

# Brevet de technicien supérieur

## Analyses de biologie médicale

**Sujets et corrigés  
Sessions 2018 - 2019**

**UPBM-Édition  
Publications de l'UPBM**

Les Annales du BTS Analyses de biologie médicale et ses corrigés ont été réalisés par Christine GAUFICHON CHARRIER (Niort) et Christel CHATELAIS (Toulouse), Assistées de Sandrine ALEXANDRE (Niort), Kévin CARAYON (Toulouse), Stéphane CLISSON (Niort), Émilie PARENT (Rezé), Jérôme TROUCHE (Toulouse), Philippe VOLLEAU (Niort).

M<sup>mes</sup> Françoise DUMOULIN et Caroline PLATROZ (Lyon) en assurent la diffusion.

Nous tenons à remercier Mr Philippe GARNIER, IA-IPR de l'académie de Bordeaux pour nous avoir transmis les sujets dans un format numérique facilitant la réalisation de ces annales.

**Rappelons que l'ensemble du travail réalisé est bénévole.**

*Photographies de couverture :*

Auteur de la photo de première de couverture (api) : Cédric CIVEL

Auteur de la photo de quatrième de couverture (dépôt de MaldiTof) : Antoine GAUDIN

# **ANNALES DU BTS**

## **ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE**

### **(ABM) SESSIONS 2018-2019**

Nous avons rassemblé dans ces annales les sujets de deux sessions 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 :

[christine.gaufichon-charrier@ac-poitiers.fr](mailto:christine.gaufichon-charrier@ac-poitiers.fr)

[christel.chatelais@ac-toulouse.fr](mailto:christel.chatelais@ac-toulouse.fr)

# Sommaire

<b>Définition de la nature des épreuves .....</b>	<b>5</b>	
<b>SESSION 2018.....</b>	<b>11</b>	
<b>E2 Mathématiques</b>	<b>2018.....</b>	<b>11</b>
<b>E3 Sciences Physiques et Chimiques</b>	<b>2018.....</b>	<b>17</b>
<b>E41 Biochimie</b>	<b>2018.....</b>	<b>24</b>
<b>E42 Microbiologie</b>	<b>2018 .....</b>	<b>31</b>
<b>E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie</b>	<b>2018 .....</b>	<b>41</b>
<b>SESSION 2019.....</b>	<b>53</b>	
<b>E2 Mathématiques</b>	<b>2019.....</b>	<b>53</b>
<b>E3 Sciences physiques et chimiques</b>	<b>2019 .....</b>	<b>59</b>
<b>E41 Biochimie</b>	<b>2019.....</b>	<b>66</b>
<b>E42 Microbiologie</b>	<b>2019 .....</b>	<b>69</b>
<b>E42 Microbiologie</b>	<b>2019 .....</b>	<b>78</b>
<b>E43 Hématologie, Anatomopathologie et Immunologie</b>	<b>2019 .....</b>	<b>88</b>
<b>E5 Analyses de Biologie Médicale .....</b>	<b>96</b>	
 <b>ÉLÉMENTS DE CORRIGÉS .....</b>	<b>97</b>	
<b>SESSION 2018.....</b>	<b>98</b>	
<b>E2 Mathématiques</b>	<b>2018 corrigé.....</b>	<b>98</b>
<b>E3 Sciences physiques et chimiques</b>	<b>2018 corrigé .....</b>	<b>101</b>
<b>E41 Biochimie</b>	<b>2018 corrigé.....</b>	<b>104</b>
<b>E42 Microbiologie</b>	<b>2018 corrigé.....</b>	<b>107</b>
<b>E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie</b>	<b>2018 corrigé .....</b>	<b>113</b>
<b>SESSION 2019.....</b>	<b>117</b>	
<b>E2 Mathématiques</b>	<b>2019 corrigé .....</b>	<b>117</b>
<b>E3 Sciences physiques et chimiques</b>	<b>2019 corrigé .....</b>	<b>120</b>
<b>E41 Biochimie</b>	<b>2019 corrigé .....</b>	<b>123</b>
<b>E42 Microbiologie</b>	<b>2019 corrigé.....</b>	<b>127</b>
<b>E43 Hématologie Anatomopathologie et Immunologie</b>	<b>2019 corrigé.....</b>	<b>131</b>

# 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 au moins 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 et décide éventuellement d'un rattrapage en fonction du livret scolaire. Les candidats ayant moins de 10/20 ont leur moyenne augmentée pour aboutir à ce résultat et sont 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 œuvre une stratégie :
- \* mettre en œuvre 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 défini 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 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 42 : 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 réctorale 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 réctorale 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 intégré 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.

##### Formes 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 réctorale 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.

### Formes 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 réctorale 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 programme 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.

### Formes 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 3h 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 2 porte sur le programme des activités technologiques des modules 1 et 4 d'hématologie.

La seconde situation d'évaluation affectée du coefficient 3 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 réctorale 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 **rappo<sup>rt écrit</sup>**.

L'étudiant doit dans un premier temps présenter avec concision ses différents lieux de stage en dégageant 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.

### Formes de l'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 réctorale 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.*

# SESSION 2018

## E2 Mathématiques

2018

Durée : 2 heures Coefficient 1

**Matériel autorisé :**

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

**Document :** formulaire en fin de sujet

### Exercice 1 : (9 points)

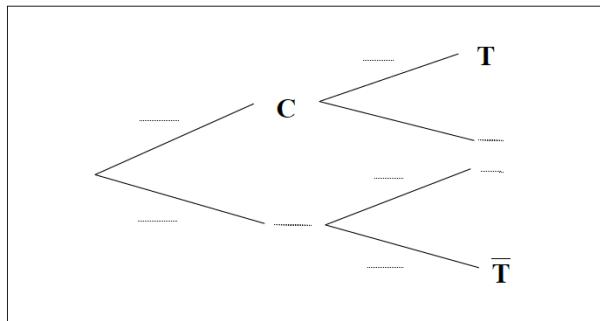
La scanographie est un procédé radiologique, réalisé à l'aide d'un scanner, qui permet de reconstruire informatiquement l'image d'une coupe du corps humain à partir d'une série d'analyses. Elle permet notamment de détecter des tumeurs. Dans cet exercice, on s'intéresse aux scanographies réalisées dans un hôpital.

#### PARTIE A

Une étude effectuée dans cet hôpital montre que :

- 60 % des scanographies effectuées concernent le cerveau et, parmi celles-ci, 20 % détectent une tumeur;
- 90 % des autres scanographies effectuées ne détectent pas de tumeur au patient.

Parmi les patients de l'hôpital qui ont besoin d'une scanographie, on en choisit un au hasard. On note  $C$  l'événement « le patient fait une scanographie du cerveau » et  $T$  l'événement « le patient a une tumeur ».



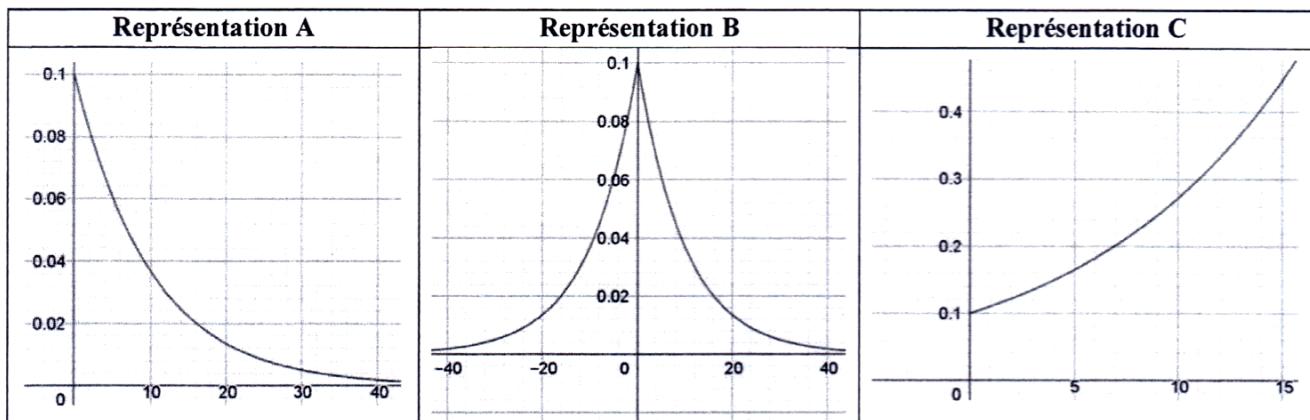
1. Recopier et compléter l'arbre pondéré ci-contre :

2. Montrer que la probabilité que le patient a une tumeur est égale à 0,16.
3. La scanographie permet de détecter une tumeur au patient. Quelle est la probabilité que cette tumeur ait été détectée au cerveau ?
4. Sur un échantillon de 40 patients atteints d'une tumeur au cerveau, un médecin constate que 25 patients ont été guéris après un traitement approprié.
5. Donner une estimation ponctuelle  $f$  de la proportion inconnue  $p$  de patients guéris d'une tumeur au cerveau après un traitement approprié.
6. Estimer maintenant cette proportion  $p$  par un intervalle de confiance au seuil de 95 % (on prendra des valeurs approchées à  $10^{-3}$  près pour les bornes de l'intervalle).

## PARTIE B

On admet que le délai d'attente en jours pour réaliser une scanographie à cet hôpital suit une loi exponentielle de paramètre  $\lambda$  et que le délai moyen est égal à 10 jours.

1. Déterminer la valeur de  $\lambda$ .
2. Parmi les trois représentations graphiques ci-dessous, une seule représentation correspond à la densité de probabilité de cette loi exponentielle. Sans justifier la réponse, indiquer la représentation correspondante.



3. On rappelle que, si  $T$  est une variable aléatoire qui suit la loi exponentielle de paramètre  $\lambda$ , alors pour tout réel  $t$  de  $[0;+\infty[$ , on a:  $P(T \leq t) = 1 - e^{-\lambda t}$ . Déterminer alors la probabilité, arrondie au millième, que le délai d'attente d'un patient pour une scanographie ne dépasse pas 8 jours.

## PARTIE C

Cette partie est un questionnaire à choix multiples. Pour chacune des questions, trois réponses sont proposées, dont une seule est exacte. Le candidat portera sur la copie le numéro de la question suivie de la réponse choisie. On ne demande pas de justification. Aucun point n'est enlevé en l'absence de réponse ou en cas de réponse fausse.

On admet que la probabilité, arrondie au centième, que le délai d'attente d'un patient pour une scanographie ne dépasse pas 8 jours est égale à 0,55.

On construit aléatoirement un échantillon de 200 patients de l'hôpital, qui se voient prescrire une scanographie. On appelle  $X$  la variable aléatoire égale au nombre de ces patients dont le délai d'attente ne dépasse pas 8 jours.

### Question 1 :

La variable aléatoire  $X$  suit :

- A) la loi binomiale de paramètres 200 et 0,55 ;
- B) la loi normale de paramètres 200 et 0,55 ;
- C) la loi exponentielle de paramètres 200 et 0,55.

### Question 2 :

La probabilité que le quart de ces 200 patients ait un délai d'attente qui ne dépasse pas 8 jours est égale à :

- A)  $P(X \leq 8)$  ;
- B)  $P\left(X = \frac{1}{4}\right)$  ;
- C)  $P(X=50)$ .

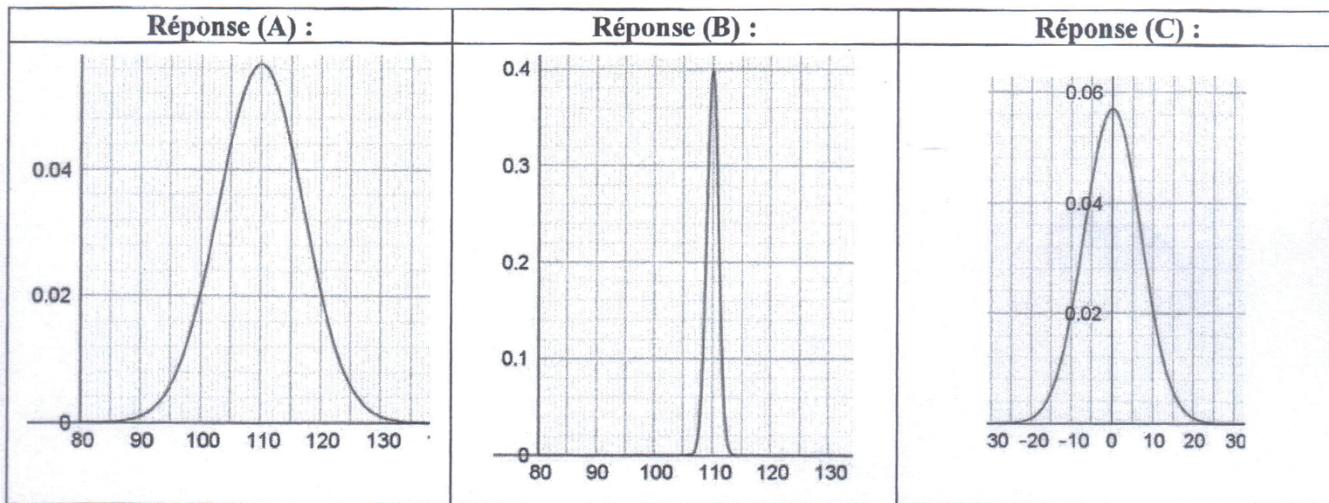
Question 3 :

La probabilité que moins de la moitié des 200 patients ait un délai d'attente qui ne dépasse pas 8 jours est égale à  $10^{-3}$  près à :

- A) 0,021 ;      B) 0,068 ;      C) 0,932.

Question 4 :

On admet que la loi suivie par la variable aléatoire  $X$  peut-être approchée par une loi normale. La représentation graphique de cette loi normale est alors :



## Exercice 2 : (11 points)

Lors du processus de fabrication de plats cuisinés en restauration collective, le refroidissement est une phase cruciale pour éviter la croissance de germes. La réglementation impose que le refroidissement rapide des barquettes de plats cuisinés soit opéré de telle manière que leur température ne demeure pas à des valeurs comprises entre +10 °C et + 63 °C pendant plus de 2 heures (arrêté du 8 octobre 2013, dispositions particulières applicables aux établissements de restauration collective).

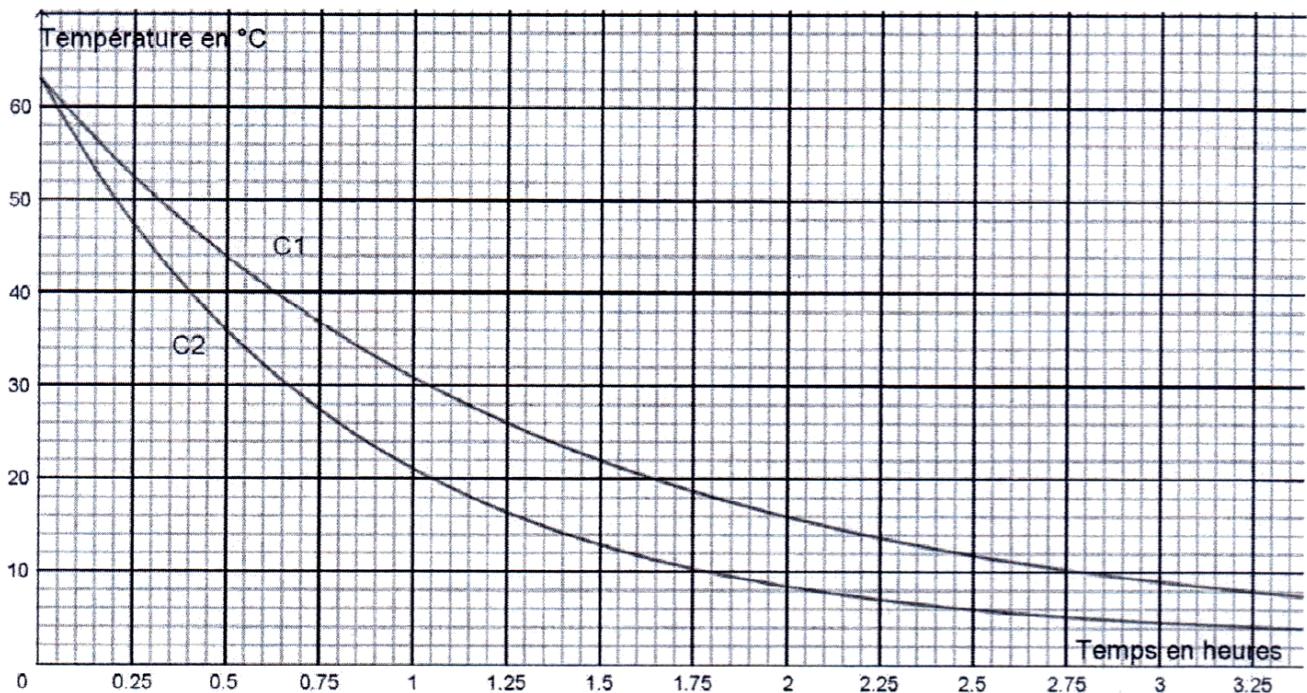
Une entreprise de restauration collective fabrique des barquettes de plats cuisinés, soumises à une attention particulière: lorsqu'elles ont atteint une température de +63 °C, elles sont placées dans une cellule de refroidissement rapide, et cela afin de respecter la réglementation précédente.

### PARTIE A

On procède à deux réglages différents de la cellule de refroidissement rapide (réglage n° 1 et réglage n° 2). Sur le graphique ci-dessous, sont représentées les courbes C1 et C2, qui correspondent respectivement à la température d'une barquette placée dans la cellule en fonction du temps pour le réglage n° 1 et pour le réglage n° 2.

- Indiquer la température de la barquette au bout de 90 minutes dans la cellule de refroidissement rapide avec le réglage n° 1.
- a) Le réglage n° 1 satisfait-il à la réglementation définie ci-dessus ? Justifier.

b) Le réglage n° 2 satisfait-il à la réglementation définie ci-dessus ? On estimera, avec ce réglage, combien de temps la barquette doit rester dans la cellule de refroidissement rapide pour atteindre une température de + 10°C.



3. Un employé en charge du réglage de la cellule de refroidissement rapide affirme que la température de la barquette baisse de 5 % toutes les minutes avec le réglage n° 2. Expliquer pourquoi cette affirmation est en contradiction avec la courbe C2.
4. Dans cette question, on admet que la température de la barquette baisse de 2 % toutes les minutes avec un réglage n° 3. Recopier et compléter les lignes 3, 4 et 5 de l'algorithme ci-dessous afin que ce dernier permette de déterminer au bout de combien de temps la température de la barquette sera inférieure à + 10°C :

1	N ← 0
2	T ← 63
3	Tant que.....
4	Affecter à N la valeur.....
5	Affecter à T la valeur.....
6	Fin tant que

## PARTIE B

Dans toute cette partie, la température de la cellule de refroidissement rapide est réglée à +3 °C (afin que la température de la barquette ne soit jamais inférieure à + 3 °C).

Pour le réglage n° 2, la température de la barquette est modélisée par une fonction  $f$  qui, à tout temps  $t$  en heures, associe la température  $f(t)$  de la barquette en °C.

1. On admet que la fonction  $f$  est solution de l'équation différentielle  $y' = -1,2(y - 3)$  sur  $[0; + \infty[$ .
  - a) Démontrer que cette équation différentielle s'écrit encore sous la forme (E) :

$$y' + 1,2 y = 3,6.$$

- b) Déterminer les solutions de l'équation différentielle  $y' + 1,2y = 0$  sur  $[0 ; + \infty[$ .
- c) Vérifier que la fonction constante  $t \rightarrow 3$  est une solution particulière de l'équation différentielle (E). En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
- d) Expliquer pourquoi  $f(0) = 63$ . Déduire de ce qui précède une expression de  $f(t)$  pour tout réel  $t$  de  $[0 ; + \infty[$ .
- Dans ce qui suit, on admet que, pour tout réel  $t$  de  $[0; + \infty[$ ,  $f(t) = 60.e^{-1,2t} + 3$ .
2. Donner la valeur arrondie à  $10^{-2}$  de  $f(2)$ . Interpréter dans le contexte de l'exercice.
  3. Déterminer la limite de la fonction  $f$  en  $+\infty$ . Interpréter dans le contexte de l'exercice.
  4. Avec un logiciel de calcul formel, on obtient :  $\frac{1}{1,5 - 0} \int_0^{1,5} f(t)dt \approx 30,8$  (à  $10^{-1}$  près). Interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
  5. Pour le réglage n° 1, la température de la barquette est modélisée par une fonction  $g$ , qui, à tout temps  $t$  en heures, associe la température  $g(t)$  de la barquette en °C. On admet que la courbe C1 est la représentation graphique de cette fonction  $g$ .

En s'inspirant de la forme de l'expression de la fonction  $f$  proposer une expression de  $g(t)$  pour tout réel  $t$  de  $[0; + \infty[$ . Expliquer la démarche.

# Formulaire

## Intervalle de confiance d'une proportion

On mesure une fréquence  $f$  d'un caractère d'un échantillon de taille  $n$  et on souhaite estimer la proportion  $p$  inconnue de la population toute entière. L'intervalle de confiance à 95 % de la proportion  $p$  inconnue est l'intervalle centré sur  $f$  :

$$\left[ f - 1,96 \sqrt{\frac{f(1-f)}{n}}; f + 1,96 \sqrt{\frac{f(1-f)}{n}} \right].$$

## Lois de probabilités suivies par la variable aléatoire $X$

Nom de la loi	Paramètre(s)	Espérance $E(X)$	Écart type $\sigma(X)$
Binomiale	$n$ et $p$	$np$	$\sqrt{np(1-p)}$
Normale	$\mu$ et $\sigma$	$\mu$	$\sigma$
Poisson	$\lambda$	$\lambda$	$\sqrt{\lambda}$
Exponentielle	$\lambda$	$\frac{1}{\lambda}$	$\frac{1}{\lambda}$

## Équation différentielle : $ay' + by = 0$

Les solutions sont les fonctions de la forme  $f(t) = ke^{-\frac{b}{a}t}$  où  $k$  est une constante réelle.

Durée : 2 heures Coefficient 2

**Matériel autorisé :**

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

**Tout autre matériel est interdit.**

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part dans l'appréciation des copies.

**Document à rendre avec la copie :** document réponse en fin de sujet.

**Document annexe :** « Ferrimat kit » bioMérieux

Ce sujet d'articule autour du problème du fer. Il est composé de trois exercices indépendants.

## Exercice 1 : Le fer dans le plasma

**Données sur l'hydroxyde de fer III**

$$K_s(\text{Fe(OH)}_3) = 4,0 \cdot 10^{-38} \text{ à } 20^\circ\text{C}$$

$$\text{Produit ionique de l'eau : } K_e = 10^{-14} \text{ à } 20^\circ\text{C}$$

$$\text{Formule de l'ion fer(III) ou ion ferrique : } \text{Fe}^{3+}$$

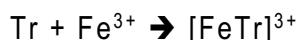
On réalise à 20 °C, une solution aqueuse tamponnée à pH = 7 de concentration en soluté apporté en ion fer (III) égale à  $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . On observe la formation d'un précipité d'hydroxyde de fer (III).

**Q1.** Écrire la réaction de précipitation de l'hydroxyde de fer (III).

**Q2.** Donner l'expression du produit de solubilité de l'hydroxyde de fer (III) en fonction des concentrations mises en jeu.

**Q3.** Montrer quantitativement qu'il était possible de prévoir la formation de l'hydroxyde de fer (III).

La concentration en ion fer (III) dans le plasma est d'environ  $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Le plasma sanguin contient aussi une protéine appelée transferrine, notée Tr. Cette protéine est capable de complexer les ions ferriques selon la réaction:



La constante de formation du complexe à 20 °C  $[\text{FeTr}]^{3+}$  vaut  $K_f = 10^{24}$

**Q4.** La transferrine, si elle est en quantité suffisante, permet d'éviter la formation d'hydroxyde de fer (III). Justifier cette affirmation. Aucun calcul n'est demandé. On négligera l'influence éventuelle de la température.

## Exercice 2 : Dosage du fer sérique par colorimétrie

### Données :

pKa CH<sub>3</sub>COOH/CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> : 4,8 à 20 °C pKa NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NH<sub>3</sub> : 9,2 à 20 °C

M<sub>Fe</sub> = 55,8 g/mol Formule de l'ion fer (III) ou ion ferrique : Fe<sup>3+</sup>

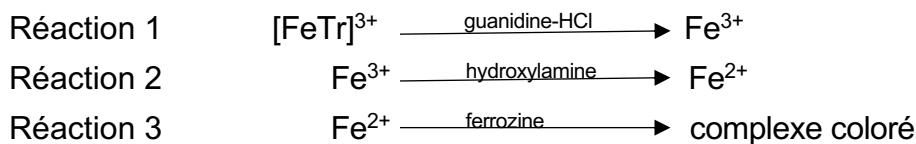
Le fer sérique correspond à l'élément fer en circulation libre dans le **plasma sanguin** et non fixé à l'hémoglobine des globules rouges. Sa concentration normale est comprise entre 10 µmol•L<sup>-1</sup> et 30 µmol•L<sup>-1</sup>. À l'état normal, le fer sérique est, pour sa quasi-totalité, sous forme d'ions ferriques Fe<sup>3+</sup> liés à la transferrine, protéine capable de complexer les ions Fe<sup>3+</sup> selon la réaction :



« Ferrimat-kit » (**ANNEXE page 23**), proposé par les laboratoires bioMérieux, permet le dosage colorimétrique du fer sérique dans le plasma humain, sans déprotéinisation, en présence de guanidine et en milieu acide, avec l'hydroxylamine comme réducteur et la ferrozine comme indicateur.

### Le principe est le suivant :

À pH = 5 et en présence de guanidine les ions Fe<sup>3+</sup> sont libérés de la transferrine. Sous l'action de l'hydroxylamine, ils sont réduits en fer (II) qui forme alors un complexe coloré avec la ferrozine.



On considérera que la totalité des ions Fe<sup>3+</sup> présents dans le plasma contribue à la formation du complexe coloré à l'issue de la réaction 3 (les trois réactions sont considérées comme totales).

### Première partie : choix de la solution tampon

Ce kit nécessite de travailler en milieu tampon pH = 5

**Q5.** Donner les propriétés d'une solution tampon.

On dispose au laboratoire d'une solution d'ammoniaque (NH<sub>3</sub>) à 0,10 mol•L<sup>-1</sup>, d'une solution d'acide éthanoïque (CH<sub>3</sub>COOH) à 0,10 mol•L<sup>-1</sup>, d'une solution d'acide chlorhydrique (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>) à 0,20 mol•L<sup>-1</sup> et d'une solution d'hydroxyde de sodium (Na<sup>+</sup>, HO<sup>-</sup>) à 0,20 mol•L<sup>-1</sup> ainsi que d'un pHmètre.

**Q6.** Parmi les quatre solutions aqueuses dont on dispose, citer, en justifiant, les deux qui sont nécessaires à la réalisation d'une solution tampon de pH = 5 et proposer sans aucun calcul un protocole expérimental pour la réalisation de ce tampon.

## **Deuxième partie : détermination de la concentration en fer sérique d'un patient**

La ferrozine est un ligand noté  $L^{2-}$  à pH = 5. Il faut trois ligands ferrozine pour complexer un ion  $Fe^{2+}$ .

**Q7.** Écrire l'équation de formation du complexe fer-ferrozine.

Dans la notice du « ferrimat kit », la longueur d'onde utilisée pour le dosage est fixée à 562 nm, longueur d'onde pour laquelle l'absorbance du complexe est maximale.

**Q8.** Énoncer une raison qui justifie de choisir comme longueur d'onde de travail, celle pour laquelle l'absorbance est maximale.

On réalise le dosage sérique d'un patient selon le mode opératoire manuel donné en (**ANNEXE page 23**)

Dans la rubrique performance de la méthode, il est indiqué « La méthode analytique est linéaire pour des concentrations en fer comprises dans l'intervalle  $4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ - $180 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ». Dans ces conditions, le kit précise que la relation qui permet d'accéder à la concentration en fer sérique du patient  $C_{\text{patient}}$  est donnée par :

$$C_{\text{patient}} = \frac{A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}}}{A_{\text{étal}}} \times C_{\text{étal}}$$

On rappelle que  $C_{\text{étal}}$  est la concentration en fer dans l'étalon.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Absorbance de la solution « blanc échantillon »:  $A_{\text{blanc éch}} = 0,008$

Absorbance de la solution « échantillon » :  $A_{\text{éch}} = 0,115$

Absorbance de la solution « étalon » :  $A_{\text{étal}} = 0,164$

**Q9.** En utilisant la loi de Beer-Lambert, établir la relation encadrée ci-dessus.

**Q10.** La concentration en fer sérique du patient est-elle située dans la gamme des concentrations normales ? Justifier.

## Exercice 3 : Détection de la drépanocytose

### Notations utilisées dans l'exercice :

Objectif et oculaire sont modélisés par deux lentilles minces, respectivement  $L_1$  et  $L_2$ , de centre optique  $O_1$  et  $O_2$  et de foyers objets et images respectifs  $F_1$ ,  $F'_1$ ,  $F_2$  et  $F'_2$ .

Les distances focales de l'objectif et de l'oculaire sont respectivement  $f'_1 = O_1F'_1$  et  $f'_2 = O_2F'_2$

L'intervalle optique entre les deux lentilles, noté  $\Delta$ , est la distance qui sépare le foyer image  $F'_1$  de l'objectif du foyer  $F_2$  de l'oculaire :  $\Delta = F'_1F_2$

### Données :

- On rappelle la formule de conjugaison des lentilles minces :

$$\frac{1}{OA_1} - \frac{1}{OA} = \frac{1}{f'_1}$$

Où  $O$  est le centre optique

$A$  désigne un point objet

$A_1$  est l'image du point objet  $A$  donné par la lentille de distance focale  $f'_1$

$A$  et  $A_1$  sont sur l'axe optique

- Le grossissement commercial d'un microscope est donné par la relation :

avec  $l = 0,25$  m

$$G_c = \frac{\Delta}{f'_1 f'_2} \times l$$

- Dans des conditions expérimentales données, la limite de résolution d'un microscope noté  $AB_{\min}$  (imposé par le phénomène de diffraction) est la plus petite distance séparant deux points reconnus comme des objets distincts. Elle est donnée par la relation :

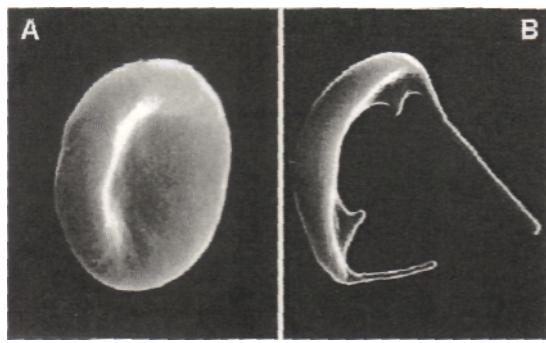
$$AB_{\min} = \frac{1,22 \lambda}{2 ON}$$

où  $\lambda$  est la longueur d'onde et  $ON$  l'ouverture numérique de l'objectif.

- Masse d'un électron :  $m_e = 9,109 \cdot 10^{-31}$  kg
- Constante de Planck :  $h = 6,63 \cdot 10^{-34}$  J·s
- Pouvoir séparateur angulaire de l'œil :  $E = 3 \cdot 10^{-4}$  rad.

La dépanocytose est une maladie génétique caractérisée par une anomalie de l'hémoglobine contenue dans les globules rouges. La maladie peut être à l'origine d'une anémie parfois importante, nécessitant des transfusions sanguines. Ces transfusions, si elles sont nombreuses, sont elles-mêmes responsables à long terme d'une accumulation de fer dans le foie et la rate.

Chez les personnes atteintes de drépanocytose, l'hémoglobine est anormale. Quand la concentration en dioxygène du sang diminue, elle déforme les globules rouges (ou hématies) qui prennent alors la forme de fauilles, au lieu d'être biconcaves (figure 1). La taille d'une hématie « biconcave » est d'environ 8  $\mu\text{m}$ , celle d'une « fauille » est d'environ 12  $\mu\text{m}$ . La détection de cette maladie peut se faire par observation de cellules sanguines au microscope (figure 1).



**Figure 1 : image obtenue au microscope électronique**

A : globule rouge « biconcave »  
B : Globule rouge « faucille »

## Première partie : microscopie électronique

Le principe général de fonctionnement d'un microscope électronique est le même que celui d'un microscope optique : l'objet à analyser est éclairé et des lentilles permettent de grossir son image. Mais au lieu d'éclairer avec de la lumière, le microscope électronique utilise un faisceau d'électrons produit par un canon à électrons. Au lieu de grossir l'image à l'aide de lentilles en verre, il emploie des lentilles électromagnétiques.

La relation entre la longueur d'onde  $\lambda$  d'une particule de masse  $m$ , se déplaçant avec une vitesse,  $v$ , est donnée par l'équation de de Broglie :

$$\lambda = \frac{h}{m v}$$

**Q11.** Calculer la longueur d'onde des électrons, en nm, si leur vitesse est de  $1,90 \cdot 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ .

**Q12.** L'ouverture numérique **ON** d'un microscope électronique est égale à 0,010. Justifier que la limite de résolution de l'instrument permet de voir les hématies et de détecter la drépanocytose comme illustré sur la **figure 1**.

## Deuxième partie : microscopie optique

On souhaite déterminer si la détection de la drépanocytose est possible avec un microscope optique.

**Q13.** Le schéma du **document réponse en fin de sujet est à rendre avec la copie**, indique le principe du microscope dans le cas de l'observation à l'infini (sans accommodation) d'un objet plan AB perpendiculaire à l'axe optique, A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> étant l'image intermédiaire de l'objet AB donné par l'objectif L<sub>1</sub>.

Compléter ce schéma en indiquant les positions des centres optiques O<sub>1</sub> et O<sub>2</sub> des deux lentilles L<sub>1</sub> et L<sub>2</sub> et les positions de leurs foyers objets et images F<sub>1</sub>, F<sub>1'</sub>, F<sub>2</sub> et F<sub>2'</sub> respectifs. On précise que ce schéma n'est pas à l'échelle.

L'oculaire utilisé noté L<sub>2</sub> a une distance focale  $f_2' = 2,50 \text{ cm}$ . L'objectif utilisé a une distance focale  $f_1' = 4,00 \text{ mm}$ . L'intervalle optique est de 16,0 cm.

**Q14.** Montrer que pour une observation à l'infini l'objet AB doit être placé à 0,410 cm devant l'objectif.

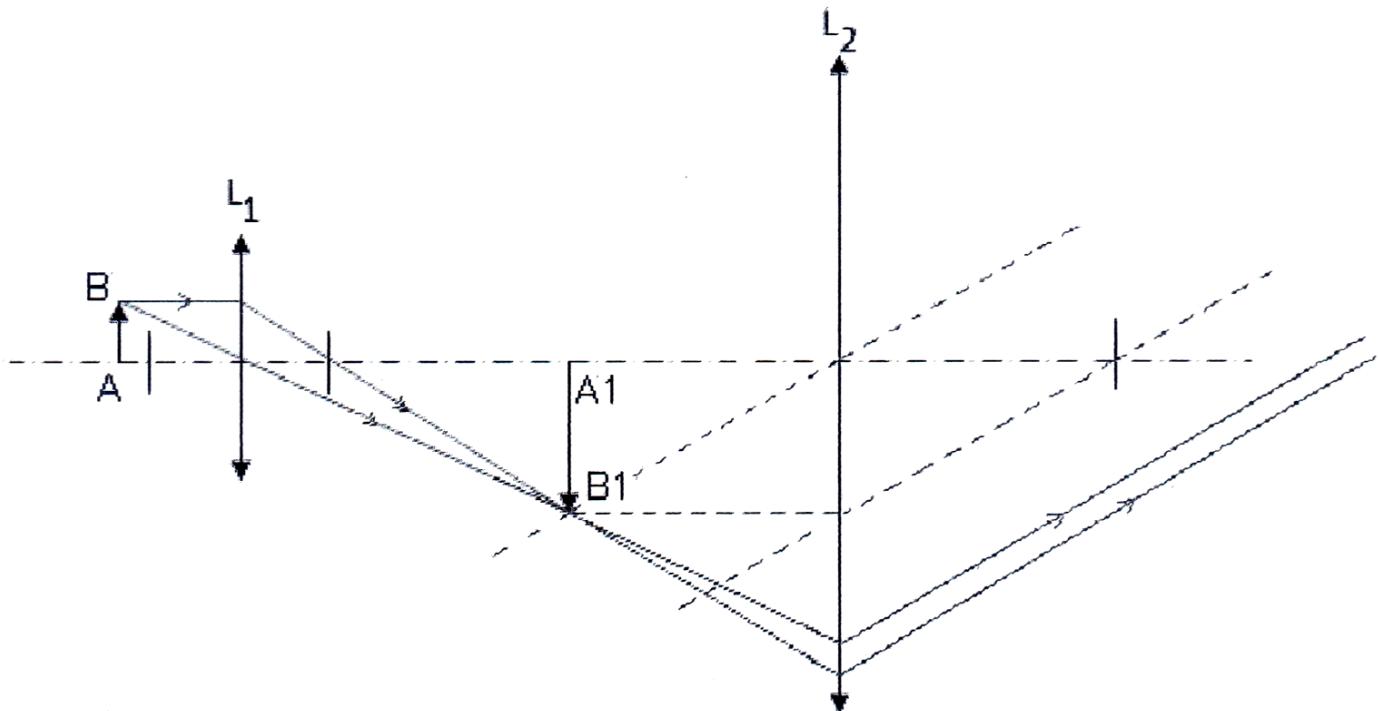
**Q15.** Calculer le grossissement commercial G<sub>c</sub> de ce microscope.

