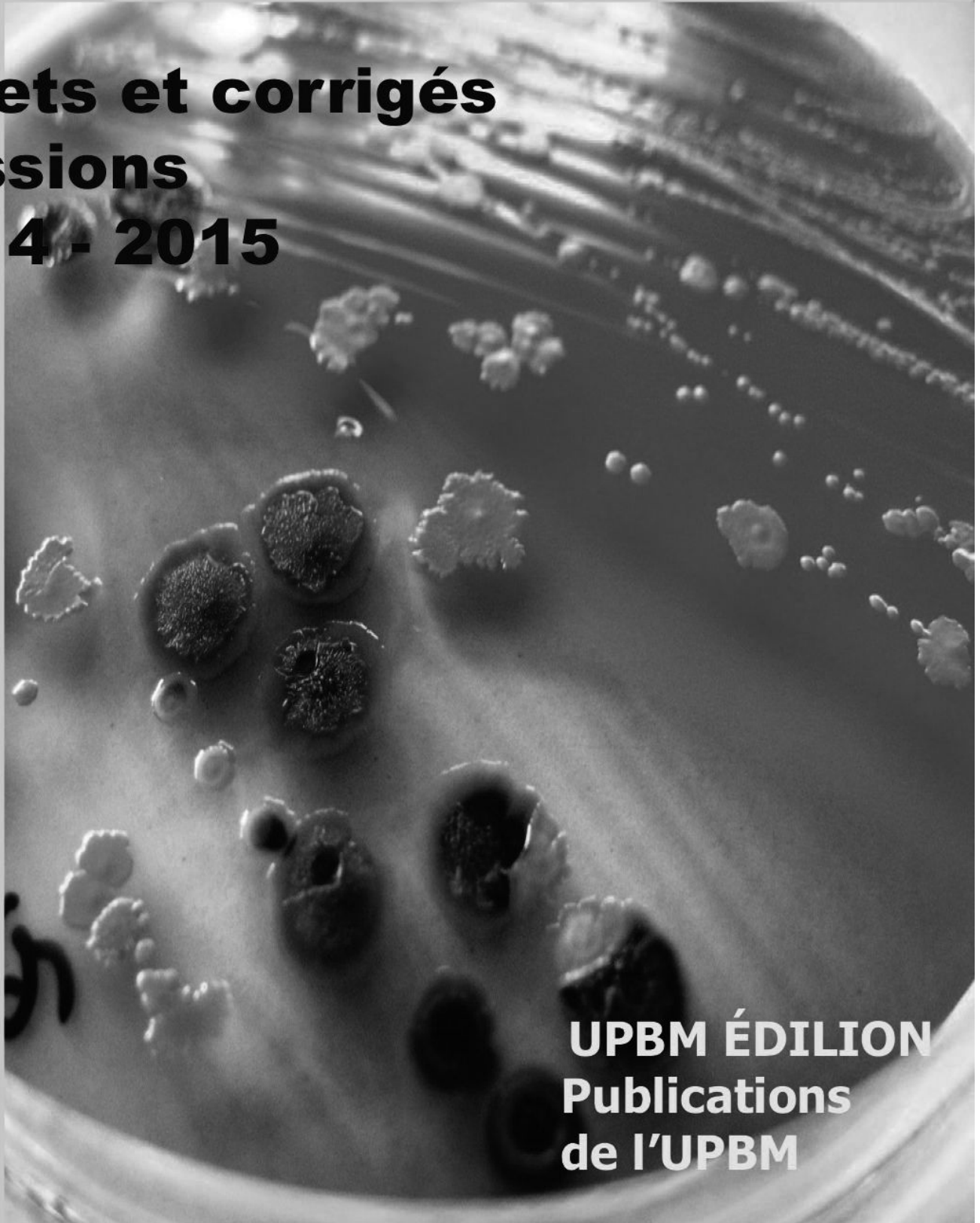


Brevet de technicien supérieur

**Analyses de
biologie médicale**

**Sujets et corrigés
Sessions
2014 - 2015**



**UPBM ÉDILION
Publications
de l'UPBM**

Les Annales du BTS Analyses de biologie médicale et les corrigés ont été réalisés notamment par Jean-Paul BRUNET, Ghislaine CHAMPION (Cachan), Christel CHATELAIS (Toulouse), Cédric CIVEL, Anne COLIN (Rezé), Marie COLONNA (Rezé), Jean-Michel DAGOURY (Rezé), Philippe DURIS (Rezé), Antoine GAUDIN (Saint Denis), Jean-Noël JOFFIN, Claire MOTTET (Rezé), Alain PIERROT (Rezé), Isabelle PIVETEAU (Rezé)

Françoise DUMOULIN et Caroline PLATROZ (Lyon) en assurent la diffusion.

Nous tenons à remercier Monsieur Philippe GARNIER, IA-IPR qui nous a adressé sous forme numérisée les énoncés de plusieurs sujets facilitant ainsi la mise en page de ces annales

Rappelons que l'ensemble du travail réalisé est bénévole.

Photographies de couverture :

milieu Hektoen et d'un œuf de trichocéphale au travers de l'oculaire gradué
(photographies de Cédric CIVEL)

ISBN 978-2-910069-75-9



Annales du BTS

Analyses de biologie médicale (ABM)

Nous avons rassemblé dans ces annales les sujets de la session 2014 et 2015 du BTS ABM.

À la suite de la demande des utilisateurs, nous avons ajouté des corrigés partiels de différentes épreuves. Ces corrigés n'ont pas de caractère officiel et existent grâce à la bonne volonté de quelques professeurs : des erreurs risquent de subsister.

Pour compléter ce dispositif, le cas échéant, des corrections des erreurs ou de nouveaux corrigés pourront être consultés sur :

<http://www.upbm.org>

De plus, d'anciennes annales sont téléchargeables sur ce site.

Vous pourrez transmettre vos commentaires par courriel à :

jpaubrunet@wanadoo.fr ou jnjoffin@wanadoo.fr

Sommaire

Annales du BTS Analyses de biologie médicale (ABM)	3
Définition de la nature des épreuves	5
SESSION 2014	11
E2-U21 Mathématiques 2014	11
E3 Sciences physiques et chimiques 2014	15
E41 Biochimie 2014	21
E42 Microbiologie 2014	31
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2014	41
E5 Analyses de Biologie Médicale 2014	45
E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2014	45
E5-U52 Analyses de microbiologie médicale 2014	51
E5-U53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales 2014	55
SESSION 2015	59
E2-U21 Mathématiques 2015	59
E3 Sciences physiques et chimiques 2015	63
E41 Biochimie 2015	71
E42 Microbiologie 2015	81
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2015	89
E5 Analyses de Biologie Médicale 2015	95
E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2015	95
E5-U52 Analyses de Microbiologie médicale 2015	101
E5-U53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales 2015	112
Éléments de corrigés	115
SESSION 2014	116
E2 Mathématiques 2014 corrigé	116
E3 Sciences physiques et chimiques 2014 corrigé	119
E41 Biochimie 2014 corrigé	121
E42 Microbiologie 2014 corrigé	127
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2014 corrigé	132
SESSION 2015	138
E2 Mathématiques 2015 corrigé	138
E3 Sciences physiques et chimiques 2015 corrigé	142
E41 Biochimie 2015 corrigé	144
E42 Microbiologie 2015 corrigé	149
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2015 corrigé	153

Définition de la nature des épreuves

RÈGLEMENT D'EXAMEN

Le tableau indique les différentes épreuves théoriques ou pratiques.

BTS Analyses de biologie médicale			Voie scolaire dans un établissement public ou privé sous contrat, voie de formation professionnelle continue dans un établissement public habilité, voie de l'apprentissage dans un établissement habilité		Formation professionnelle continue dans un établissement public habilité		Voie scolaire dans un établissement privé hors contrat, voie professionnelle continue dans un établissement non habilité, voie de l'apprentissage dans un établissement public non habilité ou une section d'apprentissage non habilitée, voie de l'enseignement à distance	
Épreuves	Unités	Coef	Forme	Durée	Forme	Durée	Forme	Durée
E1 Langue vivante étrangère	U1	2	CCF 2 situations d'évaluation		CCF 2 situations d'évaluation		CCF 2 situations d'évaluation	
E2 Mathématiques	U2	1	Ponctuelle écrite	2 h	CCF 2 situations d'évaluation		Ponctuelle écrite	2 h
E3 Sciences physiques et chimiques	U3	2	Ponctuelle écrite	2 h	CCF 2 situations d'évaluation		Ponctuelle écrite	2 h
E4 Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale		6			CCF			
E41 Biochimie	U41	2	Ponctuelle écrite	3 h	2 situations d'évaluation	3 h	Ponctuelle écrite	3 h
E42 Microbiologie	U42	2	Ponctuelle écrite	3 h	2 situations d'évaluation	3 h	Ponctuelle écrite	3 h
E43 Hématologie Anatomopathologie Immunologie	U43	2	Ponctuelle écrite	2 h	2 situations d'évaluation	2 h	Ponctuelle écrite	2 h
E5 (EPS) Analyses de biologie médicale		7	CCF	12 h max	CCF	12 h max		12 h max
E51 Analyses de biochimie médicale	U51	2,5	2 situations d'évaluation	4 h max	2 situations d'évaluation	4 h max	Ponctuelle pratique	4 h max
E52 Analyses de microbiologie médicale	U52	3	2 situations d'évaluation	6 h max	2 situations d'évaluation	6 h max	Ponctuelle pratique	6 h max
E53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales	U53	1,5	2 situations d'évaluation	3 h max	2 situations d'évaluation	3 h max	Ponctuelle pratique	3 h max
E6 Soutenance de rapport de stages	U6	3	Ponctuelle orale	45 min	CCF	45 min	Ponctuelle orale	45 min
Épreuve facultative : langue vivante étrangère	UF1	1*	Ponctuelle orale	20 min	CCF	20 min	Ponctuelle orale	20 min

* Seuls les points au dessus de la moyenne sont pris en compte.

Pour être déclaré reçu, sachant qu'il n'y a qu'un tour, il suffit d'avoir la moyenne, soit 210 points.

Aucune absence n'est admise.

Concernant la langue vivante obligatoire, de nombreuses langues sont possibles : *anglais, allemand, portugais, espagnol, arabe, polonais...* De plus, il est possible de passer en facultatif une autre langue vivante étrangère.

Un jury examine les résultats obtenus puis décide éventuellement du rattrapage : en fonction du dossier scolaire, des candidats ayant moins de 10/20 sont amenés à 10/20 et sont donc alors déclarés admis.

Définition des épreuves

E1 Langue Vivante Étrangère

Objectifs

L'épreuve a pour but d'évaluer

la compréhension de la langue écrite : Il s'agit de vérifier la capacité du candidat à exploiter des textes et/ou des documents de nature diverse, à caractère professionnel, en évitant toute spécialisation ou difficulté technique excessive ;

l'expression écrite en langue étrangère : Il s'agit de vérifier la capacité du candidat à s'exprimer par écrit dans la langue étrangère choisie, de manière intelligible, à un niveau acceptable de correction.

L'usage du dictionnaire bilingue est autorisé.

Les supports éviteront toute spécificité excessive mais traiteront de sujets qui, bien que généraux, seront susceptibles d'intéresser les STS Analyses de biologie médicale

Formes de l'évaluation

- **Contrôle en cours de formation**

L'unité de langue étrangère est constituée de deux situations d'évaluation, de pondération identique, correspondant aux deux compétences: compréhension de langue étrangère écrite et expression en langue étrangère écrite.

Première situation d'évaluation : compréhension de la langue étrangère écrite

Durée 1h, coefficient 1

La compréhension de langue étrangère écrite sera évaluée à partir d'un ou deux supports liés à la pratique professionnelle, par le biais de comptes-rendus, réponses à des questions factuelles, rédigés en français ou en anglais, traductions...

Le candidat devra faire la preuve qu'il est capable de repérer des informations, les mettre en relation, les hiérarchiser.

Deuxième situation d'évaluation : expression en langue étrangère écrite

Durée 1h, coefficient 1

La capacité à s'exprimer en langue étrangère par écrit sera évaluée au moyen de : la production de notes, la rédaction de résumés ou de présentation de supports proposés, la rédaction de comptes rendus de supports proposés, la rédaction de messages.

Le candidat devra montrer qu'il est capable de : mémoriser, mobiliser des acquis, reformuler, combiner les éléments linguistiques acquis en énoncés pertinents et intelligibles, utiliser correctement et précisément des éléments linguistiques contenus dans le programme de seconde.

E2 Mathématiques

Finalités et objectifs de l'épreuve de mathématiques

Cette épreuve a pour objectifs :

- d'apprécier la solidité des connaissances des étudiants et leur capacité à les mobiliser dans des situations variées ;

- de vérifier leur aptitude au raisonnement et leur capacité à analyser correctement un problème, à justifier les résultats obtenus et apprécier leur portée ;

- d'apprécier leurs qualités dans le domaine de l'expression écrite et de l'exécution soignée de tâches diverses (modélisation de situations réelles, calculs avec ou sans instrument, tracés graphiques).

Il s'agit donc d'évaluer les capacités des candidats à :

- posséder les connaissances figurant au programme ;

- utiliser des sources d'information ;

- trouver une stratégie adaptée à un problème donné ;

- mettre en oeuvre une stratégie :

* mettre en oeuvre des savoir-faire mathématiques spécifiques à chaque spécialité,

* argumenter,

* analyser la pertinence d'un résultat ;

- communiquer par écrit, voire oralement.

Formes de l'évaluation

- **Ponctuelle : épreuve écrite, durée 2 h, coefficient 1**

Les sujets comportent des exercices de mathématiques portant sur des parties différentes du programme et qui devront rester proches de la réalité professionnelle.

L'épreuve porte à la fois sur des applications directes des connaissances du cours et sur leur mobilisation au sein de problèmes plus globaux.

Il convient d'éviter toute difficulté théorique et toute technicité mathématique excessives. La longueur et l'ampleur du sujet doivent permettre à un candidat moyen de traiter le sujet et de le rédiger posément dans le temps imparti.

L'utilisation des calculatrices pendant l'épreuve est définie par la circulaire N° 86-228 du 28 juillet 1986 (BO N° 34 du 2 octobre 1986).

En tête des sujets doivent figurer les deux rappels suivants :

- la clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies ;

- l'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé.

- **Contrôle en cours de formation**

Il comporte deux situations d'évaluation, chacune comptant pour la moitié de la note attribuée à l'épreuve. Le niveau d'exigence doit être identique pour le contrôle en cours de formation et pour l'épreuve ponctuelle.

Ces situations d'évaluation, situées respectivement au cours des deuxième et troisième trimestres de la deuxième année, respectent les points suivants :

- ces évaluations sont écrites, la durée de chacune est voisine de celle correspondant à l'évaluation ponctuelle ;

- les situations d'évaluation comportent des exercices de mathématiques recouvrant une part très large du programme.

Dans chaque spécialité, les thèmes mathématiques mis en jeu portent principalement sur les chapitres les plus utiles pour les autres enseignements.

Lorsque ces situations d'évaluation s'appuient sur d'autres disciplines, aucune connaissance spécifique à ces disciplines considérées ne sera exigée.

E3 Sciences physiques et chimiques

Objectifs

L'évaluation des sciences physiques et chimiques a pour objet :

- d'apprécier la solidité des connaissances des candidats, de s'assurer de leur aptitude au raisonnement et à l'analyse correcte d'un problème en rapport avec des activités professionnelles ;

- de vérifier leur connaissance du matériel scientifique et des conditions de son utilisation ;

- de vérifier leur capacité à s'informer et à s'exprimer sur un sujet scientifique.

Formes de l'évaluation

- **Ponctuelle : épreuve écrite, durée 2 h, coefficient 2**

Le sujet est constitué d'exercices qui portent sur des parties différentes du programme et qui doivent rester proches de la réalité professionnelle sans que l'on s'interdise de faire appel à des connaissances fondamentales acquises dans les classes antérieures.

Il peut comporter l'analyse d'une situation expérimentale ou pratique et des applications numériques.

Il convient d'éviter toute difficulté théorique et toute technicité mathématique excessives. La longueur et l'ampleur du sujet doivent permettre à un candidat moyen de le traiter et de le rédiger aisément dans le temps imparti.

Le nombre de points affectés à chaque exercice est indiqué sur le sujet.

L'utilisation des calculatrices pendant l'épreuve est définie par la circulaire N° 86-228 du 28 juillet 1986 (BO N° 34 du 2 octobre

1986). En tête du sujet, il sera précisé si la calculatrice est autorisée ou interdite pendant l'épreuve.

La correction de l'épreuve tiendra le plus grand compte de la clarté dans la conduite de la résolution et dans la rédaction de l'énoncé des lois, de la compatibilité de la précision des résultats numériques avec celle des données de l'énoncé (nombre de chiffres significatifs), du soin apporté aux représentations graphiques éventuelles et de la qualité de la langue française dans son emploi scientifique.

- Contrôle en cours de formation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation, de poids identique, situées respectivement dans la seconde partie et en fin de formation.

- 1- Ces situations d'évaluation sont écrites, chacune a pour durée 2 heures.
- 2- Les situations d'évaluation comportent des exercices dans lesquels il convient d'éviter toute difficulté ou technicité excessives.
- 3- Le nombre de points affectés à chaque exercice est indiqué aux candidats afin qu'ils puissent gérer leurs travaux.
- 4- La longueur et l'ampleur du sujet doivent permettre à un candidat moyen de traiter le sujet et de le rédiger posément dans le temps imparti.
- 5- L'usage de la calculatrice pendant les situations d'évaluation est définie par la réglementation en vigueur aux examens et concours relevant de l'éducation nationale.
- 6- La note finale sur vingt proposée au jury pour l'unité U3 est obtenue en divisant par deux le total des notes résultant des deux situations d'évaluation. Le résultat est arrondi au demi point.

E4 Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale

Objectifs et finalités

L'épreuve a pour but de vérifier :

- le niveau et l'actualité des connaissances en biochimie, microbiologie, hématologie, anatomopathologie et immunologie ;
- l'aptitude à restituer ces connaissances dans le cadre de situations professionnelles ;
- l'aptitude à la réflexion et au raisonnement scientifique ;
- les qualités d'analyse et de synthèse ;
- la clarté et la rigueur de l'expression écrite et de la composition.

Unité 41 : Biochimie

Programme

La sous-épreuve de biochimie porte sur le programme du cours de biochimie et sur les principes des analyses et méthodologies au programme des activités technologiques en biochimie.

Formes de l'évaluation

- Ponctuelle : épreuve écrite, durée 3 h, coefficient 2

Le sujet peut comporter des questions indépendantes, des questions de synthèse. Il peut faire appel à l'analyse de modes opératoires ou de documents.

- Contrôle en cours de formation : épreuve écrite, durée 3 h pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation, de poids identique, ont chacune une durée maximale de 3 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 2. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation porte sur les modules 1, 2, 3, 4 et 5 de biochimie.

La seconde situation d'évaluation porte sur les modules 6, 7 et 8 de biochimie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité U42 : Microbiologie

Programme

La sous-épreuve de microbiologie porte sur le programme du cours de microbiologie et sur les principes des analyses et méthodologies au programme des activités technologiques en microbiologie.

Formes de l'évaluation

- Ponctuelle : épreuve écrite, durée 3 h, coefficient 2

Le sujet peut comporter des questions indépendantes, des questions de synthèse. Il peut faire appel à l'analyse de modes opératoires ou de documents.

- Contrôle en cours de formation : épreuve écrite, durée 3 h, pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation sont affectées globalement d'un coefficient 2. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation, d'une durée de 2 heures et affectée du coefficient 1, porte sur les modules 1, 2 et 3 de microbiologie.

La seconde situation d'évaluation, d'une durée de 3 heures et affectée du coefficient 2, porte sur les modules 4, 5, 6 et 7 de microbiologie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité U43 : Hématologie, anatomopathologie et immunologie

Programme

La sous-épreuve d'hématologie, anatomopathologie et immunologie porte sur le programme des cours d'hématologie, d'anatomopathologie et d'immunologie et sur les principes des analyses et méthodologies au programme des activités technologiques en hématologie, anatomopathologie et immunologie.

Formes de l'évaluation

- **Ponctuelle** : épreuve écrite, durée 2 h, coefficient 2

Le sujet peut comporter des questions indépendantes, des questions de synthèse. Il peut faire appel à l'analyse de modes opératoires ou de documents.

- **Contrôle en cours de formation** : épreuve écrite, durée 2 h pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation ont chacune une durée maximale de 2 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 2. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation, affectée d'un coefficient 1, porte sur les modules 1 et 4 d'hématologie et sur les modules 1 et 2 d'immunologie.

La seconde situation d'évaluation, affectée d'un coefficient 2, porte sur les modules 2 et 3 d'hématologie, sur le module d'anatomopathologie et sur les modules 3 et 4 d'immunologie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectoriale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

E5 Analyses de biologie médicale

Épreuve pratique, durée maximale 12 heures en évaluation ponctuelle, deux fois 12 heures en CCF, coefficient 7

Unité U51 : Analyses de biochimie médicale

Programme

La sous-épreuve "Analyses de biochimie médicale" porte sur le programme des activités technologiques des modules 2, 3, 5, 7 et 8 de biochimie.

Objectifs

La sous-épreuve a pour but de vérifier les savoir-faire dans le domaine des techniques de biochimie. L'épreuve de techniques de biochimie est essentiellement pratique. Elle donne lieu à la rédaction d'un compte rendu et peut faire appel à l'informatique. Elle peut comporter une partie écrite, soit préliminaire, soit intégrée au compte rendu.

La sous-épreuve "Analyses de biochimie médicale" permet de vérifier les compétences C33 et éventuellement C36, mais aussi des compétences transversales aux trois sous-épreuves : C11, C12, C14, C31, C32, C37, C42, C43 et C52.

L'évaluation porte sur :

l'aptitude à utiliser des équipements (y compris informatiques), des appareillages et à mettre en œuvre des modes opératoires ;

l'organisation du travail ;

le respect des conditions de sécurité et des bonnes pratiques de laboratoire ;

la précision et l'efficacité dans l'exécution ;

la qualité de la présentation, de l'interprétation et de l'exploitation des résultats.

Forme de l'évaluation

- **Ponctuelle** : épreuve pratique, durée maximale 4 h, coefficient 2,5

- **Contrôle en cours de formation** : épreuve pratique, durée maximale 4 h pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation, de poids identique, ont chacune une durée maximale de 4 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 2,5.

Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation porte sur le programme des activités technologiques des modules 2, 3 et 5 de biochimie.

La seconde situation d'évaluation porte sur le programme des activités technologiques des modules 7 et 8 de biochimie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectoriale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité U52 : Analyses de microbiologie médicale

Programme

La sous-épreuve "Analyses de microbiologie médicale" porte sur le programme des activités technologiques des modules 2, 3, 4, 5, 6 et 7 de microbiologie.

Objectifs

Elle a pour but de vérifier les savoir-faire dans les domaines des techniques de microbiologie. L'épreuve de techniques de microbiologie est essentiellement pratique. Elle donne lieu à la rédaction d'un compte rendu et peut faire appel à l'informatique.

Elle peut comporter une partie écrite, soit préliminaire, soit intégrée au compte rendu.

La sous-épreuve "Analyses de microbiologie médicale" permet de vérifier la compétence C34 et éventuellement C36, mais aussi des compétences transversales aux trois sous-épreuves : C11, C12, C14, C31, C32, C37, C42, C43 et C52.

L'évaluation porte sur :

- l'aptitude à utiliser des équipements (y compris informatiques), des appareillages, et à mettre en œuvre des modes opératoires ;

- l'organisation du travail ;

- le respect des conditions de sécurité et des bonnes pratiques de laboratoire ;

- la précision et l'efficacité dans l'exécution ;

- la qualité de la présentation, de l'interprétation et de l'exploitation des résultats.

Forme de l'évaluation

- **Ponctuelle** : épreuve pratique, durée maximale 6 h, coefficient 3

- **Contrôle en cours de formation** : épreuve pratique, durée maximale 6 h pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation, ont chacune une durée maximale de 6 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 3. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation est affectée du coefficient 1 et porte sur le programme des activités technologiques des modules 2 et 3 de microbiologie.

La seconde situation d'évaluation est affectée du coefficient 2 et porte sur le programme des activités technologiques des modules 4, 5, 6 et 7 de microbiologie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité U53 : Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales

Programme

La sous-épreuve "Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales" porte sur le programmes des activités technologiques des modules 1, 2, 3 et 4 d'hématologie et sur le programme des activités technologiques d'anatomopathologie.

Objectifs

Elle a pour but de vérifier les savoir-faire dans le domaine des techniques d'hématologie et d'anatomopathologie. Elle donne lieu à la rédaction d'un compte rendu et peut faire appel à l'informatique.

Elle peut comporter une partie écrite, soit préliminaire, soit intégrée au compte rendu.

La sous-épreuve "Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales" permet de vérifier la compétence C35 et éventuellement C36, mais aussi des compétences transversales aux trois sous-épreuves : C11, C12, C14, C31, C32, C37, C42, C43 et C52.

L'évaluation porte sur :

- l'aptitude à utiliser des équipements (y compris informatiques), des appareillages, et à mettre en œuvre des modes opératoires ;
- l'organisation du travail ;
- le respect des conditions de sécurité et des bonnes pratiques de laboratoire ;
- la précision et l'efficacité dans l'exécution ;
- la qualité de la présentation, de l'interprétation et de l'exploitation des résultats.

Forme de l'évaluation

- **Ponctuelle** : épreuve pratique, durée maximale 3 h, coefficient 1,5

- **Contrôle en cours de formation** : épreuve pratique, durée maximale 3 h pour chaque situation d'évaluation

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps

d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

Les deux situations d'évaluation, ont chacune une durée maximale de 3 h et sont affectées globalement d'un coefficient 1,5.

Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

La première situation d'évaluation affectée du coefficient 0,75 porte sur le programme des activités technologiques des modules 1 et 4 d'hématologie.

La seconde situation d'évaluation affectée du coefficient 0,75 porte sur le programme des activités technologiques des modules 2 et 3 d'hématologie et sur le programme des activités technologiques d'anatomopathologie.

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

E6 Soutenance de rapport de stages

Contenu de l'épreuve

L'épreuve consiste en une **soutenance orale** prenant appui sur un **rapport écrit**.

L'étudiant doit dans un premier temps présenter avec concision ses différents lieux de stage en dégagant les aspects essentiels de l'organisation du travail et de la démarche qualité. Il définit dans un deuxième temps **une problématique en relation avec les activités pratiques qu'il a réalisées**. Cette problématique peut prendre appui sur un support purement biologique (une pathologie...) ou sur un aspect plus technique ou technologique (comparaison d'automates...).

Le travail effectué dans le cadre du thème retenu, les résultats obtenus, les conclusions et les prolongements à envisager sont présentés au cours d'un exposé suivi d'un entretien avec le jury.

Les candidats se présentant à l'épreuve et n'ayant pas rédigé le rapport, support de l'évaluation, se verront attribuer la note 0 à l'épreuve E6.

Évaluation

L'épreuve E6 "soutenance de rapport de stage" permet de vérifier les compétences C11, C12, C13, C14, C21, C22, C41, C42, C43, C44, C51, C52, C53.

L'évaluation porte essentiellement sur :

- la cohérence et la pertinence de l'analyse de la problématique support ;
- la logique et la rigueur de l'analyse ;
- la pertinence de l'argumentation ;
- le niveau des connaissances et le bien fondé de leur utilisation ;
- la capacité de réflexion ;
- les qualités d'expression et de communication (expression orale et écrite, concision, qualité des documents présentés, techniques de communication mises en œuvre).

Forme du rapport

Le rapport comporte 30 pages au maximum, hors annexes.

Formes de l'évaluation

- **Ponctuelle** : épreuve orale de 45 minutes : exposé de 20 minutes maximum suivi d'un entretien avec le jury de 25 minutes maximum.

Le jury est composé de trois examinateurs : un professeur de biochimie génie biologique extérieur à l'établissement de formation, un professionnel du laboratoire autre que le laboratoire d'accueil, un professeur de français non impliqué dans la formation de l'étudiant.

La répartition des points sera la suivante :

- évaluation du stage réalisée conjointement par le maître de stage et le professeur tuteur : coefficient 0,5 ;
- dossier : coefficient 0,5 ;
- exposé et entretien : coefficient 2.

Les candidats devront avoir obtenu l'autorisation de leur responsable de stage d'utiliser les informations publiées dans leur rapport écrit. Il leur sera en outre rappelé que cette épreuve ne saurait les libérer de l'obligation de respecter la confidentialité.

- Contrôle en cours de formation

Le contrôle en cours de formation comporte une situation d'évaluation.

Cette situation d'évaluation est organisée par l'équipe pédagogique chargée des enseignements technologiques selon les mêmes modalités et les mêmes exigences que l'épreuve ponctuelle, à l'exception de la composition du jury dont les professeurs pourront être ceux qui dispensent la formation. L'intervention d'un professionnel est obligatoire.

Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.

À l'issue de l'évaluation, l'équipe pédagogique adresse au jury une fiche d'évaluation du stage accompagnée d'une proposition de note. Le jury disposera des documents relatifs aux évaluations :

- une proposition de note concernant le dossier ;
- une proposition de note concernant l'évaluation du stage ;
- une proposition de note relative à la prestation orale du candidat.

Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Les candidats ayant échoué à l'examen à la session antérieure et se représentant selon la voie scolaire, s'ils ne bénéficient pas du report de la note de l'épreuve E6, doivent présenter cette épreuve qui prend appui sur le rapport rédigé à l'issue du stage effectué lors de leur année de redoublement

Remarque générale :

Les candidats redoublant leur seconde année repassent les deux situations d'évaluation des épreuves en CCF lors de leur année de redoublement.

Épreuve facultative : Langue étrangère 2

Cette langue étrangère 2 ne peut être celle de l'épreuve E1

Modalités

- Épreuve orale
- Durée 20 minutes + 20 minutes de préparation
- Coefficient 1

Définition de l'épreuve

L'épreuve consiste en un entretien prenant appui sur des documents appropriés.

TABLEAU DE CORRESPONDANCES

BTS Analyses biologiques	BTS Analyses de biologie médicale
U1 Français	<i>Pas d'unité correspondante</i>
U2 Langue vivante étrangère	U1 Langue vivante étrangère
U31 Mathématiques	U2 Mathématiques
U32 Sciences physiques	U3 Sciences physiques et chimiques
U4 Biologie humaine Ou U5 Technologies d'analyse biomédicale	E4 Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale
U61 Techniques de biochimie	U51 Analyses de biochimie médicale
U62 Techniques de biologie*	U52 Analyses de microbiologie médicale U53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales
	U6 Soutenance de rapport de stage (<i>épreuve nouvelle</i>)

* Le report de la note de U62 concerne U52 ou U53 : U52 et U53 recevront le même report de note

SESSION 2014

E2-U21 Mathématiques

2014

Durée : 2 heures Coefficient 1

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.
L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé. Le formulaire de mathématiques est joint au sujet.

EXERCICE 1 (10 points)

Une société agro alimentaire produit des plats cuisinés. Elle utilise pour cela des pièces de viande de 2 kg initialement congelées à une température de -21°C . On considère par la suite que les pièces de viande sont identiques.

Lors de la décongélation, les pièces de viande sont placées dans une zone d'un réfrigérateur maintenue à une température constante de $T^{\circ}\text{C}$. L'entreprise doit respecter des contraintes sanitaires et des contraintes liées à la qualité gustative des produits qu'elle fabrique.

Elle mène pour cela une étude sur l'évolution de la température au cœur d'une pièce de viande au cours de la décongélation.

La loi de refroidissement de Newton permet théoriquement, sous certaines conditions, de modéliser cette évolution, en fonction du temps, par une fonction θ vérifiant :

$$\theta'(t) = k(\theta(t) - T) \quad (E)$$

où

- k est une constante liée aux caractéristiques de la pièce de viande,
- T est la température de la zone du réfrigérateur dans laquelle est placée la viande,
- t est la durée, exprimée en heure, écoulée depuis le début de la décongélation
- et $\theta'(t)$ est la température, exprimée en degré Celsius ($^{\circ}\text{C}$), au cœur de la pièce de viande après t heures de décongélation.

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Détermination de la constante k

Le réglage standard d'un réfrigérateur domestique est de $T = 5^{\circ}\text{C}$.

On place une des pièces de viande dans une zone du réfrigérateur maintenue à cette température.

L'évolution de la température au cœur de la pièce de viande est suivie à l'aide de sondes thermocouples et mène aux relevés suivants :

i	1	2	3	4	5	6
t_i : durée écoulée, en heures	0	5	10	15	20	25
θ_i : température en degrés Celsius	- 21	- 5,1	1,1	3,5	4,4	4,8

1. On pose $z_i = \ln(5 - \theta_i)$. Donner les valeurs de z_i pour i variant de 1 à 6. Arrondir au centième.

2. Donner une équation de la droite d'ajustement affine de z en t par la méthode des moindres carrés sous la forme $z = at + b$. Arrondir au centième les valeurs de a et b .

3. En déduire que l'on peut estimer la température au cœur de la pièce de viande après t heures (t compris entre 0 et 25) par :

$$\theta(t) = -26,58e^{-0,19t} + 5$$

4. Calculer $\theta'(t)$ et $\theta(t) - 5$

Justifier que le modèle de l'équation (E) (donnée dans le préambule de l'exercice) s'applique dans le cas présent avec des constantes k et T dont on donnera les valeurs.

PARTIE B : Durée de décongélation

On considère qu'une pièce de viande est décongelée lorsque la température au cœur de la viande est supérieure ou égale à 0°C .

Une viande décongelée donne, lorsqu'on la consomme après cuisson, l'illusion du produit frais si sa décongélation a duré **au moins 12 heures**.

L'ajustement effectué dans la partie A permet d'estimer qu'une pièce de viande de 2 kg décongèle dans une zone du réfrigérateur maintenue à $T = 5^\circ\text{C}$ en 8h 50 min, ce qui ne convient pas.

Par souci de **qualité gustative**, la société agro alimentaire décide donc de décongeler plus lentement la viande en la plaçant dans une zone plus froide du réfrigérateur. Par ailleurs, si on décongèle une pièce de viande à une température supérieure à 2°C , il y a reprise de la prolifération de certaines bactéries.

On choisit donc $T = 2^\circ\text{C}$.

D'après la loi de Newton, la température de la pièce de viande est modélisée par une fonction θ vérifiant :

$$\theta'(t) = -0,19(\theta(t) - 2), \text{ c'est à dire : } \theta'(t) + 0,19\theta(t) = 0,38.$$

1. Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E) : $y' + 0,19y = 0,38$, où y est une fonction de la variable t , définie et dérivable sur l'intervalle $[0; +\infty[$ et y' la fonction dérivée de la fonction y .

a) Déterminer les solutions sur l'intervalle $[0; +\infty[$ de l'équation différentielle
(E_0) : $y' + 0,19y = 0$

b) Soit h la fonction définie sur l'intervalle $[0; +\infty[$ par $h(t) = c$, où c est un nombre réel.

Déterminer le nombre réel c pour que la fonction h soit une solution particulière de l'équation différentielle (E).

c) En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).

2. Détermination de la fonction θ

On rappelle que θ est solution de l'équation (E) et que $\theta(0) = -21$.

a) Justifier que : $\theta'(t) = -23 e^{-0,19t} + 2$

b) Déterminer $\lim_{t \rightarrow +\infty} \theta(t)$. Interpréter le résultat obtenu dans le contexte concret étudié.

3. Durée de décongélation

a) Estimer le temps nécessaire pour que les pièces de viande, placées dans une zone du réfrigérateur maintenue à $T = 2^\circ\text{C}$, soient décongelées.

Plusieurs méthodes peuvent être employées. Le candidat devra indiquer celle qu'il a choisie et en donner les

étapes.

b) La viande ainsi décongelée donnera-t-elle, lorsqu'on la consommera, l'illusion du produit frais ?

PARTIE C : Prise en compte de la réglementation sanitaire

Initialement, la concentration bactérienne dans les pièces de viande congelées utilisées par la société agroalimentaire est estimée à 50 bactéries par gramme.

On admet qu'à partir du moment où la viande est décongelée, les bactéries reprennent leur prolifération et que, tant que la viande est laissée dans une zone du réfrigérateur maintenue à 2°C, la vitesse de croissance de la concentration bactérienne à l'instant t (exprimé en heure) est modélisée sur l'intervalle $[0; +\infty[$ par $v(t) = 3e^{0,06t}$

La concentration bactérienne (exprimée en bactéries par gramme) de la viande à l'instant test donc modélisée par la primitive G_0 de la fonction v qui vérifie $G_0(0) = 50$.

1. Détermination de la fonction G_0

a) Déterminer les primitives G de la fonction v .

b) En déduire l'expression de $G_0(t)$ pour t supérieur ou égal à 0.

2. Le niveau de tolérance fixé par la réglementation sanitaire de plusieurs pays est de 100 bactéries par gramme pour la viande que l'on cuisine.

Un lot de pièces de viande termine sa décongélation à 18 h, un soir de la semaine.

Si les employés le laissent au réfrigérateur, à 2°C, et ne le cuisinent que le lendemain à 8 h, la réglementation sanitaire de ces pays sera-t-elle respectée ?

EXERCICE 2 (10 points)

*Les probabilités demandées dans cet exercice peuvent être calculées en utilisant le formulaire joint au sujet ou la calculatrice. Quelle que soit l'option retenue on fera figurer sur la copie **les étapes de la démarche suivie**.*

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

Une usine fabrique en série des pompes de surface destinées à l'irrigation agricole.

Le cahier des charges demande que ces pompes aient un débit de $6 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ (6 mètres cubes par heure) avec une tolérance de $\pm 0,25 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

En sortie de chaîne de fabrication, une pompe peut présenter deux types de défauts indépendants : un défaut de débit et un défaut mécanique.

PARTIE A : le défaut mécanique

Une étude statistique permet d'estimer que 1 % des pompes fabriquées présente un défaut mécanique.

Les pompes sont conditionnées par caisses de cinquante.

On considère, pour l'étude, que la constitution d'une caisse peut être assimilée à un prélèvement au hasard et avec remise de cinquante pompes dans la production, très importante, de l'usine.

On note X la variable aléatoire qui, à chaque caisse de cinquante pompes, associe le nombre de pompes présentant un défaut mécanique.

1. Justifier que X suit une loi binomiale et préciser les paramètres de cette loi.

2. a) Calculer la probabilité qu'une caisse contienne une pompe présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.

b) Calculer la probabilité qu'une caisse contienne au moins deux pompes présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.

3. On décide d'approcher la loi de X par une loi de Poisson de paramètre λ .

a) Quelle valeur du paramètre λ choisit-on ? Justifier.

b) On note Y une variable aléatoire suivant une loi de Poisson de paramètre λ

En utilisant la variable aléatoire λ , estimer la probabilité qu'une caisse contienne au moins quatre pompes présentant un défaut mécanique. Arrondir le résultat au millième.

PARTIE B : le défaut de débit

Une pompe est conforme au cahier des charges pour le débit si celui-ci est compris entre $5,75 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ et $6,25 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. Dans le cas contraire, la pompe présente un défaut de débit.

On note Z la variable aléatoire qui associe à chaque pompe produite son débit exprimé en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$. On suppose que la Variable aléatoire Z suit une loi normale de moyenne $m = 6$ et d'écart type $s = 0,15$.

Calculer la probabilité qu'une pompe, prélevée au hasard dans la production, présente un défaut de débit. Arrondir le résultat au millième.

PARTIE C : estimation du débit moyen des pompes d'une livraison

Une entreprise commande un nombre important de pompes.

Lors de la livraison, le service qualité de l'entreprise cherche à estimer la moyenne inconnue μ exprimée en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$, des débits des pompes qui lui sont livrées à partir de mesures faites sur un échantillon de cinquante pompes prises dans la livraison.

On considère que cet échantillon peut être assimilé à un prélèvement au hasard et avec remise de cinquante pompes dans la livraison.

1. Les résultats des mesures effectuées sont donnés dans le tableau ci-dessous :

Débit en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$	5,7	5,8	5,9	6,0	6,1	6,2	6,3
Nombre de pompes	9	8	10	9	10	3	1

Calculer la moyenne et l'écart type de la série de mesures ci-dessus. On arrondira l'écart-type au millième.

2. On note \bar{X} la variable aléatoire qui, à chaque échantillon de 50 pompes choisies au hasard dans la livraison, associe la moyenne des débits de ces 50 pompes, exprimée en $\text{m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$.

On admet que \bar{X} suit la loi normale de moyenne inconnue μ et d'écart type $\frac{0,16}{\sqrt{50}}$

a) Déterminer un nombre a tel que $P(\mu - a \leq \bar{X} \leq \mu + a) = 0,95$

Donner une valeur approchée au millième par excès de a .

b) Donner un intervalle de confiance de la moyenne, μ des débits des pompes livrées avec un coefficient de confiance supérieur ou égal à 95% .

Durée : 2 heures Coefficient 2**Matériel autorisé :**

- toutes les calculatrices de poches y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à conditions que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186 du 16-11-99).
- Tout autre matériel est interdit.

Document à rendre avec la copie:

- Annexe A

La clarté des raisonnements, la qualité de la rédaction interviendront dans l'appréciation des copies.

Le sujet est constitué de deux exercices indépendants.

Ce sujet s'articule autour du problème de la glycémie . Il est composé de deux exercices indépendants, eux-mêmes constitués de plusieurs parties indépendantes. Le premier exercice porte sur l'eau oxygénée et son intervention lors du dépistage de la glycémie. Le second exercice traite de la régulation de de la glycémie et plus particulièrement du dosage l'insuline par radio-immunologie.

Données relatives à tout le sujet :**Données relatives à divers éléments chimiques :**

Élément	H	C	O	Sn	Sb	Te	I	Xe	Cs	Ba
Numéro atomique Z	1	6	8	50	51	52	53	54	55	56
Masse molaire atomique (g.mol ⁻¹)	1,0	12,0	16,0							

Éléments de colorimétrie :

Radiations colorées et longueur d'onde dans le vide (nm)	
Rouge	620-800
Orange	585-625
Jaune	560-590
Vert-jaune	550-560
Vert	492-560
Cyan	487-492
Bleu azur	465-487
Bleu	435-465
Violet	380-440

Couleurs complémentaires en synthèse additive	
Rouge	Vert-bleu
Orange	Bleu verdâtre
Vert-jaune	Pourpre
Vert	Rouge pourpre
Vert-bleu	Rouge
Bleu verdâtre	Orange
Bleu	Jaune
Violet	Jaune-vert

Rappel mathématique : $\int \frac{dx}{x} = \ln|x| + A$ où A est une constante

Sous-multiples de l'unité : $1 \text{ pm} = 10^{-12} \text{ m}$; $1 \mu\text{g} = 10^{-6} \text{ g}$

Constante radioactive de l'iode 125 : $\lambda = 1,3 \cdot 10^{-7} \text{ s}^{-1}$

Exercice I : Détermination d'une glycémie (12 points)

Le peroxyde d'hydrogène de formule chimique H_2O_2 , appelé couramment eau oxygénée, existe naturellement chez les êtres vivants comme sous-produit de la respiration cellulaire.

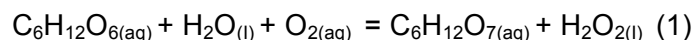
Synthétisé pour la première fois en 1818, il s'avère d'une grande utilité et d'une grande importance économique. Ses propriétés oxydantes sont exploitées au cours d'analyses de biologie médicale, notamment lors de la détermination de la glycémie.

PARTIE 1 : exploitation de la méthode de détermination de la glycémie

La glycémie exprime la teneur en glucose dans le sang. Les valeurs normales à jeun se situent entre 3,5 et 6,1 mmol.L⁻¹. Le contrôle de la glycémie est un examen d'analyse biologique courant, il permet de détecter une hypoglycémie, une hyperglycémie, un diabète. Presque toutes les techniques actuelles reposent sur l'utilisation d'une enzyme, la glucose-oxydase, couplée à une réaction colorimétrique.

En présence de glucose-oxydase, le glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) en solution aqueuse est oxydé par le dioxygène dissous en acide gluconique avec formation de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

L'équation chimique de cette réaction, notée par la suite (1), est la suivante :



En présence d'une seconde enzyme, la peroxydase, le peroxyde d'hydrogène formé par cette réaction est dosé selon la réaction de Trinder :



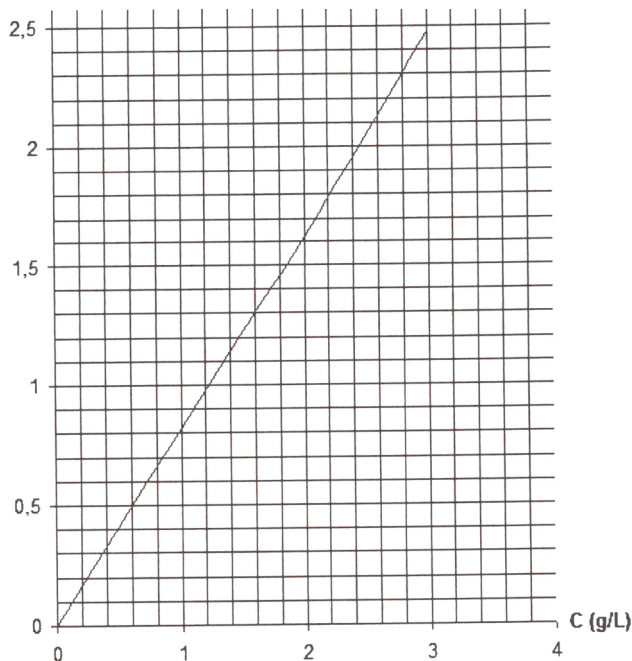
Les réactions (1) et (2) étant totales, la concentration de quinonéimine en solution est proportionnelle à la concentration initiale de glucose. La quinonéimine étant la seule espèce colorée, la détermination de la glycémie s'effectue alors indirectement par spectrophotométrie UV-visible.

1.1 Détermination de la glycémie d'un patient

Pour déterminer la glycémie d'un patient, on travaille sur le plasma sanguin obtenu après centrifugation, puis on lui ajoute le mélange d'espèces chimiques nécessaires au bon déroulement des réactions (1) et (2).

Après une trentaine de minutes, on mesure l'absorbance de la solution pour une longueur d'onde de 505 nm. La valeur affichée est de 1,30. Parallèlement, on réalise une gamme d'étalonnage à partir de solutions de glucose de concentrations C connues auxquelles **on fait subir les mêmes opérations que celles réalisées sur le plasma**.

Les mesures effectuées permettent de tracer la courbe suivante représentative de la fonction $A = f(t)$.



1.1.1 La courbe expérimentale ci-dessus permet d'affirmer que la loi de Beer-Lambert est respectée. Justifier pourquoi.

1.1.2 À l'aide de cette courbe, déterminer si la valeur de la glycémie dans le plasma étudié est située dans les valeurs normales.

1.2 Pouvoir séparateur du monochromateur

Le spectrophotomètre utilisé est constitué de plusieurs parties distinctes : une source de lumière polychromatique, un monochromateur, une cuve pour contenir la solution à étudier et un détecteur. La source de lumière utilisée est une lampe à arc au xénon, dont le spectre d'émission s'étend de 300 à 1100 nm. Le monochromateur comprend entre autres, un réseau de diffraction par transmission comportant $n = 1\,200$ traits/mm utilisé en incidence normale. La longueur utile, c'est-à-dire éclairée du réseau, vaut $L = 1,0$ cm.

1.2.1 Ce spectrophotomètre permettrait-il des mesures en dehors du domaine visible ?

1.2.2 Proposer une couleur pour la quinonéimine.

Le pouvoir séparateur ou pouvoir de résolution, R , d'un réseau permet d'apprécier sa capacité à séparer deux radiations de longueurs d'onde différentes. Il a pour expression :

$$R = kN = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} \text{ avec } N : \text{ nombre de fentes éclairées et } k \text{ l'ordre du spectre}$$

1.2.3 Montrer qu'à l'ordre 1, le pouvoir séparateur du réseau utilisé vaut $R = 12000$.

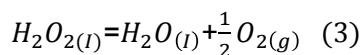
1.2.4 Le spectrophotomètre permet-il d'isoler la radiation de travail des radiations voisines dont les longueurs d'onde diffèrent au minimum de 0,1 nm par rapport à 505 nm ?

1.2.5 Lorsque l'ordre augmente, comment évolue la qualité de la séparation des deux longueurs d'onde ?

PARTIE 2 : Etude de la dismutation de l'eau oxygénée

Dans la partie 1, les propriétés oxydantes de l'eau oxygénée ont été mises en avant. L'eau oxygénée possède également des propriétés réductrices, ce qui lui confère un caractère amphotère. Les couples d'oxydoréduction associés sont $O_{2(g)}/H_2O_{2(l)}$ et $H_2O_{2(l)}/H_2O_{(l)}$ dont les potentiels standard ont pour valeurs respectives $E^\circ_1 = 0,69$ V et $E^\circ_2 = 1,76$ V.

L'eau oxygénée se dismute, c'est-à-dire se décompose, spontanément mais lentement, selon la réaction notée par la suite (3), d'équation :



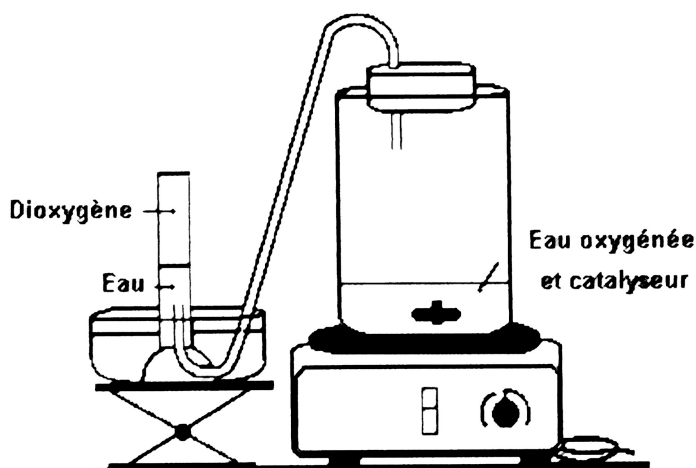
2.1 Écrire les demi-équations associées aux couples précédents ; justifier le caractère spontané de la réaction de décomposition de l'eau oxygénée et retrouver son équation bilan (3).

2.2 On conserve généralement l'eau oxygénée dans des armoires réfrigérées. Proposer une justification à ce mode de stockage.

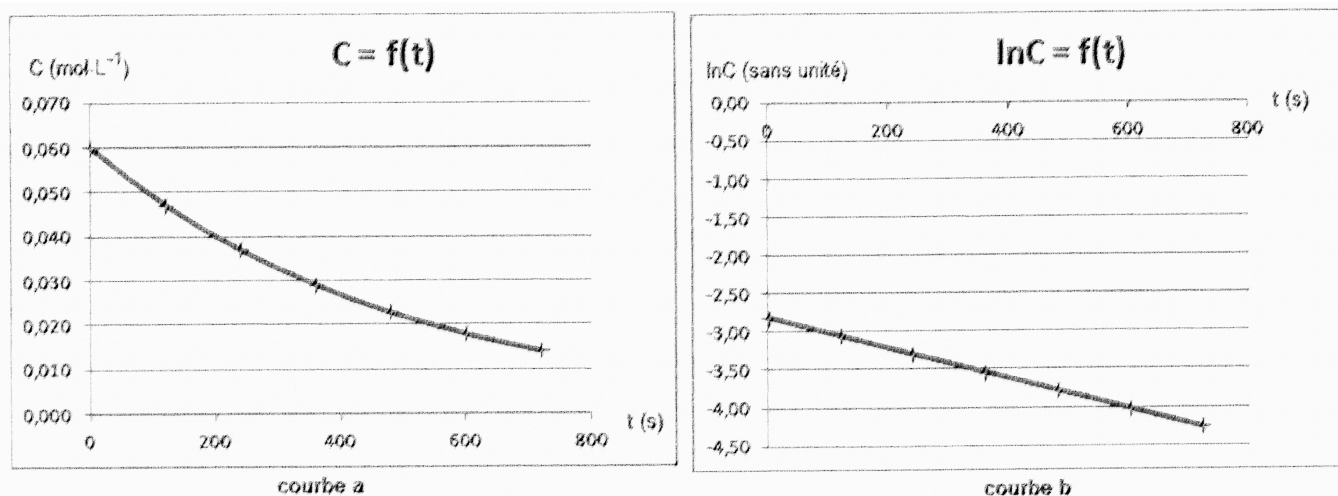
La réaction (3) peut être catalysée de différentes façons: catalyse hétérogène par le platine, catalyse homogène par les ions fer III ou par une enzyme comme la catalase.

