

EPREUVE DE BIOCHIMIE-BIOLOGIE**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.

LES ANTIBIOTIQUES**PREMIERE PARTIE : BIOSYNTHESE DES ANTIBIOTIQUES (65 points)****1 - ASPECTS BIOCHIMIQUES (36 points)**

La griséofulvine, produit de la fermentation de la moisissure *Penicillium griseofulvum*, est un antibiotique provenant de la polymérisation d'unités acétyl. L'initiateur de cette biosynthèse est l'acétyl-coenzyme A.

1.1 Synthèse d'acétyl-CoA à partir d'acide pyruvique

1.1.1 Préciser la localisation cellulaire de cette transformation.

1.1.2 La réaction est catalysée par un complexe multi-enzymatique.

Ecrire sous forme chimique son équation globale et nommer le complexe multi-enzymatique.

Schématiser son mécanisme en décrivant les étapes intermédiaires ; justifier la notion de complexe multi-enzymatique.

1.1.3 La valeur de ΔG° de cette réaction est de $-33,44 \text{ kJ. mol}^{-1}$.

Donner la signification de cette grandeur thermodynamique en précisant les conditions de définition.

Interpréter le signe de cette grandeur.

Calculer la constante d'équilibre apparente K'_{eq} à 25°C et à pH 7. Conclure.

Donnée : $R : 8,32 \text{ J.mol}^{-1} . \text{K}^{-1}$

1.2 Synthèse cytoplasmique de griséofulvine par condensation d'unités acétyl

Les mécanismes et les enzymes responsables sont similaires à ceux intervenant dans la biosynthèse extra-mitochondriale des acides gras. (DOCUMENT I)

Etape A = carboxylation de l'acétyl-CoA.

Etape B = transfert de l'acétyl-CoA sur un complexe multi-enzymatique Enz - SH.

Etape C = transfert du malonyl-CoA sur le même complexe multi-enzymatique Enz - SH.

Etape D = condensation des unités acétyl.

1.2.1 Etape A

Ecrire la réaction chimique de carboxylation de l'acétyl-CoA, en précisant l'enzyme et les coenzymes qui interviennent.

1.2.2 Etape D

Etablir l'équation bilan pour la synthèse de la molécule A-COOH, précurseur de griséofulvine.

1.3 Régulation de cette biosynthèse

Le citrate est un activateur intervenant uniquement sur la vitesse maximale apparente de l'enzyme allostérique catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA.

Représenter, pour cette enzyme, l'allure des courbes théoriques suivantes :

- Vitesse initiale = $f([acétyl-CoA])$ en absence et en présence de citrate (graphe a).
- Vitesse initiale = $f([citrate])$ à concentration constante en acétyl-CoA (graphe b).

Commenter et analyser les courbes de ces deux graphes.

2 - BIOCONVERSIONS (11 points)

- 2.1 L'ampicilline, comme beaucoup d'antibiotiques utilisés actuellement, est un antibiotique semi-synthétique ; il est obtenu à partir de la pénicilline G, métabolite naturel de *Penicillium chrysogenum* (DOCUMENT II).

Définir ce qu'est un antibiotique semi-synthétique.

Rappeler à quelle famille d'antibiotique appartient l'ampicilline et préciser dans quel but cet antibiotique a été mis au point.

2.2 La transformation catalysée par la pénicilline-acylase peut être réalisée de deux façons :

- * par l'enzyme extraite et purifiée, utilisée sous forme immobilisée ;
- * par le micro-organisme entier, par exemple *Pseudomonas melanogenum*, en fermenteur.

Comparer ces deux procédés (avantages et inconvénients).

Quels sont les avantages recherchés dans l'immobilisation des enzymes ?

Citer une technique d'immobilisation d'enzyme.