Le grossissement commercial,  $G_c$ , du microscope est défini par  $G_c = \frac{\theta'}{\theta}$  avec  $\theta$  le diamètre apparent de l'objet observé à l'œil nu, à la distance 25 cm de cet objet et  $\theta'$  le diamètre apparent de l'image définitive formée à l'infini.

**Q16.** Pourrait-on se contenter d'un microscope optique pour détecter la drépanocytose ?

Pour répondre à cette question, on tiendra compte du pouvoir séparateur angulaire de l'œil et du phénomène de diffraction. On supposera un microscope éclairé en lumière visible (400 - 800 nm) et dont l'ouverture numérique **ON** vaut 0,65. Tout raisonnement cohérent sera pris en compte.

#### Document réponse



## Document annexe

### « Ferrimat kit » distribué par les laboratoires bioMérieux

#### Composition du coffret

Réactif 1 1× 20 mL	R1	Fer ( $\text{Fe}^{3+}$ ) : $C_{\text{étal}} = 2,00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Réactif 2 : guanidine 2 × 80 mL	R2	Chlorydrate de guanidine $4,5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Hydroxylamine $230 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tampon pH=5
Réactif 3 : réactif de coloration 1 × 14 mL	R3	Ferrozine : $C_3=44,4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tampon pH=5

#### Mode opératoire manuel

##### 1) Préparation de la solution de travail

À 40 mL de réactif 2, ajouter 1,5 mL de réactif 3.

##### 2) Réalisation du test

Longueur d'onde : 562 nm

Zéro de l'appareil :

Lire le blanc échantillon contre le réactif 2

Lire l'échantillon et l'étalon contre le blanc réactif

Solutions à préparer	Blanc réactif	Étalon	Blanc échantillon	Échantillon
Eau distillée	200 $\mu\text{L}$			
Réactif 1		200 $\mu\text{L}$		
Plasma du patient			200 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
Réactif 2			1 mL	
Solution de travail	1 mL	1 mL		1 mL
Mélanger				
Attendre 10 min à 20 – 25 °C				
Photométrier				

##### 3) Performance du test

La méthode analytique est linéaire pour des concentrations en fer comprises dans l'intervalle  $4 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  -  $180 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Aucun document ou matériel autorisé.**

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

**Document à rendre avec la copie :**

- document 2

## **PATHOLOGIES LIÉES AUX PROTÉINES EN BIOLOGIE MÉDICALE**

Les protéines possèdent des propriétés structurales communes :

- ce sont des macromolécules qui résultent de l'enchaînement d'acides aminés ;
- leur structure primaire est codée par des gènes ;
- leur activité dépend de leur structure spatiale tridimensionnelle, résultant des structures secondaires, tertiaires et éventuellement quaternaires.

Du fait de leur ubiquité, les protéines sont souvent impliquées dans de nombreuses pathologies soit directement, soit en tant que marqueur.

### **1. Exploration des protéines sériques (28 points)**

#### **1.1. Dosage des protéines totales**

- 1.1.1. **Interpréter** la valeur du taux de protéines sériques chez le patient X, en rappelant les normes physiologiques.
- 1.1.2. **Nommer** les trois phases d'une analyse de biologie médicale. **Donner** leur correspondance dans le **document 1**.

#### **1.2. Contrôle qualité du dosage des protéines totales**

- 1.2.1. **Présenter** deux types de validation au laboratoire d'analyses médicales.
- 1.2.2. **Donner** la définition d'une solution de contrôle. **Expliquer** à quoi correspondent les niveaux bas, moyen et haut.

À partir de la carte de contrôle, répondre aux questions suivantes :

- 1.2.3. **Définir** le coefficient de variation (CV) puis **écrire** l'équation aux grandeurs qui relie le CV à l'écart type (s).
- 1.2.4. **Situer**, sur le **document 2**, les limites d'alerte et de rejet.
- 1.2.5. **Nommer** le type d'action à entreprendre lorsqu'un contrôle se situe dans la zone de rejet.
- 1.2.6. Dans le cas présent, **indiquer** s'il s'agit d'une évaluation interne ou externe de la qualité. **Justifier** en citant trois différences qui permettent de les distinguer l'une de l'autre.
- 1.2.7. **Définir** les notions de « fidélité dans les conditions de répétabilité » et « fidélité dans les conditions de reproductibilité ». En **déduire** le paramètre étudié dans le cas présent et ses conditions d'évaluation.

### **1.3. Électrophorèse des protéines sériques**

- 1.3.1. **Justifier** l'utilisation de sérum, plutôt que de plasma pour ce type d'analyse. **En déduire** le type de tube à utiliser.
- 1.3.2. **Reporter** sur la copie les légendes de l'électrophorégramme numérotées de 1 à 5.
- 1.3.3. **Déterminer** le nom de l'électrode située côté dépôt. **Justifier**.

L'électrophorèse capillaire remplace de plus en plus l'électrophorèse sur gel d'agarose : dans ces deux techniques d'électrophorèse, la migration des protéines se fait souvent dans des sens opposés.

- 1.3.4. **Préciser** le paramètre physique à l'origine de ce phénomène.
- 1.3.5. **Proposer** une explication au fait que des protéines, ici des immunoglobulines, puissent se retrouver dans les urines
- 1.3.6. **Analyser** les résultats d'électrophorèse et d'immunofixations sérique et urinaire du patient X.
- 1.3.7. **Conclure** quant à une éventuelle pathologie en précisant le type d'immunoglobuline détectée.

## **2. Protéines enzymatiques, marqueurs de pathologie (8 points)**

Les enzymes interviennent dans le métabolisme cellulaire, abondantes dans certains organes, elles constituent de bons marqueurs de cytolysse. Leur dosage peut donc s'avérer un élément essentiel au diagnostic.

### **2.1. Réaction enzymatique**

La courbe représentant la quantité de produit apparu en fonction du temps lors d'une réaction enzymatique comporte 3 phases numérotées de 1 à 3.

- 2.1.1. **Décrire** ces 3 phases.
- 2.1.2. **Préciser** la phase qui permet de réaliser un dosage de la créatine kinase. **Justifier**.

### **2.2. Dosage de la créatine kinase (CK) : marqueur de pathologie**

La CK existe sous forme d'isoenzymes.

- 2.2.1. **Définir** le terme « isoenzyme ».
- 2.2.2. À partir des équations du dosage de la CK, **retrouver** la composition du réactif de travail.
- 2.2.3. **Citer** les conditions opératoires à respecter lors du dosage de la CK.
- 2.2.4. **Indiquer** si les temps de relevé d'absorbance doivent être précis. **Justifier**.
- 2.2.5. **Établir** les équations aux grandeurs, aux unités et aux valeurs numériques permettant de **retrouver** le facteur théorique  $K = 3333$  qui intervient dans le calcul de l'activité catalytique de la CK en U/L.
- 2.2.6. **Citer** un type de pathologie dans laquelle la CK totale peut être augmentée. **Justifier**.

### **3. Protéines et maladies génétiques: exemple de l'hémochromatose (4 points)**

L'hémochromatose est la maladie génétique la plus fréquente en France, affectant une personne sur 300, elle est caractérisée par un stockage excessif de fer dans l'organisme.

#### **3.1. Maladie génétique : l'hémochromatose**

**Préciser** le type de mutation. **Justifier**.

#### **3.2. Diagnostic de l'hémochromatose par PCR**

La détection de la mutation « cys282tyr » peut se faire par PCR.

- 3.2.1. **Nommer** les trois étapes de la PCR en précisant les températures à respecter.
- 3.2.2. **Citer** les réactifs utilisés pour amplifier le fragment du gène d'intérêt lors de la PCR.  
**Préciser** le rôle de chacun des réactifs.

### **DOSSIER TECHNIQUE**

#### **Liste des documents**

Document 1 : Électrophorèse des protéines sériques (EPS) et Immunofixations sérique et urinaire (IFE)

Document 2 : Contrôle qualité lors du dosage des protéines sérielles

Document 3 : Courbe représentant la quantité de produit apparu en fonction du temps lors d'une réaction enzymatique

Document 4 : Extrait de la fiche technique Biolabo « dosage de la CK »

Document 5 : L'hémochromatose

Dosage des protéines totalesÉlectrophorèse des protéines sériques (EPS)Immunofixations sérique et urinaire (IFE)

(<https://www.has-sante.fr> et <http://lvts.fr/Pageshtml/Encyclopedies/Cours>)

L'EPS est un examen de biologie médicale qui a pour but la séparation et l'analyse des protéines sériques. Une EPS peut conduire à détecter une **immunoglobuline monoclonale**, une hypergammaglobulinémie et plus rarement une hypogammaglobulinémie. La prévalence des immunoglobulines monoclonales dans la population augmente avec l'âge et leur détection est facilitée par les techniques actuellement utilisées : immunofixation en gel d'agarose ou immunotypage en **électrophorèse capillaire**.

Un patient X, âgé de 61 ans, est hospitalisé pour asthénie générale et douleurs osseuses, le médecin lui prescrit une série d'analyses dont les suivantes : dosage des protéines totales, EPS, recherche d'une protéinurie de Bence Jones et immunofixations sérique et urinaire.

**Prélèvement :**

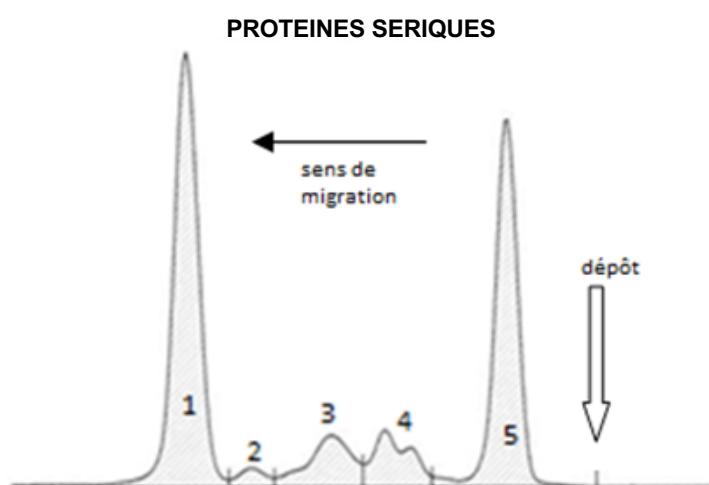
Le prélèvement de sang se fait sur tube sec (bouchon rouge) ou tube gel SST (gel séparateur de sérum, bouchon jaune) avec un jeûne préférable supérieur à 3 h.

**Analyses:**

Le dosage des protéines totales est nécessaire à l'exploitation des résultats de l'EPS.

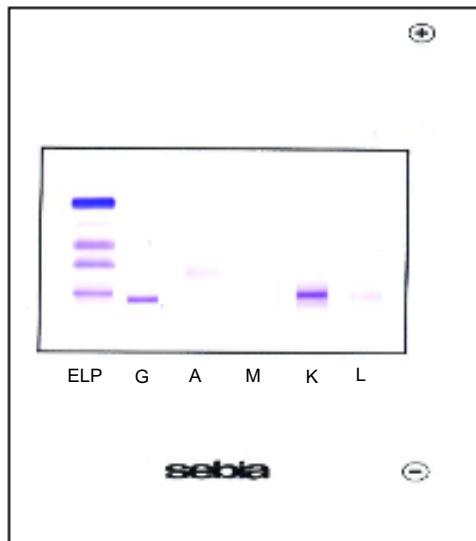
En cas de gammapathie monoclonale, une immunofixation sérique est généralement réalisée.

Une protéinurie de Bence Jones couplée à une immunofixation urinaire confirme la présence de chaînes légères dans l'urine.

**Résultats du patient X :****Dosage des protéines totales et EPS sur gel d'agarose :**

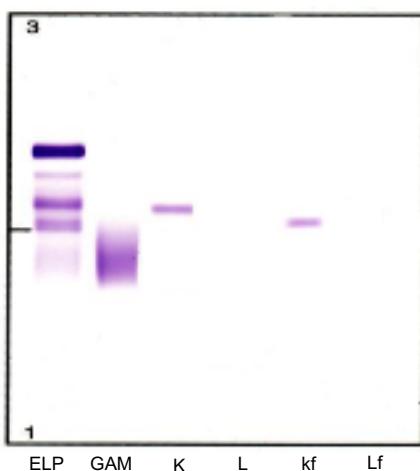
FRACTION	%	G/L	NOMALES EN G/L
ALBUMINE	46.1	35.0	32.0 – 50.0
ALPHA 1	2.2	1.7	1.0 – 4.0
ALPHA 2	9.1	7.0	5.0 – 11.0
BETA	8.3	6.3	6.0 – 13.0
GAMMA	34.3	26.1*	7.0 – 15.0
PROTEINES TOTALES		76.0	

Immunofixation sérique (hydragel Sébia) :



Protéinurie de Bence Jones et Immunofixation urinaire (hydragel Sébia) :

Protéinurie de Bence Jones : 12 g/L



Données :

- 1) La maladie Kahler ou myélome multiple est une prolifération maligne de plasmocytes de la moelle osseuse qui provoque des douleurs osseuses et une fragilité osseuse. Cette pathologie est caractérisée par le développement dans le squelette de multiples tumeurs ostéolytiques à plasmocytes sécrétant dans 80 % des cas une immunoglobuline unique (dite monoclonale), soit de type G (deux tiers des cas), soit du type A (un tiers des cas). On détecte aussi des chaînes légères kappa (2/3 des cas) ou lambda (1/3 des cas) dans les urines correspondant à la protéinurie de Bence Jones.
- 2) L'électrophorèse est effectuée en tampon pH 8,6.
- 3) Les valeurs de pH<sub>i</sub> des protéines sériques sont toutes inférieures à 8.
- 4) L'albumine a le pH<sub>i</sub> le plus faible.

Transmission des résultats : après validation par le biologiste.

**DOCUMENT 2**  
**À RENDRE AVEC LA COPIE**

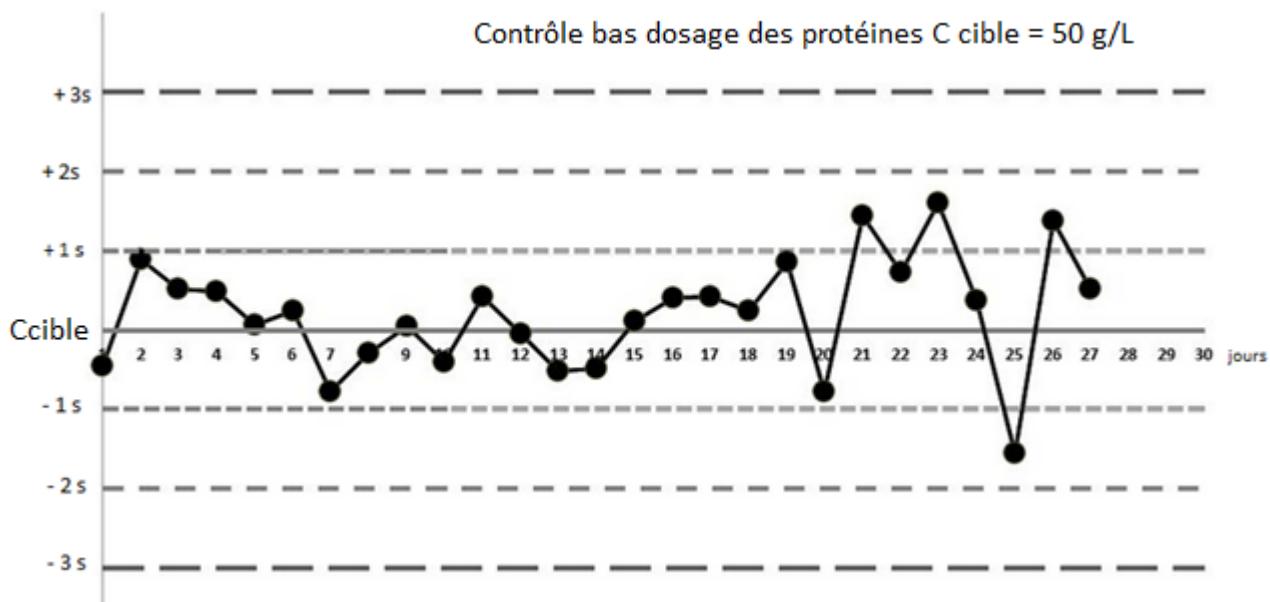
**Contrôle qualité lors du dosage des protéines sériques**

Le dosage des protéines totales se fait sur un automate de biochimie qui permet le dosage d'une vingtaine de paramètres.

Pour chaque série d'échantillons analysés ou à chaque début de demi-journée, le technicien passe des contrôles de niveau bas, moyen et haut.

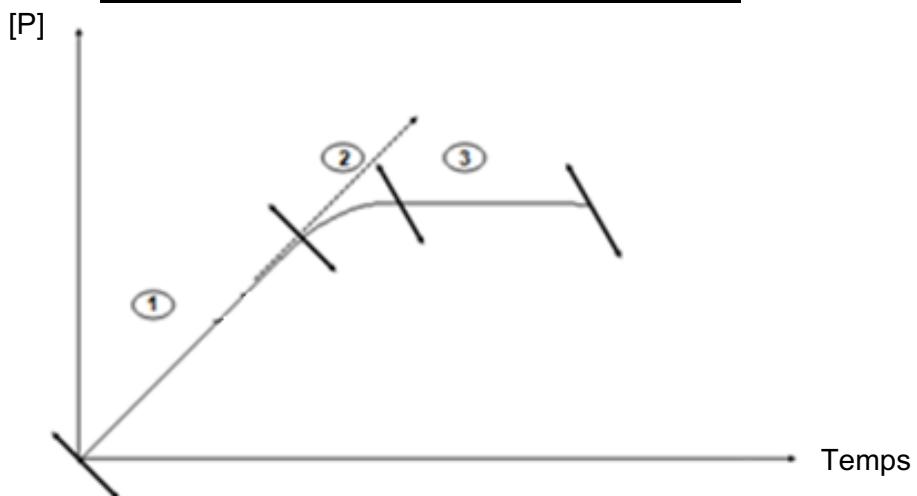
L'accréditation des laboratoires selon la norme ISO 15189 implique une validation de l'exactitude des méthodes et une traçabilité des résultats obtenus pour ces contrôles.

De nombreux laboratoires utilisent des cartes de contrôles de type Levey et Jennings dont voici un exemple :



**DOCUMENT 3**

**Courbe représentant la quantité de produit apparu en fonction du temps lors d'une réaction enzymatique**

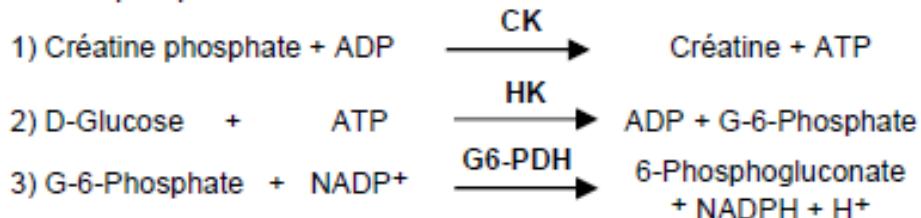


DOCUMENT 4

## Extrait de la fiche technique Biolabo : « dosage de la CK »

## PRINCIPE

Méthode de dosage enzymatique décrite par Oliver, modifiée par Rosalki puis par Szasz.



L'augmentation d'absorbance mesurée à 340 nm est proportionnelle à l'activité CK dans le spécimen.

## MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Introduire dans une cuve de lecture thermostatée de 1 cm de trajet optique :	
Réactif de travail	1 mL
Laisser la température s'équilibrer à 37°C (30°C) puis ajouter :	
Spécimen	50 µL
Mélanger. Après 2 minutes, enregistrer l'absorbance à 340 nm toutes les minutes pendant 3 minutes.	
Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute ( $\Delta$ Abs/min).	

## CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Avec facteur théorique :

$$U/L = (\Delta \text{Abs.}/\text{min.}) \times 3333$$

**Donnée :** le coefficient d'extinction linéique molaire du NADPH<sub>2</sub>H<sup>+</sup> est de 6300 mol<sup>-1</sup>.L.cm<sup>-1</sup>.

## **DOCUMENT 5**

## L'hémochromatose

C'est une maladie génétique à transmission autosomique récessive due à une mutation du gène HFE-1 constitué de sept exons. Plusieurs mutations ont été identifiées au sein de ce gène, l'une d'entre elles (nommée « cys282tyr ») correspond au remplacement d'une guanine par une adénine ayant pour conséquence le changement d'une cystéine par une tyrosine au niveau du codon 282.

**Aucun document ou matériel autorisé.**

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

**Document à rendre avec la copie :**

- document 4

## **LES INFECTIONS DES VOIES RESPIRATOIRES**

« Les infections des voies respiratoires représentent encore aujourd'hui l'une des causes majeures de mortalité, en particulier chez les jeunes enfants. Ces infections ont également un impact sur d'autres pathologies chroniques telles que l'asthme et les bronchites. La lutte contre les infections respiratoires est donc un enjeu sociétal majeur. La chimiothérapie (antibiotiques, anti-viraux) ainsi que la vaccination représentent des moyens efficaces de lutte contre ces infections. » (*Institut Pasteur de Lille 2013*)

« La pneumonie est causée par un certain nombre d'agents infectieux, les plus courants sont les suivants :

- *Streptococcus pneumoniae* – l'agent pathogène le plus souvent à l'origine de la pneumonie bactérienne chez l'enfant ;
- *Haemophilus influenzae type b* (Hib) – la deuxième bactérie la plus rencontrée ;
- Le virus respiratoire syncytial est l'agent pathogène le plus fréquent en cas de pneumonie virale. » (*OMS : Aide-mémoire n°331 Novembre 2016*)

### **1. Examen cytobactériologique d'un prélèvement trachéo-bronchique (13 points)**

Le prélèvement le plus couramment utilisé dans la recherche de l'agent responsable d'une infection des voies respiratoires est l'expectoration. Elle est réalisée préférentiellement le matin à jeun, après une toilette buccale, à l'issue d'une toux profonde ou après un effort induit par kinésithérapie et recueillie dans un pot stérile acheminé rapidement au laboratoire.

#### **1.1. Vérification de la qualité du prélèvement**

1.1.1. La qualité du prélèvement est déterminée par le score de Murray et Washington. Interpréter les résultats pour le patient X.

1.1.2. La mise en culture d'une expectoration nécessite une préparation préalable. Décrire cette préparation et préciser son but.

#### **1.2. Diagnostic des infections à *Streptococcus pneumoniae***

1.2.1. Décrire l'aspect de la bactérie à la coloration de Gram.

L'isolement et le dénombrement de *S. pneumoniae* sont effectués sur gélose au sang frais + ANC.

Pour le dénombrement, l'expectoration du patient X a été diluée au 1/10 lors du traitement préalable puis le crachat traité au 1/1 000 et 10 µL de cette dilution ont été ensemencés sur la gélose.

1.2.2. Préciser les conditions d'incubation du milieu et décrire l'aspect des colonies.

1.2.3. Sachant que le seuil de significativité est  $\geq 10^7$  UFC/mL, calculer, pour l'expectoration du patient X, le nombre de colonies déterminant la poursuite de l'analyse. Justifier.

Une identification rapide des *Streptococcus pneumoniae* est réalisable avec le test DRYSPOT (*Thermo Fisher Scientific™*)

- 1.2.4. Exposer le principe de ce test et sa validation.
- 1.2.5. Présenter sous forme d'un schéma le résultat d'un test positif.

### **1.3. Antibiogramme de *Streptococcus pneumoniae***

Un antibiogramme de *Streptococcus pneumoniae* a été réalisé par méthode de diffusion en milieu gélosé en respectant les recommandations du CA-SFM. Les *Streptococcus* sont naturellement résistants aux antibiotiques de la famille des aminosides.

- 1.3.1. Définir « naturellement résistant ».
- 1.3.2. Citer la cible cellulaire et le mode d'action des aminosides.

La résistance naturelle des *Streptococcus* aux aminosides (BNR : Bas Niveau de Résistance) est due à une imperméabilité membranaire. À la suite de l'acquisition d'un plasmide, certaines souches présentent une résistance acquise (HNR : Haut Niveau de Résistance). Certains *Streptococcus* HNR sont classés dans les BMR.

- 1.3.3. Présenter succinctement le mécanisme biochimique de la résistance aux antibiotiques des *Streptococcus* HNR.
- 1.3.4. Citer un mécanisme d'acquisition d'un plasmide chez les bactéries.
- 1.3.5. Définir le sigle BMR et montrer en quoi l'acquisition d'un plasmide peut aboutir à cet état.

L'association d'un aminoside et d'une β-lactamine peut être efficace sur les *Streptococcus* BNR mais pas sur les *Streptococcus* HNR.

- 1.3.6. Nommer l'effet obtenu par ce type d'association.
- 1.3.7. Indiquer les tests à réaliser lors de l'antibiogramme pour vérifier la possibilité d'une association aminoside et β-lactamine.

## **2. Les hémocultures (10 points)**

Les hémocultures sont indiquées lors de pneumonies nécessitant une hospitalisation car les infections pulmonaires peuvent être suivies de bactériémies et entraîner des infections disséminées.

### **2.1. Réalisation et analyse des hémocultures**

- 2.1.1. Décrire la réalisation du prélèvement de sang pour l'hémoculture.
- 2.1.2. Préciser les informations qui doivent impérativement accompagner le prélèvement.

Les hémocultures sont placées dans des incubateurs réalisant la lecture automatisée de la croissance bactérienne.

- 2.1.3. Exposer un principe de lecture automatisée de la croissance bactérienne.
- 2.1.4. Citer deux facteurs qui peuvent entraîner de faux négatifs.

### **2.2. Bactériémies à *Haemophilus influenzae* type b (Hib)**

- 2.2.1. Préciser les caractéristiques morphologiques et tinctoriales d'*Haemophilus influenzae*.
- 2.2.2. L'isolement des hémocultures est habituellement réalisé sur gélose au sang frais. Discuter le choix de ce milieu dans le cas d'une hémoculture contenant *Haemophilus influenzae* et proposer un autre milieu.

L'identification d'*Haemophilus influenzae* se fait maintenant par spectrométrie de masse. Cependant cette méthode ne permet pas d'identifier le biotype et les souches doivent être envoyées au CNR.

- 2.2.3. Exposer succinctement le principe de cette méthode appliquée à l'identification bactérienne.
- 2.2.4. Définir la notion de biotype et préciser l'intérêt de sa recherche.
- 2.2.5. Expliciter le sigle CNR.

### **3. Les aspergilloses bronchiques (7 points)**

Les pneumopathies chroniques à *Aspergillus fumigatus* sont souvent difficiles à identifier en raison de symptômes non spécifiques.

La détection des anticorps circulants constitue la méthode de choix dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires.

Actuellement, la Haute Autorité de Santé impose aux laboratoires la réalisation de deux techniques, une technique de dépistage suivie d'une technique de confirmation si la première est positive.

Une des techniques recommandées pour le dépistage est l'hémagglutination indirecte (HAI).

- 3.1. Réaliser** un schéma légendé d'*Aspergillus*.
- 3.2. Compléter** le tableau de répartition correspondant à la technique HAI avec le coffret Biosynex-Fumouze® (**à rendre avec la copie**).
- 3.3. Indiquer** le rôle et **préciser** l'aspect attendu pour les cupules 7 et 8.
- 3.4. Dans le coffret** se trouve un **contrôle positif** (titre :  $160 \pm 1$  dilution) et un **contrôle négatif**. Montrer l'intérêt de ces contrôles et donner le résultat attendu.
- 3.5. Lire et interpréter** le résultat du patient Y.

### **4. La paragonimose (4 points)**

La paragonimose due à un trématode du genre *Paragonimus*, est une zoonose cosmopolite.

La contamination humaine se fait par ingestion de crabes ou d'écrevisses contaminés et consommés crus ou mal cuits. Les symptômes peuvent évoquer une tuberculose pulmonaire.

- 4.1. Définir** le terme « trématode ».
- 4.2. Commenter** le cycle des *Paragonimus*.

### **5. Le virus respiratoire syncytial (VRS) (6 points)**

Le VRS est un *Paramyxovirus* qui provoque des bronchiolites chez l'enfant. Bien que son diagnostic soit basé sur la clinique (toux, difficultés respiratoires, fièvre), sa recherche peut être effectuée par une technique de diagnostic rapide. Si la bronchiolite est sévère, le médecin préconise un traitement curatif par inhalation à base de ribavirine (antiviral, analogue nucléosidique de la guanosine).

**5.1.** Le VRS est un virus enveloppé, à capsid hélicoïdale et à ARN de polarité négative. **Réaliser** un schéma légendé du VRS.

**5.2. Citer** le nom de l'enzyme nécessaire à la réPLICATION du génome viral et qui doit être présente dans le virion puis **préciser** son rôle dans le cycle de multiplication du virus.

**5.3. Donner** le principe de la recherche du VRS, par le kit BD DIRECTIGEN™ EZ RSV, sous forme d'un schéma légendé.

**5.4. Expliquer** le mode d'action de la ribavirine.

## DOSSIER TECHNIQUE

### Liste des documents

Document 1 : Tableau d'interprétation de l'examen microscopique des expectorations et résultats pour le patient X

Document 2 : Test d'agglutination au latex DrySpot™ Pneumo (*Thermo Fisher Scientific™*)

Document 3 : Tableaux des concentrations critiques pour l'interprétation des CMI de *Streptococcus pneumoniae*

Document 4 : Sérodiagnostic de l'aspergillose par hémagglutination indirecte

Document 5 : Cycle du *Paragonimus*

Document 6 : Détection directe du Virus Respiratoire Syncytial (VRS)

**Tableau d'interprétation de l'examen microscopique des expectorations**

Référentiel de microbiologie médicale 5.1 (Rémic) 5<sup>ème</sup> édition 2015 chapitre 19 page 184

(X 100)		Score (Murray et Washington)	Indication de mise en culture (Bartlett)
Cellules/champ	Leucocytes		
Epithéliales			
> 25	< 10	1	Non
> 25	10 – 25	2	Non
> 25	> 25	3	Non
10 – 25	< 10	Non précisé	Non
10 – 25	10 – 25	Non précisé	Non
10 – 25	> 25	4	Oui
< 10	< 10	Non précisé	Non
< 10	10 – 25	Non précisé	Oui
< 10	> 25	5	Oui

**Résultats pour le patient X**

Origine du prélèvement : expectoration

Caractères généraux : aspect muqueux

Examen cytologique (coloration MGG)      Observation au grossissement ×100

Cellules buccopharyngées : 3 par champ

Leucocytes : 45 par champ

Cellules bronchiques : 8 par champ

Macrophages alvéolaires : 5 par champ

Hématies : Absence

Levures : Absence

Flore bactérienne : Monomorphe

## DOCUMENT 2

### Test d'agglutination au latex DrySpot™ Pneumo

*Extrait de la notice (Thermo Fisher Scientific™)*

#### Principe :

Les particules de latex bleues sensibilisées avec des anticorps de lapin sont déshydratées sur la carte test. Elles réagissent avec les sérotypes de pneumocoques.

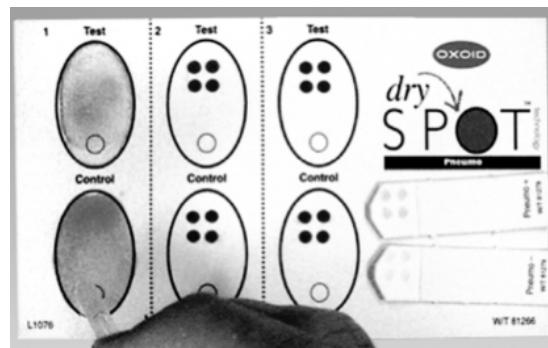
Les particules de latex bleues sensibilisées avec des globulines de lapin non réactives sont déshydratées sur la carte test pour fournir la zone de réaction de contrôle.

#### Composition du coffret (DR 420M) :

- Cartes de réaction Dryspot Pneumo avec :

- Particules de latex bleues sensibilisées avec des anticorps de lapin reconnaissant les types sérologiques de pneumocoques (zone test) ;
- Particules de latex bleues sensibilisées avec des anticorps non réactifs (zone de contrôle).

- Tampon PBS pH 7,3 +/- 0,1



#### Mode opératoire :

1. Ajouter 1 goutte (50 µL) de PBS dans le petit cercle (à la base de chaque ovale) à la fois dans la zone test et la zone de contrôle en s'assurant que le liquide ne touche pas les réactifs déshydratés.
2. À l'aide d'une césse stérile appliquer plusieurs colonies suspectes sur la zone de contrôle. Dissocier les colonies dans le tampon PBS jusqu'à obtenir une suspension opalescente et homogène.
3. À l'aide d'une césse stérile, mélanger cette suspension dans les réactifs déshydratés de contrôle jusqu'à homogénéisation complète en recouvrant toute la zone de réaction. Jeter ensuite l'œse de façon appropriée.
4. Avec une autre césse, procéder de façon identique avec le latex test.
5. Imprimer à la carte un mouvement de rotation douce pendant 60 secondes et observer l'agglutination sous une lumière normale. Ne pas utiliser de loupe pour la lecture.
6. Une fois le test terminé, éliminer les cartes de réaction dans une solution désinfectante.

**DOCUMENT 3**

**Tableaux des concentrations critiques pour l'interprétation des CMI de *Streptococcus pneumoniae***

D'après les recommandations 2017 V.1.0 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST)

Recherche de la résistance aux bêta-lactamines chez *S. pneumoniae*

Disque d'oxacilline à 1 µg Diamètre de la zone d'inhibition		Antibiotique		Tests complémentaires et/ou interprétation	
$\geq 20$ mm		Bêta-lactamines pour lesquelles une catégorisation clinique est indiquée (y compris celles avec «Note»).		Rendre «sensible», quelle que soit l'indication clinique, excepté pour le céfaclor qui, s'il est rendu, doit être catégorisé «intermédiaire».	
< 20 mm*		Pénicilline G (ménigrites) et pénicilline V (toutes indications)		Rendre «résistant».	
		Pénicilline G (en dehors des ménigrites) et autres bêta-lactamines		Déterminer la CMI de l'antibiotique et interpréter en fonction des concentrations critiques.	

\*La CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone) doit toujours être déterminée, mais cela ne doit pas retarder le rendu du résultat selon les recommandations ci-dessous.

Pénicillines	Concentrations critiques (mg/L) <b>S ≤ R &gt;</b>	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) <b>S ≥ R &lt;</b>	Notes	
				Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI)	Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
Les valeurs critiques pour les pénicillines autres que la pénicilline G et l'amoxicilline ne sont pas applicables en cas de ménigrite.					
Les souches sensibles à la pénicilline G (CMI $\leq 0,0064$ mg/L) et/ou présentant un diamètre $\geq 20$ mm autour du disque d'oxacilline (1 µg) (cf note C) peuvent être rendues sensibles aux bêta-lactamines pour lesquelles les valeurs critiques sont listées (y compris celles qui ont une «Note»).					
Pénicilline G (à l'exception des ménigrites)	0,0064 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
				1. En cas de pneumonie, si une dose de 1,2 g $\times$ 4 est utilisée, les souches ayant une CMI $\leq 0,5$ mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.	
					En cas de pneumonie, si une dose de 2,4 g $\times$ 4 ou 1,2 g $\times$ 6 est utilisée, les souches ayant une CMI $\leq 1$ mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.
					En cas de pneumonie, si une dose de 2,4 g $\times$ 6 est utilisée, les souches ayant une CMI $\leq 2$ mg/L peuvent être interprétées comme sensibles.
					A. Une diminution de sensibilité aux bêta-lactamines doit être recherchée à l'aide d'un disque d'oxacilline chargé à 1 µg (cf. Note C).
Pénicilline G (ménigrites)	0,06	0,06	-	-	
Ampicilline	0,5 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
Ampicilline (pneumonie)	2	2	-	-	-
Ampicilline-sulbactam	Note <sup>3</sup>	Note <sup>3</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
				2. Sensibilité déduite de la CMI de l'ampicilline ou de l'amoxicilline.	
				3. Les pneumocoques ne produisent pas de bêta-lactamase. L'association à un inhibiteur de bêta-lactamase n'apporte aucun bénéfice clinique.	
Amoxicilline	0,5 <sup>2</sup>	2 <sup>2</sup>		Note <sup>A,B</sup>	Note <sup>A,B</sup>
Amoxicilline (ménigrites)	0,5	0,5	-	-	
Amoxicilline (pneumonie)	2	2	-	-	
Amoxicilline-acide clavulanique <sup>3</sup>	Note <sup>2</sup>	Note <sup>2</sup>		Note <sup>A,B</sup>	Note <sup>A,B</sup>
Pipéracilline	Note <sup>2</sup>	Note <sup>2</sup>		Note <sup>A,B</sup>	Note <sup>A,B</sup>
Pipéracilline-tazobactam <sup>3</sup>	Note <sup>2</sup>	Note <sup>2</sup>		Note <sup>A,B</sup>	Note <sup>A,B</sup>
Ticarcilline	-	-	-	-	-
Ticarcilline-acide clavulanique <sup>3</sup>	-	-	-	-	-
Phénoxymethylpénicilline	Note <sup>1</sup>	Note <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>

Pénicillines (suite)	Concentrations critiques (mg/L) <b>S ≤ R &gt;</b>	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) <b>S ≥ R &lt;</b>	Notes	
				Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI)	Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
Oxacilline (Test de dépistage)					
	NA	NA	1	Note <sup>C</sup>	Note <sup>C</sup>
				C. Pour l'interprétation du test de l'oxacilline, voir le tableau complémentaire ci-dessus. Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres bêta-lactamines. L'utilisation d'autres disques de bêta-lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces bêta-lactamines. En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-1 < 20 mm), il y a lieu de déterminer la CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone).	

