

Repère : BC BIOCH

SESSION 2005

Durée : 4 H

Page : 0/9

Coefficient : 6

**BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOCHIMISTE**

BIOCHIMIE - BIOLOGIE

EPREUVE E4
BIOCHIMIE-BIOLOGIE
Calculatrice autorisée

REMARQUES PRÉLIMINAIRES :

- 1 - Le sujet proposé a un caractère pluridisciplinaire. Le candidat devra veiller à répondre de manière concise aux questions posées afin de pouvoir traiter l'ensemble du sujet.
- 2 - Il est suggéré de consacrer à chaque question un temps tenant compte du nombre de points attribués.

BACILLUS ANTHRACIS : morphologie, pouvoir pathogène et moyens de lutte

1) Morphologie (26 points).

Outre ses toxines, *Bacillus anthracis* doit sa virulence à des structures particulières : la capsule et la couche S. Lorsque le milieu s'appauvrit, en présence de dioxygène, la bactérie développe une forme dormante, la spore qui, une fois introduite dans un hôte, peut germer et déclencher la maladie.

1.1) La capsule**1.1.1) Structure**

La cellule de *Bacillus anthracis* est entourée d'une capsule formée de longs filaments constitués d'un polymère d'acide D-glutamique peu immunogène.

Ecrire la formule développée du dipeptide particulier le composant : l'acide γ D-glutamyl-glutamique.

1.1.2) Rôle de la capsule dans la virulence.

Présenter les mécanismes mis en jeu.

1.2) La couche S

La couche S est une structure spécifique de *Bacillus anthracis*, située sous la capsule. Elle a aussi probablement un rôle protecteur en augmentant la résistance de la bactérie à certaines réactions immunitaires de l'hôte.

Cette couche S est constituée de deux protéines, Sap et EA1, qui s'assemblent spontanément et s'agencent en un motif régulier. Le **document n° 1** montre la production de ces deux protéines au cours de la croissance en milieu liquide non renouvelé.

1.2.1) Sur la courbe $\ln N = f(t)$ du **document n° 1**, indiquer les différentes phases de la croissance, puis déterminer graphiquement, après les avoir définis, le temps de génération et la vitesse spécifique de croissance.

1.2.2) Analyser les courbes $[Sap] = f(t)$ et $[EA1] = f(t)$ du **document n° 1**.

Comparer les cinétiques de production des protéines Sap et EA1 de la couche S, au cours de la croissance.

1.2.3) La croissance de *Bacillus anthracis* étudiée dans le **document n° 1** est une croissance en milieu liquide non renouvelé. On peut également mettre en oeuvre une croissance en milieu renouvelé (culture continue). Quel est l'intérêt d'une culture continue ? Citer une application industrielle qui utilise ce type de culture.

1.3) La spore

Le **document n° 2** est une observation des spores de *Bacillus anthracis* en microscopie électronique à transmission.

1.3.1) Réaliser un schéma légendé d'une spore.

1.3.2) Quelle est la principale propriété de la spore ? Expliquer cette propriété en rapport avec son ultrastructure.

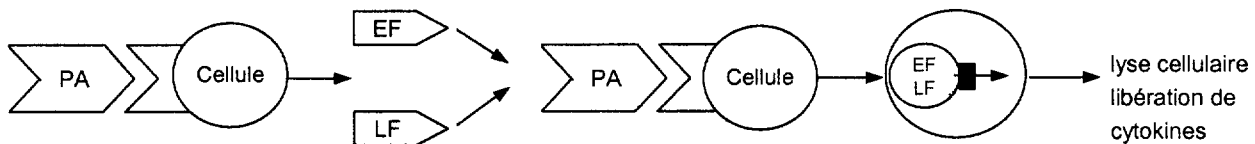
2) Pouvoir pathogène (61 points).

Lorsque les spores sont inhalées, ingérées ou en contact avec une plaie, elles sont rapidement phagocytées par les macrophages. A l'intérieur de la vésicule de phagocytose, elles sortent de leur dormance pour donner des formes végétatives qui échappent au système immunitaire et qui prospèrent dans l'organisme jusqu'à l'envahir complètement.

Bacillus anthracis sécrète trois facteurs toxiques, de nature protéique :

- le facteur PA ou antigène protecteur (fortement immunogène) ;
- le facteur EF ou facteur œdématogène ;
- le facteur LF ou facteur létal.

