

CORRIGE

Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.

BTS QUALITÉ DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES ET LES BIO-INDUSTRIES

SESSION 2008

E3 – BIOCHIMIE – BIOLOGIE

LE NATTO

ÉLÉMENTS DE CORRECTION

1 BIOCHIMIE (37,5 points)

1.1. Les glucides du natto (6 points)

1.1.1. Glucide composé de plusieurs oses (1 point)

1.1.2. Exemple (1 point) ; structure (1 point).

1.1.3. 1 ose (1 point) ; sa structure (2 points).

1.2. Les filaments du natto (6 points)

1.2.1. Structure du glutamate (1 point). Le glutamate est un acide aminé acide (1 point).

1.2.2. Structure de l'acide polyglutamique (2 points).

Mise en évidence des liaisons peptidiques (1 point).

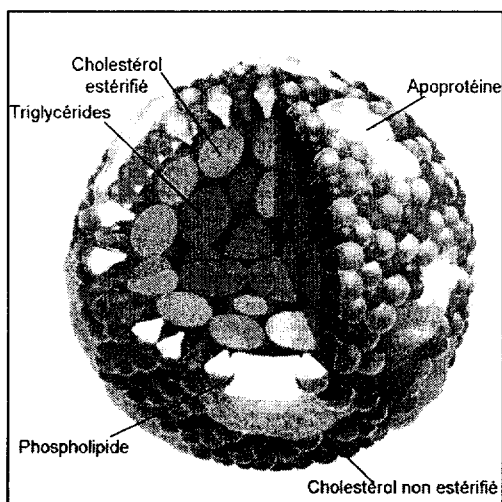
1.2.3. Les peptidases, et en particulier les endopeptidases, pourraient hydrolyser les liaisons peptidiques de tels matériaux (1 point).

1.3. Les protéines et les lipides du soja (8,5 points)

1.3.1. Acide aminé essentiel :

Acide aminé qui ne peut être synthétisé par l'organisme et qui doit être obtenu de l'alimentation. Chez, l'humain, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine sont toujours essentiels. L'histidine l'est seulement durant l'enfance et durant une grossesse (1 point pour la définition, 1 point pour un nom d'acide aminé essentiel).

1.3.2. Low Density Lipoprotéine (ou lipoprotéine de faible densité) (1 point).



1.3.3. Voir le schéma ci-contre (1 point pour apoprotéine, 2 points pour les lipides). Les phospholipides et le cholestérol libre ont une partie hydrophile, on les retrouve donc en surface de la LDL, ainsi que les apoprotéines. Les triglycérides et le cholestérol estérifié sont entièrement lipophiles, ils sont donc placés au centre de la lipoprotéine (2,5 points).

1.4. La nattokinase (17 points)

1.4.1. Caractérisation de l'enzyme

1.4.1.1 Les deux enzymes appartiennent à la même classe, sous classe, sous-sous classe, on peut en déduire qu'elles catalysent donc le même genre de réaction (2 points).

1.4.1.2. L'urokinase et la nattokinase sont des hydrolases (classe 3). Elles catalysent la rupture d'une liaison avec incorporation d'une molécule d'eau. (2 points). La liaison hydrolysée est une liaison peptidique (sous classe 4) (1 point). La sous sous classe représente le mécanisme catalytique : présence d'une sérine dans le site actif de l'enzyme. Activité endopeptidasique (2 points).

1.4.2. Calcul de l'activité

1.4.2.1. C.A.F.de NK = $(y+0,0083) / 0.127 = 2,9$ FU/mL (2 points)

activité fibrinolytique totale = $2,9 \times 250 = 725$ FU (2 points).

Conclusion : la gélule contient une activité fibrinolytique supérieure à celle indiquée par le fabricant (1 point)

1.4.2.2. A.S = $725 / 50 = 14,5$ FU/mg (2 points).

1.4.2.3. Taux de purification = AS du natto purifié/AS du natto entier = $14,5 \cdot 10^3 / 30 = 483$ fois purifié (1 point).