3 - PRODUCTION INDUSTRIELLE (18 points)

3.1 Pour la plupart des micro-organismes producteurs d'antibiotiques, une source de carbone rapidement assimilable telle que le glucose exerce une action négative dénommée répression catabolique ou "effet glucose" sur la biosynthèse des antibiotiques. Représenter schématiquement le mécanisme de la répression catabolique glucidique.

3.2 Pour permettre une bonne production d'antibiotique, on substitue au glucose une source glucidique lentement métabolisée, telle que le saccharose, exerçant un "effet glucose" réduit.

Afin d'optimiser la production industrielle, une étude cinétique de la β -fructosidase est réalisée dans différentes conditions. Les résultats sont consignés (DOCUMENT III).

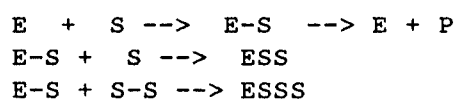
3.2.1 La vitesse initiale (v_i) de la réaction est mesurée en fonction de différentes concentrations de saccharose (S_0).

La figure I représente les courbes $\frac{1}{v_i} = f \frac{1}{[S_0]}$

- Courbe A : en l'absence d'effecteur
- Courbe B : en présence de glucose
- Courbe C : en présence de fructose

Analyser les influences respectives du glucose et du fructose sur la cinétique de la β -fructosidase.

3.2.2 Dans les solutions de concentrations élevées en saccharose, les molécules de saccharose s'associent entre elles par l'établissement de liaisons hydrogènes intermoléculaires. On aboutit à un schéma du type suivant :



E-S = complexe enzyme-substrat
S-S = dimère de saccharose
ESS et ESSS = formes inactives

- 3.2.2.1 On peut définir trois zones sur la courbe $v_i = f([S_0])$ représentée sur la figure II - Délimiter ces zones.

Indiquer pour chaque zone les différentes formes de l'enzyme totale et justifier le tracé obtenu.

A quel phénomène assiste-t-on ici ?

- 3.2.2.2 Déterminer le pourcentage d'enzyme efficace pour une concentration en saccharose de 1 mol. l^{-1} . Justifier le calcul et conclure.

DEUXIEME PARTIE : UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES (30 points)

Le chloramphénicol reste un antibiotique très employé dans la lutte contre la fièvre typhoïde.

1 - MECANISME D'ACTION DU CHLORAMPHENICOL (8 points)

Il se fixe au niveau du site amino-acyl de la grande sous-unité du ribosome bactérien.

Décrire à l'aide de schémas l'étape traductionnelle perturbée par la présence de cet antibiotique. Quelles en sont les conséquences pour la cellule bactérienne ?

2 - RESISTANCE AU CHLORAMPHENICOL (22 points)

- 2.1 Des épidémies dues à des *Salmonella typhi* multi-résistantes aux antibiotiques, dont le chloramphénicol, sont fréquemment rapportées.

Quels sont les éléments qui confèrent à certaines souches ce caractère de multi-résistance ?

Exposer succinctement leurs propriétés.

Donner les mécanismes biochimiques pouvant être utilisés par les bactéries pour exprimer leur résistance.

- 2.2 Traitement par le chloramphénicol : étude de l'activité in vitro.

On ensemence une série de tubes contenant le même milieu nutritif avec un inoculum de 10^5 *Salmonella typhi*. Les tubes ne diffèrent que par leur concentration en chloramphénicol. Après incubation convenable, les bactéries sont dénombrées. Les résultats sont représentés sur la courbe (DOCUMENT IV).

Définir et déterminer graphiquement la concentration minimale inhibitrice vis à vis de cette souche.

Comment évolue la concentration minimale inhibitrice chez une souche qui devient résistante ? Quelles en sont les conséquences thérapeutiques ?

Le chloramphénicol employé à fortes doses peut provoquer un choc endotoxinique. Pourquoi ?

