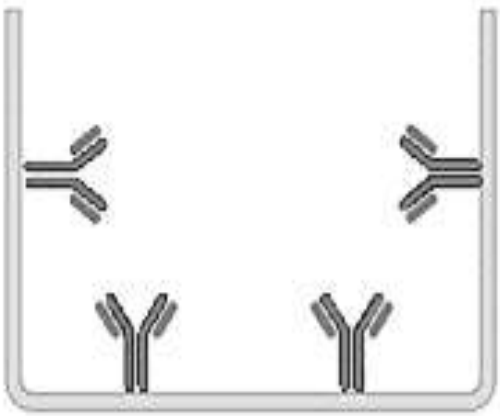
Légende des différentes molécules impliquées :

Anticorps antimicrocystine en solution (à représenter en couleur)	MC — P Conjugué microcystine-Peroxydase	MC — P Conjugué microcystine-Peroxydase après ajout du sustrat (TMB)
MC Microcystine (présente dans le contrôle et dans les échantillons positifs	Puits fourni dans le kit (coaté avec des anticorps secondaires)	

Complétez les puits ci-dessous avec les éléments légendés dans le tableau ci-dessus ***(l'anticorps antimicrocystine sera représenté d'une couleur différente de celle de l'anticorps secondaire coaté dans les puits)***



Puits 1 : absence de microcystine



Puits 2 : forte présence de microcystine

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.