2.3 Définir le terme catalyse en précisant ce qui différencie une catalyse homogène d'une catalyse hétérogène.

On cherche à déterminer l'ordre de la réaction de décomposition de l'eau oxygénée. Pour cela, on ajoute à l'eau oxygénée une petite quantité de solution de chlorure de fer III. On récupère par déplacement d'eau, dans un récipient adapté aux mesures de volume, le dioxygène formé au cours du temps. On peut alors en déduire la valeur de la concentration C en eau oxygénée en fonction du temps.



On obtient ainsi les courbes suivantes.



On suppose pour cette étude que le volume de solution reste constant.

2.4 Exprimer la vitesse volumique de réaction, v, en fonction de la concentration C en eau oxygénée restante au temps t.

La vitesse volumique de réaction est également donnée par la relation $v = kC^\alpha a$ où α est l'ordre de la réaction par rapport à l'eau oxygénée et k la constante de vitesse associée.

2.5 Montrer, sans aucun calcul numérique, que les résultats expérimentaux sont compatibles avec un ordre 1 par rapport à l'eau oxygénée.

Exercice : Dosage de l'insuline (8 points)

L'insuline est un régulateur de la glycémie. Actuellement, l'insuline est dosée par immunofluorescence***, mais avant cette technique le dosage de l'insuline a bénéficié du développement de la radio-immunologie, technique de dosage des grosses molécules biologiques mise au point, en 1960, par R. Yalow et S. Berson.

*** : NDLR : il ne peut pas s'agir de l'immunofluorescence mais de l'immunoenzymologie (dosage ELISA)

PARTIE 1 : la méthode de radio-immunologie

La méthode consiste à ajouter à la solution d'insuline à doser, de l'insuline marquée par un atome radioactif, l'iode 125. Ce mélange est ensuite mis en présence d'un anticorps spécifique. Un complexe anticorps-insuline se forme alors à partir de l'insuline marquée et de l'insuline non marquée dans des proportions liées aux concentrations initiales. Le complexe est isolé et on mesure son activité. Une courbe d'étalonnage obtenue à partir de solutions d'insuline de concentrations connues ayant subi le même traitement que l'échantillon étudié permet de déterminer la concentration de l'insuline à partir de la valeur de l'activité mesurée.

1.1. Indiquer la composition du noyau d'iode 125.

L'iode 125 se désintègre par capture électronique interne, c'est à dire en capturant un électron ${}_{-1}^0e$ de son cortège électronique.

1.2. Écrire l'équation de la capture électronique de l'iode 125 en explicitant les lois de conservation utilisées.

Pour réaliser le dosage on a réalisé une gamme de solutions témoins en faisant varier la concentration d'insuline non marquée, la quantité d'insuline marquée étant la même pour chaque solution. La mesure de leur activité conduit aux données suivantes :

Concentration en insuline non marquée ($\mu\text{g/mL}$)	0	$2,5 \cdot 10^{-4}$	$6,8 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$3,2 \cdot 10^{-3}$
Activité (Bq)	242	193	155	112	85

1.3 Sur la feuille de papier millimétrée **en annexe à rendre avec la copie**, tracer la courbe donnant l'activité (en Bq) en fonction de la concentration (en $\mu\text{g/mL}$) en insuline (échelle conseillée : 1cm pour $2,5 \cdot 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ et 1cm pour 20 Bq).

La mesure réalisée avec l'échantillon de sérum sanguin donne une activité de 142 Bq.

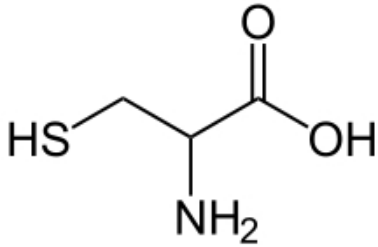
1.4 En déduire la valeur de la concentration d'insuline dans le sérum dosé.

1.5 Estimer la valeur de l'activité de l'échantillon dosé au bout d'un an de stockage.

PARTIE 2 : quelques considérations autour de l'insuline

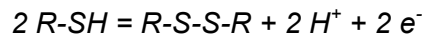
L'insuline est une hormone peptidique constituée de deux chaînes polypeptidiques comportant respectivement 21 et 30 acides aminés. Ces deux chaînes sont reliées entre elles par deux ponts disulfures.

Les ponts disulfures s'observent au niveau des molécules de cystéine dont la formule est donnée ci-dessous.



2.1 Recopier la formule de la cystéine. Entourer les différents groupes fonctionnels qu'elle comporte et les nommer.

La formation d'un pont disulfure est modélisée par la demi-équation suivante :



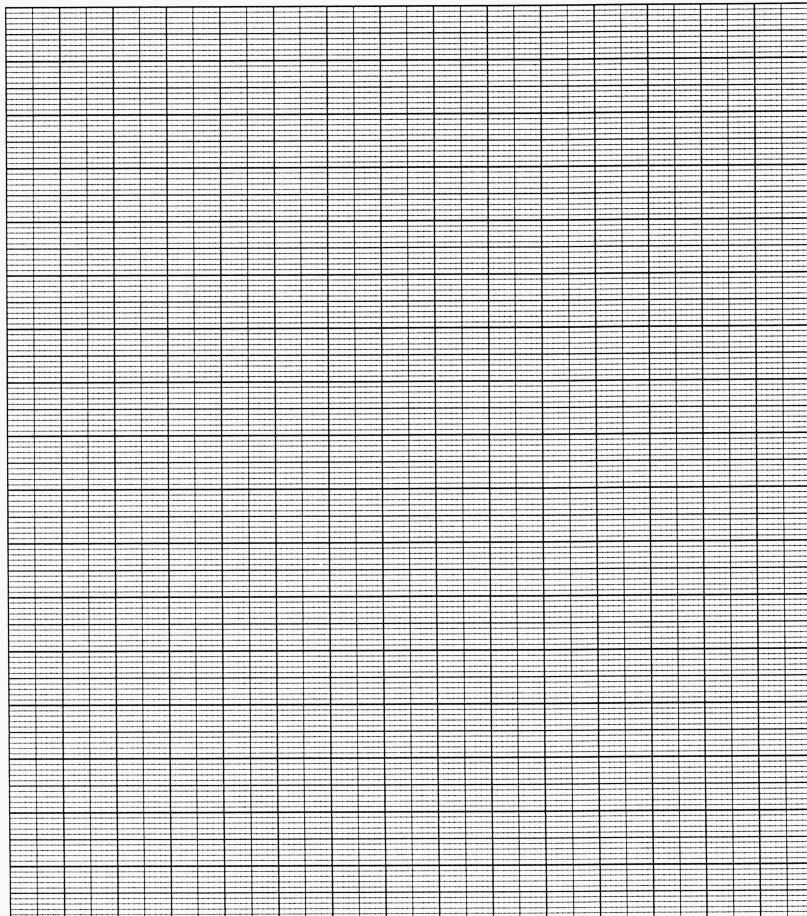
2.2 Justifier que la formation de pont disulfure se fasse en conditions oxydantes.

Deux molécules de cystéine s'unissent par un pont disulfure pour former la cystine.

2.3 Écrire la formule topologique de la molécule de cystine.

Annexe A

À rendre avec la copie



Calculatrice interdite **Durée : 3 heures** **Coefficient : 2**
Aucun document autorisé L'annexe 1 est à rendre avec la copie

LA PHÉNYLCÉTONURIE

La phénylcétonurie (PCU) est une maladie génétique grave liée à un trouble du métabolisme d'un acide aminé d'origine alimentaire, la phénylalanine. L'hyperphénylalaninémie résultante présente un caractère toxique pour le système nerveux central et perturbe le développement du cerveau de l'enfant entraînant un retard mental.

La phénylalanine en excès est convertie en phénylcétone éliminée par voie urinaire, d'où le nom de « phénylcétonurie ».

La PCU affecte un nouveau-né sur 16 000 et sa transmission est autosomale récessive.

En France et dans de nombreux autres pays, on procède dans les trois jours suivant la naissance à un dépistage systématique de la phénylcétonurie. Cette procédure autorise l'instauration d'un traitement précoce qui permet de garantir un développement normal aux enfants atteints.

1. La phénylcétonurie : une maladie métabolique héréditaire (16,5 points)

La phénylalanine hydroxylase (PAH) est une enzyme qui peut être impliquée dans cette maladie. Elle assure la conversion de la phénylalanine en tyrosine. Son gène s'exprime exclusivement dans les cellules hépatiques.

1.1. Gène de la phénylalanine hydroxylase (PAH)

Il s'agit d'un gène de 90 kilobases localisé sur le chromosome 12 et comprenant 13 exons. 700 mutations différentes sur ce gène ont été identifiées. La mutation « phemut194 » provoque une modification de l'acide aminé 194 de l'enzyme et se traduit par une forte hyperphénylalaninémie chez l'individu homozygote.

1.1.1. Définir les termes « gène », « exon », « homozygote ».

1.1.2. Exposer les étapes de l'expression du gène de la PAH. Préciser leur localisation cellulaire.

1.1.3. Déterminer à l'aide du **document 2** les séquences peptidiques correspondant aux allèles normal et muté donnés dans le **document 1**.

1.1.4. En déduire le type de mutation mis en évidence.

1.2. Structure de la phénylalanine hydroxylase

La structure tétramérique de la PAH est représentée sur le **document 3**.

1.2.1. Expliquer la signification de « tétramérique ».

1.2.2. Légender le **document 3** en reportant les numéros sur la copie.

1.2.3. Définir et décrire les structures primaires, secondaires et tertiaires de la PAH. Pour chaque niveau, préciser les liaisons mises en jeu.

1.2.4. Identifier le domaine de l'enzyme concerné par la mutation « phe mut 194 » dans la PAH. En déduire les conséquences possibles sur l'activité de la PAH.

1.3. Déficit en tétrahydrobioptérine (BH4)

Il existe une variante plus rare d'hyperphénylalaninémie dans laquelle la PAH est normale mais où la tétrahydrobioptérine (BH4), son coenzyme, n'est pas synthétisé par le patient. La BH4 est également le coenzyme de la tyrosine hydroxylase et de la tryptophane hydroxylase.

1.3.1. Définir un coenzyme.

1.3.2. Indiquer les rôles de la « voie A » et de « la voie B » dans le métabolisme de la BH4 présenté dans le **document 4**.

1.3.3. À l'aide du **document 4**, relier le déficit en BH4 aux signes constatés chez les patients atteints de déficit en BH4 :

- hyperphénylalaninémie,
- troubles neurologiques,
- teint pâle et dépigmentation.

Le **document 5** présente les résultats d'un test de charge au BH4 de deux patients atteints de phénylcétonurie.

1.3.4. Analyser les résultats. Conclure.

2. Dépistage néonatal et diagnostic de la phénylcétonurie (15,5 points)

Le diagnostic est posé lorsque la phénylalaninémie, mesurée sur sang total recueilli sur carton de Guthrie, est supérieure à $18 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

2.1. Dosage de la phénylalanine par méthode enzymatique

Des extraits de la fiche technique d'une méthode de dosage de la phénylalanine sont présentés dans le **document 6**.

2.1.1. En s'appuyant sur le principe du test, dégager les équations des réactions mises en jeu.

2.1.2. Préciser les réactifs apportés spécifiquement par « ENZ LYO » et « SUBS » utilisés lors du test.

2.1.3. Indiquer si le volume d'acide trichloracétique pipeté lors de l'éluion doit être précis. Justifier.

2.1.4. Indiquer le rôle des solutions CAL A-E et CONTROL1+2.

2.1.5. Préciser si la durée de l'étape 4 doit être mesurée avec précision. Justifier la réponse.

2.2. Contrôle national de qualité (CNQ) des méthodes de dépistage de la phénylcétonurie

Un dosage de la phénylalanine est réalisé sur un même échantillon contrôle par plusieurs laboratoires par méthode enzymatique ou fluorimétrique.

Certains paramètres statistiques sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Technique	Moyenne de la concentration en phénylalanine ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	CV (%)
Méthode enzymatique	220,9	9,7
Méthode fluorimétrique	240,2	11,9

2.2.1. Donner la signification de l'abréviation « CV ». Écrire l'équation aux grandeurs (expression littérale) qui permet de le calculer.

2.2.2. Nommer et définir l'indicateur de qualité représenté par le CV.

2.2.3. Comparer les deux méthodes de dosage au regard de cet indicateur.

2.3. Diagnostic moléculaire

Le diagnostic de la phénylcétonurie peut être confirmé par recherche de mutations du gène codant la PAH. Pour cela, l'ADN du patient est extrait à partir d'un prélèvement de sang et soumis à une PCR (« Polymerase Chain Reaction »), permettant d'amplifier une partie du gène codant la PAH. Les produits de PCR sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose, comme présenté dans le **document 7**.

2.3.1. Nommer les trois étapes de la PCR.

2.3.2. Citer les réactifs utilisés pour amplifier le fragment de gène d'intérêt lors de la PCR. Préciser le rôle de chacun des réactifs.

2.3.3. Indiquer le principal critère de séparation des molécules d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose.

2.3.4. Déduire des résultats de l'électrophorèse présentés dans le **document 7**, le type de mutation présente sur le gène codant la PAH chez le patient.

3. Traitement et suivi de la phénylcétonurie (8 points)

Le but du traitement, essentiellement diététique, est de maintenir la phénylalaninémie dans des limites physiologiques. Diverses techniques analytiques permettent de vérifier l'efficacité du traitement.

3.1. Administration d'acides aminés neutres

En plus d'un régime alimentaire adapté, un traitement médicamenteux peut être proposé aux patients. Deux produits sont actuellement commercialisés, ils contiennent un mélange d'acides aminés neutres. Ceux-ci ont un transporteur commun avec la phénylalanine. Ce transporteur permet le passage des barrières intestinales et hémato-encéphaliques selon un transport actif secondaire grâce à un symport Na^+ -dépendant.

3.1.1. Expliquer pourquoi les acides aminés ne diffusent pas librement à travers la membrane.

3.1.2. Schématiser le transporteur de la phénylalanine au sein d'une membrane plasmique. Représenter le gradient de concentration en sodium et le sens de passage des différentes molécules impliquées dans ce transport actif secondaire.

3.1.3. Expliquer l'intérêt de l'administration d'acides aminés neutres à un patient souffrant de phénylcétonurie.

3.2. Chromatogramme, outil de suivi du patient

Le chromatogramme est obtenu après séparation et dosage des acides aminés plasmatiques. Cet examen est réalisé une fois par an chez l'enfant atteint de phénylcétonurie.

Le **document 8** présente des résultats du dosage de chaque acide aminé après leur séparation par chromatographie échangeuse d'ions.

3.2.1. Donner la définition générale de la chromatographie réalisée.

3.2.2. Indiquer le principe de la chromatographie échangeuse d'ions décrite dans le **document 8**.

3.2.3. À partir des données du tableau suivant, représenter les formes majoritaires (formules semi-développées) de la phénylalanine en fonction du pH.

	pK ₁ (fonction acide)	pK ₂ (fonction amine)
Phénylalanine	1,8	9,1

3.2.4. Déduire de la réponse précédente et de l'étude du **document 8**, le comportement de la phénylalanine au cours de la chromatographie.

3.2.5. Analyser et interpréter le chromatogramme du sérum de l'enfant atteint de phénylcétonurie.

DOCUMENT 1

Étude de la mutation « phemut194 » de la PAH ***Fragment de séquences du brin codant (brin sens, brin +) du gène de la PAH***

Allèle normal

5' GTGTTCAAGACTCTGAAGTCCTTGTAT 3'

Allèle muté

5' GTGTTCAAGACTCCGAAGTCCTTGTAT 3'

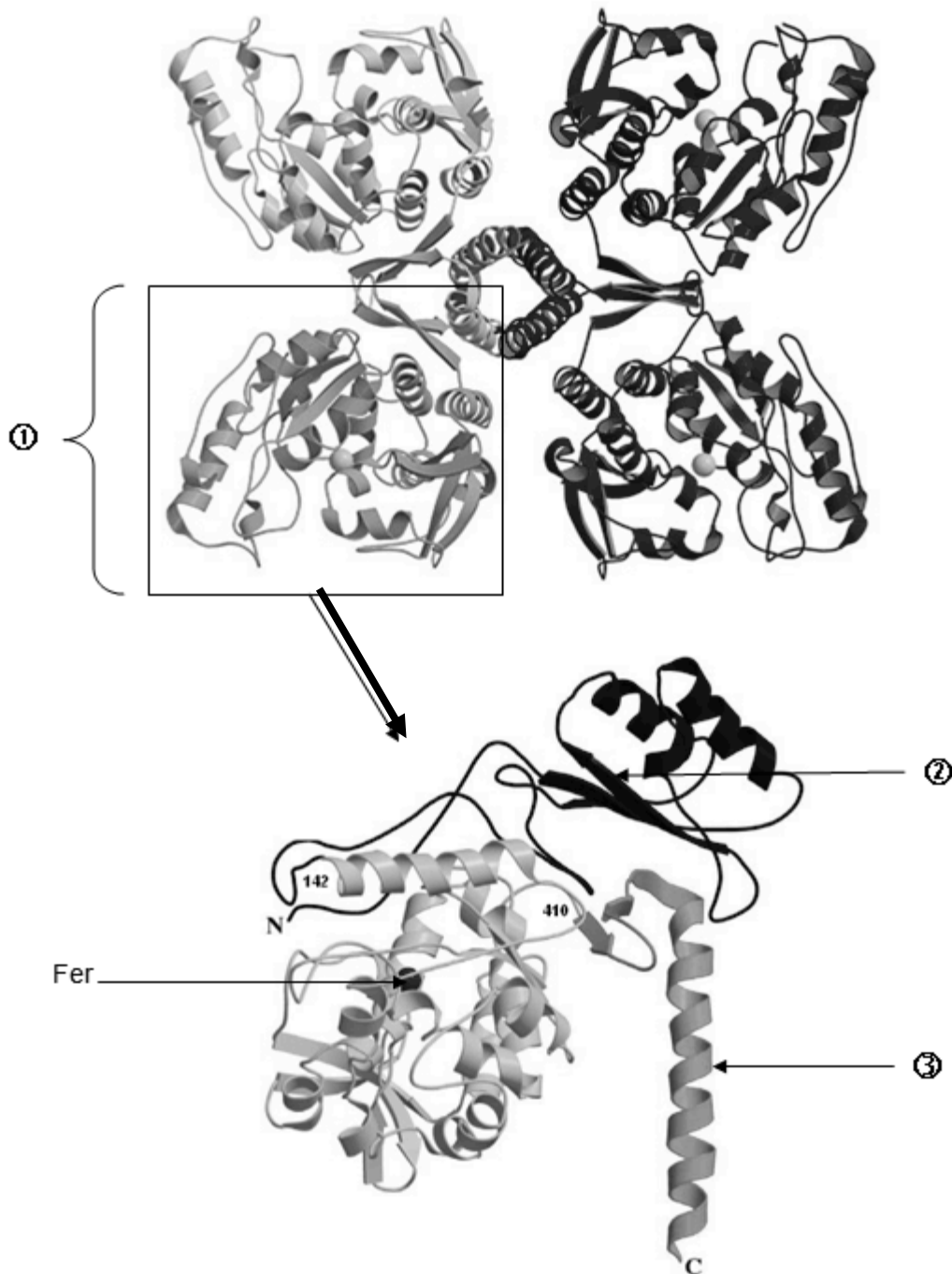
DOCUMENT 2

Code génétique

1ère lettre	2ème lettre				3ème lettre	
	U	C	A	G		
U	UUU Phe UUC (Phénylalanine)	UCU UCC Ser	UAU Tyr UAC (tyrosine)	UGU Cys UGC (cystéine)	U C	
	UUA Leu UUG (leucine)	UCA (sérine) UCG	UAA STOP UAG STOP	UGA STOP UGG Trp (tryptophane)	A G	
	C	CUU CUC Leu CUA (leucine) CUG	CCU CCC Pro CCA (proline) CCG	CAU His CAC (histidine) CAA Gln CAG (glutamine)	CGU CGC Arg CGA (arginine) CGG	U C A G
		A	AUU Ile AUC (isoleucine) AUA	ACU ACC Thr ACA (thréonine) ACG	AAU Asn AAC (asparagine) AAA Lys AAG (lysine)	AGU Ser AGC (sérine) AGA Arg AGG (arginine)
G	GUU GUC Val GUA (valine) GUG		GCU GCC Ala GCA (alanine) GCG	GAU Asp (acide GAC aspartique) GAA Glu (acide GAG glutamique)	GGU Gly GGC (glycine ou GGA glycocolle) GGG	U C A G

DOCUMENT 3

Structure de la PAH



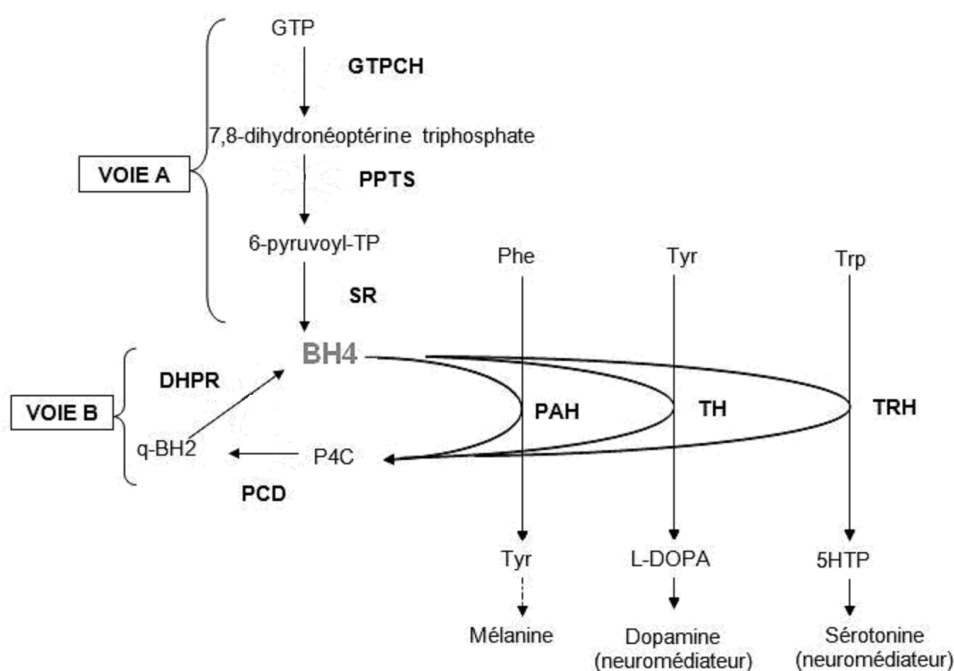
Domaines structuraux

<u>Domaine de régulation</u>	:	de l'acide aminé 1 à l'acide aminé 142.
<u>Domaine catalytique</u>	:	de l'acide aminé 143 à l'acide aminé 410.
<u>Domaine de « tétramérisation »</u>	:	de l'acide aminé 411 à l'acide aminé 452.

D'après www.biopku.org©

DOCUMENT 4

Métabolisme simplifié de la tétrahydroptérine (BH4)



Métabolites

GTP	= guanosine triphosphate
6-pyruvoyl-TP	= 6-pyruvoyl tétrahydroptérine
BH4	= tétrahydroptérine
P4C	= ptérine-4a-carbinolamine
q-BH2	= q-dihydrobioptérine
Phe	= phénylalanine
Tyr	= tyrosine
Trp	= tryptophane
L-DOPA	= L-dihydroxyphénylalanine
5HTP	= 5-hydroxytryptophane

Enzymes

TAH	= tryptophane hydroxylase
GTPCH	= guanosine triphosphate cyclohydrolase
PPTS	= 6-pyruvoyl tétrahydroptérine synthétase
SR	= sepiaptérine réductase
PCD	= ptérine-4a-carbinolamine déshydratase
DHPH	= dihydroptérine réductase
PAH	= phénylalanine hydroxylase
TH	= tyrosine hydroxylase

D'après <http://acces.ens-lyon.fr/>

(NDLR : il s'agit en réalité de la TRH du document plutôt écrite TPH habituellement dans la littérature)

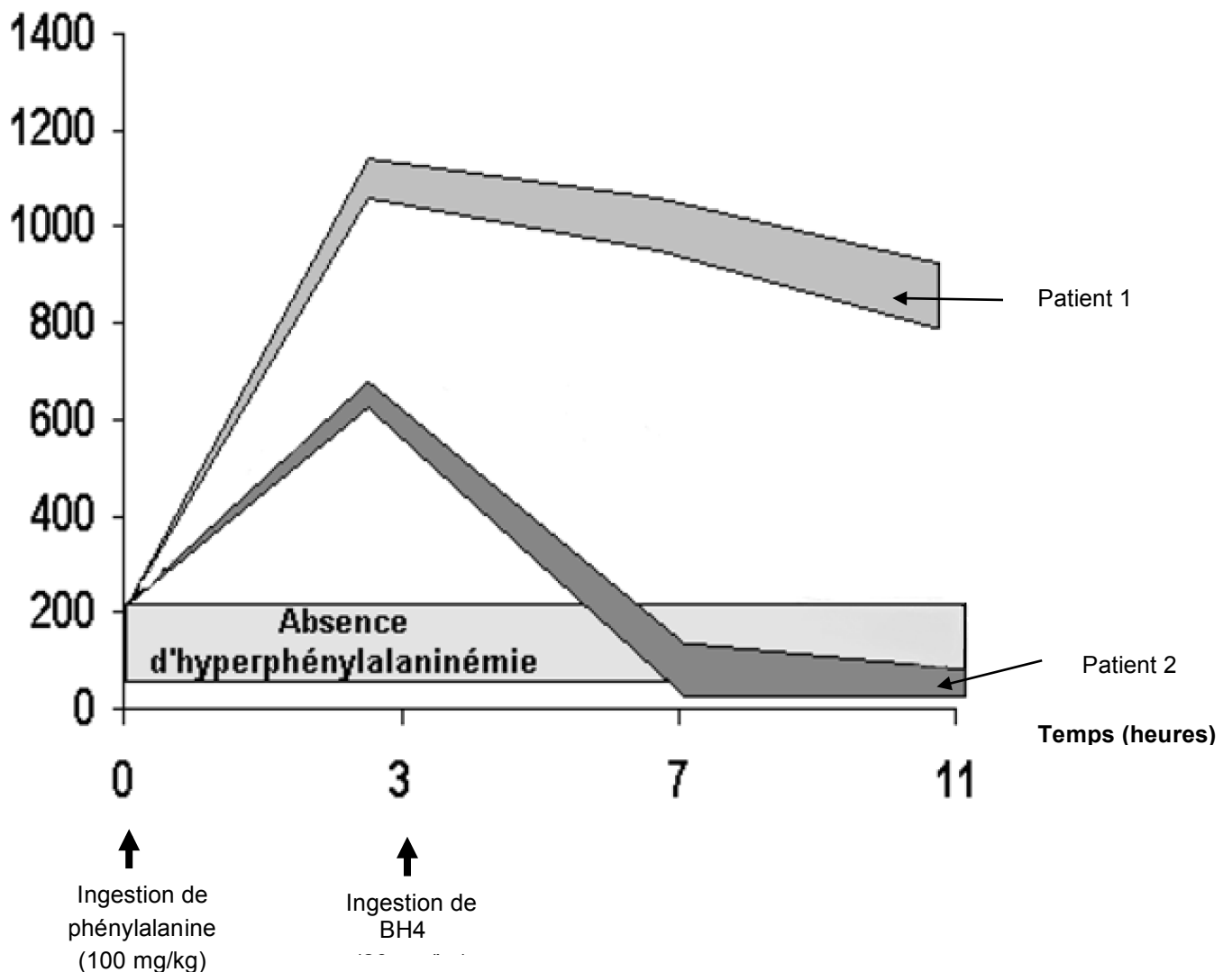
DOCUMENT 5

Test de charge au BH4

Ce test consiste à faire ingérer des tablettes de phénylalanine à raison de 100 mg/kg, et, 3 heures plus tard, de la BH4 dissoute dans un jus d'orange ou de l'eau. Des analyses sanguines sont réalisées avant l'ingestion de phénylalanine, puis 3, 7 et 11 heures après.

La phénylalaninémie, relativement modérée au départ, signifie qu'un régime alimentaire avait été mis en route dès le diagnostic d'hyperphénylalaninémie par le test de Guthrie.

Phénylalaninémie ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)



DOCUMENT 6

Test enzymatique pour le dosage quantitatif à but de diagnostic in-vitro de la L-Phénylalanine dans les cartes de sang de nouveau-nés humains

- Extraits -

1. PRÉLÈVEMENT :

Le sang de l'enfant est prélevé au talon, déposé puis séché sur une carte en cellulose selon une méthode standardisée.

2. PRINCIPE DU TEST :

La phénylalanine de la carte est éluée de façon quantitative avec de l'acide trichloracétique (3%). La phénylalanine est ensuite transformée par la phénylalanine-deshydrogénase en phényl-pyruvate.

Cette réaction est couplée à la réduction de NAD⁺. Le NADH, H⁺ obtenu réagit avec le sel de tétrazolium en formant du formazan (violet).

La concentration en formazan produit est proportionnelle à la concentration en phénylalanine dans l'échantillon sanguin et peut être mesurée par spectrophotométrie à 570 nm.

3. MATÉRIEL FOURNI :

RE80019	RE80015	Symbole	Composant
5 x	1 x	ENZ LYO	A préciser, voir question 2.1.2
1 x 220 mL	1 x 45 mL	ENZDIL	Diluant pour Enzyme Prêt(e) à l'emploi. Contient: diéthanolamine, Tampon, 0.01% NaN ₃ .
1 x 260 mL	1 x 55 mL	SUBS	A préciser, voir question 2.1.2
5 x 5	1 x 5	CAL A-E	Étalon A-E ~1; ~3; ~5; ~9; ~13 mg/dL Calibré avec CDC (Center for Disease Control and prevention). Contient: sang humain. Schleicher & Schuell papier No. 903. 15 Cartes de Sang / carte. Consulter les concentrations exactes sur les étiquettes ou le certificat CQ.
5 x 2	1 x 2	CONTROL1+2	Contrôle 1+2 Contrôle 1: ~ 2.0 – 3.0 mg/dL Contrôle 2: ~ 4.0 – 6.0 mg/dL Contient: sang humain. Schleicher & Schuell papier No. 903. 15 Cartes de Sang / carte. Concentrations / gammes acceptables sur les étiquettes ou sur le certificat CQ.

1. ÉLUTION DES CARTES DE SANG :

Perforer les cartes de sang étalons, contrôles et échantillons (diamètre 5 mm de chaque) et placer chaque disque dans un des tubes en polystyrène. Identifier tous les tubes.

Ajouter 100 µL d'acide trichloracétique dans chaque tube. S'assurer que chaque disque est complètement immergé dans le liquide.

Incuber 30-60 min à température ambiante (18-25°C) sur un agitateur orbital.

2. PROCÉDURE DU TEST :

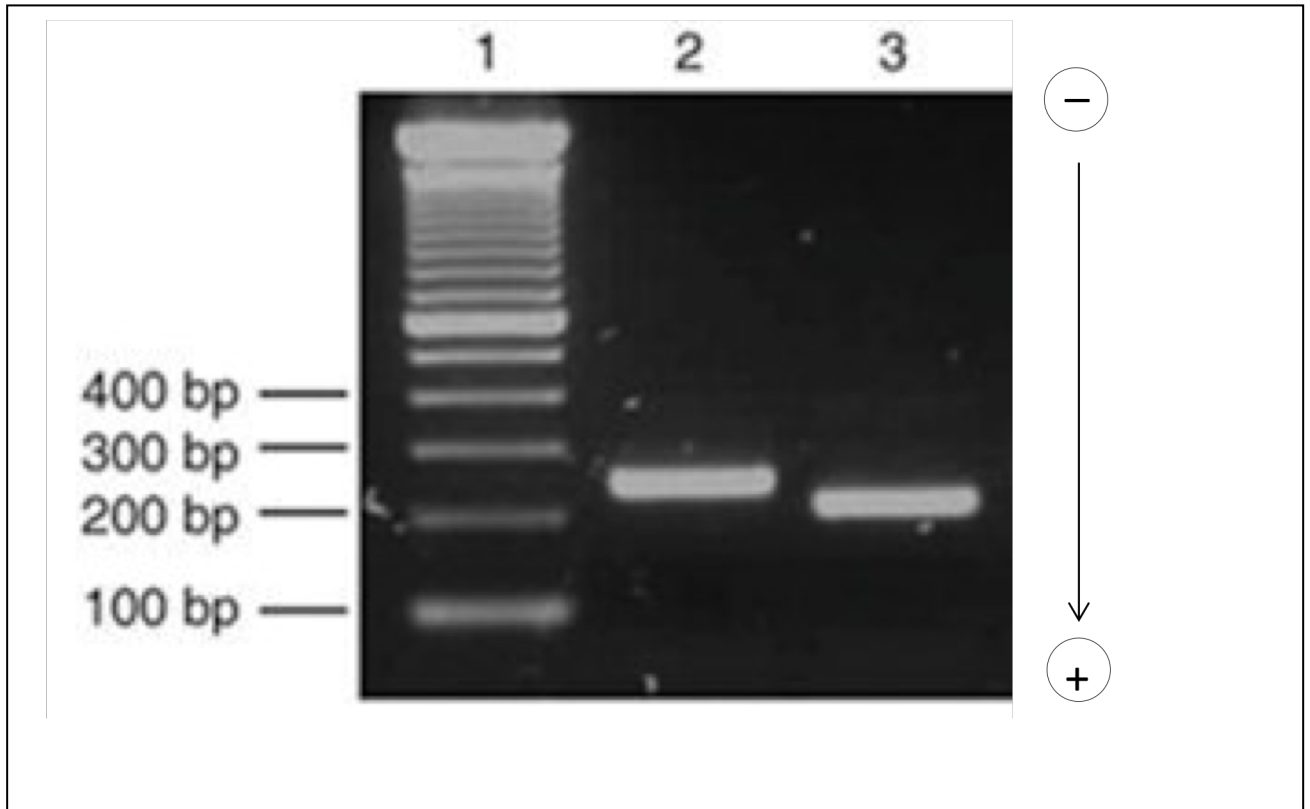
1.	Introduire 25 µL de NaOH 0.5 M dans chaque puits de la microplaque.
2.	Ajouter 75 µL de chaque Etalon, Contrôle et Éluat de disque sanguin dans les puits respectifs. Agiter la plaque rapidement.
3.	Ajouter 100 µL de Solution Enzymatique fraîchement préparée dans chaque puits.
4.	Incuber 30 min à température ambiante (18-25°C).
5.	Ajouter 100 µL de Substrat dans chaque puits. Agiter la plaque pendant 3 min sur un agitateur orbital (300-500 U/min ; amplitude 1.5-3mm)
6.	Mesurer l'absorbance avec un spectrophotomètre à 570 nm dans les 3-5 min après l'ajout du réactif substrat.

D'après « Phénylalanine (PKU) neonatal Screening Assay (RE80015/RE80019) ».

DOCUMENT 7

Résultats d'électrophorèse

Photographie du gel d'agarose (révélation au bromure d'éthidium) sur lequel ont été déposés des marqueurs de taille (piste 1), les produits de PCR obtenus à partir de l'ADN d'un sujet sain (piste 2), d'un patient souffrant de phénylcétonurie (piste 3).



DOCUMENT 8

Principe et résultat du chromatogramme

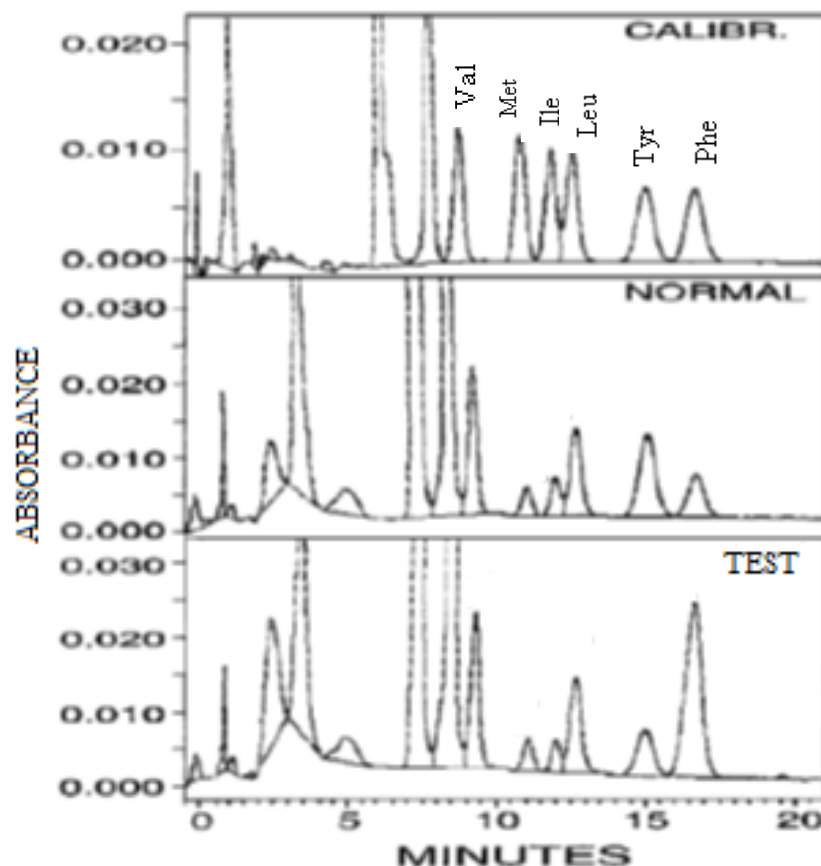
Extrait fiche technique de la colonne de chromatographie PCX 3100 de Pickering Laboratories (traduction) :

La colonne PCX 3100 a été développée pour permettre la détermination de la nature des acides aminés dans des échantillons, en utilisant une colonne échangeuse de cations. La séparation fait intervenir plusieurs phénomènes : échange d'ions, exclusion... La détection post-colonne des acides aminés peut se faire en utilisant la ninhydrine qui forme par réaction avec les acides aminés un produit détectable à 570 ou 405 nm.

Mode opératoire :

La colonne est équilibrée avec un tampon citrate de lithium à pH 2,8 à 39°C à un débit de 0,3 mL.min⁻¹. Après injection des échantillons (100 µL), des tampons citrate de lithium de différents pH sont ajoutés, en suivant un gradient de pH croissant jusqu'à pH 7,5. Enfin, la colonne est rincée, régénérée et rééquilibrée.

Résultats : chromatogrammes obtenus à partir d'un mélange d'acides aminés calibré (haut), de sérum de donneur sain (milieu) et de sérum à tester d'un enfant (bas).



D'après Andrew A. Reilly et al. Clinical Chemistry, 1998.

Durée : 3 heures Coefficient : 2
Aucun matériel autorisé

GROSSESSE ET PÉRINATALITÉ : RÔLE DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE (Barème sur 40 points)

Le suivi médical d'une femme enceinte comprend le dépistage de nombreuses infections (toxoplasmose, rubéole, hépatite B, syphilis) selon un calendrier programmé.

D'autres infections peuvent survenir au cours d'une grossesse et le laboratoire de microbiologie joue un rôle important dans le diagnostic et le suivi de la grossesse.

1. Diagnostic de la syphilis. (10 points)

Le dépistage de la syphilis est un test réalisé avant la fin du 3^{ème} mois de grossesse. Cette infection est due à un spirochète : *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*.

1.1. Proposer un schéma structural légendé du genre *Treponema*.

1.2. Indiquer le(s) mode(s) de transmission de la syphilis.

1.3. Décrire les différents stades de la maladie et indiquer les signes cliniques correspondants.

1.4. Le diagnostic biologique de la syphilis repose dans un premier temps sur deux tests sérologiques qualitatifs : VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) et TPHA (Treponema Pallidum Hemagglutination Assay). Dans le cas d'un résultat positif, un test quantitatif est réalisé.

Un extrait de la fiche technique du TPHA quantitatif est donné en **annexe 1**.

1.4.1. Expliquer la notion de test qualitatif.

1.4.2. Présenter le principe du TPHA qualitatif.

À la suite d'un test qualitatif positif chez une femme enceinte, un test TPHA semi-quantitatif est réalisé.

1.4.3. À partir de cette annexe, nommer les contrôles qualité à réaliser pour valider la technique et préciser leur composition.

1.4.4. Schématiser l'aspect des cupules dans le cas d'un contrôle qualité positif valide.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- Cupules de 1 à 4 : voile uniforme d'hématies recouvrant le fond de la cupule.
- Cupules de 5 à 7 : sédimentation des hématies au fond de la cupule.

1.4.5. Déterminer le titre du sérum en justifiant la réponse.

1.4.6. Interpréter le sérodiagnostic de la syphilis chez cette femme en début de grossesse.

2. Diagnostic de la toxoplasmose. (10,5 points)

La toxoplasmose est une anthrozoonose cosmopolite très répandue. L'agent pathogène, *Toxoplasma gondii*, est un protozoaire de l'embranchement des sporozoaires et de l'ordre des sarcosporidies.

La toxoplasmose, pathologie normalement asymptomatique chez le sujet sain, devient une infection redoutable chez la femme enceinte. La séroconversion concerne environ 5000 femmes enceintes par an en France. La fréquence de la toxoplasmose congénitale est estimée entre 1 à 2 cas pour 1000 naissances.

2.1. Le cycle de multiplication du toxoplasme est présenté en **annexe 2**.

2.1.1. Identifier les éléments parasitaires numérotés de 1 à 4.

2.1.2. Décrire les étapes (A à E) du cycle évolutif.

2.1.3. Indiquer en justifiant le(s) hôte(s) définitif(s) et intermédiaire(s).

2.2. Une sérologie mensuelle est recommandée pendant la grossesse afin de déterminer le taux d'IgG et d'IgM sériques.

Une patiente consulte son médecin à 12 semaines d'aménorrhée pour sa déclaration de grossesse. La sérologie de la toxoplasmose est négative.

2.2.1. Préciser et justifier les éventuelles mesures prophylactiques à adopter.

2.2.2. Les résultats des sérologies suivantes sont donnés en **annexe 3**. Interpréter ces résultats.

2.2.3. Préciser les conséquences possibles sur le développement du fœtus.

2.3. Le diagnostic de la toxoplasmose congénitale par utilisation d'une technique d'immuno-empreinte (Western-blot) permet de dépister rapidement les enfants contaminés asymptomatiques afin de les traiter précocement pour réduire le risque de complications.

Le diagnostic utilise un test qualitatif par comparaison des profils immunologiques IgG et IgM entre sang maternel et sang du cordon à la naissance.

Le mode opératoire du test est donné en **annexe 4**.

2.3.1. Représenter les différentes étapes du test sous forme de schémas annotés.

2.3.2. Préciser le rôle de chaque lavage.

2.3.3. Exploiter les résultats présentés en **annexe 5**.

3. Diagnostic d'une candidose. (6,5 points)

La candidose vaginale affecte 70 à 75% des femmes au moins une fois dans leur vie.

Au cours du 2^{ème} trimestre de la grossesse, une patiente présente les symptômes d'une candidose vaginale.

3.1. La candidose fait partie des infections opportunistes.

3.1.1. Définir « infection opportuniste ».

3.1.2. Citer deux facteurs favorisant la survenue d'une infection opportuniste.

3.1.3. Décrire l'aspect microscopique caractéristique d'un frottis vaginal coloré au Gram dans le cas d'une candidose.

3.1.4. Afin de préciser le diagnostic, le prélèvement a été ensemencé sur une gélose Sabouraud + chloramphénicol. Justifier l'utilisation de ce milieu.

3.2. Après 24 heures d'incubation à 30°C, les colonies obtenues sur gélose Sabouraud + chloramphénicol sont utilisées pour identifier rapidement la souche. Un test de blastèse est effectué.

3.2.1. Donner le mode opératoire du test de blastèse.

3.2.2. Pour la patiente ce test est positif. Décrire le résultat obtenu et conclure.

3.2.3. Citer un autre test rapide permettant de confirmer le diagnostic.

3.3. Lors d'un précédent épisode de candidose, la patiente a été soignée avec une molécule appartenant aux azolés. Afin de s'assurer qu'aucune résistance n'est apparue, le médecin a prescrit un E-test®. L'**annexe 6** montre le résultat de cet E-test® effectué pour le fluconazole.

3.3.1. Indiquer à quelle catégorie de molécules thérapeutiques appartiennent les azolés.

3.3.2. Réaliser la lecture de l'E-test® donné **en annexe 6**. Conclure sachant que la CMI habituelle vis-à-vis du fluconazole d'une souche sensible de l'espèce identifiée est de 1 mg.L⁻¹.

4. Diagnostic des infections à Cytomégalovirus (CMV). (4 points)

L'infection maternelle à CMV est fréquente. Sa transmission interhumaine se fait par les sécrétions oropharyngées, urogénitales et les transfusions de sang non déleucocyté.

Le CMV ou HHV-5 est un virus à ADN qui appartient à la famille des *Herpesviridae*.

4.1. Citer les principaux critères permettant la classification des virus.

4.2. Une représentation schématique du CMV est donnée **en annexe 7**. Reporter les numéros sur la copie et légènder.

Lors d'une primo-infection maternelle, le risque de contamination fœtale est de 30 à 50%. L'infection à CMV est recherchée sur le liquide amniotique. La culture cellulaire sur fibroblastes humains (MRC5) met en évidence un antigène très précoce du CMV après 24 à 48 heures. Au bout d'un délai de 7 à 21 jours, un effet cytopathique (ECP) apparaît.

4.3. Donner les caractéristiques des deux types de cellules utilisables en culture cellulaire et discuter de leurs intérêts respectifs.

4.4. Ce virus, comme tous les virus de la famille des *Herpesviridae*, est responsable d'infections latentes pouvant se réactiver.

4.4.1. Expliquer le phénomène de latence.

4.4.2. Citer deux facteurs favorisant la réactivation.

5. Diagnostic anténatal d'un streptocoque du groupe B ou *Streptococcus agalactiae*. (9 points)

Streptococcus agalactiae est responsable de 30 à 50% des infections bactériennes néonatales. Dans le cadre de la prévention anténatale de ce risque infectieux, la Haute Autorité de Santé (HAS) préconise une recherche systématique du portage vaginal de streptocoque B en fin de grossesse.

5.1. Citer les infections néonatales impliquant *Streptococcus agalactiae*.

5.2. Un prélèvement vaginal réalisé chez une femme enceinte à 36 semaines d'aménorrhée a été isolé sur gélose au sang + ANC. La composition de ce milieu est donnée en **annexe 8**.

5.2.1. Donner les principales caractéristiques de ce milieu ; préciser les conditions d'incubation dans le cadre d'une recherche de *Streptococcus agalactiae*.

5.2.2. Donner l'aspect des colonies suspectes de *Streptococcus agalactiae*.

5.2.3. Donner le principe du test rapide permettant d'aboutir à l'identification d'un *Streptococcus agalactiae* à partir des colonies isolées.

5.2.4. De nombreux laboratoires réalisent actuellement l'isolement sur milieu chromogène. Un extrait de la fiche technique d'un milieu chromogène est donné en **annexe 9**. Exploiter le document en dégagant l'intérêt de ce milieu par rapport à la gélose au sang + ANC.

5.3. Un antibiogramme par méthode de diffusion a été réalisé à partir de colonies de streptocoques B isolées. Les résultats de l'antibiogramme sont donnés ci-dessous :

Nom de l'antibiotique	Diamètre d'inhibition en mm
Oxacilline 5 µg	22
Lévofoxacine	23
Gentamicine 500 µg	20
Lincomycine	24
Vancomycine	20
Erythromycine	26

5.3.1. Expliquer, en utilisant l'**annexe 10**, comment évaluer la sensibilité des streptocoques à la pénicilline G. Conclure dans le cas de la souche étudiée.

5.3.2. Les streptocoques possèdent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides (ou aminoglycosides).

5.3.2.1. Donner la cible cellulaire des aminosides.

5.3.2.2. Définir la résistance naturelle.

5.3.2.3. Expliquer le mécanisme de la résistance de bas niveau aux aminosides chez les streptocoques.

5.3.3. L'antibiogramme d'un streptocoque doit permettre de rechercher les souches à haut niveau de résistance aux aminosides.

5.3.3.1. Indiquer comment détecter ces souches sur un antibiogramme standard.

5.3.3.2. Conclure dans le cas de la souche étudiée.

5.3.3.3. Expliquer l'intérêt thérapeutique d'une telle recherche en utilisant l'**annexe 10**.

ANNEXE 1

TPHA quantitatif réalisé sur le sérum de la femme en début de grossesse

• **COMPOSITION DES REACTIFS :**

Réactif 1 (R1)	Hématies –antigène : suspension d'hématies de poules sensibilisées par des composants solubles de <i>Treponema pallidum</i> , azoture de sodium 1g/L.
Réactif 2 (R2)	Diluant (PBS 0,01mol/L - pH 7,2) Azoture de sodium.
Réactif 3 (R3)	Sérum de contrôle positif (humain) de titre connu indiqué en inverse de dilution sur l'étiquette, soit 320 pour le contrôle utilisé.
Réactif 4 (R4)	Sérum de contrôle négatif (humain).

• **MODE OPERATOIRE : TEST QUANTITATIF EN PLAQUE DE MICROTITRATION :**

- Préparer dans un tube une dilution au 1/40^e du sérum à tester et des sérums contrôles R3 et R4 dans le diluant R2.
- Suivre le schéma décrit dans le tableau ci-dessous :

N° cupule	1	2	3	4	5	6	7
Réactif 2 (R2) (µL)		50	50	50	50	50	50
Sérum à tester dilué au 1/40 (µL)	50	50					
Volume transféré (µL)			50	50	50	50	50
Réactif R1 (R1) (µL)	50	50	50	50	50	50	50
Titre du sérum	80	160	320	640	1280	2560	5120

50 µL

• **CONTRÔLE QUALITÉ :**

- Le titre du sérum de contrôle positif (R3) doit présenter un titre égal à la valeur indiquée à +/- une dilution.
- Le sérum de contrôle négatif (R4) doit être trouvé négatif.

• **LECTURE :**

Réaction positive : voile uniforme d'hématies recouvrant le fond de la cupule, pouvant être parfois partiellement rétracté en bordure.

Réaction négative : bouton compact d'hématies au fond de la cupule.

Le titre de l'échantillon correspond à l'inverse de la plus grande dilution finale du sérum, qui fournit un résultat positif.

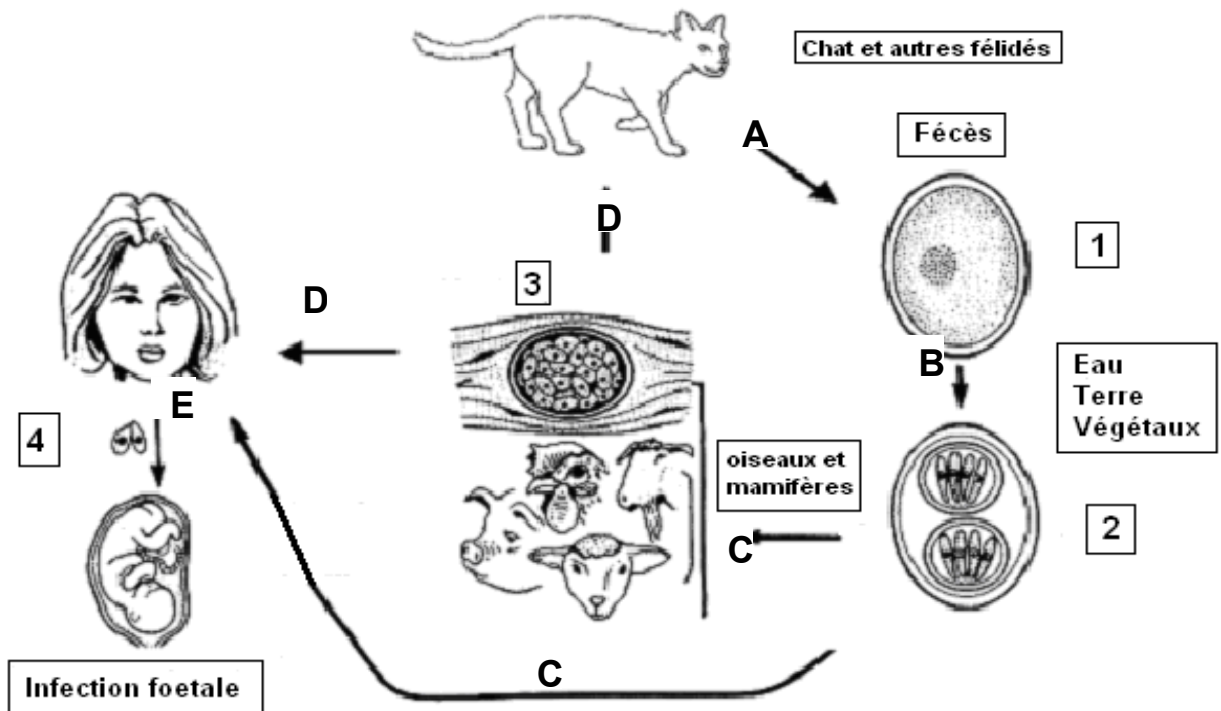
• **INTERPRETATION :**

Un titre du sérum supérieur à 80, lors du test quantitatif, correspond soit à un début de syphilis, soit à la cicatrice sérologique d'une syphilis traitée. Un autre échantillon prélevé plus tardivement doit alors être examiné pour mettre en évidence une éventuelle augmentation du taux d'anticorps.