TROISIEME PARTIE : ETUDE PHARMACOLOGIQUE D'UN ANTIBIOTIQUE (25 POINTS)

1 - Répartition dans l'organisme (8 points)

On injecte par voie intramusculaire 300 000 unités d'une solution aqueuse de pénicilline G (1 unité = 0,6 μg). Les résultats de l'étude de sa concentration plasmatique P chez un adulte à fonction rénale normale sont consignés dans le tableau suivant :

TEMPS (h)	p ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$)	log P
0,14	2,3	0,36
0,22	3,7	0,57
0,32	6,0	0,78
0,40	7,8	0,89
0,50	8,1	0,91
0,70	4,3	0,63
1,05	3,2	0,50
1,40	2,2	0,35
1,80	1,6	0,20

La courbe correspondante est représentée figure I (DOCUMENT V)

- 1.1 Délimiter les différentes phases de la courbe et commenter la pharmacocinétique de la répartition de l'antibiotique dans l'organisme.
- 1.2 Calculer la demi-vie d'élimination.
- 1.3 En cas d'utilisation du probénicide, qui diminue l'excrétion rénale de la pénicilline, la demi-vie d'élimination de celle-ci est de 4 heures. Comment peut-on adapter la posologie de l'antibiotique ? Justifier la réponse.

2 - Elimination (17 points)

La pénicilline est totalement excrétée au niveau rénal sans processus de modification moléculaire ; une faible partie est librement filtrée au niveau du glomérule, la plus grande partie est sécrétée au niveau du tubule.

- 2.1 Légender la figure II du DOCUMENT V.
- 2.2 La figure III présente les différents mécanismes (symbolisés par les flèches) qui interviennent lors de l'élimination urinaire des substances A, B, C ; nommer ces mécanismes pour A, B, C.

En complétant le schéma D, représenter ceux intervenant pour la pénicilline G.

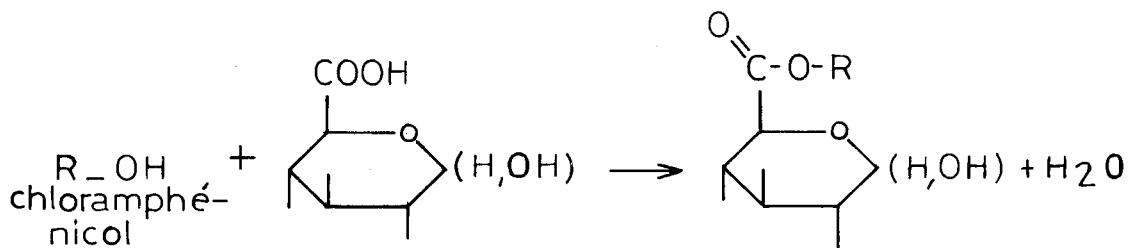
2.3 Connaissant les mécanismes d'élimination de la pénicilline G, représenter sur un même graphique :

- son débit de filtration glomérulaire en mg.min^{-1}
 - son débit de sécrétion tubulaire en mg.min^{-1}
 - son débit d'élimination urinaire en mg.min^{-1}
- en fonction de sa concentration plasmatique P en mg.ml^{-1}

Noter sur le graphique le taux maximum de sécrétion tubulaire (T_m) ainsi que la concentration plasmatique minimale correspondante.

Par quel type de transport la pénicilline G est-elle sécrétée ? Justifier la réponse.

2.4 - D'autres antibiotiques tels que le chloramphénicol, subissent avant élimination, la transformation suivante :