Les facteurs EF et LF sont les deux toxines qui endommagent les cellules de l'hôte infecté, mais elles ne sont actives que lorsqu'elles ont été introduites dans le cytoplasme des cellules par le facteur PA.

**2.1) Mécanisme du pouvoir pathogène**

Par quel(s) processus s'exprime le pouvoir pathogène de *Bacillus anthracis* ? Justifier.

2.2) Le facteur PA

Après sa fixation au récepteur cellulaire, PA subit une protéolyse libérant deux fragments PA 63 et PA 20. PA 20 est éliminé, PA 63 reste fixé au récepteur.

2.2.1) Définir une protéolyse.

Sur quel type de liaison se produit-elle et par quels types d'enzymes ?

Préciser les différentes catégories de ces enzymes en fonction de leur spécificité d'action sur les protéines.

A quelle classe d'enzymes appartiennent-elles ?

2.2.2) Cette protéolyse se produit entre les acides aminés 167 et 168 qui sont respectivement de l'arginine et de la sérine.

Ecrire la réaction de protéolyse (formules développées exigées).

2.2.3) Rôle de PA dans l'internalisation des facteurs EF et LF.

Par la suite, sept molécules PA 63 forment un complexe, toujours lié au récepteur membranaire, auquel viennent se lier les facteurs EF et LF. La membrane s'invagine et le complexe PA/EF/LF pénètre dans la cellule. Une acidification provoque la dissociation du complexe et la libération de EF et LF dans le cytoplasme.

De quel mécanisme de transport cellulaire s'agit-il ? Indiquer ses modalités et expliquer l'évolution ultérieure du complexe PA/EF/LF. Préciser les structures cellulaires impliquées.

Comment peut-on expliquer l'acidification ?

2.3) Le facteur EF et l'AMP cyclique

Dans le cytoplasme des cellules, le facteur EF présente une forte activité adénylcyclase conduisant, à partir d'ATP, à la production d'AMP cyclique (AMPc), second messenger intracellulaire essentiel. Son rôle est notamment connu dans la régulation du métabolisme du glycogène.

2.3.1) Ecrire la réaction de synthèse d'AMPc à partir de l'ATP en présence d'adénylcyclase. Les formules développées (sauf celle de la base azotée) sont exigées.

Donnée : AMPc = adénosine-3',5' monophosphate cyclique.

2.3.2) L'AMPc active différentes enzymes intervenant dans le métabolisme du glycogène. L'une de ces enzymes est la protéine kinase A (PKA) qui contrôle de façon coordonnée, par des réactions de phosphorylation en cascade, la glycogénogenèse et la glycogénolyse hépatiques.

2.3.2.1) La glycogénogenèse : écrire la réaction catalysée par la glycogène synthase (formules développées non exigées) et expliquer le rôle de la PKA sur cette enzyme. En déduire le rôle de la PKA dans la glycogénogenèse.

2.3.2.2) La glycogénolyse : compléter le schéma des réactions en cascade (**document n° 3**). Expliquer le rôle de la PKA dans la glycogénolyse.

2.3.2.3) Conclure quant au rôle de l'AMPc dans la glycogénogenèse, la glycogénolyse et la teneur en glycogène hépatique.

2.3.2.4) Les glycogénoses sont des affections résultant d'un trouble du métabolisme du glycogène. Dans la glycogénose du type III, qui s'accompagne d'une hépatomégalie, on observe une surcharge des cellules hépatiques par une forme de glycogène dans laquelle la fréquence des branchements est anormalement élevée. Les enzymes de la glycogénogenèse sont normales.

Quelle est l'enzyme dont la déficience est susceptible d'expliquer la présence de ce glycogène anormal ? Justifier en donnant une structure schématique de la molécule de glycogène.

2.3.3) Le taux d'AMPc dépend de sa vitesse de dégradation qui est catalysée par une phosphodiesterase très active produisant l'adénosine 5'-phosphate. Les inhibiteurs de cette enzyme, comme la caféine, potentialisent les effets de l'AMPc.

On mesure les vitesses initiales d'hydrolyse à différentes concentrations d'AMPc en absence de caféine (expérience A) et en présence de caféine (expérience B).