Extrait de la fiche technique TPHA 100 (BioMérieux ®).

ANNEXE 2

Cycle de multiplication de *Toxoplasma gondii*



ANNEXE 3

Résultats des sérologies de la patiente au cours de la grossesse

Semaines d'aménorrhée	16	20	24
Taux d'IgG	négatif	négatif	positif
Taux d'IgM	négatif	négatif	positif

ANNEXE 4

Fiche technique Immuno-empreinte

Origine et description des bandelettes :

Après lyse du parasite, les antigènes de *Toxoplasma gondii* sont séparés par électrophorèse sur gel de polyacrylamide et transférés à la surface de bandelettes de nitrocellulose (technique du Western blot). Les bandelettes sont fournies prêtes à l'emploi.

Déroulement du test :

- **Immuno-empreinte IgG**

- Incubation séparément de deux bandelettes, chacune avec l'un des deux sérums dont on veut comparer les profils sérologiques
- Lavage des bandelettes
- Incubation des bandelettes avec le conjugué **anti-IgG humaines**-phosphatase alcaline
- Lavage
- Incubation des bandelettes avec un substrat de la phosphatase alcaline
- Lavage
- Séchage des bandelettes

- **Immuno-empreinte IgM**

Le test est identique en remplaçant le conjugué précédent par un conjugué **anti-IgM humaines**-phosphatase alcaline

Lecture et interprétation :

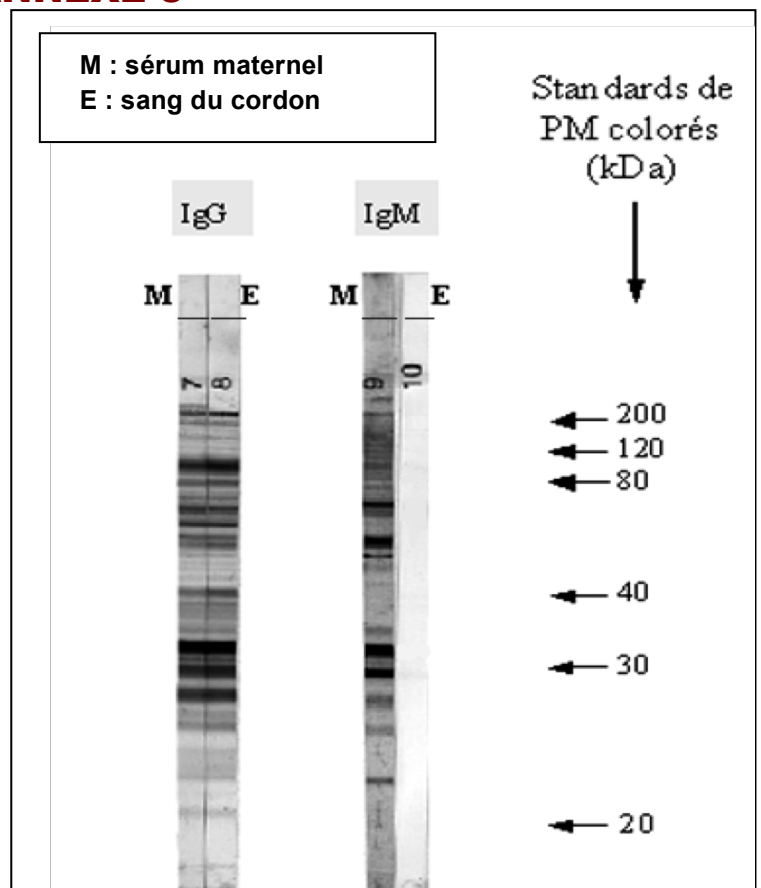
Les bandes antigéniques reconnues par les anticorps anti-toxoplasme de classe IgG ou de classe IgM sont révélées par la formation de bandes transversales violettes.

Extrait de la fiche technique Toxoplasma Western blot IgG-IgM (IDdiagnostics®).

ANNEXE 5

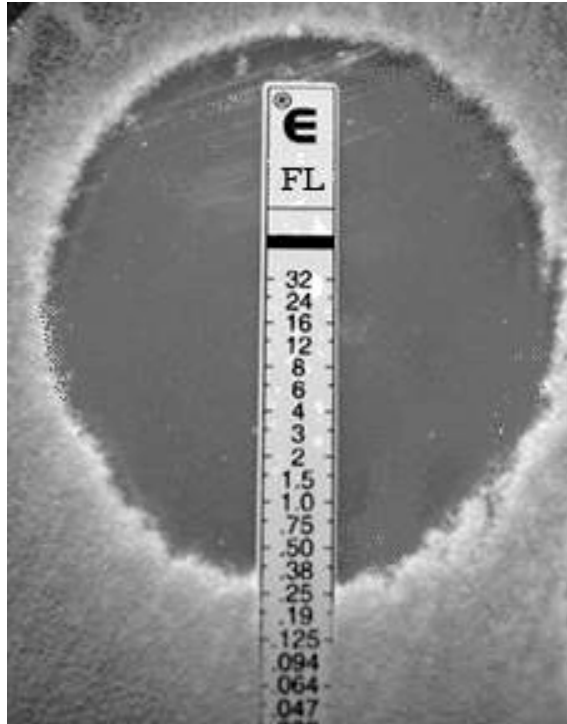
Résultat du profil mère – enfant

Toute bande, d'un poids moléculaire (PM) inférieur à 120 kDa et présente **uniquement** chez l'enfant, témoigne de la synthèse par l'enfant d'anticorps antitoxoplasme, en faveur d'une toxoplasmose congénitale



ANNEXE 6

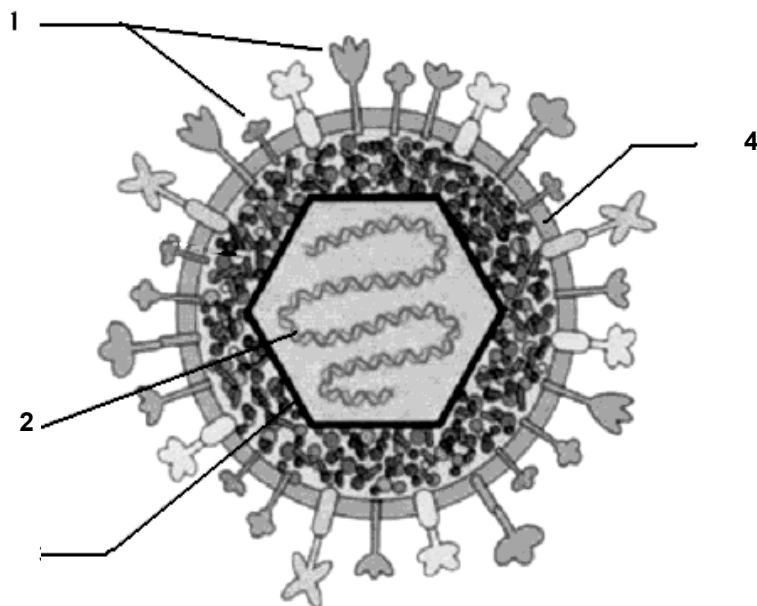
Résultat de l'E-test® effectué pour le fluconazole



Les valeurs indiquées sur la bandelette sont en mg.L⁻¹

ANNEXE 7

Schéma de structure du CMV



ANNEXE 8

Gélose au sang frais + ANC : Composition du milieu en grammes par litre d'eau distillée

Mélange de peptones	13
Hydrolysate de protéines animales et végétales	10
Amidon de maïs	1
Chlorure de sodium	5
Agar	13,5
Acide nalidixique	0,015
Colistine	0,001
Sang frais défibriné de mouton	5%

ANNEXE 9

Extrait de la fiche technique du milieu StrepB Select™ (BioRad)

- **Principe :**

StrepB Select est un milieu gélosé, sélectif et chromogène particulièrement bien adapté pour la détection et l'identification présomptive des streptocoques du groupe B (SGB) ou *Streptococcus agalactiae* dans les prélèvements vaginaux ou vagino-rectaux de la femme enceinte.

La composition en peptones et substances nutritives favorise la croissance des SGB.

Le mélange sélectif permet d'inhiber la croissance de la plupart des microorganismes, à l'exception des streptocoques, de certains entérocoques et lactobacilles.

Plusieurs substrats chromogéniques permettent la détection d'activités enzymatiques conférant une coloration caractéristique des colonies des espèces suivantes :

- SGB : colonies bleues,
- entérocoques : colonies de couleur rose à violet,
- lactobacilles : petites colonies de couleur rose.

- **Utilisation :**

Ensemencer directement les produits biologiques sur StrepB Select, selon les techniques conventionnelles d'isolement.

Incuber en atmosphère aérobie, à l'abri de la lumière, à 35-38°C, pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture –Interprétation :**

Colonies bleues : forte présomption de SGB.

Confirmer le groupe de Lancefield par groupage antigénique.

ANNEXE 10

**Extrait du tableau XIII du document de la SFM (Société française de microbiologie)-
Édition de janvier 2010**

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G Ampicilline Amoxicilline Céfotaxime	-	≤ 0,25	>2	-	-	<i>La sensibilité des streptocoques à la pénicilline G est évaluée avec un disque d'oxacilline à 5 µg (OXA-5) selon les critères suivants :</i> <ul style="list-style-type: none"> - Diamètre OXA-5 ≥ 21 mm : souche sensible à la pénicilline G. Cette interprétation est prédictive de l'activité des autres β-lactamines incluant les streptocoques dans leur spectre. - Diamètre OXA-5 < 21 mm : souche I ou R à la pénicilline G. <i>Devant toute souche de sensibilité diminuée, il y a lieu de déterminer la CMI de l'ampicilline, de l'amoxicilline ou du céfotaxime. (...)</i>
Streptomycine Kanamycine Gentamicine	500 µg 1000 µg 500 µg	≤ 250 ≤ 250 ≤ 250	>500 >500 >500	≥14 ≥14 ≥17	<12 <10 <11	<i>Les streptocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminoglycosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'un haut niveau de résistance (HNR) aux aminoglycosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (500 µg), kanamycine (1000 µg) et gentamicine (500µg) abolit cet effet synergique bactéricide. (...)</i>
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	>8	≥23	<19	<i>Interprétation valable pour thiamphénicol.</i>
Tétracycline	30 UI	≤1	>2	≥23	<21	<i>Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf pour la minocycline.</i>
Erythromycine	15 UI	≤0,25	>0,5	≥26	<24	<i>Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine</i>
Spiramycine	100 µg	≤1	>4	≥24	<19	
Télithromycine	15 µg	≤0,25	>0,5	≥24	<21	

Durée : 2 heures Coefficient : 2
Aucun matériel utilisé

1. Chute au domicile. (25 points)

Un patient de 65 ans est admis aux urgences. Il a été retrouvé gisant depuis plusieurs heures dans sa cuisine, sa jambe ayant brutalement cédé sans raison apparente. Il présente une fracture ouverte du fémur et a perdu beaucoup de sang. L'équipe de secours a stabilisé le patient par une perfusion de sérum physiologique avant de le transporter aux urgences.

1.1. Justifier la nécessité d'une perfusion en cas d'hémorragie importante.

1.2. Un hémogramme est réalisé à l'arrivée du patient aux urgences. Construire un tableau comparatif de l'évolution des paramètres érythrocytaires par rapport à un individu normal avant perfusion et après perfusion.

Le service d'urgence éprouve de grandes difficultés à stopper l'hémorragie. L'étude de l'hémostase montre des temps de coagulation (temps de céphaline activée ou TCA ; temps de Quick ou TQ) significativement allongés.

1.3. Commenter l'allongement combiné du TCA et du TQ.

L'équipe d'urgence suspecte une CIVD (coagulation intravasculaire disséminée) et demande un dosage des D-Dimères.

1.4. Expliquer l'origine des D-dimères, et leur intérêt en analyses biologiques.

1.5. Le taux de D-Dimères chez ce patient est significativement augmenté : conclure.

L'arrêt des saignements dans le cas d'une CIVD est complexe et utilise paradoxalement des traitements antithrombotiques : antithrombine (AT), héparine...

1.6. Préciser la nature biochimique de l'AT (ou antithrombine-III ou AT-III) et son rôle physiologique.

1.7. Indiquer le mode d'action de l'héparine.

Dans ce contexte d'hémorragie et de CIVD, une transfusion sanguine est réalisée.

1.8. Indiquer l'intérêt pour ce patient d'un apport :
- de culot globulaire ;
- de plasma.

Le groupage ABO et le phénotypage Rhésus sont réalisés sur carte de groupage et centrifugation en gel. L'**annexe 1** montre les résultats de cette détermination.

1.9. Interpréter les résultats et conclure.

1.10. En ne tenant compte que du groupage ABO et du phénotypage Rhésus standard, indiquer les caractéristiques des sangs transfusables à ce patient. Justifier la réponse.

Le médecin des urgences veut poursuivre quelques explorations car vu le contexte clinique et les résultats des examens du laboratoire, il suspecte une maladie de Kahler (myélome multiple).

1.11. Définir la maladie de Kahler.

1.12. Citer l'examen hématologique qui permet de poser définitivement le diagnostic. Préciser son résultat.

1.13. Expliquer la modification de la vitesse de sédimentation (VS) dans la maladie de Kahler.

Une immunofixation permet la caractérisation de la maladie de Kahler.

1.14. Rappeler les étapes de réalisation de l'immunofixation.

1.15. Interpréter le résultat de l'immunofixation présenté en **annexe 2**. Conclure.

2. Forte fièvre. (15 points)

Un homme de 43 ans revenant d'un voyage en Afrique équatoriale (zone endémique de *Plasmodium falciparum*) est admis aux urgences. Il présente un état fébrile élevé depuis plusieurs heures.

Le médecin de garde suspecte un cas de paludisme. Le diagnostic du paludisme est une urgence car la maladie est potentiellement mortelle.

En plus de l'examen microscopique, le laboratoire de garde utilise un test immunochromatographique de mise en œuvre très rapide. Ce test est décrit en **annexe 3**.

2.1. Proposer un schéma du principe de ce kit, en s'appuyant sur l'**annexe 3**.

2.2. Préciser le rôle du contrôle.

Les anticorps mis en jeu dans ce kit sont des anticorps monoclonaux obtenus par la technique des hybridomes.

2.3. Définir l'expression « anticorps monoclonaux ».

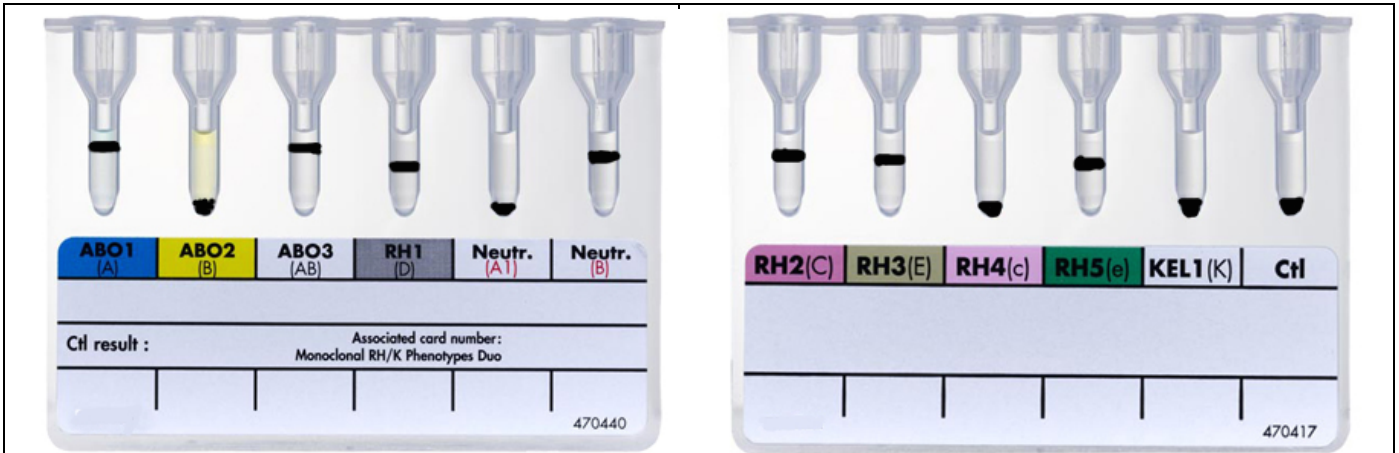
2.4. Présenter les principales étapes de l'obtention d'un hybridome.

Le patient est finalement traité par un antipaludéen. Quelques heures après son état s'aggrave brutalement. Le diagnostic de choc anaphylactique à l'antipaludéen est rapidement posé. Le choc anaphylactique est un exemple de réaction d'hypersensibilité de type I.

2.5. Présenter succinctement les étapes conduisant à une réaction d'hypersensibilité de type I.

2.6. Représenter sous forme de schéma annoté les modalités d'activation d'un lymphocyte B par un allergène (antigène thymo-dépendant).

ANNEXE 1



De gauche à droite :

ABO1(A), ABO2(B), ABO3(AB) : tests de l'épreuve de Beth-Vincent du groupage ABO

Le tube noté ABO1(A) contient des anticorps anti-A

Le tube noté ABO2(B) contient des anticorps anti-B

Le tube noté ABO3(AB) contient des anticorps anti-A + anti B

RH1 : recherche de l'antigène D du système Rhésus. Ce tube contient un anticorps anti D.

Neutr.(A1), Neutr(B) : tests de l'épreuve de Simonin du groupage ABO

Le tube noté Neutr.(A1) contient des globules rouges A1

Le tube noté Neutr (B) contient des globules rouges B

De gauche à droite :

RH2 : recherche de l'antigène C du système Rhésus

RH3 : recherche de l'antigène E du système Rhésus

RH4 : recherche de l'antigène c du système Rhésus

RH5 : recherche de l'antigène e du système Rhésus

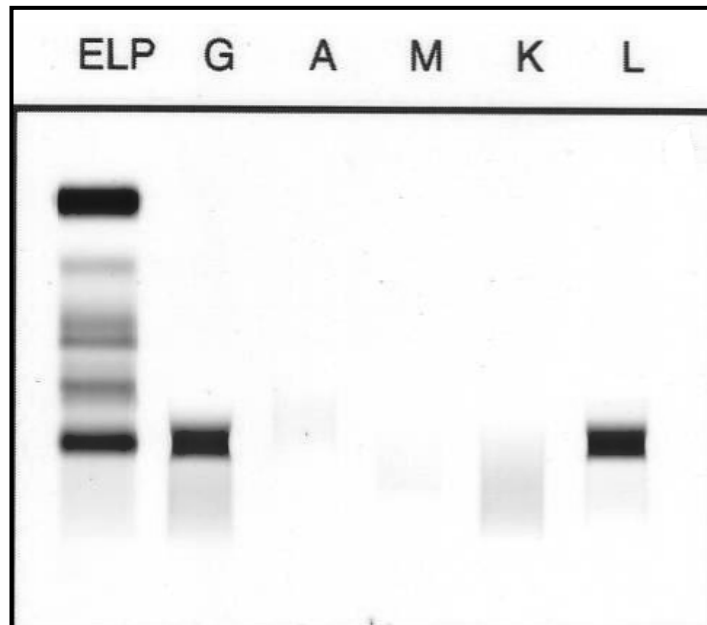
KEL1 : recherche de l'antigène K du système Kell

Ces tubes contiennent un anticorps spécifique de l'antigène recherché.

Ctl : contrôle (valable pour les deux cartes)

Photos tirées d'une documentation de la société BioRad.

ANNEXE 2



Légende des pistes :

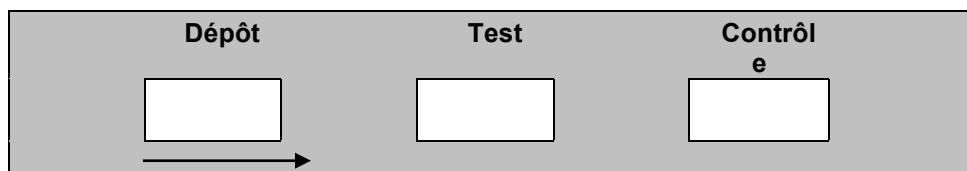
- ELP : électrophorèse des protéines totales du sérum du patient.
- G : sérum anti-gamma.
- A : sérum anti-alpha.
- M : sérum anti-mu.
- K : sérum anti-kappa.
- L : sérum anti-lambda.

ANNEXE 3

Le test immunochromatographique du paludisme utilisé repose notamment sur la détection de l'antigène "histidine rich protein 2 (HRP2)" spécifique de l'espèce *Pl.falciparum*.

Le kit contient :

- une bandelette support, présentant trois zones (voir schéma de gauche à droite) :
 - une zone de dépôt (goutte de sang du patient avec ou sans l'antigène recherché),
 - une zone de lecture (présentant une bande colorée lorsque le patient est positif),
 - une zone de contrôle (présentant une bande colorée témoignant du dépôt d'une quantité suffisante d'échantillon).



- des anticorps libres, dirigés contre l'antigène HRP2, marqués (par l'or colloïdal), dans l'une des trois zones,
- des anticorps fixés au support, non marqués, eux aussi dirigés contre l'antigène HRP2, dans l'une des trois zones,
- des anticorps anti-anticorps, fixés sur le support dans l'une des trois zones.

Les épreuves de travaux pratiques se déroulent en « cours de formation » dans le cadre des formations initiales des établissements agréés. Les autres candidats passent une épreuve terminale de TP dont voici un sujet.

E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2014

Durée : 4 heures Coefficient : 2,5

Matériel autorisé :

- CALCULATRICE AUTORISÉE.
- **Aucun document autorisé en dehors de la documentation fournie.**

SYNDROME NÉPHROTIQUE

Un homme présentant des signes d'œdème, une asthénie importante et une fièvre oscillant entre 38 et 39,5°C consulte. Le médecin suspectant un syndrome néphrotique prescrit des examens biochimiques : protéinémie, protéinurie, triglycéridémie ainsi que la détermination de la concentration d'activité catalytique de la LDH sérique qui peut révéler une nécrose.

Le diagnostic biologique repose sur les résultats suivants :

- protéinurèse supérieure à 3 g/ 24h,
- hypoprotéinémie (protéinémie inférieure à 60 g.L⁻¹),
- œdème.

Auquel s'ajoutent habituellement :

- hypertriglycéridémie (concentration sérique en triglycérides trois fois supérieure à la normale pour ce patient),
- hypercholestérolémie.

1. Dosage des protéines par la méthode du Biuret

1.1. Étalonnage

- Préparer directement en cuves à partir de la solution étalon de protéines à 10,0 g.L⁻¹, 5 étalons contenant de 0 à 5 mg de protéines par cuve, sous un volume de 0,5 mL, (compléter avec de l'eau physiologique).



- Ajouter dans chaque cuve 2 mL de réactif de Gornall.
- Homogénéiser puis incuber 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité. Lire l'absorbance à 540 nm, contre un témoin réactif. La coloration est stable plusieurs heures.

1.2. Détermination de la protéinémie et protéinurèse

Réaliser en suivant le protocole donné ci-dessous :

- 2 essais sur le sérum du patient correctement dilué,
(matériel pour la dilution fourni au candidat après demande à l'examineur)
- 2 essais sur l'urine du patient collectée pendant 24 h,
- 1 essai sur le contrôle à $4,00 \text{ g.L}^{-1}$ en protéines.

Protocole :

Introduire en cuve :

- 0,5 mL d'échantillon à analyser (sérum dilué, urine ou contrôle),
- 2 mL de réactif de Gornall.

1.3. Résultats

- 1.3.1. Construire le tableau de réalisation de la gamme d'étalonnage.
- 1.3.2. Établir la liste du matériel nécessaire à la dilution du sérum.
- 1.3.3. Récapituler les résultats expérimentaux dans un tableau.
- 1.3.4. Tracer la courbe d'étalonnage à l'aide de l'outil informatique.
- 1.3.5. Valider les résultats.
- 1.3.6. Déterminer la protéinémie et la protéinurèse.
- 1.3.7. Conclure.

Données :

Protéinémie physiologique: $65 \text{ à } 75 \text{ g.L}^{-1}$	$S_{\text{r sérum}} = 2,0 \text{ g.L}^{-1}$
Diurèse du patient: $1,3 \text{ L} / 24\text{h}$.	$U_{\text{c sérum}} = 2,8 \text{ g.L}^{-1}$
Intervalle de validation: $[3,50 ; 4,50] \text{ g.L}^{-1}$	$S_{\text{r urine}} = 0,15 \text{ g.L}^{-1}$
	$U_{\text{c urine}} = 0,20 \text{ g.L}^{-1}$

2. Détermination de la concentration catalytique de la LDH

La détermination de l'activité LDH est réalisée à l'aide du kit commercial dont la fiche technique est présentée en ANNEXE.

2.1. Réactifs

- Réactif 1 repris par le réactif 2.
- Sérum du patient.

2.2. Mode opératoire

La technique est réalisée devant un examinateur

Réaliser un essai selon le mode opératoire de la fiche technique donnée en ANNEXE.

- température : 37°C ,
- longueur d'onde de lecture : 340 nm .

2.3. Résultats

- 2.3.1. Présenter les résultats expérimentaux sous forme d'un tableau.
- 2.3.2. Démontrer par le calcul le facteur k de la formule donnée par la fiche technique : $U.L^{-1} = n \times \text{facteur k}$.
- 2.3.3. Déterminer la variation d'absorbance par minute.
- 2.3.4. Calculer la concentration d'activité catalytique de la LDH.
- 2.3.5. Conclure.

Données :

- Incertitude-type composée (uc_{LDH}) = 6 U.L⁻¹
- Longueur de la cuve : $l = 1$ cm
- $\epsilon_{NADH, H^+} = 6300$ L.mol⁻¹.cm⁻¹ à 37 °C et à 340 nm

3. Conclusion générale

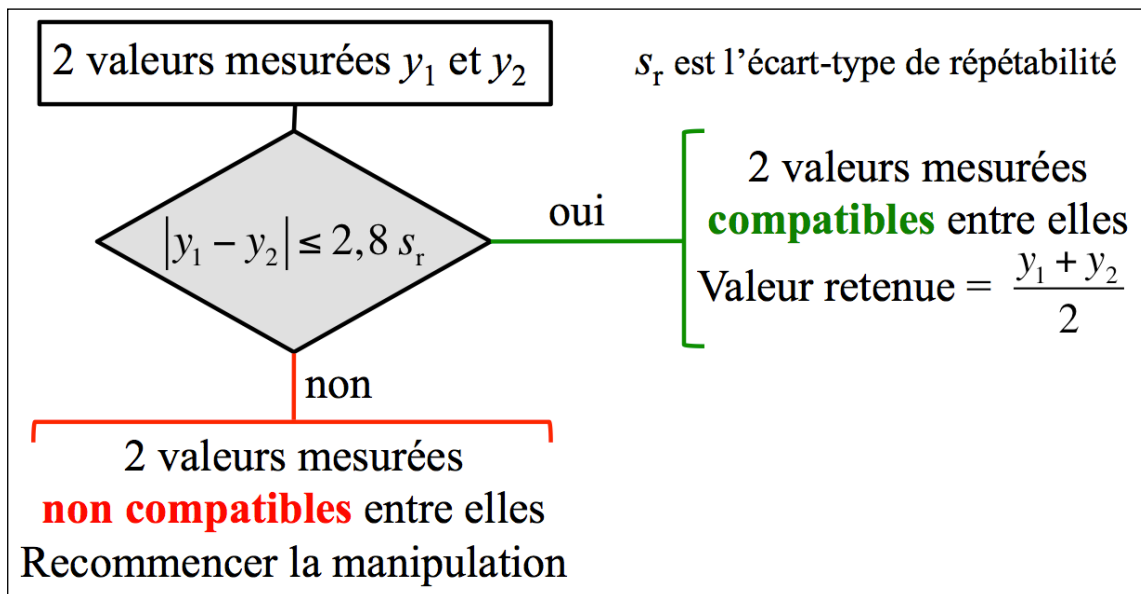
- Interpréter les résultats obtenus en fonction du contexte présenté.
- Conclure.

Mise en application des normes de métrologie pour l'acceptabilité et l'expression des résultats des essais

Logigramme d'acceptabilité des résultats

Pour vérifier l'acceptabilité des résultats expérimentaux, il est nécessaire de connaître l'écart type de répétabilité (s_r).

La démarche à suivre est illustrée dans le logigramme suivant :



Expression des résultats

Le résultat final est rendu à $\pm 2 U_c$.

ENZYLINE™ LDH optimisé 10

IVD

Mesure cinétique de l'activité lactate déshydrogénase dans le sérum humain, selon les recommandations de la Société de Chimie Clinique Allemande (DGKC).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1, 2)

La lactate déshydrogénase (LDH) joue un rôle important dans le métabolisme des glucides ; elle catalyse l'interconversion pyruvate ↔ lactate. Elle est présente dans de nombreux tissus des mammifères, principalement dans le myocarde, le rein, le foie, les muscles squelettiques, les hématies, les poumons.

L'activité LDH sérique totale est déterminée pour détecter une souffrance cellulaire, sans indication à elle seule sur l'organe atteint. C'est un des tests les plus fréquemment exécutés dans l'aide au diagnostic de l'infarctus du myocarde et de l'infarctus pulmonaire.

La LDH existe sous 5 formes (isoenzymes). Chaque isoenzyme est un tétramère formé par l'association de deux sous-unités codées par des gènes différents : la sous-unité H (= Heart) cardiaque, et la sous-unité M (= Muscle) musculaire et hépatique. Les 5 combinaisons possibles (H4 = LDH-1, H3M = LDH-2, H2M2 = LDH-3, HM3 = LDH-4 et M4 = LDH-5) sont retrouvées dans le plasma.

La LDH-1 prédomine dans le myocarde et les hématies.

La LDH-2 prédomine dans les leucocytes.

La LDH-3 prédomine dans le poumon.

La LDH-4 prédomine dans le rein, le placenta et le pancréas.

La LDH-5 prédomine dans le foie et le muscle squelettique.

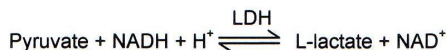
En cas d'infarctus du myocarde, la LDH-1 sérique augmente après 8 à 12 heures, présente un pic au bout de 48 heures et se normalise en 7 à 15 jours. Son dosage est un test très sensible car elle augmente de façon précoce et reste élevée plus longtemps que la CK-MB et la GOT.

Une augmentation de l'activité sérique LDH totale est observée en cas de :

- affections musculaires et cardiaques,
- affections hépatiques,
- maladies pulmonaires,
- maladies hématologiques,
- Autres maladies : insuffisance rénale aiguë, rejet de greffe rénale, tumeur rénale, connectivites, collagénoses...
- grossesse, surtout 2^{ème} et 3^{ème} trimestre.

PRINCIPE (3)

ENZYLINE™ LDH optimisé permet la détermination cinétique de l'activité lactate déshydrogénase totale dans le sérum humain, en utilisant comme substrat le pyruvate.



La vitesse de disparition du NAD réduit est proportionnelle à l'activité LDH totale dans l'échantillon.

Code SFBC : BN

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET (106 tests)

Réactif 1 Tampon 2 x 90 ml (liquide)	R1	Tampon phosphate pH 7,5 Pyruvate NaN ₃	61,8 mmol/l 0,62 mmol/l 1 g/l
Réactif 2 (repris par R1) Coenzyme 16 x 10 ml (lyophilisé)	R2	NADH	0,22 mmol/l
1 notice			

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Equipement général de laboratoire.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Le réactif contient un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret à 2-8°C.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS

Nature des échantillons (1, 4)

Sérum.

Stabilité (4, 5)

- 4 jours à 2-8°C.
- 3 jours à 20-25°C.

Interférences

Il n'a pas été observé, pour ce dosage, d'influence significative :

- de la lipémie, après surcharge d'échantillons en lipides, jusqu'à 7 mmol/l d'équivalent triglycérides,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 139 µmol/l.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés en raison de la grande quantité de LDH présente dans les érythrocytes (1, 4).

Il est néanmoins conseillé de ne pas utiliser d'échantillons visiblement lipémiques ou icteriques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

MODE OPERATOIRE MANUEL**Préparation des réactifs**

Reprendre le contenu d'un flacon de Réactif 2 par 10 ml de Réactif 1.

La DO à 340 nm doit être supérieure à 1,0.

Stabilité après ouverture, dans le flacon d'origine

- 5 jours à 2-8°C.
- 24 heures à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : — 340 nm (Hg 334 nm – Hg 365 nm)

Température : — 30°C ou 37°C

Cuve : — trajet optique 1 cm

Zéro de l'appareil : — air ou eau déminéralisée

Introduire dans un tube ou une cuve de mesure thermostaté à 30°C ou 37°C :

	30°C	37°C
Réactif 2 repris	1,5 ml	1 ml
Echantillon	50 µl	20 µl

Mélanger.
Attendre 45 secondes.
Mesurer la diminution moyenne de DO par min (n) pendant 2 minutes maximum.

- Pour une variation moyenne de DO par min $\geq 0,100$ à 340 nm, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/5 ou 1/10 dans une solution de NaCl à 9 g/l.
- Une variation de DO moyenne par minute très faible peut indiquer une consommation totale du NADH avant lecture (DO de départ < 0,900) et donc signifier une activité LDH élevée. Refaire la détermination après dilution de l'échantillon.

RESULTATS ET INTERPRETATION

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Calcul

	30°C	37°C
340 nm	U/l = n x 4920	U/l = n x 8095
334 nm	U/l = n x 5016	U/l = n x 8252
365 nm	U/l = n x 9118	U/l = n x 15000

CONTROLE DE QUALITE

- LYOTROL™ N (Réf. 62 373)
- LYOTROL™ P (Réf. 62 383)
- UNITROL™ (Réf. 62 453)
- Zymo-Trol™ (Réf. 62 952)

Pour s'assurer de la validité de la série, effectuer un contrôle à chaque série de dosages. La valeur obtenue doit être dans l'intervalle d'acceptation.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

VALEURS ATTENDUES (6)

Ces valeurs sont données à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

30°C (U/l) *	37°C (U/l) *
156 - 312	228 - 456

* valeurs recalculées. Pour obtenir les valeurs attendues à 30°C et à 37°C à partir des valeurs attendues à 25°C, les facteurs utilisés sont respectivement de 1,30 et 1,90.

PERFORMANCES (7)

Les études du réactif ENZYLINE™ LDH optimisé 10 ont donné les résultats suivants à 37°C.

Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice.

Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

Les performances sont données à titre indicatif.

Limite de détection analytique

Elle a été déterminée à partir de dosages effectués sur de l'eau déminéralisée (moyenne + 5 x écart type).

La limite de détection est inférieure ou égale à 18 U/l

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 800 U/l

Précision**Précision intra-série**

Trois échantillons ont été dosés dans la même série.

- A 30°C

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	86	3,20
Niveau 2	20	203	2,24
Niveau 3	20	519	2,61

- A 37°C

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	120	3,64
Niveau 2	20	261	4,22
Niveau 3	20	684	2,40

Précision inter-séries (8)

Trois échantillons ont été dosés en triple dans 15 séries différentes (3 séries par jour). La reproductibilité (précision inter-série) a été calculée selon les recommandations du NCCLS EP5-T2, vol.12, n°4.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	45	142	5,80
Niveau 2	45	286	5,12
Niveau 3	45	728	3,15

Corrélation

• A 30°C

50 échantillons de patients ont été dosés en parallèle sur un autre automate.

L'équation de la droite d'allométrie obtenue est :

$y = 1,06 x + 1,89$ (en U/l) avec un coefficient de corrélation de 0,990.

• A 37°C

24 échantillons de patients ont été dosés en parallèle sur un autre automate.

L'équation de la droite d'allométrie obtenue est :

$y = 1,06 x - 2,65$ (en U/l) avec un coefficient de corrélation de 1,000.

APPLICATIONS DISPONIBLES SUR DEMANDE

- Applications spectrophotomètres (12358B)
- AU 400 / 640 / 2700 (13560A)
- CX 5 / CX 7 / CX 9 (12359A)
- HITACHI 704 (12360A)
- HITACHI 717 (12361A)
- KONELAB 20 (13258A)
- MASCOTT PLUS / LISA (12362A)
- MIRA S / MIRA PLUS (12363A)
- RA 1000 / XT (12364A)
- SELECTRA 2 / E / XL (12365B)
- TARGA / FALCOR 250 / BT 3000 Plus (13259A)

ELIMINATION DES DECHETS








- Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.
- Eliminer tous les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

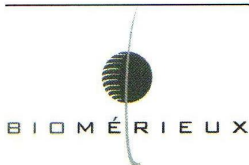
Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WOLF P.L.- Lactate dehydrogenase isoenzymes in myocardial disease – *Clinics in Laboratory Medicine* – 1989, vol. 9, n°4, p.655-665.
2. DRENT M., COBBEN N.A.M., HENDERSON R.F., et al – Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation – *Eur. Respir. J.* – 1996, vol. 9, p. 1736-1742.
3. BERGMAYER H.U. et al - Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. - *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem* - 1970, vol. 8, p. 658-660, 1972, vol. 10, p. 182-192.
4. MOSS D.W., HENDERSON A.R. – Chap. 22 : Clinical enzymology – *In TIETZ Text-book of Clinical Chemistry.* – Ed. W.B. SAUNDERS COMPANY - Philadelphia, 1999 - p. 671-673 – ISBN 0-7216-5610-2.
5. CHEVILLON I., LARROSE C., MOREAU N., et al. – Conservation des échantillons de sang avant analyse des paramètres biochimiques les plus courants. – *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1998, vol. 56, p. 200-204.
6. WEISSHAAR D., GOSSRAU E., FADERL B. – Normbereiche von α -HBDH, LDH, AP und LAP bei Messung mit substrat-optimierten Testansätzen. – *Med. Welt* – 1975, vol. 26, n°9, p. 387-390.
7. VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C. et al. - Protocole de validation de techniques (document B) - *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1986, vol. 44, p. 686-745.
8. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices – Kennedy J.W. et al. – 2nd ed – vol. 12, n° 4, EP5-T2 – ISBN 1-56238-145-8.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
 REF ou REF	Référence du catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation



 **bioMérieux® SA**
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>


Imprimé en France

bioMérieux, le logo bleu, ENZYLINE, LYOTROL, UNITROL et Zymo-Trol sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

E5-U52 Analyses de microbiologie médicale 2014

Durée : 6 heures Coefficient : 3

Jour 1 : 4 heures

Aucun document personnel autorisé.

Calculatrice autorisée.

Documents à rendre :

- Annexe 1 (à rendre 1h avant la fin de l'épreuve).
- Annexe 2 (à rendre en fin d'épreuve).

Consignes à respecter :

- Tous les examens microscopiques et tests seront montrés à un examinateur accompagnés de leur lecture rédigée.
- Les demandes de réactifs, de milieux, les conditions d'incubation, les antibiotiques sont à consigner sur l'annexe 1, à rendre une heure avant la fin de l'épreuve.
- L'annexe 2 complétée sera rendue en fin d'épreuve.

1. PATIENT N°1

Le patient n°1 (55 ans) est hospitalisé depuis 10 jours en unité de soins intensifs. Il présente des signes d'infection respiratoire. Un lavage broncho-alvéolaire (LBA) est effectué et une série d'hémocultures est réalisée.

1.1. Étude du lavage broncho-alvéolaire (LBA)

L'analyse cytologique du prélèvement donne les résultats suivants :

Résultats patient n°1 :	Valeurs physiologiques :
Leucocytes : $3,2 \cdot 10^5$ cellules.mL ⁻¹ dont : → macrophages : 70 % → lymphocytes : 5 % → granulocytes neutrophiles : 25 %	Leucocytes : $0,5 \cdot 10^5$ à $2,5 \cdot 10^5$ cellules.mL ⁻¹ dont : → macrophages : 80 à 90 % → lymphocytes : 5 à 10 % → granulocytes neutrophiles : 1 %

1.1.1. Interpréter les résultats fournis.

Le LBA a été isolé sur différents milieux de culture, dont une gélose au sang frais (référéncée LBA + numéro de poste).

1.1.2. Procéder à la lecture de l'isolement obtenu après 24 heures d'incubation à 37°C en aérobiose et poursuivre la procédure d'identification.

1.1.3. Réaliser un antibiogramme par méthode de diffusion (choisir 6 disques d'antibiotiques).

Document fourni : recommandations du CA-SFM¹.

¹ CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

1.2. Étude d'un échantillon d'hémoculture aérobie

L'automate d'hémoculture a signalé la présence de plusieurs flacons positifs. Une fraction aliquote d'un flacon aérobie est fournie en tube (référéncé H + numéro de poste).

- 1.2.1. Réaliser l'analyse de l'échantillon fourni.
- 1.2.2. Poursuivre la démarche diagnostique.

2. PATIENT N°2

Le patient n°2 est une femme de 32 ans enceinte de 6 mois et présentant une leucorrhée. Un prélèvement vaginal a été réalisé par son gynécologue qui a effectué un frottis sur lame et un écouvillon en vue de mise en culture. Le frottis est fourni (référéncé PV + numéro de poste).

- 2.1. Réaliser l'examen direct du frottis.
- 2.2. Conclure et proposer une poursuite de l'analyse.

3. CONTRÔLE QUALITÉ

Pour réaliser le diagnostic de la syphilis, le laboratoire utilise un kit « TPHA ». Lors de l'ouverture d'un nouveau lot de tests, un contrôle qualité est effectué.

- 3.1. À l'aide de la fiche technique fournie, préparer la manipulation en complétant l'**annexe 2** :
 - Pour le **réactif R5 (contrôle négatif)**, suivre la procédure « **essai qualitatif** » de la fiche technique.
 - Pour le **réactif R4 (contrôle positif)**, suivre la procédure « **essai quantitatif** » de la fiche technique.
- 3.2. Réaliser la manipulation.
- 3.3. Consigner les résultats obtenus sur l'**annexe 2**.
- 3.4. Interpréter ces résultats et conclure.

Document fourni : fiche technique du kit « TPHA ».

ANNEXE 1

Demande de réactifs, de milieux et d'antibiotiques

Préciser les conditions d'incubation

À rendre avant h

Numéro de poste :

Nom du candidat :

PATIENT N°1 :

Étude du lavage broncho-alvéolaire (LBA)	Étude d'un échantillon d'hémoculture aérobie

ANNEXE 2

Contrôle qualité d'un kit TPHA

Numéro de poste :

Nom du candidat :

Contrôle négatif :

Dilution de l'échantillon « Contrôle négatif » R5 (étape 1) :

Test de l'échantillon « Contrôle négatif » :

Puits		
Echantillon dilué (μL)		
R1 (μL)		
R2 (μL)		
Dilution		
Résultat		

Compléter :

R1 : _____

R2 : _____

R3 : _____

Contrôle positif :

Dilution de l'échantillon « Contrôle positif » R4 (étape 1) :

Test de l'échantillon « Contrôle positif » :

Puits									
Échantillon dilué (μL)									
R3 (μL)									
Volume redistribué (μL)									
R1 (μL)									
R2 (μL)									
Dilution									
Résultat									

Légendes : (+) =

(-) =

Jour 2 : 2 heures

Aucun document personnel autorisé.

Calculatrice autorisée.

Documents à rendre :

- Annexe 3 (à rendre en fin de l'épreuve).
-

Consignes à respecter :

- Tous les examens microscopiques et tests seront montrés à un examinateur accompagnés de leur lecture rédigée.
- Pour le patient n°1, les résultats de l'antibiogramme sont à consigner sur l'annexe 3, à rendre à la fin de l'épreuve.

1. PATIENT N°1

Le patient n°1 (55 ans) est hospitalisé depuis 10 jours en unité de soins intensifs. Il présente des signes d'infection respiratoire. Un lavage broncho-alvéolaire (LBA) est effectué et une série d'hémocultures est réalisée.

1.1. Étude du lavage broncho-alvéolaire (LBA)

1.1.1. Identifier la souche.

1.1.2. Lire et interpréter l'antibiogramme (compléter l'**annexe 3**).

Document fourni : recommandations du CA-SFM².

1.2. Étude d'un échantillon d'hémoculture aérobie

1.1.4. Effectuer les lectures.

1.1.5. Poursuivre la démarche diagnostique.

1.3. Synthèse des résultats

Rédiger une conclusion générale pour le patient n°1.

2. PATIENT N°3

Il y a deux mois, un jeune coopérant français présentait 48 heures après son retour d'Afrique centrale où il a séjourné pendant 14 mois, une atteinte de l'état général associant une fièvre à 38,2°C, un amaigrissement chiffré à 2 kg, une asthénie, une anorexie. Il présentait une toux sèche, non productive. L'examen clinique était normal. Ce jeune homme a été vacciné par le BCG dans l'enfance. Il n'a pas d'antécédent notable. Il n'a pas suivi de chimioprophylaxie antipaludéenne. Il a été admis à l'hôpital.

Quelques examens complémentaires ont été pratiqués lors de son admission :

- Numération formule sanguine :
 - concentration d'hémoglobine : normale,
 - hyperéosinophilie.
- Recherche d'hématozoaires : négative.
- Recherche de BAAR à l'examen direct (tubage gastrique) : négative.

² CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Aujourd'hui, ce même patient consulte son médecin pour des douleurs abdominales persistantes accompagnées d'une alternance de constipation et de diarrhées. L'analyse parasitologique d'une selle de ce jeune homme est alors entreprise.

Rechercher, décrire et identifier l'élément parasitaire responsable de la pathologie du patient à partir de l'état frais d'une selle fourni.

Document fourni : principaux parasites intestinaux.

ANNEXE 3

Résultats de l'antibiogramme (patient n°1)

Numéro de poste :

Nom du candidat :

Antibiotique	d (mm)	D (mm)	Diamètre mesuré (mm)	CMI (mg.L ⁻¹)	S / R / I

Conclusion :

E5-U53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales

2014

Durée : 3 heures Coefficient : 1,5

Documents à rendre avec la copie :

- Annexe 1.....
- Annexe 3.....

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.

- Documents personnels interdits en dehors de la documentation technique fournie.

Madame Z, 47 ans, a été diagnostiquée pour une Leucémie Aiguë (LA). Le médecin suspecte une CIVD (Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée) associée à cette pathologie et demande des examens complémentaires.

1. Réalisation de la formule leucocytaire et étude cytologique

L'automate affichant plusieurs alarmes concernant les résultats de l'hémogramme, un frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grünwald Giemsa est fourni.

- Réaliser la formule leucocytaire et l'étude cytologique.
- Montrer et décrire la (les) cellule(s) pathologique(s).
- Compléter le tableau de l'**annexe 1 (à rendre avec la copie)**.
- Interpréter les résultats.

2. Exploration de l'hémostase

Les tests suivants ont été réalisés et ont donné les résultats indiqués ci-dessous :

- TCA de la patiente : 50 s.
- TCA témoin : 32 s.
- Concentration en fibrinogène : 0,5 g.L⁻¹ (valeurs physiologiques 2 à 4 g.L⁻¹).

Compléter ce bilan par la réalisation du temps de Quick et la recherche des D-Dimères.

2.1. Détermination du temps de Quick (TQ)

- Déterminer le temps de Quick pour le plasma de la patiente (2 essais) et le plasma témoin (2 essais). La technique est donnée en **annexe 2**.
- Montrer la réalisation d'un essai à l'examineur.
- Exprimer le résultat de la patiente en pourcentage d'activité prothrombinique (TP).

La droite de Thivolle, validée par contrôle de qualité interne, est fournie par le centre.

2.2. Recherche des D-Dimères par agglutination passive

- Réaliser le test sur le plasma de la patiente (étiqueté « D ») selon la fiche technique fournie par le centre.
- Prévoir les contrôles nécessaires.
- Présenter la plaque à l'examineur.

2.3. Compléter le tableau de l'annexe 3 (à rendre avec la copie)

3. Conclusion

Commenter l'ensemble des résultats et conclure en tenant compte du contexte clinique.

Liste des compétences intervenant dans l'évaluation

- C1-2 Valider les résultats.
- C3-5-1 Réaliser un hémogramme.
- C3-5-6 Explorer l'hémostase.
- C3-6-3 Réaliser une analyse immunologique : agglutination.
- C4-3-1 Réaliser un étiquetage conforme.

Annexe 1

Résultats de l'hémogramme
À rendre avec la copie
 (Les valeurs indiquées par * sont fournies par le centre)

Paramètres	Valeurs obtenues		Valeurs physiologiques	Conclusions
Érythrocytes*			$4,0 - 5,5 \cdot 10^{12} \text{ L}^{-1}$	
Hématocrite*			$0,35 - 0,47 \text{ L} \cdot \text{L}^{-1}$	
Hémoglobine*			$120 - 160 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	
VGM*			$80 - 100 \text{ fL}$	
TCMH*			$27 - 32 \text{ pg}$	
CCMH*			$320 - 360 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	
Analyse cytologique des globules rouges				
Leucocytes*			$4,0 - 10,0 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
	%	Valeurs absolues		
Granulocytes neutrophiles			$1,8 - 7,0 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Granulocytes éosinophiles			$< 0,3 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Granulocytes basophiles			$< 0,1 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Lymphocytes			$0,8 - 4,0 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Monocytes			$0,1 - 1,0 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Autres cellules :				
Thrombocytes*			$200 - 400 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	
Analyse cytologique des plaquettes				

Annexe 2

Protocole de réalisation du Temps de Quick

- Dans un tube à hémolyse placé à 37°C, introduire :
 - **100 µL** de plasma et incubé 2 minutes à 37°C.
 - Déclencher le chronomètre en ajoutant **200 µL** de thromboplastine calcique homogénéisée et pré-incubée à 37°C.
- Détecter l'apparition d'un caillot à l'aide d'un crochet ou d'un barreau aimanté ou de l'automate selon disponibilité.
- Arrêter le chronomètre dès l'apparition du caillot dans le cas d'une méthode manuelle.

Annexe 3

À rendre avec la copie

(Les valeurs indiquées par * sont fournies par le centre)

Bilan standard de l'hémostase de la patiente

Paramètres	Valeurs trouvées	Valeurs physiologiques	Interprétation
Thrombocytes *		200-400 .10 ⁹ .L ⁻¹	
Temps de saignement	12 min	< 8 min	
Temps de Quick	Témoins Patient		
Taux de prothrombine (%)			
Temps de céphaline activée (TCA)	Témoin = 32 sec. Patient = 50 sec.	différence < 8 sec. rapport < 1,2	
Concentration en fibrinogène	0,5 g.L ⁻¹	2 à 4 g.L ⁻¹	
D-Dimères			

Conclusion :

SESSION 2015

E2-U21 Mathématiques

2015

Durée : 2 heures Coefficient 1

Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique sont autorisées à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (circulaire n°99-186 du 16-11-99).

EXERCICE 1 (11 points)

Pharmacocinétique

On s'intéresse à une maladie dégénérative de l'œil qui occasionne des troubles de la vision. Afin de freiner son évolution, deux traitements sont possibles. Dans cet exercice, on étudie, pour ces deux traitements, l'évolution de la quantité des principes actifs présents dans le sang en fonction du temps.

Les parties A et B peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Étude du premier traitement

Les questions 1 et 2 peuvent être traitées de façon indépendante.

Le premier traitement consiste à faire absorber au malade par voie orale un médicament qui libère peu à peu le principe actif qui passe dans le sang. Il est efficace lorsque la quantité de principe actif est supérieure ou égale à 5 mg. On admet qu'à l'instant $t = 0$ la quantité de principe actif présente dans le sang est de 1 mg.

1. Résolution d'une équation différentielle

L'évolution en fonction du temps (exprimé en heures), de la quantité de principe actif présente dans le sang après absorption (exprimée en mg) est modélisée par une fonction vérifiant l'équation différentielle :

$$(E): y' + 0,1y = 2e^{-0,1t}$$

où y est une fonction de la variable t , définie et dérivable sur $[0; +\infty[$ et y' la dérivée de la fonction y .

(a) Déterminer les solutions sur $[0; +\infty[$ de l'équation $(E_0): y' + 0,1y = 0$.

(b) Soit h la fonction définie sur $[0; +\infty[$ par $h(t) = 2te^{-0,1t}$. Vérifier que h est une solution particulière de (E)

(c) En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E) .

(d) Déterminer la solution de (E) correspondant au problème posé.

2. Étude d'une fonction

Soit la fonction f définie pour tout t de l'intervalle $[0; +\infty[$ par $f(t) = (2t + 1)e^{-0,1t}$.

(a) On admet que la limite de f en $+\infty$ est 0.
Interpréter graphiquement cette limite.

(b) On note f' la fonction dérivée de f et on admet que $f'(t) = (1,9 - 0,2t)e^{-0,1t}$.

- i. Étudier le signe de $f'(t)$ sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.
- ii. Dresser le tableau des variations de f sur $[0 ; +\infty[$.