2.4.1 Où s'effectue cette réaction dans l'organisme ?

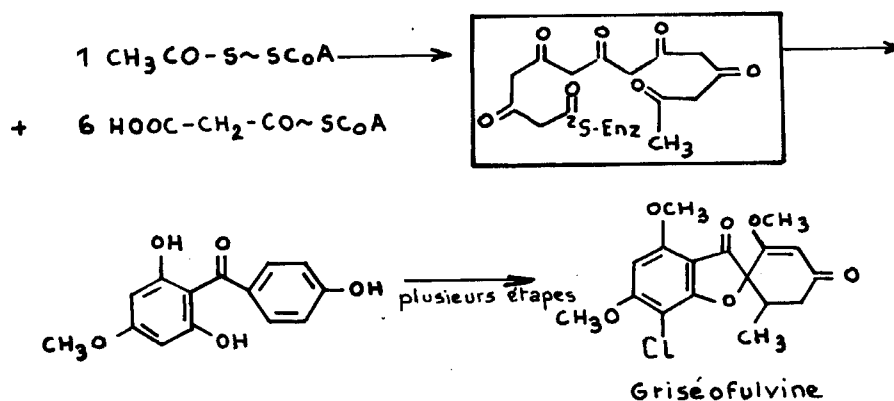
2.4.2 De quel type de bio-transformation s'agit-il ?

Sous cette forme, que deviennent les propriétés pharmacodynamique et pharmacocinétique de l'antibiotique ?