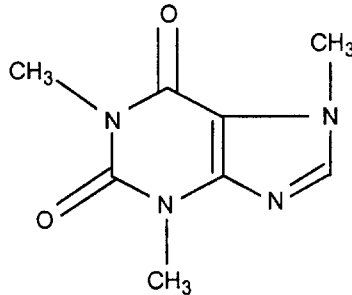
AMPc (mmol.L ⁻¹)	Vitesse initiale en $\mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$	
	Expérience A (sans caféine)	Expérience B (en présence de caféine à 0,05 mmol.L ⁻¹)
0,15	2,65	1,3
0,25	3,9	2,0
0,35	4,8	2,7
0,5	5,9	3,5
1	8	5,6

2.3.3.1) Déterminer graphiquement (papier millimétré) les constantes de l'équation de Michaëlis (K_M et V_{max}) relatives à ce système en absence et en présence de caféine.

2.3.3.2) En déduire le type d'inhibition par la caféine. Justifier.

Donner l'expression littérale de la constante d'inhibition K_i correspondante et calculer sa valeur.

Donnée : formule chimique de la caféine.



triméthyl-1,3,7 dioxo-2,6 tétrahydro-1,2,3,6 purine

2.3.4) L'AMPc intervient également comme second messager dans l'action de la noradrénaline sur les cellules cibles possédant des récepteurs noradrénergiques de type β_1 . Dans les cellules nodales et les cardiomyocytes exprimant des récepteurs β_1 , l'action de la noradrénaline entraîne la phosphorylation de canaux calciques membranaires en présence de PKA (voir document n° 4).

2.3.4.1) L'activité cardiaque est régulée par les deux composantes du système nerveux autonome. Laquelle se caractérise par une libération de noradrénaline ?

Quel sont ses effets sur l'activité cardiaque ?

2.3.4.2) Proposer une explication des effets de la noradrénaline au niveau cellulaire. Indiquer les conséquences sur les mouvements d'ions Ca^{2+} .

2.3.4.3) Sur la copie, détailler les étapes intermédiaires conduisant à la synthèse d'AMPc.

2.4) Le facteur LF

La toxine LF agit en stimulant une libération excessive d'IL-1, IL-8 et $TNF\alpha$ par les macrophages, avec pour conséquence une réaction inflammatoire généralisée conduisant à un collapsus vasculaire, à l'effondrement de la pression artérielle et à l'œdème pulmonaire.

2.4.1) A quelle famille de molécules appartient l'IL-1, l'IL-8 et le $TNF\alpha$? En donner une définition précise.

2.4.2) Ces molécules stimulent des mécanismes de la réaction inflammatoire. Préciser les principaux phénomènes caractéristiques de la réaction inflammatoire.

3) Moyens de lutte (33 points).

3.1) Mesures d'hygiène

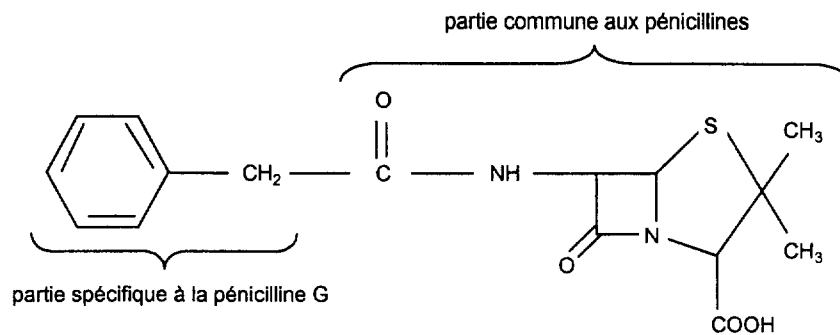
Une fois la maladie déclarée, les animaux atteints sont abattus et leurs carcasses sont incinérées. La loi interdit toute vente de produits dérivés (viande, peaux, laines, ...) provenant d'animaux contaminés. Tous les locaux ayant hébergé des animaux malades sont désinfectés avec du formaldéhyde et les personnes en contact avec les animaux malades doivent effectuer un lavage soigneux de leurs mains et avant-bras à l'aide d'un antiseptique iodé.

Définir désinfection et antiseptie. Comparer ces deux procédés.

3.2) Traitement chez l'homme

L'antibiotique généralement utilisé est une β lactamine, la pénicilline G. Le mécanisme d'action des β lactamines est le suivant : fixation de l'antibiotique sur les transpeptidases qui catalysent la liaison interpeptidique entre les tétrapeptides du peptidoglycane.

Donnée : formule de la pénicilline G



3.2.1) A partir de la formule de la pénicilline G, montrer comment les pénicillines peuvent se fixer spécifiquement sur leurs cibles.

3.2.2) Quelles sont, pour la bactérie, les conséquences de la fixation de la pénicilline G sur les transpeptidases bactériennes ?