Aminoglycosides	Concentrations critiques (mg/L) <b>S ≤ R &gt;</b>	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) <b>S ≥ R &lt;</b>	Notes	
				Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI)	Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
Gentamicine <sup>1</sup>	Note <sup>1</sup>	Note <sup>1</sup>	500	Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>
				1/A. Diamètre d'inhibition $\geq 17$ mm ou CMI $\leq 250$ mg/L : la souche est sauvage (bas niveau de résistance) et la synergie est possible avec les pénicillines (ou les glycopeptides) en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. Pour les autres aminosides, le profil peut être différent.	
				Diamètre d'inhibition < 17 mm ou CMI > 250 mg/L : la souche a acquis un haut niveau de résistance à la gentamicine, ainsi qu'à la kanamycine, tobramycine, dibékacine, amikacine, sisomicine et nétilmicine. La synergie avec les pénicillines ou les glycopeptides est abolie.	

Glycopeptides	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Teicoplanine	2 <sup>1</sup>	2	30	17	17	1. Les souches ayant une CMI qui dépasse la concentration critique supérieure sont très rares ou n'ont pas encore été rapportées. L'identification et la sensibilité aux antibiotiques d'une telle souche doivent être vérifiées et si le résultat est confirmé, la souche doit être adressée à un laboratoire de référence. En l'absence de données concernant la réponse thérapeutique vis-à-vis des souches dont la CMI dépasse la valeur critique supérieure, elles doivent considérées comme résistantes.
Télavancine	EPI	EPI		EPI	EPI	
Vancomycine	2 <sup>1</sup>	2	5	16	16	
Macrolides, lincosamides et streptogramines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Azithromycine	0,25 <sup>1</sup>	0,5 <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>	1/A. L'érythromycine peut être utilisée pour déterminer la sensibilité à l'azithromycine, la clarithromycine et la roxithromycine.
Clarithromycine	0,25 <sup>1</sup>	0,5 <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>	
Erythromycine	0,25 <sup>1</sup>	0,5 <sup>1</sup>	15	22 <sup>A</sup>	19 <sup>A</sup>	
Roxithromycine	0,5 <sup>1</sup>	1 <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>	
Téthromycine	0,25 <sup>2</sup>	0,5 <sup>2</sup>	15	23 <sup>B</sup>	20 <sup>B</sup>	2/B. La résistance à la téthromycine doit être vérifiée par un test en l'absence de CO <sub>2</sub> , qui permet la catégorisation clinique.
Clindamycine <sup>3</sup>	0,5	0,5	2	19 <sup>C</sup>	19 <sup>C</sup>	3/C. Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à clindamycine ou lincomycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance. Il est mis en évidence sur l'antibiogramme par une image d'antagonisme entre la clindamycine ou la lincomycine et l'érythromycine (D-test). Interprétation : <ul style="list-style-type: none"><li>• En l'absence d'induction, répondre «sensible» à spiramycine, lincomycine et clindamycine.</li><li>• En présence d'induction, répondre «résistante» à spiramycine, lincomycine et clindamycine.</li></ul>
Lincomycine <sup>3</sup>	2	8	15	21 <sup>C</sup>	17 <sup>C</sup>	
Pristinamycine <sup>4</sup>	1	1	15	19	19	4. Interprétation valable pour quinupristine-dalfopristine. Les souches sensibles à la quinupristine-dalfopristine sont également sensibles à la pristinamycine. Les souches ayant une CMI qui dépasse la concentration critique supérieure sont très rares. L'identification et la sensibilité à l'antibiotique d'une telle souche doivent être vérifiées et si le résultat est confirmé, la souche doit être adressée à un laboratoire de référence. En l'absence de données concernant la réponse thérapeutique vis-à-vis des souches dont la CMI dépasse la valeur critique supérieure, elles doivent considérées comme résistantes.
Tétracyclines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Doxycycline	1 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>		Note <sup>A</sup>	Note <sup>A</sup>	1/A. Les souches sensibles à la tétracycline sont aussi sensibles à la doxycycline et à la minocycline. Les souches résistantes à la tétracycline sont parfois sensibles à la minocycline et/ou à la doxycycline. Si nécessaire, la sensibilité à la doxycycline des souches résistantes à la tétracycline pourra être évaluée en déterminant la CMI.
Minocycline	0,5 <sup>1</sup>	1 <sup>1</sup>	30	24 <sup>A</sup>	21 <sup>A</sup>	
Tétracycline	1 <sup>1</sup>	2 <sup>1</sup>	30	25 <sup>A</sup>	22 <sup>A</sup>	
Tigécycline	EPI	EPI		EPI	EPI	
Divers	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Chloramphénicol	8	8	30	21	21	
Daptomycine	EPI	EPI		EPI	EPI	
Fosfomycine iv	EPI	EPI		EPI	EPI	
Linézolid	2 <sup>1</sup>	4	10	22	19	1. Les souches ayant une CMI qui dépasse la concentration critique supérieure sont très rares. L'identification et la sensibilité à l'antibiotique d'une telle souche doit être vérifiée et si le résultat est confirmé, la souche doit être adressée à un laboratoire de référence. En l'absence de données concernant la réponse thérapeutique vis-à-vis des souches dont la CMI dépasse la valeur critique supérieure, elles doivent être considérées comme résistantes.
Rifampicine	0,06 <sup>2</sup>	0,5	5	22	17	2. Les souches ayant une CMI qui dépasse la concentration critique supérieure sont très rares. L'identification et la sensibilité à l'antibiotique d'une telle souche doit être vérifiée et si le résultat est confirmé, la souche doit être adressée à un laboratoire de référence. En l'absence de données concernant la réponse thérapeutique vis-à-vis des souches dont la CMI dépasse la valeur critique supérieure, elles doivent être considérées comme résistantes.
Triméthoprime-sulfaméthoxazole <sup>3</sup>	1	2	1,25-23,75	18	15	3. Triméthoprime-sulfaméthoxazole dans un rapport 1:19. Les CMI critiques sont exprimées en concentration de triméthoprime.

**DOCUMENT 4**  
**À RENDRE AVEC LA COPIE**

**Sérodiagnostic de l'ASPERGILLOSE par hémaagglutination indirecte**

(Extrait de la notice) Biosynex - FUMOUZE® Diagnostic

**Principe :**

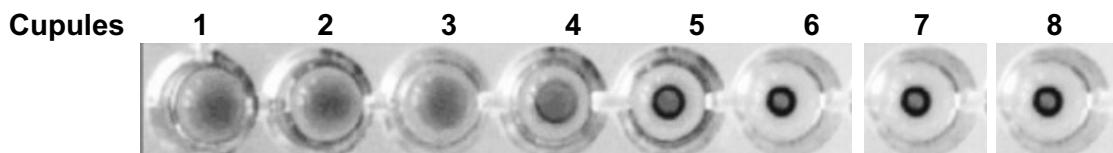
L'ASPERGILLOSE Bioynex-Fumouze est basée sur le principe de l'hémagglutination indirecte et réalisée en microplaqué à fond en U. Les hématies sensibilisées sont constituées d'hématies de mouton recouvertes d'un antigène *Aspergillus fumigatus*. La présence d'anticorps sériques spécifiques entraîne une agglutination des hématies sensibilisées qui se traduit par un voile rouge/marron tapissant la cupule. En l'absence d'anticorps spécifiques, ces hématies sédimentent au fond de la cupule sous la forme d'un anneau.

**Mode opératoire :**

Le volume final de chaque cupule est de 50 µL avant l'addition de la goutte d'hématies.

N° cupule	1	2	3	4	5	6	7	8
Tampon phosphate en µL	50							50
Sérum au 1/40 en µL							50	
Sérum redistribué dans la cupule suivante en µL								
Hématies sensibilisées en goutte								1
Hématies non sensibilisées en goutte							1	
Titre								

**Aspect de la gamme de la microplaqué pour le patient Y**



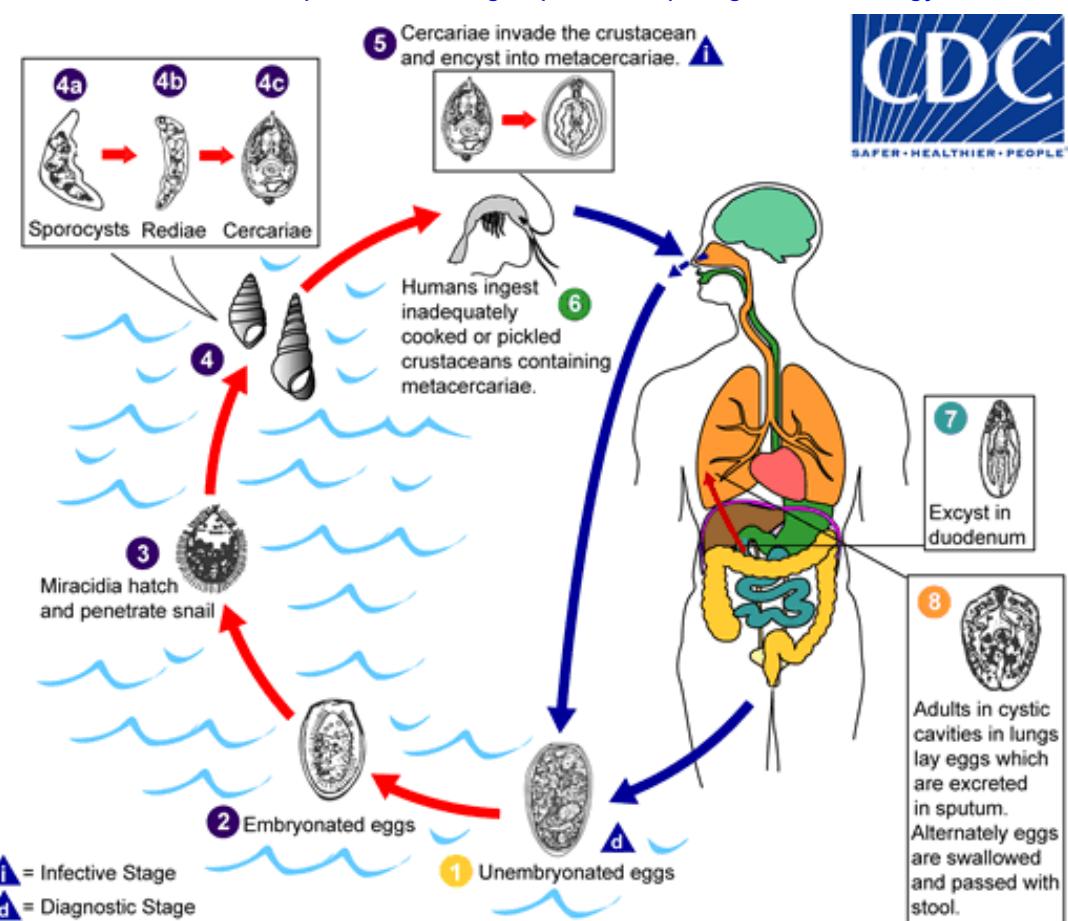
**Interprétation des résultats**

TITRE < 320	Réaction non significative Absence probable d'aspergillose profonde Renouveler le test 2 à 3 semaines plus tard
TITRE = 320	Réaction douteuse
TITRE ≥ 640	Réaction positive en faveur d'une aspergillose profonde

## DOCUMENT 5

### **Cycle du *Paragonimus***

Schéma modifié <https://www.cdc.gov/parasites/paragonimus/biology.html>



## DOCUMENT 6

### Détection directe du Virus Respiratoire Syncytial (VRS ou RSV)

*BD Directigen EZ RSV*

#### APPLICATION

Le test RSV Directigen EZ est un dosage immunologique chromatographique rapide conçu pour la détection qualitative directe d'antigène de virus syncytial respiratoire dans les lavages, les aspirations et les écouvillonnages rhino-pharyngiens, et les écouvillonnages/lavages rhino-pharyngiens en cas de suspicion d'infection respiratoire virale.

#### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test Directigen EZ RSV est un dosage chromatographique conçu pour la détection qualitative d'antigène de RSV dans des échantillons issus de prélèvements respiratoires. Lorsque les échantillons extraits sont ajoutés au dispositif de test, les antigènes de RSV A et/ou B se lient aux conjugués d'anticorps et d'or colloïdal dans la bandelette réactive en formant un complexe antigène-anticorps. Ce complexe migre à travers la bandelette réactive vers la zone réactionnelle où il est capturé par la ligne d'anticorps anti-RSV présents sur la membrane. Le conjugué en excès se lie à une seconde ligne composée d'antigène de RSV inactivé qui sert de contrôle fonctionnel.

# E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie

2018

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Documents à rendre avec la copie :

- documents 2 et 3

## LA DRÉPANOCYTOSE

La drépanocytose est la maladie génétique de l'hémoglobine la plus répandue. Elle touche plus de 5 millions de personnes à travers le monde.

### 1. Quelques aspects hématologiques de la drépanocytose (10,5 points)

Les sujets drépanocytaires homozygotes souffrent fréquemment de crises vaso-occlusives à la suite d'infections, de déshydratation ou d'efforts physiques.

Les résultats de l'hémogramme réalisé sur un automate fonctionnant par cytométrie de flux présentent des anomalies caractéristiques chez cette catégorie de sujets.

**1.1. Expliquer** le principe de mesure du volume globulaire et de la concentration en hémoglobine par litre d'hématies, par la technique de cytométrie de flux.

**1.2. Justifier** la nécessité de rendre sphérique le globule rouge avant la numération par diffraction optique.

L'histogramme bi-paramétrique des globules rouges est obtenu en analysant le volume de chaque globule rouge et sa concentration en hémoglobine.

L'aspect du nuage obtenu est à l'origine des alarmes « anisocytose » et « anisochromie ».

**1.3. Situer** sur l'histogramme bi-paramétrique :

- la position des globules rouges normochromes normocytaires ;
- la position des globules rouges microcytaires "hyperdenses".

Dans ce contexte, la numération des réticulocytes effectuée sur l'automate est de  $520 \text{ G} \cdot \text{L}^{-1}$ . Le principe de numération est basé sur l'utilisation d'un colorant vital : l'oxazine 750.

**1.4. Citer** le composant présent dans les réticulocytes qui fixe le colorant vital.

**1.5. Identifier** sur l'histogramme des réticulocytes le nuage correspondant aux globules rouges matures et celui correspondant aux réticulocytes les plus jeunes. **Justifier** la réponse.

**1.6. Interpréter** le résultat de la numération des réticulocytes.

## **2. Conséquences de la drépanocytose (13,5 points)**

Chez les sujets homozygotes, les globules rouges prennent la forme de drépanocytes à l'origine des crises vaso-occlusives entraînant la nécrose de différents organes dont la rate. Ces sujets souffrent fréquemment d'infections à répétition.

**2.1. Schématiser** l'aspect d'un drépanocyte.

**2.2. Établir** le lien entre cette forme, les crises vaso-occlusives et la nécrose tissulaire.

Le complément est un élément majeur dans cette lutte contre les infections.

**2.3. Préciser** le nom des voies d'activation du complément.

**2.4. Indiquer** le rôle des composants actifs entourés sur le document.

Chez les sujets drépanocytaires hétérozygotes, le carcinome médullaire rénal est une forme rare de cancer dont le diagnostic est presque exclusivement associé à ces sujets. Le diagnostic est orienté par l'échographie rénale puis confirmé par les études anatomocytopathologiques.

Les tissus étant trop mous pour pouvoir réaliser des coupes fines, ils sont durcis à l'aide de paraffine. Les étapes préalables à l'imprégnation d'un tissu de paraffine sont :

- plusieurs bains d'éthanol de concentrations croissantes ;
- un bain de xylène.

**2.5. Donner** le rôle de chacune de ces étapes.

Au cours d'une opération, le chirurgien peut être amené à demander l'analyse immédiate d'un prélèvement histologique (examen extemporané) afin d'être guidé dans le déroulement de l'opération. Les résultats de l'étude microscopique sont obtenus dans ce cas en moins de 15 minutes.

**2.6. Indiquer** dans ce cas la procédure employée pour durcir le tissu.

## **3. Le dépistage des sujets à risque (10 points)**

Il est important de dépister la drépanocytose dès le plus jeune âge.

En France, la drépanocytose est dépistée chez tous les nouveau-nés dont les parents sont issus de régions à risque. Le recueil d'une goutte de sang au talon, sur papier buvard suffit à dépister l'hémoglobine anormale par électrophorèse capillaire. Le principe consiste en la migration à pH alcalin, dans un champ électrique d'un hémolysat d'hématies, l'échantillon du patient étant analysé parallèlement à celui d'un contrôle constitué d'un mélange d'hémoglobines A, F, S et C.

**3.1. Expliquer** la nécessité d'un contrôle.

**3.2. Justifier** la séparation des hémoglobines A, S et C par cette technique.

La conservation du prélèvement à +4 °C dans un tube hermétiquement fermé, ne doit pas excéder 5 jours sinon des bandes parasites apparaissent sur le profil électrophorétique.

**3.3. Expliquer** l'apparition des bandes parasites en l'absence du respect des conditions de conservation du prélèvement.

En Afrique, pays principalement touché par la drépanocytose, le dépistage est freiné par des difficultés d'accès au laboratoire de biologie médicale et par le coût des analyses.

La situation devrait s'améliorer grâce à un test de dépistage rapide le Sickle Scan® proposé par les laboratoires BioMedomics, basé sur le principe de l'immuno-chromatographie.

**3.4. Expliquer** le rôle de l'étape 4 du protocole opératoire.

**3.5. Réaliser** un schéma annoté représentant le principe de ce test chez un sujet drépanocytaire hétérozygote

#### **4. Le traitement des sujets drépanocytaires (6 points)**

Le traitement des sujets drépanocytaires consiste à :

- supplémenter les patients en folates à cause de besoins accrus,
- assurer une couverture vaccinale optimale,
- transfuser en cas d'anémie profonde,
- greffer, en dernier recours pour les formes sévères, de la moelle osseuse.

L'infection à méningocoques est particulièrement redoutée chez ces sujets.

**4.1. Identifier** parmi les constituants du vaccin l'antigène vaccinal.

**4.2. Justifier** la présence des autres constituants du vaccin.

**4.3. Citer** 2 facteurs modulant la réponse d'un organisme à un vaccin.

#### **DOSSIER TECHNIQUE**

Document 1 : Schéma de principe de la cytométrie de flux.

Document 2 : Résultats de l'histogramme bi-paramétrique des globules rouges d'un sujet drépanocytaire. **À rendre avec la copie.**

Document 3 : Histogramme de numération des réticulocytes. **À rendre avec la copie.**

Document 4 : Vue générale des voies du complément et leurs relations.

Document 5 : Résultats d'électrophorèse capillaire du contrôle AFSC.

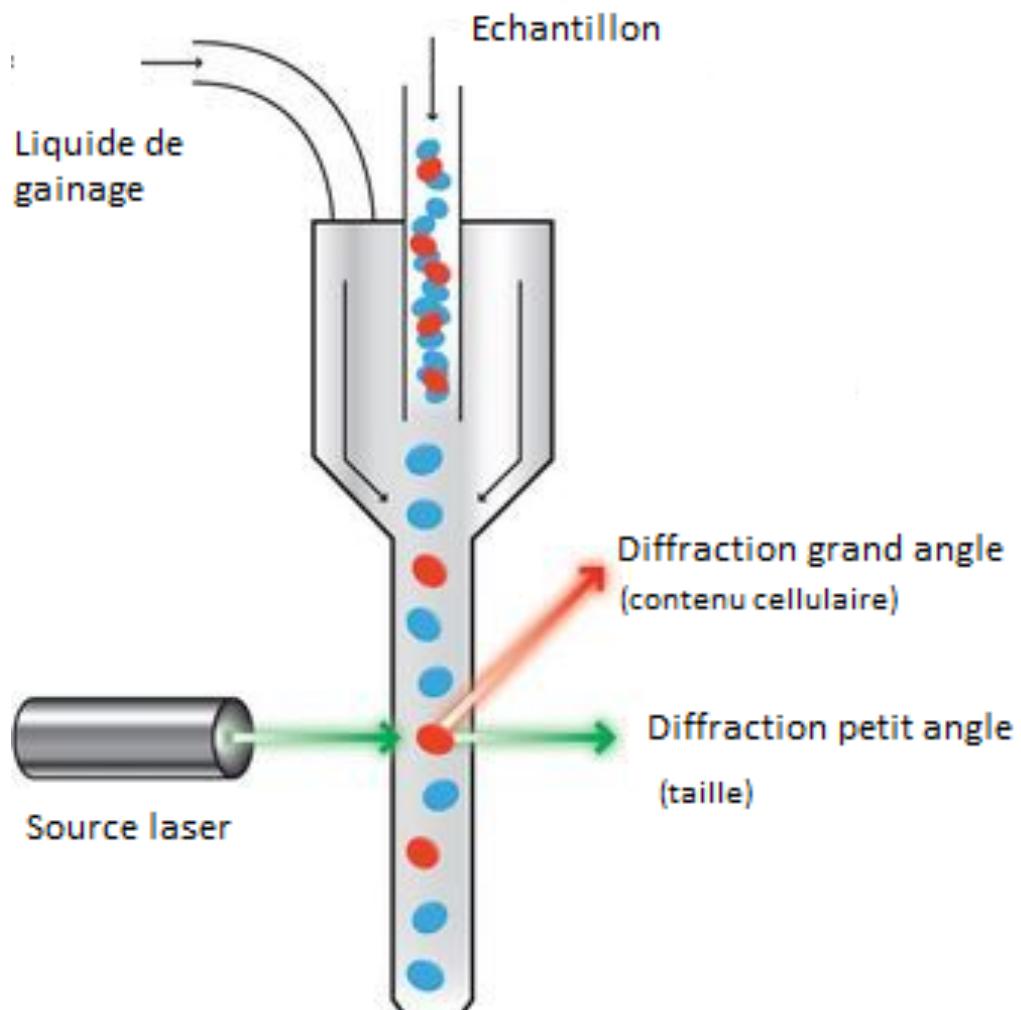
Document 6 : Structure des hémoglobines anormales C et S.

Document 7 : Documentation technique du test immuno-chromatographique Sickle Scan

Document 8 : Vaccins méningococciques - Recommandations d'utilisation.

**Schéma de principe de la cytométrie de flux**

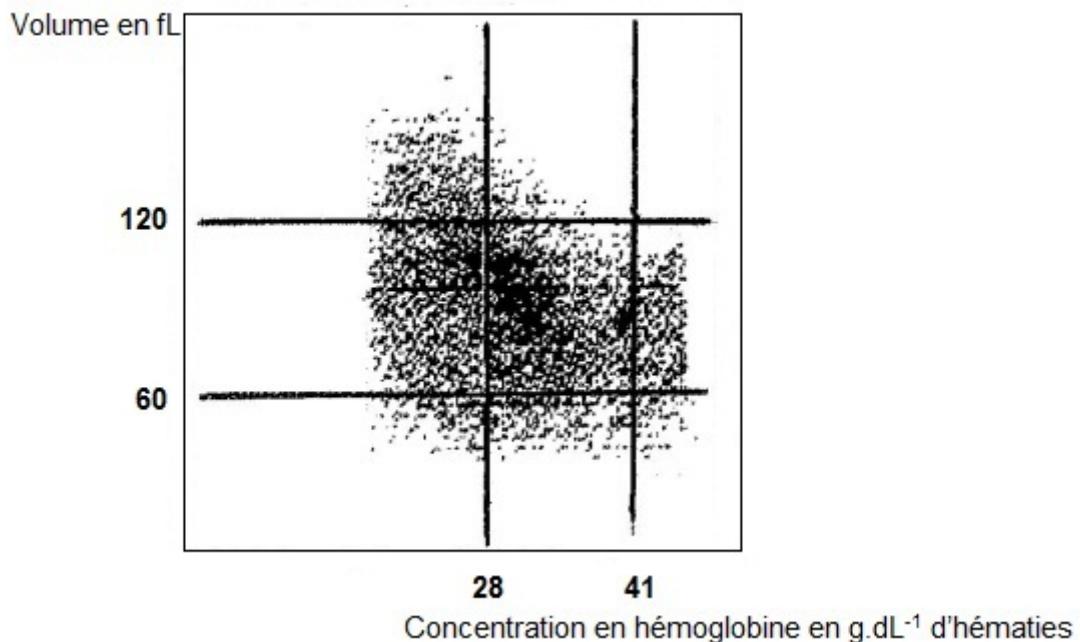
Adapté de : [Clinical-laboratory.blogspot.fr](http://Clinical-laboratory.blogspot.fr)



**DOCUMENT 2**  
**À rendre avec la copie**

**Résultats de l'histogramme bi-paramétrique des globules rouges  
d'un sujet drépanocytaire**

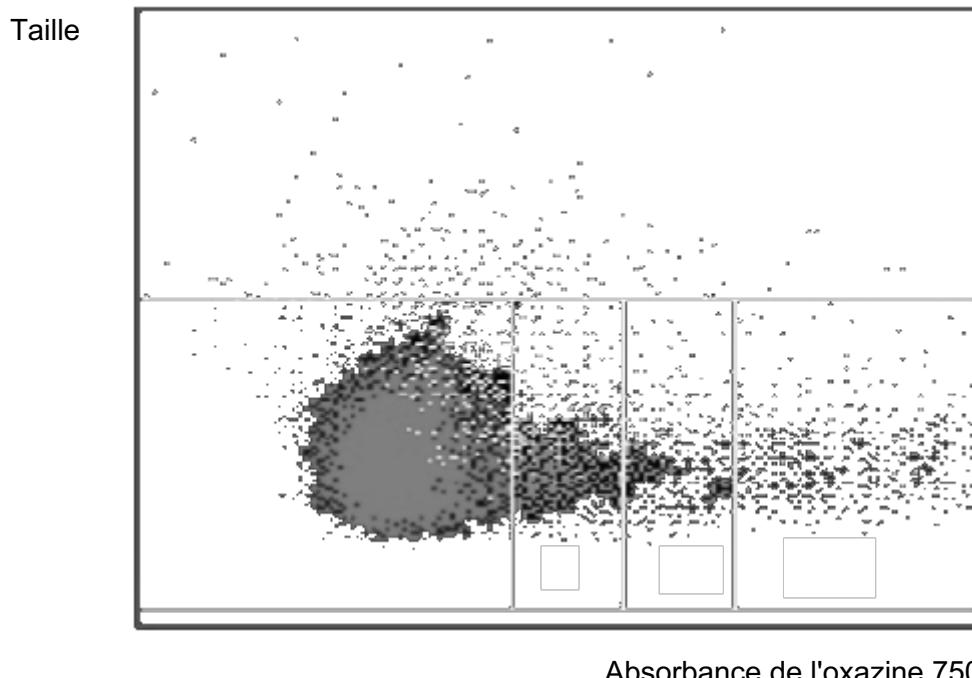
*Documentation ADVIA*



**DOCUMENT 3**  
**À RENDRE AVEC LA COPIE**

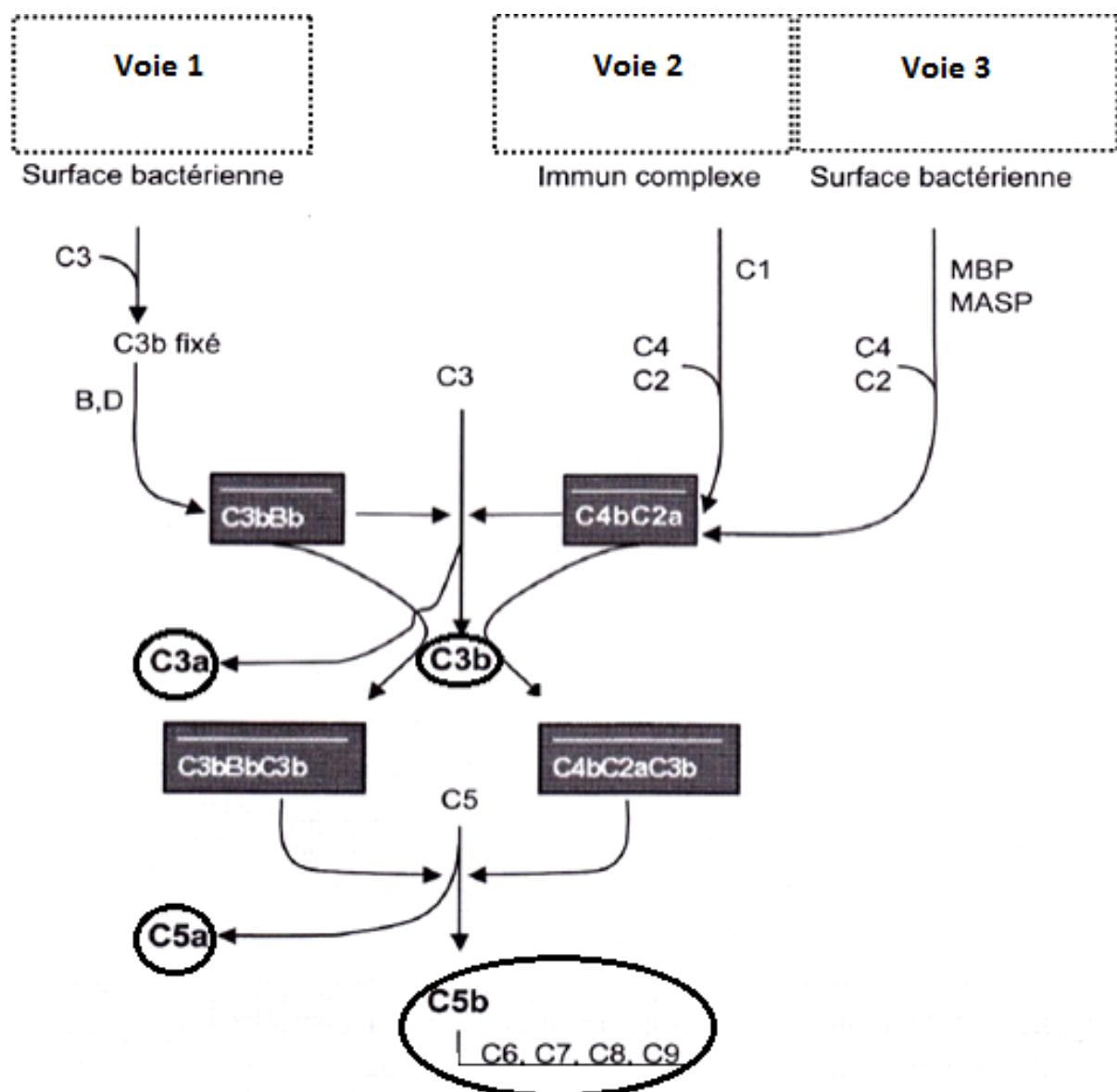
**Histogramme de numération des réticulocytes**

*Documentation ADVIA*



Vue générale des voies du complément et leurs relations

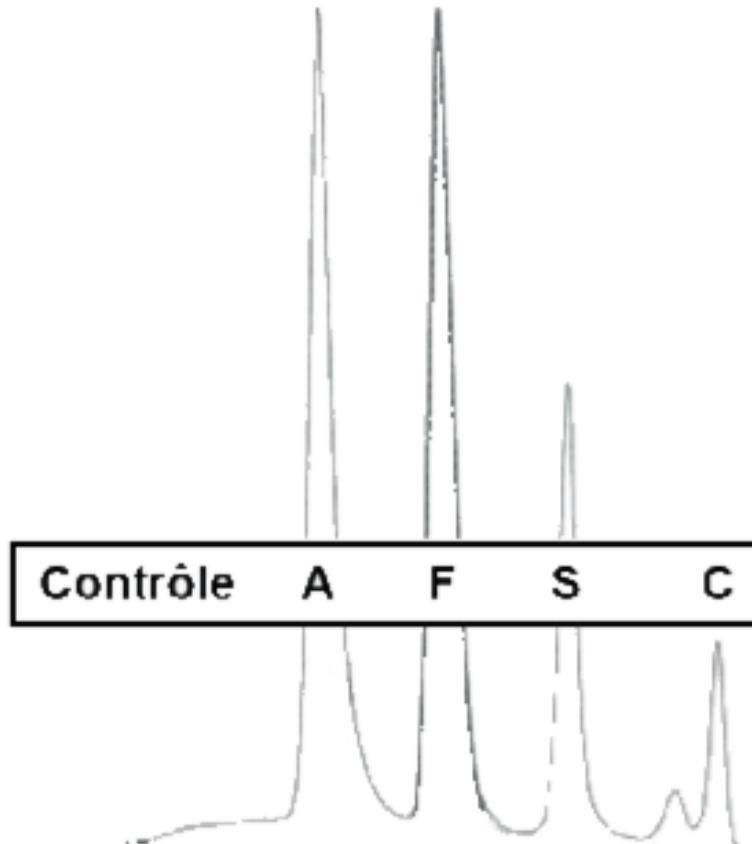
« Immunologie » de Éric Espinosa et Pascal Chillet, éditions ellipses, nov. 2010.



## DOCUMENT 5

### Résultats d'électrophorèse capillaire du contrôle AFSC

Jle.com (modifié)



## DOCUMENT 6

### **Structure des hémoglobines anormales C et S**

**L'hémoglobine C** est une hémoglobine  $\alpha_2\beta_2$  anormale résultant d'une mutation génétique conduisant à la substitution d'un résidu de glutamate par un résidu de lysine en position 6 de la séquence de la sous-unité  $\beta$ -globine.

**L'hémoglobine S** est une hémoglobine  $\alpha_2\beta_2$  anormale résultant d'une mutation génétique conduisant à la substitution d'un résidu de glutamate par un résidu de valine en position 6 de la séquence de la sous-unité  $\beta$ -globine.

## DOCUMENT 7

### Fiche technique du test immuno-chromatographique Sickle Scan®

*(Extrait traduit à partir de : [www.biomedomics.com](http://www.biomedomics.com))*

#### Principe du test :

Le kit de test Sickle SCAN® est un kit rapide et qualitatif de dosage immunologique en flux latéral des hémoglobines A, S et C pour l'identification de la pathologie des cellules falciformes.

Une petite quantité de sang, cinq microlitres, est prise par piqûre au bout du doigt, talon ou ponction veineuse en utilisant l'échantillonneur capillaire fourni. L'échantillonneur est placé dans le module de prétraitement chargé tamponné pour libérer l'hémoglobine en lysant des erythrocytes. Cinq gouttes de l'échantillon traité sont retirées du flacon de prétraitement et ajoutées à l'entrée d'échantillon de la cartouche Sickle SCAN®. L'échantillon traité traverse la cartouche d'essai pendant 5 minutes avant que le résultat ne soit lu.

L'échantillon interagira avec les nanoparticules de détecteurs colorimétriques conjugués aux anticorps et se déplacera vers les zones de capture. Un total de quatre lignes de détection sont possibles, la ligne de contrôle (Ctrl) apparaissant lorsque l'échantillon a été écoulé à travers la cartouche. La présence de variantes d'hémoglobine A, S et C sera indiquée par une ligne bleue dans cette région.