DOCUMENT I

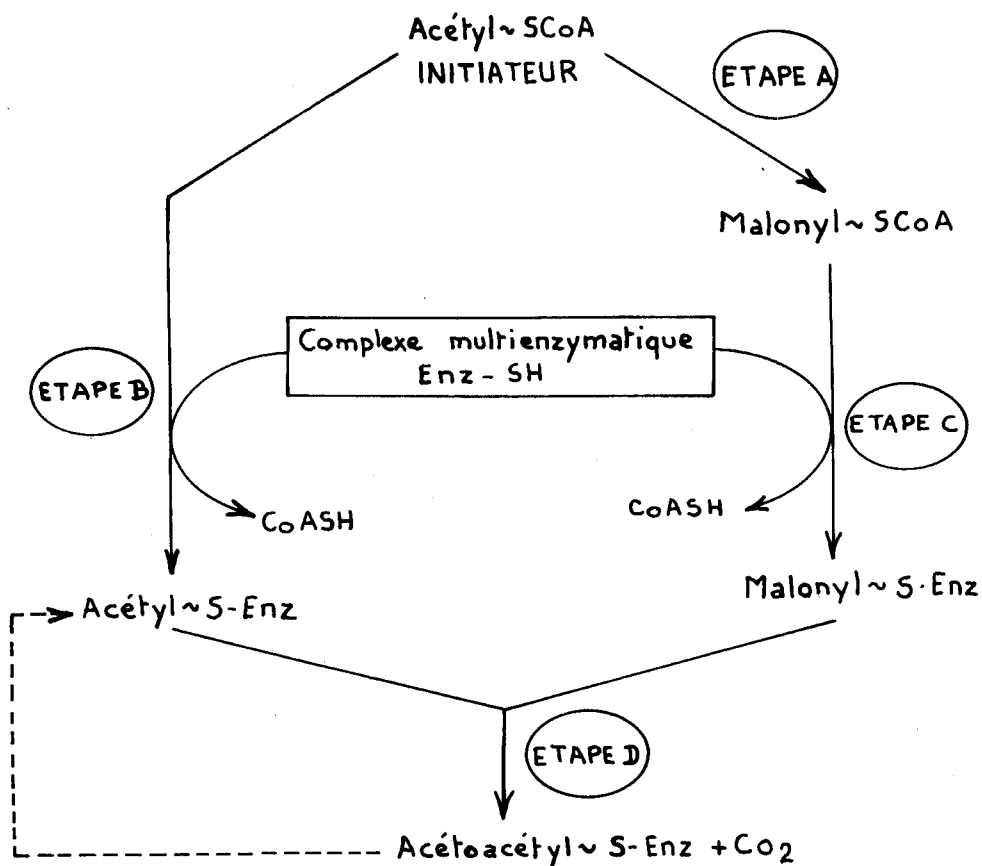
Biosynthèse de GRISEOFULVINE

1- Schéma général

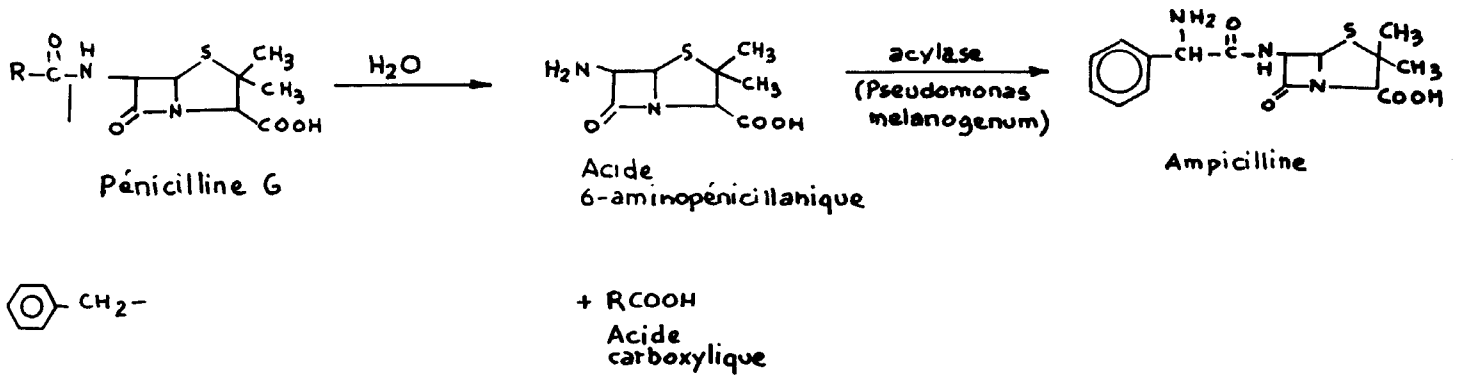


Légende  3,5,7,9,11,13-hexaoxotétradécanoyl $\sim$ S-Enz
noté A-C $\sim$ S-Enz