Application

- (a) Au bout de combien de temps la quantité de principe actif dans le sang sera-t-elle maximale ?
- (b) Sur quel intervalle de temps le médicament sera-t-il efficace?

Dans cette question, toute trace de recherche, même incomplète, ou d'initiative même non fructueuse, sera prise en compte dans l'évaluation.

(c) On donne :

$$\int_0^{24} f(t)dt = 210 - 690e^{-24}.$$

Déterminer la quantité moyenne de principe actif présente dans le sang entre 0 et 24 h. On arrondira le résultat au dixième.

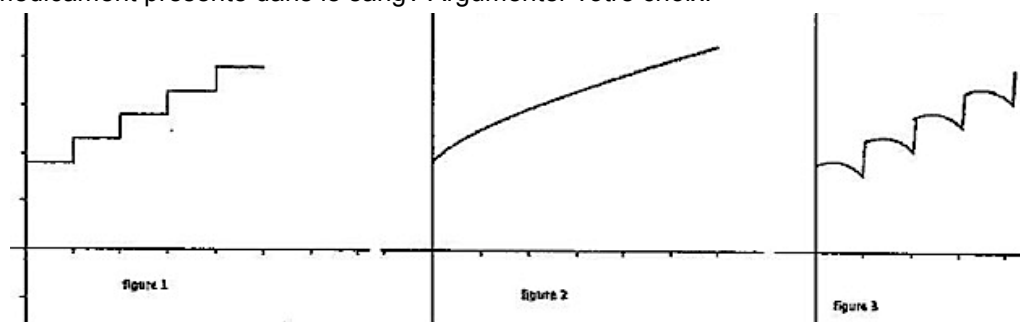
PARTIE B : Étude Statistique du second traitement

Le second traitement consiste à injecter par intraveineuse un médicament qui permet une meilleure vascularisation des vaisseaux sanguins de la rétine. À l'instant $t = 0$, on injecte une dose de 1,8 mg de médicament, appelée dose de charge. On suppose que ce procédé diffuse instantanément dans le sang le principe actif qui est ensuite progressivement éliminé par les reins.

1. Administrations répétées du médicament

On décide de réinjecter une dose de 1,8 mg toutes les heures, dose supportable par le patient.

Parmi les trois courbes suivantes, quelle est celle qui représente le mieux l'évolution de la quantité de médicament présente dans le sang? Argumenter votre choix.



2. Administration continue du médicament : recherche de la courbe de tendance

Après avoir injecté la dose de charge de 1,8 mg, on décide d'administrer ce médicament à l'aide d'une pompe, de manière continue, afin de réduire le plus possible les oscillations de la quantité de principe actif dans le sang.

L'étude consiste à déterminer l'état stationnaire (steady state) pour ce médicament. On considère que l'état stationnaire est atteint lorsque la différence entre la quantité limite et la quantité dans le sang est inférieure ou égale à 1 mg.

On effectue sept mesures régulières pendant 24 h et on obtient les relevés suivants, où q_i désigne la quantité en mg de principe actif dans le sang à l'instant t_i .

t_i (en heure)	0	4	8	12	16	20	24
q_i (en mg)	1,8	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7

On cherche à modéliser l'expression de la quantité de principe actif dans le sang en fonction du temps. Un ajustement affine n'étant pas judicieux, on décide de procéder à un changement de variable.

(a) On pose $y_i = \ln(36 - q_i)$

i. Donner les 3 valeurs manquantes de ce tableau. Arrondir au centième.

t_i	0	4	8	12	16	20	24
q_i	1,8	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7
y_i	3,53	3,28			2,51	2,22	

ii. Déterminer, à l'aide de la calculatrice, une équation de D la droite d'ajustement de y en t par la méthode des moindres carrés. Arrondir les coefficients au centième.

(b) Donner une expression de la quantité q en fonction de t déduite de cet ajustement.

Dans cette question, toute trace de recherche, même incomplète, ou d'initiative même non fructueuse, sera prise en compte dans l'évaluation.

(c) Un médecin affirme que l'état stationnaire est atteint en moins de trois jours. En admettant que la quantité limite est de 36 mg, quel argument peut-il fournir pour justifier cette affirmation?

EXERCICE 2 (9 points)

Industrie agroalimentaire

L'entreprise agroalimentaire *Flavornuts* fabrique des arômes naturels servant à l'amélioration des préparations culinaires pour la pâtisserie ou la cuisine. Elle les conditionne dans des flacons de 58 mL qu'elle achète à l'entreprise *Verreballage*, qui conçoit, développe et commercialise des solutions d'emballages primaires composées de flacons standards.

Les parties A, B et C peuvent être traitées de façon indépendante.

PARTIE A : Étiquetage

« L'étiquetage des denrées alimentaires préemballées est obligatoire (articles R. 112-1 et suivants du code de la consommation}. Certaines mentions sont imposées par la législation, d'autres sont facultatives. Toutes sont fournies par les fabricants, sous leur responsabilité. L'étiquetage est constitué par « les mentions, indications, marques de fabrique ou de commerce, images ou signes se rapportant à une denrée alimentaire et figurant sur tout emballage, document, écriteau, étiquette, bague ou collerette accompagnant ou se référant à cette denrée alimentaire (article R. 112-1 du code de la consommation). »

Une fois fabriquées, les étiquettes peuvent présenter deux défauts : un défaut du Visuel (graphisme, photo, couleur . . .) ou l'absence de la date limite de consommation.

On considère les événements suivants :

- A : « la date limite de consommation n'apparaît pas sur l'étiquette ».
- D : « l'étiquette comporte un défaut du visuel » ;

On suppose que les événements A et D sont indépendants.

On admet que les probabilités des événements sont : $p(A) = 0,01$ et $p(D) = 0,03$

1. Calculer la probabilité qu'une étiquette prélevée au hasard dans la production présente les deux défauts.

2. Calculer la probabilité qu'une étiquette prélevée au hasard dans la production ne présente aucun de ces deux défauts.

PARTIE B : Étude de la contenance

Dans cette partie, les résultats seront arrondis, si nécessaire, à 10^{-2} près.

On définit une variable aléatoire V associant à chaque flacon son volume utile exprimé en mL.

On suppose que V suit la loi normale de moyenne $m = 58$ (valeur annoncée par le fournisseur) et d'écart type $\sigma = 0,04$.

Le cahier des charges indique que le flacon est conforme lorsque ce volume appartient à l'intervalle $[57,90 ; 58,10]$.

On choisit un flacon au hasard dans la production.

- Déterminer la probabilité pour qu'il soit non conforme.
- Donner une valeur arrondie au centième du réel h tel que : $p(58 - h \leq SV \leq 58 + h) = 0,95$.

Toute trace de recherche sera prise en compte dans l'évaluation.

PARTIE C : Test d'hypothèse

À l'occasion d'une commande, le service contrôle du laboratoire reçoit un lot de flacons. Il effectue un prélèvement aléatoire de 80 flacons. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Volume	[57,93; 57,97[[57,97; 58,01[[58,01; 58,05[[58,05; 58,09[[58,09; 58,13[
Effectif	2	10	39	21	28

1. Calculer la moyenne \bar{v} et l'écart type s de cet échantillon (arrondir le résultat à 10^{-3} près) en faisant l'hypothèse que les valeurs observées sont respectivement celles du centre de chaque classe.

2. Construction du test

Le volume des flacons doit être de 58 mL. On se propose de construire un test d'hypothèse bilatéral au seuil de signification de 5 % pour contrôler, au moment de la livraison, la moyenne μ , de l'ensemble des volumes (en mL) des flacons. On note \bar{V} la variable aléatoire qui, à chaque échantillon de 80 flacons prélevés au hasard dans l'ensemble de la production, associe la moyenne des volumes.

On considère :

- l'hypothèse nulle $H_0 : \mu = 58$
- l'hypothèse alternative $H_1 : \mu \neq 58$

Le seuil de signification est fixé à 0,05.

On admet que, sous l'hypothèse H_0 , \bar{V} suit la loi normale $N\left(58 ; \frac{0,04}{\sqrt{80}}\right)$

(a) Parmi les quatre intervalles proposés, lequel utiliseriez-vous pour effectuer le test?
Justifier votre choix.

$$I = \left[58,04 - 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58,04 + 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$J = \left[58,04 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58,04 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$K = \left[58, -1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}}; 58 + 1,65 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

$$L = \left[58, -1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}}; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$$

(b) Énoncer la règle de décision du test.

3. Utilisation du test

En utilisant les informations recueillies sur l'échantillon de 80 flacons, le service de contrôle acceptera-t-il cette livraison? Justifier.

E3 Sciences physiques et chimiques 2015

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :

- toutes les calculatrices de poches y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à conditions que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186 du 16-11-99).
- Tout autre matériel est interdit.

Document à rendre avec la copie:

- Annexe 1,2

La clarté des raisonnements, la qualité de la rédaction interviendront dans l'appréciation des copies.

Le sujet est constitué de deux exercices indépendants.

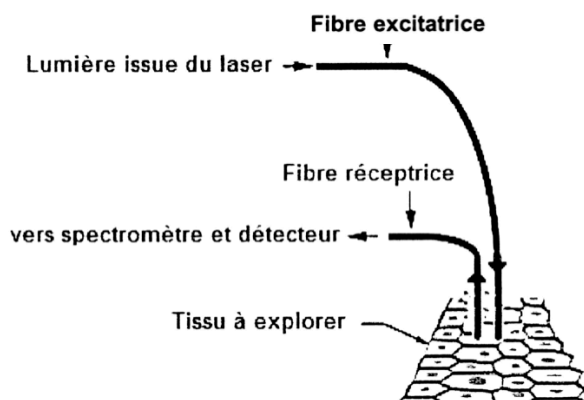
Chaque exercice comporte des parties indépendantes les unes des autres.

La physique et la chimie sont des disciplines qui ont contribué pleinement aux succès enregistrés ces dernières années en matière de dépistage et de lutte contre le cancer.

Exercice I : Observation de cellules cancéreuses par fibroscopie (8,5 points)

Les cellules cancéreuses se distinguent des cellules saines de plusieurs manières : en particulier, la fluorescence des cellules malades n'est pas la même que celle des cellules normales. Au laboratoire, un prototype a été développé en collaboration avec des médecins afin de pouvoir illuminer avec de la lumière UV des cellules de la vessie : la fluorescence collectée via une fibre optique permet alors de faire un diagnostic médical.

Extrait d'une brochure sur le laser www-galilee.univ-paris13.fr



La technique décrite ici se base sur la capacité qu'ont les molécules de tryptophane et de NADH (forme réduite de la nicotinamide adénine dinucléotide) d'émettre une fluorescence respectivement à 360 nm et à 440 nm lorsqu'elles sont excitées par une radiation de longueur d'onde 308 nm. Le dessin ci-contre décrit le principe d'observation : le fibroscope utilisé est constitué d'un ensemble de fibres optiques, les fibres excitatrices et les fibres réceptrices.

Les fibres excitatrices éclairent le tissu avec la radiation d'excitation produite par un laser. Les fibres réceptrices guident la lumière émise par le tissu vers un spectrophotomètre puis un détecteur permettant d'enregistrer le spectre correspondant. Le spectre obtenu permet de déterminer le rapport $R = \frac{I_{360}}{I_{440}}$ entre les intensités de

fluorescence obtenues à 360 nm et à 440 nm. On estime que si ce rapport est inférieur à 1 le tissu est sain alors que s'il dépasse largement 2, le tissu est tumoral.

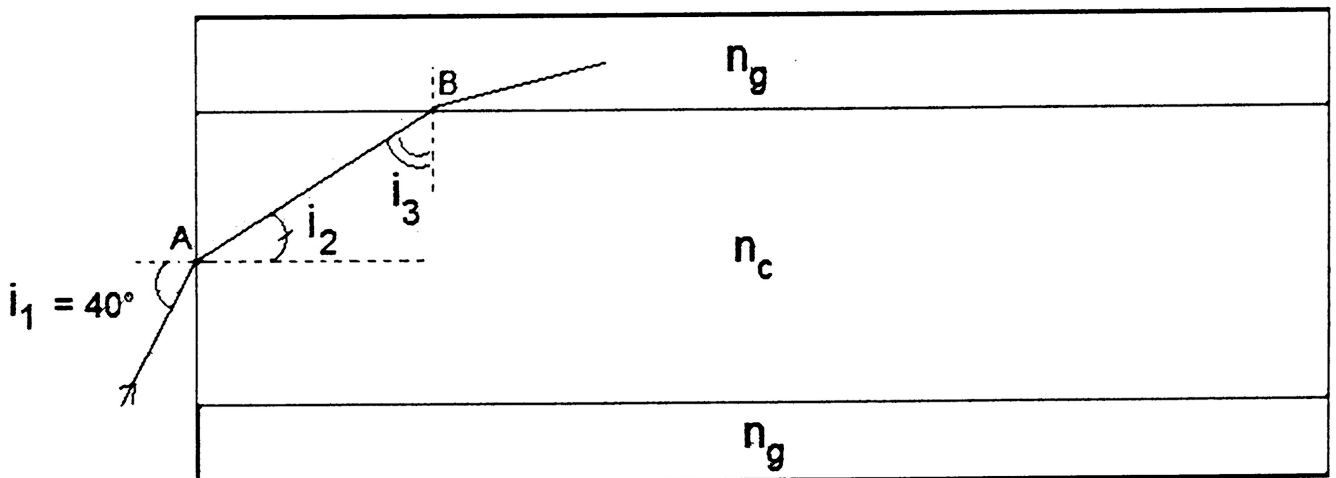
PARTIE 1 : éclairage des tissus via la fibre optique excitatrice

1.1 Le rayonnement laser est qualifié de lumière monochromatique. Définir ce terme.

1.2 La longueur d'onde de 308 nm choisie pour éclairer le tissu via la fibre optique excitatrice est-elle cohérente par rapport à l'extrait de brochure sur le laser ci-dessus ?

On s'intéresse ici au cas de la fibre à saut d'indice. Une telle fibre optique est constituée d'un cœur en verre d'indice optique n_c entouré d'une gaine d'indice optique n_g . La propagation de la lumière dans la fibre peut se modéliser par les lois de la réfraction. Le schéma ci-dessous modélise le trajet d'un rayon lumineux dans la fibre. Le cœur possède un indice n_c qui vaut 1,62 et la gaine possède un indice n_g qui vaut 1,51. On considère que l'indice optique de l'air vaut 1,00.

On s'intéresse à ce qui se passe au niveau des points A et B dans le cas où l'angle d'incidence i_1 vaut 40° .



Les valeurs des angles ne sont pas respectées sur le schéma

1.3 Rappeler les lois de Snell-Descartes relatives à la réfraction.

1.4 Calculer la valeur de l'angle i_2 .

1.5 Montrer que l'angle i_3 a pour valeur environ 67° .

Pour que le rayon qui arrive en B reste dans le cœur de la fibre, il faut qu'il y subisse une réflexion totale.

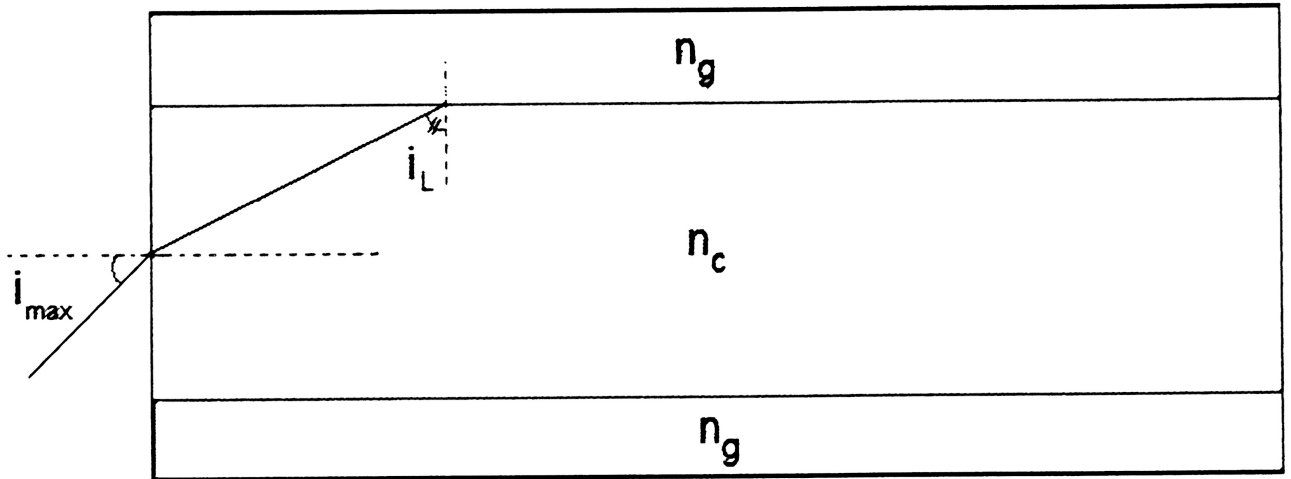
1.6 Expliquer pourquoi en arrivant sur le point B, le rayon lumineux arrivant avec l'incidence i_3 précédente peut passer dans la gaine.

L'angle d'incidence limite i_L en B, c'est-à-dire l'angle au-delà duquel la réflexion est totale, est alors calculé en considérant que le sinus de l'angle réfracté dans la gaine vaut 1,0.

1.7 Montrer que dans le cas de la fibre étudiée la valeur de l'angle d'incidence limite i_L est située entre 68 et 69° .

On définit l'ouverture numérique (ON) de la fibre comme le sinus de l'angle d'incidence dans la fibre qui engendre, dans le cœur de la fibre, un angle réfracté correspondant à l'angle limite au point B. L'angle i_{max} définit alors le demi-angle au sommet du cône d'acceptance de la fibre.

On montre mathématiquement que $ON = \sin i_{max} = \sqrt{(n_c^2 - n_g^2)}$.



Les valeurs des angles ne sont pas respectées sur le schéma

1.8 Déterminer le demi-angle au sommet i_{\max} du cône d'acceptance de la fibre étudiée.

1.9 Ce résultat est-il cohérent avec la situation décrite dans les questions 1.4 à 1.6 ?

PARTIE 2 : exploitation du phénomène de fluorescence

On modélise de façon simple le mécanisme énergétique mis en jeu lors du phénomène de fluorescence moléculaire du tryptophane de la façon suivante : sans sollicitation extérieure la molécule de tryptophane est dans son état «fondamental» stable E_0 . Lorsqu'elle est soumise à un rayonnement de longueur d'onde $\lambda_1 = 308 \text{ nm}$, elle est excitée et portée dans un état d'énergie E_1 . Elle se désexcite sans émettre de radiation vers un état d'énergie E_2 , différent de E_0 , puis retourne depuis l'état d'énergie E_2 à l'état fondamental en émettant un rayonnement de longueur d'onde $\lambda_2 = 360 \text{ nm}$

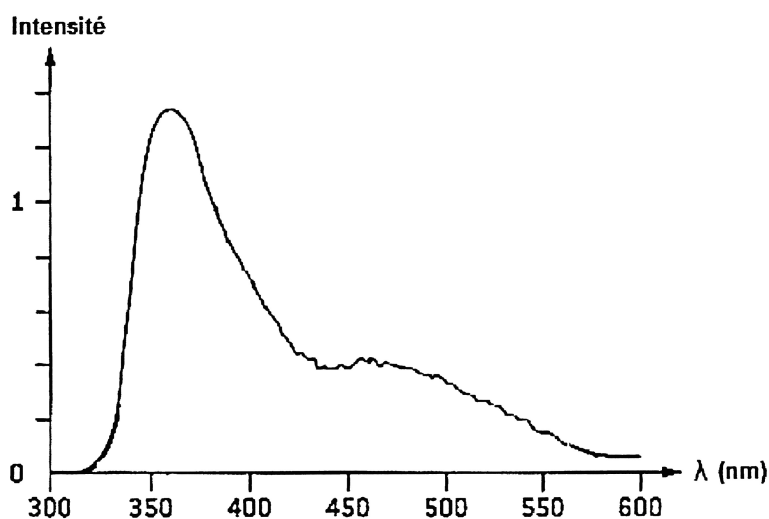
2.1 Placer sur le diagramme en annexe 1 à rendre avec la copie, au niveau des pointillés, les états d'énergie E_0 , E_1 et E_2 .

2.2 Représenter, sur ce diagramme, par des flèches repérées par **1** et **2** les transitions permettant :

- d'exciter la molécule vers l'état E_1 depuis l'état fondamental (flèche **1**).
- de retourner à l'état fondamental depuis l'état d'énergie E_2 (flèche **2**).

2.3 Préciser, sur ce diagramme, pour chacune des transitions précédentes s'il s'agit d'une absorption ou d'une émission de rayonnement.

L'exploration d'un tissu par la méthode décrite plus haut conduit à l'enregistrement du spectre suivant:



2.4 Le tissu exploré est-il sain ? Justifier clairement la réponse.

Exercice II : Dépistage du cancer du col de l'utérus per le test IVL (11,5 points)

Le Lugol® est un antiseptique iodé composé d'eau, de diiode (I_2) et d'iodure de potassium ($K^+ + I^-$). Il est utilisé pour le dépistage visuel (test IVL) de certains cancers du col de l'utérus. La solution utilisée est alors une solution à 1% en masse de diiode. Le professionnel de santé applique la solution de Lugol sur le col de l'utérus. Il examine ensuite à l'œil nu les changements de couleur sur le col.

Ce test s'explique par le fait que dans le Lugol®, le diiode forme en présence des ions iodure, des ions triiodure I_3^- . Ces derniers servent de révélateur du glycogène en induisant une coloration brun-acajou. Les ions I_3^- sont absorbés par l'épithélium pavimenteux de l'utérus. Ce dernier contient du glycogène alors que les lésions précancéreuses et les cancers n'en contiennent pas. Ces dernières apparaissent ainsi clairement.

Données:

- Règles de Gillespie :

Type de molécule AX_mE_n	Nombre total de doublets (m+n)	Figure de répulsion	Nombre de liaisons (m)	Forme des molécules
AX_2	2	Droite	2	Linéaire
AX_3	3	Triangle équilatéral	3	Triangle en V
AX_2E	3		2	
AX_4	4	Tétraèdre	4	Tétraèdre
AX_3E	4		3	Pyramide
AX_2E_2	4		2	en V
AX_5	5	Bipyramidale trigonale	5	Bipyramide
AX_4E	5		4	
AX_3E_2	5		3	en T
AX_2E_3	5		2	Linéaire
AX_6	6	Octaèdre	6	Octaèdre
AX_5E	6		5	Pyramide
AX_4E_2	6		4	Carré

Dans le tableau ci-dessus, les molécules sont répertoriées sous la formule générale AX_mE_n où A est l'atome, X le symbole des doublets liants, en nombre m, et E celui des doublets non-liants, en nombre n.

- La loi de Beer-Lambert liant l'absorbance A d'une solution à la concentration molaire C de l'espèce absorbante s'écrit $A = \varepsilon \times \ell \times C$ où ℓ est la largeur de la cuve et ε est le coefficient d'extinction molaire.
- Le pourcentage massique en diiode de la solution de Lugol® s'exprime par $\frac{m_{I_2}}{m_{solution}} \times 100$
- Masse volumique d'une solution de lugol : $\rho_{lugol} = 1,0 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$
- Masse molaire atomique : $M(I) = 127 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Potentiels standard d'oxydo-réduction :

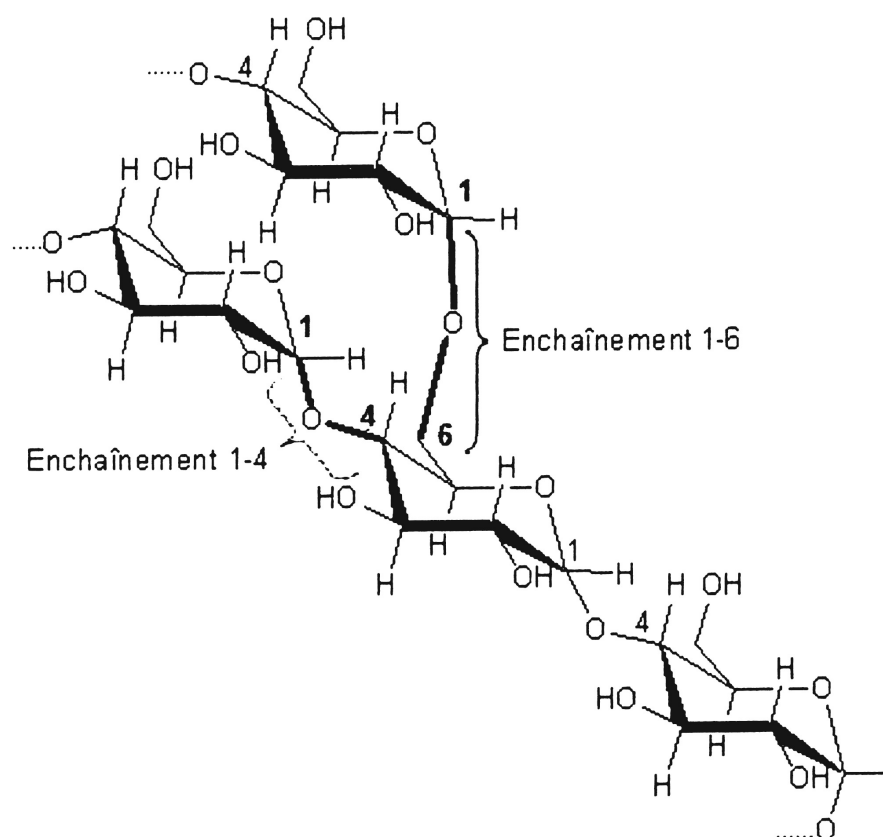
Couple	I_3^- / I^- (aq)	I_2 / I^- (aq)	$S_4O_6^{2-} / S_2O_3^{2-}$ (aq)
E^0 (en volt)	0,54	0,62	0,08

PARTIE 1 : Diode et glycogène

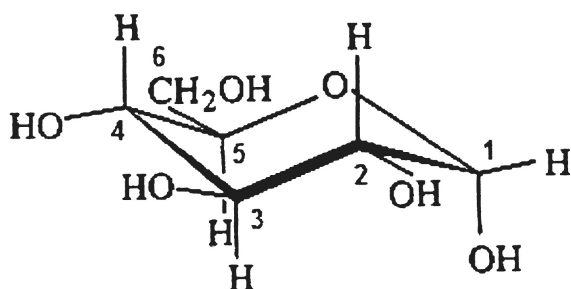
Le glycogène est un polymère du glucose ($C_6H_{10}O_5$) $_n$.

Les unités glucose sont liées par des liaisons osidiques $\alpha - 1,4$ (enchaînement 1-4, ci-dessous) et forment des chaînes hélicoïdales sur lesquelles de courtes chaînes de même constitution se branchent par des liaisons osidiques $\alpha - 1,6$ (enchaînement 1-6, ci-dessous).

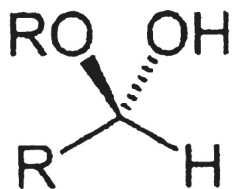
Les ions triiodure se disposent en chaîne linéaire dans la partie centrale de l'hélice du glycogène. Le complexe ainsi formé est à l'origine de la coloration brun-acaïjou qui permet d'identifier le glycogène.



Dans le glycogène, le glucose n'est pas dans sa forme linéaire mais il est dans sa forme cyclique, l' α -(D)-glucopyranose que l'on peut représenter de la façon suivante :



L'atome repéré par le numéro 1 est dit « carbone hémiacétalique » car son environnement correspond à celui d'un hémiacétal.



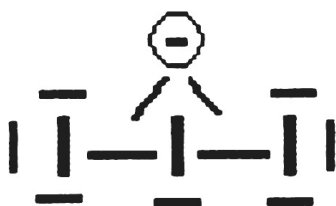
1.1. Quelles sont les fonctions organiques qui réagissent lorsque deux molécules conduisent à la formation d'un hémiacétal ? Préciser le nom de l'autre produit formé.

1.2. Expliquer comment les liaisons α -1,4 et α -1,6 observées dans le glycogène peuvent se justifier.

La solubilité du diiode dans le Lugol® et dans les solutions d'iodure de potassium s'interprète par la réaction totale d'équation bilan $I_{2(aq)} + I^-_{(aq)} = I_3^-_{(aq)}$.

1.3 Justifier le caractère spontané de cette réaction.

1.4 Une formule de Lewis possible pour représenter l'ion triiodure I_3^- est la suivante :



Justifier la partie en gras de la phrase: « **les ions triiodure se disposent en chaîne linéaire** dans la partie centrale de l'hélice du glycogène ».

PARTIE 2 : dosage d'une solution de Lugol® en vue d'un test IVL

On cherche à vérifier de deux manières différentes si une solution de Lugol® retrouvée au laboratoire est utilisable pour réaliser le test IVL, c'est-à-dire si elle contient 1% en masse en diiode.



A- Première méthode : titrage colorimétrique

Il est possible de doser les ions triiodure I_3^- présents dans le Lugol® en les faisant réagir avec des ions thiosulfate $S_2O_3^{2-}$. Pour cela, on prélève un volume $V_0 = 20$ mL de la solution de Lugol® que l'on titre, en présence d'empois d'amidon, avec une solution de thiosulfate de sodium ($2Na^+ + S_2O_3^{2-}$) de concentration $C = 0,10$ mol.L⁻¹. On observe l'équivalence lorsqu'on a versé un volume $VE = 10$ mL de solution titrante.

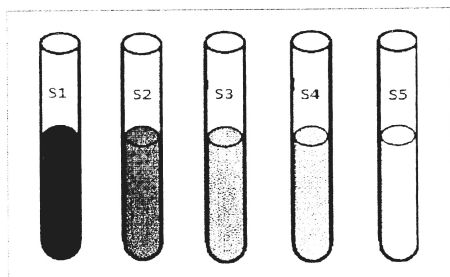
2.1 Écrire l'équation bilan de la réaction de titrage.

2.2 Exploiter la valeur du volume équivalent pour montrer que la concentration des ions triiodure dans la solution de Lugol® dosée a pour valeur $C_{Lugol} = 2,5 \cdot 10^{-2}$ mol.L⁻¹.

B- Deuxième méthode : dosage spectrophotométrique

On dispose de cinq solutions aqueuses de diiode dans l'iodure de potassium de concentrations molaires apportées différentes. Les solutions prennent une coloration jaune-marron caractéristique des ions triiodure I_3^-

formés entre le diiode I_2 et les ions iodure I^- . Ces solutions sont fabriquées de manière à ce que les ions iodure soient, comme dans le Lugol®, en excès par rapport au diiode. Dans ce cas, les quantités de matières de diiode introduit et d'ions triiodure formés sont égales.



Parmi les espèces chimiques présentes, l'ion triiodure formé est la seule espèce colorée. On réalise la mesure de l'absorbance A de chaque solution avec un spectrophotomètre UV—visible. On obtient la courbe expérimentale en annexe 2 à rendre avec la copie.

Pour déterminer le titre en diiode du Lugol®, il est ici nécessaire de diluer 100 fois la solution de Lugol®. Sans modifier les réglages du spectrophotomètre, on mesure l'absorbance de la solution de Lugol® diluée et l'on obtient la valeur $A_{S_{Lugol}} = 0,084$.

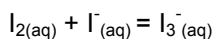
2.3 Montrer que la valeur de $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ annoncée à la question 2.2 pour la concentration des ions triiodure dans la solution de Lugol® est cohérente avec la valeur de l'absorbance $A_{S_{Lugol}}$. On fera apparaître clairement sur la courbe de l'annexe 2 le raisonnement graphique utilisé.

2.4 En s'aidant de l'extrait de la fiche technique du spectrophotomètre utilisé, donné ci-dessous, expliquer pourquoi il a été nécessaire de diluer la solution de Lugol®.

Plage des longueurs d'onde de mesure	De 190 à 1 100 nm
Affichage de la longueur d'onde	Unités de 0,1 nm
Réglage de la longueur d'onde	Unités de 0.1 nm (unités de 1 nm pour le balayage)
Précision de la longueur d'onde	$\pm 1,0$ nm
Lumière diffuse	inférieure à 0,05 %
Système photométrique	Optique à faisceau unique
Plage de mesure d'absorbance	De -0,3 à 3,0
Précision photométrique	$\pm 0,005$ Abs (à 1,0 Abs) $\pm 0,003$ Abs (à 0,5 Abs)

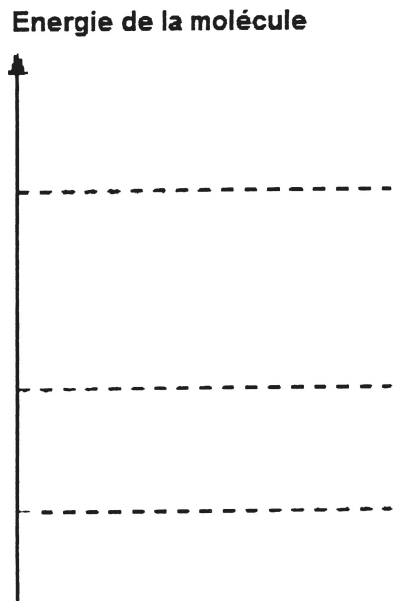
C- Analyse des résultats expérimentaux

2.5 La solution de Lugol® étudiée est-elle utilisable pour procéder au test IVL? Argumenter la réponse. On se rappellera notamment que dans le Lugol® les ions iodure sont en excès par rapport au diiode introduit, relativement à la réaction

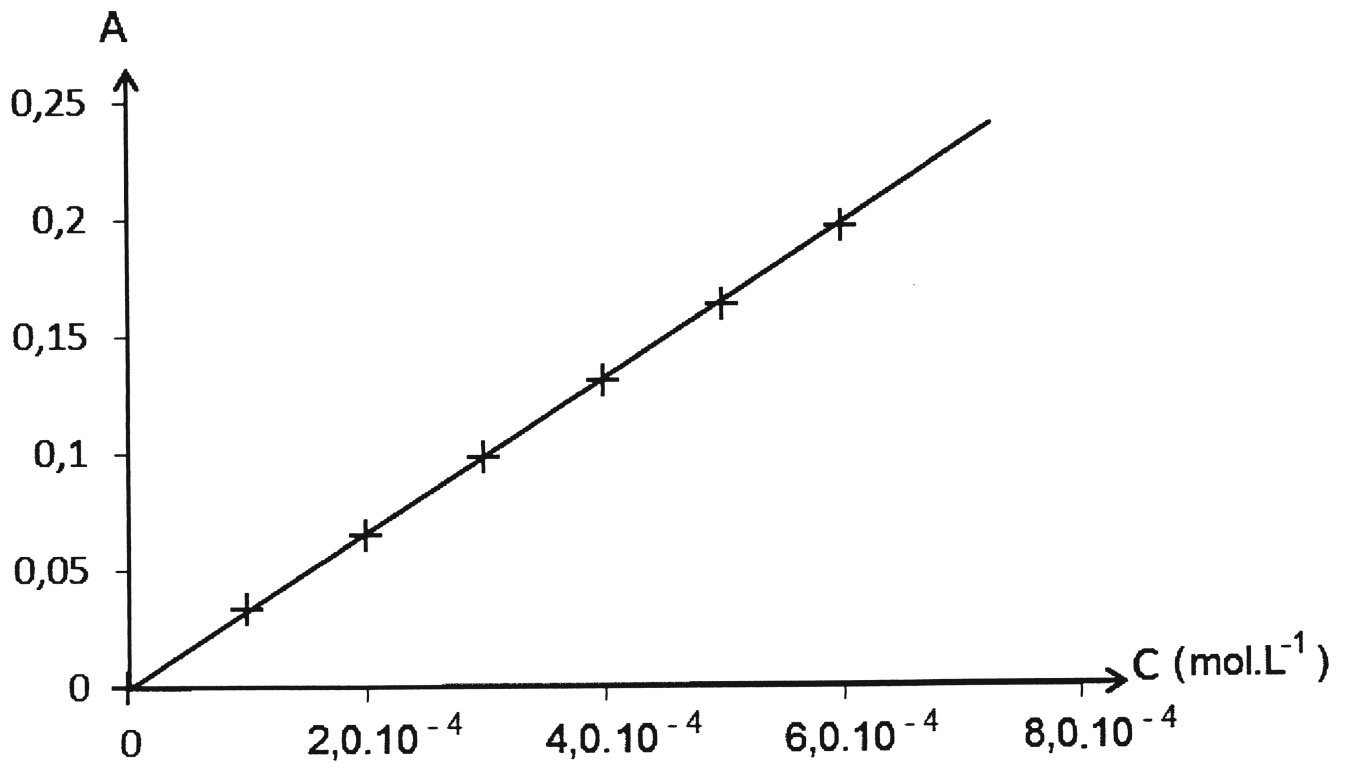


Annexes à rendre avec la copie

Annexe 1 :



Annexe 2 : Absorbance en fonction de la concentration. $A = f(C)$



Durée : 3 heures Coefficient : 2

Aucun document autorisé

Document à rendre avec la copie : document 10

LE SYSTÈME ENZYMATIQUE GLUCOSE - 6 - PHOSPHATASE

La glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9) est l'enzyme clé de la production endogène de glucose. Elle permet l'exportation du glucose intracellulaire issu de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse dans la circulation sanguine.

Une mutation d'une des sous-unités de cette enzyme permet d'expliquer différents types de glycogénoses. La maladie de Von Gierke se traduit par une déficience en activité enzymatique glucose-6-phosphatase totale ou partielle.

Les glycogénoses se caractérisent essentiellement par une hypoglycémie à jeun, une hépatomégalie et une hyperlactémie.

1. La glucose-6-phosphatase, une enzyme membranaire. (10,5 points)

La glucose-6-phosphatase est une protéine d'expression tissulaire majoritairement hépatique. Elle est localisée dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) des hépatocytes où elle se présente sous forme d'un complexe multienzymatique. Ce complexe est constitué d'une sous-unité catalytique et de translocases (protéines transporteuses).

1.1. Réaction catalysée par la glucose-6 phosphatase

1.1.1. **Schématiser** l' α -D-glucopyranose-6-phosphate selon la représentation de Haworth.

1.1.2. **Écrire** la réaction catalysée par la glucose-6-phosphatase.

1.2. Localisation cellulaire de la glucose-6 phosphatase

Le **document 1** présente l'ancrage de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase dans la membrane du RE. L'extrémité N-terminale et le site catalytique sont orientés vers la lumière du RE, l'extrémité C-terminale est orientée vers le cytoplasme et 9 hélices transmembranaires assurent l'ancrage de la protéine.

1.2.1. **Nommer** les liaisons assurant le maintien de la structure d'une hélice alpha.

1.2.2. **Préciser** la propriété commune aux acides aminés formant une hélice trans-membranaire.

1.2.3. À l'aide du **document 2 identifier** les acides aminés susceptibles d'être rencontrés dans ces domaines trans-membranaires.

1.2.4. **Écrire** la réaction de formation d'un dipeptide (formules semi-développées exigées) et **nommer** la liaison formée.

1.3. Entrée du glucose dans les hépatocytes

L'activité de la glucose-6-phosphatase est régulée par la concentration en glucose-6-phosphate. Cette concentration dépend donc de la quantité de glucose qui pénètre dans les hépatocytes par diffusion facilitée.

Deux types de transporteurs du glucose sont présents dans la membrane plasmique des hépatocytes : GLUT 1 et GLUT 2. Leur fonctionnement peut être assimilé à celui d'enzymes michaéliennes.

1.3.1. **Indiquer** les caractéristiques d'un transport membranaire par diffusion facilitée.

Le **document 3** représente, par analogie avec la courbe $V_i = f(S)$, les variations de la vitesse de diffusion membranaire du glucose en fonction de la glycémie pour chaque transporteur.

Par détermination graphique, les valeurs de K_M sont :

$$K_{M \text{ GLUT1}} = 2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$$

$$K_{M \text{ GLUT2}} = 7,5 \text{ mmol.L}^{-1}$$

Le transporteur GLUT 2 est le transporteur le plus abondant dans l'hépatocyte. La glycémie physiologique est de l'ordre de 5 mmol.L^{-1} et la glycémie dans la veine porte après un repas est de l'ordre de 20 mmol.L^{-1} .

1.3.2. **Analyser** ces données pour expliquer les interventions des transporteurs GLUT 1 et GLUT 2 selon les conditions physiologiques.

2. La glucose-6-phosphatase et le métabolisme énergétique (7 points)

2.1. Glucose-6-phosphate ou carrefour métabolique

Le glucose-6-phosphate est un composé commun à plusieurs voies métaboliques. Le **document 4** présente ces différentes voies métaboliques.

Reporter sur la copie le nom des voies métaboliques numérotées de 1 à 5.

2.2. Néoglucogenèse

2.2.1. **Préciser** la localisation tissulaire de la néoglucogenèse.

2.2.2. **Nommer** les substrats de la néoglucogenèse.

2.2.3. **Indiquer** l'intérêt de cette voie dans le métabolisme des glucides.

2.3. Métabolisme du glycogène

2.3.1. **Décrire** la structure chimique du glycogène.

2.3.2. **Nommer** l'enzyme clé de la biosynthèse du glycogène et celle de la dégradation du glycogène.

2.3.3. **Indiquer** le mécanisme de régulation qui permet de coordonner le fonctionnement de ces deux enzymes.

3. Un déficit en glucose-6-phosphatase ou maladie de Von Glerke (8,5 points)

La maladie de Von Gierke est une glycogénose par déficit en glucose-6-phosphatase. C'est une maladie génétique transmise selon le mode autosomique récessif. Elle est due à des mutations du gène codant pour la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase.

3.1. Le gène de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase

Le gène de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase est de petite taille (12,5 kb). Il est constitué de 5 exons et est situé sur le chromosome 7.

3.1.1 **Schématiser** et **légènder** la structure d'un gène eucaryote. **Préciser** sur le schéma les éléments

nécessaires à son expression en protéine.

- 3.1.2 L'ARN synthétisé subit ensuite une maturation post-transcriptionnelle. **Citer** les étapes de cette maturation.

3.2. Le diagnostic moléculaire d'une mutation identifiée sur l'exon II

Une mutation de type substitution C/T a été identifiée au niveau de l'exon II du gène de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase. Le diagnostic moléculaire de cette mutation se fait par la technique de PCR allèle spécifique (PCR ASO). Cette technique est décrite dans le **document 5**.

- 3.2.1. **Préciser** les rôles des amorces dans une réaction de PCR.

La recherche de cette mutation par PCR ASO est réalisée chez 3 patients :

- le patient n°1 est homozygote pour la mutation
- le patient n°2 hétérozygote
- le patient n°3 homozygote non muté.

Les amorces utilisées permettent d'obtenir des amplimères de 400 pb.

- 3.2.2. **Schématiser** le résultat obtenu sur gel d'agarose après électrophorèse et justifier.

3.3. Les conséquences sur l'activité de la glucose-6-phosphatase

Cette mutation touche le site catalytique de l'enzyme et entraîne le remplacement de l'arginine 83 par une cystéine. Le **document 6** représente la position de cet acide aminé dans le site catalytique de l'enzyme.

Pour la majorité des patients, on retrouve des quantités normales d'enzyme, de même masse moléculaire mais comportant une altération de la fonction enzymatique avec une activité quasi nulle.

- 3.3.1. **Définir** le site actif d'une enzyme.

- 3.3.2. À l'aide des **documents 2 et 6**, **proposer** une explication pour la perte de l'activité catalytique de la glucose-6-phosphatase mutée.

4. Conséquences métaboliques de la maladie de Von Gierke (14 points)

La maladie de Von Gierke se traduit par une hépatomégalie et entraîne des complications métaboliques.

4.1. Conséquences métaboliques dans la cellule hépatique

Déduire du **document 7** les conséquences d'une absence partielle ou totale de glucose-6-phosphatase sur le métabolisme glucidique et sur le métabolisme lipidique.

4.2. Conséquences métaboliques dans la cellule hépatique

On réalise un dosage de la glycémie à jeun et un test de réponse au glucagon. Cette épreuve fonctionnelle consiste à perfuser du glucagon pendant quatre heures à un patient à jeun, atteint de la maladie de Von Gierke.

Le **document 8** présente le résultat de cette épreuve fonctionnelle.

- 4.2.1. **Citer** l'origine et la nature biochimique du glucagon.

- 4.2.2. **Analyser** les courbes obtenues et en déduire le rôle du glucagon.

Au niveau cellulaire, le glucagon agit grâce à un récepteur.

- 4.2.3. **Justifier** la localisation de ce récepteur.

Au cours de la maladie de Von Gierke, la concentration du lactate augmente de façon nette. Cette augmentation entraîne un déséquilibre acido-basique.

4.2.4. **Nommer** le type de déséquilibre engendré. **Préciser** la nature du déséquilibre et les phénomènes compensatoires mis en jeu.

On effectue le dosage de l'acide lactique selon le protocole donné sur le **document 9**.

4.2.5. **Indiquer** la composition qualitative de la solution de travail utilisée lors de la réalisation du test (réactif 3 repris avec le réactif 2).

4.2.6. **Citer** la méthode de dosage utilisée. **Justifier** la réponse.

4.2.7. La fiche technique préconise de centrifuger le plasma dans les meilleurs délais. Le plasma débarrassé du culot globulaire peut alors être conservé 4 jours à 2-8°C. **Justifier** cette précaution.

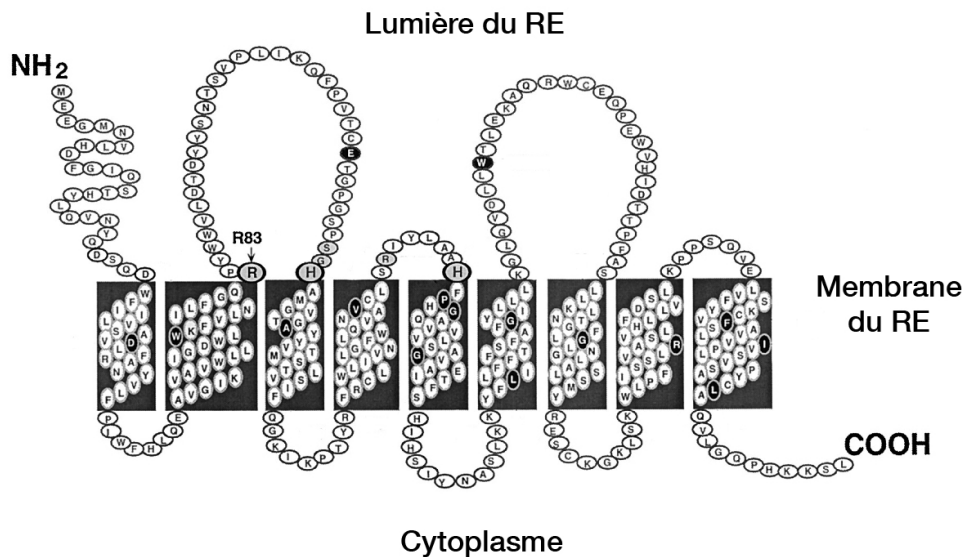
La carte de contrôle du laboratoire qui réalise ce dosage, est présentée sur le **document 10**.

La moyenne retenue pour le mois est de 3,0 mmol.L⁻¹ et l'écart-type est de 0,3 mmol.L⁻¹.

4.2.8. **Donner** un titre à ce document et compléter, avec les légendes appropriées.

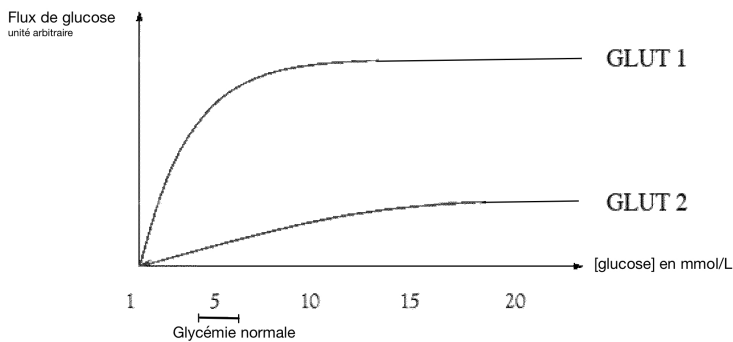
DOCUMENT 1

Ancrage de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase dans la membrane du réticulum endoplasmique



DOCUMENT 3

Variations de la vitesse de diffusion membranaire du glucose (flux) en fonction de la glycémie



DOCUMENT 2

Groupements radicaux des acides aminés

(En gras, les pK_a de la chaîne latérale R)

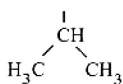
Glycine Gly G p*H*_i = 5,97
M = 75 g . mol⁻¹ pK_a : 2,34 9,60



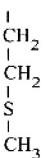
Alanine Ala A p*H*_i = 6,02
M = 89 g . mol⁻¹ pK_a : 2,35 9,69



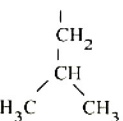
Valine Val V p*H*_i = 5,97
M = 117 g . mol⁻¹ pK_a : 2,32 9,62



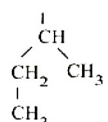
Méthionine Met M p*H*_i = 5,75
M = 149 g . mol⁻¹ pK_a : 2,28 9,21



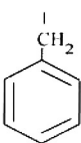
Leucine Leu L p*H*_i = 5,98
M = 131 g . mol⁻¹ pK_a : 2,36 9,60



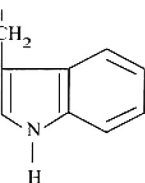
Isoleucine Ile I p*H*_i = 6,02
M = 131 g . mol⁻¹ pK_a : 2,36 9,68



Phénylalanine Phe F p*H*_i = 5,48
M = 165 g . mol⁻¹ pK_a : 1,83 9,13



Tryptophane Trp W p*H*_i = 5,89
M = 204 g . mol⁻¹ pK_a : 2,38 9,39



Sérine Ser S p*H*_i = 5,68
M = 105 g . mol⁻¹ pK_a : 2,21 9,15



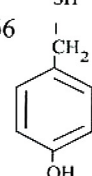
Thréonine Thr T p*H*_i = 6,53
M = 119 g . mol⁻¹ pK_a : 2,63 10,43



Cystéine Cys C p*H*_i = 5,02
M = 121 g . mol⁻¹ pK_a : 1,71 8,33 10,78



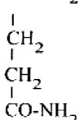
Tyrosine Tyr Y p*H*_i = 5,66
M = 181 g . mol⁻¹ pK_a : 2,20 9,11 10,07



Asparagine Asn N p*H*_i = 5,41
M = 132 g . mol⁻¹ pK_a : 2,02 8,80



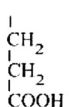
Glutamine Gln Q p*H*_i = 5,65
M = 146 g . mol⁻¹ pK_a : 2,17 9,13



Acide aspartique Asp D p*H*_i = 2,96
M = 133 g . mol⁻¹ pK_a : 2,09 3,86 9,82



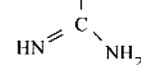
Acide glutamique Glu E p*H*_i = 3,22
M = 147 g . mol⁻¹ pK_a : 2,19 4,25 9,67



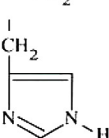
Lysine Lys K p*H*_i = 9,74
M = 146 g . mol⁻¹ pK_a : 2,18 8,95 10,53



Arginine Arg R p*H*_i = 10,76
M = 174 g . mol⁻¹ pK_a : 2,17 9,04 12,48

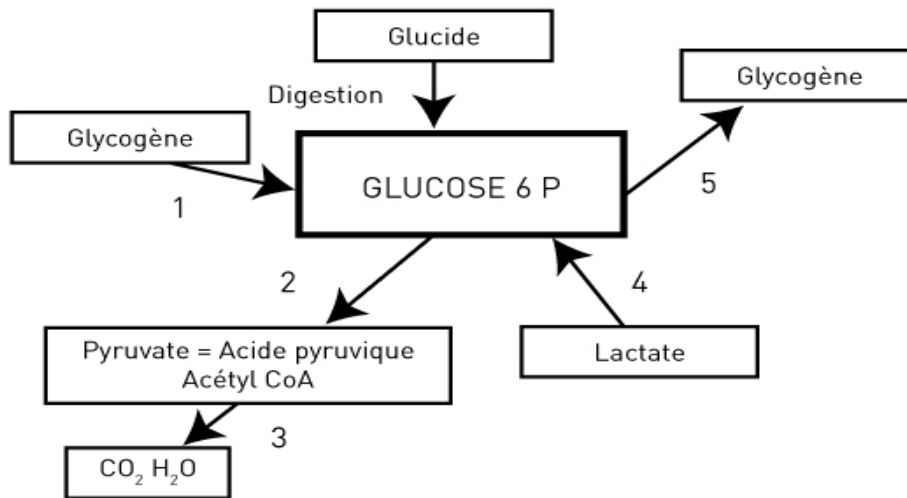


Histidine His H p*H*_i = 7,59
M = 155 g . mol⁻¹ pK_a : 1,82 6,00 9,17



DOCUMENT 4

Le glucose-6-phosphate, un carrefour métabolique



DOCUMENT 5

La technique PCR allèle spécifique (PCR ASO)

La technique de PCR allèle spécifique (PCR ASO) peut être utilisée pour réaliser les génotypes.