#### CONTENU DU KIT

Un kit de test Sickle SCAN® contient :

- |  |    |
|--|----|
| • Cartouches Sickle SCAN®                        | 20 |
| • Échantillonneur capillaire                     | 20 |
| • Modules de prétraitement (contenant un tampon) | 20 |
| • Paquet   | 1  |

Une cartouche Sickle SCAN® contient :

- Réactifs séchés avec stabilisateurs
- Anticorps de capture anti-HbA, HbS, HbC polyclonaux
- Les anticorps IgG monoclonaux (anti-hémoglobine) conjugués aux nanoparticules teintées

Matériaux non fournis mais requis :

- Lancette
- Lingettes d'alcool
- Gants
- Minuterie

<p>①</p> 	<p>②</p> 
<p>Ne pas ouvrir la poche jusqu'à ce qu'elle soit prête à l'emploi.</p> <p>Préparer les matériaux nécessaires :</p> <p>A: cartouche Sickle SCAN®</p> <p>B: flacon tampon prétraitement</p> <p>C: échantillonneur capillaire (volume de 5 µL)</p> <p>* Flacon de prétraitement d'étiquettes et cartouche de test avec identification du patient</p>	<p>Obtenir une goutte de sang en utilisant des protocoles de laboratoire standard.</p> <p>* Pour le talon ou l'échantillonnage par voie intraveineuse, suivre les protocoles de laboratoire standard.</p>

 <p>③</p>	 <p>④</p>
<p>À l'aide de l'échantillonneur capillaire, obtenez 5 µL d'échantillon sanguin à la pointe du doigt.            * Prenez soin d'aspirer l'échantillon par capillarité ;            Ne pas serrer le flacon de distribution</p>	<p>Ouvrez le flacon de prétraitement et immergez la pointe de l'échantillonneur dans le module. Distribuer l'échantillon dans le tampon.            * Faire attention en ouvrant le flacon de prétraitement, car il contient un volume pré-mesuré de tampon d'extraction</p>
 <p>⑤</p>	 <p>⑥</p>
<p>Remplacer et serrer fermement le capuchon sur le flacon.</p>	<p>Retourner le flacon et mélanger 3 fois, permettant un mélange complet de l'échantillon avec le tampon.</p>
 <p>⑦</p>	 <p>⑧</p>
<p>Retirer le bouchon coloré du flacon de prétraitement            * Retirer les bulles d'air dans le compte-gouttes            Distribuer immédiatement 5 gouttes dans la cartouche Sickle SCAN®.            * Testez sur une surface plane à température ambiante.</p>	<p>Attendre pendant 5 minutes.            * Les résultats de test exécutés au-delà de 24 heures ne sont pas valides</p>
 <p>⑨</p>	
<p>Lisez les résultats de Sickle SCAN® en regardant la fenêtre de détection.</p>	

## AFFICHAGE DES RÉSULTATS / VALEURS ATTENDUES

Un total de quatre lignes de détection sont possibles, la ligne de contrôle (Ctrl) apparaissant lorsque l'échantillon a été écoulé à travers la cartouche. La présence de variantes d'hémoglobine A, S et C supérieure à la limite de détection sera indiquée par une ligne bleue dans cette région. Le schéma ci-dessous montre les résultats attendus des variantes d'hémoglobine que le fournisseur peut rencontrer.

HbAA   HbAS   HbSS   HbSC



**DOCUMENT 8**

**Vaccins méningococciques - Recommandations d'utilisation**

*Haut conseil de santé publique*

	MENINGITEC® Pfizer holding (France)	MENJUGATEKIT® (Novartis Vaccines and diagnostics SRL)	NEISVAC® (Baxter SAS)
<b>Composition qualitative et quantitative</b>			
	Oligoside de <i>Neisseria meningitidis</i> (souche C11) sérogroupe C 10 microgrammes	Oligoside de <i>Neisseria meningitidis</i> (souche C11) sérogroupe C 10 microgrammes	Polyoside (de-O-acétylé) de <i>Neisseria meningitidis</i> , groupe C, (souche C11) 10 microgrammes
Conjugué à la	protéine porteuse CRM197 de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> environ 15 microgrammes	protéine porteuse CRM197 de <i>Corynebacterium diphtheriae</i> 12,5-25,0 microgrammes	Anatoxine tétanique 10-20 microgrammes
Adsorbé sur	Phosphate d'aluminium 0,125 mg d'Al <sup>3+</sup>	Phosphate d'aluminium 0,3 à 0,4 mg d'Al <sup>3+</sup>	Hydroxyde d'aluminium hydraté 0,5 mg d'Al <sup>3+</sup>
<b>Indications thérapeutiques</b>			
Immunisation active des nourrissons à partir de l'âge de 2 mois, des enfants, des adolescents et des adultes, pour la prévention des maladies invasives dues à <i>Neisseria meningitidis</i> du sérogroupe C. L'utilisation du vaccin doit suivre les recommandations officielles.			
<b>Posologie</b>			
Aucune donnée n'est disponible sur l'utilisation de différents vaccins méningococciques du sérogroupe C conjugués pour la primovaccination ou la dose de rappel. Dans la mesure du possible, le même vaccin doit être utilisé pour tout le schéma vaccinal.			
<b>Primo-vaccination</b> Nourrissons de moins de 12 mois: deux doses, de 0,5 ml chacune, avec un intervalle d'au moins deux mois entre les doses. Enfants de 12 mois et plus, adolescents et adultes: une dose unique de 0,5 ml. La date d'administration des doses doit être conforme aux recommandations officielles (Meningitec) <b>Doses de rappel</b> Il est recommandé qu'une dose de rappel soit administrée après la primovaccination effectuée chez les nourrissons de moins de 12 mois. La date d'administration de cette dose doit être conforme aux recommandations officielles disponibles.			



# SESSION 2019

## E2 Mathématiques

2019

Durée : 2 heures Coefficient 1

### Matériel autorisé :

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

### Exercice 1 : (10 points)

*Staphylococcus aureus* (SA), plus communément appelé staphylocoque doré, est une bactérie responsable de nombreuses intoxications alimentaires. Elle est naturellement présente chez l'homme. Déposée sur un aliment et sous certaines conditions (comme notamment la présence suffisante de nutriments), elle se développe très fortement et produit des toxines. Ces toxines, une fois ingérées, sont responsables de troubles alimentaires, qui peuvent aller, dans certains cas extrêmes, jusqu'à la mort de la personne touchée.

### PARTIE A : Équation différentielle

1. Déterminer les solutions sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$  de l'équation différentielle  $20y' - 20,8y = 0$  où  $y$  est une fonction de la variable réelle  $t$ , définie et dérivable sur l'intervalle  $[0 ; +\infty[$ .
2. En déduire la fonction  $f$  solution de cette équation différentielle qui vérifie  $f(0) = 10$ .

### PARTIE B : Modèle exponentiel

On souhaite étudier la croissance de bactéries SA à température ambiante sur un échantillon de mix (le mix est un mélange contenant en grande partie du lait permettant la fabrication de glaces à l'italienne).

On suppose que 10 bactéries sont déposées en même temps sur 1 g de mix. Voici les relevés du nombre de bactéries SA heure par heure, mesuré à partir du moment où les bactéries sont déposées sur le mix.

Heure ( $t_i$ )	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de bactéries SA ( $N_i$ )	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000

1. On effectue un changement de variable de type logarithmique  $Z_i = \ln(N_i)$ . Compléter le tableau donné en **annexe à rendre avec la copie**. On arrondira les valeurs au centième.
2. À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement  $\Delta$  du nuage de points  $(t_i, Z_i)$  par la méthode des moindres carrés sous la forme  $z = at + b$ . On arrondira les valeurs de  $a$  et  $b$  au millième.

3. En utilisant la question précédente, déterminer une expression de la fonction  $N$  qui modélise le nombre de bactéries SA à l'instant  $t$  exprimé en heures.

Dans la suite, on prendra  $N(t) = 10 e^{1,04t}$  pour tout réel  $t$  de l'intervalle  $[0; +\infty[$ . On admet que la fonction  $N$  modélise le nombre de bactéries SA relevées sur le mix en fonction du temps.

4. Une population donnée de bactéries voit son effectif doubler au bout d'un temps appelé «temps de génération bactérienne » et noté  $G$ . Estimer cette durée  $G$  en minutes.
5. Calculer la limite de  $N$  en  $+\infty$ .

## PARTIE C : Modèle logistique

Dans cette partie, on étudie et on utilise un deuxième modèle, appelé modèle logistique et défini par une fonction  $M$ , qui, à tout instant  $t$  exprimé en heures, associe le nombre  $M(t)$  de bactéries de SA à l'instant  $t$  donné par :

$$M(t) = \frac{13500}{1350 \times e^{-1,04t} + 1}$$

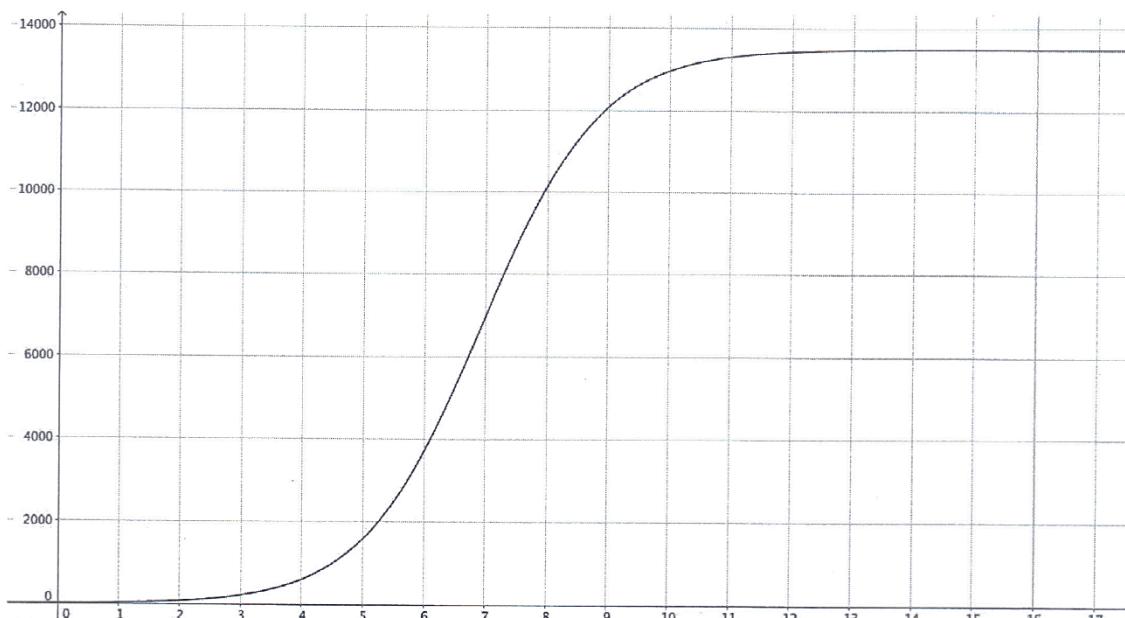
1. La dérivée de  $M$  est fournie par un logiciel de calcul formel :

$$M'(t) = \frac{13500 \times 1350 \times 1,04 \times e^{-1,04t}}{(1350 \times e^{-1,04t} + 1)^2}$$

Étudier les variations de la fonction  $M$  sur l'intervalle  $[0; +\infty[$ .

2. a. Déterminer la limite de  $M$  en  $+\infty$ .  
b. L'un des modèles de croissance de bactéries SA (exponentiel ou logistique) est plus vraisemblable. Lequel ?

*La courbe représentative de la fonction  $M$  est présentée ci-dessous.*



3. Déterminer le temps nécessaire pour que le nombre de bactéries SA dépasse 10 000. Arrondir à l'heure.

*Pour tout instant  $t$  exprimé en heures, le réel  $M'(t)$  est appelé vitesse de prolifération bactérienne.*

4. Dans cette question, on s'intéresse à l'instant où la vitesse de prolifération bactérienne est maximale. Parmi les quatre propositions suivantes, une seule d'entre elles correspond à une valeur approchée de cet instant. Laquelle ? Pourquoi ?

- a.  $t = 4$  h      b.  $t = 7$  h      c.  $t = 9$  h      d.  $t = 16$  h

## Exercice 2 : (10 points)

*Dans cet exercice, les probabilités seront données en valeurs décimales à  $10^{-4}$  près.*

*Les parties A, B et C peuvent se traiter de façon indépendante.*

On s'intéresse à la production industrielle de bouteilles d'eau minérale naturelle ou d'eau de source. On s'intéresse à la qualité de l'eau contenue dans les bouteilles produites : plusieurs paramètres sont pris en compte, notamment microbiologiques (présence de bactéries, de coliformes, de germes...) et physico-chimiques (présence d'arsenic, de nickel...).

### PARTIE A : Eau de source et eau minérale naturelle

En 2017, des analyses identiques ont été menées sur la qualité de l'eau de 126 000 bouteilles produites. Ainsi 37 000 bouteilles d'eau minérale naturelle et 89 000 bouteilles d'eau de source ont été analysées.

Parmi les analyses portant sur les bouteilles d'eau minérale naturelle, on constate que 0,12 % des analyses révèlent une eau non conforme. Parmi celles portant sur les bouteilles d'eau de source, on constate que 0,08 % des analyses révèlent une eau non conforme.

On choisit le résultat d'une analyse d'une bouteille d'eau au hasard parmi toutes celles qui ont été réalisées.

Dans la suite, on notera les événements suivants :

$M$  : « L'analyse porte sur une bouteille d'eau minérale naturelle » ;

$S$  : « L'analyse porte sur une bouteille d'eau de source » ;

$N$  : « L'analyse révèle une eau non conforme ».

1. Calculer les probabilités  $P(M)$  et  $P(S)$ .

*Pour les deux questions suivantes, on pourra s'aider d'un arbre pondéré.*

2. Calculer la probabilité de choisir une analyse qui révèle une eau non conforme.
3. Calculer la probabilité qu'une analyse porte sur une bouteille d'eau minérale naturelle, sachant qu'elle révèle une eau non conforme.

## PARTIE B : Étude du nitrate présent dans l'eau

Une entreprise produisant des bouteilles d'eau minérale naturelle affirme que la moyenne du taux de nitrate de sa production est égale à 4,5 mg/L. L'objectif de cette partie est de juger de la véracité de cette affirmation.

On note  $\mu$  la moyenne, mesurée en mg/L, du taux de nitrate de la production, et  $\sigma$  son écart type.

On réalise 600 prélèvements dans la production. Les résultats sont les suivants :

Taux de nitrate (en mg/L)	[4,2 ; 4,3 [	[4,3 ; 4,4 [	[4,4 ; 4,5 [	[4,5 ; 4,6 [	[4,6 ; 4,7 [	[4,7 ; 4,8 [
Nombre de prélèvements	5	57	181	233	110	14

1. En faisant l'hypothèse que les valeurs observées sont respectivement celles du centre de chaque classe, déterminer, à l'aide de la calculatrice, la moyenne  $\bar{x}$  et l'écart type  $s$  de cet échantillon. On donnera les résultats à  $10^{-4}$  près.
2. Vérifier que  $s = 0,0976$  est un estimateur de l'écart type  $\sigma$ .
3. On souhaite réaliser le test bilatéral suivant, au seuil de 5% :

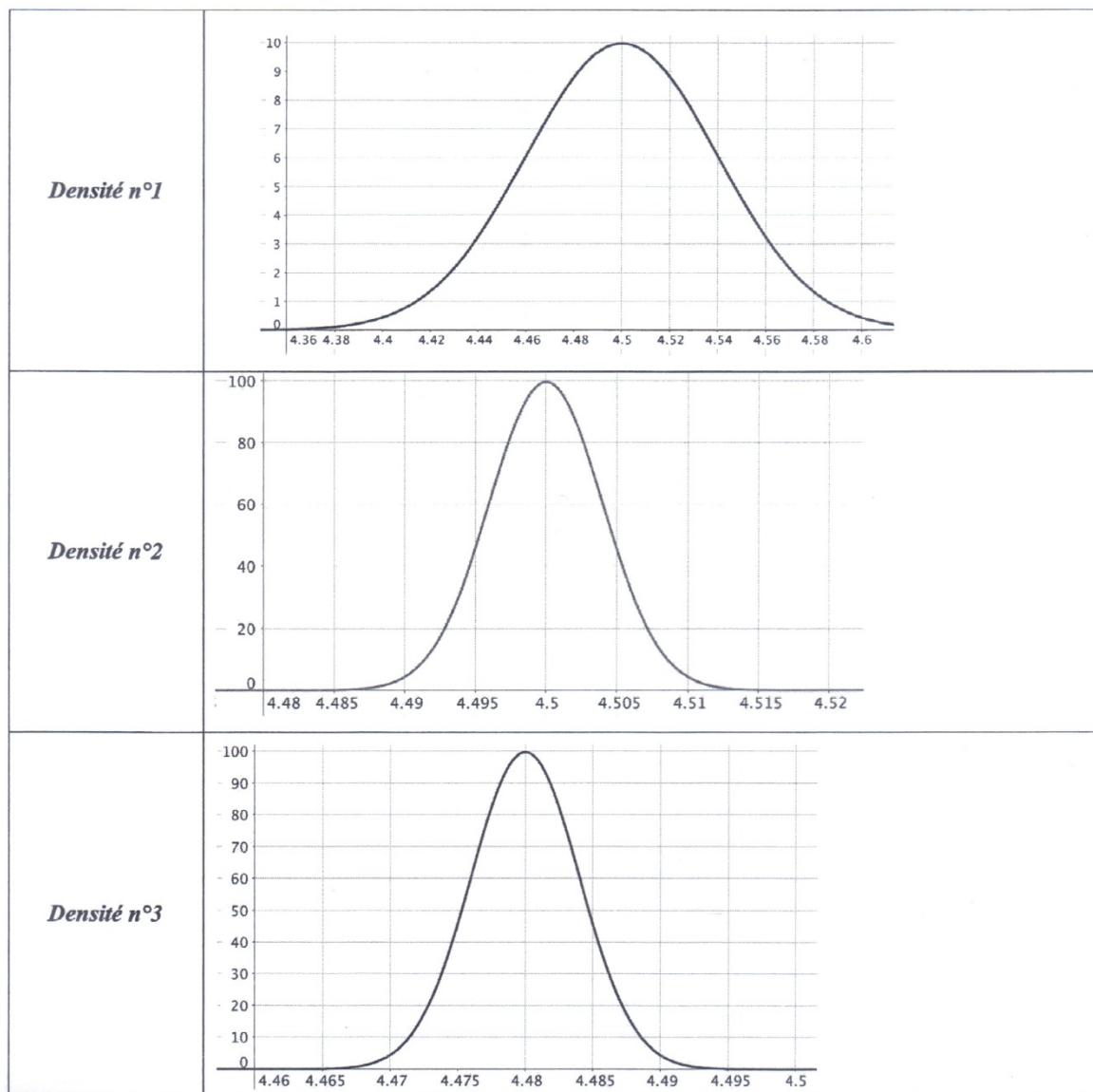
$$H_0 : \mu = 4,5 \text{ contre } H_1 : \mu \neq 4,5.$$

Soit  $\bar{X}$  la variable aléatoire qui à tout échantillon de 600 prélèvements associe la moyenne du taux de nitrate de ces prélèvements. On considère que  $\bar{X}$  suit la loi normale d'espérance  $\mu$  et d'écart type  $\frac{\sigma}{\sqrt{600}}$

Dans la suite, on remplace  $\sigma$  par son estimateur  $s = 0,0976$ . Sous l'hypothèse  $H_0$ ,  $\bar{X}$  suit donc approximativement la loi normale d'espérance 4,5 et d'écart type 0,004.

On a présenté les représentations de trois densités de probabilité ci-après :

- a) Laquelle de ces trois représentations est associée à la variable aléatoire  $\bar{X}$  ? Justifier la réponse.
- b) Donner un nombre réel  $a$  à  $10^{-3}$  près vérifiant :  $P(4,5 - a \leq \bar{X} \leq 4,5 + a) \approx 0,95$ .
- c) Énoncer la règle de décision de ce test.
- d) D'après les résultats obtenus dans l'échantillon donné, peut-on accepter l'hypothèse  $\mu = 4,5$  ?



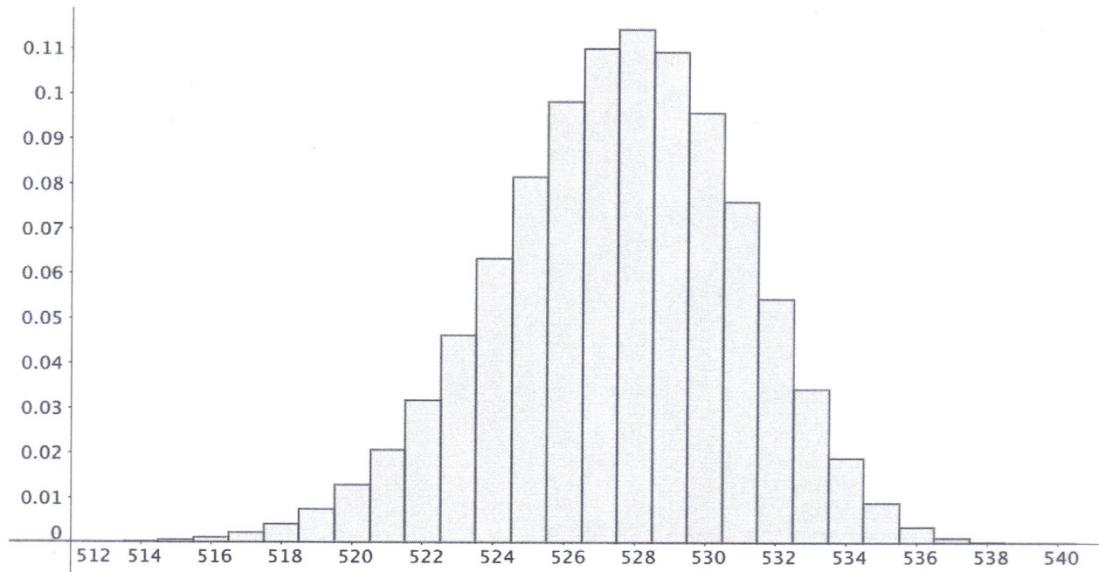
## PARTIE C : Distribution

L'entreprise précédente fournit une grande surface en eau minérale. Chaque semaine, 540 bouteilles contenant un litre d'eau minérale sont réceptionnées par la grande surface.

Une bouteille d'eau minérale d'un litre est de très bonne qualité si elle contient moins de 4,7 mg de nitrate.

On prélève au hasard un lot de 540 bouteilles dans la production, jugée suffisamment importante pour assimiler ce choix à un tirage avec remise. On note alors  $Y$  la variable aléatoire qui, à chaque lot de 540 bouteilles, associe le nombre de bouteilles de très bonne qualité du lot.

On admet que  $Y$  suit une loi binomiale dont une représentation graphique est fournie ci-dessous :



1. Au vu de ce graphique, un biologiste estime que la probabilité qu'un lot de 540 bouteilles prélevé au hasard dans la production contienne moins de 520 bouteilles de très bonne qualité est environ égale à 0,005. A-t-il raison ? Justifier la réponse.
2. On admet que le nombre moyen de bouteilles de très bonne qualité sur l'ensemble des échantillons de 540 bouteilles est égal à 528. Donner alors les paramètres  $n$  et  $p$  de la loi binomiale suivie par la variable aléatoire  $Y$ . On arrondira  $p$  à  $10^{-3}$ .

#### ANNEXE :

Exercice 1- question B.1- À rendre avec la copie

Heure ( $t_i$ )	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Nombre de bactéries SA ( $N_i$ )	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000
$Z_i = \ln(N_i)$									

# E3 Sciences physiques et chimiques 2019

Durée : 2 heures Coefficient 2

## Matériel autorisé :

L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part dans l'appréciation des copies.

## Document annexe : Spectre infrarouge de l'urée

Table spectroscopique IR simplifiée

Ce sujet comporte deux exercices indépendants qui comportent chacun des parties indépendantes. Le premier porte sur l'urée et son dosage au laboratoire et le second sur la technique du biuret qui permet quant à elle le dosage des protéines.

## **Données relatives à tout le sujet**

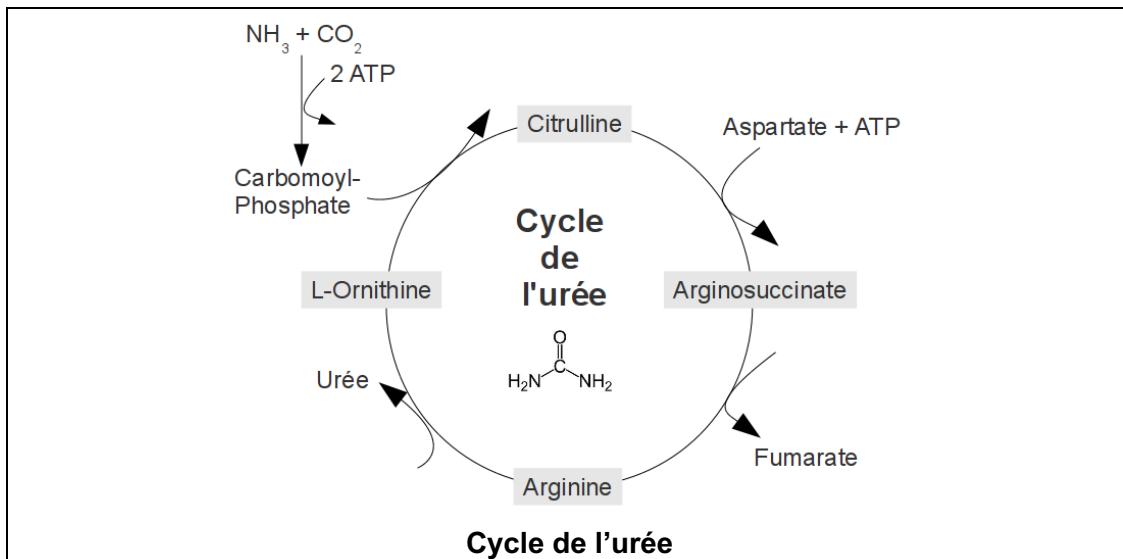
Élément	Hydrogène (H)	Carbone (C)	Azote (N)	Oxygène (O)
Numéro atomique Z	1	6	7	8
Électronégativité $\chi$	2,2	2,5	3,0	3,4
Masse molaire atomique en $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	1,0	12	14	16

- Produit ionique  $K_e$  de l'eau à 25°C :  $K_e = [\text{H}_3\text{O}^+] \times [\text{OH}^-] = 10^{-14}$
- On note  $K_a$  la constante d'acidité associée au couple acide/base noté HA / A<sup>-</sup>.
- Relation entre le pH et le p $K_a$  associée au couple acide/base noté HA / A<sup>-</sup> :  
$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \left( \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$
- Couple CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O / HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a un p $K_a$  égal à 6,3.

## **Exercice I : L'urée et son dosage au laboratoire**

**Les trois parties A, B et C sont indépendantes.**

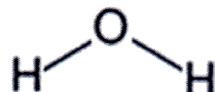
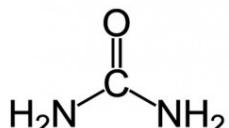
L'urée naturelle a été découverte en 1773 par le pharmacien Hilaire Rouelle. C'est la forme principale d'élimination des déchets azotés qui résultent du métabolisme des protéines humaines. L'urée CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O est formée dans le foie à partir d'ammoniac NH<sub>3</sub>, produit par la désamination de certains acides aminés notamment l'arginine, qui apparaît dans le cycle ci-dessous. L'urée est complètement filtrée, puis est ensuite éliminée de l'organisme par l'urine.



## PARTIE A : Caractéristiques de la molécule d'urée

**Q1**

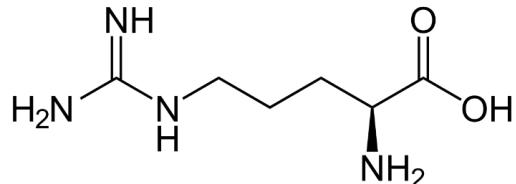
**Q1.1** Dans la molécule d'urée et dans la molécule d'eau, dont on indique les formules ci-dessous, les liaisons N-H et C=O d'une part et les liaisons O-H d'autre part sont-elles polarisées ? Si oui indiquer à chaque fois l'atome qui possède une charge partielle négative et justifier.



**Q1.2** L'urée est un composé organique très soluble dans l'eau. Proposer une explication.

**Q2.** Déterminer, en relevant les nombres d'onde correspondants, les liaisons dont les vibrations apparaissent sur le spectre infrarouge de l'urée en annexe et dont les nombres d'ondes sont supérieures à  $1500 \text{ cm}^{-1}$ .

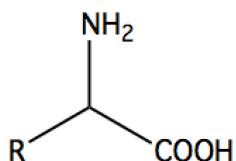
*L'urée est formée dans le foie à partir d'ammoniac produit par la désamination de certains acides aminés notamment l'arginine. L'arginine est un acide  $\alpha$  aminé de formule topologique donnée ci-dessous :*



**Q3.** Recopier la formule topologique de l'arginine en entourant et en nommant le ou les groupes fonctionnels caractérisant un acide  $\alpha$  aminé.

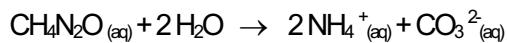
**Q4.** Donner la définition d'un atome de carbone asymétrique et identifier le ou les atomes de carbone asymétrique de l'arginine par un astérisque (\*) sur la formule recopiée précédemment.

**Q5.** En utilisant la formule simplifiée ci-dessous, représenter en convention de Cram, l'isomère S de l'arginine. Justifier l'ordre de priorité des groupes.



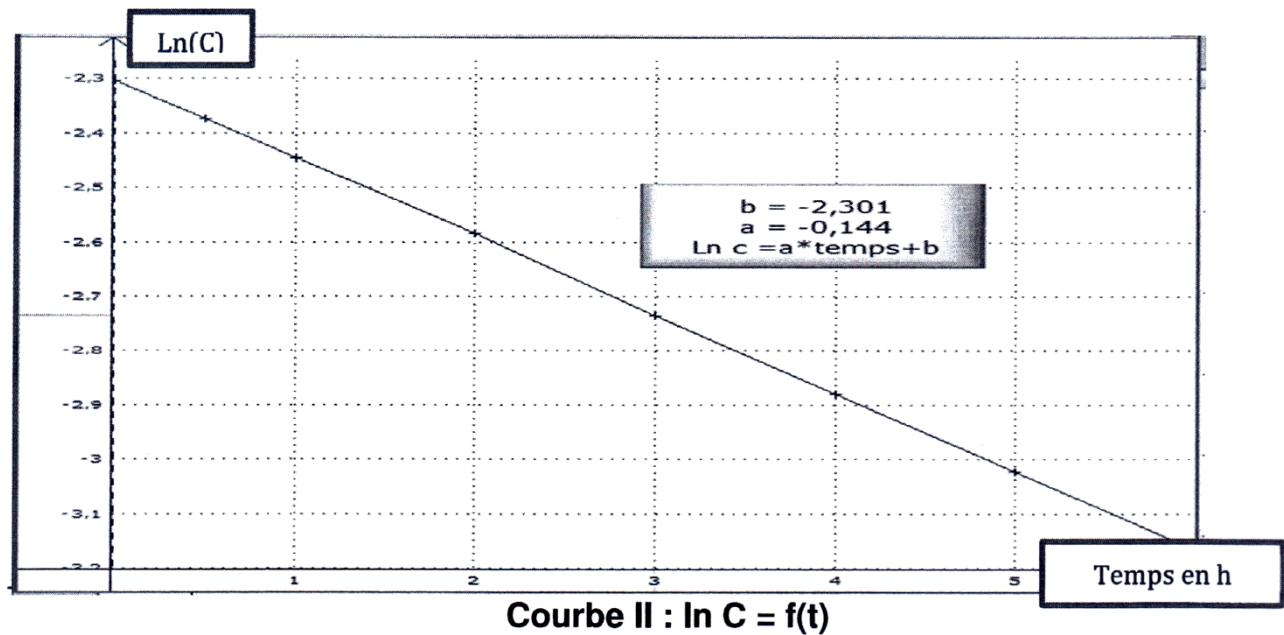
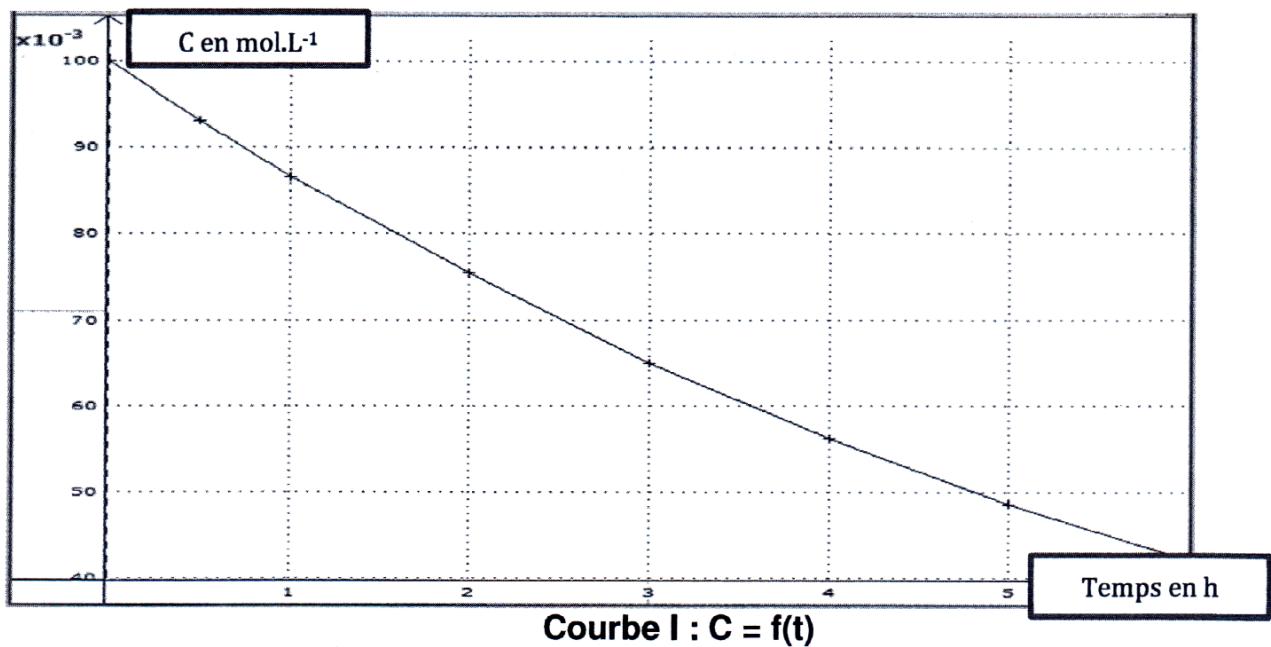
## PARTIE B : Cinétique de décomposition de l'urée

En solution aqueuse, l'urée est susceptible de se décomposer en carbonate d'ammonium selon la réaction :



On note  $k$  la constante de vitesse de cette réaction.

Une expérience est effectuée pendant laquelle on mesure, au cours du temps, l'évolution de la concentration  $C$  en urée dans une solution aqueuse diluée. Tout au long de l'expérience la température est maintenue à 350 K. Les résultats sont donnés dans les graphes ci-dessous. On précise que sur les courbes le temps est exprimé en heures. La concentration initiale  $C_0$  de l'urée est de  $0,100 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .



- Q6.** La vitesse de la réaction est définie comme étant la vitesse de disparition de l'urée. Donner l'expression de cette vitesse en fonction de la concentration  $C$  en urée.

*La vitesse volumique de réaction est également donnée par la loi de vitesse  $v = k \cdot C^\alpha$  où  $\alpha$  est l'ordre de la réaction par rapport à l'urée et  $k$  la constante de vitesse associée.*

**Q7.** Déterminer graphiquement la valeur du temps de demi-réaction  $t_{1/2}$  dont on rappelle la définition : c'est la durée au bout de laquelle la moitié de la quantité de matière initiale d'urée a disparu.

**Q8.** Montrer que les résultats permettent de prouver que l'ordre est  $\alpha = 1$  par rapport à l'urée, en explicitant la méthode mise en œuvre.

## **PARTIE C : Analyse de l'urée au laboratoire**

*L'urémie est le taux d'urée dans le sang. Un taux trop élevé est un des signes de l'insuffisance rénale car l'urée est normalement éliminée par les reins. Une urémie élevée peut entraîner des nausées et des vomissements voire un coma.*

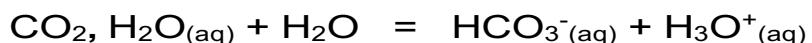
**Q9.**

**Q9.1** Déterminer la valeur de la masse molaire moléculaire de l'urée.

**Q9.2** L'analyse au laboratoire du taux d'urée dans le sang d'une patiente de 70 ans fournit une valeur de  $0,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . Une urémie normale se situe entre  $2,8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  et  $8,1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  pour une femme de cet âge. L'urémie de cette patiente est-elle normale ?

*En cas d'insuffisance rénale, le rein ne joue plus correctement son rôle de filtre et le sang a tendance à s'acidifier (acidose du sang). Chez l'Homme, le pH du sang est compris dans des limites très étroites: 7,36 à 7,42.*

Le maintien de la valeur du pH se fait principalement par le tampon « bicarbonate » formé à partir du couple acide-base  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  /  $\text{HCO}_3^-$  (couple dioxyde de carbone dissous / ion hydrogénocarbonate) et conduisant à un équilibre chimique :



**Q10.** Identifier, en justifiant la réponse, l'espèce prédominante de ce couple dans le sang au niveau des tissus pour un pH du sang égal à 7,4.

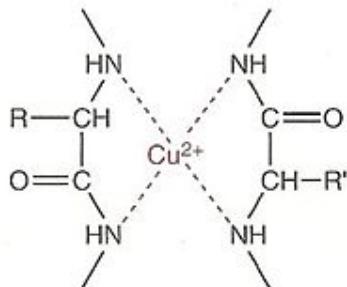
**Q11.** Les boissons contenant des ions hydrogénocarbonate  $\text{HCO}_3^-$  sont conseillées en cas d'insuffisance rénale. Proposer une explication.

## Exercice II : La méthode du biuret

### PARTIE A : Étude de la méthode du biuret

#### Document 1 : principe de la méthode du biuret

En milieu alcalin, les protéines forment avec les ions cuivre II ( $\text{Cu}^{2+}$ ) un complexe cuivre II - protéine (figure ci-contre) coloré. La méthode tire son nom de la molécule de biuret qui donne une coloration violette avec les ions cuivre II. La mesure de l'absorbance se fait à 540 nm après avoir laissé la coloration se développer 30 minutes. Les ions cuivre II sont introduits dans le milieu à doser par le biais d'un réactif qui les contient sous forme complexée : le réactif de Gornall.