2- Condensation d'unités acétyl



DOCUMENT II



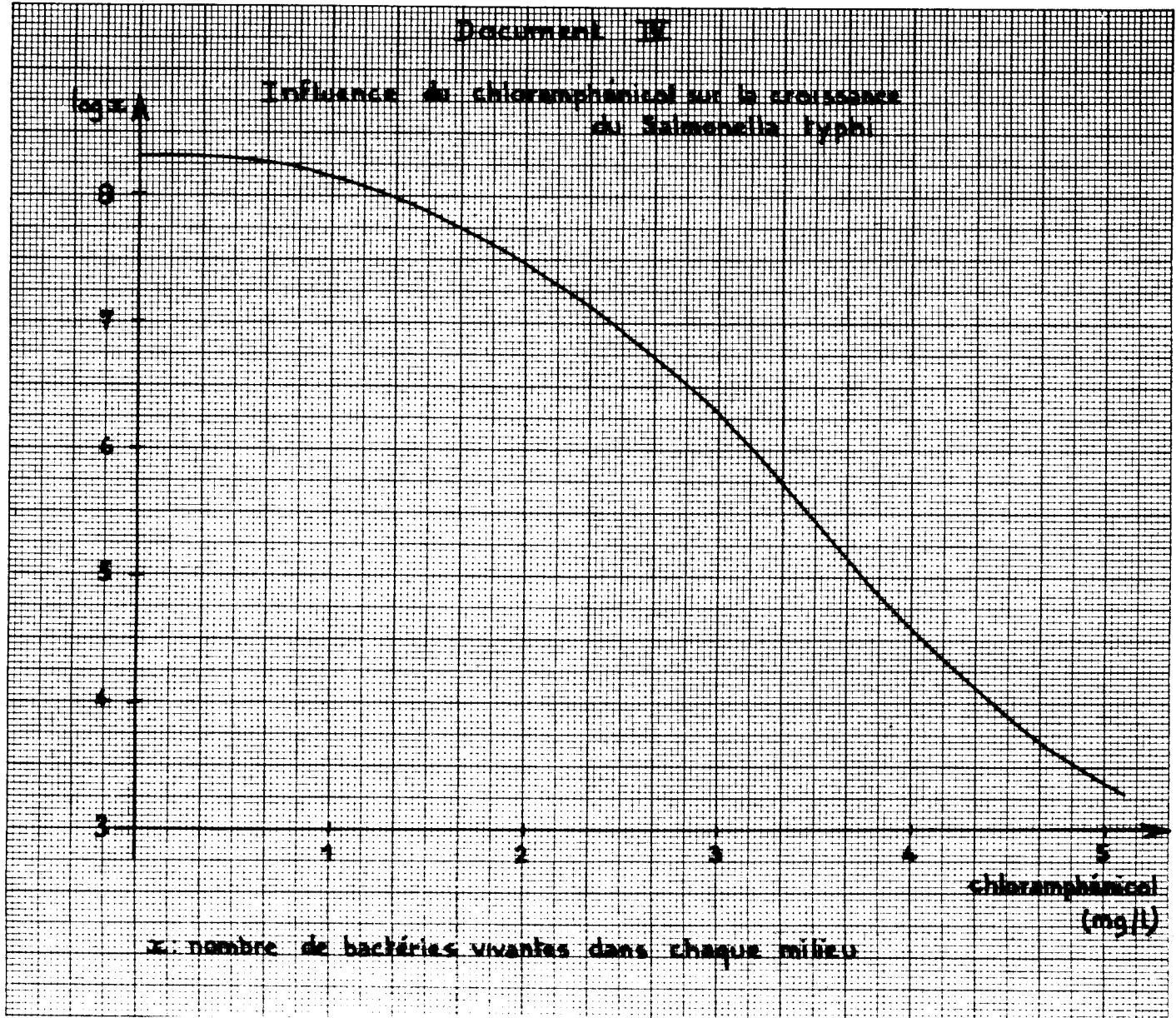
Document III

Influence du chloramphénicol sur la croissance du *Salmonella typhi*

log x

chloramphénicol
(mg/l)