Cette technique repose sur l'utilisation de trois amorces : deux amorces A1 et A2 complémentaires chacune d'un des deux allèles étudiés (l'allèle normal et l'allèle muté), et une troisième amorce antisens A3, commune aux deux allèles. La réaction de PCR est réalisée séparément dans deux tubes différents :

- tube 1 : PCR réalisée avec l'amorce A1 spécifique de l'allèle normal et l'amorce A3 commune aux deux allèles
- tube 2 : PCR réalisée avec l'amorce A2 spécifique de l'allèle muté et l'amorce A3 commune aux deux allèles

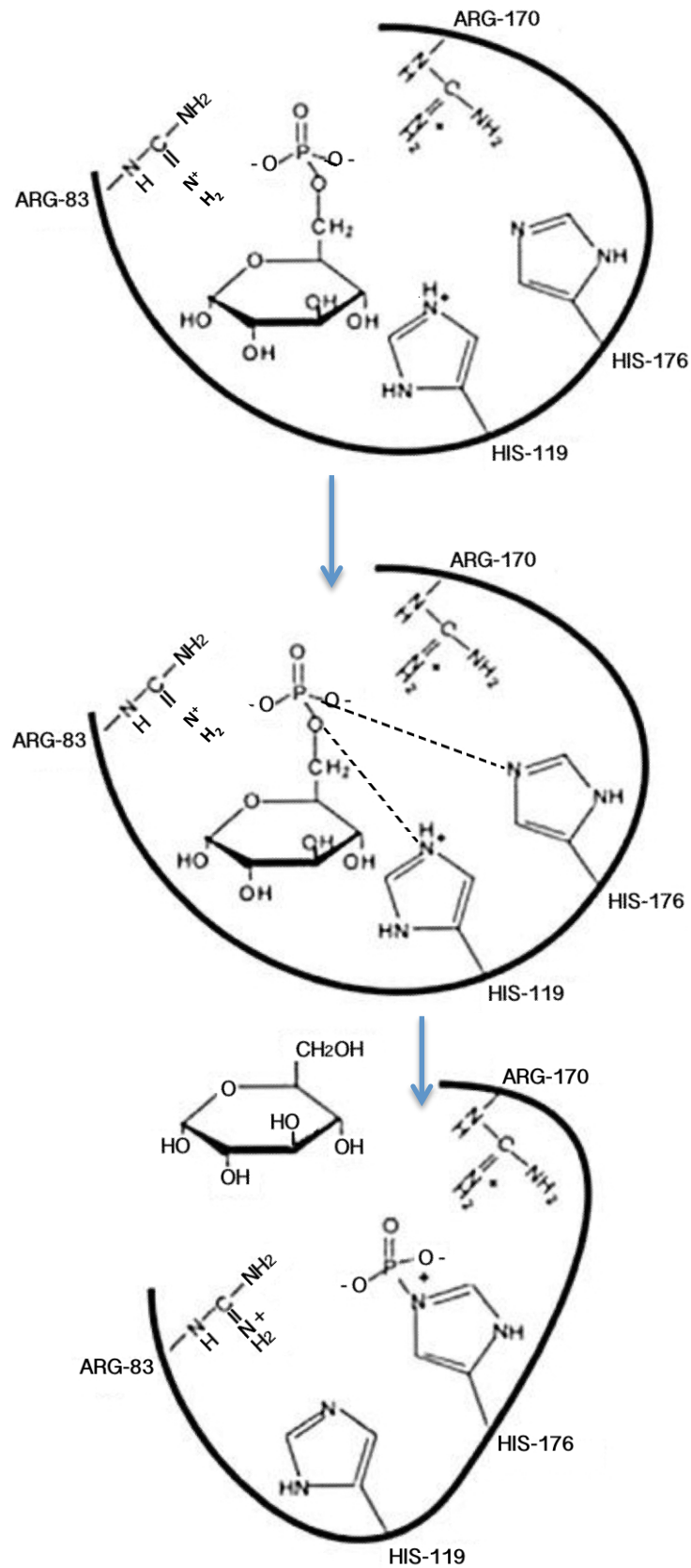
Après amplification, la détection de la mutation se fait après électrophorèse sur gel d'agarose.

La conception des amorces utilisées pour la réaction de PCR-ASO est un point critique quant au succès escompté. Ces amorces doivent permettre d'obtenir suffisamment de spécificité pour que la distinction d'une seule base soit possible.

Les amorces ASO sont obligatoirement situées avec la dernière base en 3' sur le site polymorphique, sur un brin ou sur l'autre.

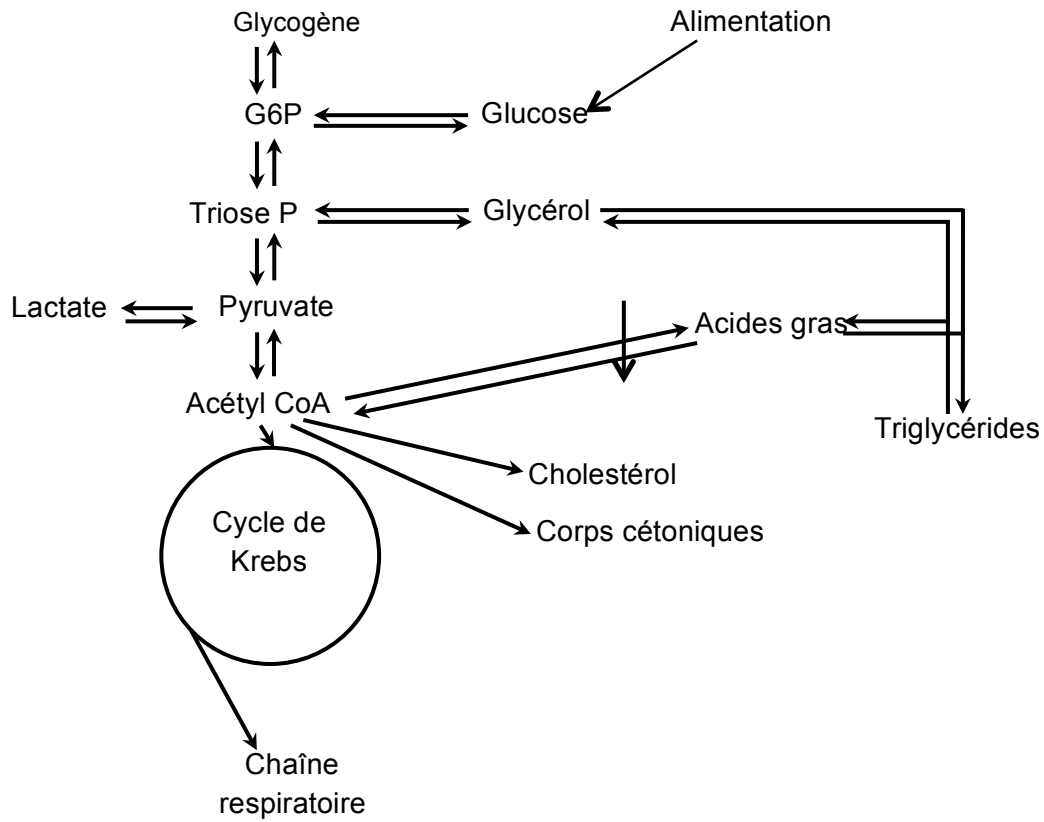
DOCUMENT 6

Site et mécanisme catalytiques de la glucose-6-phosphatase



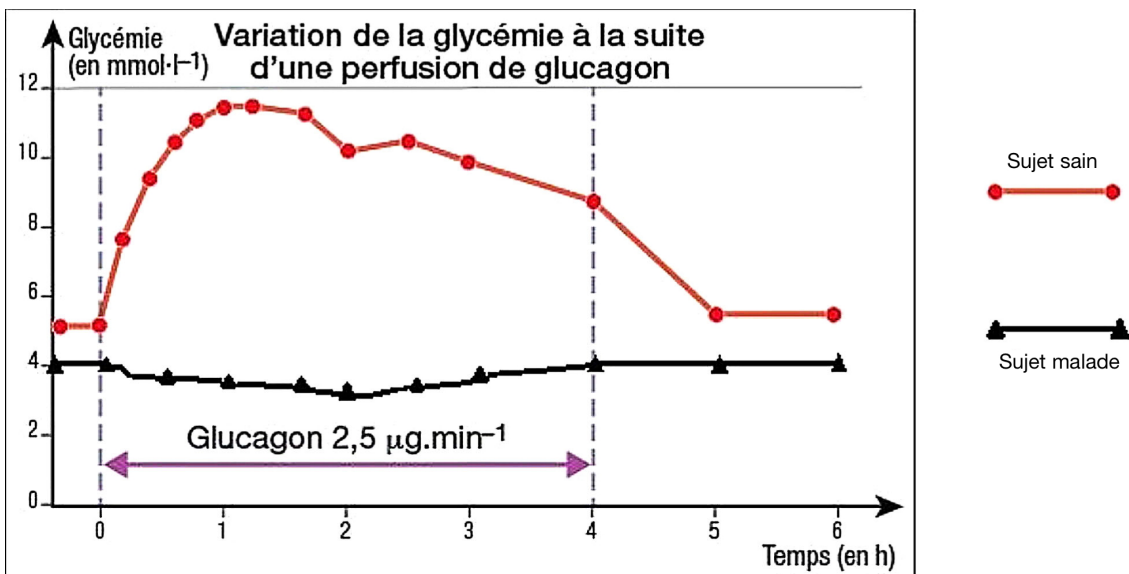
DOCUMENT 7

Les principales voies métaboliques hépatiques



DOCUMENT 8

Épreuve fonctionnelle (test au glucagon) chez le patient à jeun.



DOCUMENT 9

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

L'acide lactique provient principalement de la glycolyse au niveau des muscles squelettiques blancs, du cerveau, de la peau, de la zone médullaire du rein et des hématies. La lactatémie dépend de la vitesse de production dans ces tissus et de la vitesse du métabolisme du lactate. Environ 65% du lactate basal total est transformé en glucose dans le foie (gluconéogenèse) ; le restant est oxydé dans les muscles squelettiques rouges et dans le cortex rénal...

Une **hyperlactatémie** est définie comme une augmentation persistante, légère à modérée (de 2 à 5 mmol/l), de la concentration en lactate dans le sang, sans acidose métabolique.

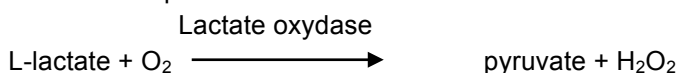
Une **acidose lactique** est caractérisée par une augmentation persistante de la lactatémie (> 5 mmol/l) en association avec une acidose métabolique.

Une **augmentation de la lactatémie** est observée :

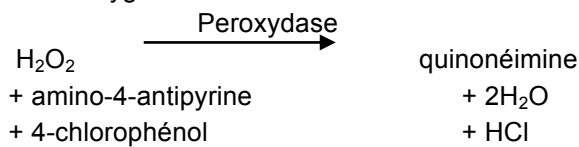
- chaque fois que le métabolisme est orienté vers l'anaérobiose, suite à un manque d'oxygène : états de choc, toutes les hypoxies importantes (intoxications par le monoxyde de carbone, les cyanures ; insuffisance respiratoire), les ischémies aiguës d'organes (infarctus du myocarde, artérite aiguë, crush syndrome), certaines complications du diabète...
- suite à une augmentation de production de L-lactate : certaines tumeurs (hépatomes, lymphomes), certains médicaments (biguanides antidiabétiques), certaines maladies génétiques (glycogénoses de type I, anomalies du métabolisme des acides aminés ou des acides gras), après un exercice physique prolongé.

PRINCIPE

Lactate PAP permet de doser le L-lactate en utilisant la séquence lactate oxydase – peroxydase - chromogène :



L'eau oxygénée formée est dosée selon une réaction de type TRINDER :



L'intensité de la coloration (quinonéimine) mesurée est proportionnelle à la quantité de L-lactate présente dans l'échantillon.

PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

- Le lactate est présent en grande quantité dans la sueur. Éviter de toucher avec les doigts les embouts des pipettes, les bouchons et les cols des flacons ainsi que tout ce qui peut entrer en contact avec le réactif.

ÉCHANTILLONS

Nature des échantillons

- Plasma recueilli sur un mélange antiglycolytique anticoagulant : fluorure de sodium-EDTA, fluorure de sodium-oxalate ou iodoacétate de lithium-héparine.

- Des précautions sont nécessaires lors du prélèvement : repos du sujet, éviter si possible l'utilisation du garrot ou limiter la stase veineuse à 30 secondes.

- Centrifuger dans les meilleurs délais pour séparer le culot globulaire du plasma afin de limiter la glycolyse qui contribue à augmenter la concentration en lactate.

- Liquide céphalo-rachidien.

Stabilité

- Plasma

- 4 jours à 2-8°C si séparé du culot globulaire.

- 3 mois à - 25 ± 6°C.

- LCR

- 24 heures à 2-8°C.

- 3 heures à 20-25°C.

- 1 mois à - 25 ± 6°C.

MODE OPÉRATOIRE MANUEL

Préparation des réactifs

- Déboucher un flacon de Réactif 3 et jeter le bouchon en caoutchouc.
- Reprendre le contenu d'un flacon de Réactif 3 par 10 ml de Réactif 2.
- Reboucher avec une capsule blanche contenue dans le sachet plastique.
- Homogénéiser par rotation lente.

Stabilité dans le flacon d'origine

- 6 semaines à 2-8°C.
- 2 semaines à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : _____ 505 nm (492 à 550 nm)

Zéro de l'appareil : _____ blanc réactif

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif 3 repris	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger.
Photométrer après une incubation de 5 minutes à 20-25°C.

Il est conseillé, pour les échantillons hyperlipémiques, de préparer un blanc échantillon en remplaçant le « Réactif 3 repris » par le Réactif 2 tel quel. Déduire la DO de ce blanc échantillon de celle obtenue pour le dosage.

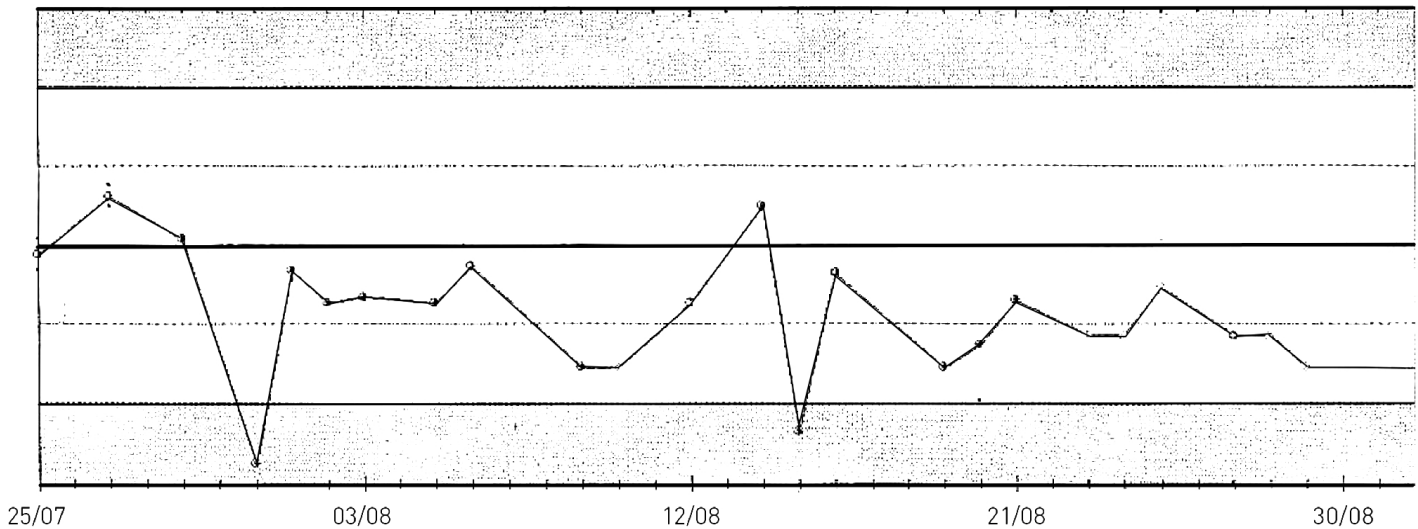
Stabilité de la coloration : ____ 1 heure à 20-25°C.

Stabilité de l'étalonnage : Effectuer un étalonnage à chaque série de dosages.

DOCUMENT 10

DOCUMENT RÉPONSE À RENDRE AVEC LA COPIE

Titre :



Durée : 3 heures Coefficient : 2
Aucun matériel autorisé

La médecine des voyages est une discipline médicale « jeune », née à la fin des années 1980. Les maladies du voyageur varient au cours du temps et nécessitent d'être régulièrement évaluées par des études épidémiologiques adaptées. Les recommandations sanitaires qui visent à minimiser les risques de maladies pour le voyageur, en particulier la vaccination, évoluent parallèlement. Elles sont publiées chaque année dans le Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (BEH).

1. Risques infectieux pour les voyageurs et recommandations sanitaires. (40 points)

Les risques infectieux concernent notamment les infections invasives à méningocoque (IIM) et la tuberculose.

1.1. Les infections invasives à méningocoques (*Neisseria meningitidis*)

La vaccination contre les IIM est recommandée en cas de séjour :

- en zone d'endémie, notamment la « ceinture de la méningite » en Afrique subsaharienne au moment de la saison sèche, dans des conditions de contact étroit avec la population locale ;
- en zone d'endémie pour y exercer une activité dans le secteur de la santé ou auprès des réfugiés, quelle que soit la saison ;
- dans une zone où sévit une épidémie.

Elle est obligatoire dans le cas d'un séjour en Arabie Saoudite.

1.1.1. **Citer** deux symptômes d'une méningite chez l'adulte et les étiologies possibles, autres que bactériennes.

Le diagnostic rapide de méningite à méningocoque du groupe B peut être établi directement sur le liquide céphalorachidien (LCR) grâce au coffret dont la composition est fournie en **annexe 1**.

1.1.2. **Indiquer** le type de réaction mise en jeu.

1.1.3. **Préciser** le rôle des réactifs R2, R9 et R10 et le résultat attendu pour chacun d'eux.

Le diagnostic doit être confirmé par la mise en culture du LCR.

1.1.4. **Citer** la technique la plus courante de prélèvement du LCR.

1.1.5. **Préciser** la principale caractéristique d'un milieu de culture utilisé pour la recherche de méningocoque, **citer** un exemple de milieu et **préciser** ses conditions d'incubation.

L'isolement a permis d'obtenir des colonies de 1 à 2 mm de diamètre, bombées, brillantes.

1.1.6. **Présenter** les résultats des observations microscopiques faites après coloration de Gram sur une colonie isolée et le résultat du test rapide d'orientation réalisé.

L'identification doit être poursuivie par des tests biochimiques conventionnels qui peuvent être réalisés grâce à une galerie miniaturisée.

Après incubation, trois tests sont apparus positifs : GLU (glucose), MAL (maltose) et GGT (gamma glutamyl transférase).

1.1.7. **Indiquer** le principe de la lecture des cupules GLU et MAL.

Le test GGT est obtenu dans un microtube bifonctionnel qui permet de mettre en évidence la PAL (phosphatase alcaline) et la GGT.

1.1.8. **Donner** les conditions à respecter pour assurer la bifonctionnalité du microtube.

Le test PEN (pénicilline) est apparu négatif. Le microtube correspondant contient de la benzylpénicilline.

1.1.9. **Citer** l'enzyme recherchée. Justifier la recherche de cette enzyme et **indiquer** la conséquence de ce résultat négatif sur un traitement éventuel.

Certaines souches de méningocoques sont capsulées.

1.1.10. **Indiquer** la composition chimique de la capsule.

1.1.11. **Expliquer** son rôle dans le pouvoir pathogène des méningocoques.

1.2. La tuberculose

La vaccination par le BCG (bacille de Calmette et Guérin) est recommandée pour les enfants dès la naissance, en particulier en cas de séjours fréquents ou supérieurs à un mois dans les pays à forte incidence tuberculeuse (continent africain, continent asiatique, pays d'Amérique Centrale et du Sud, pays d'Europe Centrale et de l'Est).

1.2.1. **Citer** deux symptômes orientant vers un diagnostic de tuberculose pulmonaire.

1.2.2. **Citer** la principale espèce bactérienne responsable de tuberculose humaine et **indiquer** ses caractéristiques morphologiques et tinctoriales.

Des tests permettent la détection directe dans le produit pathologique des mycobactéries tuberculeuses après amplification du gène codant l'ARNr (ARN ribosomal 16S). Ils sont réalisés à partir d'échantillons provenant de crachats, de lavages broncho-alvéolaires ou d'aspirations trachéales.

1.2.3. **Établir** une comparaison des différents prélèvements cités, en précisant leurs avantages et leurs inconvénients.

L'amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) débute par une étape de dénaturation thermique des acides nucléiques.

1.2.4. **Expliquer** le phénomène de dénaturation thermique.

La révélation des amplicons nécessite l'utilisation d'une sonde.

1.2.5. **Indiquer** la nature de la sonde utilisée pour la détection.

Les échantillons doivent être mis en culture.

1.2.6. **Préciser** trois conditions particulières de culture des mycobactéries.

Des tests de sensibilité aux agents anti-mycobactériens doivent également être effectués grâce à un kit pour antibiogramme. L'**annexe 2** présente un extrait de fiche technique d'un kit.

L'antibiogramme de mycobactéries se différencie d'un antibiogramme standard pour bactéries non exigeantes par le milieu utilisé, l'inoculum, l'apport d'antibiotiques, la méthode de lecture et d'interprétation.

1.2.7. À l'aide d'un tableau, **présenter** ces différences.

1.2.8. **Préciser** la nature et le rôle des tubes témoins, et le rôle des tubes contenant l'acide para-aminosalicylique (PAS).

Les résultats obtenus avec la souche isolée de l'expectoration d'un patient de retour d'Afrique sont présentés dans l'**annexe 3**.

1.2.9. **Interpréter** ces résultats.

2. Risques infectieux et vaccination en fonction des conditions du séjour (durée, saison) et des facteurs de risque individuels

Les risques infectieux concernent notamment la fièvre typhoïde, l'hépatite B et le paludisme.

2.1. La Fièvre typhoïde

La vaccination contre la fièvre typhoïde est recommandée pour les voyageurs devant effectuer un séjour prolongé ou dans de mauvaises conditions, dans des pays où l'hygiène est précaire, particulièrement dans le sous-continent indien.

Une souche de *Salmonella* Typhi est identifiée à partir d'une selle isolée sur un milieu chromogène, grâce à ses antigènes O et H.

2.1.1. **Expliquer** le principe général des milieux chromogènes.

2.1.2. **Préciser** la composition chimique et la localisation des antigènes O et H.

2.1.3. **Citer** la technique d'identification utilisée et en **préciser** le principe.

2.1.4. **Présenter** le test permettant de valider les résultats.

La surveillance de la résistance des salmonelles aux antibiotiques est assurée par le Centre National de Référence (CNR) des salmonelles. La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé en suivant les recommandations du Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Le rapport du CNR de 2011, publié en 2012, présente notamment l'évolution des résistances du sérotype Typhi de 1997 à 2011. Les résultats sont fournis dans l'**annexe 4**.

2.1.5. **Commenter** succinctement la résistance de *Salmonella* Typhi aux antibiotiques testés et son évolution.

2.1.6. **Préciser** le principal mécanisme d'évolution de cette résistance.

L'amoxicilline a été testée.

2.1.7. **Nommer** la famille d'antibiotiques à laquelle elle appartient et préciser son mode d'action.

Le CNR précise dans son rapport que la CMI de l'azithromycine est déterminée systématiquement, sur toutes les souches, depuis 2009.

2.1.8. **Définir** la CMI.

La détermination de la CMI en routine est réalisée par la technique de l'E-test.

2.1.9. **Détailler** le principe de cette technique.

2.2. L'hépatite B

En dehors des recommandations du calendrier vaccinal (enfants, adolescents, professions de santé et/ou conduites à risque), la vaccination contre l'hépatite B est recommandée pour des séjours fréquents ou prolongés dans les pays à forte ou moyenne prévalence du portage chronique du virus : Afrique subsaharienne, Asie orientale, Amazonie, parties méridionales d'Europe centrale et orientale.

2.2.1. **Présenter** les symptômes de l'hépatite B ainsi que deux modes de contamination possibles.

2.2.2. À partir du schéma annoté du VHB proposé en **annexe 5**, **décrire** ce virus.

La détection et le dosage d'antigène HBe dans un sérum peuvent être réalisés par une méthode immuno-enzymatique associée à une détection finale en fluorescence (ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay). La composition des réactifs d'un coffret est fournie en **annexe 6**.

2.2.3. Le protocole prévoit un étalonnage à l'ouverture de chaque nouveau lot, puis tous les 14 jours. **Indiquer** le réactif à utiliser et **expliquer** la notion d'étalonnage.

Des contrôles, positif et négatif, permettent de valider les résultats.

2.2.4. **Donner** la composition de ces contrôles.

Le vaccin de l'hépatite B est composé de l'antigène HBs obtenu par génie génétique, associé ou non à un adjuvant.

2.2.5. **Définir** la notion d'adjuvant.

2.3. Le paludisme

Selon le BEH du 3 juin 2014, les pays de contamination sont toujours majoritairement situés en Afrique subsaharienne (95,9 %), les cas surviennent principalement chez des sujets d'origine africaine (80,1 %), résidant en France ou arrivant d'Afrique.

2.3.1. **Nommer** le genre et l'espèce responsable d'un cas d'urgence de paludisme.

2.3.2. **Citer** le mode de contamination de l'homme et donner deux recommandations en matière de prophylaxie du paludisme

2.3.3. Au retour d'une zone d'endémie, on peut observer un « accès palustre ». **Définir** cette expression.

2.3.4. La technique de référence pour poser le diagnostic de paludisme est l'observation d'un frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa.

Préciser les trois principaux critères permettant l'identification de l'espèce en cause.

ANNEXE 1

Extrait de la fiche technique Pastorex™ meningitis

PASTOREX™ MENINGITIS, coffret pour 25 tests, contenant :

Réactif	Suspension
R1 : <i>N. meningitidis</i> B/ <i>E.coli</i> K1	latex rouge sensibilisé par un anticorps monoclonal de souris spécifique de <i>N. meningitidis</i> groupe B / <i>E.coli</i> K1
R2 : <i>N. meningitidis</i> B/ <i>E.coli</i> K1 contrôle négatif	latex rouge sensibilisé par un anticorps monoclonal de souris spécifique de l'anatoxine tétanique
R3 : <i>H. influenzae</i> b	latex blanc sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques d' <i>H. influenzae</i> de type b
R4 : <i>S. pneumoniae</i>	latex vert sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>S. pneumoniae</i>
R5 : <i>Streptococcus</i> B	latex jaune sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>Streptococcus</i> B
R6 : <i>N. meningitidis</i> A	latex bleu sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupe A
R7 : <i>N. meningitidis</i> C	latex rouge sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupe C
R8 : <i>N. meningitidis</i> Y/W 135	latex rose sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupes Y et W135
R9 : Contrôle négatif polyvalent	latex prune sensibilisé avec des IgG de lapin non immunisé
R10 : Contrôle positif polyvalent	Extrait antigénique polyvalent lyophilisé à reconstituer avec 1 ml d'eau stérile. Contient les antigènes polysaccharidiques de <i>N. meningitidis</i> A, C, B, Y/W135, <i>H. influenzae</i> b, <i>Streptococcus</i> B et <i>S. pneumoniae</i> . Volume suffisant pour 20 réactions

Tous ces réactifs contiennent 0,02 % de merthiolate.

Les réactifs R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 contiennent une quantité ≤ 0,1 % d'azoture de sodium.

(Document Bio-Rad)

ANNEXE 2

Extrait de la fiche technique d'un kit pour antibiogramme de mycobactéries

(Document Bio-Rad)

1- PRINCIPE

Le kit pour antibiogramme *Mycobacterium tuberculosis* permet de déterminer la sensibilité du B.K. à l'isoniazide (INH), la streptomycine (STREP), la rifampicine (RIF) et l'éthambutol (EMB) par la méthode des proportions. Les bacilles tuberculeux (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) sont sensibles au PAS (acide para-aminosalicylique) alors que les mycobactéries atypiques sont toutes résistantes.

2- PRÉSENTATION

- Milieu Löwenstein-Jensen

6 tubes de témoins sans antibiotiques de 7 ml.

- Milieu Löwenstein-Jensen avec antibiotiques

3 x 7 ml Isoniazid 0.1 µg/ml

3 x 7 ml Rifampicin 40 µg/ml

3 x 7 ml Isoniazid 0.2 µg/ml

3 x 7 ml Streptomycin 4 µg/ml

3 x 7 ml Isoniazid 1 µg/ml

3 x 7 ml Ethambutol 2 µg/ml

3 x 7 ml Isoniazid 10 µg/ml

3 x 7 ml P.A.S. 0.5 µg/ml

3- MODE OPÉRATOIRE

Matériel nécessaire non fourni

- Spatule de platine
- Flacon stérile
- Billes de verre stériles
- Suspension de B.C.G. à 1 mg/ml

Précautions d'utilisation / Consigne d'hygiène et de sécurité

La manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir des mycobactéries nécessite la prise de mesures techniques de prévention et le respect des normes de sécurité en vigueur pour les germes de classe

Ensemencement :

A. Méthode indirecte (préparation de l'inoculum à partir de colonies isolées en culture)

Déposer environ 5 mg de culture pure de mycobactéries dans un flacon stérile contenant une trentaine de billes de verre, de 3 à 5 mm de diamètre.

- Agiter ce flacon à sec pendant 20 à 30 secondes.
- Ajouter 0,1 ml d'eau distillée stérile. Agiter 10 à 15 secondes.
- Ajouter 5 ml d'eau distillée stérile. Agiter 10 à 15 secondes.
- Ajuster la concentration de cette suspension par addition d'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention d'une opacité équivalente à celle d'une suspension de B.C.G. à 1 mg par ml.
- À partir de cette suspension, préparer successivement 3 dilutions : 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} .

B. Méthode directe (préparation de l'inoculum à partir du prélèvement)

Incubation :

- Incuber pendant 28 jours à 37°C en position horizontale.
- Après disparition de l'inoculum (3 ou 4 jours), les tubes seront fermés hermétiquement.

Lecture :

- La lecture des résultats peut se faire à partir du 25^e jour.
- Elle s'effectue en comptant le nombre de colonies apparues dans les différents tubes pour en déduire la proportion de bacilles résistants. Une souche est dite résistante lorsque les bacilles résistants qu'elle contient atteignent ou dépassent un pourcentage limite fixé à 1 %.

• Les colonies de bacilles tuberculeux ne prennent un aspect typique que si le milieu est bien oxygéné et la partie liquide de l'inoculum bien évaporée.

Les tubes ne seront fermés qu'après évaporation complète.

ANNEXE 3

Résultats d'antibiogramme

Dilution	Tubes témoins	PAS 0,5 µg	INH				RIF 40 µg	STREP 4 µg	EMB 2 µg
			0,1 µg	0,2 µg	1 µg	10 µg			
	Nombre de colonies par tube								
10 ⁻¹	nappe	0	0	0	0	0	nappe		
10 ⁻³	62	0	0	0	0	0	61	40	25
10 ⁻⁵	1	0	0	0	0	0	1	0	0

ANNEXE 4

Extrait du rapport annuel de 2011 du CNR des salmonelles Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi de 1997 à 2011

Antibiotique	% de souches résistantes en :							
	1997 (n=40) (N=170)	2002 (n=40) (N=133)	2005* (n=63) (N=116)	2007* (n=65) (N=65)	2008* (n=85) (N=85)	2009* (n=120) (N=120)	2010* (n=108) (N=109)	2011* (n=102) (N=102)
Amoxicilline	0	2,5	8,1	20	11,8	16,0	15,7	13,7
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0	0
Acide nalidixique	0	7,5	17,8	33,3	30,6	24,1	38,9	39,2
Ciprofloxacine	0	0	0	0	0	0	2,7	3,9
Cotrimoxazole	5	7,5	7,9	22,2	11,8	18,8	20,4	13,7
Chloramphénicol	7,5	7,5	5,9	15,6	10,6	17,9	16,7	12,7
Tétracycline	5	7,5	5,9	15,6	8,2	10,7	10,2	4,9
Azithromycine	NT	NT	NT	NT	NT	0	0	0

n : nombre de souches étudiées

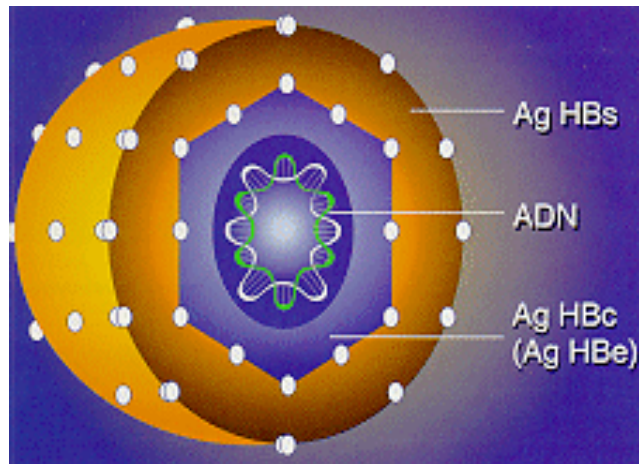
N : nombre de souches du sérotype (une seule par patient) reçues au CNR *Salmonella*

*Souches isolées en France métropolitaine excluant les souches provenant de Mayotte et des Antilles-Guyane.

NT : non testé. La CMI à l'azithromycine est réalisée systématiquement sur toutes les souches depuis 2009

ANNEXE 5

Schéma du VHB



(Source : hepatoweb.com)

ANNEXE 6

Composition des réactifs d'un coffret de détection des antigènes HBe par technique ELFA

30 cartouches HBE	STR	Prêtes à l'emploi.
30 cônes HBE 1 x 30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'anticorps monoclonal de souris anti-HBe
Contrôle positif Ag HBe 1 x 1,5 ml (liquide)	C 1	Prêt à l'emploi.
Contrôle négatif Ag HBe 1 x 3 ml (liquide)	C 2	Prêt à l'emploi.
Standard Ag HBe 4 x 1 ml (lyophilisé)	S 1	Base protéique stabilisée contenant l'antigène recombinant HBe de concentration connue (valeur inscrite sur le flacon). Diluer le contenu du flacon avec 1 ml de diluant pour reconstituer le standard. Après reconstitution, le standard peut être conservé à 2-8°C durant 6 mois.
Diluant du standard S1 1 x 5 ml	R 1	Prêt à l'emploi. Il contient 0,9 g/l d'azoture de sodium.
1 Carte MLE (Master Lot Entry)		Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture.

(Document bioMérieux)

Durée : 2 heures Coefficient : 2
Aucun matériel autorisé

Document à rendre avec la copie : **Annexe 7**

L'HÉMOPHILIE A

Un enfant de 8 ans souffre d'hémophilie A. Il est admis aux urgences suite à une chute dans la cour de récréation de l'école. Il présente divers hématomes et surtout une hémarthrose* au genou droit.

* Une hémarthrose est la présence de sang dans la cavité articulaire.

1. Hémostase (14 points)

Un bilan d'hémostase est réalisé à l'arrivée du patient aux urgences. Les résultats sont donnés dans l'**annexe 1**.

1.1 Interpréter et expliquer les résultats de ce bilan.

Un dosage du facteur VIII est demandé. Un extrait des fiches techniques nécessaire à ce dosage est fourni **annexes 2 et 3**.

1.2 Déduire de la fiche technique, le principe du dosage.

1.3 Préciser le rôle de chacun des réactifs.

Le taux de facteur VIII de l'enfant est de 0,96 %.

1.4 En déduire le degré de gravité de la pathologie.

L'enfant bénéficie depuis cinq ans d'un traitement dit prophylactique consistant à injecter deux à trois fois par semaine une dose de facteur anti hémophilique A d'origine humaine. Ce traitement a pour objectif de maintenir un taux résiduel minimal en facteur afin de prévenir les accidents articulaires. Le traitement est devenu inefficace suite à l'apparition d'un alloanticorps inhibant la coagulation encore appelé anticoagulant circulant (ACC).

1.5 Justifier l'isotype G de l'anticorps, et **préciser** la spécificité de cet alloanticorps.

1.6 Expliquer son apparition chez l'enfant dans le contexte physiopathologique.

1.7 Expliquer le mécanisme de destruction du facteur VIII par l'alloanticorps.

Une des remédiations possibles à l'inefficacité du traitement consiste en l'administration de doses fréquentes de facteur VIII pendant plusieurs mois voire des années, les doses étant de plus en plus concentrées.

1.8 Préciser l'objectif de cette remédiation.

2. Hémarthroses (19,5 points)

La présence répétée de sang dans une articulation entraîne une inflammation chronique de la membrane synoviale, qui recouvre la cavité articulaire. En conséquence, le cartilage s'abîme rapidement ce qui entraîne à la longue sa destruction.

Une ponction de liquide synovial est demandée pour contrôler la gravité de l'hémarthrose. À la ponction, le liquide articulaire est rouge et ne coagule pas.

Des frottis confectionnés à partir du culot de centrifugation sont colorés par la technique de May Grünwald Giemsa. Un extrait de la fiche technique de la coloration est fourni **annexes 4 et 5**.

- 2.1 **Indiquer** l'objectif d'un examen cytologique.
- 2.2 **Présenter** le principe et les étapes de la coloration MGG.
- 2.3 **Justifier** l'emploi de cette coloration dans le cadre d'une hémarthrose.

Une biopsie synoviale permet d'évaluer l'importance de l'inflammation et de la destruction articulaire. Aussitôt réalisée, la biopsie est fixée à l'aide du formol et adressée sans délai au laboratoire d'anatomopathologie.

- 2.4 **Préciser** le rôle de la fixation et **indiquer** une des conditions nécessaire à une fixation optimale.

Le fixateur utilisé ne dénature pas les antigènes tissulaires qui peuvent être mis en évidence sur les coupes histologiques par immunohistochimie.

- 2.5 **Définir** le terme « antigène ».

Le réactif principal utilisé pour mettre en évidence un antigène par réaction immunoenzymatique est un anticorps spécifique de cet antigène.

- 2.6 **Nommer** les structures moléculaires mises en jeu lors de la formation du complexe immun et **préciser** les interactions antigène – anticorps.

2.7 **Schématiser** les étapes de la mise en évidence d'un antigène tissulaire par une technique immunohistochimique, mettant en jeu une méthode immunoenzymatique indirecte.

L'observation microscopique de la coupe synoviale colorée selon la technique classique Hémalum-Eosine-Safran révèle, entre autres, la présence de très nombreuses cellules phagocytaires. Celles-ci éliminent les hématies et les débris cellulaires présents dans la cavité articulaire. L'**annexe 6** présente un schéma de la phagocytose.

- 2.8 **Reporter** les numéros des étapes et **donner** leur signification.

Certains constituants des hématies phagocytées ne sont pas recyclés.

- 2.9 **Indiquer** le devenir des éléments de l'hémoglobine recyclés par le macrophage.

Une surcharge en hémosidérine peut-être mise en évidence dans les macrophages par coloration de PERLS.

- 2.10 **Préciser** le rôle de l'hémosidérine. **Justifier** cette surcharge dans le cas étudié.

3. Surveillance de l'état immunitaire (6,5 points)

Il existe un risque de contamination virale du patient hémophile, en particulier par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). La surveillance de l'état immunitaire comprend différents examens sanguins.

Différentes molécules sont recherchées dans le sérum du patient pour mettre en évidence une contamination par le VIH.

- 3.1 **Nommer** ces molécules et citer une technique immunologique qui permet leur mise en évidence.

Un kit permet de vérifier la contamination par le VIH. Ce test est fondé sur l'utilisation d'une bandelette de nitrocellulose sur laquelle divers antigènes viraux sont adsorbés.

- 3.2 **Expliquer** l'intérêt de ce test.

Un hémogramme réalisé à partir du sang du patient permet de dénombrer les lymphocytes totaux. Les résultats partiels de l'hémogramme sont les suivants :

Paramètre	Résultat	Valeurs de référence
Leucocytes	$6 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$	4,7 à $13,7 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$
Lymphocytes (formule leucocytaire)		1 à $6,2 \cdot 10^9 \text{ L}^{-1}$

On observe 50% de lymphocytes dans la formule leucocytaire.

3.3 Calculer la lymphocytose totale et conclure.

Les lymphocytes du sang sont ensuite isolés. Un double marquage avec des anticorps fluorescents permet d'étudier chaque sous-population par cytométrie de flux.

Les anticorps utilisés sont :

- Anticorps anti-CD4 couplé à de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) émettant une fluorescence verte
- Anticorps anti-CD8 couplé à un complexe Peridinine Chlorophylle (PERCP), émettant une fluorescence rouge

L'**annexe 7** présente les résultats du tri des cellules par l'analyseur.

3.4 Identifier et commenter les sous-populations lymphocytaires sur le graphique. (annexe 7 à rendre avec la copie).

ANNEXE 1

Paramètres	Valeurs patient	Valeurs de référence
Numération des thrombocytes	$220 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	150 à $400 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Taux de Prothrombine	94 %	> 70 %
Temps de Céphaline Activé	90 s (témoin 30 s)	TCAm / TCA _t ≤ 1,20
Fibrinogène	$2,5 g \cdot L^{-1}$	2 à $4 g \cdot L^{-1}$

ANNEXE 2

Extrait de la fiche technique du coffret HEMOLAB Cofac VIII de Biomérieux

MODE OPERATOIRE

1. Préparation des réactifs

Reprendre un flacon d'HEMOLAB Cofac VIII par 1 ml d'eau distillée.

Stabilité après reconstitution :

+ 2°C < T < + 8°C : 12 heures.

+ 15°C < T < + 25°C : 4 heures.

2. Exécution de la réaction

Technique standard :

HEMOLAB Silimat	0,1 ml
HEMOLAB Cofac VIII	0,1 ml
Plasma dilué extemporanément en tube plastique au 1/5 en tampon de Michaelis.	0,1 ml
Agiter et laisser incuber 3 minutes exactement à 37°C.	
Chlorure de calcium (37°C)	0,1 ml
Déclencher simultanément le chronomètre. Noter le temps de coagulation. Faire une double détermination par dosage.	

3. Exécution du test sur HEMOLAB

Se reporter au manuel d'utilisation.

4. Précautions d'utilisation

Ce coffret contient des composants d'origine humaine. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible. Il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux.

ETALONNAGE

L'étalonnage doit être modifié à chaque changement de lot de réactif et déterminé à partir d'un plasma référence.

1. Plasmas référence :

- Pool de plasmas frais normaux constitué d'au moins 6 plasmas frais normaux, prélevés sur anticoagulant de même nature que celui employé pour les échantillons à tester et dans les mêmes conditions.
- Caliplasma Index 100 (Réf. 68 352)
Tenir compte du volume de reprise indiqué sur la notice propre à chaque lot pour avoir un taux de facteur VIII égal à 100 %.

2. Courbe d'étalonnage :

Réaliser extemporanément, en tube plastique, les dilutions suivantes en tampon Michaelis pH 7,35 :

Dilutions	1/5	1/10	1/20	1/40
FVIII présent	100 %	50 %	25 %	12,5 %

NB : Pour doser des plasmas dont le taux est inférieur à 12 %, il est conseillé de faire une courbe d'étalonnage en 8 points.

Dilutions	1/80	1/160	1/320	1/640
FVIII présent	6,25 %	3,13 %	1,56 %	0,78 %

Déterminer le temps de coagulation de ces différentes dilutions.

Porter sur un papier semi-logarithmique :

- **en abscisse** : les pourcentages de Facteur VIII correspondant aux différentes dilutions,
- **en ordonnée** : les temps de coagulation obtenus en secondes.

Pour chaque plasma testé, lire sur la courbe d'étalonnage le taux de Facteur VIII correspondant au temps de coagulation obtenu.

RESULTATS ATTENDUS

L'activité biologique du facteur VIII:C chez l'adulte sain est comprise entre 60 et 150 % de la valeur normale moyenne.

A la naissance, le taux dépasse souvent celui de l'adulte et se normalise vers le 10^e jour.

L'hémophilie A est une maladie héréditaire de la coagulation transmise selon le mode récessif lié au sexe et caractérisée par une déficience en facteur VIII:C.

Selon l'importance du déficit biologique, l'hémophilie A est classée en trois catégories :

- taux de facteur VIII:C compris entre 5 et 25 % : hémophilie A mineure,
- taux de facteur VIII:C compris entre 1 et 4 % : hémophilie A modérée,
- taux de facteur VIII:C < 1 % : hémophilie A majeure.

ANNEXE 3

Nature des réactifs d'hémostase

(Extraits des fiches techniques des coffrets HEMOLAB Cofac VIII et Silimat de Biomérieux)

HEMOLAB Cofac VIII	Plasma citraté d'origine humaine déficient en facteur VIII
HEMOLAB Silimat	Suspension tamponnée de céphaline et de silice micronisée
Chlorure de Calcium	C = 0,025 mol · L ⁻¹

ANNEXE 4

Nature des réactifs nécessaires à la coloration May Grünwald Giemsa

May-Grünwald en solution	Sel d'éosinate de bleu de méthylène en solution dans du méthanol
Tampon pH 7,0 en solution (eau neutre)	Phosphate disodique (Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O) : 3,76 g Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄) anhydre : 2,1 g Eau distillée : qsp. 1000 mL pH compris entre 7,0 et 7,2
Colorant de Giemsa R (rapide) en solution	Sel d'éosinate d'azur de méthylène en solution dans du méthanol

ANNEXE 5

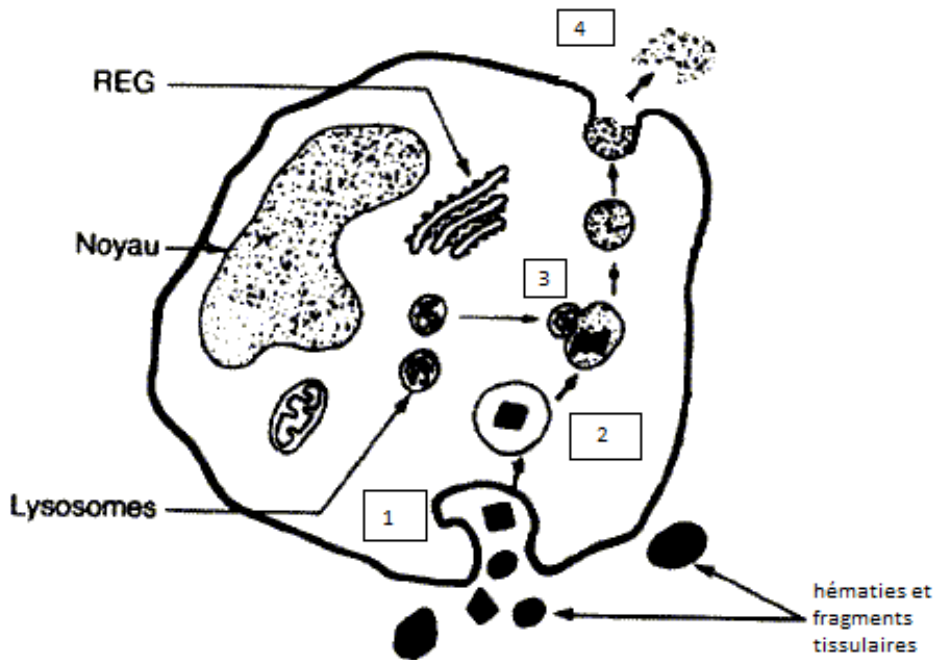
Extrait de la fiche technique de coloration MGG par recouvrement

Mode opératoire :

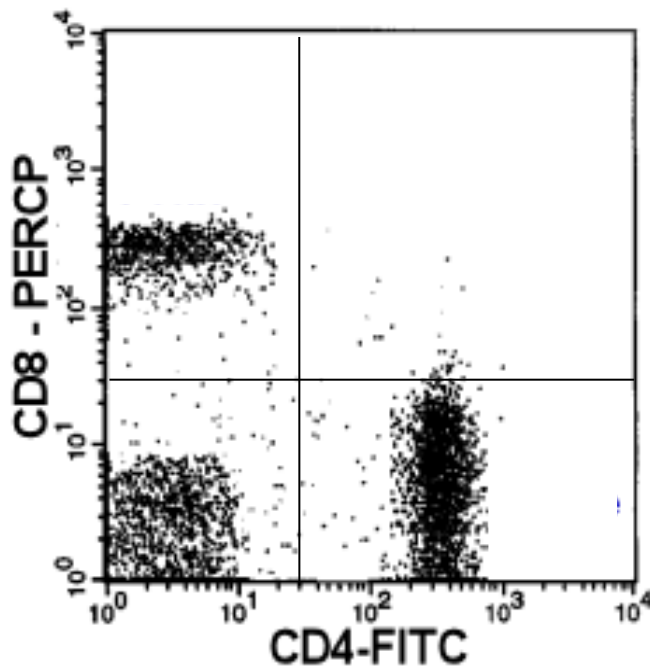
Technique de Coloration par recouvrement

- Couvrir le frottis avec 1 mL de May-Grünwald pur : 3 minutes
- Ajouter avec précautions 1 mL de solution Tampon et réaliser le mélange sans débordement : 1 minute
- Eliminer l'excès de colorant par égouttage ou rinçage rapide.
- Couvrir le frottis avec la solution de Giemsa R dilué dans une solution Tampon au 1/30 : 10 minutes
- Lavage rapide à l'eau courante ou dans une solution Tampon : 10 secondes

ANNEXE 6



ANNEXE 7



Sur l'échelle logarithmique d'une fluorescence, on considère qu'une valeur inférieure à $10^{1,2}$ n'est pas significative. (autofluorescence, ...)

Les épreuves de travaux pratiques se déroulent en « cours de formation » dans le cadre des formations initiales des établissements agréés. Les autres candidats passent une épreuve terminale de TP dont voici un sujet.

E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2015

Durée : 4 heures Coefficient : 2,5

Aucun matériel autorisé.

Calculatrice autorisée.

Document à rendre : l'annexe 1 est à rendre avec la copie

EXPLORATION D'UNE ANOMALIE LIPIDIQUE ET BILAN HÉPATIQUE

Un homme de 51 ans consulte pour le renouvellement d'une licence sportive. Il fait 2 à 3 heures de sport par semaine. Il fume 20 cigarettes par jour. Il est hypertendu. Le médecin demande l'exploration d'une anomalie lipidique (EAL) et un bilan hépatique. Les résultats sont partiellement présentés dans l'**annexe 1** et seront complétés par :

- Le dosage du cholestérol total,
- Le calcul de cholestérol-LDL,
- Le dosage de l'ASAT.

1. Dosage du cholestérol total

1.1. Principe

Le cholestérol est dosé en utilisant la séquence cholestérol estérase-cholestérol oxydase-peroxydase-chromogène :

- Cholestérol estérifié \rightarrow cholestérol + acide gras (enzyme = cholestérol estérase)
- Cholestérol + $O_2 \rightarrow$ cholestène-4,one-3 + H_2O_2 (enzyme = cholesterol oxydase)
- H_2O_2 formé est dosé selon une réaction de type Trinder :
 $2 H_2O_2 + \text{phénol} + \text{amino 4 antipyrine} \rightarrow \text{quinonéimine} + 4 H_2O$ (enzyme = peroxydase)

L'intensité de la coloration (quinonéimine), mesurée à 500 nm, est proportionnelle à la quantité de cholestérol présente dans l'échantillon.

1.2. Mode opératoire

1.2.1. Réalisation du test

Dans une cuve de spectrophotométrie introduire :

- 200 μ L d'échantillon
- 2 mL de solution de travail

Mélanger. Attendre 15 minutes et lire l'absorbance à 500 nm. La coloration est stable 30 minutes.

1.2.2. Étalonnage

À partir de la solution étalon E à 2 g.L^{-1} , préparer une gamme d'étalonnage de 0 à $400 \mu\text{g}$ de cholestérol par cuve.

1.2.3. Dosage

Réaliser deux essais pour le sérum du patient dilué au 1/2 et un essai pour le contrôle à 1 g.L^{-1} .

☞ **Inventorier l'ensemble du matériel et des réactifs nécessaires pour cette manipulation. Montrer cette liste à l'examineur avant de manipuler.**

1.2.4. Résultats et compte rendu

- Présenter un tableau complet réalisation de la gamme et du dosage et justifier la dilution du sérum patient.
- Exploiter l'ensemble des résultats obtenus afin de déterminer la cholestérolémie.
- Compléter l'**annexe 1**.

Données :

- Masse molaire du cholestérol : 387 g.mol^{-1}
- Coefficient de variation de répétabilité : 3 %
- Coefficient de variation de reproductibilité : 5%
- L'incertitude élargie sera exprimée avec 2 chiffres significatifs.