1.4.2.4. La quantité de natto à déguster au petit déjeuner est comprise entre $725 / 30 = 24,2$ g et $725 / 20 = 36,25$ g. (2 points).

2 MICROBIOLOGIE (37,5 points)

2.1. Caractères morphologiques (15 points)

2.1.1. Bacilles gram + droits extrémités carrées en chaînettes. (1 point)

2.1.2. Schéma de la paroi des gram + : (5 points) :

Titre : 1 point

Qualité du schéma : 1 point

Légende : mb cyto, paroi, peptidoglycane, acides teichoïques, milieu intracellulaire, milieu extracellulaire : 3 points

2.1.3. Ordre chronologique : C, A, B (1 point)

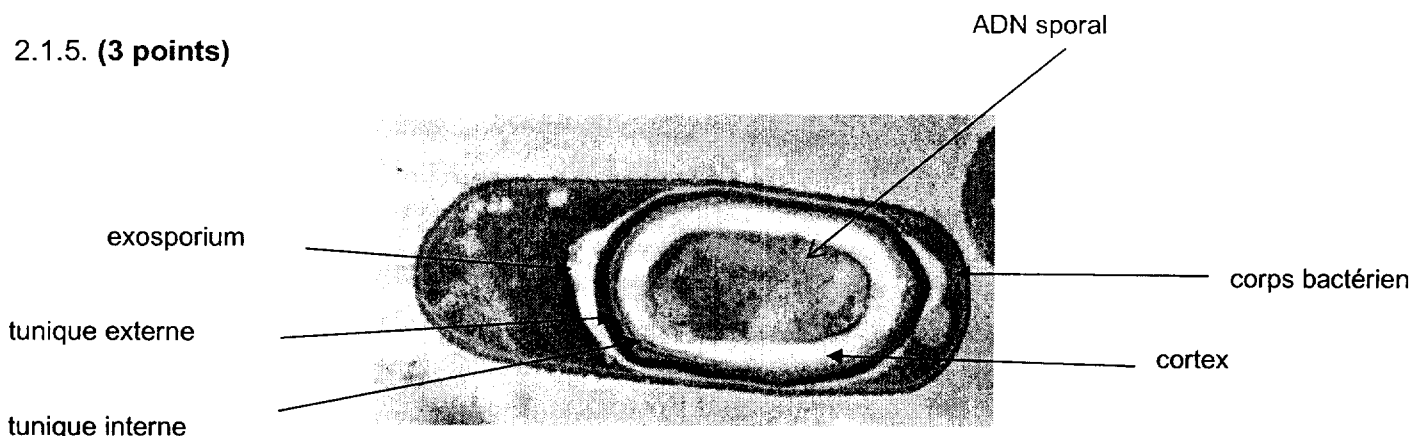
2.1.4. Différentes étapes (3 points)

C : début de sporulation : après formation d'un filament axial d'ADN, invagination de la membrane cytoplasmique pour individualiser la future préspore.

A : préspore en formation, contenant l'ADN sporal, donc toutes les informations génétiques de la bactérie, sporulation irréversible

B : endospore mûre : présentant toutes les structures nécessaires à sa survie.

2.1.5. (3 points)



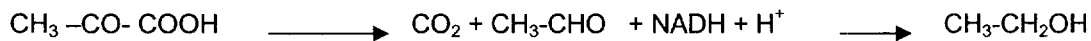
2.1.6. Coloration de Wirt-Konklin ou vert de malachite : (2 points)

Technique de coloration spéciale, utilisant le vert malachite et la chaleur pour forcer la pénétration du colorant à l'intérieur de la spore, et la safranine (fuchsine) pour comme colorant de contraste : les spores apparaissent vertes dans un corps bactérien rouge.