x : nombre de bactéries vivantes dans chaque milieu



$$\frac{1}{v_i} (s^{-1})$$

Figure I : Etude cinétique de la β -fructosidase

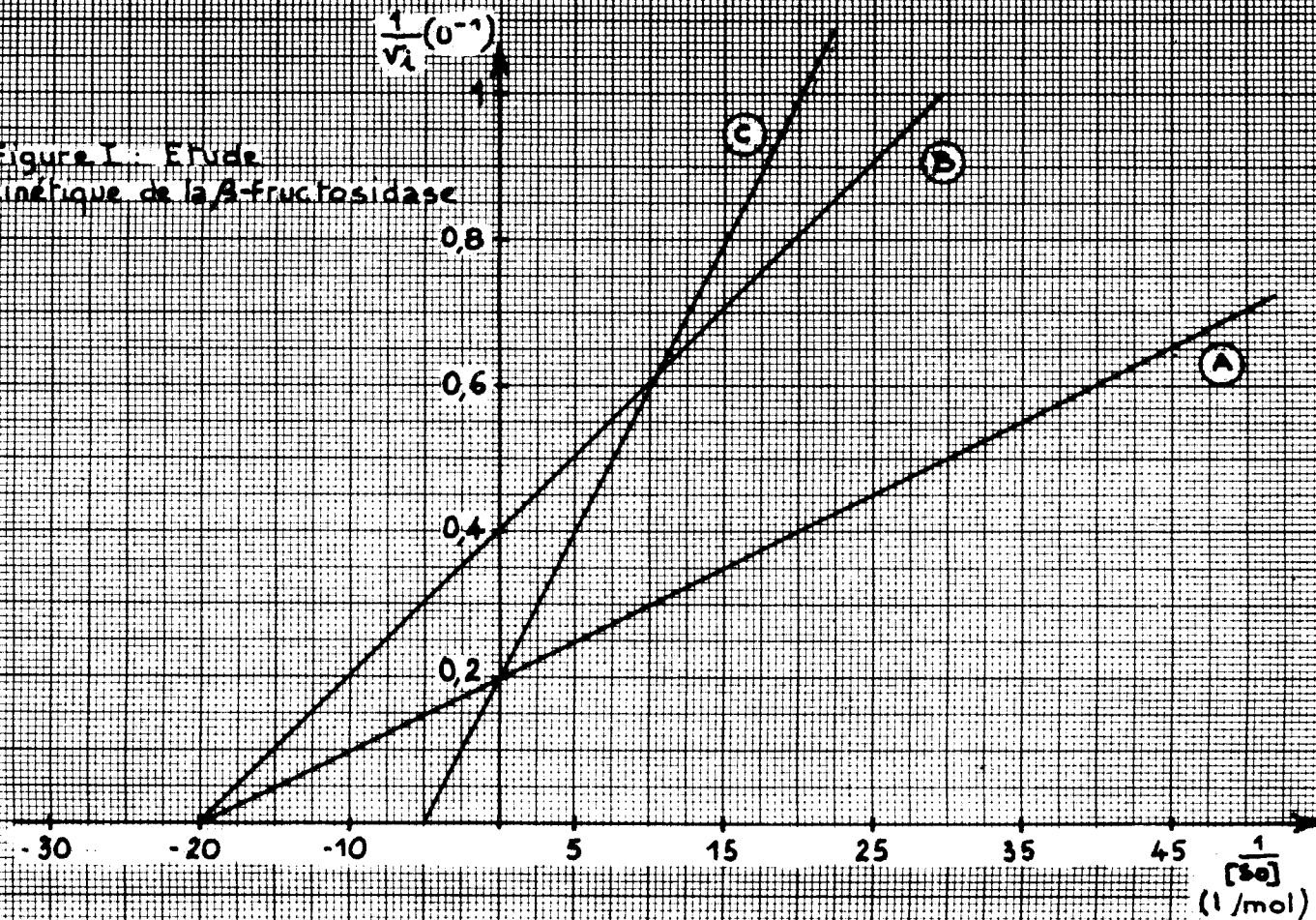
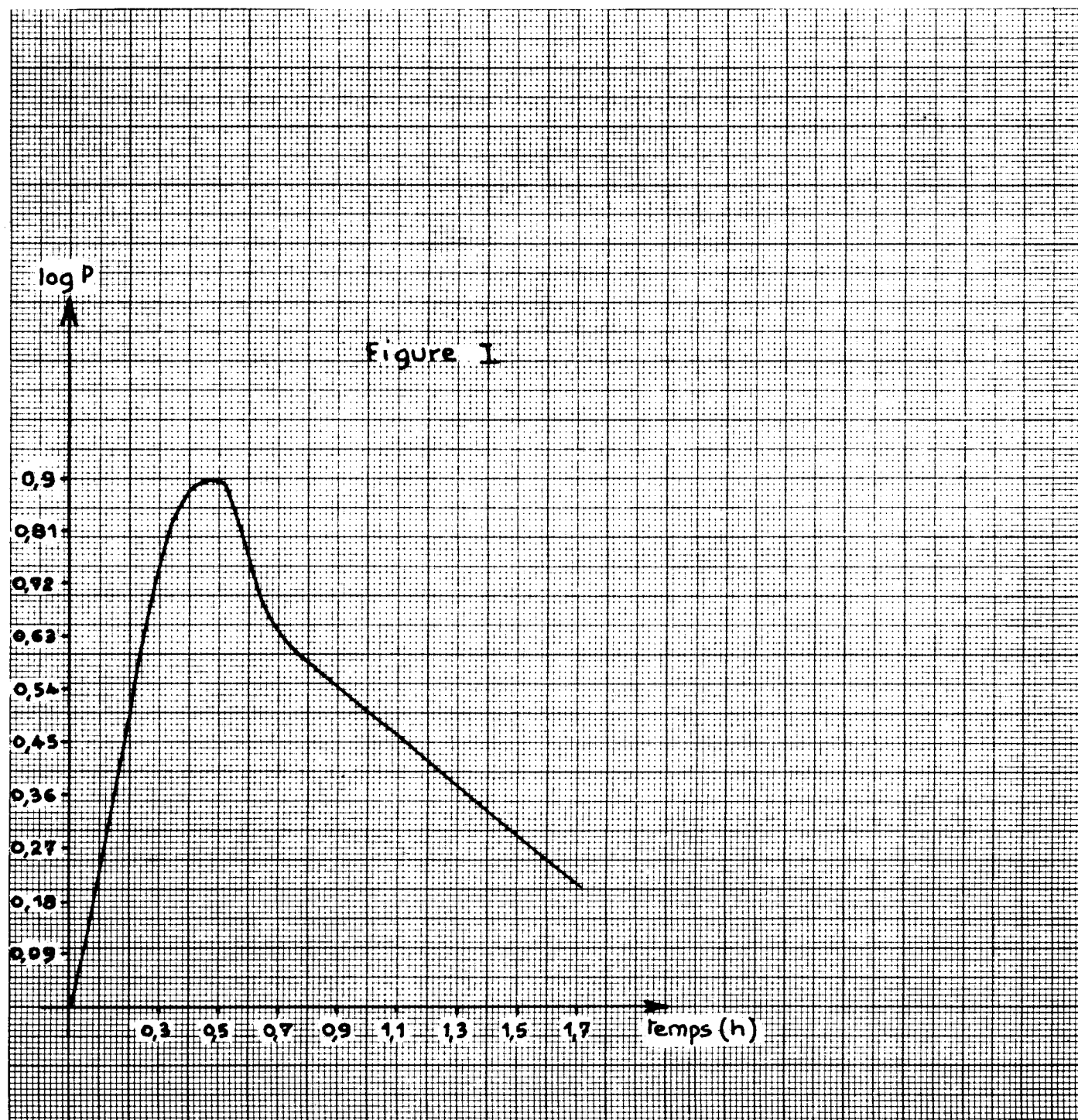