3.2.3) Certaines bactéries produisent des enzymes capables d'empêcher l'action des β lactamines.

3.2.3.1) Nommer et donner le rôle de ces enzymes.

3.2.3.2) Pour lutter efficacement contre la présence de ces enzymes, on peut associer deux β lactamines : l'une active, l'autre dépourvue d'activité antibactérienne. Proposer une hypothèse pour expliquer l'efficacité d'une telle association.

3.3) Les vaccins

La virulence de *Bacillus anthracis* est génétiquement déterminée par deux plasmides : pXO1 qui contient les gènes des trois toxines PA, EF, LF et pXO2 qui contient les gènes de synthèse de la capsule.

La stratégie vaccinale s'est orientée vers deux axes :

- utilisation de souches moins virulentes mais capables d'induire une réponse immunitaire : c'est le cas de la souche Sterne (obtenue par perte d'un des 2 plasmides). Le vaccin est administré sous forme d'une suspension stabilisée de spores, d'usage vétérinaire uniquement car il entraîne des effets secondaires ;
- recherche d'un vaccin moléculaire immunogène et sans toxicité intrinsèque : c'est le cas du vaccin humain actuel, administré en association avec de l'hydroxyde d'alumine.

3.3.1) Sur quels principes fondamentaux de l'immunité repose la vaccination ? Quelles sont les caractéristiques de la réponse immunitaire d'un individu vacciné par rapport à celle d'un individu non vacciné lors d'une primo-infection ?

3.3.2) D'après les données du sujet, préciser la nature des deux vaccins logiquement retenus :

- pour la souche Sterne : souche pXO1 ou pXO2,
- pour le vaccin moléculaire : protéine sélectionnée.

3.3.3) La souche Sterne.

Dans quelle catégorie peut-on classer ce vaccin ? Préciser les avantages et inconvénients respectifs de ce vaccin et du vaccin moléculaire dans le cadre de la prophylaxie contre *Bacillus anthracis*.

3.3.4) Le vaccin moléculaire.

3.3.4.1) Quelle est la voie de réponse immunitaire induite par ce type de vaccin ?

Décrire les mécanismes de cette réponse immunitaire en précisant les interactions cellulaires et moléculaires mises en jeu.

3.3.4.2) Quel est le rôle de l'hydroxyde d'alumine ?

3.3.4.3) On envisage actuellement une modification de ce vaccin par l'ajout de spores tuées de *Bacillus anthracis*. Quel est l'intérêt de cette modification ?

Académie : _____ Session : _____

Examen ou Concours _____ Série* : _____

Spécialité/option* : _____ Repère de l'épreuve : _____

Épreuve/sous-épreuve : _____

NOM : _____

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____ N° du candidat

Né(e) le : _____

(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

* Uniquement s'il s'agit d'un examen.