2. Détermination de la concentration catalytique de l'ASAT

La détermination de l'activité de l'ASAT est réalisée à l'aide du kit commercial dont la fiche technique est présentée **annexe 2**.

2.1. Réactifs

- Réactif 2 repris par le réactif 1
- Sérum du patient

2.2. Mode opératoire

Réaliser un essai selon le mode opératoire de la fiche technique donnée **annexe 2**

- Température : 37°C
- Longueur d'onde de lecture : 340 nm

2.3. Résultats

- Rendre l'ensemble des résultats obtenus.
- Exploiter l'ensemble des résultats afin de déterminer la concentration d'activité catalytique de l'ASAT.
- Compléter l'**annexe 1** et conclure pour le patient avec l'ensemble des données.

ANNEXE 1 À RENDRE AVEC LA COPIE

Numéro de poste :

Nom du candidat :

Aspect du sérum	Patient	Valeurs de référence
	Trouble léger	
Triglycérides TG PAP 150 BioMérieux Méthode en point final	2,50 mmol.L⁻¹	0,50 à 2,10 mmol.L⁻¹
Cholestérol total Cholestérol RTU BioMérieux		3,87 à 5,16 mmol.L⁻¹
Cholestérol HDL Immuno colorimétrie	1,60 mmol.L⁻¹	0,90 à 1,80 mmol.L⁻¹
Rapport cholestérol Total / HDL		< à 4,90
Calcul du cholestérol LDL		
ASAT à 37°C		
ALAT à 37°C	105 U.L⁻¹	≤ 40 U.L⁻¹

Calcul du cholestérol LDL : formule de Friedewald

$\text{Cholestérol}_{\text{LDL}} = \text{Cholestérol}_{\text{Total}} - \text{Cholestérol}_{\text{HDL}} - (\text{triglycérides} / 2,2)$

Toutes les concentrations sont exprimées en mmol.L⁻¹

Valeur cible souhaitée	LDL	
	g/l	mmol/l
Prévention primaire		
● sujets sans autre facteur de risque	< 2,20	< 5,7
● sujets ayant un autre facteur de risque	< 1,90	< 4,9
● sujets ayant deux autres facteurs de risque	< 1,60	< 4,1
● sujets ayant plus de deux autres facteurs de risque	< 1,30	< 3,4
Prévention secondaire		
● sujets ayant une maladie coronaire	< 1,30	< 3,4

Ce tableau se réfère aux valeurs énoncées par l'AFSSAPS en 2005.

Facteurs de risque: rappel consensus AFSSAPS

- Age: homme > 50ans - Femme > 60ans
- Antécédents familiaux de maladie coronaire précoce:
 - * Infarctus du myocarde ou mort subite avant 55 ans chez le père ou chez un parent du 1e degré de sexe masculin
 - * Infarctus du myocarde ou mort subite avant 65 ans chez la mère ou chez un parent du 1e degré de sexe féminin
- Tabagisme actuel ou arrêté depuis moins de 3 ans.
- Hypertension artérielle.
- HDL cholestérol < 0.40 g/l (1.0 mmol/l)
- Diabète de type 2

Facteur protecteur:

HDL cholestérol > 0.60 g/l (1.5 mmol/l) – Soustraire « un risque » au score

ANNEXE 2

REF 63 261 / 63 212 / 63 213

03590 G - FR - 2006/02

ENZYLINE™ ASAT / GOT 6 monoréactif ENZYLINE™ ASAT / GOT 20 monoréactif ENZYLINE™ ASAT / GOT 50 monoréactif

IVD

Mesure cinétique de l'activité aspartate aminotransférase dans sérum et plasma humains.
Méthode avec tampon Tris, sans phosphate de pyridoxal.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

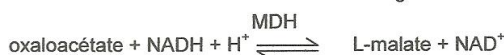
Les transaminases sont présentes en grande quantité dans certains tissus comme le foie (ALAT/GPT et ASAT/GOT) ou le cœur (principalement ASAT/GOT). Leur apparition dans le sang reflète une nécrose de ces tissus. Dans le cadre d'un bilan hépatique, une augmentation importante des transaminases témoigne d'une cytolyse. Les ALAT/GPT sont habituellement plus élevées que les ASAT/GOT. Des activités plus modérées sont observées lors de cholestase, d'hépatite chronique active, de cancer du foie.

Dans le cadre d'un bilan cardiaque, les transaminases sont des indicateurs de l'infarctus du myocarde. Elles s'élèvent dès la 10^{ème} heure et se normalisent en 3 à 6 jours. Les ASAT/GOT sont plus élevées que les ALAT/GPT (1, 2).

En dehors de ces 2 bilans, les ASAT/GOT s'élèvent lors d'atteintes musculaires (myopathie, dermatomyosite, myoglobulinurie), d'infarctus rénal ou de traumatisme.

PRINCIPE

Ce réactif permet la détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase avec couplage à une réaction indicatrice à NAD réduit, en tampon Tris-HCl 80 mM pH 7,80, sans phosphate de pyridoxal, dans le sérum et le plasma humains, selon les réactions suivantes :



On mesure la vitesse de disparition du NADH à 340 nm, qui est proportionnelle à l'activité catalytique de la GOT (3, 4).

GOT = glutamate oxaloacétate transaminase.

MDH = malate déshydrogénase.

Code SFBC : SA

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET

(Réf. 63 261 : 72 tests - Réf. 63 212 : 200 tests - Réf. 63 213 : 200 tests)

Réactif 1 Acide aspartique - Réf. 63 261 : 1 x 80 ml (liquide) - Réf. 63 212 : 4 x 65 ml (liquide) - Réf. 63 213 : 4 x 50 ml (liquide)	R1	Tampon tris pH 7,8 L-aspartate NaN ₃	88 mmol/l 220 mmol/l 1 g/l
Réactif 2 (repris par R1) Enzymes-coenzyme - Réf. 63 261 : 12 x 6 ml (lyophilisé) - Réf. 63 212 : 10 x 20 ml (lyophilisé) - Réf. 63 213 : 4 x 50 ml (lyophilisé)	R2	α cétooglutarate NADH MDH (origine porcine) LDH (origine porcine)	13,2 mmol/l $\geq 0,23$ mmol/l ≥ 500 U/l $\geq 1\ 200$ U/l
Réf. 63 213 : 4 adaptateurs			
1 notice			

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Equipement général de laboratoire.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Le réactif contient un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- Conserver le coffret à 2-8°C.
- Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui, s'ils sont conservés dans les conditions préconisées.

ECHANTILLONS**Nature des échantillons**

Sérum ou plasma recueilli sur héparinate de lithium.

Stabilité (4)

- 5 jours à 2-8°C.
- 48 heures à 20-25°C.

Interférences

Il n'a pas été observé, pour ce dosage, d'influence significative :

- de la lipémie, après surcharge d'échantillons en lipides, jusqu'à 7 mmol/l d'équivalent triglycérides,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 368 µmol/l,
- du pyruvate jusqu'à 300 µmol/l.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés en raison de la grande quantité de GOT présente dans les érythrocytes (4).

Il est néanmoins conseillé d'être vigilant sur les échantillons visiblement lipémiques ou ictériques et d'effectuer si possible un nouveau prélèvement.

MODE OPERATOIRE MANUEL**Préparation des réactifs**

Reprenre le contenu d'un flacon de Réactif 2 par

- ENZYLINE™ ASAT/GOT 6 monoréactif (Réf. 63 261) : 6 ml de Réactif 1.
- ENZYLINE™ ASAT/GOT 20 monoréactif (Réf. 63 212) : 20 ml de Réactif 1.
- ENZYLINE™ ASAT/GOT 50 monoréactif (Réf. 63 213) : le contenu d'un flacon de Réactif 1 à l'aide d'un adaptateur.

Stabilité dans le flacon d'origine

- 1 mois à 2-8°C.
- 7 jours à 20-25°C.

Réalisation du test

Longueur d'onde : — 340 nm (Hg 334 nm – Hg 365 nm)

Température : — 30°C ou 37°C

Cuve : — trajet optique 1 cm

Zéro de l'appareil : — air ou eau déminéralisée

Introduire dans un tube ou une cuve de mesure thermostaté à 30°C ou 37°C :	
Réactif 2 repris et porté à 30 ou 37°C	1 ml
Echantillon	100 µl
Mélanger. Attendre 1 minute à 30°C ou 37°C. Mesurer la diminution moyenne de DO par min (n) pendant 1 à 3 minutes.	

- Pour une variation moyenne de DO par min $\geq 0,16$ à 340 nm, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/5 ou 1/10 dans une solution de NaCl à 9 g/l.
- Une variation de DO moyenne par minute très faible peut indiquer une consommation totale du NADH avant lecture (DO de départ < 1,0) et donc signifier une activité transaminasique élevée et / ou une concentration en pyruvate endogène exceptionnellement élevée (3). Refaire la détermination après dilution de l'échantillon.

RESULTATS ET INTERPRETATION

L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique et éventuellement des résultats d'autres tests.

Calcul

340 nm _____ U/l = n x 1746

334 nm _____ U/l = n x 1780

365 nm _____ U/l = n x 3235

CONTROLE DE QUALITE

- LYOTROL™ P (Réf. 62 383)
- UNITROL™ (Réf. 62 453)
- Zymo-Trol™ (Réf. 62 952)

Pour s'assurer de la validité de la série, effectuer un contrôle à chaque série de dosages. La valeur obtenue doit être dans l'intervalle d'acceptation.

Remarque

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

VALEURS ATTENDUES

Ces valeurs sont données à titre indicatif, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence sur une population rigoureusement sélectionnée.

	30°C *	37°C *
Hommes	≤ 26 U/l	≤ 37 U/l
Femmes	≤ 21 U/l	≤ 30 U/l

* valeurs recalculées. Les facteurs utilisés pour la conversion des valeurs attendues à 25°C sont respectivement 1,37 (pour le calcul des valeurs attendues à 30°C) et 1,97 (pour le calcul des valeurs attendues à 37°C) (5).

PERFORMANCES (6)

Les études du réactif ENZYLINE™ ASAT/GOT monoréactif ont donné les résultats suivants à 37°C.

Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice.

Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

Elles sont données à titre indicatif.

Limite de détection analytique

Elle a été déterminée à partir de dosages effectués sur de l'eau déminéralisée (moyenne + 5 x écart type).

La limite de détection est inférieure ou égale à 6 U/l.

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 290 U/l.

Précision**Précision intra-série**

Trois échantillons ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	12	7,30
Niveau 2	20	139	1,17
Niveau 3	20	287	1,00

Précision inter-séries

Trois échantillons ont été dosés en double dans 10 séries différentes.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	12	10,60
Niveau 2	20	139	2,88
Niveau 3	20	288	2,38

Corrélation

47 échantillons de patients ont été dosés comparativement au réactif bioMérieux ENZYLINE™ ASAT / GOT standardisé 50 utilisant la méthode SFBC avec phosphate de pyridoxal.

L'équation de la droite d'allométrie obtenue est :

$$y = 0,90 x - 0,79 \text{ (en U/l) avec un coefficient de corrélation de } 0,996.$$
APPLICATIONS DISPONIBLES SUR DEMANDE

- Applications spectrophotomètres (11836A)
- AU 400 / 640 / 2700 (13552A)
- AU 600 (11837A)
- CX 5 / CX 7 / CX 9 (11838B)
- DAX (13198A)
- HITACHI 704 (11839A)
- HITACHI 717 (11840A)
- HITACHI 911 (11841A)
- KONELAB 20 (13199A)
- MASCOTT PLUS / LISA (11842A)
- MEGA (13200A)
- MIRA S / MIRA PLUS (11843A)
- RA 1000 / XT (11844A)
- SELECTRA 2 / E / XL (11845B)
- TARGA / FALCOR 250 / BT 3000 plus (13201A)

ELIMINATION DES DECHETS








Eliminer les réactifs utilisés ou non utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. PAPPAS N.J. - Enhanced cardiac enzyme profile. - *Clin. Lab. Med.* - Dec. 1989, vol. 9, n° 4, p. 689-716.
2. REICHLING J.J., KAPLAN M.M. - Clinical use of serum enzymes in liver disease. - *Dig. Dis. Sci.* - Dec. 1988, vol. 33, n° 12, p. 1601-1614.
3. BERGMAYER H.U., HORDER M., REJ R. - Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes - Part 2. IFCC Method for Aspartate Aminotransferase. - *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* - 1986, vol. 24, n°7, p. 497-510.
4. MATHIEU M., BRETAUDIERE J.P., GALTEAU M.M., et al. - Recommandations pour la mesure de la concentration catalytique de l'aspartate aminotransférase dans le sérum humain à +30°C. - *Ann. Biol. Clin.* - 1982, vol. 40, p. 91-98.
5. THEFELD W., HOFFMEISTER H., BUSCH E.-W. et al. - Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden - *Dtsch. Med. Wochenschr.* - 1974, vol. 99, p. 343-351.
6. VASSAULT A., GRAFMAYER D., NAUDIN C. et al. - Protocole de validation de techniques (document B) - *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1986, vol. 44, p. 686-745.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
 REF ou REF	Référence du catalogue
 IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
 LOT	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation



 **bioMérieux® SA**
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>


Imprimé en France

bioMérieux, le logo bleu, ENZYLINE, LYOTROL, UNITROL et Zymo-Trol sont des marques utilisées, déposées et/ou associées appartenant à bioMérieux SA ou à l'un de ses filiales.

E5-U52 Analyses de Microbiologie médicale 2015

Durée : 6 heures (jour 2 : 3 h) Coefficient : 3

Calculatrice autorisée

Aucun Document personnel autorisé

SUJET 1

Jour 1 (3 heures)

BACTÉRIOLOGIE - MYCOLOGIE - PARASITOLOGIE

Document à rendre avec la copie :

- **Annexe 1** (à rendre 1h après le début de l'épreuve)

Consignes à respecter :

- Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture rédigée.

- Les demandes justifiées de milieu(x), conditions d'incubation, matériel(s) et réactif(s) portées sur **l'annexe 1** sont à rendre 1 heure après le début de l'épreuve. Les milieux nécessaires seront ensuite distribués par le centre d'examen.

Première partie : Complications infectieuses chez un patient greffé

Monsieur A, hospitalisé en oncologie suite à une greffe de moelle osseuse, présente un épisode fébrile accompagné de douleurs pelviennes. L'examen clinique du patient conduit à la prescription d'un ECBU et d'une hémoculture.

1. Hémoculture

Une gélose au sang frais,ensemencée à partir du premier flacon d'hémoculture aérobie détecté positif par l'automate d'incubation, incubée 24 heures à 37°C en aérobose sous 10% de CO₂, est fournie.

Étudier la culture présente sur cette boîte notée « A + N°de poste ».

Compléter **l'annexe 1** en vue :

- d'identifier le microorganisme isolé de l'hémoculture,
- de réaliser son antibiogramme par méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM¹ (**document fourni par le centre**). Choix limité à 6 disques d'antibiotiques.

¹ CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

2. ECBU

Un échantillon d'urine du patient, prélevée en cours de miction (deuxième jet), noté « A + n° de poste » est fourni.

- Réaliser l'ensemencement d'une gélose chromogène pour dénombrement des germes urinaires. (**Notice technique fournie par le centre**).

- Incuber selon les préconisations de la notice technique fournie.

Deuxième partie : Prélèvement broncho-pulmonaire

Monsieur B, patient présentant une neutropénie, est hospitalisé en service d'hématologie. Il présente douze jours après son admission les signes cliniques d'une atteinte pulmonaire.

L'imagerie radiologique montre des taches au niveau des poumons.

L'examen cyto bactériologique des sécrétions broncho-pulmonaires est négatif pour les recherches bactériologiques.

Une culture est obtenue sur gélose Sabouraud + chloramphénicol en tube après 4 jours à 30°C (« B + N° poste »).

1. Étudier les caractères macroscopiques.
2. Réaliser une préparation microscopique sous PSM.
3. Montrer un champ microscopique représentatif à l'examineur.
4. Proposer une identification justifiée sur la base des documents fournis.
5. Conclure.

Documents fournis par le centre : document présentant les principaux mycètes d'intérêt médical susceptibles d'être retrouvés dans ce type de prélèvement.

Annexe 1

Demande justifiée de milieu(x), matériel, réactif(s)

À rendre 1 heure après le début de l'épreuve

JOUR 1

Nom du candidat :

Numéro de poste :

1. ÉTUDE DE L'HÉMOCULTURE

SUJET 1

Jour 2 (3 heures)

Aucun document personnel autorisé.

Document à rendre avec la copie :

- Annexe 2

Première partie : Complications infectieuses chez un patient greffé

Rappel du contexte : **Monsieur A**, hospitalisé en oncologie suite à une greffe de moelle osseuse, présente un épisode fébrile accompagné de douleurs pelviennes. L'examen clinique du patient conduit à la prescription d'un ECBU et d'une hémoculture.

1. Hémoculture

- Compléter le tableau de lecture de l'antibiogramme fourni **annexe 2**.
- Interpréter l'antibiogramme, préciser le phénotype vis-à-vis des bêta-lactamines

Document mis à disposition par le centre d'examen : document du CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)

2. ECBU

- Effectuer la lecture du milieu chromogène ensemencé. Réaliser d'éventuel(s) examen(s) complémentaires.

Document fourni : fiche technique du milieu chromogène

- Les résultats partiels de l'examen cyto bactériologique de l'urine rendus par l'automate de cytométrie de flux UF-100i Sysmex sont donnés dans le **document 1** ci-dessous :

Document 1			
RBC	1096.7	[/µL]	Hématies
WBC	2286.7	[/µL]	Globules blancs
EC	13.3	[/µL]	Cellules épithéliales
CAST	2.46	[/µL]	Cylindres
BACT	352.3	[/µL]	bactéries

- Conclure à l'aide des données du **document 1** et de l'**annexe 3**.

Deuxième partie : Examen parasitologique des selles

Monsieur C souffre de troubles du transit intestinal avec alternance de diarrhée et de constipation depuis trois semaines. La coproculture standard étant négative, un examen parasitologique des selles est prescrit.

Un état frais de la selle noté « C. + N° » est fourni.

- Réaliser l'examen microscopique
- Montrer un ou plusieurs champs caractéristiques à l'examineur.
- Préciser, par écrit, les critères utiles à l'identification.
- Conclure sur l'agent responsable de l'infestation parasitaire.

Document mis à disposition par le centre d'examen : document présentant les principaux parasites intestinaux.

Troisième partie : Prélèvement vaginal

À l'issue d'une consultation pour la prise d'un contraceptif oral, le médecin prescrit à **Madame D** la réalisation d'un frottis vaginal.

Ce frottis, noté « D + N° », coloré par la méthode de Gram est fourni.

- Réaliser l'évaluation de la flore vaginale de Madame D en déterminant le score de Nugent-Krohn-Hillier à l'aide du document de l'**annexe 4**.
- Catégoriser le frottis vaginal en fonction du score.
- Proposer une conclusion.

Annexe 2 : à rendre avec la copie : tableau de résultats de l'antibiogramme

Nom du candidat :

Numéro de poste :

Sigle	Nom de l'antibiotique	d (mm)	D (mm)	Diamètre lu (mm)	CMI estimée (mg.L ⁻¹)	Catégorie clinique (R S I)

Annexe 3

Conduite à tenir et interprétation en fonction des principaux résultats de l'ECBU

(d'après le Référentiel en microbiologie médicale – 4^{ème} édition – 2010)

TABLEAU I : Infections urinaires communautaires : Interprétation en fonction de la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie (Urines prélevées en milieu de jet, patients non sondés).

Signes cliniques	Leucocytes $\geq 10^4$ /mL	Bactériurie UFC/mL	Nombre d'espèces	Commentaires	Antibiogramme
+	+	$\geq 10^3$ <i>E. coli</i> ou <i>S. saprophyticus</i> $\geq 10^5$ pour les autres espèces	≤ 2	IU (cystite aiguë) Bactériurie $\geq 10^4$ UFC/mL pour la pyélonéphrite aiguë Bactériurie $\geq 10^3$ UFC/mL pour la prostatite aiguë sont considérées comme significatives	OUI
	+	$< 10^3$		Inflammation sans bactériurie Traitement antibiotique en cours Recherche micro-organismes à culture lente ou difficile Étiologie non infectieuse	NA
	-	$\geq 10^5$	≤ 2	a. Patient immunocompétent : refaire ECBU (suspicion d'IU débutante)	NON

TABLEAU II : Infections urinaires associées aux soins : Interprétation en fonction de la présence de signes cliniques, d'une leucocyturie et d'une bactériurie.

Contexte	Signes cliniques	Leucocytes $\geq 10^4$ /mL	Bactériurie avec AU PLUS 2 micro-organismes différents	Commentaires	Antibiogramme
Associé aux soins chez un patient non sondé	+	+	$\geq 10^3$ UFC /mL	Infection urinaire	OUI
			$< 10^3$ UFC /mL	Inflammation sans bactériurie Traitement antibiotique en cours Micro-organismes à culture lente ou difficile Étiologie non infectieuse	NA
	-	+ ou – (variable)	$\geq 10^3$ UFC /mL	Colonisation	NON
			$< 10^3$ UFC /mL	Absence d'IU ou de colonisation	NA
	+	-	$\geq 10^5$ UFC /mL	a. Patient immunocompétent : refaire ECBU (suspicion d'IU débutante)	NON
				b. Immunodépression (chimiothérapie, greffe)	OUI
Associé aux soins chez un patient sondé	+	non contributif*	$\geq 10^5$ UFC /mL	Infection urinaire	OUI
			$< 10^5$ UFC /mL	Inflammation sans bactériurie Traitement antibiotique en cours Recherche micro-organismes à culture lente ou difficile Étiologie non infectieuse	NON
	-	non contributif*	$\geq 10^3$ UFC /mL	Colonisation	NON
			$< 10^3$ UFC /mL	Absence d'IU ou de colonisation	NA

* La leucocyturie n'est pas contributive en présence d'un sondage urinaire. IU : Infection Urinaire ; NA : Non Applicable

				b. Immunodépression (chimiothérapie, greffe)	OUI
-	+ ou – (variable)	$10^3 - 10^4$	≥ 1	Contamination probable consécutive à un mauvais prélèvement	NON
		$> 10^5$	≥ 2	Colonisation	NON
+ ou – (variable)	-	$< 10^3$		Absence d'IU ou de colonisation	NA

IU : Infection Urinaire ; NA : Non Applicable

Annexe 4

Évaluation* des flores vaginales selon Nugent-Krohn-Hillier

	Score	Morphotypes <i>Lactobacillus</i> spp	Morphotypes <i>Gardnerella</i> , <i>Bacteroides</i>	Bacilles incurvés à Gram variable (<i>Mobiluncus</i>)
Qualitatif	0	++++	0	0
	1	+++	+	+ ou ++
	2	++	++	+++ ou ++++
	3	+	+++	
	4	0	++++	

Quantitatif	0		0 bactérie / champ
	1		moins d'un morphotype / champ
	2		1 à 4 morphotypes/ champ
	3		5 à 30 morphotypes / champ
	4		> 30 morphotypes / champ

* La quantification correspond à un nombre moyen de morphotypes bactériens par champ sur plusieurs champs Objectif x100 à immersion

Le score du frottis est calculé en réalisant la somme des scores obtenus pour les différents morphotypes bactériens observés.

On peut ensuite, à partir du score calculé, catégoriser la flore vaginale en trois groupes différents.

Interprétation du score bactériologique – Classification en groupe de la flore vaginale

Groupe	Score	Flore vaginale
I	0 à 3	Flore normale Prédominance de la flore de Döderlein avec parfois autres morphotypes en petite quantité.
II	4 à 6	Flore intermédiaire (vaginale altérée): Présence de bacilles de Döderlein mais existence d'autres types morphologiques peu diversifiés en quantité relativement limitée.
III	7 à 10	Flore évocatrice d'une vaginose* bactérienne : disparition des lactobacilles au profit d'une flore de type anaérobie abondante et polymorphe avec éventuellement la présence de clue-cells.

* Le diagnostic de vaginose repose essentiellement sur l'association de 3 des 4 critères suivants : sécrétions homogènes dites « grisâtres », odeur d'amines de poisson renforcé par la potasse, pH > 4,5, présence de « clue-cells » à l'examen microscopique après coloration de Gram.

SUJET 2

Jour 1 (3 heures)

BACTÉRIOLOGIE - MYCOLOGIE - PARASITOLOGIE

Document à rendre avec la copie :

- **Annexe 1** (à rendre 1h 30 après le début de l'épreuve)

Première partie : Bactériologie

Consignes à respecter :

- Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture rédigée.

- Les demandes justifiées de milieu(x), les conditions d'incubation, matériel(s) et réactif(s) portées sur **l'annexe 1** sont à rendre 1h30 après le début de l'épreuve.

Les milieux nécessaires seront ensuite distribués par le centre d'examen.

Monsieur A est atteint de troubles intestinaux persistant depuis quelques jours. Il présente un état diarrhéique accompagné de vomissements. Depuis 2 jours son état s'est aggravé. Afin de déterminer l'origine de ces symptômes, le médecin prescrit une coproculture et une hémoculture.

1. Étude de la coproculture

L'examen microscopique de la selle montre une flore équilibrée ainsi que l'absence de granulocytes et d'hématies.

- Exploiter les données cliniques et ces premiers résultats.

Une gélose chromogène, étiquetée «Selle A», ensemencée avec un bouillon d'enrichissement de la selle et incubée pendant 24 heures à 37°C en aérobiose, est fournie.

- Étudier cet isolement et orienter le diagnostic.
- Identifier la souche suspectée d'être entéropathogène par ensemencement d'une galerie et réaliser l'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé (choix limité à 6 disques d'antibiotiques) : renseigner **l'annexe 1**.

Documents mis à disposition par le centre d'examen : fiche technique du milieu chromogène et document du CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

2. Étude de l'hémoculture

Une série de 6 flacons d'hémoculture a été ensemencée pour Monsieur A. Un seul flacon d'hémoculture aérobie est détecté positif par l'automate.

Un échantillon de ce flacon d'hémoculture aérobie, étiqueté « Hémoc A » est fourni.

- Examiner l'échantillon fourni, choisir 2 milieux d'isolement adaptés et préciser leurs conditions d'incubation : renseigner **l'annexe 1**.

Deuxième partie : Mycologie

Le produit d'expectoration de **Monsieur C**, souffrant de douleurs thoraciques, a été ensemencé sur gélose Sabouraud + chloramphénicol étiquetée « C », et incubé pendant 5 jours à 37°C en aérobiose.

- Réaliser une préparation microscopique sous PSM.
- Montrer à l'examineur un champ d'intérêt.
- Préciser à l'aide d'un schéma annoté tous les critères permettant l'identification du mycète présent dans l'expectoration.

Document mis à disposition par le centre d'examen : document présentant les principaux mycètes d'intérêt médical susceptibles d'être retrouvés dans ce type de prélèvement.

Annexe 1

Demande justifiée de milieu(x), matériel, réactif(s)

À rendre 1 heure 30 après le début de l'épreuve

JOUR 1

Nom du candidat :

Numéro de poste :

1. ÉTUDE DE LA COPROCULTURE	
-----------------------------	--

Identification	Antibiogramme
----------------	---------------

2. ÉTUDE DE L'HÉMOCULTURE	
---------------------------	--

SUJET 2

Jour 2 (3 heures)

Aucun document personnel autorisé.

Documents à rendre avec la copie :

- Annexe 2

- Annexe 3

BACTÉRIOLOGIE - PARASITOLOGIE

Première partie : BACTÉRIOLOGIE

Rappel : Monsieur A est atteint de troubles intestinaux persistant depuis quelques jours. Il présente un état diarrhéique accompagné de vomissements. Depuis 2 jours son état s'est aggravé. Afin de déterminer l'origine de ces symptômes, le médecin prescrit une coproculture et une hémoculture

1. Étude de la coproculture

- Lire et interpréter les résultats de la galerie d'identification. Réaliser les tests complémentaires éventuels nécessaires à une identification complète.

Renseigner l'**annexe 2**, à rendre au plus tard 1 heure 30 après le début de l'épreuve.

- Lire l'antibiogramme : compléter l'**annexe 3** (à rendre avec la copie).

2. Étude de l'hémoculture

Étudier les isollements. Réaliser d'éventuels tests complémentaires

Renseigner l'**annexe 2** à rendre au plus tard 1 heure 30 après le début de l'épreuve

3. Conclusion générale

Conclure sur le cas de Monsieur A.

Deuxième partie : PARASITOLOGIE

Monsieur D, de retour d'un séjour en Afrique, présente une forte fièvre. Un frottis sanguin coloré au May-Grünwald Giemsa étiqueté «D» est fourni.

- Réaliser l'examen microscopique de ce frottis.

- Montrer un ou plusieurs champs d'intérêt à l'examineur.

- Identifier le ou les parasites repérés. Préciser, par écrit, les critères permettant leur identification.

Document mis à disposition par le centre d'examen : document présentant les principaux parasites sanguins.

Annexe 2

Demande justifiée de réactifs.

À rendre 1 h 30 après le début de l'épreuve

Numéro de poste :

Nom du candidat :

1. ÉTUDE DE LA COPROCULTURE

2. ÉTUDE DE L'HÉMOCULTURE

Annexe 3 : À RENDRE AVEC LA COPIE

Tableau de résultats de l'antibiogramme

JOUR 2

Numéro de poste :

Nom du candidat :

Sigle	Nom de l'antibiotique	d (mm)	D (mm)	Diamètre lu (mm)	CMI estimée (mg.L ⁻¹)	Catégorie clinique (R S I)

E5-U53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales

2015

Durée : 3 heures Coefficient : 1,5

Annexe à rendre avec la copie.

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.
- Documents personnels interdits en dehors de la documentation fournie.

LISTE DES COMPETENCES INTERVENANT DANS L'EVALUATION DE LA PERFORMANCE DES CANDIDATS

- C.3.5.1. Réaliser un hémogramme
- C.3.5.6. Explorer l'hémostase
- C.3.5.8. Détecter des anomalies cellulaires d'un frottis
- C.3.5.11. Réaliser un groupage sanguin
- C.4.3.1. Réaliser un étiquetage conforme des échantillons

Un homme de 39 ans, sans antécédents médicaux notables, se présente aux urgences avec une fièvre de 39.5°C et des signes cliniques évoquant une péritonite. Lors de l'hémogramme automatisé, des alarmes concernant la population leucocytaire imposent la réalisation d'une formule leucocytaire manuelle.

Par ailleurs les résultats suivants ont été obtenus :

- VS : 38 mm à la première heure,
- Dosage CRP : 288 mg/L (valeur physiologique < 6 mg/L).

1. Premier examen : formule leucocytaire

1.1. Matériel et réactifs

- Frottis sanguin du patient coloré au May Grünwald Giemsa.

1.2. Activité professionnelle

1.2.1. Établir la formule leucocytaire sur le frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa. Compléter l'**annexe** (à rendre avec la copie).

1.2.2. Présenter à l'objectif x100, deux cellules différentes habituellement absentes du sang.

Repérer la position des cellules à montrer à l'examineur sur un schéma du champ. Nommer chacune des cellules identifiées.

1.2.3. Analyser les résultats obtenus et proposer une orientation diagnostique.

2. Deuxième examen : dosage du fibrinogène par méthode manuelle (crochet)

2.1. Matériel et réactifs

- Bain thermostaté à 37°C
- Chronomètre
- Tubes à hémolyse
- Crochets
- Pipette automatique 200 µL et cônes
- Plasma pauvre en plaquettes patient en tube à hémolyse (700 µL) dilué au 1/20^e **noté P + N°**
- Thrombine calcique titrée (700 µL)
- Fiche technique et tableau de conversion du coffret FIBRI- PREST® REF 00608 fournis par le centre****

**** **NDLR : référence 00608 du test remplacée par 00613**

2.2. Activité professionnelle

2.2.1. La technique a été préalablement validée par un Contrôle Qualité Interne. Réaliser le dosage du fibrinogène en suivant la fiche technique fournie par le centre (2 essais).

Montrer la réalisation d'un test à l'examineur.

2.2.2. Déterminer la fibrinogénémie du patient en utilisant le tableau de conversion du coffret FIBRI- PREST® REF 00608 fourni par le centre. Conclure.

3. Troisième examen : détermination du groupe sanguin ABO – Rhésus standard

3.1. Matériel et réactifs

- Tube de sang centrifugé référencé
- Tampon de dilution des érythrocytes noté « diluant »
- Pipettes automatiques 1000 µL, 100 µL et 10 µL et cônes
- Tubes à hémolyse
- Carte gel de groupage ABO - Rhésus standard
- Centrifugeuse

3.2. Activité professionnelle

Déterminer le groupe sanguin ABO - Rhésus standard en suivant le protocole fourni par le centre.

Ne pas jeter la carte gel à la fin de la manipulation.

ANNEXE À RENDRE AVEC LA COPIE

Tableau de résultats de la formule leucocytaire du patient

Nom du candidat : Numéro de poste :

Référence Patient :

Paramètres	Valeurs relatives %	Valeurs expérimentales ($10^9 L^{-1}$)	Valeurs physiologiques ($10^9 L^{-1}$)	Interprétation
Granulocytes neutrophiles			1,5 à 7,5	
Granulocytes éosinophiles			< 0,5	
Granulocytes basophiles			< 0,3	
Lymphocytes			1 à 4	
Monocytes			<1	
Autres cellules (noms en entier)				
Leucocytes *			4,0 à 10,0	
Cytologie des leucocytes				
Cytologie des hématies				
Cytologie des plaquettes				

La valeur indiquée par * est fournie par le centre

Éléments de corrigés

Les corrigés figurant dans les pages suivantes ont été rédigés à partir des corrigés « officiels » par des professeurs volontaires et bénévoles. Point n'est besoin de faire beaucoup de probabilités pour deviner que des erreurs se sont fort probablement glissées dans leur rédaction. De plus, des interprétations divergentes des questions sont possibles. Les contraintes de l'imprimerie ne permettent pas de corriger des erreurs ou oublis après l'impression... mais, par contre, internet nous offre un moyen simple d'obtenir des rectificatifs. Nous vous proposons :

- de signaler les erreurs rencontrées par courriel à :
jpaubrunet@wanadoo.fr et/ou jnjoffin@wanadoo.fr
- de lire les éventuels erratums sur le site UPBM : <http://www.upbm.org>

SESSION 2014

E2 Mathématiques

2014 corrigé

EXERCICE 1 (10 points)

PARTIE A : Détermination de la constante k

1. On pose $z_i = \ln(5 - \theta_i)$ (on doit avoir $\theta < 5$).

t_i	0	5	10	15	20	25
z_i	3,26	2,31	1,36	0,41	-0,51	-1,61

2. La calculatrice donne : $z = -0,19t + 3,28$ au centième près

3.

$$\ln(5 - \theta(t)) = z(t)$$

$$5 - \theta(t) = e^{z(t)}$$

$$\theta(t) = -e^{-0,19t+3,28} + 5$$

$$\theta(t) = -e^{3,28} \times e^{-0,19t} + 5$$

$$e^{3,28} \approx 26,58 \text{ d'où } \theta(t) = -26,58 \times e^{-0,19t} + 5 \text{ (t compris entre 0 et 25).}$$

4.

$$\theta'(t) = -26,58 \times (-0,19) \times e^{-0,19t} \text{ ce qui donne } \theta'(t) = 5,0502 \times e^{-0,19t}$$

$$\theta'(t) = 5,0502 \times e^{-0,19t} \text{ et } \theta(t) - 5 = -26,58 \times e^{-0,19t}$$

De l'équation (E) : $\theta'(t) = k(\theta(t) - T)$, on en déduit avec $T=5$, $5,0502 \times e^{-0,19t} = k(-26,58) \times e^{-0,19t}$ et par suite

$$k = \frac{5,0502}{-26,58} = -0,19$$

PARTIE B : Durée de décongélation

1. Résolution d'une équation différentielle : $y' + 0,19y = 0,38$

a) Les solutions de (E_0) , $y' + 0,19y = 0$ sont de la forme : $y_0(t) = Ce^{-0,19t}$

$$\forall t \in [0; +\infty[$$

C constante réelle

$$b) \forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = c, \quad \text{donc} \quad h'(t) = 0.$$

$$h \text{ est solution de (E)} \Leftrightarrow h'(t) + 0,19h(t) = 0,38$$

$$\Leftrightarrow 0,19c = 0,38$$

$$\Leftrightarrow c = \frac{0,38}{0,19} = 2$$

$$\text{D'où, } \forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = 2.$$

c) Les solutions de (E) sont de la forme :

$$y(t) = y_0(t) + h(t) = Ce^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad , C \text{ constante réelle}$$

2. Détermination de la fonction θ

$$a) \theta \text{ est solution de l'équation (E), donc } \theta(t) = Ce^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[.$$

$$\theta(0) = -21 \Leftrightarrow C + 2 = -21 \Leftrightarrow C = -23$$

$$\text{d'où } \theta(t) = -23e^{-0,19t} + 2 \quad \forall t \in [0; +\infty[.$$

b)

$$\left. \begin{array}{l} \lim_{t \rightarrow +\infty} -0,19t = -\infty \\ \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \end{array} \right\} \text{ donc } \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,19t} = 0 \text{ d'où } \lim_{t \rightarrow +\infty} \theta(t) = 2$$

La température de la viande ne dépassera pas 2°C au fil des heures.

3. Durée de décongélation

a) Soit à résoudre l'inéquation $\theta(t) \geq 0$

$$-23e^{-0,19t} + 2 \geq 0 \Leftrightarrow e^{-0,19t} \leq \frac{2}{23} \Leftrightarrow -0,19t \leq \ln\left(\frac{2}{23}\right) \Leftrightarrow t \geq \frac{-1}{0,19} \ln\left(\frac{2}{23}\right)$$

$$\frac{-1}{0,19} \ln\left(\frac{2}{23}\right) \approx 12,85 \text{ d'où un temps nécessaire à la décongélation d'au moins 13 heures.}$$

b) La durée étant supérieure à 12 heures, la viande ainsi décongelée donnera l'illusion du produit frais.

PARTIE C : Prise en compte de la réglementation sanitaire

1.

$$a) v(t) = 3e^{0,06t} \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad , \text{ d'où les primitives } G \text{ de la fonction } v \text{ sont :}$$

$$G(t) = \frac{3}{0,06} e^{0,06t} + k = 50e^{0,06t} + k \quad \forall t \in [0; +\infty[\quad , k \text{ constante réelle}$$

b) La primitive G_0 de la fonction v vérifie $G_0(0) = 50$, ce qui donne : $50 + k = 50 \Leftrightarrow k = 0$

$$G_0(t) = 50e^{0,06t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$$

2. Entre 18 h le soir et 8 h le lendemain matin , il s'est écoulé 14 heures. $G_0(14) \approx 115,82 > 100$, donc la réglementation sanitaire de ces pays ne sera pas respectée.

EXERCICE 2 (10 points)

PARTIE A : le défaut mécanique

1. On répète 50 fois de manière indépendante (constitution du lot assimilée à un tirage avec remise) une épreuve de Bernoulli dont le succès est l'événement « la pompe présente un défaut mécanique » et sa probabilité est $p = 0,01$.

La variable aléatoire X égale au nombre de succès dans un lot de 50 pompes, suit donc la loi binomiale de paramètres $n = 50$ et $p = 0,01$

2.

a) $P(X = 1)$ est la probabilité d'avoir une pompe présentant un défaut mécanique.

$$P(X = 1) = \binom{50}{1} \times 0,01^1 \times 0,99^{49} ; 0,306 \text{ au millième près.}$$

La probabilité qu'une caisse contienne une pompe présentant un défaut mécanique est 0,306.

b) On demande $P(X \geq 2)$

$$P(X \geq 2) = 1 - [P(X = 0) + P(X = 1)]$$

$$P(X \geq 2) = 1 - [0,605 + 0,306] = 1 - 0,911 = 0,089 \text{ à } 10^{-3} \text{ près}$$

La probabilité qu'une caisse contienne au moins deux pompes présentant un défaut mécanique est 0,089.

3) a) $\lambda = n \times p = 50 \times 0,01 = 0,5$.

b) Y suit la loi de Poisson de paramètre $\lambda = 0,5$.

$$P(Y \geq 4) = 1 - P(Y < 4) = 1 - [P(Y = 0) + P(Y = 1) + P(Y = 2) + P(Y = 3)]$$

$$P(Y \geq 4) = 1 - [0,998] \text{ d'après le tableau de la loi de Poisson de paramètre } 0,5$$

$$P(Y \geq 4) = 0,002 \text{ au millième près.}$$

La probabilité qu'une caisse contienne au moins quatre pompes présentant un défaut mécanique est 0,002

PARTIE B : le défaut de débit

On suppose que Z suit une loi normale de moyenne $m = 6$ et d'écart type $s = 0,15$.

Calculons la probabilité que la pompe soit conforme

Soit $T = \frac{Z - 6}{0,15}$, alors T suit la loi normale $N(0; 1)$.

$$P(5,75 \leq Z \leq 6,25) = P\left(\frac{-5}{3} \leq T \leq \frac{5}{3}\right) = 2 \Phi\left(\frac{5}{3}\right) - 1$$

On lit sur la table de la loi normale centrée réduite, $\Phi\left(\frac{5}{3}\right) \approx 0,9525$, ce qui nous donne

$$P(5,75 \leq Z \leq 6,25) = 0,905 \text{ au millième près,}$$

ou directement à la calculatrice et on obtient 0,904 au millième près.

On en déduit que la probabilité qu'une pompe présente un défaut de débit est de :

$1 - 0,905$ c'est-à-dire **0,095** au millième près ou

$1 - 0,904$ c'est-à-dire **0,096** au millième près.

PARTIE C : estimation du débit moyen des pompes d'une livraison

1. On obtient 5,932 pour la moyenne et 0,162 pour l'écart type au millième près.

2.

a) On admet que \bar{X} suit la loi normale de moyenne inconnue μ et d'écart type $\sigma = \frac{0,16}{\sqrt{50}}$.

On sait que $P(\mu - 1,96 \times \sigma \leq \bar{X} \leq \mu + 1,96 \times \sigma) = 0,95$ d'où $a = 1,96 \times \frac{0,16}{\sqrt{50}} = 0,045$ au millième près **par**

excès.

b) La moyenne de l'échantillon 5,932 est un bon estimateur de la moyenne inconnue μ , ce qui nous donne comme intervalle de confiance avec un coefficient de confiance supérieur ou égal à 0,95 :

$$[5,932 - 0,045 ; 5,932 + 0,045] = [5,887 ; 5,977]$$

vérification à la calculatrice $P(\bar{X} \in [5,887; 5,977]) \approx 0,973$

E3 Sciences physiques et chimiques 2014 corrigé

Exercice I : Détermination d'une glycémie (12 points)

PARTIE 1 : exploitation de la méthode de détermination de la glycémie

1.1.1 La courbe étant une droite passant par l'origine, elle représente une fonction linéaire. Absorbance et concentration sont donc proportionnelles, ce qui est conforme à la loi de Beer - Lambert.

1.1.2 Cette question exige un raisonnement détaillé qui mobilise les capacités suivantes :

- Projection graphique sur la courbe expérimentale ou utilisation de la loi de Beer - Lambert avec calcul du coefficient directeur pour déduire la concentration en glucose dans l'échantillon dosée :

$$C_{\text{échantillon}} = 1,6 \text{ g.L}^{-1}.$$

- Déduction de la concentration molaire en glucose dans le plasma sanguin :

$$C_{\text{plasma}} = \frac{1,6}{(6 \times 12) + 12 + (6 \times 16)} = 8,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1} = 8,9 \text{ mmol.L}^{-1}$$

- Comparaison avec les valeurs de référence et conclusion : cette valeur montre que l'on est au-dessus des valeurs normales pour la glycémie à jeun qui ne doit pas dépasser 6,1 mmol/L.

1.2.1 Le domaine visible s'étend entre les longueurs d'onde dans le vide 400 et 800 nm. Le spectre d'émission de la lampe du spectrophotomètre s'étend au-delà de ces valeurs limites ce qui explique pourquoi les mesures sont possibles en dehors du spectre visible.

1.2.2 La quinonéimine est la seule espèce colorée. La longueur d'onde choisie correspond à la radiation qu'elle absorbe de manière la plus forte. Cette radiation absorbée est de couleur verte. La quinonéimine a donc la couleur complémentaire soit le rouge pourpre.

1.2.3 Pour l'ordre 1, $R = N$

Avec N partie du réseau qui est éclairée $N = nL$

D'où : $R = 1200 \times 10 = 12000$

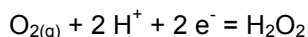
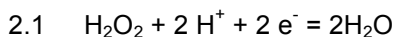
$$1.2.4 R = \lambda/\Delta\lambda \text{ soit } \Delta\lambda = \lambda/R$$

Pour $\lambda = 505 \text{ nm}$ on a $\Delta\lambda = 4,2 \cdot 10^{-2} \text{ nm}$,

$\Delta\lambda < 0,1 \text{ nm}$ donc le réseau permet d'isoler la radiation de travail des radiations voisines dont les longueurs d'onde diffèrent au minimum de $0,1 \text{ nm}$ par rapport à 505 nm .

1.2.5 Le pouvoir séparateur R est proportionnel à l'ordre du spectre. La qualité de la séparation est donc meilleure lorsque l'ordre du spectre augmente.

PARTIE 2 : étude de la dismutation de l'eau oxygénée



Les valeurs des potentiels standard permettent de dire que H_2O_2 , du couple $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, est l'oxydant le plus fort qui va réagir avec le réducteur le plus fort, H_2O_2 du couple $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2$.

On obtient la réaction $2 \text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_{2(\text{g})} + 2\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{H}_2\text{O}_2 = \frac{1}{2} \text{O}_{2(\text{g})} + \text{H}_2\text{O}$

2.2 La température est un facteur cinétique. La réfrigération de la solution va ralentir la dismutation de l'eau oxygénée.

2.3 Une catalyse est le phénomène de modification de la vitesse d'une réaction chimique par l'action d'une substance appelée catalyseur.

Dans le cas d'une catalyse homogène, le catalyseur forme une seule phase avec les réactifs, ce qui n'est pas le cas d'une catalyse hétérogène.

$$2.4 \quad v = -dC/dt$$

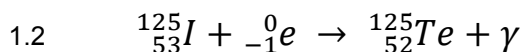
2.5 $v = k \cdot C$ si on suppose l'ordre 1, $v = k \cdot C$ d'où $-dC/dt = k \cdot C$ soit $dC/C = -k \cdot dt$ et en intégrant, C étant toujours positive, on obtient $\ln C = -k \cdot t + A$, A étant une constante.

Cette relation montre une relation affine entre $\ln C$ et t , ce qui est bien vérifié sur la courbe b. L'ordre 1 est donc vérifié.

Exercice II: Dosage de l'insuline (8 points)

PARTIE 1 : la méthode de radio-immunologie

1.1 Le noyau d'iode $^{125}_{53}\text{I}$ contient 53 protons et $125-53=72$ neutrons.



Au cours d'une réaction nucléaire, il y a conservation du nombre de nucléons et conservation de la charge électrique totale.

1.3 On jugera du respect de l'échelle, de la présence des grandeurs portées sur les axes et de la qualité du tracé.

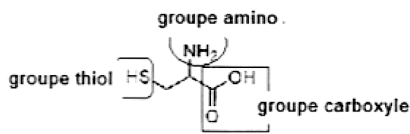
1.4 La projection de la valeur de l'activité de l'échantillon dosé donne une concentration d'insuline égale à $8,5 \cdot 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ (on acceptera un résultat donné dans toute autre unité cohérente et une valeur différente si elle est cohérente par rapport au tracé)

1.5 Cette réponse peut être donnée en calculant le temps de demi-vie (soit $t_{1/2} = 5,3 \cdot 10^6 \text{ s} = 62 \text{ jours}$) et en raisonnant à partir de ce dernier (chaque fois qu'il s'écoule 62 jours, le nombre de noyaux radioactifs dans l'échantillon est divisé par deux) 1 an représente plus de 6 demi-vie $t_{1/2}$. Au bout d'un an l'activité sera égale à $A_0/2^6$ soit 2 Bq.

On peut aussi utiliser la loi de décroissance radioactive.

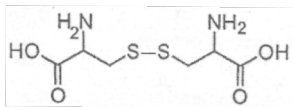
PARTIE 2 : quelques considérations autour de l'insuline

2.1



2.2 La demi-équation montre une libération d'électrons, il s'agit d'une oxydation.

2.3



E41 Biochimie

2014 corrigé

1. La phénylcétonurie : une maladie métabolique héréditaire

1.1. Gène de la phénylalanine hydroxylase (PAH)

1.1.1 Définitions :

- Gène : séquence d'ADN qui peut être transcrite en ARN.
Remarque : autre définition acceptable : séquence d'ADN permettant la synthèse d'une chaîne polypeptidique.
- Exon : séquence codante d'ADN qui sera traduite en séquence polypeptidique.
- Homozygote : un sujet est homozygote pour un gène donné si les chromosomes homologues possèdent les mêmes allèles pour le gène étudié.

1.1.2 Exposé des étapes de l'expression du gène de la PAH :

1- Transcription : dans le noyau

- synthèse d'ARN prémessager (transcrit primaire) par « copie » d'une séquence de l'ADN

2- Modifications post-transcriptionnelles : maturation de l'ARN: dans le noyau

- élimination des introns et épissage des exons : on aboutit à une molécule d'ARNm qui passe dans le cytoplasme

- Remarque : autres modifications post-transcriptionnelles : addition d'une « coiffe » (guanosine méthylée à l'extrémité 5' de l'ARN prémessager), polyadénylation à l'extrémité 3',

3- Traduction : dans le cytosol, au niveau des ribosomes : l'ARNm est traduit en chaîne polypeptidique.

4- Modifications post-traductionnelles : repliement de la chaîne polypeptidique qui adopte sa conformation tridimensionnelle, association des sous-unités aboutissant à la structure quaternaire. Si la protéine est produite dans le RER, elle perd ensuite le peptide signal (séquence N terminale).

1.1.3 Séquences peptidiques:

- séquence codée par l'allèle normal : Val – Phe – Lys – Thr – Leu – Lys – Ser – Leu - Tyr

- séquence codée par l'allèle muté : Val – Phe – Lys – Thr – Pro– Lys – Ser – Leu - Tyr

1.1.4 Type de mutation:

Le remplacement de la base T du 5^{ème} codon par une base C est une mutation ponctuelle par substitution. Elle entraîne le remplacement d'un acide aminé par un autre dans la chaîne polypeptidique soit une mutation « faux sens » :

1.2. Structure de la phénylalanine hydroxylase

1.2.1 Tétramérique :

La PAH est constituée de 4 sous-unités c'est à dire de 4 chaînes polypeptidiques appelées monomères : elle a une structure quaternaire tétramérique.

1.2.2 Légendes du document 3

- 1 : Monomère
- 2 : feuillet plissé β
- 3 : hélice α

1.2.3 Structures

- Structure primaire : enchaînement des résidus d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques (liaisons covalentes) constituant la séquence des acides aminés.
- Structure secondaire : organisation de certains tronçons de la chaîne polypeptidique sous forme d'hélices α ou de feuillets β : ces tronçons sont maintenus par des liaisons hydrogène (liaisons faibles) entre les atomes d'oxygène et d'hydrogène des groupements CO et NH des liaisons peptidiques éloignées.
- Structure tertiaire : repliement de la chaîne polypeptidique avec rapprochement d'acides aminés éloignés dans la séquence ; stabilisée par des **liaisons faibles** (liaisons H, liaisons ioniques, interactions hydrophobes, force de Van der Waals entre les chaînes latérales des résidus d'acides aminés) et parfois des **liaisons disulfures covalentes** entre les chaînes latérales de résidus de cystéine (pas visibles dans le document 3).

1.2.3 Le domaine de l'enzyme concerné par la mutation « Phe mut 194 » est le domaine catalytique de la PAH. La mutation peut entraîner un changement de la composition ou de la conformation du site catalytique qui peut diminuer l'activité catalytique de l'enzyme.

1.3. Déficit en tétrahydrobioptérine (BH4)

1.3.1 Un coenzyme est une molécule organique, non protidique, indispensable à l'activité d'une enzyme.

1.3.2 La voie A est la voie de synthèse de la BH4.

La voie B permet la régénération de la BH4 après qu'elle ait servi à la PAH, la TH ou la TAH.

NDLR : dans le schéma du document 4, la Tryptophane hydroxylase a été notée TRH au lieu de TAH.

1.3.3 Un déficit en BH4 entraîne une baisse de l'activité de la PAH responsable de l'accumulation de phénylalanine conduisant à une **hyperphénylalaninémie**, et d'un défaut de synthèse de la mélanine à l'origine d'une **dépigmentation et d'un teint pâle**.

Le déficit en BH4 entraîne aussi une baisse de l'activité de la TH et de la TAH et donc une baisse de synthèse des neuromédiateurs dopamine et sérotonine, responsable de **troubles neurologiques**.

