

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

Épreuve E3 - Unité U33

Biologie cellulaire et moléculaire et technologie d'analyse

CALCULATRICE INTERDITE

ÉPREUVE E3. UNITÉ U33**Biologie cellulaire et moléculaire et technologie d'analyse****LES VIRUS DE LA GRIPPE AVIAIRE
ET LES TESTS DE DÉPISTAGE SÉROLOGIQUES****Calculatrice non autorisée**

Les virus *influenza* de type A responsables de la grippe aviaire font l'objet d'une surveillance active depuis quelques années. En effet, ces virus dont le H5N1, ont provoqué le décès de quelques dizaines de personnes dans le monde. Ces personnes avaient eu des contacts étroits et répétés avec les volailles contaminées.

On se propose d'aborder le cycle du virus dans les cellules animales, ainsi que les tests permettant un sérodiagnostic et un suivi de la vaccination entreprise dans certains pays.

1 - Le virus *influenza* de la grippe aviaire. (32 points)**1.1 - Morphologie du virus *influenza*.**

Le virus *influenza* est un grand virus animal à ARN (-) simple brin dont la capsid protéique est elle-même incluse dans une enveloppe.

1.1.1 - Que signifie l'expression ARN (-) ?

1.1.2 - Le document 1 (à rendre avec la copie) présente une électronographie d'un virus *influenza* et son interprétation schématique. Légendez le schéma.

1.2 - Phase de pénétration du virus dans une cellule animale.

Les virus pénètrent dans la cellule hôte après adsorption grâce à un mécanisme d'endocytose par l'intermédiaire de récepteurs.

1.2.1 - Légendez le document 2 (à rendre avec la copie).

1.2.2 - Expliquez les différentes étapes de l'endocytose.

1.2.3 - Précisez le rôle des éléments 5 du document 1, dans la phase de pénétration du virus.

1.3 - Phase de décapsidation.

Une fois dans la cellule, le virus doit être décapsidé afin de libérer l'acide nucléique. Cela fait intervenir des organites cellulaires riches en enzymes.

1.3.1 - Quels sont ces organites ?

1.3.2 - Quel est le principal facteur déclenchant la libération de la ribonucléocapside dans le cytosol ?

1.4 - Phases précoce et tardive.

L'information génétique du virus *influenza* est constituée de 8 segments codant entre autres pour deux enzymes :

- une ARN polymérase ARN dépendante encore appelée transcriptase ;

- une ARN polymérase ARN dépendante encore appelée réplicase.

1.4.1 - Définir le rôle de chacune de ces deux enzymes.

1.4.2 - Définir les phases précoce et tardive.

1.4.3 - Certains des gènes tardifs codent pour les deux protéines de l'enveloppe virale. Ces protéines à destinée membranaire proviennent de la traduction d'ARNm au niveau des ribosomes du réticulum endoplasmique.

Donner les différentes étapes de la translocation de ces protéines à travers la membrane du réticulum endoplasmique.

1.5 - Maturation des protéines virales.

Les protéines virales subissent une maturation dans un organite cellulaire (élément A) présenté document 3.

1.5.1 - Titrez et légendez le document 3 (à rendre avec la copie).

1.5.2 - Quels types de modifications se réalisent dans cet organite ?

1.6 - L'exocytose des particules virales.

La voie d'exocytose constitutive permet d'acheminer les protéines de l'enveloppe jusqu'à la membrane plasmique de la cellule hôte.

1.6.1 - Préciser l'origine des vésicules d'exocytose.

Indiquer la caractéristique structurale qui permet l'intégration des protéines virales dans la membrane.

1.6.2 - Schématiser la phase de libération du virus dans le milieu extracellulaire en précisant la localisation des protéines virales. Légender.**2 - Sérodiagnostic de la grippe aviaire par précipitation. (15 points)**

Dans le cadre des enquêtes épidémiologiques annuelles, un plan d'échantillonnage a été élaboré afin de suivre la présence des virus dans 1 300 élevages en France. Des prélèvements sont réalisés sur les poulets et les canards par 8 laboratoires départementaux.

Dans un premier temps, des tests sérologiques sont réalisés. S'ils s'avèrent positifs, la recherche des virus est effectuée par culture sur œufs embryonnés et PCR (Polymerase Chain Reaction).