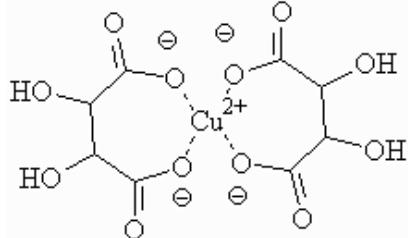


Complexe cuivre II - protéine

#### Document 2 : le réactif de Gornall

Le réactif de Gornall est une solution aqueuse qui contient :

- du sulfate de cuivre pentahydraté ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), qui donne la coloration bleue du réactif due aux ions cuivre dont la concentration molaire est  $[\text{Cu}^{2+}] = 3,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ;
- de l'hydroxyde de sodium ( $\text{Na}^+ + \text{HO}^-$ ) à la concentration molaire  $0,20 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , qui rend le milieu basique ;
- du tartrate double de sodium et de potassium ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) qui « chélate » (piège) les ions  $\text{Cu}^{2+}$  sous forme de complexe cuivre II-tartrate (figure ci-contre) et évite leur précipitation en milieu alcalin sous forme d'hydroxyde de cuivre  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  insoluble.



Complexe cuivre II - tartrate

Après introduction du réactif de Gornall dans un milieu contenant des protéines, le complexe cuivre II-tartrate est détruit au profit de la formation du complexe cuivre II - protéine.

**Q12.** On s'intéresse au réactif de Gornall.

**Q12.1** Écrire la réaction de précipitation des ions cuivre II en hydroxyde de cuivre et donner l'expression de sa constante d'équilibre  $K$  en fonction des concentrations  $[\text{OH}^-]$  et  $[\text{Cu}^{2+}]$  à l'équilibre.

**Q12.2** On note  $K_s$  le produit de solubilité de l'hydroxyde de cuivre. Justifier que  $K_s = 1 / K$ .

**Q12.3** Le  $pK_s$  de l'hydroxyde de cuivre vaut 19,3. En utilisant cette valeur, montrer que la précipitation de l'hydroxyde de cuivre pourrait avoir lieu dans le réactif de Gornall s'il ne contenait pas de tartrate double de sodium et de potassium mais seulement des ions cuivre II à la concentration  $[\text{Cu}^{2+}] = 3,0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  et des ions hydroxyde à la concentration  $[\text{HO}^-] = 0,20 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

*Cette précipitation est empêchée par les ions tartrate qui chélatent les ions cuivre selon le complexe cuivre II-tartrate (document 2).*

**Q13.** Écrire la réaction de complexation des ions cuivre II par deux ions tartrate  $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$ , notés  $T^2-$ .

## PARTIE B : Dosage des protéines par la méthode du biuret

### Document 3 : Mode opératoire

À partir d'une solution mère de protéines (sérum albumine bovine) on réalise une gamme de concentrations dans différents tubes, le volume de solution dans chaque tube étant de 1,0 mL. Chaque tube de la gamme ou d'échantillon à doser est mis à réagir avec 4,0 mL de réactif de Gornall. Après développement de la coloration, on mesure les absorbances à 540 nm après avoir fait le blanc avec un tube témoin (TR).

Gamme étalon réalisée :

Tubes (1,0 mL)	TR	n°1	n°2	n°3	n°4
Concentration C en protéine ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	0	2,0	4,0	6,0	8,0
Absorbance	0	0,093	0,191	0,286	0,380

Dosage du plasma :

*Dans les mêmes conditions pour un échantillon de volume  $V = 1,0 \text{ mL}$  préparé à partir de plasma, on obtient une absorbance  $A=0,165$ . Les mesures expérimentales conduisent à la modélisation mathématique suivante :  $A = 4,8 \cdot 10^{-2} \times C$ .*

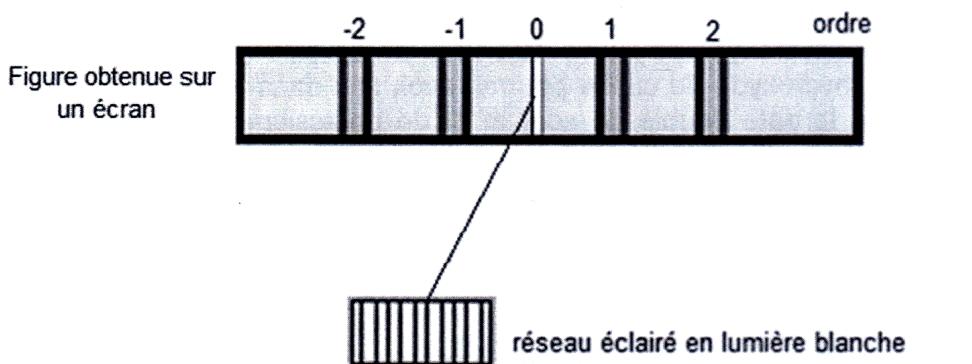
**Q14.** Expliquer en quoi cette modélisation mathématique vérifie la loi de Beer-Lambert.

**Q15.** Déterminer la valeur de la concentration en protéines  $C_p$  dans l'échantillon dosé.

**Q16.** L'échantillon à doser (volume 1,0 mL) a été préparé à partir d'un volume  $V_0 = 50 \mu\text{L}$  de plasma. Par combien ce plasma a-t-il été dilué pour obtenir l'échantillon à doser ? En déduire la concentration en protéines,  $C_{\text{protéines}}$ , dans le plasma.

*On s'intéresse maintenant au spectrophotomètre, plus particulièrement à son monochromateur constitué d'un réseau de diffraction. Ce réseau comporte une série de traits très fins. Dans le spectromètre étudié le réseau comporte 2000 traits par millimètre.*

*On éclaire ce réseau en lumière blanche. Sur un écran, on obtient alors une série de spectres continus, chaque spectre correspondant à un ordre donné (0, 1, 2 par exemple).*



**Q17.** Expliquer à quoi est due l'obtention de spectres continus observés sur l'écran.

*On éclaire le réseau avec un laser rouge.*

**Q18.** Le faisceau produit par le laser est qualifié de lumière monochromatique. Expliquer ce terme.

**Q19.** Décrire ce que l'on observe sur l'écran avec le laser.

On éclaire le réseau avec une lampe à vapeur de sodium qui a la particularité de présenter un spectre de raies, notamment deux raies jaunes très proches qui constituent un doublet. On souhaite savoir si le réseau utilisé peut les séparer.

Le pouvoir de résolution d'un réseau est sa capacité à séparer deux longueurs d'ondes différentes. Il est défini par la grandeur  $R$ . Pour un réseau possédant un nombre de traits  $N$  sur sa largeur éclairée  $L$ , il est défini par :  $R = k \times N = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}$  où  $k$  représente l'ordre du spectre et  $\Delta\lambda$  la différence maximale entre deux longueurs d'ondes séparables.

**Q20.** Le réseau utilisé est éclairé sur une largeur  $L = 5$  cm. Calculer son pouvoir de résolution  $R$  à l'ordre 2.

**Q21.** Ce réseau permet-il, à cet ordre, de séparer les raies jaune du doublet D du sodium de longueurs d'onde respectives  $\lambda_1 = 589$  nm et  $\lambda_2 = 589,9$  nm ?

#### ANNEXE

Spectre infrarouge de l'urée (source : <http://sdbs.db.aist.go.jp>)

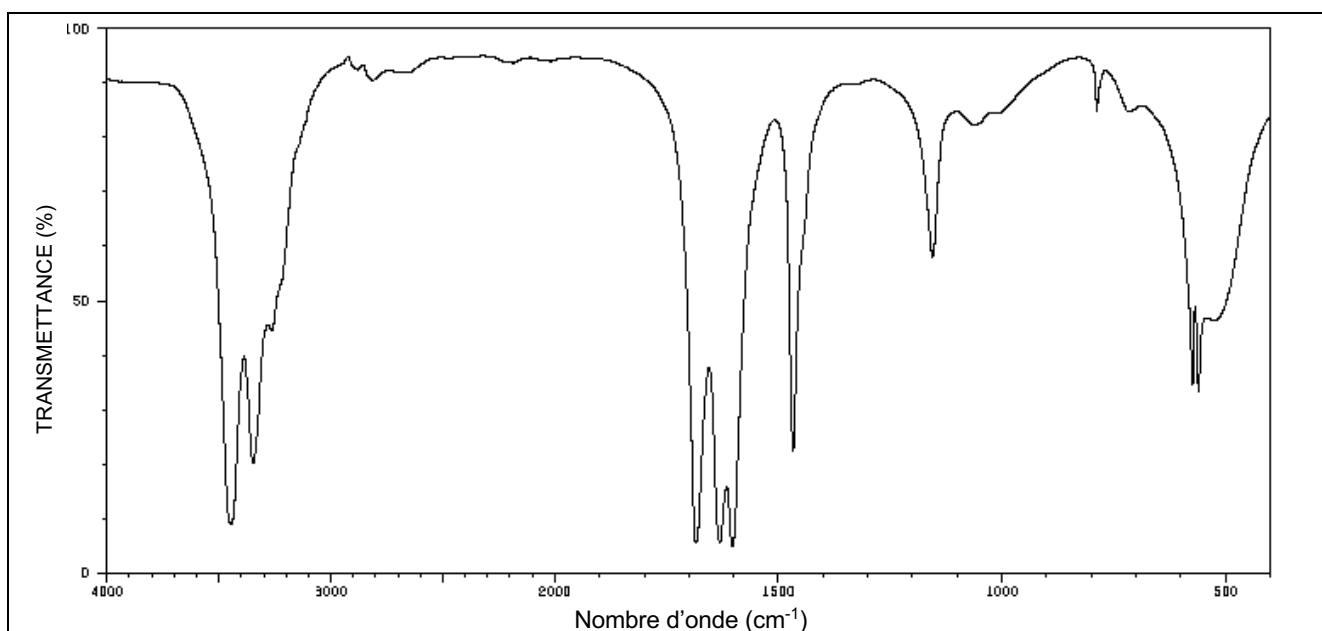


Table spectroscopique IR simplifiée

Liaison	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Intensité
O-H alcool libre	3500 - 3700	forte, fine
O-H alcool lié	3200 - 3400	forte, large
O-H acide carboxylique	2500 - 3200	forte à moyenne, large
N-H amine	3100 - 3500	moyenne
N-H amide	3100 - 3500	forte
N-H amine ou amide	1560 - 1640	forte ou moyenne
C <sub>tri</sub> - H	3000 - 3100	moyenne
C <sub>tét</sub> - H	2800 - 3000	forte
C = O ester	1700 - 1740	forte
C = O amide	1650 - 1740	forte
C = O aldéhyde et cétone	1650 - 1730	forte
C = O acide	1680 - 1710	forte

#### Remarque :

C<sub>tri</sub> signifie que l'atome de carbone est trigonal, c'est-à-dire relié à trois voisins.

C<sub>tét</sub> signifie que l'atome de carbone est tétragonal, c'est-à-dire relié à quatre voisins.

**Durée : 3 heures Coefficient 2**

**Aucun document ou matériel autorisé.**

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

## **L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE**

Un patient de 45 ans présente les symptômes suivants : asthénie, perte de poids, arthropathie, douleurs abdominales. Son médecin généraliste suspecte un dérèglement du métabolisme du fer dont l'étiologie peut être l'hémochromatose héréditaire (HH).

L'HH est une pathologie liée à une augmentation de l'absorption duodénale du fer ayant pour conséquence son accumulation dans l'organisme. Cette maladie génétique est la plus fréquente en France. Sans traitement elle évolue insidieusement et risque de provoquer des atteintes graves, telles qu'une cirrhose, un diabète, une cardiomyopathie, qui sont susceptibles d'entrainer un décès prématuré.

### **1. Recherche d'une anomalie du métabolisme du fer (6 points)**

#### **1.1. Détermination du coefficient de saturation de la transferrine (CS-Tf)**

**1.1.1. Identifier et expliquer** le principe de la méthode de dosage de la transferrine.

Afin de valider techniquement le dosage de la transferrine, un CIQ haut et un CIQ normal sont utilisés.

**1.1.2. Expliquer** le rôle de chaque niveau de contrôle.

**1.1.3. Exploiter** le diagramme de Levey-Jennings selon les règles de Westgard et conclure.

**1.1.4. Calculer** le CS-Tf du patient.

**1.1.5. Analyser** le résultat obtenu.

**Données :**

Mesures obtenues pour le patient	
Fer ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	72,0
Transferrine ( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	4,00

#### **1.2. Dosage de la ferritine plasmatique**

**1.2.1. Indiquer** le rôle de la ferritine.

**1.2.2. Réaliser** le schéma des étapes du dosage.

**1.2.3. Identifier** la molécule de la cartouche FER qui présente un danger pour la santé.

**Expliquer** la différence de danger entre les puits 8 et 10.

### **2. Recherche de la mutation C282Y du gène HFE (10 points)**

La mesure du CS-Tf et de la ferritinémie du patient concordent avec une suspicion d'HH. Cette pathologie est généralement liée au gène HFE. C'est une maladie génétique de transmission autosomique récessive.

**2.1. Définir** « autosomique » et « récessive ».

**2.2. Donner** les légendes correspondant aux numéros 1 à 4 du **document 4**.

Le gène HFE code une protéine de 348 acides aminés formant une chaîne  $\alpha$  organisée en trois domaines extracellulaires ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  et  $\alpha_3$ ), un domaine transmembranaire et un court domaine C-terminal intra-cytoplasmique. Le domaine  $\alpha_3$  interagit, grâce à des liaisons faibles, avec une  $\beta$ 2-microglobuline essentielle à sa fonction.

**2.3. Définir la structure tertiaire d'une protéine.**

**2.4. Donner deux exemples de liaisons faibles susceptibles de permettre l'interaction de la protéine HFE avec la  $\beta$ 2-microglobuline.**

Une mutation majeure du gène HFE est retrouvée chez plus de 90 % des sujets atteints d'HH. Il s'agit de la mutation C282Y. Elle résulte de la substitution d'un nucléotide au niveau du triplet 282 ayant pour conséquence le remplacement d'une cystéine (C) par une tyrosine (Y). Cette mutation conduit à la rupture d'une liaison covalente essentielle à la structure tertiaire de la protéine HFE.

**2.5. Donner la séquence mutée du triplet 282 provoquant la mutation C282Y. Justifier la démarche.**

**2.6. Nommer la liaison covalente qui est abolie par la mutation C282Y.**

Afin de déterminer la présence de la mutation C282Y dans le génotype du patient, le laboratoire de biologie médicale met en œuvre une PCR en temps réel de type Taqman®.

**2.7. Indiquer la signification du sigle PCR. Donner l'intérêt de cette technique.**

**2.8. Présenter la procédure qui, d'après la fiche technique, permet de préparer le Master-Mix afin de réaliser 10 réactions.**

**2.9. Indiquer ce qui doit être ajouté aux 15  $\mu$ L de Master Mix afin de réaliser un essai NTC.**

**2.10. Décrire le phénomène de dénaturation qui survient lors des étapes du cycle de PCR réalisées à 95 °C.**

**2.11. Présenter les deux rôles de la Taq polymérase.**

**2.12. Indiquer la zone du graphique des résultats où est attendue la mesure de chacun des essais suivants :**

- NTC
- WT-Control
- MUT-Control
- Provenant d'un patient homozygote pour la mutation C282Y

### **3. Recherche de complications (4 points)**

#### **3.1. Dosage des transaminases**

3.1.1. Identifier la méthode de dosage de l'ALAT et donner son principe général.

3.1.2. Retrouver, à partir de la composition du réactif de travail, les équations du dosage de l'ALAT.

3.1.3. Justifier le choix de la longueur d'onde de mesure des absorbances.

Le patient souffrant d'HH présente une  $b_{(ALAT; \text{sérum})}$  supérieure aux valeurs de référence.

3.1.4. Interpréter ce résultat.

### **3.2. Test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)**

3.2.1. Présenter le protocole de réalisation d'une HGPO.

Le tube primaire de prélèvement sanguin requis pour déterminer la glycémie, renferme du fluorure de sodium et de l'héparinate de lithium.

3.2.2. Citer le rôle respectif de ces additifs.

Le patient atteint d'HH réalise un test d'HGPO qui dépiste un diabète.

3.2.3. Donner les résultats attendus en début et en fin d'analyse.

## **DOSSIER TECHNIQUE**

### **Liste des documents**

**Document 1** : Dosage de la transferrine sérique

**Document 2** : Validation technique du dosage de la transferrine sérique

**Document 3** : Extraits de la fiche technique bioMérieux pour le dosage de la ferritine (REF 30411)

**Document 4** : Schéma simplifié de la structure du gène HFE

**Document 5** : Schéma simplifié de la structure de la protéine HFE

**Document 6** : Séquence d'ADN partielle du brin non transcrit de l'allèle HFE non muté

**Document 7** : Code génétique

**Document 8** : Diagnostic de la mutation C282Y par PCR en temps réel de type Taqman®

**Document 9** : Extraits de la fiche technique Biolabo pour le dosage de l'ALAT (REF 80027)

## Document 1

### Dosage de la transferrine sérique

#### Extraits de la fiche technique TRANSFERRINE (TF) de A. MENARINI diagnostics

##### PRINCIPE

L'échantillon réagit avec un tampon contenant un anticorps spécifique pour la transferrine humaine (sidérophilin). L'absorbance de la solution turbide résultant est proportionnelle à la concentration de transferrine dans l'échantillon. En dessinant la courbe d'étalonnage à partir de l'absorbance des étalons, la concentration en transferrine de l'échantillon peut être déterminée.

##### PRELEVEMENT ECHANTILLON ET CONSERVATION <sup>(1)</sup>

Le sérum doit être conservé entre +2 et +8°C pendant un maximum de 72 heures ou congelé à -20°C pendant maximum 6 mois (ne pas recongeler).

##### COMPOSITION DES REACTIFS

Contenu	Concentration Initiale des Solutions
<b>R1. Tampon Test</b>	
Polyéthylène Glycol	6% (p/v)
Tampon Tris/HCl	20 mmol/l, pH 7.4
Chlorure de Sodium	150 mmol/l
Azide de Sodium	0.09% (p/v)
<b>R2. Réactif Anticorps</b>	
Anti transferrine (humaine)	
Tampon Tris/HCl	20 mmol/l, pH 7.4
Chlorure de Sodium	150 mmol/l
Azide de Sodium	0.05% (p/v)

##### MATERIEL FOURNI

Tampon test transférine  
Réactif anticorps transférine

##### MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Étalons Protéines A. MENARINI Diagnostics,

(Cat. N° 37488)

Contrôles Protéines A. MENARINI Diagnostics

Niveau1 Cat. N° 37501

Niveau 2 Cat. N° 37502

Niveau 3 Cat. N° 37503

##### CONTROLE QUALITE

Les Étalons Protéines, les sérums de contrôle niveaux 1, 2 et 3 A. MENARINI Diagnostics sont recommandés pour le contrôle qualité. Deux niveaux de sérum de contrôle doivent être testées au moins une fois par jour. Les valeurs obtenues doivent être comprises dans la gamme spécifiée. Si ces valeurs se trouvent en-dehors de l'intervalle de confiance et que la répétition exclue une erreur, les opérations suivantes doivent être effectuées:

1. Vérifier les réglages de l'appareil et de la source de lumière.
2. Vérifier la propreté de tout l'équipement utilisé.
3. Vérifier l'eau, les contaminants, par exemple, la croissance des bactéries peut contribuer à fournir des résultats non corrects.
4. Vérifier la température de réaction.
5. Vérifier la date d'expiration du kit et des contenus

#### Formule de calcul du coefficient de saturation de la transferrine (CS-Tf) :

$$CS-Tf (\%) = \frac{\text{Fer sérique } (\mu\text{mol.L}^{-1})}{\text{Transferrine sérique } (\text{g.L}^{-1}) \times 25} \times 100$$

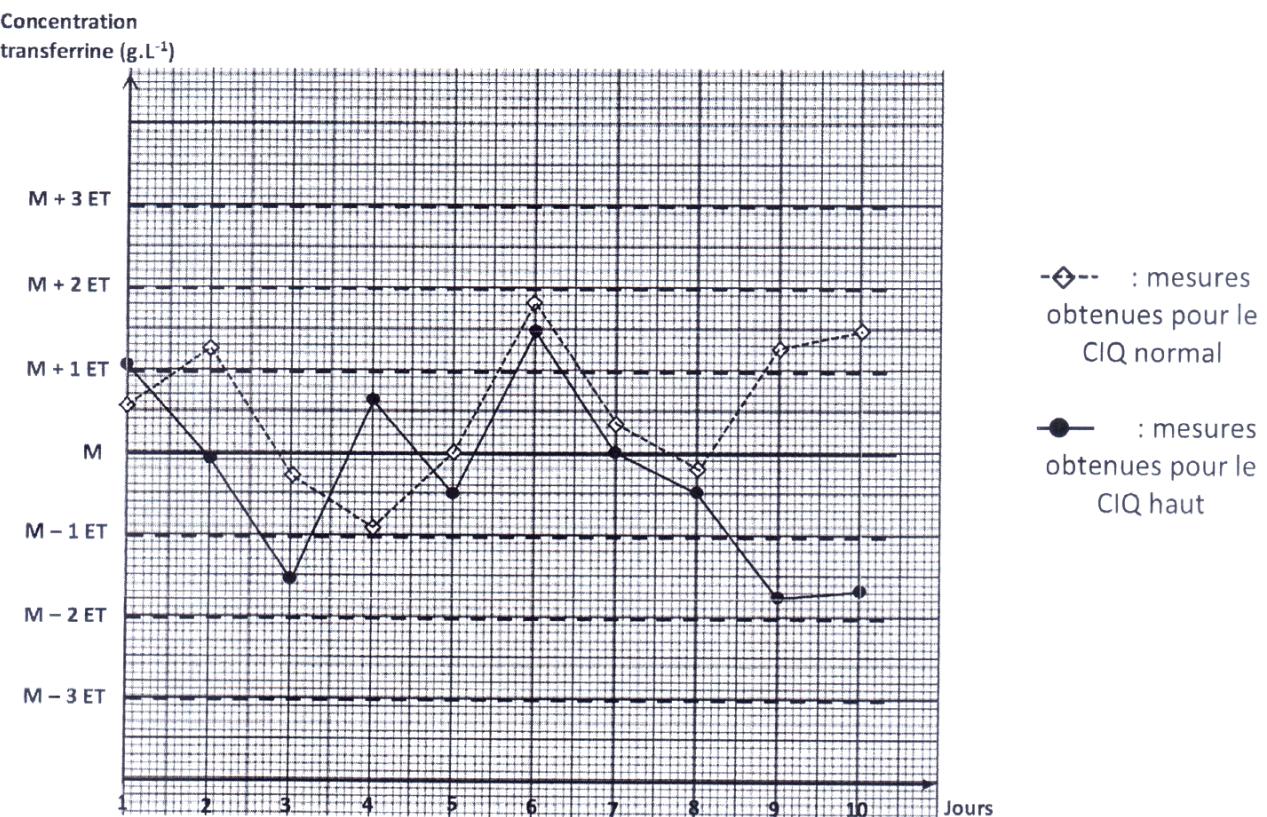
#### Valeurs de référence :

CS-Tf (%)	
A la naissance	55-65
Nourrisson	10-30
Enfant	10-30
Homme adulte	20-40
Femme adulte	15-35

## Document 2

### Validation technique du dosage de la transferrine sérique

#### Diagramme de Levey-Jennings



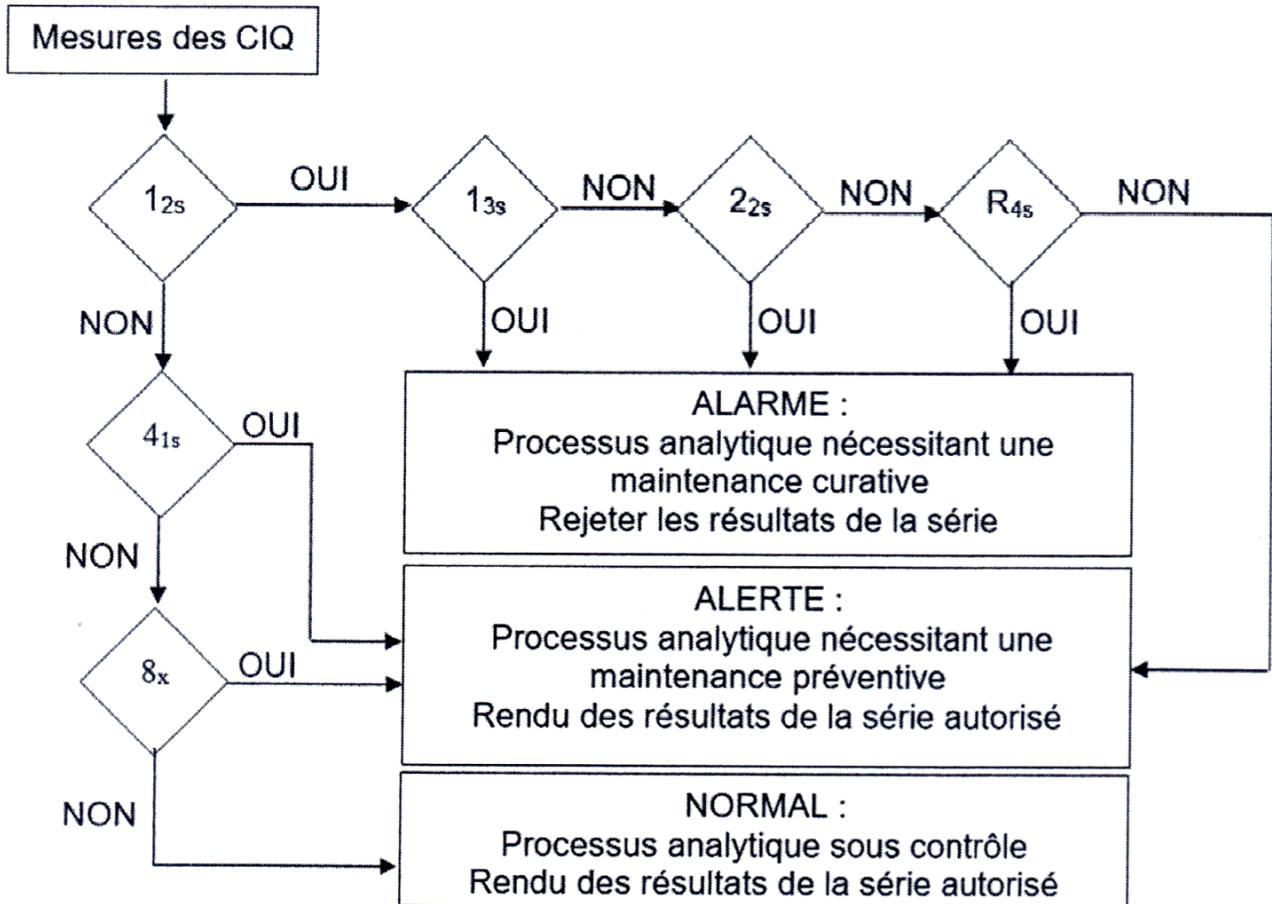
#### Règles de Westgard à ne pas transgresser

<b>1<sub>2s</sub></b>	1 mesure d'un des deux contrôles est au-delà de +2 ET ou de -2 ET
<b>1<sub>3s</sub></b>	1 mesure d'un des deux contrôles est au-delà de +3 ET ou de -3 ET
<b>2<sub>2s</sub></b>	<i>Inter-série</i> : 2 mesures consécutives d'un des deux contrôles est au-delà de +2 ET ou de -2 ET <i>Intra-série</i> : chaque mesure des deux contrôles est éloignée de +2 ET ou de -2 ET, du même côté de la moyenne
<b>R<sub>4s</sub></b>	<i>Inter-série</i> : 2 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont éloignées de plus de 4 ET <i>Intra-série</i> : une mesure d'un contrôle est inférieure à -2 ET et la mesure de l'autre contrôle est supérieure à +2 ET
<b>4<sub>1s</sub></b>	<i>Inter-série</i> : 4 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET, du même côté de la moyenne <i>Intra-série</i> : les 2 niveaux de contrôles ont 2 mesures consécutives du même côté de la moyenne qui sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET
<b>8x</b>	<i>Inter-série</i> : 8 mesures consécutives d'un des deux contrôles sont du même côté de la moyenne <i>Intra-série</i> : les 2 niveaux de contrôles ont 4 mesures consécutives qui sont du même côté de la moyenne

**Inter-série** : mesures obtenues pour le CIQ normal ou le CIQ haut

**Intra-série** : mesures obtenues pour le CIQ normal et le CIQ haut

## Logigramme décisionnel



## Document 3

### Extraits de la fiche technique bioMérieux pour le dosage de la ferritine (REF 30411)

#### PRINCIPE

Le principe du dosage associe la méthode immunoenzymatique par sandwich en 1 étape à une détection finale en fluorescence (ELFA).

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs de la réaction immunologique sont prêts à l'emploi et pré-répartis dans la cartouche.

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel.

Lors de l'étape finale de révélation, le substrat (4-Méthyl-ombelliferyl phosphate) est aspiré puis refoulé dans le cône ; l'enzyme du conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat en un produit (4-Méthyl-ombelliferone) dont la fluorescence émise est mesurée à 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de l'antigène présent dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport à une courbe de calibration mémorisée, puis imprimés.

#### COMPOSITION DES REACTIFS DU COFFRET (60 TESTS)

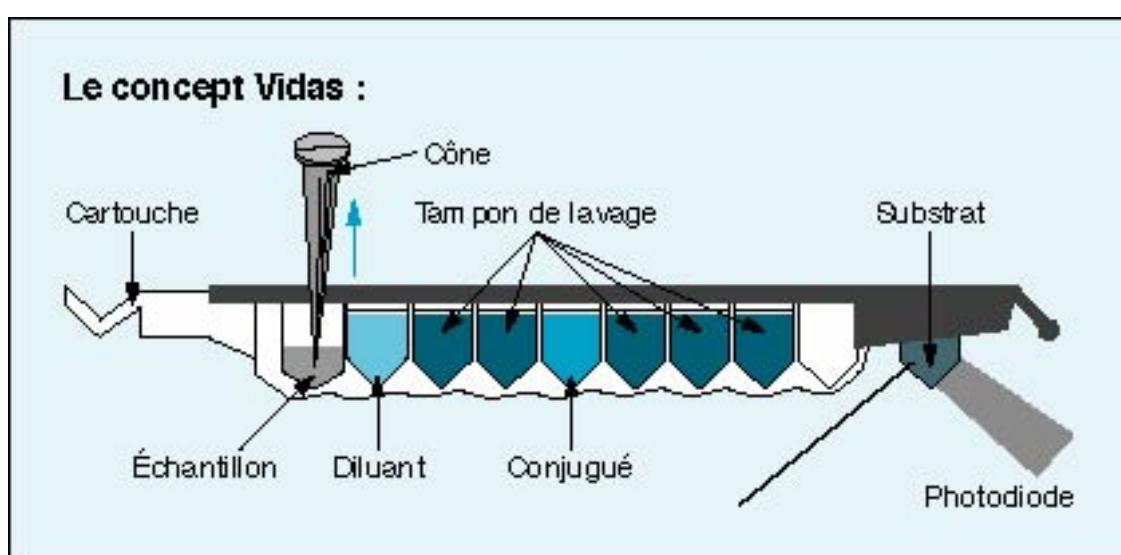
60 cartouches FER	STR	Prêts à l'emploi.
60 cônes FER 2x30	SPR	Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par des immunoglobulines monoclonales de souris anti-Ferritine.

#### Description de la cartouche FER

Puits	Réactifs
1	Puits échantillon.
2-3-4	Puits vides.
5	Conjugué : immunoglobulines monoclonales de souris anti-Ferritine marquées à la phosphatase alcaline + azoture de sodium 1 g/L (600µL).
6-7	Tampon de lavage : phosphate de sodium (0,01 mol/l) pH 7,4 + azoture de sodium 1 g/l (600µL).
8	Tampon de lavage : diéthanolamine* (1,1 mol/L soit 11,5 %, pH 9,8) + azoture de sodium 1 g/L (600 µL).
9	Puits vide.
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-Méthyl-ombelliferyl phosphate (0,6 mmol/L) + diéthanolamine (DEA**) (0,62 mol/L soit 6,6%, pH 9,2) + azoture de sodium 1 g/L (300 µL).

#### Description génétique d'une cartouche utilisée par l'automate VIDAS

[http://www.jle.com/en/revues/abc/sommaire.phtml?cle\\_parution=103](http://www.jle.com/en/revues/abc/sommaire.phtml?cle_parution=103)



## Document 3 (SUITE)

\* Mention d'avertissement : **DANGER**



### Mention de danger

H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H302 : Nocif en cas d'ingestion.

### Conseil de prudence

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P305 + P351 + P338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes.

Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P309 + P311 : EN CAS d'exposition ou de malaise: appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

\*\* Mention d'avertissement : **DANGER**



### Mention de danger

H318 : Provoque des lésions oculaires graves.

### Conseil de prudence

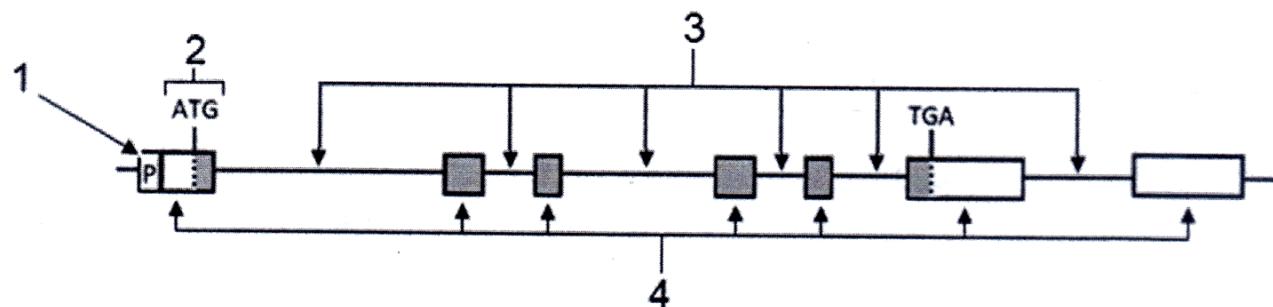
P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes.

Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

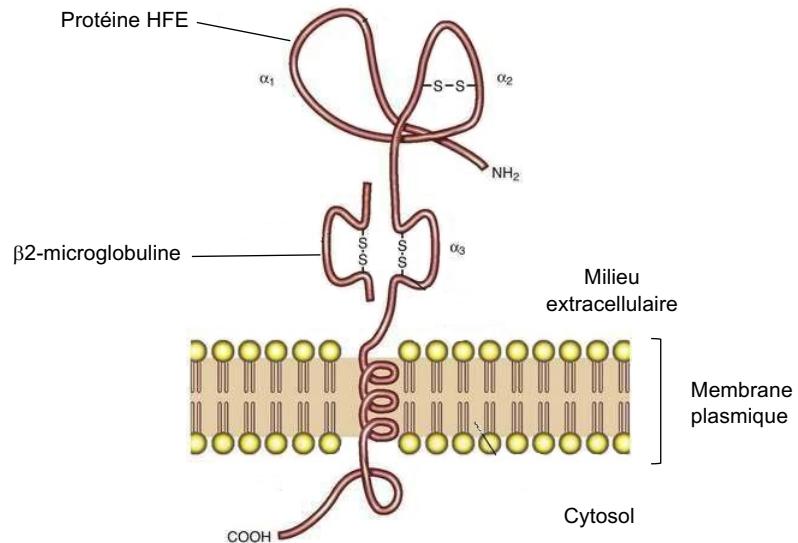
## Document 4

### Schéma simplifié de la structure du gène HFE



## Document 5

## Schéma simplifié de la structure de la protéine HFE



## **Document 6**

### Séquence d'ADN partielle du brin non transcrit de l'allèle HFE non muté

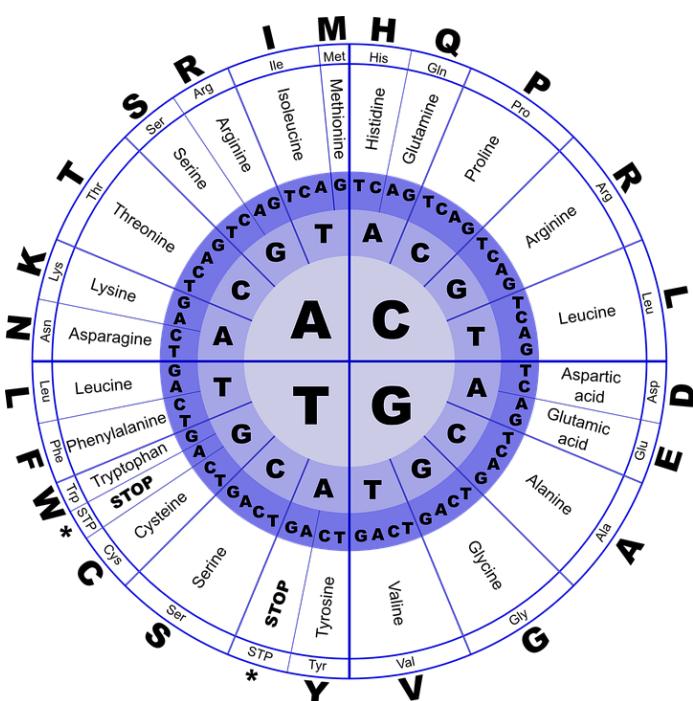
<b>Triplet n°</b>	<b>280</b>	<b>281</b>	<b>282</b>	<b>283</b>	<b>284</b>
<b>Séquence de 5'→3'</b>	TAT	ACG	TGC	CAG	GTG

---

**Document 7**

## **Code génétique**

<https://pixabay.com/fr/adn-acides-amin%C3%A9s-la-biologie-code-152135/>



## Document 8

### Diagnostic de la mutation C282Y par PCR en temps réel de type Taqman®

#### Extraits de la fiche technique ViennaLab (HFE C282Y RealFast™ Assay ; REF 7-130)

##### 3. Composants du kit

RealFast™ 2x Genotyping Mix	1 Vial	<input type="checkbox"/> couvercle blanc	1000 / 320 µL
HFE C282Y Assay Mix	1 Vial	<input checked="" type="checkbox"/> couvercle violet	550 / 550 µL
HFE C282Y WT-Control	1 Vial	<input type="checkbox"/> couvercle vert	75 / 75 µL
HFE C282Y MUT-Control	1 Vial	<input type="checkbox"/> couvercle rouge	75 / 75 µL

Le kit comprend des réactifs pour 100 / 32 réactions de chacune d'un volume final de 20 µL.