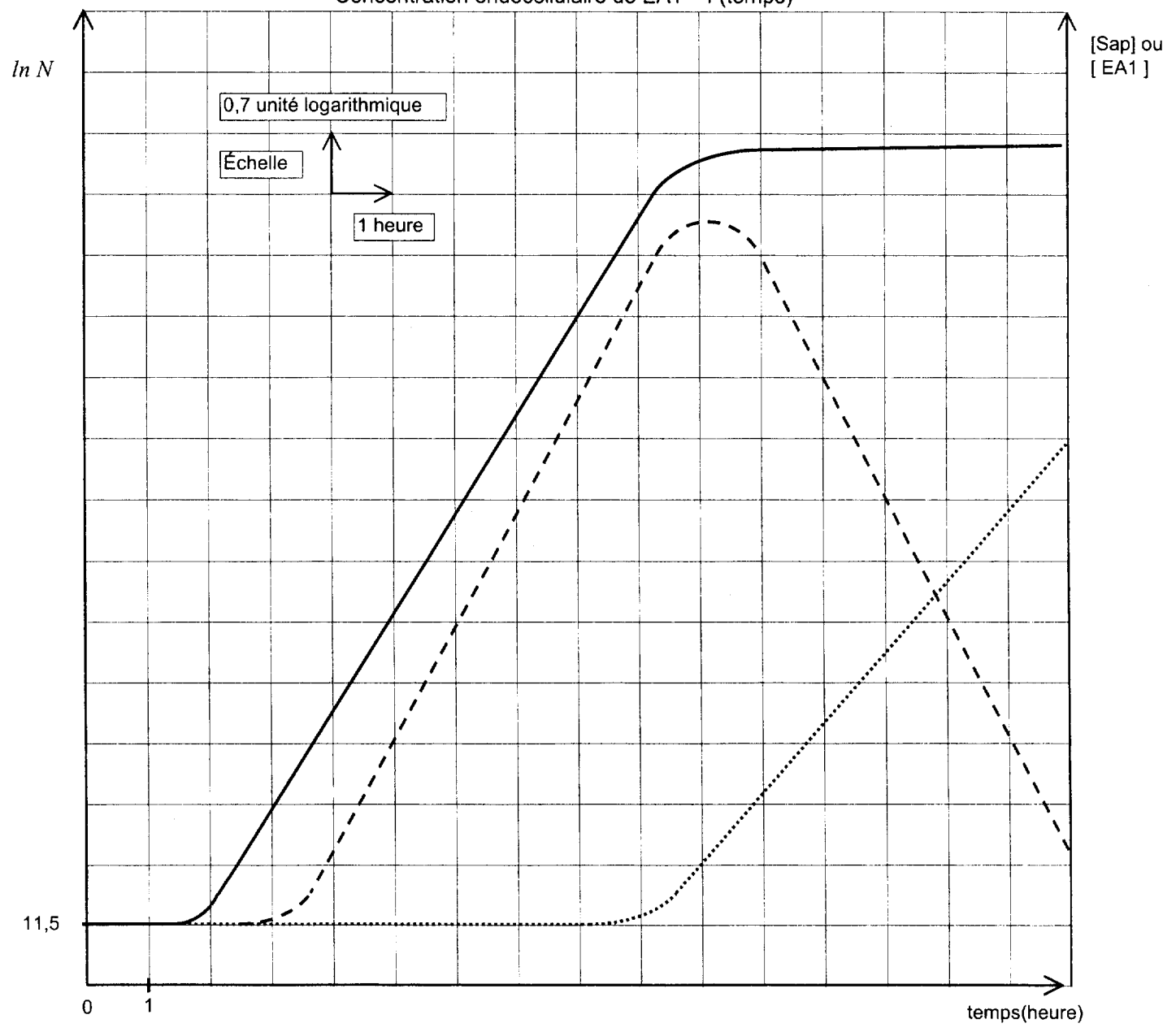
Repère : BCBIOCH SESSION 2005 Durée : 4 H

Page : 6/9 Coefficient : 6

DOCUMENT A RENDRE AVEC LA COPIE
DOCUMENT N°1

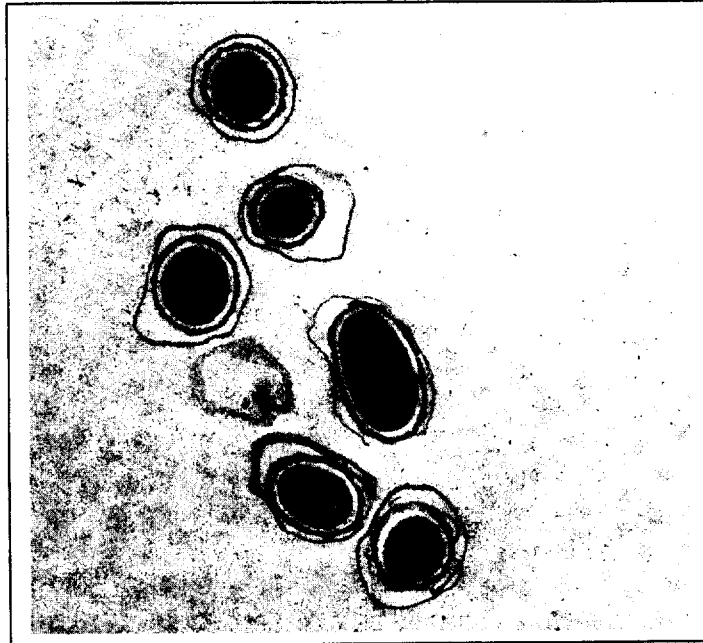
Etude de la croissance de *Bacillus anthracis* en milieu liquide non renouvelé

- $\ln N = f(\text{temps})$, avec N = nombre de bactéries/mL de milieu
- - - Concentration endocellulaire de Sap = f (temps)
- Concentration endocellulaire de EA1 = f (temps)