La recherche qualitative des anticorps anti-influenza aviaire de type A (H7N1 et H7N3) est réalisée par double immuno-diffusion en gélose.

2.1 - Donner le principe de cette méthode.**2.2 - L'analyse se réalise en deux étapes :**

Étape 1 : criblage (screening) pour rechercher les sérums positifs (+) vis-à-vis de l'antigène viral de type A (A+).

Étape 2 : confirmation des sérums + par confrontation aux réactifs de référence (antigène A + et antigène viral non pathogène (A-), sérum + et sérum de contrôle -) pour évaluer la spécificité de la réaction.

Douze sérums subissent le criblage. Les sérums + et douteux au criblage (étape 1) sont repris dans une étape de confirmation.

Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

2.2.1 - Interpréter les résultats du criblage.

Le résultat est rendu sous forme qualitative : négatif, positif ou douteux.

Conclure pour les sérums S1 à S12.

2.2.2 - Après observation des résultats des tests de confirmation, interpréter et conclure pour les sérums testés.**3 - Contrôle de la vaccination contre la grippe aviaire par méthode ELISA. (13 points)**

On peut utiliser la méthode ELISA pour contrôler l'évolution du taux protecteur des anticorps chez les animaux vaccinés.

3.1 - Que signifie ELISA ?**3.2 - Une étude a été conduite pour évaluer la limite de détection de 3 méthodes : l'inhibition de l'hémagglutination, la précipitation en gel d'agarose et le test ELISA.**

Les modalités de l'étude ainsi que les résultats sont mentionnés dans le tableau du **document 5**.

En exploitant les résultats du tableau, déterminer les deux méthodes présentant la limite de détection de la plus basse. Justifier.

3.3 - Pour mettre en œuvre le test ELISA, on utilise les réactifs présentés dans le **document 6.****3.3.1 - Réaliser un schéma légendé de l'édifice moléculaire présent dans la cupule du contrôle positif.**

Donner la composition qualitative de deux témoins négatifs.

Quel est le rôle de ces 3 contrôles ?

3.3.2 - Caractériser la réaction.

Donner deux avantages de cette méthode ELISA. Justifier la réponse.

DANS CE CADRE

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)

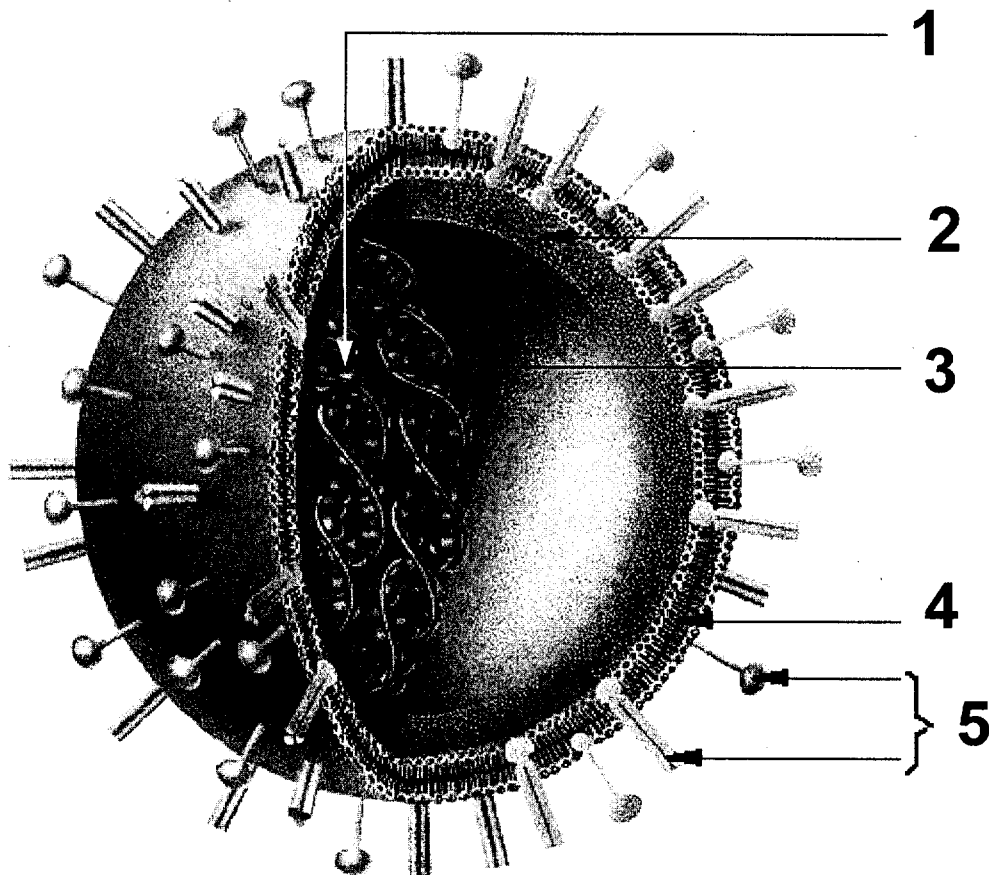
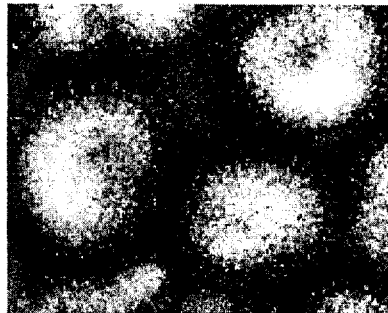
NE RIEN ÉCRIRE