Le RealFast™ 2x Genotyping Mix comprend HotStart Taq DNA polymerase et des dNTPs dans un système tampon optimisé. Le HFE C282Y Assay Mix se compose de primers génospécifiques *HFE* et de deux sondes d'hydrolyse spécifiques d'allèle munies d'un double marqueur. De plus vous disposez dans le kit des matrices témoins pour le génotype normal (WT-Control) et le génotype homozygote muté (MUT-Control).

##### 5. Description du produit

###### 5.1. Principe du test

Le test repose sur un test fluorogène à la nucléase 5', connu aussi sous le nom de TaqMan®-Assay. Chaque réaction contient une paire de primers génospécifiques qui amplifie un fragment 144 bp du gène *HFE* et deux sondes d'hydrolyse allèles-spécifiques, munies d'un marqueur double, qui s'hybride à la séquence cible du fragment amplifié. La proximité directe entre les indicateurs fluorescents 5' et les colorants 3' sur une sonde intacte inhibe la fluorescence. Au cours de la PCR l'activité exonucléase 5' – 3' de la polymérase ADN Taq clive l'indicateur fluorescent 5' de l'échantillon hybridisé. La séparation spatiale du fluorophore du quencher provoque un signal fluorescent en temps réel, qui est proportionnel à la quantité du produit de la PCR.

Dans les échantillons normaux, la **sonde de type sauvage C282Y marquée HEX** s'hybride au brin complémentaire du fragment de gène amplifié. Il en résulte un fort signal fluorescent dans le canal HEX (556nm) et aucun signal ou un moins fort situé sur la ligne de base dans le canal FAM (520nm). Inversement, dans des échantillons mutés homozygotes, la **sonde mutante C282Y marquée FAM** s'hybride au brin complémentaire du fragment de gène amplifié. On peut ainsi détecter un signal fluorescent fort dans le canal FAM et aucun ou un signal plus faible situé sur la ligne de base dans le canal HEX. Pour les échantillons hétérozygotes, les deux sondes se lient aux amplicons et génèrent un signal intermédiaire dans les deux canaux de détection.

##### 7. Procédure

###### 7.1. Extraction de l'ADN

Les réactifs d'extraction d'ADN **ne sont pas inclus** dans le kit.

###### 7.2. Contrôle de la PCR

Incluez **toujours** un **No Template Control** (NTC) dans chaque test pour contrôler la présence d'éventuelles contaminations. Effectuez **toujours** le HFE C282Y **WT-Control** et le HFE C282Y **MUT-Control** pour chaque test comme signaux de référence pour des échantillons inconnus. Certains logiciels de la PCR en temps réel, comme par ex. AB 7500 Fast, nécessitent pour interpréter correctement les résultats des signaux pour l'ensemble des trois génotypes possibles dans la "Allelic Discrimination Plot". Pour réaliser un contrôle hétérozygote (HET-Control) mélangez une aliquote du WT-Control et du MUT-Control dans un rapport 1:1.

» **Remarque:** les **WT-** et **MUT-Controls** représentent des sources de contaminations éventuelles, il faut donc veiller à les manipuler avec le plus grand soin. «

###### 7.3. Préparation du HFE C282Y RealFast™ Master-Mix

Décongelez complètement toutes les solutions, centrifugez-les brièvement après les avoir mélangées avec précaution. La réalisation de la PCR s'effectue à température ambiante. Préparez suffisamment de **Master-Mix** pour le nombre total d'amorces PCR prévues (N échantillons + contrôles positifs + contrôles négatifs) et calculez en plus au moins une réaction supplémentaire pour compenser une imprécision de pipetage:

Composants	Par réaction
RealFast™ 2x Genotyping Mix	10 µL
HFE C282Y Assay Mix	5 µL
<b>Master-Mix</b>	<b>15 µL</b>

**Mettez 15 µL de Master-Mix dans chaque godet. Pipetez et ajoutez 5 µL d'ADN ou de Control Template pour obtenir un volume final de 20 µL.**

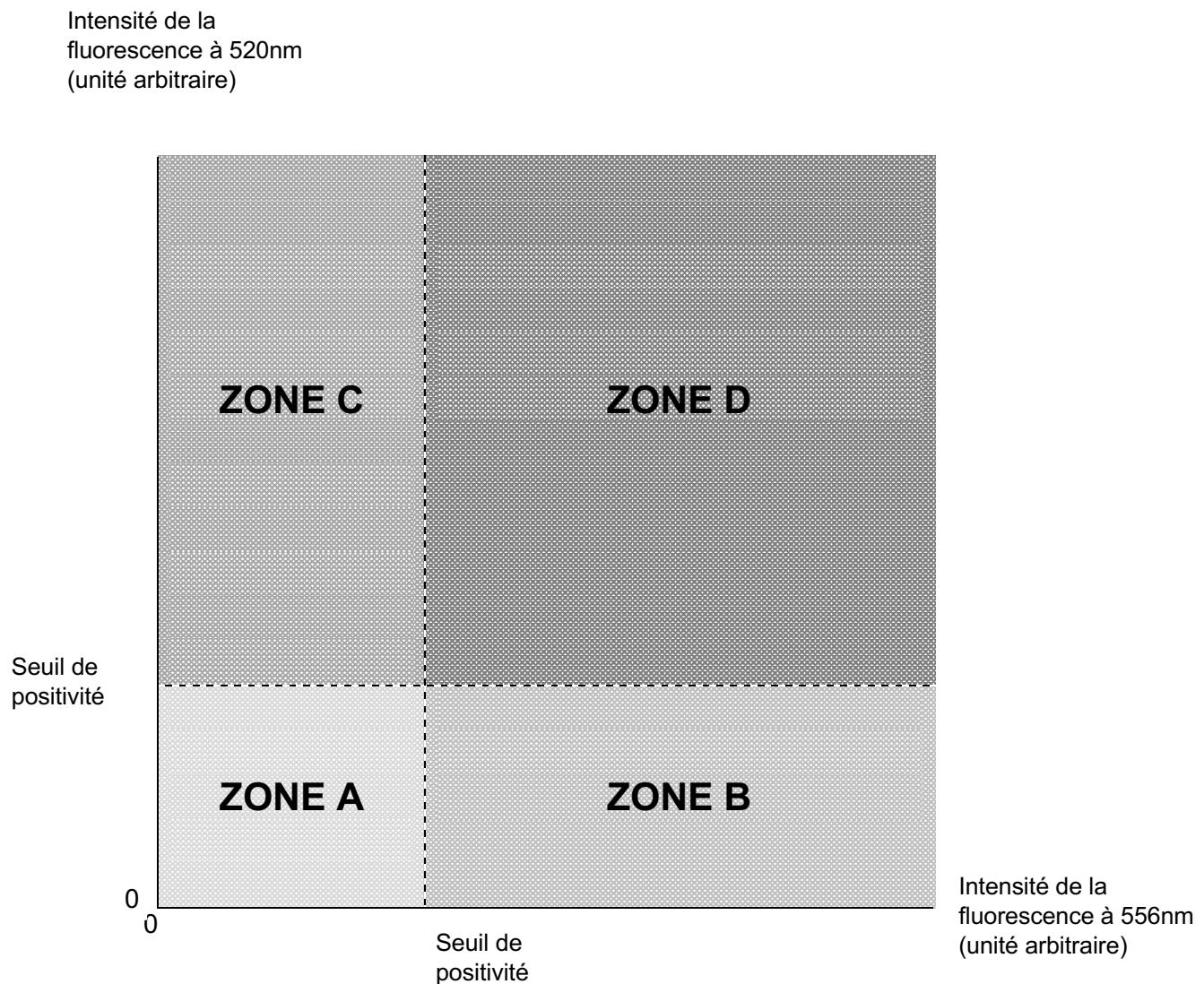
Pour minimiser les risques de contaminations, pipetez les échantillons dans cet ordre : premièrement NTC, ensuite les échantillons, et finalement les contrôles positifs. Fermez immédiatement les récipients de réaction.

###### 7.4. Programme de la PCR

Programmez la machine PCR en temps réel comme indiqué par le fabricant pour les expériences de discrimination allélique ou de génotypage. Mettez les échantillons PCR dans le thermocycleur et lancez le programme suivant:

Cycles	Temp	Durée	Étape
1	95 °C	3 min	Dénaturation initiale
	95 °C	15 sec	Dénaturation
40	60 °C	1 min	Annealing / Extension – <b>Réception de données</b> dans le canal FAM et HEX

### Graphique de résultats



## Extraits de la fiche technique Biolabo pour le dosage de l'ALAT (REF 80027)

### REACTIFS

#### flacon R1 REACTIF DE TRAVAIL

2-Oxoglutarate	15 mmol/L
L-Alanine	500 mmol/L
LDH	≥ 1600 UI/L
NADH	≤ 0,18 mmol/L
Tampon Tris	100 mmol/L
pH à 30°C	7,50 ± 0,1

Conserveur

Avant reconstitution : Xn, Nocif

R22-32 : Nocif en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Après reconstitution : Néant

S22-S28 : Ne pas respirer les poussières. Après contact avec la peau, se laver

immédiatement et abondamment avec de l'eau

### PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (7)

Sérum non hémolysés, ne pas utiliser de plasmas héparinés

L'ALT est stable dans le sérum et le plasma :

- 24 heures à température ambiante.
- 7 jours à 2-8°C.

### CALIBRATION

La validité des résultats dépend de l'exactitude de la calibration de l'instrument, du juste décompte du temps, du respect du rapport volume réactif/volume spécimen et du contrôle de la température.

- Utiliser le facteur théorique (§ CALCUL).
- ou REF 95015 BIOLABO Multicalibrator (*valeur attribuée sous contrôle métrologique, par traitement statistique des données*)
- ou un multicalibrateur sérique enzymatique raccordé sur une solution ou une méthode de référence

### CONTROLE DE QUALITE

### CODE CNQ : SB

- BIOLABO EXATROL-N Taux I REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Taux II REF 95011.
- Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, vérifier les paramètres de l'analyse : longueur d'onde, température, volume spécimen/volume réactif, temps de mesure et facteur de calibration.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

### MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Introduire dans une cuve de lecture de 1 cm de trajet optique :	
Réactif	1 mL
Laisser la température s'équilibrer à 37°C (30°C) puis ajouter :	
Spécimen	100 µL
Mélanger. Après 1 minute, enregistrer l'absorbance initiale à 340 nm puis toutes les minutes pendant 3 minutes.	
Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (ΔAbs/min).	

**Remarque :** Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

### CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Avec facteur théorique :

$$\text{UI/L} = (\Delta\text{Abs./min.}) \times 1746$$

$$\mu\text{Kat/L} = \frac{\text{UI/L}}{60}$$

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

## DÉPISTAGE ET INFECTIONS CHEZ LA FEMME ENCEINTE

La surveillance de la grossesse comprend plusieurs consultations et examens médicaux obligatoires permettant de vérifier l'état immunitaire de la femme enceinte (immunisation contre la toxoplasmose, la rubéole, l'hépatite...) et de dépister des infections *a priori* bénignes pour la mère mais qui peuvent être préjudiciables pour le fœtus ou le nouveau-né.

### 1. La toxoplasmose chez la femme enceinte (12 points)

#### 1.1. Épidémiologie de la toxoplasmose

Le sérodiagnostic de la toxoplasmose fait partie des examens prénataux obligatoires.

En France, la toxoplasmose est l'une des infections les plus prévalentes avec des valeurs de séroprévalence variables chez l'adulte comprises entre 20 et 55 %.

La toxoplasmose est une anthroponozoonose due à un parasite, *Toxoplasma gondii*.

L'infection primaire chez la femme enceinte non immunisée est asymptomatique dans 80 à 90% des cas mais les risques de transmission fœtale sont importants avec des conséquences sur le développement du fœtus. L'incidence annuelle de la toxoplasmose congénitale est d'environ 1 pour 1000 naissances.

- 1.1.1. Définir la séroprévalence de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent et l'incidence de la toxoplasmose congénitale.
- 1.1.2. Indiquer la classification du parasite *Toxoplasma gondii*.
- 1.1.3. Identifier les stades morphologiques parasitaires numérotés de 1 à 4 dans le cycle de *Toxoplasma gondii*.
- 1.1.4. Identifier le ou les hôte(s) définitifs) et intermédiaire(s). Justifier.
- 1.1.5. En déduire la nature du cycle parasitaire.

Les chats domestiques sont de moins en moins porteurs et vecteurs du parasite chez les femmes citadines. Si ces femmes sont dépistées séronégatives vis-à-vis de la toxoplasmose lors de leur grossesse, elles font l'objet d'un suivi mensuel et doivent prendre quelques précautions.

- 1.1.6. Préciser et justifier les mesures prophylactiques préconisées chez la femme enceinte séronégative.

#### 1.2. Diagnostic de la toxoplasmose

Des résultats sérologiques chez une patiente enceinte sont donnés dans le dossier technique à différentes semaines d'aménorrhée (SA).

- 1.2.1. Interpréter ces résultats.

L'ADN parasitaire peut être recherché dans différents prélèvements, incluant le liquide amniotique (LA). La PCR (*Polymerase Chain Reaction*) quantitative en temps réel (qPCR) est devenue la technique de référence pour la recherche directe du parasite.

Des cibles variées ont été décrites, avec initialement le gène B1 du toxoplasme ainsi qu'une séquence répétitive d'ADN, nommée Rep-529.

Une qPCR avec utilisation de sondes fluorogéniques en tandem (couple donneur / extincteur) et des amorces spécifiques du gène Rep529 a été réalisée chez la patiente précédente. Les résultats sont donnés dans le dossier technique.

- 1.2.2. **Indiquer** deux avantages d'utilisation de cette technique dans le diagnostic de la toxoplasmose congénitale.
- 1.2.3. **Interpréter** les résultats de la patiente et **conclure**.

Si le résultat est positif, le prélèvement de liquide amniotique (LA) peut être envoyé à des centres experts faisant partie du CNR Toxoplasmose afin de réaliser une mise en culture sur des fibroblastes embryonnaires humains (cellules MRC5). La culture des parasites présents dans le LA va permettre le génotypage de la souche de *Toxoplasma gondii* isolée de la patiente à des fins épidémiologiques. La culture et le repiquage de ces cellules MRC5 nécessite l'utilisation d'un milieu MEM Eagle.

- 1.2.4. **Expliciter** le sigle CNR.
- 1.2.5. **Expliquer** le rôle des constituants suivants présents dans le milieu MEM Eagle :
  - le sérum de veau fœtal (SVF)
  - le rouge de phénol
  - l'amphotéricine B

## 2. Portage et infections materno-fœtales bactériennes (14 points)

### 2.1. Dépistage du *Streptococcus agalactiae*

Dans le cadre de la prévention anténatale du risque infectieux à *Streptococcus agalactiae*, la Haute Autorité de Santé (HAS) préconise un dépistage systématique du portage vaginal du streptocoque du groupe B (SGB) lors du dernier trimestre de grossesse, entre 34 et 38 SA.

- 2.1.1. **Énumérer** les principales caractéristiques morphologiques, tinctoriales et biochimiques du SGB.
- 2.1.2. **Citer** deux infections néonatales impliquant les SGB.
- 2.1.3. **Donner** le principe et l'intérêt d'un milieu chromogène.
- 2.1.4. **Préciser** les conditions d'incubation et l'aspect des colonies suspectes sur ce milieu chromogène.
- 2.1.5. **Donner** le principe du test rapide permettant de confirmer l'identification du SGB au sein de la classification de Lancefield.

Un prélèvement vaginal réalisé chez une femme enceinte à 36 SA a été isolé sur un milieu chromogène, CHROMagar™ STREPB.

- 2.1.6. **Préciser** la notion de souche ATCC®.

### 2.2. Risque d'infection néonatale à *Escherichia coli* K1

*Escherichia coli* de sérotype K1 occupe aussi une part importante des risques d'infection néonatale. Le dépistage d'*E.coli* à partir d'un prélèvement vaginal est préconisé mais il est surtout réalisé lors d'une bactériémie néonatale non SGB.

- 2.2.1. **Préciser** la localisation et la nature biochimique de l'antigène K.
- 2.2.2. **Citer** les autres antigènes d'*E.coli* et **préciser** leur localisation cellulaire.
- 2.2.3. **Préciser** deux rôles de l'antigène K dans le pouvoir pathogène.

Si le portage ou une infection urinaire à *E.coli* K1 est mis en évidence chez la femme enceinte, une antibiothérapie est préconisée avant l'accouchement. Le phénotype sauvage de cette bactérie est sensible pour de nombreux antibiotiques mais des résistances sont apparues et leur pourcentage par catégories d'antibiotiques est devenu élevé et inquiétant.

Certaines souches d'*E.coli* K1 ont acquis des résistances aux antibiotiques suivants : amoxicilline (AMX), céfoxitine (FOX), et ceftazidime (GAZ).

2.2.4. **Indiquer** la famille et les sous-familles auxquelles appartiennent ces antibiotiques.

2.2.5. **Proposer** deux mécanismes de résistance retrouvés chez *E.coli* pour cette famille d'antibiotiques.

L'augmentation des résistances s'explique par la pression de sélection due à l'utilisation importante des antibiotiques et à la possibilité de transferts de gènes de résistance.

2.2.6. **Citer** et **définir** deux modes de transferts génétiques bactériens.

La spectrométrie de masse permet d'identifier ou confirmer la présence de SGB et d'*E.coli* (sans le sérotype).

2.2.7. **Commenter** brièvement les étapes de 1 à 4 de cette méthode appliquée à l'identification microbienne.

### **3. Candidose vaginale pendant la grossesse (7 points)**

Une candidose vaginale pendant la grossesse est parfois le début d'une mycose vulvo-vaginale récidivante (MWR). En effet, une proportion importante de femmes présentant une MWR (4 épisodes par an ou plus) a développé la première mycose pendant une grossesse. Les candidoses font partie des infections opportunistes.

**3.1. Citer** le genre et l'espèce de l'agent pathogène principalement responsable de ces mycoses vaginales.

**3.2. Définir** « infections opportunistes ».

Le diagnostic d'une MWR est réalisé à partir d'un prélèvement vaginal.

**3.3. Préciser** le matériel utilisé et les conditions de conservation du prélèvement.

**3.4. Décrire** l'aspect microscopique caractéristique d'un frottis vaginal coloré par la méthode de Gram dans le cas d'une candidose.

Le prélèvement a étéensemencé sur une gélose Sabouraud + chloramphénicol.

**3.5. Justifier** l'utilisation de ce milieu.

Une patiente présentant une MWR a déjà été soignée par un antifongique. Afin de vérifier l'absence de résistance, un antifongigramme a été réalisé à partir de la souche de *Candida* isolée en utilisant la galerie ATB Fungus 3 de chez BIOMERIEUX®

**3.6. Réaliser** sur la copie la lecture des résultats de cette galerie, présentés dans le dossier technique. **Conclure.**

#### **4. Dépistage du parvovirus B19 chez la femme enceinte (7 points)**

Devant une éruption cutanée (rash) de nature indéterminée chez une femme enceinte, le dépistage sérologique du parvovirus B19 peut être effectué. Le parvovirus B19 est l'agent du mégalérythème épidémique ou « 5<sup>ème</sup> maladie infantile » (après la rubéole, la rougeole, les oreillons, et la varicelle). Le risque d'atteinte fœtale est d'environ 10 %. Le virus attaque les hématies fœtales entraînant une anémie et un œdème généralisé visible à l'échographie du 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> trimestre. Lorsque l'atteinte fœtale est soupçonnée, le diagnostic se fait par des méthodes sérologiques.

**4.1. Citer** les principaux critères permettant la classification des virus et **indiquer** ceux correspondant au parvovirus B19.

**4.2. Préciser** la signification « - DMA » et « + DMA » apparaissant dans le cycle viral du parvovirus B19.

Le diagnostic sérologique permettant de mettre en évidence la présence d'immunoglobulines de type M ou G dirigées contre les protéines de capsid VP1 et VP2 du parvovirus B19 peut être réalisé par la technique d'immuno-empreinte (western-blot) à partir du sérum maternel. Des échantillons issus de plusieurs patientes (Sample ID) ont été analysés.

**4.3. Présenter** le principe de dépistage par cette méthode.

**4.4. Conclure** sur le cas de l'échantillon 102.

#### **DOSSIER TECHNIQUE**

##### **Liste des documents**

**Document 1 :** Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*

**Document 2 :** Résultats sérologiques toxoplasmiques d'une patiente enceinte

**Document 3 :** Résultats qPCR à partir du liquide amniotique (LA) d'une patiente enceinte

**Document 4 :** Extrait de la fiche technique du milieu CHROMagar™ StrepB

**Document 5 :** Étapes de la spectrométrie de masse (en MALDI TOF) appliquée à l'identification bactérienne

**Document 6 :** Extrait de la fiche technique ATB FUNGUS 3 de BIOMERIEUX®

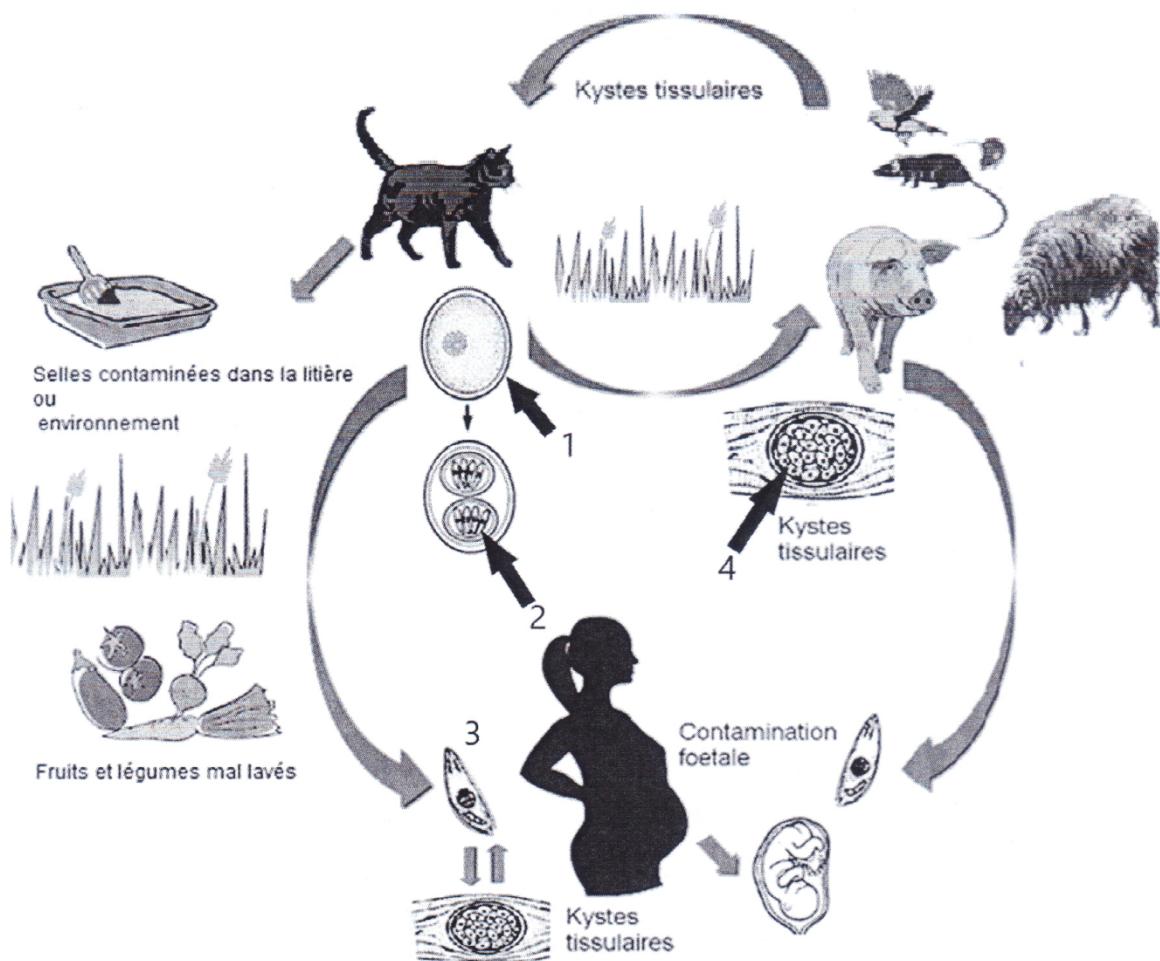
**Document 7 :** Résultats des scores de croissance sur la feuille de lecture ATB FUNGUS 3

**Document 8 :** Cycle viral du parvovirus B19

**Document 9 :** Extrait de la fiche technique du Kit recomLine® Parvovirus B19 IgM (Biosynex Fumouze) Résultats de patients (Sample ID) pour le dépistage des IgM par western- blot

## Document 1

### Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*



## Document 2

### Résultats sérologiques toxoplasmiques d'une patiente enceinte

#### Sérologie de la toxoplasmose :

Dates de prélèvements en semaine d'aménorrhée (noté SA)

Techniques réalisées en Chimiluminescence (CMIA)

Prélèvements en SA	4	8	12	16	20	24
Anticorps TOXO IgG (taux UA/mL)	4,6	4,5	4,7	35,5	38,2	37,3
Anticorps TOXO IgM (index)	0,55	0,53	3,15	5,25	4,52	3,24

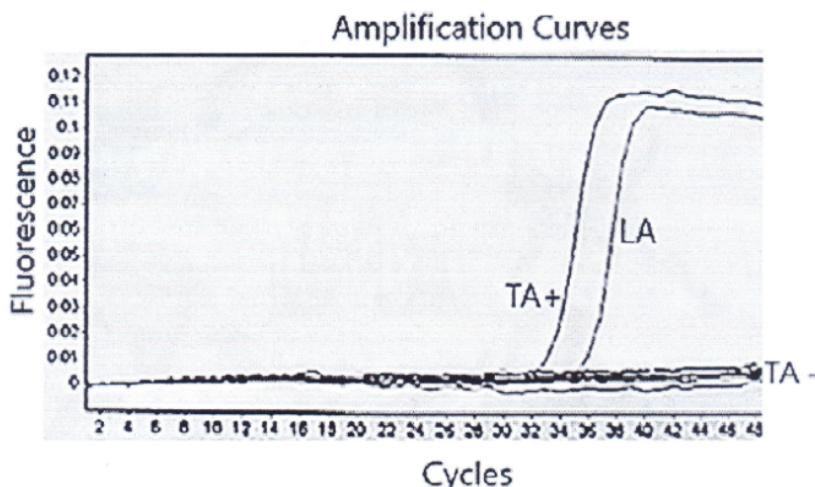
#### Interprétations :

Taux TOXO IgG	Négatif < 7,5	Douteux 7,5 à 10,5	Positif > 10,5
Index TOXO IgM	Négatif < 0,8	Douteux 0,8 à 0,99	Positif ≥ 1

### Document 3

#### Résultats qPCR à partir du liquide amniotique (LA) d'une patiente enceinte

Impression écran modifiée de résultats d'un diagnostic prénatal réalisé par le laboratoire CERBA



TA- : témoin négatif d'amplification

TA+ : témoin positif d'amplification

LA : prélèvement de liquide amniotique

### Document 4

#### Extrait de la fiche technique du milieu CHROMagar™ StrepB

<http://www.chromagar.com/publication>

##### INTERPRETATION :

Apparence des colonies typiques :

*Streptococcus agalactiae* (groupe B) → mauve  
*Enterococcus* spp → bleu métallique  
*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* → rosé pâle,  
Croissance limitée à inhibée pour les autres microorganismes → bleu, incolore

##### PERFORMANCE & LIMITATIONS :

L'incubation sous CO<sub>2</sub> peut générer des faux positifs. Des souches rares de *Streptococcus* du groupe B peuvent nécessiter 24h de plus d'incubation pour obtenir une taille de colonie satisfaisante.

Quelques souches de *Streptococcus* des groupes C, F & G peuvent donner des colonies mauves. Certains organismes comme *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* peuvent donner des colonies

mauve-violet pâle. La plupart des *Streptococcus* de groupe A donnent des colonies mauves comme des faux positifs. Cependant, ils peuvent être différenciés par un test PYR : PYR(+) → StrepA ; PYR(-) → StrepB

Quelques souches de *Staphylococcus* peuvent donner des colonies mauves. Cependant, elles peuvent être différenciées par un test catalase. L'identification finale peut nécessiter des tests additionnels comme l'hydrolyse de l'hippurate, des tests CAMP, ou des tests immunologiques.

Les tests de confirmation par agglutination au latex peuvent être effectués directement depuis les colonies suspectes observées sur le milieu.

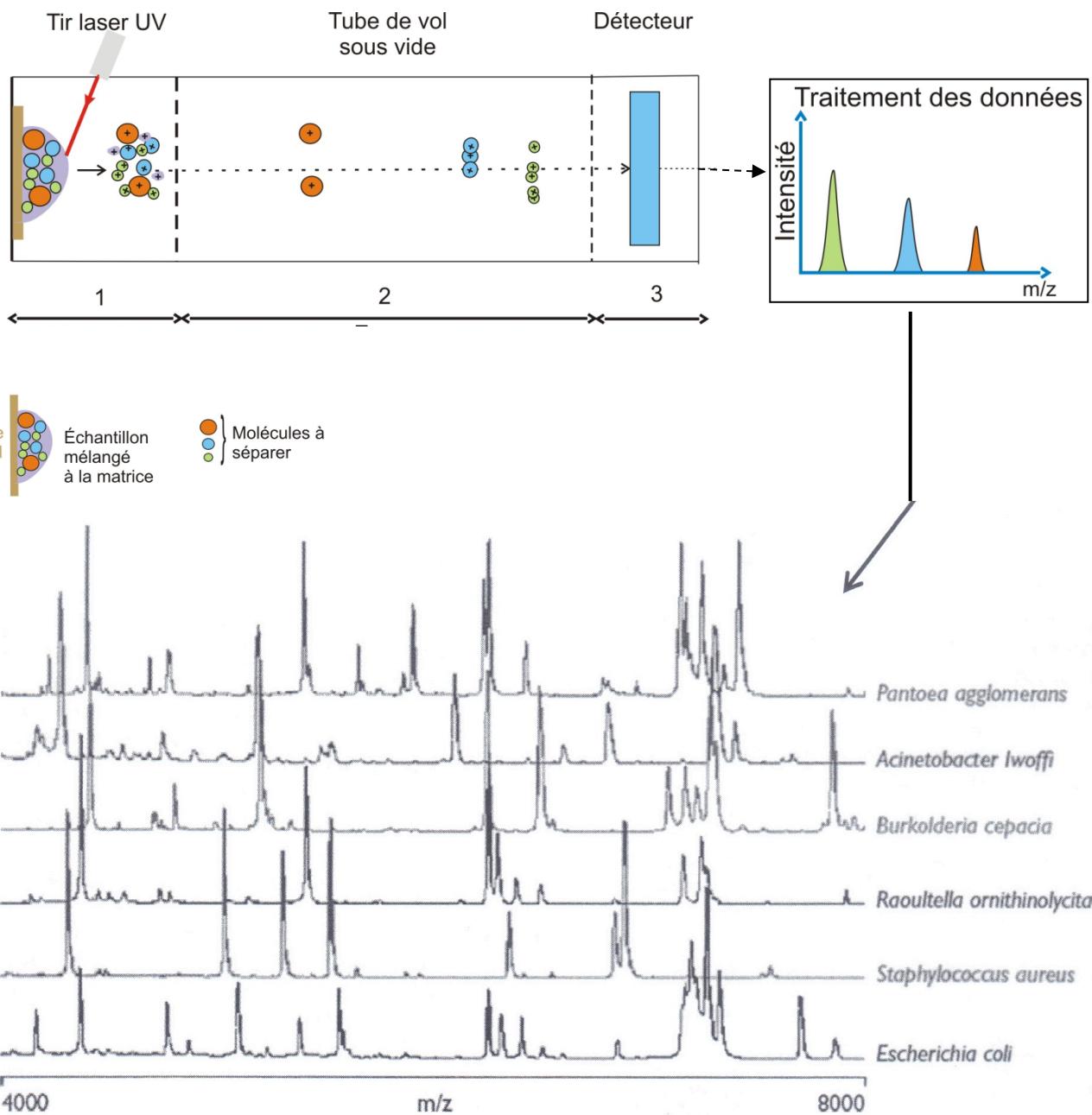
## CONTROLE QUALITÉ :

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'utilisation du milieu et les normes locales de contrôle qualité. La bonne préparation du milieu peut être testée grâce à l'isolement des souches ATCC suivantes : *S.agalactiae* ATCC® 12386 → mauve ; *S.agalactiae* ATCC® 13813 → mauve ; *E.faecalis* ATCC® 29212 → bleu métallique ; Eco//ATCC® 25922 → inhibé; *C.albicans* ATCC® 10231 → inhibé.

## Document 5

### Étapes de la spectrométrie de masse (en MALDI-TOF) appliquée à l'identification bactérienne

d'après <http://disciplines.ac-montpellier.fr/biotechnologies>  
<http://wwwrevmed.ch>



## Extrait de la fiche technique ATB FUNGUS 3 de BIOMERIEUX®

**1. Détermination de la CMI (AMB, FCA, ITR, VRC) :**

- Rechercher et quantifier dans chaque cupule une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou **mini API** (se reporter aux manuels d'utilisation).

**• Avant de procéder à la lecture visuelle, il est recommandé de poser la galerie sur un fond noir**

(planche de lecture ATB FUNGUS 3 disponible auprès de bioMérieux). Pour chaque antifongique, partir de la concentration la plus faible et noter sur la fiche de résultats un score de croissance pour chacune des cupules Comparativement aux cupules témoin :

Définition	Score
Absence de réduction de croissance	4
Légère réduction de croissance	3
Réduction marquée de croissance	2
Très faible croissance	1
Absence de croissance	0

- Pour l'Amphotéricine B (AMB), la CMI correspond à la concentration la plus faible permettant d'obtenir une inhibition complète de la croissance (score 0).

**Note :** une (ou des) colonie(s) isolée(s) ou un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 1.

- Pour le Fluconazole (FCA), l'Itraconazole (ITR) et le Voriconazole (VRC), du fait de la possibilité d'un phénomène de croissance résiduelle, la CMI correspond à la concentration d'antifongiques la plus faible permettant d'obtenir un score 2, 1 ou 0.

**Note :** un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

**2. Interprétation de la Flucytosine (5FC) :**

Rechercher et quantifier dans les deux cupules une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou **mini API** ® (se reporter aux manuels d'utilisation).

Pour la Flucytosine testée à deux concentrations :

Score de croissance		Résultats		La souche est :	
c	C	c	C	S	SENSIBLE
0/1/2	0/1/2	-	-	S	SENSIBLE
3/4	0/1/2	+	-	I	INTERMEDIAIRE
3/4	3/4	+	+	R	RESISTANTE

**Notes :**

- La définition des scores de croissance est la même que celle décrite ci-dessus pour la détermination des CMI.

- Un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

**3. Concentrations critiques utilisées :****Concentrations critiques (en mg/l) recommandées par le CLSI/NCCLS pour *Candida* spp. (2, 3)**

	S	I	R
Flucytosine	≤4	8-16	≥32
Amphotéricine B*	ND	ND	ND
Fluconazole	≤8	16-32	≥64
Itraconazole	≤0,125	0,25-0,5	≥1
Voriconazole	≤1	2	≥4

ND : Non formellement défini par le CLSI/NCCLS

**Notes :**

- *Candida krusei* étant une espèce intrinsèquement résistante au Fluconazole, le test doit être interprété R systématiquement.

- \*: pour l'Amphotéricine B, une CMI ≥ 2 mg/l suggère une résistance (2).