Figure II : Influence de la concentration en substrat



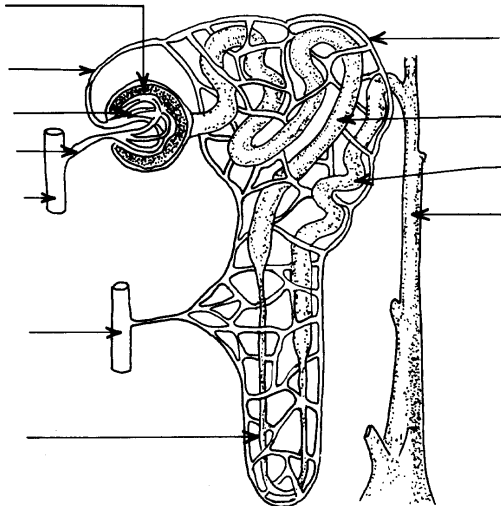
DOCUMENT V



DOCUMENT V

A COMPLETER ET A RENDRE AVEC LA COPIE

Figure II



NE RIEN ÉCRIRE ICI

Concours
ou
Examen

Section
ou Spécialité :
ou Option (éventuellement)

NOM :
(en majuscules)

Prénoms :

Académie d'inscription : N° d'inscription :

Nature ou repère de l'épreuve :

Figure III