2.2. Propriétés métaboliques (7 points)

2.2.1. « fermentation » : processus peu énergétique, de dégradation de composés organiques, localisé dans le cytoplasme, ne faisant pas intervenir de chaîne cytochromique, et dans laquelle les électrons et les protons sont transférés à des accepteurs finaux qui sont des composés organiques (2 points)

2.2.2. Formation d'alcool à partir du pyruvate : (2 points)



2.2.3. (3 points)

La capsule est une structure facultative qui joue un rôle protecteur pour la bactérie, contre : la dessiccation, l'infection par les phages, la phagocytose par les macrophages : c'est un facteur de virulence.

2.3. Attaque phagique de *Bacillus natto* (15,5 points)

2.3.1. (4 points) Phage : (2 points) virus infectant les bactéries : particule acellulaire contenant un seul type d'acide nucléique, protégé dans une structure protéique appelée : capsid, présentant une symétrie cubique, hélicoïdale ou mixte, incapable de se multiplier en milieu acellulaire, de façon autonome, il utilise la machinerie cellulaire de la cellule infectée pour se multiplier.

Conséquences pour le natto : (2 points) la présence de phages va provoquer la lyse de *Bacillus*, immédiatement (phage virulent), ou en différé (phage tempéré) et le natto ne sera plus fabriqué.

2.3.2. (2,5 points)

A' : capsid

B' : acide nucléique

C' : queue ou gaine contractile

D' : plaque caudale ou spicules

(A'+ B') : nucléocapsid ou tête

2.3.3. Technique des plages de lyse (3 points)

Dépôt d'un volume connu du prélèvement à la surface d'un milieu préalablement inondé d'une suspension de germes spécifiquement sensibles aux phages à numérer; la destruction des bactéries par les phages se traduira, après incubation dans des conditions favorables, par l'apparition de plages de lyse dans le tapis bactérien : chaque plage de lyse correspondant à une « unité formant plage » : « UFP ».

2.3.4. Analyse des courbes : (6 points)

Courbes A concernant les phages Φ NIT1 :

Courbe 1 : *Bacillus* non capsulés : le nombre de phages obtenus augmente de façon globalement proportionnelle au temps : on passe de 10^4 UFP au temps 0 à 10^7 UFP au temps 2 heures puis 10^9 UFP après 5h d'incubation ;

Courbe 2 : *Bacillus* capsulés : courbe croissante de pente inférieure à la courbe 1 : le nombre d'UFP passe de 10^4 UFP à 10^7 UFP après 5h

Conclusion : les phages Φ NIT1 détruisent plus difficilement les *Bacillus* capsulés que les bactéries sans capsule ; la destruction permet de penser que les phages ont la possibilité de détruire la capsule, pour entrer en contact avec les récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne ; la différence de pente pourrait s'expliquer par le temps mis pour hydrolyser les polymères d'acide glutamique constituant la capsule.

Courbes B concernant les phages BS5 :

Courbe 3 : *Bacillus* non capsulés : courbe moyenne proportionnelle au temps mais de pente inférieure à celle de la courbe 1 , le nombre final après 5h est de 10^6 UFP donc les phages BS5 sont moins virulents vis-à-vis des *Bacillus* que les phages Φ NIT1 ;

Courbe 4 : *Bacillus* capsulés : la courbe est parallèle à l'axe des abscisses, ce qui traduit une absence de multiplication des phages BS5, ils ne peuvent donc infecter les bactéries capsulées : ils ne sont pas capables contrairement aux phages Φ NIT1, de synthétiser l'enzyme qui permet l'hydrolyse des polymères d'acide glutamique.

3 TOXICOLOGIE (25 points)

3.1. Production de toxine et processus d'intoxication (8 points)

3.1.1. (3 points)

- Mycotoxines.

- Facteurs favorisant leur apparition :

- Eléments contribuant au développement fongique : blessure de la plante, T° optimale, aérobiose, nature du substrat, disponibilité en eau.

- Eléments induisant la phase stationnaire (car métabolite secondaire) : épuisement du milieu, accumulation de déchets ...