DOCUMENT N°2

Spores de *Bacillus anthracis* en microscopie électronique à transmission



Académie : _____ Session : _____

Examen ou Concours _____ Série* : _____

Spécialité/option* : _____ Repère de l'épreuve : _____

Épreuve/sous-épreuve : _____

NOM : _____

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms : _____ N° du candidat

Né(e) le : _____

(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

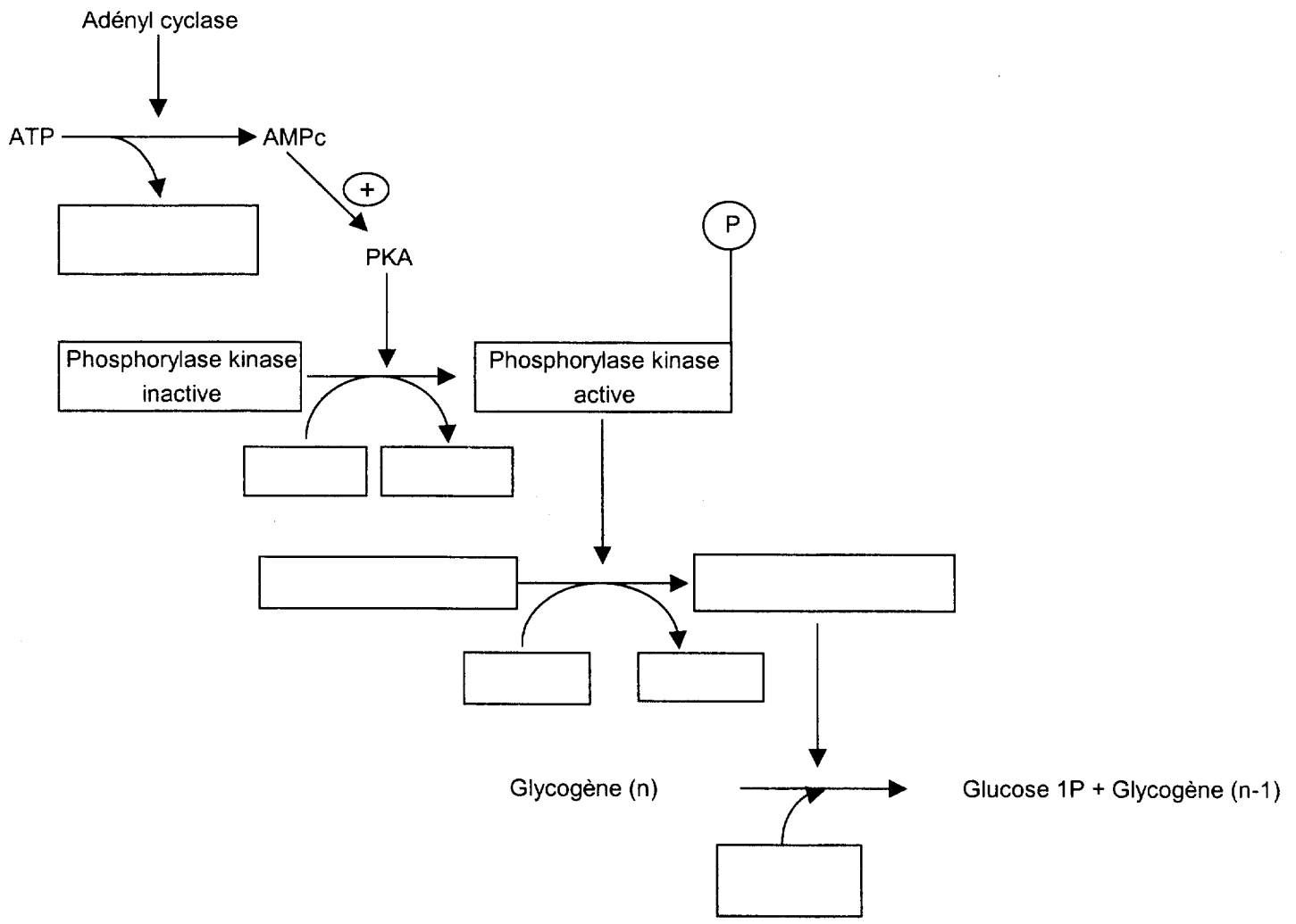
* Uniquement s'il s'agit d'un examen.

Repère : BCBIOCH SESSION 2005 Durée : 4 H

Page : 8/9 Coefficient : 6

DOCUMENT A RENDRE AVEC LA COPIE

DOCUMENT N°3



DOCUMENT N°4