**LIMITES DU TEST**

- Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter les résultats.
- L'espèce *Candida haemulonii* ne doit pas être testée avec la galerie ATB FUNGUS 3 du fait d'une croissance variable entraînant une interprétation aléatoire des CMI aux antifongiques.
- Les espèces *C. albicans*, *C. dubliniensis* et *C. tropicalis*, peuvent présenter un phénomène de croissance résiduelle (trailing growth) entraînant une surestimation des CMI des antifongiques azolés (Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole), plus particulièrement en cas de lecture automatisée de la galerie ATB FUNGUS 3. En conséquence, il est recommandé de vérifier visuellement les CMI des antifongiques azolés pour ces espèces, notamment dans le cas d'une résistance apparente au Voriconazole (du fait de la résistance très peu fréquente à cet antifongique).
- Il est recommandé d'interpréter Intermédiaire (I) les souches de *C. glabrata* présentant un résultat Sensible (S) au Fluconazole et/ou à l'Itraconazole, du fait d'une moindre sensibilité naturelle de cette espèce vis-à-vis de ces antifongiques.

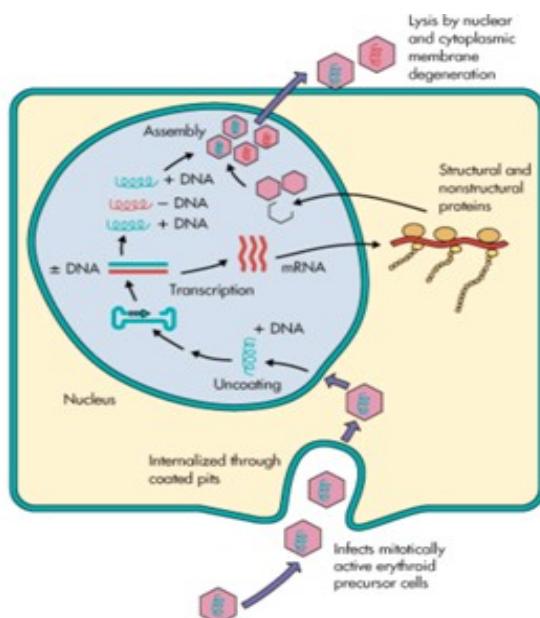
## Document 7

**Résultats des scores de croissance sur la feuille de lecture ATB FUNGUS 3**  
*Extrait d'une feuille de lecture de résultats ATB FUNGUS 3 BIOMERIEUX®*

	c	0/1/2/3/4			C	S/I/R
	0	(4)		(4)	0	
<b>5FC</b>	4	(1)		(0)	16	
<b>AMB</b>	0.5	(1)		(0)	4	
<b>AMB</b>	1	(0)		(0)	8	
<b>AMB</b>	2	(0)		(0)	16	
<b>FCA</b>	1	(4)		(4)	16	
<b>FCA</b>	2	(4)		(3)	32	
<b>FCA</b>	4	(4)		(3)	64	
<b>FCA</b>	8	(4)		(0)	128	
<b>ITR</b>	0.125	(2)		(0)	1	
<b>ITR</b>	0.25	(0)		(0)	2	
<b>ITR</b>	0.5	(0)		(0)	4	
<b>VRC</b>	0.06	(4)		(0)	1	
<b>VRC</b>	0.125	(4)		(0)	2	
<b>VRC</b>	0.25	(3)		(0)	4	
<b>VRC</b>	0.5	(2)		(0)	8	

## Document 8

### Cycle viral du parvovirus B19



© Elsevier. Murray: Medical Microbiology 5e - www.studentconsult.com

**Extrait de la fiche technique du Kit recomLine® Parvocirus B19 IgM (Biosynex Fumouze)**

Kit recomLine® Parvovirus B19 IgM (Biosynex Fumouze)

Détection d'anticorps IgM contre Parvovirus B19 dans le sérum ou le plasma humain par Western-Blot.

20 bandelettes - Conservation : 12 mois à 2-8 °C

Composition du coffret :

- 2 tubes de 10 bandelettes contenant les VP1 et VP2
- Conjugué anti-IgM 500 µL couplé à la peroxydase.
- Tampon de lavage A 10 x 100 mL
- Substrat TMB 40 mL
- Lait en poudre 5 g
- 2 Plateaux d'incubation avec 10 puits chacun
- 1 Fiche d'évaluation

**Résultats de patients (sample ID) pour le dépistage des IgM par western-blot**

Sample ID	438	171	271	103	D87	102	97S	T9	T12	124	109	136
VP1												
VP2												
BLOT RESULT (VP1)	+	+	+	+	+	?	-	-	-	-	-	-
BLOT RESULT (VP2)	+	+	+	+	+	?	+	+	+	-	-	-

# E43 Hématologie, Anatomopathologie et Immunologie

2019

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Documents à rendre avec la copie :

- document 1

## HÉMOPATHIES MALIGNES LES PLUS FRÉQUENTES

Le myélome est la deuxième hémopathie maligne la plus répandue après les lymphomes.

### 1. MYÉLOME MULTIPLE (8,5 points)

Le myélome multiple des os est aussi connu sous le nom de maladie de Kahler ou simplement myélome. Le myélome multiple est souvent détecté de façon fortuite, au cours d'un examen sanguin de routine suite à des douleurs osseuses ou des fractures spontanées.

#### 1.1. Mise en évidence du myélome

Un hémogramme a été réalisé chez un patient âgé de 65 ans présentant une grande asthénie et des douleurs osseuses importantes. (**Document 1, à rendre avec la copie**).

1.1.1. **Commenter** les résultats obtenus en précisant les unités pour chaque paramètre analysé et conclure.

Suite à l'hémogramme, la vitesse de sédimentation (VS) est déterminée et la Protéine C réactive est dosée.

1.1.2. **Justifier** la mesure de la VS.

1.1.3. **Donner** le principe de mesure de la VS normalisée (Westergren) et **préciser** le type de tube utilisé pour le prélèvement sanguin.

1.1.4. **Interpréter** les résultats obtenus pour la CRP et **justifier** le résultat de la VS obtenue dans le cas du patient.

#### 1.2. Confirmation du diagnostic

L'électrophorèse capillaire des protéines sériques montre un pic monoclonal au niveau des gammaglobulines. Cet examen est donc complété par un immunotypage afin de préciser le type d'immunoglobuline (Ig) pathologique.

1.2.1. **Analysier**, en les justifiant, les résultats de l'immunotypage.

1.2.2. **Conclure** en précisant le type d'Ig produite de façon monoclonale.

1.2.3. **Citer** une technique de précipitation sans diffusion permettant également de diagnostiquer le myélome.

On effectue une ponction médullaire dans le but de réaliser un myélogramme.

1.2.4. **Préciser** le nom des cellules recherchées sur le frottis médullaire en cas de myélome.

### 1.3. Complications du myélome

Les patients atteints d'un myélome souffrent d'un plus grand nombre d'infections, car le myélome empêche les leucocytes de produire des anticorps pour combattre celles-ci et d'assurer ainsi le bon fonctionnement du système immunitaire. Des préparations de gammaglobulines standard peuvent être administrées aux patients.

1.3.1. **Indiquer** la composition des préparations de gammaglobulines standard.

1.3.2. **Citer** deux caractéristiques de l'immunité obtenue avec la gamma-prophylaxie.

## 2. LYMPHOME (8,5 points)

Les lymphomes sont les tumeurs malignes les plus fréquentes du système immunitaire. Ils constituent un groupe hétérogène de maladies dont le point commun est la prolifération de cellules malignes dans les organes lymphoïdes secondaires.

2.1. **Citer** deux organes lymphoïdes secondaires et **indiquer** leur rôle.

La suspicion d'un lymphome folliculaire motive une Numération Formule Sanguine (NFS). La NFS est réalisée par un automate utilisant notamment la diffraction lumineuse couplée à un traitement chimique des cellules permettant la révélation de l'activité peroxydasique (canal PEROX).

2.2. **Indiquer** à quoi correspondent les axes du cytogramme « PEROX ».

2.3. **Déduire** et justifier la position des cellules lymphoïdes immatures sur ce cytogramme.

Pour mettre en évidence les cellules cancéreuses, une biopsie suivie d'une étude histologique sont nécessaires. La coloration de routine utilisée est à l'Hématoxyline-Phloxine-Safran (HPS).

2.4. **Préciser** le rôle de chacun des colorants utilisés.

La coloration par l'hématoxyline nécessite une étape alcaline de « bleuissement » pour bien différencier avec les structures cellulaires colorées par la phloxine.

2.5. **Indiquer** le bain permettant cette étape.

2.6. **Justifier** l'usage du xylène en fin de coloration.

L'ablation d'un ganglion lymphatique peut nécessiter la vérification préalable des groupes sanguins du patient. La détermination des groupes ABO, Rhésus et Kell d'un patient est réalisée sur un automate s'appuyant sur l'EM® Technology.

2.7. **Présenter** le principe de la détermination complète du groupe ABO.

2.8. **Présenter** la particularité de la technologie de l'automate Qwaly et **expliquer** la lecture des résultats.

- 2.9.** Définir le(s) type(s) de réaction antigène-anticorps mise(s) en jeu en indiquant la(les) classe(s) d'immunoglobulines utilisées pour la réalisation de ces groupages.  
**Justifier** la réponse.

Des résultats d'un patient sont présentés dans le dossier technique.

- 2.10.** Indiquer la composition, le rôle et le résultat attendu du contrôle réalisé.

- 2.11.** Interpréter les résultats obtenus et conclure.

## **DOSSIER TECHNIQUE**

### Liste des documents

**Document 1 :** Hémogramme du patient

**Document 2 :** Résultats de la vitesse de sédimentation et Dosage de Protéine C réactive

**Document 3 :** Technique d'immunotypage

**Document 4 :** Frottis médullaire du patient (coloration MGG)

**Document 5 :** Principe et résultats du canal « PEROX »

**Document 6 :** Mode opératoire simplifié de la coloration HPS

**Document 7 :** Groupages sanguins

**DOCUMENT 1 À RENDRE AVEC LA COPIE**

**Hémogramme du patient**

PARAMÈTRES	VALEURS PATIENT	UNITÉS	VALEURS DE RÉFÉRENCE	CONCLUSION
HEMOGLOBINE	89		130 à 180	
NUMERATION DES HÉMATIES	$3,2 \cdot 10^{12}$	$L^{-1}$ de sang	$4,5 \text{ à } 6,5 \cdot 10^{12}$	
Ht	0,26		0,42 à 0,54	faible
VGM	80		80 à 100	
CCMH	342		320 à 360	
TCMH	28		27 à 32	normale
NUMÉRATION DES PLAQUETTES	$298 \cdot 10^9$	$L^{-1}$ de sang	$150 \text{ à } 450 \cdot 10^9$	normale
NUMÉRATION DES LEUCOCYTES	$4,9 \cdot 10^9$	$L^{-1}$ de sang	$4 \text{ à } 10 \cdot 10^9$	normale
NUMÉRATION DES RETICULOCYTES	$80 \cdot 10^9$	$L^{-1}$ de sang	$< 100 \cdot 10^9$	
<b>Présence de rouleaux de GR sur le frottis sanguin</b>				
<b>CONCLUSION DE L'HÉMOGRAMME :</b>				

**DOCUMENT 2**

**Résultats de la vitesse de sédimentation et du dosage de Protéine C réactive**

PARAMÈTRES	VALEURS PATIENT	VALEURS DE RÉFÉRENCE
Concentration de CRP	4 mg/L	< 6 mg/L
Vitesse de sédimentation	105 mm à la 1 <sup>ère</sup> heure	< 20 mm à la 1 <sup>ère</sup> heure

**Technique d'immunotypage****sebia****CAPILLARYS IMMUNOTYPING**

Ref. 2100

**PRINCIPE DU TEST**

Le système CAPILLARYS utilise le principe de l'électrophorèse capillaire en solution libre, qui représente la forme la plus courante de l'électrophorèse capillaire. Il permet la séparation de molécules chargées en fonction de leur mobilité électrophorétique propre dans un tampon de pH donné, et, selon le pH de l'électrolyte, d'un flux électro-osmotique plus ou moins important.

Le système CAPILLARYS comprend 8 capillaires en parallèle. Sur ce système, l'échantillon à analyser est injecté, par aspiration à l'anode, simultanément dans six capillaires. Pour l'immunotypage, le profil protéique de référence (profil ELP) est obtenu par injection de l'échantillon en présence de la solution ELP dans le capillaire N° 1. Les profils antisérum sont obtenus par injection du même échantillon en présence des antisérum de différentes spécificités anti-Ig G, anti-Ig A, anti-Ig M, anti-Kappa et anti-Lambda, dans les cinq autres capillaires (N° 2 à 6).

La séparation est ensuite réalisée en appliquant une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes de chaque capillaire et la détection directe des protéines est effectuée à 200 nm côté cathode. Les capillaires sont lavés entre chaque analyse par une solution de lavage, puis par le tampon d'analyse.

La superposition d'un des profils antisérum avec le profil ELP permet de visualiser la disparition et / ou la diminution d'un pic monoclonal sur le profil antisérum et d'en déduire une gammopathie.

*REMARQUE : Avec le tampon utilisé à pH basique, l'ordre de migration des protéines est le suivant, de la cathode à l'anode : gamma globulines, bêta-2 globulines, bêta-1 globulines, alpha-2 globulines, alpha-1 globulines et albumine. Chaque fraction contient un ou plusieurs constituants. Le complexe immunoglobulines de l'échantillon (urine ou sérum) - immunoglobulines de l'antisérum spécifique apparaît en position très anodique (zone inter alpha-1/albumine ou plus anodique que l'albumine).*

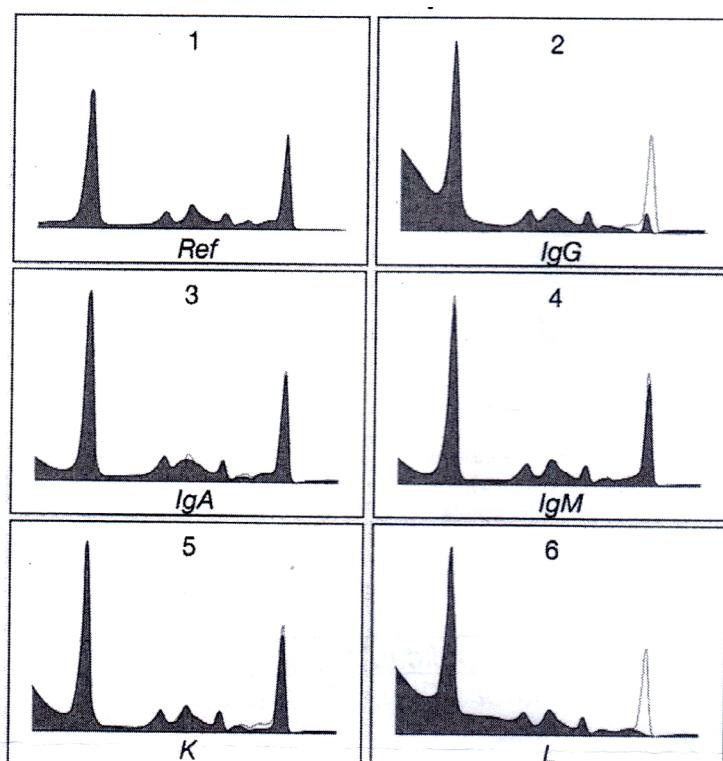
L'immunotypage se réalise en quatre étapes :

1. Dilution du sérum ou de l'urine dialysés dans un diluant spécifique contenu dans le double puits de la barrette antisérum. La dilution est adaptée à la concentration en immunoglobulines de l'échantillon.
2. Mélange de l'échantillon dilué avec les différents antisérum. Le complexe antigène - anticorps se forme rapidement en milieu liquide sans étape d'incubation, ni de sédimentation,
3. Injection des échantillons traités par aspiration dans 6 capillaires (côté anodique) puis séparation électrophorétique des protéines en milieu alcalin par application d'une différence de potentiel de plusieurs milliers de volts aux bornes des capillaires. La détection directe des protéines est effectuée à 200 nm (côté cathodique).
4. Superposition du profil ELP et des profils antisérum (Ig G, Ig A, Ig M, Kappa et Lambda) permettant la caractérisation de la protéine monoclonale.

**TRAITEMENT DES DONNÉES**

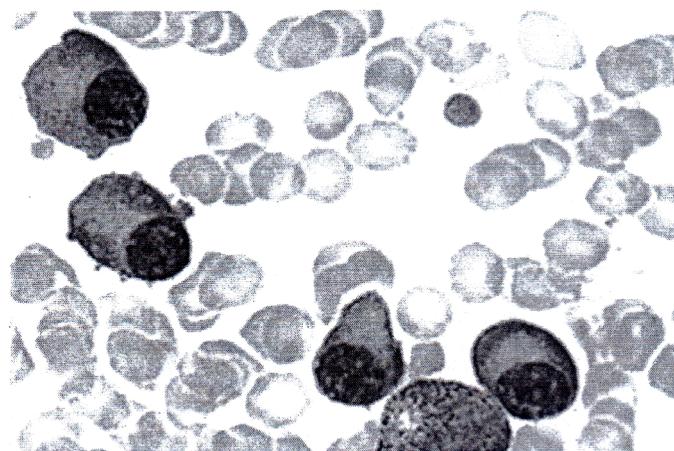
Dès la fin de l'analyse, chaque profil antisérum (Ig G, Ig A, Ig M, Kappa et Lambda) est superposé au profil ELP. En cas de réaction entre la protéine monoclonale et l'antisérum spécifique, le pic correspondant disparaît du profil électrophorétique de l'antisérum.

L'analyse du sérum dilué dans le diluant contenu dans la barrette antisérum, est réalisée lors de l'immunotypage et permet d'obtenir le profil protéique de l'échantillon natif (profil « Ref »). Cette courbe supplémentaire permet de vérifier la concordance entre l'analyse des protéines et l'immunotypage. Ces comparaisons permettent d'identifier et de caractériser le ou les composants monoclonaux.

**RESULTATS DU PATIENT**

## DOCUMENT 4

### Frottis médullaire du patient (coloration MGG)

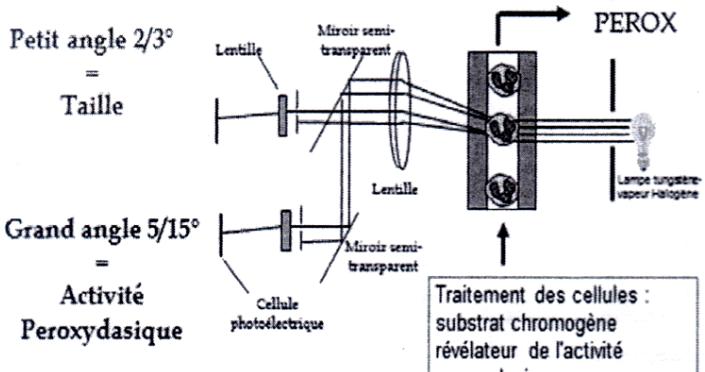


## DOCUMENT 5

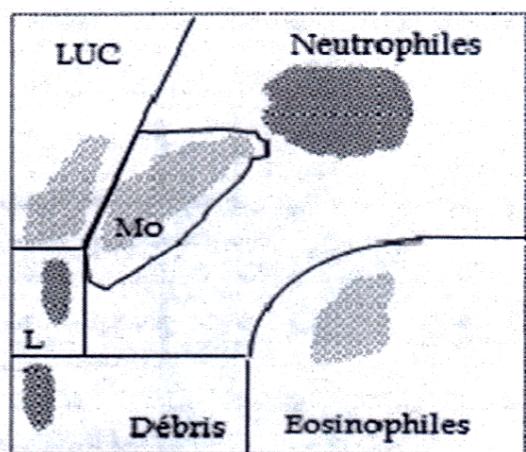
### Principe et résultats du canal « PEROX »

#### *Principe de détection*

Diffraction lumineuse enregistrée sous deux angles différents



#### *Cytogramme « PEROX »*



LUC = « Large Unstained Cells »

Mo = monocytes

L = lymphocytes

## DOCUMENT 6

### Mode opératoire simplifié de la coloration HPS

Colorant/solvant	Temps
1. Xylène	3'00"
2. Éthanol absolu	2'00"
3. Lavage à l'eau courante	0'40"
4. Hématoxyline	0'50"
5. Lavage à l'eau courante	0'25"
6. Bicarbonate de sodium 0.5%	0'12"
7. Lavage à l'eau courante	3'00"
8. Phloxine	0'15"
9. Lavage à l'eau courante	0'18"
10. Éthanol 95 %	0'30"
11. Éthanol absolu	0'30"
12. Éthanol absolu	0'45"
13. Safran	5'00"
14. Éthanol absolu	0'45"
15. Xylène	0'45"
16. Collage lamelle	1'00"

**Groupes sanguins sur automate**

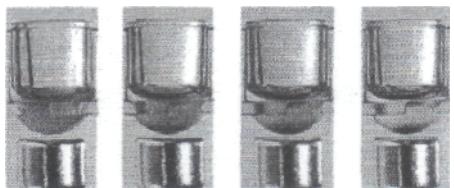
*Extrait de la notice technique des coffrets de réactifs de l'automate Qwalys® 3 de Diagast®*



DIAGAST

**PRINCIPE**

Le QWALYS® 3 est un automate d'immuno-hématologie permettant la réalisation de groupages, phénotypes, recherche d'anticorps irréguliers, recherche d'anticorps érythrocytaires, identification et cross match... Il utilise l'E.M.® Technology (*Erythrocytes Magnetized Technology*), nanotechnologie innovante basée sur la magnétisation des hématies.



Les hématies sont diluées à 1% dans une solution de Magnelys® et de broméline.

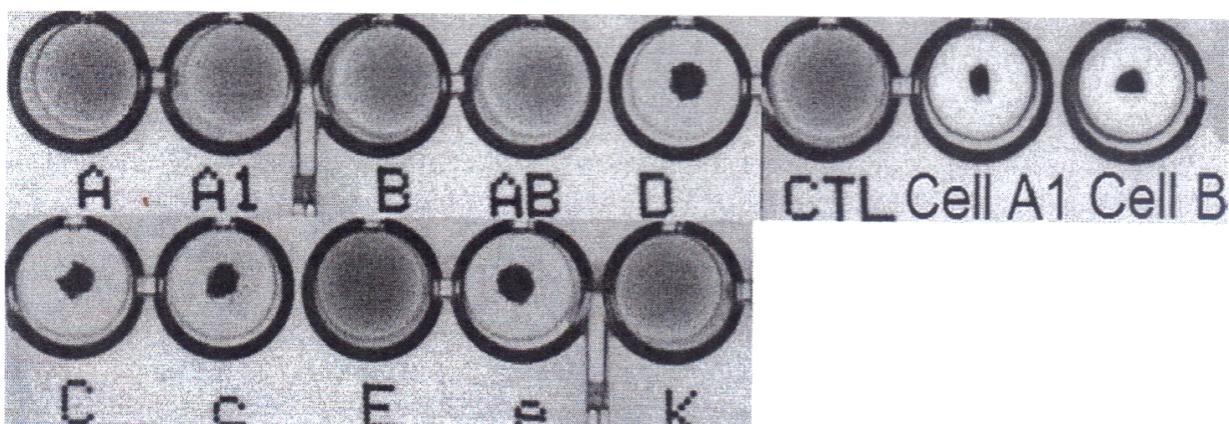
Les particules de fer présentes dans la solution magnétisante Magnelys® viennent se fixer à la surface des hématies. Une fois soumises au champ magnétique, les hématies magnétisées migrent et forment un culot au fond du puits. Après agitation, les hématies libres se remettent en suspension.

La broméline, enzyme protéolytique, induit une diminution importante de la charge électronégative de la surface des hématies, ce qui permet leur réaction avec des anticorps normalement non-réactifs en milieu salin.

**RÉACTIFS**

- Microplaques DuoLys contenant des puits d'anti-A, d'anti-A1, d'anti-B, d'anti-A,B, d'anti-D, de témoin négatif, 2 puits vides, d'anti-C, d'anti-c, d'anti-E, d'anti-e, d'anti-K
- Flacon de MagneLys®
- Flacon de broméline
- Flacons Hematest A1 et B : hématies pour l'épreuve plasmatique

*Remarque : Les coffrets utilisés ici ne sont pas destinés au dépistage de l'antigène D faible.*

**Résultats patient**

## **E5 Analyses de Biologie Médicale**

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 travaux pratiques issue d'une banque dont la présentation est interdite.

# 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 oubli 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 :

[christine.gaufichon-charrier@ac-poitiers.fr](mailto:christine.gaufichon-charrier@ac-poitiers.fr)

[christel.chatelais@ac-toulouse.fr](mailto:christel.chatelais@ac-toulouse.fr)

- de lire les éventuels erratum sur le site UPBM : <http://www.upbm.org>

# SESSION 2018

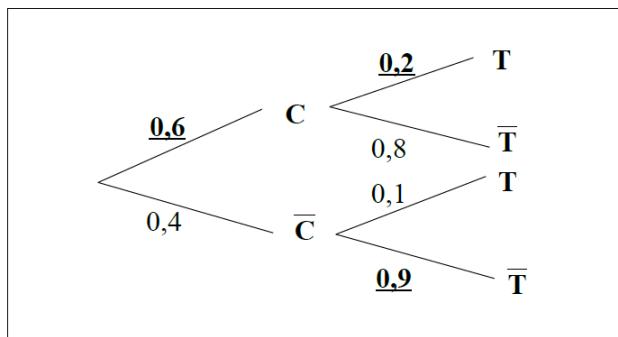
## E2 Mathématiques

## 2018 corrigé

### Exercice 1 :

#### PARTIE A

1.



Remarque : les valeurs du texte sont écrites en gras souligné

Pour compléter le reste de l'arbre, on utilise la formule de la probabilité du contraire.  
Exemple pour  $P(C) = 1 - P(\bar{C})$

2. On utilise la formule des probabilités totales :

$$P(T) = P(C \cap T) + P(\bar{C} \cap T) = 0,6 \times 0,2 + 0,4 \times 0,1 = 0,16$$

3. Il faut déterminer la probabilité de C sachant T, c'est à dire  $P_T(C)$

$$\text{Or } P_T(C) = \frac{P(C \cap T)}{P(T)} \text{ d'où } P_T(C) = \frac{0,6 \times 0,2}{0,16} = 0,75$$

4.

a) Comme estimation ponctuelle de  $p$  on prend la fréquence observée dans l'échantillon soit  $f = \frac{25}{40} = 0,625$

b) D'après le cours l'intervalle de confiance de la proportion  $p$  de la population au seuil de 95 % est :

$$[0,625 - 1,96 \sqrt{\frac{0,625 \times (1 - 0,625)}{40}}, 0,625 + 1,96 \sqrt{\frac{0,625 \times (1 - 0,625)}{40}}] \approx [0,548; 0,702]$$

## PARTIE B

1. Pour une loi exponentielle, comme rappelé dans le formulaire distribué,  $E(X) = \frac{1}{\lambda}$ .

Dans le texte le délai moyen est de 10 jours donc  $\lambda = 0,1$

2. La densité de probabilité d'une loi exponentielle est une fonction définie et décroissante sur  $[0 ; +\infty[$ .

Donc, la représentation A correspond à la densité de probabilité de cette loi exponentielle.

$$3. P(T \leq 8) = 1 - e^{-0,1 \times 8} \approx 0,551$$

## PARTIE C

question 1 : réponse A

Expérience à deux issues possibles (le patient a un délai d'attente ne dépassant pas 8 fois considéré comme succès) répétée 200 fois.

question 2 : réponse C

Le quart de 200 est 50. On cherche donc la probabilité qu'il y ait exactement 50 patients ayant un délai d'attente qui ne dépasse pas 8 jours.

question 3 : réponse B

Il faut déterminer  $P(X \leq 99)$ . A la calculatrice on obtient 0,068.

question 4 : réponse A

Les paramètres de la loi normale approchant la loi binomiale sont :

$$\mu = 200 \times 0,55 = 110 \text{ et } \sigma = \sqrt{200 \times 0,55 \times (1 - 0,55)} \approx 7$$

## Exercice 2 :

### PARTIE A

1. 90 minutes correspondent à 1,5 heures. D'après le graphique pour un temps de 1,5h, on obtient une température de 22 °C.

2.

- a) Non car au bout de 2 h la température est toujours au-dessus de 10 °C
- b) Oui. Pour atteindre 10 °C, il faut environ 1,75 h soit 1 h et 45 minutes.

3. Par exemple avec une baisse de 5 % sur 15 minutes, on aurait une température de  $63 \times 0,95^{15} \approx 29$  °C, en utilisant la formule explicite d'une suite géométrique. Or avec la courbe C2, on a environ 47 °C.

4.

1	$N \leftarrow 0$
2	$T \leftarrow 63$
3	Tant que <b><u>T ≥ 10</u></b>
4	Affecter à N la valeur <b><u>N + 1</u></b>
5	Affecter à T la valeur <b><u>T × 0,98</u></b>
6	Fin Tant que

## PARTIE B

1.

a)  $y' = -1,2(y - 3)$  s'écrit aussi  $y' = -1,2y + 3,6$  soit  $y' + 1,2y = 3,6$

b) L'équation différentielle  $y' + 1,2y = 0$  est du modèle  $y' + ay = 0$  avec  $a=1,2$ . Donc d'après le cours les solutions sont les fonctions de la forme  $k e^{-1,2t}$  avec  $k$  une constante réelle.

c) La fonction constante  $t \mapsto 3$  est solution particulière de ( $E$ ) donc elle doit vérifier cette équation.

Or  $0 + 1,2 \times 3 = 3,6$ . Les solutions de l'équation différentielle ( $E$ ) sont donc de la forme :  $t \mapsto k e^{-1,2t} + 3$ .

d) D'après le texte, on place les barquettes dans la cellule de refroidissement, c'est à dire au temps  $t = 0$ , lorsque la température du plat cuisiné atteint  $+ 63^\circ\text{C}$ . D'où  $f(0)=63$ .

La fonction  $f$  solution de ( $E$ ) vérifie donc la condition  $f(0)=63$ , d'où  $k e^{-1,2 \times 0} + 3 = 63$  soit  $k = 60$ . Conclusion  $f(t) = 60 e^{-1,2t} + 3$

2. A la calculatrice, on obtient  $f(2) \approx 8,44$ . Au bout de 2 h la température de la barquette est d'environ  $8,44^\circ\text{C}$ .

3. Si  $t \rightarrow +\infty$  alors  $-1,2t \rightarrow -\infty$  d'où  $e^{-1,2t} \rightarrow 0$  donc  $f(t) \rightarrow 3$ . Si on laisse la barquette dans la cellule de refroidissement sa température se stabilisera à  $3^\circ\text{C}$ .

4. Ce résultat correspond à la valeur moyenne de la fonction entre 0 et 1,5. La température moyenne de la barquette pendant 1 h 30 sera de  $30,8^\circ\text{C}$ .

5. Graphiquement la fonction  $g$  possède les mêmes propriétés que la fonction  $f$ . C'est à dire  $g(0) = 63$  et sa limite en  $+\infty$  serait 3.

Donc, en s'inspirant de la forme de l'expression de la fonction  $f$ , on peut admettre que  $g(t)$  est de la forme  $60 e^{at} + 3$  avec  $a$  une constante.

D'après la courbe on aurait  $g(1,5) = 22$ , d'où  $60 e^{1,5 \times a} + 3 = 22$ . D'où on obtient  $a \approx -0,76$ .

On peut donc proposer  $g(t) = 60 e^{-0,76t} + 3$ .

Avec la calculatrice, on constate que la représentation graphique de la fonction ainsi définie « correspond » bien à la courbe  $C_2$ .

## Exercice 1 : Le fer dans le plasma



**Q2.**  $K_s = [\text{Fe}^{3+}]_{(f)} \times [\text{HO}^-]_3 \text{(f)}$

**Q3.** On détermine le produit ionique :

$$P_i = [\text{Fe}^{3+}]_{(i)} \times [\text{HO}^-]_3 \text{(i)}$$

$$[\text{Fe}^{3+}]_{(i)} = 2 \times 10^{-5} \text{ mol/L et pH} = 7 \text{ donc } [\text{HO}^-] = 10^{-7} \text{ mol/L}$$

$$P_i = 2 \times 10^{-5} \times (10^{-7})^3 = 2 \times 10^{-26}$$

Comme  $P_i > K_s$ , il y a donc précipitation et formation de l'hydroxyde de fer III.

**Q4.** La transferrine va complexer les ions fer III qui ne sont plus présents dans le système. Ils ne peuvent alors plus précipiter avec les ions hydroxydes.

## Exercice 2 : Dosage du fer sérique par colorimétrie

### Première partie : choix de la solution tampon

**Q5.** Une solution tampon est une solution dont le pH varie peu après l'ajout de faibles quantités de bases ou d'acides ou après dilution.

**Q6.** On va prendre la solution d'acide éthanoïque ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) à  $0,10 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  car le  $pK_a$  du couple  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COO}^-$  est proche du pH de la solution tampon, et la solution d'hydroxyde de sodium ( $\text{Na}^+, \text{HO}^-$ ) à  $0,20 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de sorte à consommer entièrement les ions hydroxydes et à former une quantité d'ions éthanoate à peu près équivalente à celle d'acide éthanoïque de façon à obtenir un tampon de  $\text{pH} = 5$ .

Le protocole sera le suivant :

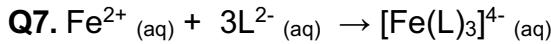
Placer à l'aide d'une pipette jaugée, la solution d'acide éthanoïque dans un erlenmeyer,  
Introduire une électrode de pHmètre,

Ajouter à l'aide d'une burette graduée la solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à  $\text{pH}=5$ .

La solution tampon sera prête.

### Deuxième partie : détermination de la concentration en fer sérique d'un patient

La ferrozine est un ligand noté  $\text{L}^{2-}$  à  $\text{pH} = 5$ . Il faut trois ligands ferrozine pour complexer un ion  $\text{Fe}^{2+}$ .



**Q8.** On choisit  $\lambda = 562 \text{ nm}$  pour laquelle l'absorbance est maximale car ainsi des solutions de concentration proche auront des absorbances différentes. Ainsi, on a une précision maximale du dosage.

**Q9.** Avec la solution étalon, on mesure directement l'absorbance liées aux ions  $\text{Fe}^{3+}$  car  $A_{\text{blanc}} = 0$ , donc  $A_{\text{étal}} = \epsilon \times l \times C_{\text{étal}} = k \times C_{\text{étal}}$ .

Dans le blanc échantillon le fer n'est pas complexé par la ferrozine

Avec le patient, on mesure  $A_{\text{ferpatient}} = A_{\text{fer+plasma}} - A_{\text{plasm patient}} = A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}} = k \times C_{\text{patient}}$

$$k = \frac{A_{\text{étal}}}{C_{\text{étal}}} = \frac{(A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}})}{C_{\text{patient}}} \quad \text{Donc } C_{\text{patient}} = \frac{(A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}})}{A_{\text{étal}}} \times C_{\text{étal}}$$

**Q10.**  $C_{\text{m patient}} = \frac{A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}}}{A_{\text{étal}}} \times C_{\text{m étal}}$

$$C_{\text{m étal}} = 2 \text{ mg/L} ; A_{\text{éch}} = 0,115 ; A_{\text{éch blanc}} = 0,008 ; A_{\text{étal}} = 0,164$$

$$C_{\text{m patient}} = \frac{0,115 - 0,008}{0,164} \times 2 = 1,3 \text{ mg/L} = 1300 \mu\text{g/L}.$$

On peut désormais calculer la concentration molaire :

$$C_{\text{patient}} = \frac{C_{\text{m patient}}}{M} = \frac{1,3 \times 10^{-3}}{55,8} = 2,3 \times 10^{-5} \text{ mol/L} = 23 \times 10^{-6} \text{ mol/L} = 23 \mu\text{mol/L}$$

Cette concentration est entre 10 et 30  $\mu\text{mol/L}$  donc elle est située dans la gamme des concentrations normales.

### Exercice 3 : Détection de la drépanocytose

**Q11.**  $v_e = 1,9 \times 10^8 \text{ m/s}$

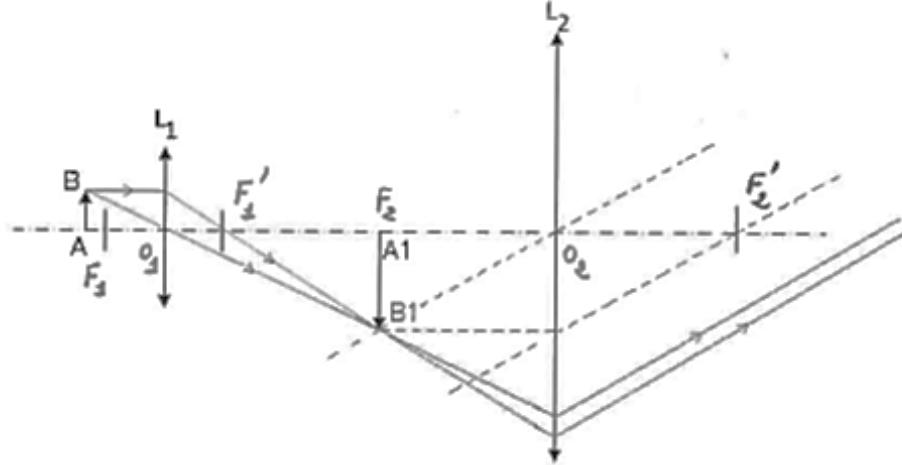
$$\lambda = \frac{h}{m \times v} = \frac{6,63 \cdot 10^{-34}}{9,109 \cdot 10^{-31} \times 1,9 \cdot 10^8} = 3,83 \times 10^{-12} \text{ m} = 3,83 \times 10^{-3} \text{ nm}$$

**Q12.** L'ouverture numérique ON = 0,010

$$AB_{\text{lim}} = \frac{1,22 \times 3,83 \cdot 10^{-12}}{2 \times 0,01} = 2,33 \times 10^{-10} \text{ m} = 2,33 \times 10^{-1} \text{ nm}$$

Donc la plus petite distance observable au microscope est de  $2,33 \times 10^{-4} \mu\text{m}$ , or la taille d'une hématie est de  $8 \mu\text{m}$  et celle de la drépanocytose de  $12 \mu\text{m}$ . On pourra donc observer les deux avec ce microscope.