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

Repère : BAE3BC SESSION 2007 Durée : 2 H
Page : 3/6 Coefficient : 3

DOCUMENT 1 :
MICROGRAPHIE DU VIRUS INFLUENZA (X 150 000)

(à rendre avec la copie)



DANS CE CADRE

NE RIEN ÉCRIRE

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 : BAE3BC

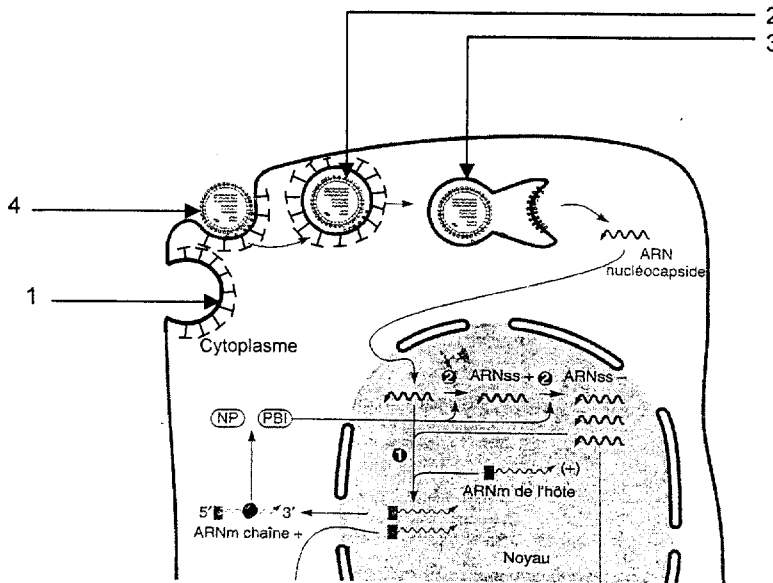
SESSION 2007

Durée : 2 H

Page : 4/6

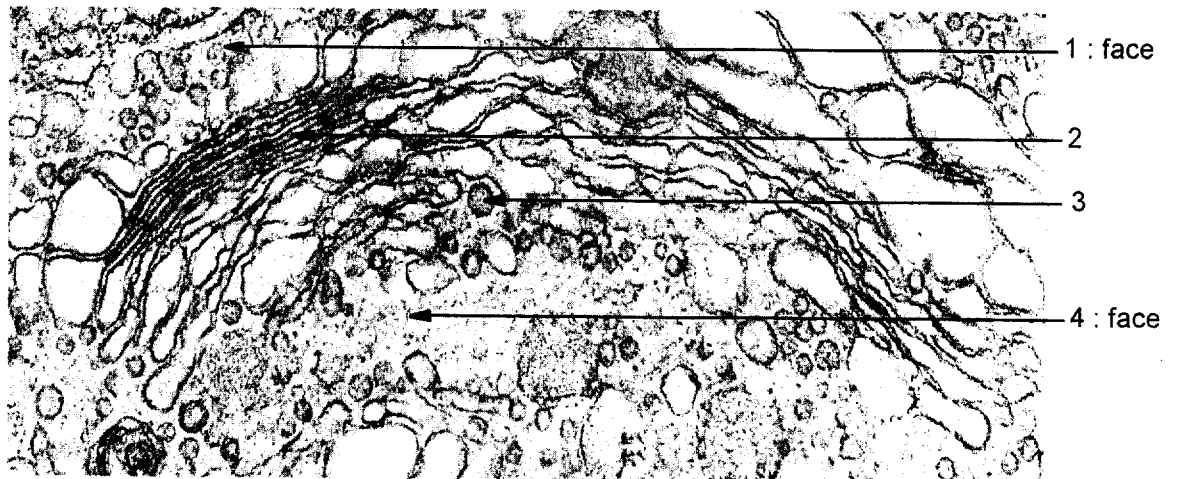
Coefficient : 3

DOCUMENT 2 :
REPRÉSENTATION SCHEMATIQUE DU CYCLE DE
MULTIPLICATION DU VIRUS INFLUENZA
 (à rendre avec la copie)



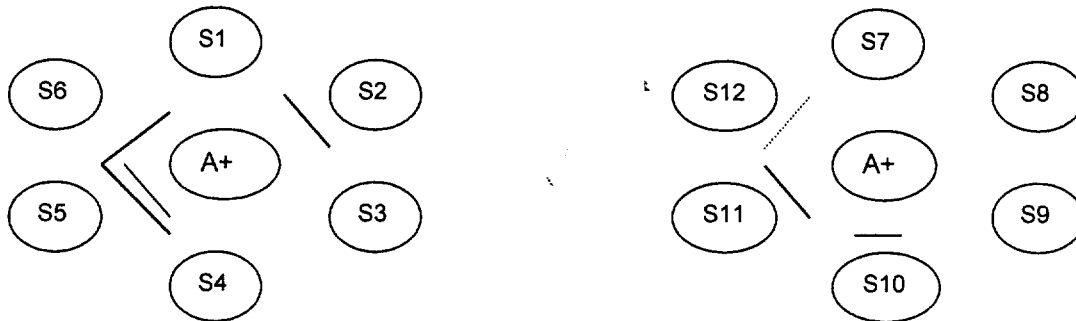
DOCUMENT 3 : MICROGRAPHIE DE L'ÉLÉMENT A (X 100 000)

(à rendre avec la copie)