1.3.4 test de charge au BH4 de 2 sujets atteints de phénylcétonurie :

L'administration de phénylalanine au temps 0 provoque une augmentation de phénylalaninémie du patient mesurée 3 heures après l'ingestion : cette hyperphénylalaninémie est plus élevée chez le patient 1 que chez le patient 2 : elle traduit dans les deux cas un défaut de transformation de la phénylalanine par la PAH ce qui provoque l'accumulation de l'acide aminé dans le sang.

L'administration du coenzyme BH4 3 heures après l'ingestion de phénylalanine fait baisser la phénylalaninémie chez les deux patients :

- de manière très lente chez le patient 1 qui, au bout de 7 heures, a encore un taux très élevé de phénylalanine dans le sang : l'action du BH4 est donc peu efficace sur l'activité de la PAH car **le patient 1 a un déficit enzymatique** en PAH (mutation du gène codant pour la PAH) qui ne peut être corrigé par administration de BH4 ;

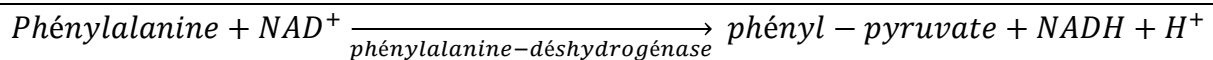
- chez le patient 2, la phénylalaninémie diminue rapidement et est devenue pratiquement nulle au bout de 7 heures: **le patient 2 n'a pas de déficit enzymatique en PAH mais un déficit en BH4 corrigé par l'ingestion de ce coenzyme.**

NDLR : le temps « 3 heures » a été mal placé : il devrait correspondre au sommet des pics et à l'ingestion de BH4.

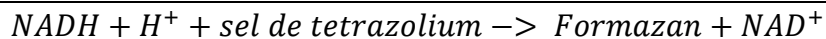
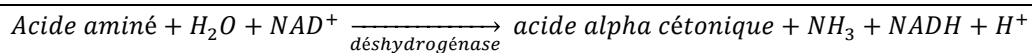
2. Dépistage néonatal et diagnostic de la phénylcétonurie

2.1. Dosage de la phénylalanine par méthode enzymatique

2.1.1 Équations des réactions mises en jeu:



Remarque : il s'agit d'une réaction de désamination oxydative



2.1.2 Réactifs:

« ENZ LYO » apporte l'enzyme phénylalanine-déshydrogénase et le NAD^+

« SUBS » apporte le sel de tetrazolium.

2.1.3 Le volume d'acide trichloracétique doit être mesuré précisément car l'addition de TCA permet la dissolution de la phénylalanine (contenue sur chaque carte) dans un volume précis dont dépend la concentration de phénylalanine qui sera déterminée ensuite.

D'autre part, le volume de solution obtenu doit être identique pour tous les échantillons (patients, contrôles et étalons). Le dosage est ensuite réalisé sur 75 μL de chacun des éluats.

2.1.4 Rôles des solutions CAL A-E et CONTROL 1 + 2:

Les solutions CAL A-E permettent de réaliser un étalonnage : correspondance entre les concentrations en phénylalanine et les absorbances lues à 570 nm.

Les solutions CONTROL 1 + 2 réalisés dans les mêmes conditions que le dosage sur le sang analysé permettent de vérifier l'exactitude des mesures effectuées et de valider la série de dosage.

2.1.5 La durée de l'étape 4 n'a pas à être déterminée précisément : il s'agit d'un dosage de substrat par méthode en point final : la durée de l'incubation doit être suffisante pour que tout le substrat : phénylalanine soit transformé en phényl-pyruvate par l'enzyme.

2.2. Contrôle national de qualité (CNQ) des méthodes de dépistage de la phénylcétonurie

2.2.1 Le « CV » est le coefficient de variation.

$$CV(\%) = \frac{s (\mu\text{mol. L}^{-1}) \times 100}{\bar{x} (\mu\text{mol. L}^{-1})}$$

avec : s = écart – type et \bar{x} = moyenne

2.2.2 Le CV permet d'évaluer la fidélité de la méthode : étroitesse de l'accord entre des résultats indépendants obtenus sur des échantillons identiques dans des conditions spécifiées, ici en conditions de reproductibilité (inter-laboratoires)

2.2.3 Le CV (et donc s) de la méthode enzymatique est plus faible que celui de la méthode fluorimétrique : la méthode enzymatique permet donc d'obtenir des résultats plus fidèles (en condition de reproductibilité ici).

2.3. Diagnostic moléculaire

2.3.1 Les 3 étapes de la PCR :

- étape de dénaturation de l'ADN ;
- étape d'hybridation ;
- étape d'élongation

2.3.2 Réactifs utilisés lors de la PCR

- Une ADN polymérase thermorésistante, la Taq polymérase, qui catalyse la synthèse des brins d'ADN.
- 2 amorces : « primers » qui permettent, lors de l'étape d'hybridation, de borner de façon spécifique la séquence cible à amplifier ; elles fournissent une extrémité 3'OH libre nécessaire au démarrage de l'action polymérasique de la Taq polymérase.
- Les désoxyribonucléosides triphosphates (dNTP : dATP, dCTP, dGTP, dTTP) : substrats de la Taq polymérase = monomères additionnés au cours de la synthèse des brins d'ADN.
- Une solution tampon permettant le maintien du pH pour un fonctionnement optimal de la Taq polymérase et qui apporte des ions Mg^{2+} , cofacteur indispensable au fonctionnement de l'enzyme.

2.3.3 La séparation des fragments d'ADN (ici les amplicons) se fait selon leur taille qui dépend du nombre de paires de bases : les fragments les plus courts migrent le plus loin.

Les molécules d'ADN ont toute la même densité de charge négative correspondant aux groupements phosphates des nucléotides, ce seul caractère ne permet donc pas leur séparation.

2.3.4 Résultats de l'électrophorèse

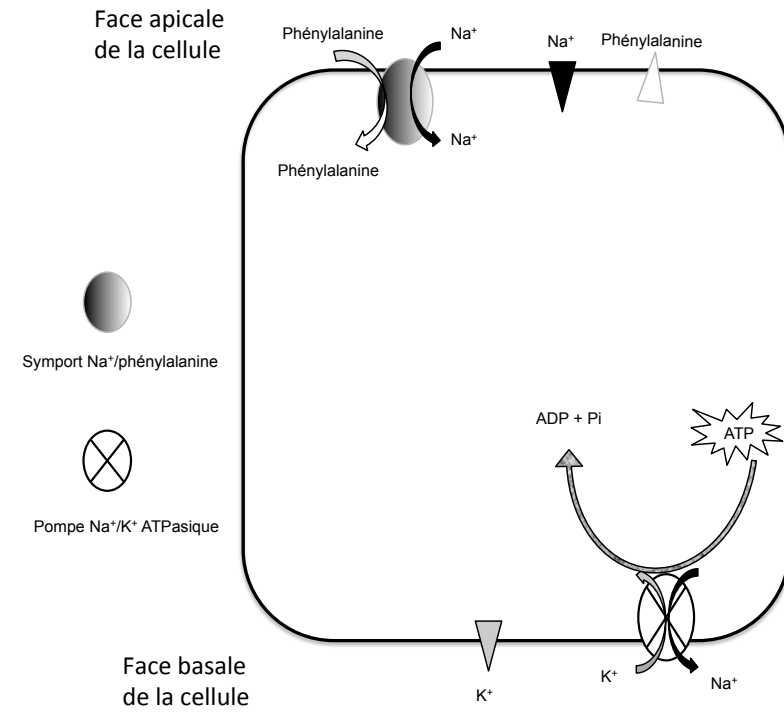
L'amplicon obtenu par PCR à partir de l'ADN du patient malade (piste 3) migre plus loin que celui obtenu à partir de l'ADN du sujet sain (piste 2) : la séquence amplifiée provenant du patient est donc plus courte que celle provenant du sujet sain. On en déduit que le sujet malade présente une mutation par délétion (perte de nucléotides).

3. Traitement et suivi de la phénylcétonurie

3.1. Administration d'acides aminés neutres

3.1.1 Les acides aminés ne diffusent pas à travers la membrane plasmique car la double couche lipidique est hydrophobe et imperméable aux acides aminés qui sont des molécules chargées électriquement (groupement α carboxylique et α aminé ionisés : $-\text{COO}^-$ et $-\text{NH}_3^+$).

3.1.2 Transport actif secondaire de la phénylalanine



NDLR : selon l'intitulé de la question, seuls étaient attendus le schéma du co-transport phénylalanine/ Na⁺ et l'orientation du gradient de concentration des ions sodium de part et d'autre de la membrane. Mais pour montrer le principe du transport actif secondaire, nous avons choisi de faire apparaître aussi le gradient de concentration de la phénylalanine et de faire figurer l'ATPase Na⁺/K⁺ dont le fonctionnement est nécessaire au maintien du gradient de concentration du sodium.

3.1.3 Intérêt de l'administration d'acides aminés neutres au patient atteint de phénylcétonurie

Les acides aminés neutres administrés au patient entrent en compétition avec la phénylalanine au niveau du transporteur commun de la membrane plasmique des entérocytes et des cellules de la barrière hémato-méningée : l'absorption intestinale de la phénylalanine ingérée et son passage au niveau du système nerveux central est donc réduit grâce au traitement.

3.2. Chromatogramme, outil de suivi du patient

3.2.1 La chromatographie réalisée sur colonne est une méthode permettant la séparation des constituants d'un mélange grâce à leur entrainement par une phase mobile au sein d'une phase stationnaire. La séparation des constituants du mélange dépend de leur affinité pour chacune des phases.

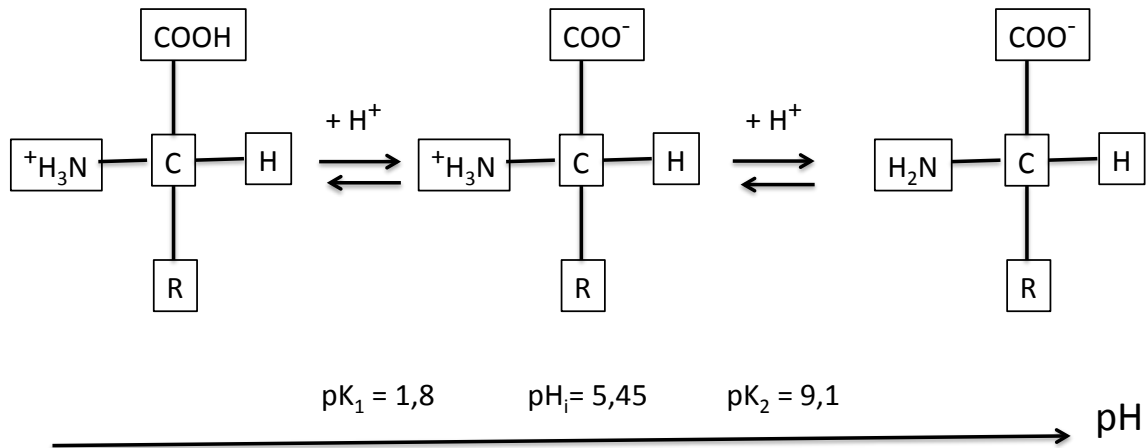
NDLR : la question posée était mal formulée : on ne pouvait que donner une définition très générale de la chromatographie.

3.2.2 Principe de la chromatographie échangeuse d'ions utilisée :

La phase stationnaire, résine échangeuse de cations, est chargée négativement. Elle retient les cations du mélange tandis que les molécules anioniques ou non ionisées ne sont pas retenues.

Puis l'ajout d'un tampon, qui permet de modifier l'état d'ionisation des molécules précédemment retenues, permet leur élution.

3.2.3 Formes majoritaires de la phénylalanine en fonction du pH:



L'acide aminé est essentiellement sous forme cationique quand le pH est $< 1,8$.

Il est sous forme cationique (charge nette : +1) et de zwitterion (charge nette : 0) quand le pH est compris entre 1,8 et 5,45.

La forme zwitterion est majoritaire quand le pH est voisin de 5,45.

Il est sous forme anionique et de zwitterion quand le pH est compris entre 5,45 et 9,1.

La forme anionique est majoritaire quand le pH est $> 9,1$.

3.2.4 Comportement de la phénylalanine:

En début de chromatographie, à $\text{pH} = 2,8$, la phénylalanine est majoritairement sous forme cationique car le pH du tampon est inférieur à son pH_i : elle est retenue par la colonne.

Lors de l'augmentation du pH de l'éluant, la phénylalanine est éluée quand le pH dépasse son pH_i car elle devient anionique.

3.2.5 Analyse et interprétation du chromatogramme:

Chez l'enfant atteint de phénylcétonurie, on observe une augmentation de la surface du pic correspondant à la phénylalanine et une diminution de la surface du pic correspondant à la tyrosine par rapport au sujet sain. On met ainsi en évidence un excès de phénylalanine, moins transformée en tyrosine, du fait de la diminution d'activité de la PAH.

On en déduit que le traitement de ce patient n'est pas satisfaisant.

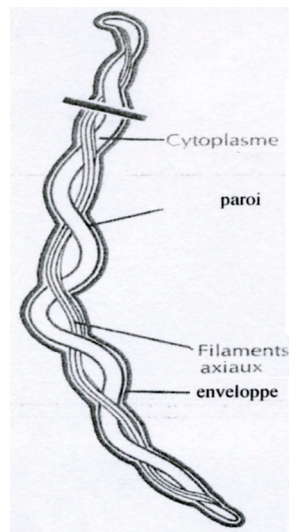
E42 Microbiologie

2014 corrigé

1. Diagnostic de la syphilis

1.1. Schéma structural légendé du genre *Treponema*.

- Forme Spiralee
- Cytoplasme, paroi, enveloppe, filaments axiaux



1.2. Modes de transmission de la syphilis :

- contact sexuel ; rare par le sang (seringue contaminée : toxicomanes ; transfusion)
- transmission foeto-maternelle (syphilis congénitale)
- pas de transmission indirecte (toilettes, objets), car pas de survie dans le milieu extérieur.

1.3. Différents stades de la maladie et signes cliniques correspondants

- Syphilis primaire : Multiplication au niveau de l'inoculation / CHANCRE (ulcération indolore arrondie) / Indolore / souvent invisible
- Syphilis secondaire : Septicémie / Dissémination de la bactérie / Lésions cutanées et muqueuses très contagieuses (roséole), polyadénopathie, fièvre, céphalées... L'immunité devient plus efficace. Petite vérole.
- Syphilis latente : l'immunité prend le dessus, la syphilis n'est plus contagieuse et asymptomatique.
- Syphilis tertiaire : hypersensibilité retardée (2-20 ans plus tard) / Atteintes cardiovasculaires, atteintes cérébrales, atteintes cutanées (nécrose), atteintes osseuses.

1.4. Diagnostic biologique

1.4.1. Test qualitatif:

Test mettant en évidence une présence d'anticorps (ou d'antigènes) sans notion de concentration.

1.4.2. Principe du TPHA qualitatif:

Le TPHA « treponema pallidum hemagglutination assay » repose sur la mise en évidence de la présence d'anticorps spécifiques de l'Ag polysidique caractéristique de l'espèce *Treponema pallidum* (Enveloppe C): Antigènes absorbés sur des GR (GR sensibilisés) avec recherche d'une agglutination des GR.

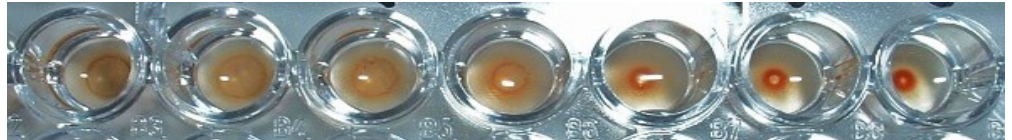
1.4.3. Contrôles de qualité:

- Contrôle positif : témoin de réactivité (vérification de l'efficacité) : 50 µL de Sérum positif R3 dilué au 1/40 traité comme le sérum à tester avec une gamme de dilution (cupules multiples) + 50 µL de réactif R1 hématies sensibilisées

- Contrôle négatif : (vérification de la spécificité) : 50 µL de Sérum négatif R4 + 50 µL de réactif R1 Hématies sensibilisées

1.4.4. Aspect des cupules dans le cas d'un contrôle positif valide (= conforme) : soit un titre de 320 à une dilution près (soit de 320 à 1280)

Cupules	1	2	3	4	5	6	7
Titre	80	160	320	640	1280	2560	5120
Observations	Voile uniforme			Sédimentation des GR			
Résultats	+	+	+	+/-	-	-	-



- Cupules positives : voile de GR agglutinés au fond de la cupule, anneau de GR entourant un voile

- Cupules négatives : un point au centre (ou tout petit cercle) : sédimentation des GR au fond de la cupule

1.4.3. Titre du sérum testé:

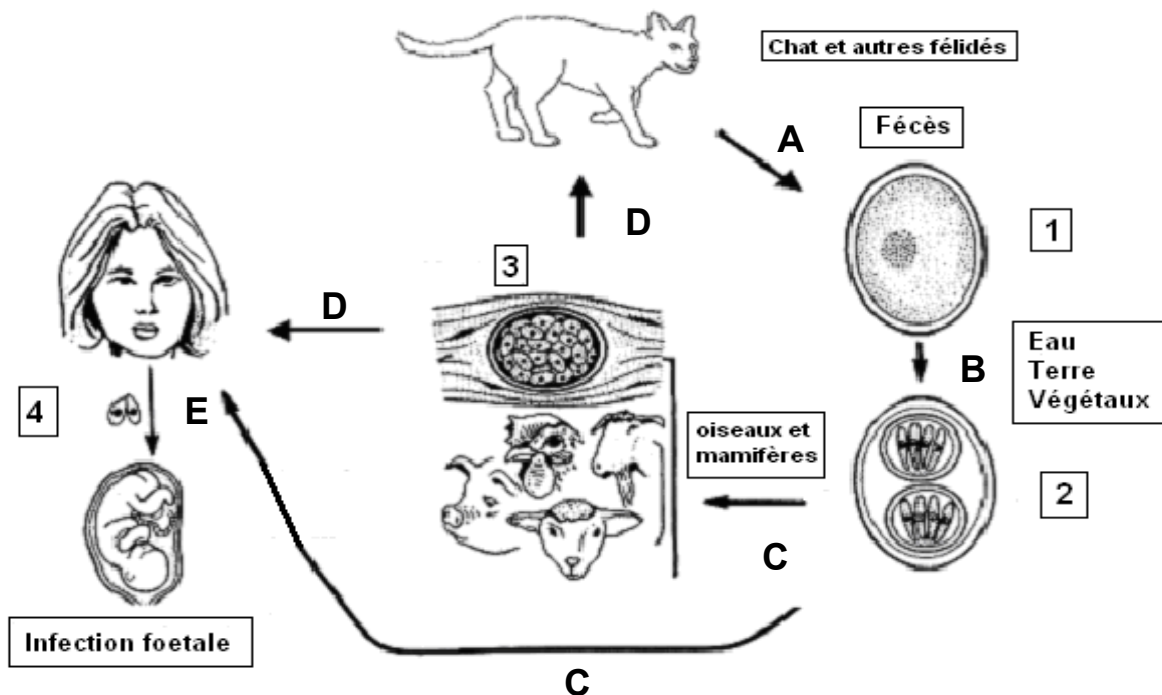
Plus grande dilution donnant un résultat positif = 4

Donc le titre = 640

1.4.4. Interprétation du sérodiagnostic de la syphilis chez cette femme en début de grossesse

Titre supérieur à 80, donc soit début de syphilis, soit cicatrice sérologique. Refaire un test 2 semaines plus tard. Risque de transmission de l'infection au fœtus (syphilis congénitale)

2. Diagnostic de la toxoplasmose



2.1. Le cycle de multiplication du toxoplasme présenté en annexe 2.

2.1.1. Éléments parasitaires numérotés de 1 à 4

1. Oocyste non sporulé / 2. Oocyste mature ou sporulé (contenant deux sporocystes chacun contenant 4 sporozoïtes !) / 3. Kystes (bradyzoïtes) / 4. Trachyzoïtes ou trophozoïtes (formes actives)

2.1.2. Description des étapes (A à E) du cycle évolutif

A. élimination dans les selles - B. maturation - C. contamination par ingestion des oocystes - D. contamination par voie digestive (viande contenant les kystes ou nourriture, eau, litière contenant les sporozoïtes infectants) - E. Passage transplacentaire.

2.1.3. hôtes définitifs et intermédiaires.

- hôte intermédiaire : bœuf, mouton, porc (hôtes provisoires) / Homme (impasse parasitaire)
- hôte définitif : chat (lieu de reproduction sexuée)

2.2.

2.2.1. Mesures prophylactiques à adopter

Concerne surtout la **femme enceinte** !

- Manger de la viande bien cuite (65°C à cœur au moins), ni charcuterie, lavage minutieux fruits et légumes
- Éviter les contacts avec les chats, et les selles de chats
- Éviter le contact avec la terre (lavage des mains)
- Surveillance immunologique (statut sérologique pendant la grossesse) + traitement des femmes séronégatives et infectées pendant la grossesse

2.2.2. Interprétation des résultats des sérologies

Résultats négatifs jusqu'à la 20^{ème} semaine. Séroconversion à la 24^{ème} : la patiente s'est contaminée entre la 20-22^{ème} semaine.

2.2.3. Conséquences possibles sur le développement du fœtus

Risque d'atteintes graves, voire mortelles (surtout si contamination au 2^{ème} trimestre) : hydrocéphalie, retard mental, calcification, chorioretinite, ictère... Atteintes cérébrales, oculaires, viscérales (tous les organes peuvent être atteints).

Toxoplasmose pouvant être latente et se révélant après plusieurs mois.

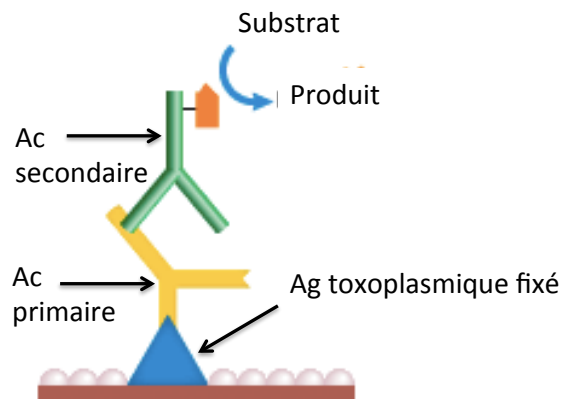
2.3.

2.3.1. Les différentes étapes du test sous forme de schémas annotés.

A. Première étape : incubation des deux bandelettes, l'une le sérum de la mère et l'autre le sang de cordon. Les anticorps spécifiques des antigènes de *Toxoplasma gondii* se fixent (Ac primaires).

B. Deuxième étape : Après lavage : ne reste que les Ac spécifiques fixés. Incubation avec des anticorps (Ac secondaires) couplés à la PAL : conjugué Ac anti-IgG humaines pour le premier test, et des Ac anti-IgM pour le 2^{ème} test.

C. révélation par le substrat de la PAL : le produit coloré insoluble libéré par la PAL précipite localement : bande colorée.



2.3.2. Rôle de chaque lavage.

1^{er} lavage : élimination des protéines et anticorps non spécifiques de *Toxoplasma gondii*

2^{ème} lavage : élimination des molécules d'anticorps secondaires (conjugué) qui n'ont pas réagi

3^{ème} lavage : élimination du substrat qui n'a pas réagi : arrêt de la réaction enzymatique.

2.3.3. Exploitation des résultats présentés en annexe 5.

Les profils d'IgG sont identiques + pas d'apparition d'une bande spécifique chez l'enfant. Donc pas de synthèse d'anticorps anti-toxoplasme par l'enfant : pas de toxoplasmose congénitale.

3. Diagnostic d'une candidose

3.1.**3.1.1. Définition d'une infection opportuniste**

Infection provoquée par des microorganismes ne présentant pas obligatoirement un pouvoir pathogène élevé et profitant d'un état de faiblesse de l'hôte pour provoquer des troubles. Infection à déclaration **non** obligatoire, touchant des sujets immunodéprimés.

3.1.2. Facteurs favorisant la survenue d'une infection opportuniste

Organisme hôte affaibli ou dénutri, diabétique, atteint d'un déficit immunitaire, ...

Suite à une antibiothérapie à un traitement immunosuppresseur.

Germe "spécialisés", particulièrement résistant, âges extrêmes de la vie...

3.1.3. Aspect microscopique caractéristique d'un frottis vaginal coloré au Gram, dans le cas d'une candidose

La richesse bactérienne diminue au profit des levures ovalaires bourgeonnantes. Souvent présence de pseudomycélium ou de vrais filaments mycéliens.

3.1.4. Justification de l'utilisation de la gélose Sabouraud

La gélose Sabouraud favorise la culture des mycètes (même si ils poussent sur gélose ordinaire)

Le chloramphénicol limite la prolifération des bactéries .

3.2.**3.2.1. Mode opératoire du test de blastèse**

Une très faible quantité de colonies de levures sont mises en suspension dans du sérum (de cheval). Incubation à 37°C.

3.2.2. Description du résultat obtenu pour la patiente et conclusion.

Après 1-3h, apparition de tubes germinatifs (départ de vrais filaments mycéliens).

3.2.3. Autre test rapide permettant de confirmer le diagnostic.

Test immunologique (Recherche d'anticorps en sérologie / mise en évidence des Antigènes spécifique de *Candida albicans* : test d'agglutination au latex)

3.3.

3.3.1. Catégorie de molécules thérapeutiques à laquelle appartiennent les azoles. : Antifongiques

3.3.2.

Lecture de l'E-test® donné en annexe 6 : CMI = 0,38 mg/L.

Conclusion : souche sensible si CMI < ou = 1 mg/L, donc souche sensible.

4. Diagnostic des infections à Cytomégalovirus

4.1. Principaux critères permettant la classification des virus

Le type d'acide nucléique + sa description : (le nombre de brin et la polarité)

La présence d'une enveloppe ou non

La symétrie de la capsid (on peut ajouter le nombre de capsomères).

4.2. Représentation schématique du CMV : légendes

1. Glycoprotéines de surface (ou spicules)
2. Acide Nucléique (ADN, dans le sujet)
3. Capsid
4. Enveloppe (ou couche phospholipidique)

4.3. Caractéristiques des 2 types de cellules utilisables en culture cellulaire et intérêts respectifs.

- cellules de culture primaire ou première explantation correspondant à des cellules normales diploïdes avec une multiplication définie (lignée à durée de vie limitée) ; avantage : comportement proche des cellules de l'organisme ; inconvénient : multiplication limitée

- cellules de lignée continue, tumorales hétéropleïdes ; avantage : se multiplie indéfiniment ; inconvénient : comportement pouvant être éloigné des cellules de l'organisme

4.4.

4.4.1. Phénomène de latence

Le virus reste dormant dans des cellules (ici dans des lymphocytes) ; il n'y a pas de signes cliniques mais le virus peut redonner naissance à des signes clinique après réactivation.

(NDLR : attention ne pas confondre ici avec l'intégration du génome des virus dans les cellules comme pour les virus oncogènes)

4.4.2. facteurs favorisant la réactivation : fatigue, stress, maladie, immunodépression...

5. Diagnostic anténatal d'un streptocoque du groupe B ou *Streptococcus agalactiae*

5.1. Infections néonatales impliquant *Streptococcus agalactiae*

Variées et nombreuses / graves : méningites, septicémie...

5.2.

5.2.1. Principales caractéristiques du milieu (Gélose au sang frais + ANC) ; conditions d'incubation dans le cadre d'une recherche de *Streptococcus agalactiae*.

- Milieu riche par la présence de sang ; sélectif des Gram + par la présence des antibiotiques acide nalidixique et colistine (lecture de l'hémolyse).

- Incubation : 37°C sous atmosphère enrichie en 5 % de CO₂.

5.2.2. Aspect des colonies suspectes de *Streptococcus B*

Colonies blanches, β-hémolytique (faible) / éclaircissement total de la gélose ou non hémolytique

5.2.3. Principe du test rapide permettant d'aboutir à l'identification d'un *Streptococcus agalactiae* à partir des colonies isolées : sérogroupage de Lancefield :

- digestion partielle enzymatique pour extraire le polyoside C.

- mise en présence de l'extrait obtenu avec de particules sensibilisées par des anticorps anti-polyoside C (groupe A, B, C...)

- observation de la formation d'un complexe immun par agglutination

5.2.4. Intérêt du milieu chromogène par rapport à la gélose au sang + ANC

- ce milieu est plus sélectif que la GS+ANC permet d'éliminer les Gram + mais aussi beaucoup de Gram + ;

- ce milieu permet d'orienter le diagnostic : orientation plus affinée au streptocoque de groupe B en révélant une ou plusieurs activités enzymatiques propres aux SGB) / Visualisation de ces activités enzymatiques par des chromogènes.

- ce milieu facilite le repérage des colonies suspectes.

5.3.

5.3.1. Évaluation de la sensibilité des streptocoques à la pénicilline G. Conclusion dans le cas de la souche étudiée.

NDLR : Il n'y a pas de résultat pour la Penicilline G dans le tableau du sujet... Car on doit le faire en utilisant un disque d'oxacilline.

Ici, le diamètre trouvé est de 22 mm, soit supérieur à 21 mm : la souche est dite sensible à la penicilline G. Cette interprétation est prédictive de la sensibilité aux autres b-lactamines.

5.3.2.5.3.2.1. Cible cellulaire des aminosides

Après pénétration dans le cytoplasme, les aminosides se fixent sur les ribosomes / Perturbant la synthèse protéique.

5.3.2.2. Définition de la résistance naturelle

Résistance structurelle, structurellement présent sur les souches sauvages. La structure de la bactérie ne permet pas l'action de l'antibiotique (ou la perturbe). Cela n'est pas dû à une adaptation ou une acquisition de la part de la bactérie. Elle est caractéristique d'une espèce bactérienne car programmée sur le génome bactérien. C'est donc un caractère fixe et constant en général, à l'intérieur du taxon.

5.3.2.3. Mécanisme de la résistance de bas niveau aux aminosides chez les Streptocoques

Les Streptocoques sont naturellement résistant aux aminosides par un défaut de pénétration. Les aminosides pénètrent habituellement par la chaîne respiratoire et les Streptocoque ne la possèdent pas.

5.3.3.1. Détection de ces souches sur un antibiogramme standard

On peut utiliser des disques fortement chargé en antibiotique, si on observe du disque d'inhibition inférieur au diamètre de la ccs alors la souche sera résistante haut niveau sinon la souche est uniquement résistante bas niveau.

5.3.3.2. Conclusion dans le cas de la souche étudiée

L'utilisation de disques chargé fortement, permet de ne voir que les haut niveaux de résistance : ici, le diamètre d'inhibition en présence de Gentamycine 500 est de 20 mm, soit >17 mm. donc la bactérie est sensible. Donc la souche ne présente pas de haut niveau de résistance (HNR), mais juste un bas niveau de résistance (BNR).

5.3.3.3. Intérêt thérapeutique d'une telle recherche

Sachant que la souche possède juste un BNR, on pourra envisager un traitement pour le patient par association d'antibiotiques aminosides/ β -lactamines.

E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2014 corrigé

1. Chute au domicile. (25 points)

Un patient de 65 ans est admis aux urgences. Il a été retrouvé gisant depuis plusieurs heures dans sa cuisine, sa jambe ayant brutalement cédé sans raison apparente. Il présente une fracture ouverte du fémur et a perdu beaucoup de sang. L'équipe de secours a stabilisé le patient par une perfusion de sérum physiologique avant de le transporter aux urgences.

- 1.1. Le but de la perfusion est de restaurer la volémie afin de ménager la fonction cardiaque.
- 1.2. Tableau comparatif

Paramètres	Avant	Après
érythrocytaires		
Hb, Ht, NGR	Normaux	Dilution des éléments sanguins par la perfusion de sérum physiologique, donc : abaissés
VGM, CCMH, TCMH	Normaux	Normaux

- 1.3.

TCA allongé : anomalie de la voie endogène

TQ allongé : anomalie de la voie exogène

Conclusion : anomalie de l'hémostase secondaire (coagulation) avec allongement conjoint du TCA et du TQ

Interprétation : anomalie de la voie commune (déficit en facteur, ACC...) ou anomalie sur les deux voies (déficit en facteur) ou l'ensemble de la coagulation est touchée (en lien avec la suspicion de CIVD)

1.4. Les D-Dimères sont les produits de dégradation de la fibrine insoluble sous l'action de la plasmine. Ils sont le reflet de la fibrinolyse.

1.5. Un taux élevé de D-Dimère renforce le diagnostic de CIVD

1.6. L'AT ou AT III est une glycoprotéine qui se fixe sur la thrombine (IIa) et le Xa et inhibe leur activité (inhibiteur de sérine protéase)

1.7. L'héparine, en se fixant sur l'AT potentialise son activité inhibitrice du IIa ou Xa

1.8. La transfusion du culot globulaire, par l'apport de globules rouges, permet de restaurer le transport d'oxygène et donc de limiter le syndrome anémique.

La transfusion de plasma permet un apport de facteurs plasmatiques dont les facteurs de la coagulation qui ont été consommés lors de la CIVD

Le groupage ABO et le phénotypage Rhésus sont réalisés sur carte de groupage et centrifugation en gel. L'**annexe 1** montre les résultats de cette détermination.

1.9. Interprétation des résultats et conclusion.

- Contrôle : il permet de vérifier l'absence d'autoagglutination des hématies du patient : contrôle conforme
- Groupage ABO : épreuve de Beth Vincent : agglutination des hématies du sang testé par les Ac anti A et anti-A + anti-B ; pas d'agglutination par les Ac anti- B ; épreuve de Simonin : agglutination des hématies tests B par le plasma du sang testé; pas d'agglutination des hématies tests A par le plasma testé.
- Phénotypage Rhésus standard : agglutination des hématies du sang testé par les Ac anti-D.
- Phénotypage Rhésus-Kell : agglutination des hématies du sang testé par les Ac anti-C, anti-E, anti-e mais pas par les Ac anti-e ni anti-K

Le patient possède sur ses hématies l'Ag A et dans son plasma les Ac anti-B : les résultats des 2 épreuves sont concordants : le sujet est de groupe A. Il possède l'Ag D (Rh standard +) et les Ag C, E et e. Son phénotype Rhésus est donc C⁺ c⁻ D⁺ E⁺ e⁺.

Le patient ne possède pas l'Ag K sur ses hématies : il est K⁻

1.10. En ne tenant compte que du groupage ABO et du phénotypage Rhésus standard, caractéristiques des sangs transfusables à ce patient :

- les hématies transfusées ne doivent pas réagir avec les Ac réguliers anti-B du patient : elles ne doivent pas porter l'Ag B : hématies d'un sujet de groupe A ou O transfusables.
- les hématies du sujet portent l'Ag D : le patient ne peut pas s'immuniser contre l'Ag D : il peut recevoir des hématies d'un donneur D⁺ ou D⁻

En cas d'urgence, le patient peut donc recevoir du sang total A⁺, A⁻, O⁺, O⁻. Il est cependant préférable d'effectuer une transfusion isogroupe dans le système ABO (risque de réaction entre Ac du donneur et GR du receveur, si transfusions massives ou répétées)

Le médecin des urgences veut poursuivre quelques explorations car vu le contexte clinique et les résultats des examens du laboratoire, il suspecte une maladie de Kahler (myélome multiple).

1.11. Définition de la maladie de Kahler.

Syndrome lymphoprolifératif chronique immunosécrétant (pic Ig monoclonal) se caractérisant par une plasmocytose médullaire

1.12. Examen hématologique qui permet de poser définitivement le diagnostic et son résultat.

Myélogramme : infiltration plasmocytaire (>10%) sans atteinte sanguine

Immunotypage du pic monoclonal : (immunofixation ou immunosoustraction) : IgG ou IgA

1.13. Modification de la vitesse de sédimentation (VS) dans la maladie de Kahler :

La sécrétion d'Ig monoclonales par le clone plasmocytaire conduit à une hyperprotéïnémie et donc une augmentation de la viscosité d'où une VS augmentée.

Une immunofixation permet la caractérisation de la maladie de Kahler.

1.14. Étapes de réalisation de l'immunofixation.

- dépôt du sérum étudié dans plusieurs puits d'un gel d'agarose
- séparation, en parallèle au niveau de plusieurs pistes des protéines sériques chargées électriquement, par électrophorèse dans gel d'agarose, réalisée à pH alcalin
- dépôts d'antisérums spécifiques des différents types de chaînes H et L directement sur les pistes d'électrophorèse.
- après incubation : étape de précipitation des immunocomplexes, lavage (eu physiologique) pour éliminer les protéines qui n'ont pas précipité.
- coloration des immunocomplexes précipités avec un colorant des protéines (bleu acide..)

Remarque : piste d'électrophorèse « ELP » : révélation de toutes les fractions protéiques du sérum par un agent dénaturant : TCA (acide trichloracétique)

1.15. Interprétation du résultat de l'immunofixation présenté en **annexe 2**.

On observe une bande intensément colorée de la piste d'électrophorèse où a été déposé le sérum contenant des Ac anti-chaînes lourdes gamma (anti- γ = anti-IgG) et au même niveau pour la piste où a été déposé le sérum contenant des Ac anti-chaînes légères lambda (anti- λ).

Conclusion : on met en évidence une gammopathie avec surproduction d'une Ig monoclonale constituée des chaînes lourdes gamma et de chaînes légères lambda : IgG à chaînes λ : confirmation de la maladie de Kahler avec gammopathie monoclonale.

2. Forte fièvre. (15 points)

2.1. Schéma du principe du kit d'immunochromatographie décrit dans l'annexe 3.

Figure 1 - La bandelette et ses différents éléments

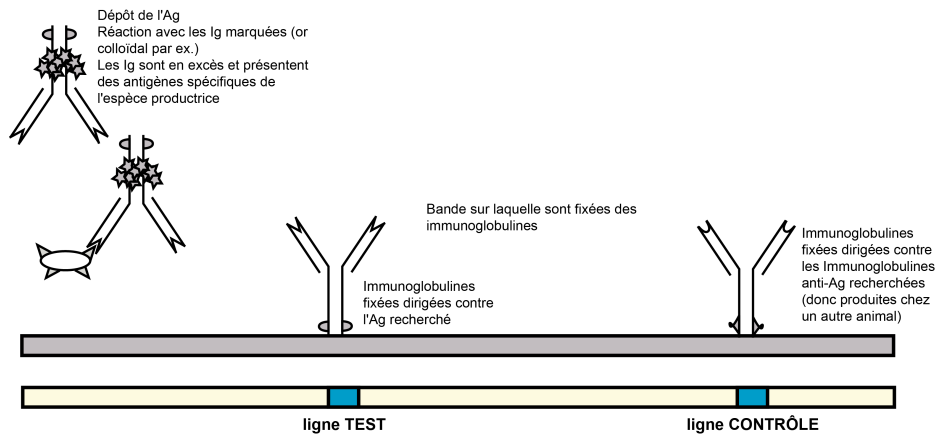
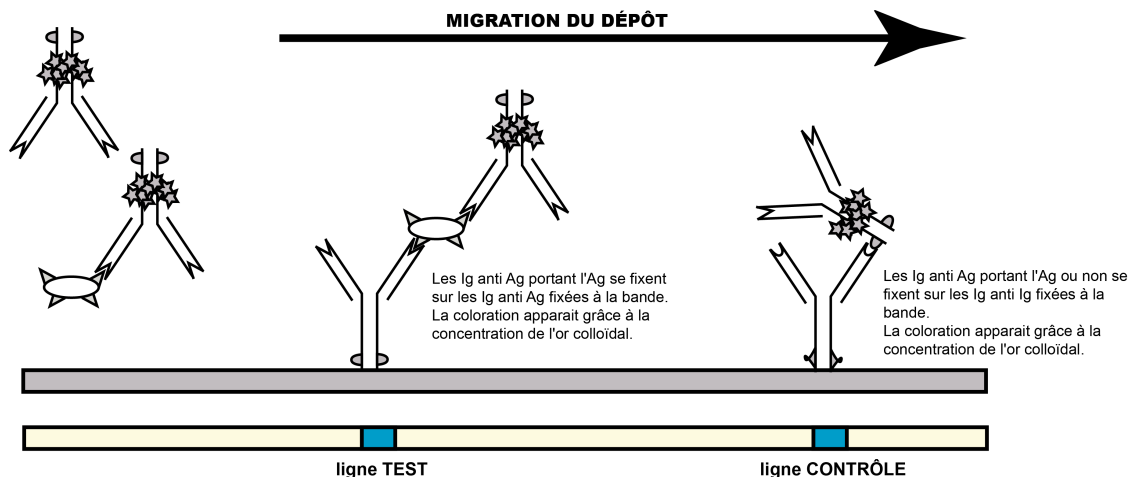


Figure 2 - cas d'une réaction positive



2.2. Rôle du contrôle : Le contrôle permet

- d'affirmer la migration de l'immunoglobuline marquée,
- d'affirmer que la réaction fonctionne bien (que la coloration apparaît bien)

Les anticorps mis en jeu dans ce kit sont des anticorps monoclonaux obtenus par la technique des hybridomes.

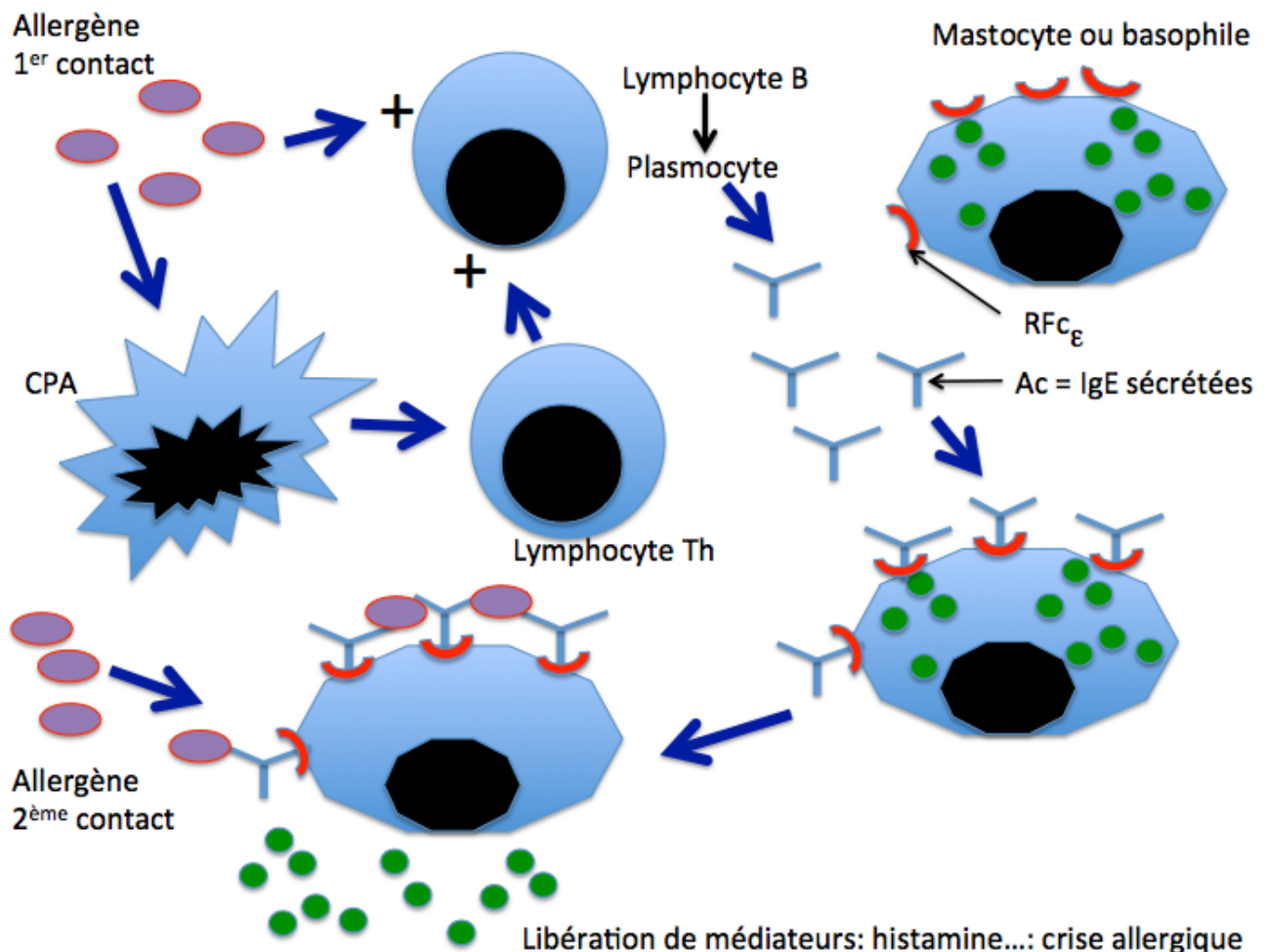
2.3. Définition de l'expression « anticorps monoclonaux » : les anticorps monoclonaux sont des molécules toutes identiques sécrétées par les cellules (plasmocytes, hybridomes) d'un même clone : ils sont spécifiques d'un seul épitope de l'antigène (contrairement à un sérum polyclonal contenant un mélange d'Ac différents dirigés contre différents épitopes de l'Ag)

2.4. Principales étapes de l'obtention d'un hybridome d'origine murine :

- hyperimmunisation d'une souris par injections répétées de l'Ag contre lequel on veut obtenir un Ac monoclonaux ;
- sacrifice de la souris immunisée et prélèvement de la rate de l'animal ;
- fusion des splénocytes recueillis avec des cellules cancéreuses « immortelles » : cellules myélomateuses non sécrétantes : utilisation du PEG (polyéthylène glycol) comme agent de fusion ;
- sélection des hybridomes résultant de la fusion entre un plasmocyte et une cellule cancéreuse par culture dans un milieu sélectif (milieu HAT), dans lequel seuls les hybridomes survivent et se multiplient
- tri des hybridomes avec réalisation de sous cultures pour ne conserver que des hybridomes identiques sécrétant un Ac choisi : obtention d'une culture monoclonale : les hybridomes ont hérité de l'immortalité en culture (caractère de la cellule cancéreuse) et de la capacité à sécréter un Ac choisis (caractère du plasmocyte)

Le patient est finalement traité par un antipaludéen. Quelques heures après son état s'aggrave brutalement. Le diagnostic de choc anaphylactique à l'antipaludéen est rapidement posé. Le choc anaphylactique est un exemple de réaction d'hypersensibilité de type I.

2.5. Étapes conduisant à une réaction d'hypersensibilité de type I.



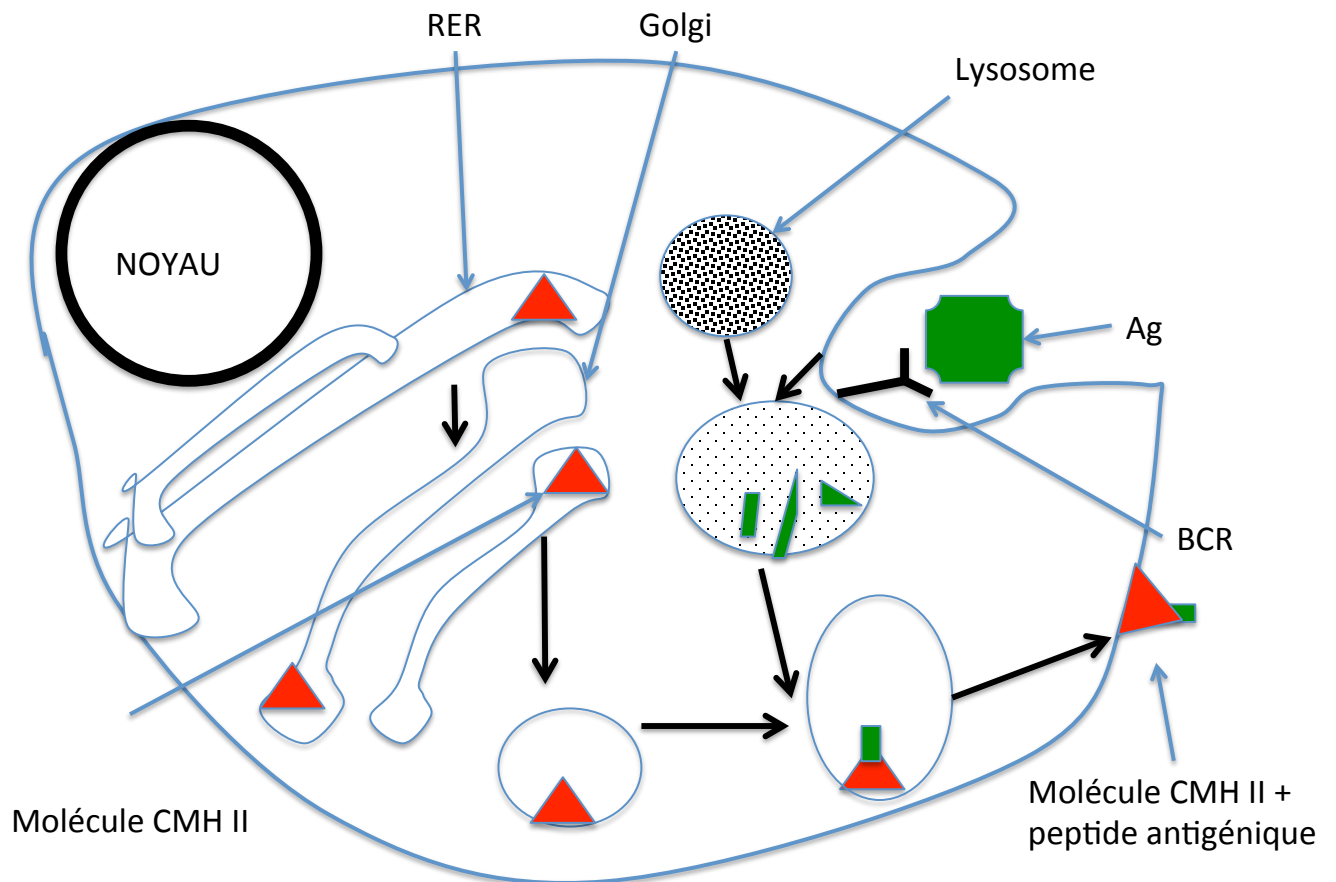
- **Étape « préparante »** : « silencieuse », sans signe clinique, étape de sensibilisation qui dure une quinzaine de jours. Elle suit un premier contact avec l'allergène. L'allergène provoque une réponse immunitaire

humorale aboutissant à la sécrétion d'IgE qui se lie aux récepteurs membranaires RFc_{ϵ} des mastocytes des tissus et des granulocytes basophiles du sang : ces cellules sont ainsi sensibilisées par des IgE.