3.1.2. (3 points)

Les trois phases du processus d'intoxication sont :

- La phase d'exposition : phase au cours de laquelle l'organisme est placé au contact de toxique. Elle concerne l'environnement, l'alimentation contenant le toxique et l'absorption du toxique.

- La phase toxico-cinétique : phase correspondant au devenir du toxique dans l'organisme. Elle concerne l'absorption, la distribution, la transformation métabolique et l'élimination du toxique.

- La phase toxico-dynamique : phase correspondant aux effets du toxique dans l'organisme. Elle concerne les interactions du toxique avec le tissu cible.

3.1.3. (2 points)

La transformation de la zéaralénone en zéaralénol est un phénomène de bioactivation qui a lieu pendant la phase toxico-cinétique.

3.2. Effets toxicologiques (17 points)

3.2.1. (2 points)

Les deux principaux effets à envisager sont la perturbation de la fonction de reproduction et l'effet anabolisant.

3.2.2. (4 points)

- La toxicité aiguë elle correspond à la pénétration dans l'organisme d'une dose de toxique unique et élevée. Cette toxicité se manifeste par une apparition précoce et brutale de troubles toxiques.

- Conditions expérimentales : La substance à tester est administrée en une seule fois. Plusieurs doses sont testées en concentrations croissantes sur des groupes homogènes d'animaux (des deux sexes, de même poids, même âge, métabolisant voisin de celui de l'homme).

- Ces études permettent de déterminer : Les signes d'intoxication, la dose létale 50 (qui provoque la mort de 50 % des animaux testés), les quantités limites à utiliser lors des autres études ; les organes cibles, les modes d'action et les risques induits par des expositions excessives accidentelles, la DMM (Dose minimale mortelle).

3.2.3. (4 points)

- Génotoxique : qui produit des mutations affectant le patrimoine génétique des organismes exposés.
- Cancérogène : qui induit la transformation de cellules normales en cellules malignes devenues immortelles, n'obéissant plus aux facteurs de régulation tissulaire et capables d'aller coloniser d'autres tissus (formation de métastases).
- On distingue :
 - les cancérogènes incomplets initiateurs qui créent des lésions du matériel génétique dans des cellules qui deviennent initiées
 - les cancérogènes incomplets promoteurs qui révèlent les lésions génétiques jusqu'alors non décelables. (Ils agissent au niveau de la membrane cellulaire et perturbent les mécanismes cellulaires de régulation de la transcription des gènes. Un autre mécanisme impliqué dans la promotion tumorale est la surproduction de radicaux libres oxygénés qui ne peuvent plus être éliminés par les procédés normaux.)
- Zéaralénone = cancérogène promoteur car dénuée d'effets génotoxiques.

3.2.4. (4 points)

- DJT : Dose Journalière Tolérable. C'est la dose susceptible d'être absorbée en une journée et par kilo de masse corporelle par un individu sans entraîner d'effets toxiques, même si l'absorption a lieu quotidiennement pendant toute la vie.
- le coefficient de sécurité est le facteur par lequel on va diviser la DES(H) obtenue grâce à un modèle animal pour obtenir la DJT applicable à l'ensemble de l'espèce humaine selon le principe de précaution. Il résulte de la multiplication de deux facteurs :
 - un facteur 10 pour tenir compte de l'extrapolation du modèle animal à l'homme (différence de sensibilité entre espèces)
 - un facteur 10 pour tenir compte des variations individuelles à l'intérieur de l'espèce humaine : état physiologique, état de nutrition, état sanitaire.
- $DJT = DSEH/100 = 0,5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$.

3.2.5. (2 points)

$LMR = 1000 (DJT \times \text{poids corporel})/\text{quantité ingérée} = 140 \mu\text{g}/\text{kg}$

3.2.6. (1 point)

Technique d'immunoenzymologie type ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).
Autre technique acceptée : Mancini (Immunodiffusion radiale)