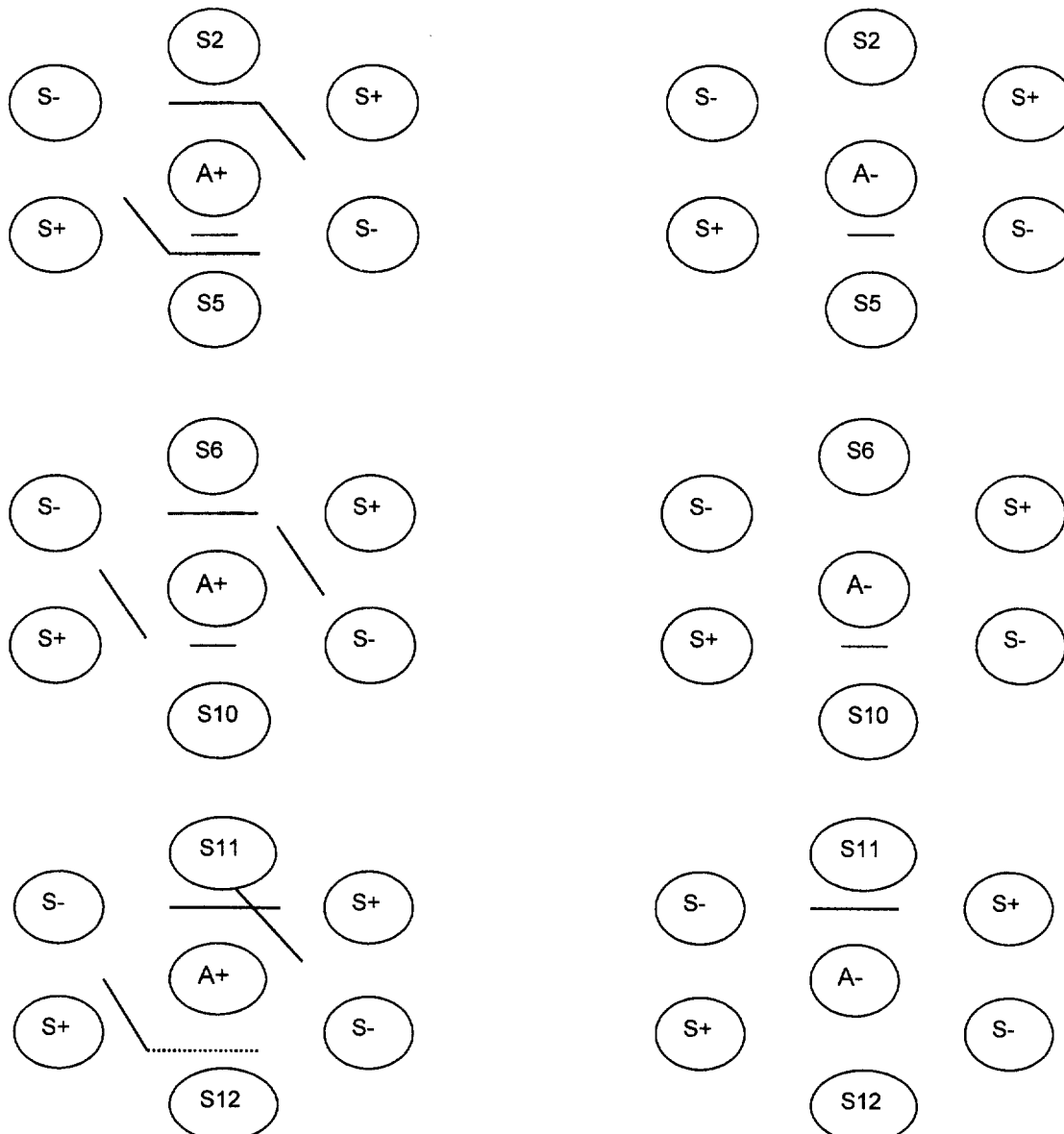


DOCUMENT 4 : RÉSULTATS DU TEST DE PRÉCIPITATION

Étape 1 : Criblage.



Étape 2 : Test de confirmation.



DOCUMENT 5 :**TEST DE SENSIBILITÉ**

A study was conducted to compare the relative sensitivity of the ELISA, hemagglutination inhibition (HI) and agar gel precipitin (AGP) tests. Four-week-old specific pathogen free (SPF) birds were divided into 4 groups. Group 1 was vaccinated with allantoic fluid (control), group 2 was vaccinated with a live H5N2 strain, and groups 3 and 4 were vaccinated with killed H5N2 AIV (Avian Influenza Virus). All birds were bled weekly and challenged at 21 days post-vaccination with a highly pathogenic H5N2 AIV strain. The relative agreement between the test methods is shown in the table below.

Percent positive results obtained by three serological methods

Days post challenge	Days post vaccination	Group 1 (Control)			Group 2 (Live vaccine)			Group 3 (Killed vaccine)			Group 4 (Killed vaccine)		
		Elisa	HI	AGP	Elisa	HI	AGP	Elisa	HI	AGP	Elisa	HI	AGP
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	14	0	0	0	100	100	100	22	0	55	44	0	77
0	21	0	0	0	100	100	100	44	0	55	77	33	77
7	28	70	100	100	100	100	100	88	100	100	88	88	100
14	35	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

DOCUMENT 6 :**RÉACTIFS DU TEST ELISA**

Reagents required to perform 90 tests :

- 1 AIV antigen coated plate
- 10 µL AIV Positive Control Serum
- 10 µL Normal Control Serum
- 100 µL Goat anti-Chicken IgG (H + L) Peroxidase Conjugate Solution
- 40 mL Dilution Buffer
- 10 mL ABTS-Hydrogen Peroxide Substrate Solution
- 2,5 mL 5X Stop Solution, 5% SDS (dilute [1:5] with laboratory grade water)
- 20 mL 20X Wash Solution (dilute [1:20] with laboratory grade water)