- **Étape « déclenchante »** : réaction allergique : hypersensibilité de type I : étape très rapide qui se manifeste en quelques minutes (HS immédiate) chez le sujet sensibilisé, lors d'un nouveau contact avec l'allergène ; l'allergène réintroduit dans l'organisme se lie aux paratopes des IgE liées aux basophiles ou aux mastocytes ; les mastocytes et les basophiles sont les cellules effectrices de la crise allergique : activés par l'allergène, ils libèrent par exocytose de l'histamine préformée et d'autres médiateurs néoformés (leucotriènes..) qui provoquent les manifestations cliniques de la réaction d'HS de type I

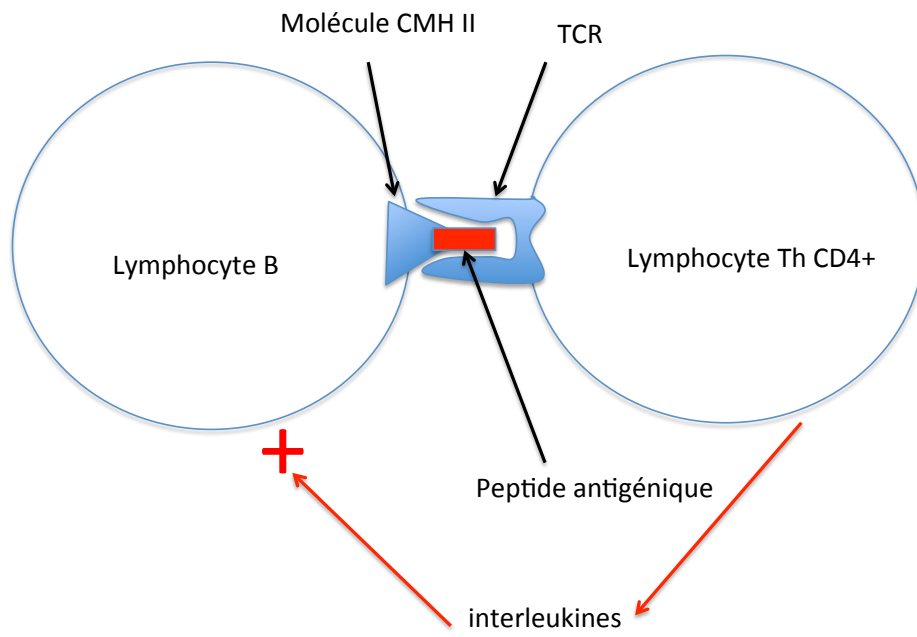
2.6. Schéma annoté des modalités d'activation d'un lymphocyte B par un allergène (antigène thymo-dépendant).

a) **Apprêtement de l'Ag par le lymphocyte B après endocytose par l'intermédiaire du récepteur BCR**



Le lymphocyte B, après avoir endocyté l'Ag protéique grâce à son BCR, réalise l'apprêtement après fusion de la vésicule d'endocytose avec des lysosomes : parmi les peptides antigéniques, certains s'associent à des molécules du CMH de classe II apportées par d'autres vésicules. Les complexes molécules CMH – peptides sont ensuite exprimés à la surface du LB ;

Remarque : ce mécanisme est analogue à celui réalisé par une CPA classique (seule diffère l'étape initiale d'endocytose)

b) Présentation de l'Ag par le lymphocyte B à un lymphocyte T spécifique

Les interleukines (IL2, IL4 et autres IL) sécrétées par les LTh, activés après présentation d'un peptide antigénique par les LB, provoquent la prolifération et la différenciation en plasmocytes des LB ayant reconnu l'Ag (allergène ici)

SESSION 2015

E2 Mathématiques

2015 corrigé

EXERCICE 1 (11 points)

PARTIE A : Étude du premier traitement

1. Résolution d'une équation différentielle

a) Les solutions de (E_0) sont de la forme : $y_0(t) = Ce^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$

b) $\forall t \in [0; +\infty[\quad h(t) = 2te^{-0,1t}$

$$\begin{aligned} \text{Donc} \quad h'(t) &= 2e^{-0,1t} + 2t \times (-0,1)e^{-0,1t} \\ &= 2e^{-0,1t} - 0,2te^{-0,1t} \end{aligned}$$

$$\forall t \in [0; +\infty[\quad h'(t) + 0,1h(t) = 2e^{-0,1t} - 0,2te^{-0,1t} + 0,2te^{-0,1t} = 2e^{-0,1t}$$

Donc h est une solution particulière de l'équation (E).

c) Les solutions de (E) sont de la forme : $f(t) = y_0(t) + h(t) = Ce^{-0,1t} + 2te^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

d) On a $f(0) = 1 \Leftrightarrow Ce^0 + 2 \times 0 \times e^0 = 1 \Leftrightarrow C = 1$

D'où $f(t) = 1e^{-0,1t} + 2te^{-0,1t} = (2t+1)e^{-0,1t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$

2. Étude d'une fonction

$$\text{Sur } [0; +\infty[, \quad f(t) = (2t+1)e^{-0,1t}$$

a) On admet que $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 0$ donc on en déduit que la courbe représentative de f admet une asymptote horizontale d'équation $y = 0$ (axe des abscisses) en $+\infty$.

b) Sur $[0; +\infty[$, on admet que $f'(t) = (1,9 - 0,2t)e^{-0,1t}$

i) Pour tout réel t de $[0; +\infty[$, $e^{-0,1t} > 0$ donc $f'(t)$ est du signe de $1,9 - 0,2t$

$$1,9 - 0,2t > 0 \Leftrightarrow 1,9 > 0,2t$$

$$\Leftrightarrow t < \frac{1,9}{0,2}$$

$$\Leftrightarrow t < 9,5$$

ii) On en déduit le tableau de variations de la fonction :

$$f(0) = 1$$

$$f(9,5) = (2 \times 9,5 + 1)e^{-0,1 \times 9,5} = 20e^{-0,95} \approx 7,735$$

t	0	9,5	$+\infty$
$f'(t)$	+	0	-
$f(t)$	1	$f(9,5)$	0

Application

a) La quantité de principe actif sera maximale quand $t = 9,5$ heures.

b) Le médicament est efficace quand la quantité de principe actif est supérieure ou égale à 5 mg.

Or l'équation $f(t) = 5$ est impossible à résoudre.

Cependant à l'aide du tableau de valeurs de la fonction obtenu à l'aide de la calculatrice, on constate que :

$$f(2,8) \approx 4,99 < 5 \quad \text{et} \quad f(21) \approx 5,27 > 5$$

$$f(2,9) \approx 5,01 > 5 \quad \quad \quad f(22) \approx 4,98 < 5$$

donc on en déduit que le médicament est efficace entre 2,9 heures et 21 heures.

c) On donne $\int_0^{24} f(t) dt = 210 - 690e^{-2,4}$

$$Vm = \frac{1}{24-0} \times \int_0^{24} f(t) dt = \frac{1}{24} \times (210 - 690e^{-2,4}) = 8,75 - 28,75e^{-2,4} \approx 6,14 \approx 6,1$$

La quantité moyenne de principe actif présente dans le sang entre 0 et 24 heures est de 6,1 mg.

PARTIE B : Étude Statistique du second traitement

1. Administrations répétées du médicament

La courbe qui représente le mieux l'évolution de la quantité de médicament présente dans le sang est la figure 3 car elle correspond à une décroissance la quantité en fonction du temps puis le fait de réinjecter une dose de charge de médicament toutes les heures.

2. Administration continue du médicament : recherche de la courbe de tendance

a) i)

t_i	0	4	8	12	16	20	24
q_i	1,8	9,5	15,5	20,2	23,7	26,8	28,7
$y_i = \ln(36 - q_i)$	3,53	3,28	3,02	2,76	2,51	2,22	1,99

ii) A l'aide la calculatrice, on obtient l'équation de D la droite d'ajustement de y en t par la méthode des moindres carrés : D $y = -0,06t + 3,54$

b) On a :

$$y = -0,06t + 3,54$$

$$\Leftrightarrow \ln(36 - q) = -0,06t + 3,54$$

$$\Leftrightarrow 36 - q = e^{-0,06t+3,54}$$

$$\Leftrightarrow q = 36 - e^{-0,06t+3,54}$$

On obtient donc l'expression de la quantité $q = 36 - e^{-0,06t+3,54}$

c) La quantité limite est de 36 mg.

Le médecin affirme que l'état stationnaire est atteint en moins de 3 jours soit en $3 \times 24 = 72$ heures.

Pour $t = 72$, on a $q = 36 - e^{-0,06 \times 72 + 3,54} \approx 35,542$

Soit une différence de $36 - 35,542 = 0,458 < 1$ mg

Donc l'affirmation du médecin est justifiée.

EXERCICE 2 (9 points)

PARTIE A : Étiquetage

1) $p(A \cap D) = p(A) \times p(D)$ car A et D sont indépendants.

$$p(A \cap D) = 0,01 \times 0,03$$

$$p(A \cap D) = 0,0003$$

2) $p(\bar{A} \cap \bar{D}) = p(\bar{A}) \times p(\bar{D})$ car \bar{A} et \bar{D} sont indépendants.

$$p(\bar{A} \cap \bar{D}) = (1 - 0,01) \times (1 - 0,03)$$

$$p(\bar{A} \cap \bar{D}) = 0,9603$$

PARTIE B : Étude de la contenance

1) $p(57,90 \leq V \leq 58,10) \approx 0,9875$

donc $p(V < 57,90) + p(V > 58,10) = 1 - p(57,90 \leq V \leq 58,10) \approx 1 - 0,9875 \approx 0,0124$

Donc la probabilité que le flacon soit non conforme est égale à 0,01.

$$2) p(58 - h \leq V \leq 58 + h) = 0,95 \quad \text{où } V \text{ suit une loi normale } N(58; 0,04)$$

$$p\left(\frac{58 - h - 58}{0,04} \leq \frac{V - 58}{0,04} \leq \frac{58 + h - 58}{0,04}\right) = 0,95$$

$$p\left(\frac{-h}{0,04} \leq T \leq \frac{h}{0,04}\right) = 0,95 \quad \text{où } T = \frac{V - 58}{0,04} \text{ suit une loi normale } N(0; 1)$$

$$2 \times p\left(T \leq \frac{h}{0,04}\right) - 1 = 0,95$$

$$p\left(T \leq \frac{h}{0,04}\right) = 0,975$$

A l'aide de la calculatrice, on obtient : $\frac{h}{0,04} \approx 1,96$ soit $h \approx 1,96 \times 0,04 \approx 0,08$

PARTIE C : Test d'hypothèse

1. A l'aide de la calculatrice, on obtient : $\bar{v} \approx 58,042$ et $s \approx 0,036$

2. Construction du test

a) Au seuil de signification de 5 % , on calcule l'intervalle de confiance de la moyenne à l'aide de la formule :

$$\left[\mu - 1,96 \times \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; \mu + 1,96 \times \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right].$$

Cela correspond ici à $\left[58 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right]$ soit l'intervalle L proposé par l'énoncé.

b) Règle de décision du test :

Si $\bar{v} \in L$ alors on accepte l'hypothèse H_0 au seuil de risque de 5 %.

Si $\bar{v} \notin L$ alors on rejette l'hypothèse H_0 et on accepte H_1 au seuil de risque de 5 %.

3. On a $L = \left[58 - 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} ; 58 + 1,96 \times \frac{0,04}{\sqrt{80}} \right] = [57,991 ; 58,009]$ et $\bar{v} \approx 58,042$

$\bar{v} \notin L$ donc on rejette la livraison au seuil de risque de 5 %.

E3 Sciences physiques et chimiques 2015 corrigé

Exercice I : Observation de cellules cancéreuses par fibroscopie (8,5 points)

PARTIE 1 : éclairage des tissus via la fibre optique excitatrice

1.1 Monochromatique signifie composé d'une seule radiation correspondant à une seule longueur d'onde.

1.2 La longueur d'onde de 308 nm se situe dans le domaine des UV. C'est bien ce qui est préconisé dans l'extrait de la brochure sur le laser.

1.3 Les lois de Snell-Descartes relatives à la réfraction sont :

- Les rayons incident et réfracté sont dans le plan d'incidence (avec la normale).
- Les sinus des angles d'incidence i_1 et de réfraction i_2 sont donnés par la relation $n_1 \cdot \sin(i_1) = n_2 \cdot \sin(i_2)$, n_1 et n_2 étant respectivement les indices optiques des milieux incident et réfracté.

1.4 $\sin(i_1) = n_c \cdot \sin(i_2)$ d'où $\sin(i_2) = (\sin 40^\circ) / 1,62 = 0,397$ et $i_2 = 23,4^\circ$

1.5 $i_3 = 90 - i_2 = 66,6^\circ$ proche de 67°

1.6 En B le rayon passe dans la gaine, s'il existe une valeur de l'angle réfracté dans cette dernière :

$$n_c \cdot \sin(i_3) = n_g \cdot \sin(i_4) \text{ soit } \sin(i_4) = (n_c \cdot \sin(i_3)) / n_g = 0,985$$

$-1 < \sin(i_4) < 1$ donc le rayon réfracté existe ($i_4 = 80^\circ$)

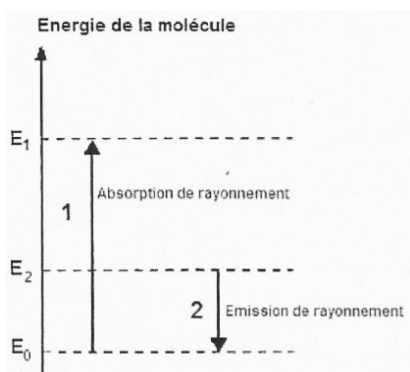
1.7 $n_c \cdot \sin(i_L) = n_g$ soit $\sin(i_L) = n_g / n_c$. On a $\sin i_L = 0,932$ soit $i_L = 68,8^\circ$, ce qui est bien dans la fourchette indiquée.

1.8 $\sin(i_{\max}) = \sqrt{(n_c^2 - n_g^2)}$ soit $\sin(i_{\max}) = 0,587$ et $i_{\max} = 35,9^\circ$.

1.9 Ce résultat est cohérent puisque dans les questions 1.4 à 1.6 l'angle d'incidence est de 40° et n'est pas contenu dans le cône d'acceptance. Le rayon avec cette incidence ne peut donc pas se propager sur toute la longueur de la fibre. On a bien $i_1 > i_{\max}$

PARTIE 2 : exploitation du phénomène de fluorescence

2.1 ; 2.2 et 2.3



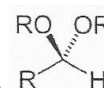
2.4 D'après le texte introductif $R = \frac{I_{360}}{I_{440}} = 1,35 / 0,4 = 3,4$

R dépasse largement 2, on en déduit que le tissu est tumoral.

Exercice II : Dépistage du cancer du col de l'utérus per le test IVL (11,5 points)

PARTIE 1 : Diode et glycogène

1.1. Ce sont les fonctions aldéhyde et alcool qui réagissent au cours d'une hémiacétalisation. Cette réaction produit également de l'eau.

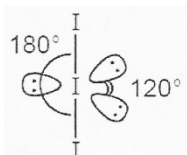


1.2. L'hémiacétal est un intermédiaire dans la réaction d'acétalisation qui conduit à l'acétal de formule $\text{R}(\text{OR})_2$. L'atome 1, hémiacétalique peut ainsi réagir avec un nouveau groupe hydroxyle porté soit par l'atome 4, soit par l'atome 6 d'une autre molécule pour former un acétal.

1.3 D'après les valeurs des potentiels standards on déduit que l'oxydant le plus fort, I_2 , réagit avec le réducteur le plus fort I^- (du couple $\text{I}_3^- / \text{I}^-$). C'est l'application de « la règle du gamma ».

1.4 L'ion est du type AX_2E_3 , A, X et E représentant respectivement l'atome central, le doublet liant et le doublet libre. Les doublets liants sont dirigés vers les sommets d'une bipyramide trigonale, les trois doublets libres occupant les positions horizontales.

Les trois atomes sont alignés, ce qui justifie la phrase proposée.



PARTIE 2 : dosage d'une solution de Lugol® en vue d'un test IVL

A- Première méthode : titrage colorimétrique

2.1 Les demi-équations des couples mis en jeu sont $\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 2 \text{e}^- = 2 \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ et $\text{I}_3^- + 2 \text{e}^- = 3 \text{I}^-$ et conduisent à la réaction $\text{I}_3^- + 2 \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow 3 \text{I}^- + \text{S}_4\text{O}_6^{2-}$

2.2 Sachant qu'à l'équivalence les deux réactifs ont été apportés en proportion stœchiométrique et compte tenu de l'équation bilan on a $n(\text{I}_3^-) = n(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) / 2$ nous pouvons établir la relation $C_{\text{Lugol}} = C V_E / 2V_0$.

On en déduit que $C_{\text{Lugol}} = 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$

B- Deuxième méthode : dosage spectrophotométrique

2.3 En appliquant la loi de Beer-Lambert, on calcul que le coefficient directeur de la droite expérimentale est :

$$\epsilon \cdot l = 0,196 / 6,0 \cdot 10^{-4} = 3,3 \cdot 10^2 \text{ SI.}$$

On calcule la concentration en ion triiodure dans la solution diluée de Lugol

$C_{\text{Lugol}} = 0,084 / 3,3 \cdot 10^2 = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. On en déduit la concentration en ions triiodure dans la solution de Lugol $C_L = C_1 \times 100 = 2,5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ qui est la valeur annoncée.

2.4 D'après la fiche technique, au-delà de $A_{\text{max}} = 3,0$ le spectrophotomètre n'effectue plus de mesure. Cette valeur correspond à une concentration maximale $C_{\text{max}} = 3,0 / 3,3 \cdot 10^2 = 9,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. La concentration de la solution de Lugol est largement supérieure à la valeur de C_{max} ce qui rendait impossible la lecture de l'absorbance de la solution par le spectrophotomètre utilisé ici.

C- Analyse des résultats expérimentaux

2.5 Les ions iodure étant en excès dans le Lugol et la réaction de formation des ions triiodure étant totale, la concentration en ions triiodure représente la concentration hypothétique en diiode ce qui conduit à une concentration massique en diiode $C_m = C_L \cdot M_{I_2} = 2,5 \cdot 10^{-2} \times 253,8 = 6,3 \text{ g.L}^{-1}$

Donc pour 1L on obtient une masse de diiode, $m_{I_2} = 6,3 \text{ g}$. La solution de 1L a une masse de 1000 g ce qui donne un pourcentage en masse de 0,63%.

La solution est trop peu concentrée par rapport au pourcentage en diiode attendu de 1% pour être utilisée dans un test IVL.

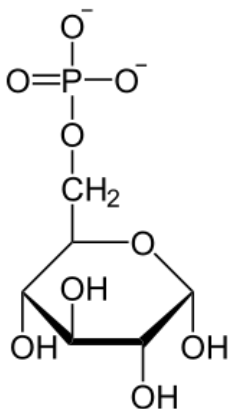
E41 Biochimie

2015 corrigé

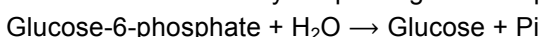
1. La glucose-6-phosphatase, une enzyme membranaire. (10,5 points)

1.1. Réaction catalysée par la glucose-6 phosphatase

1.1.1. Schéma de l' α -D-glucopyranose-6-phosphate selon la représentation de Haworth



1.1.2. Réaction catalysée par la glucose-6-phosphatase



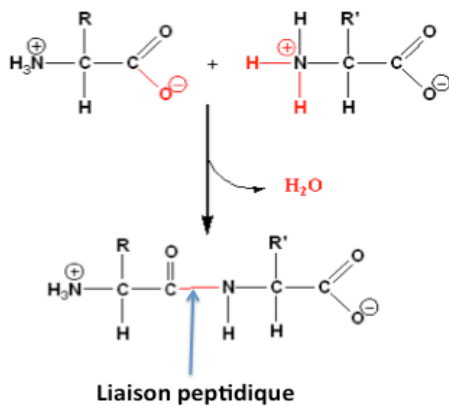
1.2. Localisation cellulaire de la glucose-6 phosphatase

1.2.1. Liaisons assurant le maintien de la structure d'une hélice alpha : liaisons hydrogène ($C = O \cdots H - N$)

1.2.2. Propriété commune aux acides aminés formant une hélice transmembranaire : caractère apolaire de leur chaîne latérale car ils sont situés en milieu hydrophobe (double couche lipidique).

1.2.3. Acides aminés susceptibles d'être rencontrés dans ces domaines transmembranaires : glycine, alanine, valine, méthionine, leucine, isoleucine, phénylalanine, tryptophane

1.2.4. Écriture de la réaction de formation d'un dipeptide (formules semi-développées exigées).



1.3. Entrée du glucose dans les hépatocytes

1.3.1. Caractéristiques d'un transport membranaire par diffusion facilitée : mécanisme de diffusion dans le sens du gradient de concentration (électrochimique) à travers une membrane biologique qui est assuré par des protéines membranaires (changeant de conformation), sans consommation d'énergie.

1.3.2. Interventions des transporteurs GLUT 1 et GLUT 2 selon les conditions physiologiques.

La valeur de $1/K_m$ de chaque enzyme traduit son affinité pour le substrat : plus K_m est élevée moins l'affinité de l'enzyme pour le substrat est grande. Ici $K_m_{GLUT\ 2}$ est plus grande que $K_m_{GLUT\ 1}$ donc c'est GLUT 1 qui a l'affinité la plus grande pour le glucose. V_{max} est plus élevée pour GLUT 1 que pour GLUT 2 (document 3) : donc GLUT 1 a une activité plus grande que GLUT 2 (mais GLUT 2 est plus abondante dans la membrane des hépatocytes). Après un repas, la glycémie augmente ($20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) dans la veine porte apportant au foie le glucose absorbé ; la vitesse de diffusion du glucose augmente en particulier par l'intermédiaire de GLUT 1 qui est quasi-saturée : la pénétration du glucose dans les hépatocytes est accélérée.

2. La glucose-6-phosphatase et le métabolisme énergétique (7 points)

2.1. Glucose-6-phosphate ou carrefour métabolique

Voies métaboliques numérotées de 1 à 5 :

Voie 1 : glycogénolyse

Voie 2 : glycolyse

Voie 3 : cycle de Krebs

Voie 4 : néoglucogenèse

Voie 5 : glycogénogenèse

2.2. Néoglucogenèse

2.2.1. Localisation tissulaire de la néoglucogenèse : tissu hépatique (hépatocytes).

2.2.2. Substrats de la néoglucogenèse : acide lactique, acides aminés glucoformateurs (alanine...), glycérol

2.2.2. Intérêt de cette voie dans le métabolisme des glucides : la néoglucogenèse produit du glucose à partir de substrats non glucidiques ; elle permet de palier à une hypoglycémie (assurant en particulier le maintien des apports en glucose pour les tissus glucodépendants (cerveau, hématies) pendant les périodes de jeûne).

2.3. Métabolisme du glycogène

2.3.1. Structure chimique du glycogène : polyside homogène polymère du glucose ; il a une structure ramifiée. Le glycogène est constitué d'une chaîne principale : résidus glucose unis par des liaisons α 1- 4 et de branchements : résidus glucose unis par des liaisons α 1- 6

2.3.2.

Enzyme clé de la biosynthèse du glycogène : glycogène synthétase (synthase) et celle de la dégradation du glycogène.

Enzyme clé de la dégradation du glycogène : glycogène phosphorylase

2.3.3. Mécanisme de régulation qui permet de coordonner le fonctionnement de ces deux enzymes :

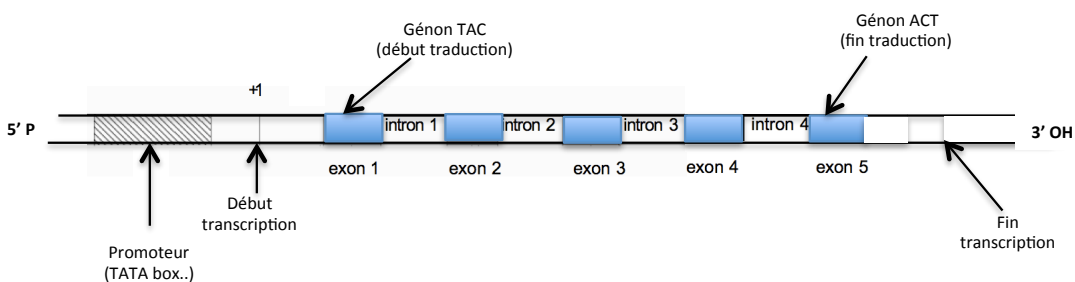
Ce sont des enzymes qui sont activées par phosphorylation/déphosphorylation : quand l'une est activée l'autre est inactivée : la glycogène phosphorylase est active quand elle est phosphorylée (et inactive quand elle ne l'est pas) alors que la glycogène synthétase est inactive quand elle est phosphorylée (et active quand elle ne l'est pas).

3. Un déficit en glucose-6-phosphatase ou maladie de Von Glerke (8,5 points)

La maladie de Von Gierke est une glycogénose par déficit en glucose-6-phosphatase. C'est une maladie génétique transmise selon le mode autosomique récessif. Elle est due à des mutations du gène codant pour la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase.

3.1. Le gène de la sous-unité catalytique de la glucose-6-phosphatase

3.1.1. Schéma légendé de la structure d'un gène eucaryote.



3.1.2. Étapes de la maturation post-transcriptionnelle de l'ARN synthétisé :

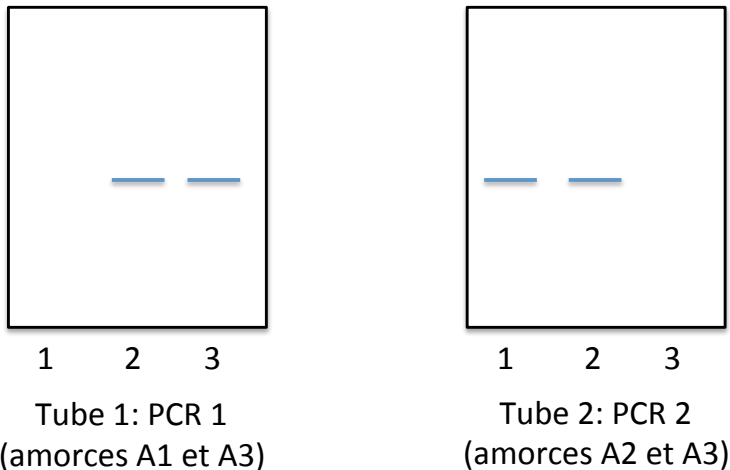
- excision/épissage avec élimination des introns,
- addition d'une « coiffe » méthylée en 5',
- polyadénylation en 3' : « queue » polyA.

3.2. Le diagnostic moléculaire d'une mutation identifiée sur l'exon II

3.2.1. Rôles des amorces dans une réaction de PCR : les amorces servent à délimiter (= borner) sur chaque brin la séquence d'ADN à amplifier et elles fournissent chacune une extrémité 3'OH libre accessible à l'ADN polymérase (ex Taq pol) ce qui permettra l'addition des désoxyribonucléotides. Les amorces garantissent la spécificité de l'amplification.

3.2.2. Schéma du résultat obtenu sur gel d'agarose après électrophorèse. La mutation étant une substitution, les

séquences amplifiées ont la même longueur que l'allèle soit normal ou muté : les amplimères obtenus après PCR ont la même taille.



Dans le tube 1 seules sont amplifiées les séquences correspondant à l'allèle normal : entre l'amorce « sens » A1 complémentaire de l'allèle normal et l'amorce « antisens » commune aux 2 allèles : on obtient des amplimères (amplicons) uniquement pour le patient 2 hétérozygote et le patient 3 homozygote non muté.

Dans le tube 2 seuls sont amplifiées les séquences correspondant à l'allèle muté: entre l'amorce « sens » A2 complémentaire de l'allèle muté et l'amorce « antisens » commune aux 2 allèles : on obtient des amplimères (amplicons) uniquement pour le patient 2 hétérozygote et le patient 1 homozygote pour la mutation.

3.3. Les conséquences sur l'activité de la glucose-6-phosphatase

3.3.1. Définition du site actif d'une enzyme : ensemble des acides aminés rapprochés dans l'espace (structure tridimensionnelle de l'enzyme) permettant la fixation du (des) substrat(s) et la transformation du (des) substrat(s) : la catalyse.

3.3.2. Explication de la perte de l'activité catalytique de la glucose-6-phosphatase mutée : le résidu arginine en position 83 : Arg-83 qui portait une charge + ($-N^+H_2$) est remplacé par un résidu cystéine (-SH) : Cys non chargé ; la liaison ionique entre le groupement phosphate chargé - et le site actif ne peut plus se créer, d'où la perte d'activité catalytique de l'enzyme.

4. Conséquences métaboliques de la maladie de Von Gierke (14 points)

4.1. Conséquences métaboliques dans la cellule hépatique

Conséquences d'une absence partielle ou totale de glucose-6-phosphatase sur le métabolisme glucidique et sur le métabolisme lipidique : le glucose-6-phosphate n'est pas (ou peu) converti en glucose. Le glucose-6-phosphate excédentaire est alors transformé selon les voies métaboliques du document 7 ce qui conduit à une accumulation de glycogène dans les hépatocytes (glycogénogenèse), à une activation de la glycolyse entraînant la formation de lactate, à une hyperlipidémie par suite de la surproduction de triglycérides et de cholestérol, à la production accrue de corps cétoniques.

4.2. Conséquences métaboliques dans la cellule hépatique

4.2.1. Origine et nature biochimique du glucagon : le glucagon est une hormone polypeptidique sécrétée par le pancréas endocrine (cellules α des îlots de Langerhans)

4.2.2. Analyse des courbes du document 8 : chez un patient normal (sujet sain), la perfusion de glucagon provoque une hyperglycémie qui atteint presque 12 mmol.L^{-1} et se maintient durant toute la perfusion. L'injection de glucagon est sans effet sur le sujet malade (sa glycémie diminue même légèrement lors de la perfusion).
Conclusion : le glucagon est une hormone hyperglycémisante.

4.2.3. Le récepteur du glucagon est un récepteur membranaire car l'hormone est de nature peptidique et donc hydrophile : elle ne peut pas traverser la double couche lipidique hydrophobe de la membrane plasmique.

4.2.4. Déséquilibre acido-basique lors de la maladie de Von Gierke : l'augmentation du lactate plasmatique provoque une acidose (\searrow pH) métabolique. La première compensation (immédiate) est pulmonaire : hyperventilation qui permet d'augmenter le pH par déplacement de l'équilibre $\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ dans le sens (1) par suite de l'élimination accrue du CO_2 par voie pulmonaire. Une compensation rénale, plus lente à se mettre en place, permettra d'éliminer un excès de protons par voie urinaire et d'augmenter la réabsorption des ions hydrogénocarbonates HCO_3^- .

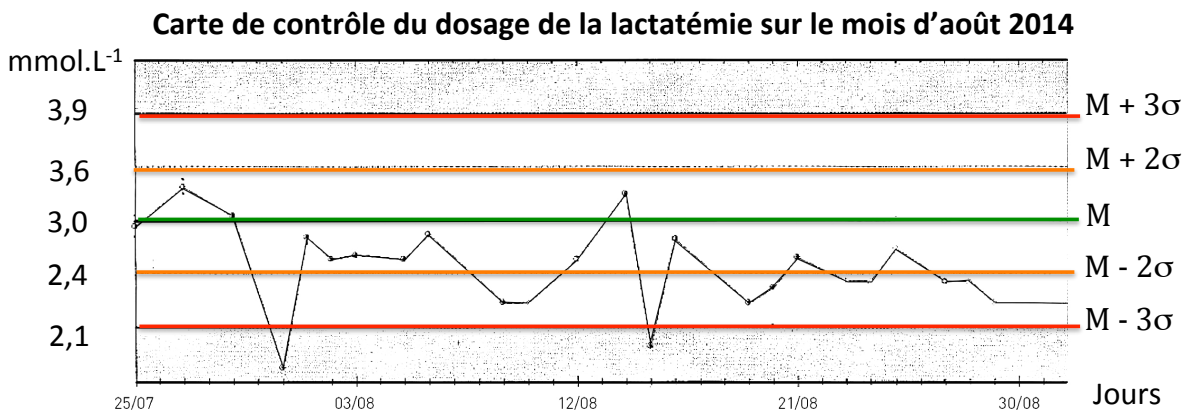
4.2.5. Dosage de l'acide lactique : composition qualitative de la solution de travail utilisée lors de la réalisation du test (réactif 3 repris avec le réactif 2) : elle est déduite du principe du test (document 9) :

- lactate oxydase (en concentration non limitante : « en excès »)
- peroxydase (en concentration non limitante : « en excès »)
- tampon
- amino-4-antipyrine
- 4-chlorophénol

4.2.6. Méthode de dosage utilisée : méthode enzymatique de dosage de substrat (lactate) en point final ; la durée de la réaction doit être suffisante (5 minutes à $20\text{-}25^\circ\text{C}$) pour que tout le substrat soit transformé (la mesure d'absorbance peut-être effectuée jusqu'à une heure après l'incubation, d'après le document 9).

4.2.7. L'échantillon de sang doit être centrifugé dans les meilleurs délais et le plasma séparé ; ceci permet d'éliminer les cellules sanguines (hématies..) contenant les enzymes de la glycolyse qui transforment le glucose en pyruvate puis en lactate: cette précaution empêche une augmentation in vitro de la lactatémie.

4.2.8. Légendes du document 10



E42 Microbiologie**2015 corrigé****1. Risques infectieux pour les voyageurs et recommandations sanitaires. (40 points)****1.1. Les infections invasives à méningocoques (*Neisseria meningitidis*)**

1.1.1. Deux symptômes : céphalées, fièvre, vomissements.

Etiologie autre que bactérienne : méningite virale (Enterovirus), méningite fongique (*Cryptococcus neoformans*)

1.1.2. Pastorex meningitidis : test d'agglutination passive inversée : billes de latex sensibilisées par des anticorps.

1.1.3.

R2 et R9: contrôles négatif : vérification de la spécificité de la réaction (on vérifie que les Ag de l'échantillon ne réagissent pas avec des Ac non spécifiques de souris ou de lapin (cf : origine des Ac des billes sensibilisées des autres réactifs) / Résultat attendu : absence d'agglutination avec l'échantillon testé.

R10 : contrôle positif : vérification de la réactivité des billes de latex sensibilisées par des Ac spécifiques des différentes Ag recherchés / Résultat attendu : agglutination avec l'extrait antigénique polyvalent.

1.1.4.

Prélèvement du LCR : ponction lombaire (entre les vertèbres L4 et L5 ou L5 et Sacrum)

1.1.5.

Caractéristique du milieu : Milieu riche, type gélose chocolat + PVX du fait de l'exigence de *Neisseria meningitidis* .

Condition d'incubation : 24 heures à 37°C, en atmosphère enrichie en CO₂.

1.1.6.

Microscopie : Coques Gram négatif, diplocoques (+ présence d'une capsule (visible au Gram souvent)).

Test rapide d'orientation : Oxydase positive.

1.1.7.

Principe de lecture des cupules GLU ou MAL : Zymogramme. Repérage de la fermentation d'un ose, par visualisation de l'acidification (Rouge de phénol ou bleu de bromothymol).

1.1.8.

Condition à respecter : lecture avant ajout de réactif (jaune ou incolore : PAL) puis après ajout de ZYM B (jaune ou orange) ; 2 substrats sont présents dans le microtube pour mettre en évidence 2 réactions.

1.1.9.

Lecture du test PEN : recherche de pénicillinase pour mettre en évidence une éventuelle résistance aux pénicillines, la pénicilline G pouvant être utilisée en antibiothérapie.

Conséquence sur un traitement : les bactéries seront résistantes aux bétalactamines (bannir ces ATB de l'antibiothérapie)

1.1.10.

Composition chimique de la capsule : polyosidique (polysaccharidique)

1.1.11.

Rôle de la capsule dans la virulence des méningocoques: Évitement de la phagocytose + adhésion

1.2. La tuberculose

1.2.1. Deux symptômes : symptômes divers. Surtout : troubles respiratoires : toux persistante, insuffisance respiratoire, (granulome, caverne). Fièvre vespérale (38-38,5°C) durable, amaigrissement, asthénie...

1.2.2. Principale espèce : *Mycobacterium tuberculosis* (les autres : *Africanum*, *bovis* sont rares)

Remarque : nouvelle nomenclature : *Mycobacterium tuberculosis* pathovar *hominis*.

Caractéristiques morphologiques et tinctoriales : bacille, non capsulé, non sporulé (apparaît gram-), apparaît acido-alcool-résistante aux colorations des BAAR ; mise en évidence par la technique de Ziehl – Neelsen ou à l'auramine.

1.2.3.

Avantages et inconvénients des différents prélèvements :

Prélèvement	Principe	Avantage	Inconvénient
Crachat = expectorations	<i>Méthode la plus utilisée qui consiste en :</i> - un lavage de la bouche avec désinfectant dilué - "vrai" crachat venant des profondeurs	Non traumatisant Rapide	Contamination importante (par la flore commensale des voies hautes)
Aspiration bronchique	<i>Aspiration bronchique à l'aide d'un bronchoscope soit :</i> - une brosse fixée au bout du bronchoscope : le <i>BBP</i> : Brossage Bronchique Protégé - une instillation de sérum physiologique : le <i>LBA</i> : Lavage broncho alvéolaire	- Pas de contamination par la flore oropharyngée - Recueil d'une grande quantité de sécrétions	Technique assez traumatisante (invasive)
Ponction trans-trachéale	<i>Une aiguille munie d'un cathéter traverse la trachée artère entre 2 cartilages. Le cathéter permet d'atteindre les bronches et les sécrétions sont aspirées à l'aide d'une seringue (réservé aux cas graves de pneumopathie).</i>	Pas de contamination	Technique très invasive et traumatisante

1.2.4. Dénaturation thermique : séparation, sous l'action de la chaleur (95 – 100°C) des 2 brins des molécules d'ADN par rupture des liaisons faibles (hydrogènes) entre les bases azotées des nucléotides complémentaires des 2 brins.

1.2.5. Sonde : oligonucléotide de séquence complémentaire (= spécifique) de la séquence d'ADN étudiée. L'oligonucléotide est marqué (conjugué): par exemple par un fluorochrome.

1.2.5. Culture des mycobactéries :

- Utilisation de milieux spécifiques adaptés à la culture des mycobactéries : riches et spécifiques : Löwenstein – Jensen ou Colestos.
- Ensemencement à partir du culot de centrifugation de l'échantillon.
- Incubation en aérobiose à 37°C, en position horizontale pendant 48 H, bouchon légèrement dévissé, puis en position verticale tube fermé.
- Examen des cultures une fois par jour la première semaine (élimination des tubes contaminés et détection des mycobactéries à croissance rapide), puis une fois par semaine pendant 10 semaines.

1.2.7. Tableau présentant les particularités de l'antibiogramme :

	Antibiogramme mycobactéries	Antibiogramme standard (germes classiques)
Milieu	Löwenstein – Jensen (ou Collestos)	Mueller-Hinton
Nombre d'essais	On multiplie les essais, pour compenser la difficulté de faire cultiver ces bactéries	1 (ou 2)
Antibiotiques	Dans le milieu de culture	Ajouté au milieu de culture (ex : disque imprégné)
Inoculum	Riche	Anciennement : juste jointif / La SFM recommande aujourd'hui un inoculum riche
Durée de l'incubation	25-28 jours	18 - 24h
Lecture	Comptage des colonies	Diamètre de zone d'inhibition
Interprétation	Détermination de la proportion (%) de bacilles résistants par rapport aux témoins	Grâce aux valeurs de référence fournies par le CASFM (Détermination de la CMI / comparaison aux CCI et CCS)

1.2.8. Nature et rôle des tubes témoins : milieu Löwenstein – Jensen sans antibiotique. Ces témoins permettent de vérifier la culture de la souche en absence d'antibiotique et de déterminer le pourcentage de bacilles résistants pour chaque antibiotique testé.

Discrimination rapide entre mycobactéries atypiques et mycobactéries tuberculeuses.

1.2.9. Interprétation de résultats :

Les témoins sont corrects : culture en absence d'antibiotique.

Sensibilité au PAS, donc orientation vers une mycobactérie tuberculeuse.

Lecture avec la dilution 10^{-3} (colonies comptables et nombre significatif) :

- absence de culture avec INH donc sensibilité à l'INH ;

- % résistants à RIF, STREP et EMB > 1 % : souche résistante à la rifampicine, la streptomycine et l'éthambutol.

2. Risques infectieux et vaccination en fonction des conditions du séjour (durée, saison) et des facteurs de risque individuels

2.1. La Fièvre typhoïde

2.1.1. Milieu chromogène : Milieu qui permet la croissance des bactéries souhaitées, souvent milieu sélectif possédant une ou plusieurs molécules permettant d'orienter le diagnostic. Ces molécules étant des substrats chromogènes, c'est-à-dire changeant de couleur sous l'action d'une enzyme spécifique d'un micro-organisme (ex : β -glucuronidase)

2.1.2.

Antigène O : Ag pariétal polyosidique (LPS), dans la membrane externe de la paroi des Gram –

Antigène H : Ag flagellaire protéique (flagelline des flagelles).

2.1.3. Technique d'identification et principe : sérogroupage par agglutination active directe.

Agglutination par des anticorps spécifiques d'antigènes (Ag O ou H) de surface des bactéries.

2.1.4. Présenter le test permettant de valider les résultats : Témoins négatif (de non auto-agglutination) : eau physiologique + colonie

2.1.5. Commenter les données : On s'aperçoit d'une **augmentation très marquée** des résistances entre 1997 et 2009, puis une stagnation voir une légère décroissance en 2011 (significatif ?). Résistance acquise.

2.1.6. Préciser le principal mécanisme d'évolution de cette résistance : Résistance acquise. Conjugaison...

2.1.7. Famille de l'amoxicilline : Bétalactamine (aminopenicilline)

Action sur le peptidoglycane en formation (au niveau des PLP : action de transpeptidation, réticulation du peptidoglycane)

2.1.8. Définir CMI : Concentration Minimale Inhibitrice. Concentration minimale en antibiotique inhibant la croissance (visible) des bactéries.

2.1.9. Technique E-test : Sur Mueller-Hinton, technique de l'antibiogramme en milieu solide. Utilisation d'une bande comprenant une concentration croissante d'antibiotique, déposée à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse à partir de la bande dans le milieu, précédemment ensemencé. On lit l'inhibition de la culture au contact de la bande.

2.2. L'hépatite B

2.2.1. Symptômes de l'hépatite B : souvent inapparente ! Troubles digestifs, ictère – jaunisse (insuffisance hépatique), décoloration des selles, fatigue, crise polyurique, ...

Possibilité d'hépatite chronique conduisant à une cirrhose du foie avec risque de carcinome hépatocellulaire.

Transmission par le sang, transmission foeto-maternelle, transmission possible par rapports sexuels (rare).

2.2.2. Description à partir du schéma : Virus à ADN enveloppé à capsidie icosaédrique, enveloppé, porteur d'antigènes HBs en surface et d'antigène HBc et HBe au niveau de la capsidie.

2.2.3. Réactif à utiliser pour l'étalonnage : On utilise la solution d'Ag HBe (S1), que l'on dilue (R1) pour réaliser une gamme d'étalonnage (proportionnalité entre la concentration en Ag HBe et l'intensité de la fluorescence).

2.2.4. Composition des contrôles :

- contrôle positif : solution d'Ag HBe (+ azoture de sodium)

- contrôle négatif : sans Ag HB, diluant (+ azoture de sodium)

2.2.5. Adjuvant : substance qui augmente le pouvoir immunogène de l'antigène vaccinal (Augmentation de la réponse non spécifique, stimulation plus longue...).

2.3. Le paludisme

2.3.1. Genre et espèce responsable d'un cas d'urgence de paludisme : *Plasmodium falciparum*

2.3.2. Contamination de l'homme : piqure par un moustique (anophèle femelle).

Recommandations prophylactiques : moustiquaire, port de vêtements couvrants, lutte contre le moustique (insectifuge), chimioprophylaxie préventive...

2.3.3. Accès palustre : pic de fièvre (quarte ou tierce) + suée, tremblement...

Succession de 3 phases : frisson, fièvre, sueur, (tremblements), selon une fréquence tierce ou quarte (par suite du passage répété du parasite dans le sang).

2.3.3. Observation du frottis coloré au MGG : caractéristique de *P. falciparum* ; taille des hématies parasitées, forme des hématies parasitées, polyparasitisme des GR, présence de granulations, formes spécifiques (schizontes, corps en rosace, trophozoïtes, gamétocytes).

E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2015 corrigé

L'HÉMOPHILIE A

1. Hémostase (14 points)

1.1 Plaquettes, taux de prothrombine et fibrinogène sont normaux – donc voies exogène et "commune" normales. Rapport $TCA_p/TCA_t = 3 > 1,2$ donc voie endogène pathologique. Le patient souffre d'hémophilie A, qui est une carence en facteur VIII, facteur de la voie endogène, ce qui explique l'allongement isolé du TCA.

1.2 Le dosage consiste à réaliser un "TCA" sur un mélange entre un plasma témoin dépourvu de FVIII (qui garantit donc la présence de tous les autres facteurs en quantité suffisante), et le plasma du patient dont on veut doser le FVIII. Le temps obtenu est converti en % d'activité par comparaison à une gamme témoin (*il s'agit donc d'un dosage fonctionnel chronométrique*).

1.3 Le test utilise :

- le plasma de patient, déficient en FVIII,
- l'HEMOLAB Cofac VIII, sérum incomplet qui apporte tous les facteurs de la coagulation sauf celui qu'on cherche à doser dans le sérum du patient (le FVIII ici donc),
- l'HEMOLAB Silimat, réactif de céphaline avec activateur permettant de réaliser le "TCA",
- de Ca^{2+} , réactif déclencheur de la réaction.

1.4 Le taux de 0,96% est inférieur à 1%, ce qui correspond d'après la fiche à une hémophilie A majeure.

1.5 L'enfant reçoit depuis des années du facteur VIII (dit "anti-hémophilique A") exogène et s'est sensibilisé ; comme la sensibilisation est ancienne et répétée, la commutation de classe a eu lieu et les Ig sont d'isotype G ; elles reconnaissent spécifiquement le FVIII thérapeutique.

1.6 Les épitopes du FVIII injecté diffèrent au moins en partie de ceux du FVIII de l'enfant (*par exemple parce que le FVIII de l'enfant est probablement muté*) et ont donc été reconnus comme non-soi.

1.7 L'Anticorps (anticorps ici anti-FVIII) reconnaît le FVIII thérapeutique et le lie ; les phagocytes reconnaissent le complexe immun ainsi formé, le phagocytent, et le digèrent.

1.8 On cherche, en injectant des doses croissantes de FVIII, à induire progressivement la tolérance de l'enfant vis à vis de FVIII exogène, c'est à dire de limiter puis arrêter la production d'anticorps anti FVIII (nda : il est faux d'écrire qu'on cherche par un excès de FVIII à "déborder" les ACC existants).

2. Hémarthroses (19,5 points)

2.1 Un examen cytologique permet de détecter et d'étudier des cellules isolées de leur contexte tissulaire ; ici il s'agit de rechercher dans un liquide de ponction (à priori acellulaire, ou pauci-cellulaire) la présence et la nature d'éventuelles cellules.

2.2 Trois étapes :

- fixation du frottis par le méthanol du May-Grünwald
- coloration par l'éosine et le bleu de méthylène du May-Grünwald après ajout de l'eau neutre
- surcoloration par l'éosine, et coloration par les azurs de méthylène du Giemsa dilué en eau neutre.

L'éosine (acide) colore en rouge-orange les éléments basiques (comme l'hémoglobine).

Le bleu de méthylène (basique) colore en bleu les éléments acides (comme l'ADN).

Les azurs de méthylène (basique) colorent en rouge les éléments azurophiles (certaines protéines).

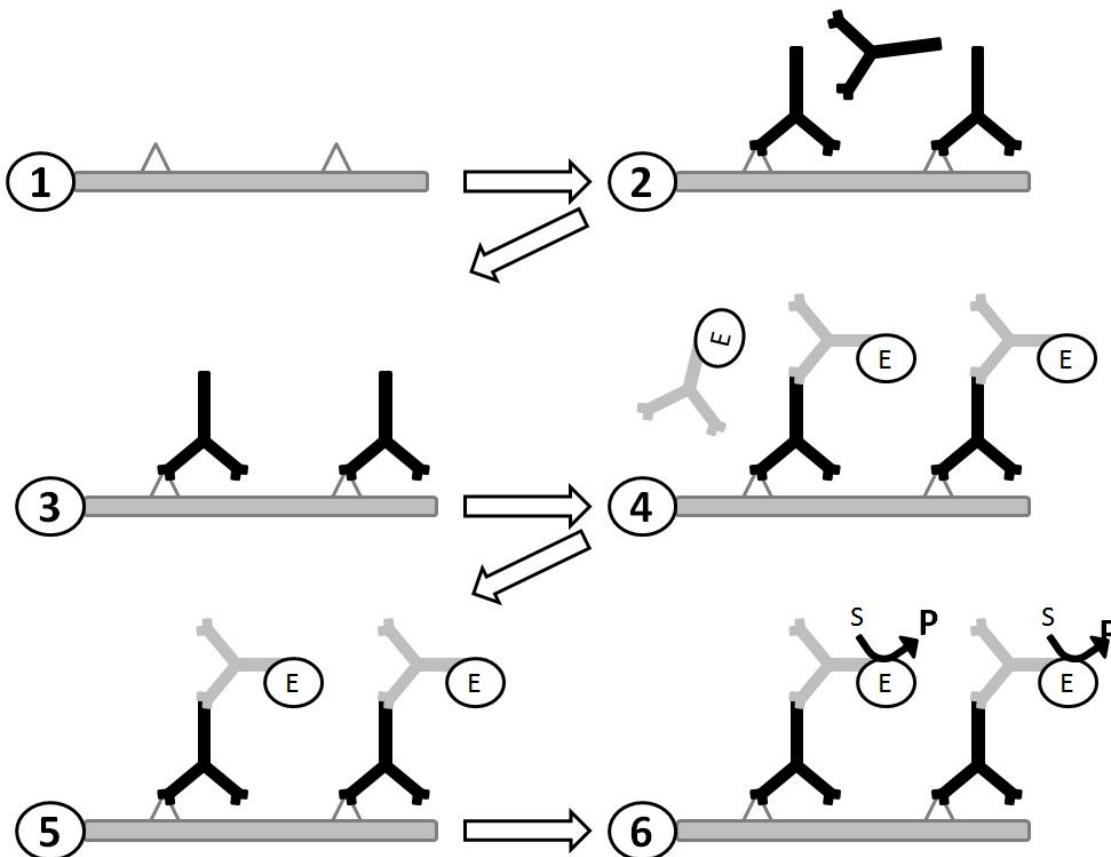
2.3 Ici (hémarthrose du genou) on cherche à détecter et quantifier les cellules sanguines, donc le MGG est une coloration adaptée.

2.4 La fixation permet d'immobiliser les cellules dans un état aussi proche que possible de leur état in-vivo ; il faut (*nda : deux réponses attendues parmi*) : immersion rapide, dans un grand volume, composition du fixateur adaptée, temps d'immersion suffisant, etc.

2.5 Un antigène est une entité pouvant être reconnue par un anticorps – par extension une entité pouvant être reconnue par un élément de la réponse immunitaire.

2.6 L'épitope de l'Ag est reconnu par le paratope de l'Ac. Cette reconnaissance consiste en la réalisation de nombreuses interactions non covalentes (liaisons polaires : H, ioniques... ou au contraire apolaires type van der Waals).

2.7



1- lame d'histologie présentant les antigènes ;

2- dépôt de l'anticorps spécifique et incubation ;

3- lavage et élimination des anticorps non fixés ;

4- dépôt de l'anticorps secondaire conjugué enzymatique et incubation ;

5- lavage et élimination des anticorps non fixés ;

6- révélation du substrat chromogène spécifique de l'enzyme – pas de lavage final – arrêt de la réaction au réactif stop possible, et lavage du substrat en excès – montage et observation de la lame au microscope.

2.8 Les 4 étapes légendées sont :

- phagocytose (endocytose, internalisation...)
- formation du phagosome
- fusion avec les lysosomes et formation du phagolysosome, puis digestion
- exocytose (excrétion, libération) des produits de digestion.

2.9 Les chaînes de globines sont hydrolysées et libèrent des acides aminés, réutilisés pour d'autres synthèses protéiques ; l'hème est libéré et son fer est relâché dans la circulation pour être récupéré par la transferrine ;

*** : NDLR : *la protoporphyrine (résidu de l'hème) est dégradée (bilirubine) et non recyclée (donc hors sujet ici).*

2.10 L'hémosidérine permet le stockage intracellulaire du fer (sous une forme peu mobilisable car peu soluble). Ici, on pourrait imaginer que l'hémarthrose entraînant une grande libération d'hématies dans la capsule articulaire, la phagocytose des hématies par les macrophages est continue et massive, ce qui aboutit à la surcharge décrite.

3. Surveillance de l'état immunitaire (6,5 points)

3.1 On recherche à la fois des antigènes viraux, et des anticorps anti-VIH ***

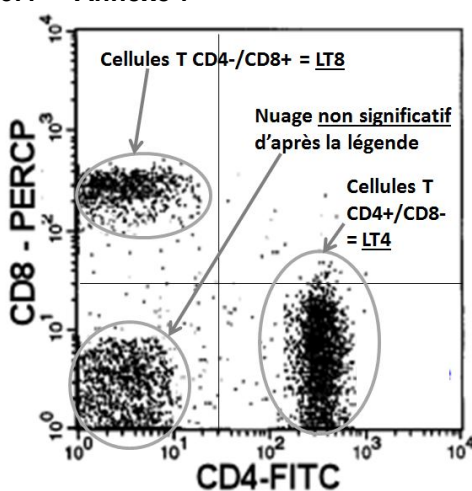
Les méthodes sont variables : immunochromatographie (notamment dans les TROD), ELISA, éventuellement blot (blotting) sur membrane – voir question suivante.

*** : NDLR : *il n'est pas absurde de penser à l'ARN, mais cette recherche ne constitue pas une méthode de dépistage, plutôt une quantification de suivi des malades déjà identifiés.*

3.2 La bandelette porte des antigènes et permet donc de détecter des anticorps dans le sérum du patient. La position sur la bandelette des anticorps détectés indique leur spécificité (et permet donc de typer l'infection : VIH1, VIH2).

3.3 $50\% \text{ de } 6 \cdot 10^9/\text{L} = 0,5 \times 6 \cdot 10^9/\text{L} = 3 \cdot 10^9/\text{L}$, dans les valeurs de référence indiquées donc physiologique.

3.4 Annexe 7



CATALOGUE DE L'UPBM :



<http://www.upbm.org>

Vous trouverez sur notre site le catalogue avec possibilité d'édition des bons de commande.

Dès que possible, des corrigés complémentaires ou des erratums seront en ligne. Encore faut-il que les erreurs soient signalées !

Les annales épuisées et des sujets d'ÉPS sont aussi disponibles en téléchargement.

ISBN 978-2-910069-75-9