**Q13.**



**Q14.**  $\overline{AB} = -0,410 \text{ cm}$

Pour une observation à l'infinie, il faut que  $A_1B_1$  l'image intermédiaire se forme en  $F_2$ .

Donc  $O_1\overline{A_1} = O_1\overline{F'_1} + F'_1\overline{F_2} = 0,4 + 16 = 16,4 \text{ cm}$

$$\text{Or, } \frac{1}{O_1A_1} - \frac{1}{O_1A} = \frac{1}{f'1} \quad \frac{1}{O_1A} = \frac{1}{O_1A_1} - \frac{1}{f'1} = \frac{1}{16,4} - \frac{1}{0,4} = -2,44$$

Donc,  $\overline{O_1A} = -0,41 \text{ cm}$

$AB$  est bien positionné à  $0,410 \text{ cm}$  devant l'objectif.

**Q15.**  $G_c = \frac{\Delta}{f'1f'2} \times I = \frac{16}{0,4 \times 25} = 400$

**Q16.** La visibilité de l'objet au microscope est possible si la taille de l'objet limitée par la diffraction est suffisante et si le pouvoir séparateur de l'œil est suffisant pour l'observer. Voyons si les deux conditions sont respectées.

$$\text{La diffraction impose } AB_{\text{lim}} = \frac{1,22 \times 400 \cdot 10^{-9}}{2 \times 0,65} = 375 \text{ nm} = 0,375 \mu\text{m} < 12 \mu\text{m}$$

Le microscope permet de voir un objet de  $0,375 \mu\text{m}$  au plus petit donc il permet d'observer des objets plus gros. Le phénomène de diffraction ne gêne pas l'observation.

Qu'en est-il du pouvoir séparateur de l'œil ?

Si on suppose une hématie de  $8 \mu\text{m}$ , alors son diamètre apparent à la distance de  $25\text{cm}$  vaut :

$$\tan \Theta = \Theta = \frac{AB}{0,25} = \frac{8 \times 10^{-6}}{0,25} = 3,2 \times 10^{-5} \text{ rad}$$

On peut alors calculer la valeur de  $\Theta'$

$$\Theta' = \Theta \times G_c = 3,2 \times 10^{-5} \times 400 = 1,3 \times 10^{-2} \text{ rad}$$

Le pouvoir séparateur de l'œil avec un tel microscope et un tel objet doit être de :

$$\Theta' = 1,3 \times 10^{-2} \text{ rad} > \epsilon$$

La valeur est supérieure au pouvoir séparateur de l'œil, donc l'observation est possible.

## PATHOLOGIES LIÉES AUX PROTÉINES EN BIOLOGIE MÉDICALE

### **1. Exploration des protéines sériques**

#### **1.1. Dosage des protéines totales**

1.1.1. La concentration de 76 g/L de protéines totales est normale chez le patient X puisque comprises dans les normes physiologiques (60 à 80 g/L)

1.1.2. Les trois phases d'une analyse de biologie médicale sont :

- La phase pré-analytique : elle correspond à l'étape de prélèvement et toutes les précautions associées (choix du bon tube, identité du patient, délai de transport...)
- La phase analytique : elle correspond aux étapes du dosage et les contrôles de qualité associés.
- La phase post-analytique : elle comprend la validation biologique, la transmission du résultat...

#### **1.2. Contrôle qualité du dosage des protéines totales**

1.2.1. Les deux types de validation au laboratoire d'analyses médicales. :

- La validation technique (analytique) grâce aux contrôles de qualité interne par le technicien qui confirme l'exactitude des résultats.
- La validation biologique par le biologiste qui examine la cohérence du résultat en fonction de données médicales et biologiques.

1.2.2. Une solution de contrôle est un sérum ou une solution contenant un ou plusieurs analyte(s) de concentration(s) connue(s) et qui permet de valider l'exactitude de la méthode de dosage pour une série de dosage.

Les niveaux bas / moyen / haut correspondent aux niveaux de concentration par rapport aux valeurs physiologiques.

1.2.3. Le coefficient de variation est une valeur relative qui évalue la dispersion des résultats d'un même dosage.

CV = (écart type / moyenne) x 100

1.2.4. Selon les règles de Westgard :

- Les limites d'alerte : entre +/- 2s et 3s
- Les limites de rejet : au-delà de +3s et -3s

1.2.5. Si un contrôle se situe dans la zone de rejet, les échantillons patients ne peuvent pas être analysés avant une action corrective qui permet d'avoir un contrôle conforme.

Ex : repasser le CQI, vérifier les dates de péremption des CQI, des réactifs, recalibrer l'automate si nécessaire...

- 1.2.6. IL s'agit d'un Contrôle de Qualité Interne (CQI) : dont la valeur cible est connue, qui est exploité par le laboratoire (évaluation interne), qui assure la validation technique grâce à un, voire plusieurs passages quotidiens (entoure les séries patients).

Un Contrôle de Qualité Externe (CQE) est fourni et analysé par un organisme extérieur au laboratoire. La valeur cible n'est pas connue par le laboratoire et il permet une comparaison inter-laboratoire de la méthode de dosage. Les CQE sont peu fréquents.

- 1.2.7. Fidélité dans les conditions de répétabilité : étroitesse de l'accord entre des résultats de mesurage successifs d'un même échantillon et dans les mêmes conditions (même méthode, même laboratoire, même opérateur, même équipement et sur un temps court...).

Fidélité dans les conditions de reproductibilité : étroitesse de l'accord entre des résultats de mesurage successifs d'un même échantillon en faisant varier les conditions de mesurage (même méthode mais laboratoires différents ou opérateurs différents ou équipements différents...)

Dans le cas présent, on étudie la fidélité intermédiaire dans les conditions de reproductibilité puisque les mesurages sont effectués sur plusieurs jours.

### 1.3. Électrophorèse des protéines sériques

- 1.3.1. Le sérum (surnageant du sang coagulé) ne contient pas de fibrinogène ni d'autres protéines intervenant dans la coagulation et qui perturberaient l'interprétation des résultats d'électrophorèse : le fibrinogène apparaît dans la zone des gammaglobulines et peut simuler ou altérer un profil révélateur d'une immunoglobuline monoclonale.

Il faut donc recueillir le sang sur tube sec (sans coagulant).

- 1.3.2. Légendes de l'électrophorégramme : 1 (albumine), 2 (alpha1 globulines), 3 (alpha 2 globulines), 4 (béta globulines) et 5 (gammaglobulines).

- 1.3.3. L'électrode située du côté du dépôt est la cathode car le pH du tampon est de 8.6 c'est-à-dire supérieur au pH des protéines sériques : les protéines sont chargées négativement et migrent vers l'anode (+). Le dépôt est donc du côté cathode (-).

- 1.3.4. L'électrophorèse capillaire se caractérise par un courant d'électroendosmose très élevé qui entraîne toutes les protéines vers la cathode, plus ou moins rapidement selon leur densité de charge.

- 1.3.5. Les immunoglobulines peuvent se retrouver dans les urines car :

- les chaînes légères seules étant de petites molécules, elles peuvent traverser le filtre rénal.
- La pathologie peut être associée à un syndrome rénal.

- 1.3.6. L'électrophorèse révèle une gammapathie monoclonale (pic étroit et haut dans les gammaglobulines)

L'immunofixation des protéines sériques montre que l'immunoglobuline monoclonale est une IgG, Kappa.

L'immunofixation urinaire montre la présence de chaînes légères Kappa dans les urines (protéines de Bence Jones).

- 1.3.7. Conclusion : suspicion de myélome multiple (Maladie de Kahler) à IgG, kappa.

## **2. Protéines enzymatiques, marqueurs de pathologie**

### **2.1. Réaction enzymatique**

- 2.1.1. Phase 1 = début de la réaction enzymatique : la quantité de produit P formé par unité de temps est constante ( $V_i$ )  
Phase 2 = le substrat S commence à s'épuiser. La vitesse de formation du produit diminue.  
Phase 3 = fin de réaction. La totalité du substrat S est transformée en produit P (vitesse nulle)
- 2.1.2. Le dosage de la créatine kinase est réalisé pendant la phase 1 car la  $V_i$  est constante (on mesure la vitesse de transformation de S en P).
- 2.1.3.

### **2.2. Dosage de la créatine kinase (CK) : marqueur de pathologie**

- 2.2.1. Les isoenzymes sont des enzymes oligomériques de structures différentes (propriétés physicochimiques différentes ou codées par des gènes différents) qui catalysent la même réaction et sont spécifiques d'un ou plusieurs organes.
- 2.2.2. Composition du réactif de travail :

- Tampon
- Substrats : créatine phosphate, ADP, D glucose, NADP<sup>+</sup>
- Enzymes : HK et G6-PDH

- 2.2.3. Les conditions opératoires à respecter :

- pH et température fixés et constants
- substrats en large excès (saturant)
- les enzymes : en quantité suffisante.

- 2.2.4. Les temps de relevé d'absorbance doivent être précis car on mesure une vitesse.

$$K = V_t / (\epsilon \times I \times E_s)$$

$$K = L/mol^{-1} \cdot L.cm^{-1} \cdot cm \cdot L$$

$$K = (1,05 \times 10^6 / (6300 \times 1 \times 0,05) = 3333$$

Rq : le facteur  $10^6$  est justifié car le coefficient epsilon est en  $mol^{-1}.L.cm^{-1}$  alors que la concentration catalytique de l'enzyme est exprimée en UI/L d'enzyme avec des  $\mu\text{mol}$  de S transformé par min et par L d'enzyme.

- 2.2.6. La CK totale peut être augmentée au cours de pathologie musculaire ou cardiaque ou cérébrale car est spécifique de ces organes.

## **3. Protéines et maladies génétiques: exemple de l'hémochromatose**

### **3.1. Maladie génétique : l'hémochromatose**

La mutation est une substitution car il y a remplacement d'une base par une autre.

### **3.2. Diagnostic de l'hémochromatose par PCR**

- 3.2.1. Les trois étapes de la PCR :

- Dénaturation à 95 °C
- Hybridation des amorce (T < Tm) vers 55 °C
- Élongation à 72 °C

- 3.2.2. Les réactifs nécessaires à la PCR :

- L'ADN matrice : fragment à amplifier
- Les amorce spécifiques : complémentaires et spécifiques, elles délimitent de part et d'autre la séquence d'ADN à amplifier.
- 4 dNTP : monomères d'ADN
- ADN polymérase thermorésistante : enzyme qui permet la synthèse des copies d'ADN matrice
- Tampon avec du Mg<sup>2+</sup> coenzyme de l'ADN polymérase.

## LES INFECTIONS DES VOIES RESPIRATOIRES

### 1. Examen cytobactériologique d'un prélèvement trachéo-bronchique

#### 1.1. Vérification de la qualité du prélèvement

1.1.1. Les résultats indiquent :

Cellules épithéliales bucco-pharyngées = 3/champ donc < 10/champ

Leucocytes = 45/champ soit > 25/champ

Présence de cellules bronchiques et de macrophages

Donc correspondance avec un Score = 5

Indicateur d'une bonne qualité du prélèvement, la mise en culture possible

1.1.2. Mélanger l'expectoration avec un mucolytique volume à volume.

Il permet de fluidifier l'échantillon pour libérer les bactéries prises dans le mucus et le liquéfier pour faciliter son analyse.

#### 1.2. Diagnostic des infections à *Streptococcus pneumoniae*

1.2.1. Le *S.pneumoniae* se présente sous forme de diplocoque à Gram positif entouré d'un halo (capsule)

1.2.2. Les *S.pneumoniae* cultivent à 37 °C sous atmosphère enrichie de 5 à 10 % de CO<sub>2</sub>, ou en anaérobiose.

On observe une hémolyse alpha ( $\alpha$ ) : hémolyse incomplète

1.2.3. N = 10<sup>7</sup>UFC/mL

V = 10µl

d = 1/10 et 1/1000

$$N = \frac{n}{v} \times \frac{1}{d} \quad \text{donc } n = N \times v \times d = 10^7 \times 10 \cdot 10^{-3} \times 10^{-4} = 10$$

Le seuil de significativité sera atteint à partir de 10 colonies sur la gélose.

1.2.4. Le test DRYSPOT est un test de coagglutination entre des particules de latex bleues sensibilisées avec des anticorps de lapin anti antigène capsulaire de *S.pneumoniae* et les bactéries déposées sur la plaque. La réaction spécifique antigène-anticorps aboutit à la formation d'agglutinats bleus visibles (zone test).

Validation du test avec la zone contrôle contenant des particules de latex bleues dépourvues d'anticorps anti Ig capsulaire de *S.pneumoniae*. Elle permet de vérifier l'absence de réaction entre les bactéries et le support de visualisation de l'agglutination.

1.2.5.

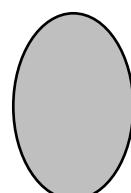


: Absence d'agglutination



: Présence d'agglutination

Zone contrôle



Zone test



### **1.3. Antibiogramme de *Streptococcus pneumoniae***

- 1.3.1. Bactérie naturellement résistante à des antibiotiques. La résistance est due à la présence de gènes dans le génome bactérien, donc fixe et constante à l'intérieur du taxon. Toutes les souches de la même espèce ont les mêmes niveaux de résistances pour les mêmes antibiotiques.
- 1.3.2. La cible cellulaire des aminosides est la sous unité 30S du ribosome. En s'y fixant, l'antibiotique bloque l'élongation donc la traduction, mais également provoque des erreurs de lecture de l'ARNm.
- 1.3.3. Le principal mécanisme est la sécrétion d'enzymes d'inactivation des aminosides. Codées par des plasmides, elles modifient l'antibiotique une fois pénétré dans le cytoplasme de la bactérie en lui fixant un groupement par acétylation, phosphorylation, adénylation. L'antibiotique ne peut donc plus se fixer sur sa cible, la bactérie est devenue résistante.  
Une résistance par modification du site de fixation de l'aminoside sur le ribosome existe mais est plus rare.
- 1.3.4. Le mécanisme d'acquisition d'un plasmide chez les bactéries est la conjugaison. La conjugaison est un transfert de plasmide, fragment d'ADN circulaire indépendant du génome bactérien, d'une bactérie donatrice vers une bactérie réceptrice, par contact et appariement. La bactérie donatrice possède un facteur de fertilité (facteur F<sup>+</sup>) permettant la synthèse de pili sexuels qui vont l'aider à entrer en contact avec une bactérie dépourvue de ce facteur (F<sup>-</sup>) afin de lui transférer une partie ou la totalité du plasmide.
- 1.3.5. BMR : bactérie MultiRésistante aux antibiotiques.  
Un plasmide peut contenir les gènes de résistance à des antibiotiques qui seront transférés à la bactérie réceptrice lui conférant de nouvelles capacités de résistance à d'autres antibiotiques.
- 1.3.6. L'association d'antibiotiques peut potentialiser leur effet bactéricide; on parle de synergie bactéricide.
- 1.3.7. Rechercher la résistance aux β lactamines avec un disque oxacilline 1 µg et la résistance de haut niveau aux aminosides avec un disque de gentamicine 500 µg. Synergie possible si bactérie sensible aux pénicillines (diamètre OXA ≥ 20 mm) et gentamicine 500 (diamètre ≥ 17 mm) ; souche de *S.pneumoniae* sauvage avec Bas Niveau de Résistance aux aminosides.

## **2. Les hémocultures**

### **2.1. Réalisation et analyse des hémocultures**

#### **2.1.1. Le prélèvement de sang pour l'hémoculture.**

- par ponction veineuse au pli du coude chez l'adulte,
- par ponction sur une veine épicrânienne, jugulaire ou ombilicale chez le nouveau-né et le nourrisson.

Asepsie rigoureuse pour éviter de contaminer le prélèvement ou le préleveur :

- laver les mains du préleveur, port de gants,
- Désinfecter plusieurs fois le point de ponction (pli du coude),
- Désinfecter les opercules des flacons d'hémoculture,
- Ponctionner avec du matériel à usage unique stérile en remplissant le flacon aérobie puis le flacon anaérobie,
- Étiqueter les flacons,
- Les apporter en urgence au laboratoire à température ambiante.

2.1.2. Préciser les informations qui doivent impérativement accompagner le prélèvement.

- l'identité du patient : nom et prénom du malade, sexe, date de naissance,
- date et heure du prélèvement
- température corporelle
- si traitement en cours
- si infection connue

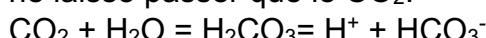
2.1.3. Exposer un principe de lecture automatisée de la croissance bactérienne.

Les automates détectent les hémocultures positives grâce à la mise en évidence de produits métaboliques générés par la croissance des bactéries ( $\text{CO}_2$ , ion  $\text{H}^+$ , variation du potentiel redox du milieu).

Exemple : détection de la présence de  $\text{CO}_2$

Le fond du flacon a un détecteur de  $\text{CO}_2$  contenant un indicateur de pH.

Le détecteur est séparé du contenu du flacon par une membrane semi perméable qui ne laisse passer que le  $\text{CO}_2$ .



Les  $\text{H}^+$  induisent une diminution du pH faisant virer l'indicateur. Une lampe LED éclaire le fond du flacon et la lumière réfléchie est mesurée par une photodiode. La quantité de lumière réfléchie est proportionnelle à la quantité de  $\text{CO}_2$  produite.

2.1.4. Citer deux facteurs qui peuvent entraîner de faux négatifs.

- sepsis dû à une autre étiologie (virale, tuberculeuse, *Chlamydia*,...)
- prélèvement à un mauvais moment ou trop tardivement au cours de la maladie,
- traitement antibiotique avant le prélèvement.
- quantité trop faible de sang ensemencé dans le flacon d'hémoculture,
- Nombre de flacons ensemencés insuffisant en 24 h « hémoculture solitaire » (2 flacons/24 h)
- milieux de culture non adaptés à la bactérie en cause ou microorganisme de culture impossible,
- temps d'observation insuffisant.

## 2.2. Bactériémies à *Haemophilus influenzae* type b (Hib)

2.2.1. *Haemophilus influenzae* est un coccobacille Gram négatif polymorphe, capsulé.

2.2.2. La gélose au sang ne convient pas à la culture des *Haemophilus influenzae* car la bactérie n'a pas accès aux facteurs de croissance indispensables à sa culture que sont l'hémine (facteur X) et le NAD (facteur V): bactérie très exigeante.

La gélose chocolat supplémentée en vitamines est le milieu de culture adapté.

### 2.2.3. Principe de la spectrométrie de masse

Méthode d'identification des bactéries basée sur le principe de séparation des molécules bactériennes en fonction de leur rapport masse/charge après désorption et ionisation puis séparation dans un tube sous vide.

La désorption-ionisation de la colonie bactérienne est facilitée par la matrice qui la recouvre. Les molécules ionisées après bombardement par un laser sont accélérées dans un champ électrique couplé à un analyseur du temps de parcours dans le tube à vide : temps de vol. Le temps de parcours de chaque molécule dans le tube à vide avant d'atteindre le détecteur sera fonction de leur masse/charge.

Le spectre obtenu pour chaque bactérie sera comparé à la base de données du détecteur pour l'identifier.

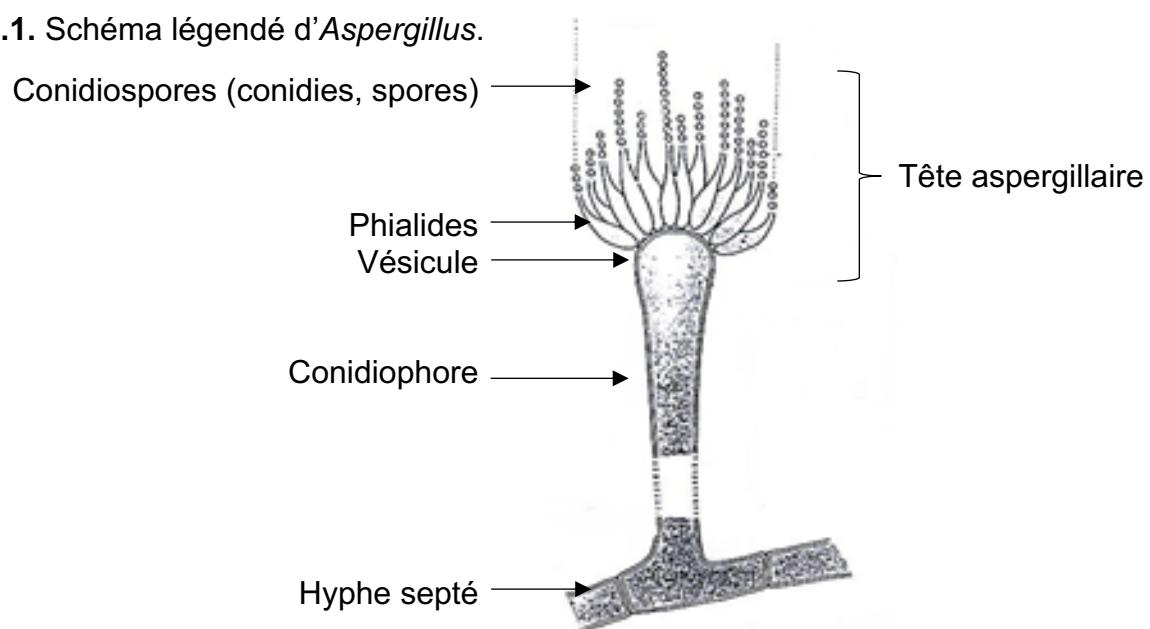
### 2.2.4. Biotype : espèce distinguée par caractères biologiques (biochimiques)

L'intérêt de sa recherche est épidémiologique.

### 2.2.5. CNR : Centre National de Référence qui collecte, contrôle et stocke les souches de *H.influenzae* isolées en France.

## 3. Les aspergilloses bronchiques

### 3.1. Schéma légendé d'*Aspergillus*.



### 3.2. Tableau de répartition correspondant à la technique HAI avec le coffret Biosynex-Fumouze®

N° cupule	1	2	3	4	5	6	7	8
Tampon phosphate en µL	50	50	50	50	50	50		50
Sérum au 1/40 en µL	50						50	
Sérum redistribué dans la cupule suivante en µL		50	50	50	50	50*		
Hématies sensibilisées en goutte	1	1	1	1	1	1		1
Hématies non sensibilisées en goutte							1	
Titre	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560		

\* Cupule 6 : 50µL rejeté après mélange.

### 3.3. Les témoins permettent de vérifier le test.

Cupule 7 : Témoin sérum pour vérifier que les anticorps du sérum ne réagissent pas avec le support de visualisation de la réaction soit les hématies. On obtient une sédimentation au fond de la cupule sous la forme d'un anneau.

Cupule 8 : Témoin réactif ou hématies sensibilisées pour vérifier qu'elles ne sont pas auto-agglutinables. On obtient une sédimentation au fond de la cupule sous la forme d'un anneau.

### 3.4. Les contrôles permettent de valider la méthode, la série.

Contrôle positif vérifie la fonctionnalité de la réaction. Il doit donner une hémagglutination (vole rouge/marron tapissant la cupule). Contrôle validé si agglutination dans la cupule 1,2 et/ou 3 (titre : 160 +/- 1 dilution).

Contrôle négatif vérifie la spécificité de la réaction. Il doit y avoir sédimentation

**3.5. Les témoins en cupules 7 et 8 sont validés (aspect attendu) donc le test peut être interprété. Le patient Y a un sérum qui donne une hémagglutination jusqu'à la cupule 4 donc titre de 1/640.**

Interprétation : Le titre est  $\geq 1/640$  donc réaction positive en faveur d'une aspergillose profonde.

## 4. La paragonimose

**4.1.** Un trématode est un métazoaire (parasite pluricellulaire) plat : plathelminthe, non segmenté.

### 4.2. Commenter le cycle des *Paragonimus*.

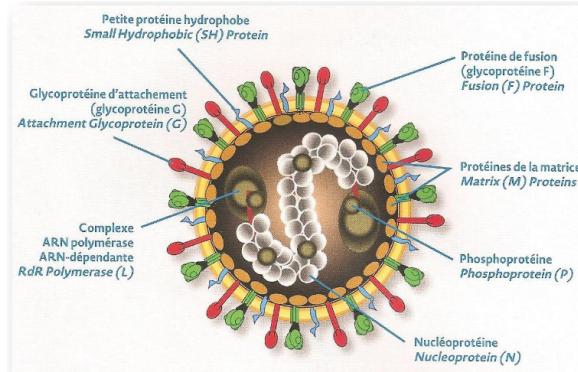
Cycle hétéroxène car présence de plusieurs hôtes :

- Hôte définitif hébergeant la forme adulte du parasite : l'Homme au niveau pulmonaire.  
Élimination des œufs dans l'environnement dans les expectorations.

- Hôtes intermédiaires permettant la maturation du parasite en forme infestante : coquillages et crustacés (crabes et écrevisses).

## 5. Le virus respiratoire syncytial (VRS)

### 5.1. Schéma légendé du VRS.

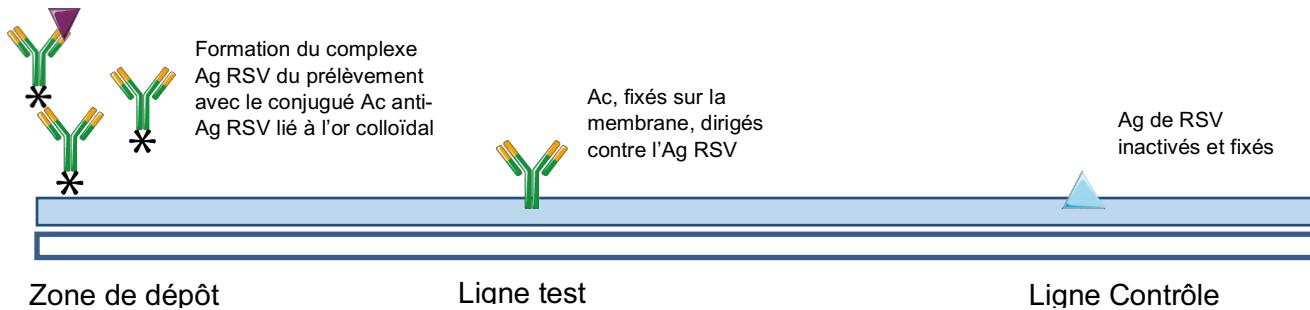


Lay MK, González PA, León MA et al. Advances in Understanding Respiratory Syncytial Virus Infection in Airway Epithelial Cells and Consequential-Effects on the immune response. *Microbes Infect.* 2013;15:230

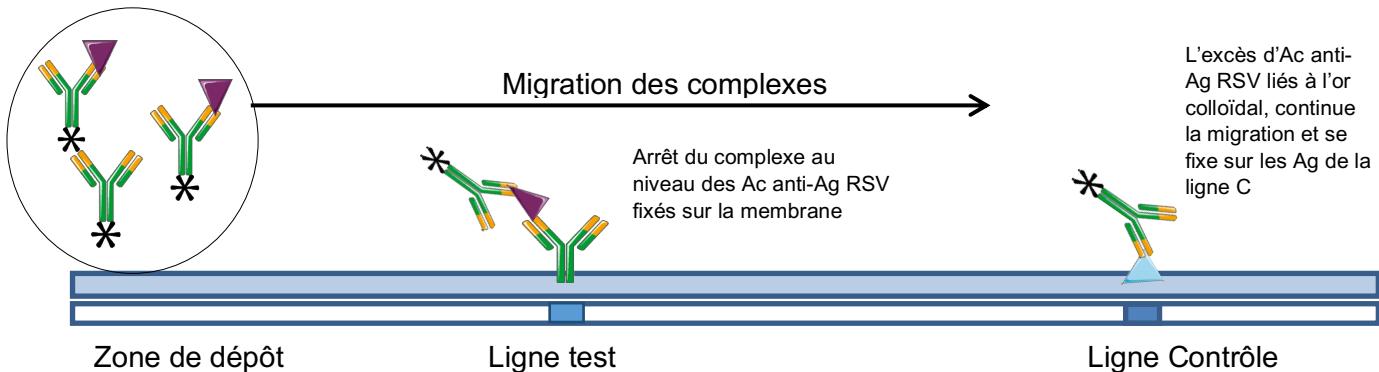
**5.2.** L'enzyme nécessaire à la réplication du génome est l'ARN polymérase ARN dépendante ; Elle transcrit l'ARN négatif en ARN positif qui sert à la traduction puis amplifie le génome à partir de cet ARN.

**5.3.** Principe de la recherche du VRS, par le kit BD DIRECTIGEN™ EZ RSV, sous forme d'un schéma légendé.

### La bandelette et ses différents éléments :



### Cas d'une réaction positive :



**5.4.** La ribavirine est un analogue structural de la guanine donc il y a compétition lors de la réplication entre ces deux molécules pour se fixer sur l'ARN polymérase. La fixation de la ribavirine bloque l'ARN polymérase.

## LA DRÉPANOCYTOSE

### 1- Quelques aspects hématologiques de la drépanocytose

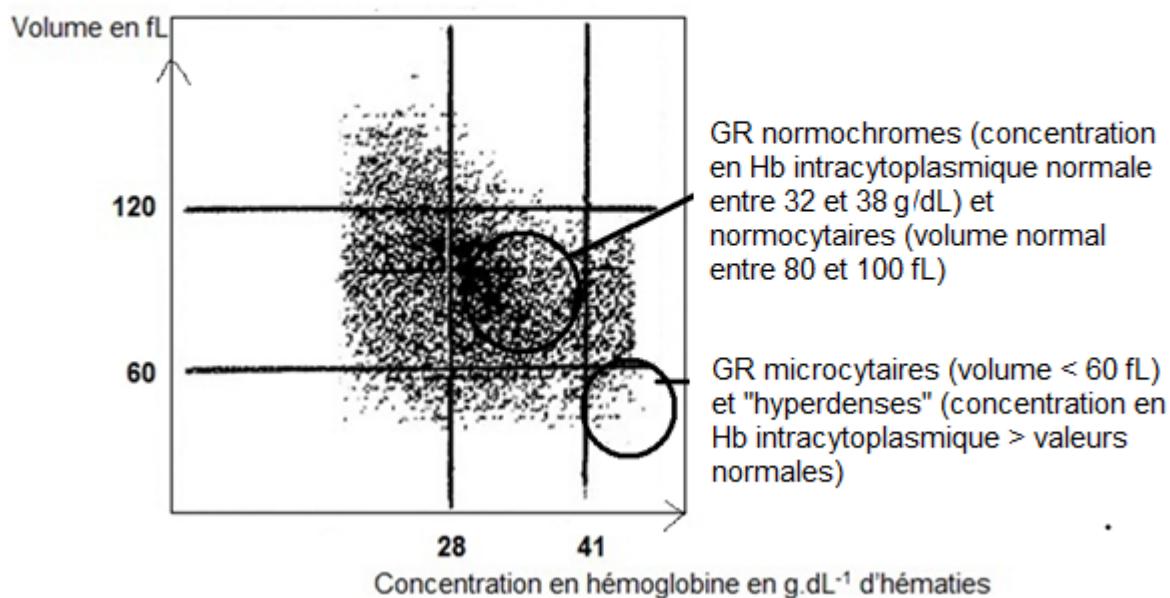
1.1- La technique de cytométrie en flux associée au principe optique permet l'étude individuelle des cellules séparées les unes des autres et passant devant un rayon laser grâce à la mesure de la lumière diffractée :

- Selon un petit angle : la mesure de la lumière diffractée renseigne sur la taille de la cellule et donc son volume
- Selon un grand angle : la mesure de la lumière diffractée renseigne alors sur le contenu de la cellule et donc pour certains automates sur la concentration en hémoglobine dans le cytoplasme de l'hématie (Pour d'autres automates, la concentration en hémoglobine repose sur une mesure d'absorbance)

1.2- Il est nécessaire de rendre sphérique le globule rouge avant la numération par diffraction optique du fait de la forme biconcave de celui-ci qui pourrait modifier la diffraction de la lumière en fonction de son angle de présentation. Il existe en effet une relation entre la forme de la cellule et son volume.

1.3- Les hématies sur l'histogramme bi-paramétrique du document 2 :

Résultats de l'histogramme bi-paramétrique des globules rouges  
d'un sujet drépanocytaire  
Documentation ADVIA



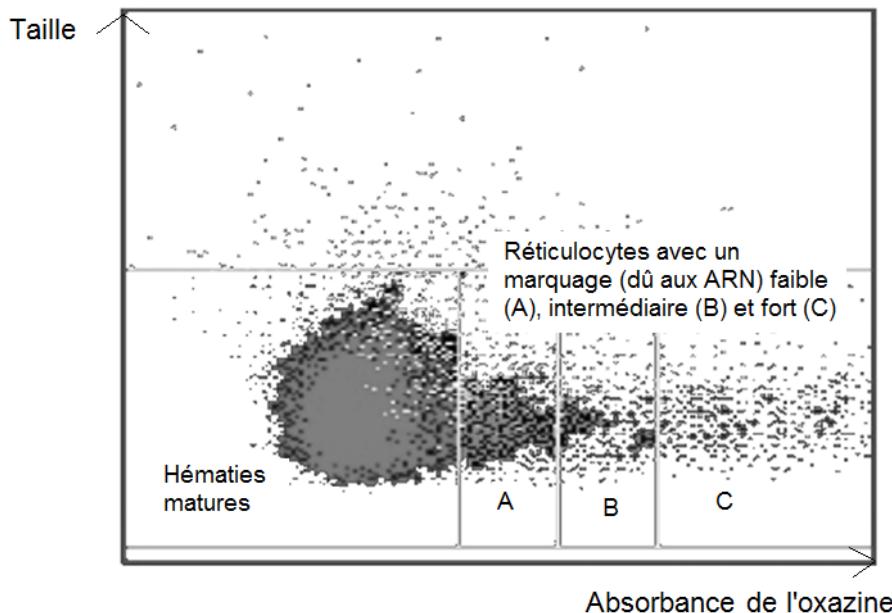
1.4- Les ARN résiduels des réticulocytes fixent l'oxazine ce qui permet de distinguer les réticulocytes (fluorescents) et hématies (sans ARN donc non fluorescents).

1.5- Plus les hématies sont « vieilles » moins elles contiennent d'ARN donc moins elles sont fluorescentes.

→ Le nuage le plus à gauche rassemble les hématies matures sans ARN résiduels

→ Le nuage le plus à droite (nuage C sur l'histogramme) rassemble les réticulocytes les plus jeunes (avec le plus d'ARN donc les plus marqués par l'oxazine). Leur taille est sensiblement identique à celle des hématies.

**Histogramme de numération des réticulocytes**  
Documentation ADVIA



1.6- La numération des réticulocytes étant très supérieure aux valeurs physiologiques normales de référence ( $> 120 \text{ } 10^9/\text{L}$ ), cela indique un processus régénératif. La drépanocytose est associée à une anémie régénérative.

## 2- Conséquences de la drépanocytose

2.1- Un drépanocyte est une hématie en forme de faucille, allongée et aux extrémités pointues.

Une hématie normale



Un drépanocyte



2.2- Au niveau des organes, la pression partielle en  $\text{O}_2$  diminue entraînant la précipitation de l'hémoglobine S des sujets drépanocytaires. Les hématies ne sont plus déformables et ni suffisamment souples et élastiques pour passer dans les capillaires. Elles obstruent ainsi les vaisseaux les plus étroits privant les tissus d'un apport en oxygène et nutriments (crise vaso-occlusives). Il y a alors nécrose des tissus.

2.3- Les voies du système du complément (document 4) :

- Voie 1 : voie alterne
- Voie 2 : voie classique
- Voie 3 : voie des lectines

## 2.4- Les rôles des composants du complément :

- C3b : rôle dans l'opsonisation
- C3a et C5a : chimiotactisme, vasodilatation, inflammation...
- C5b-C6-C7-C8-C9 : le complexe d'attaque membranaire (CAM) qui permet la lyse de la cellule cible.

2.5- Les bains d'éthanol de concentration croissante permettent la déshydratation des coupes histologiques (substitution de l'eau es tissus par de l'éthanol). Puis le bain de xylène assure la substitution de l'éthanol par un solvant miscible à paraffine. En effet, la paraffine n'étant pas miscible à l'eau est nécessaire de remplacer l'eau des tissus par de l'éthanol puis un solvant de la paraffine.

2.6- Lors des examens extemporanés, les tissus sont durcis par congélation (procédure plus rapide que l'inclusion en paraffine).

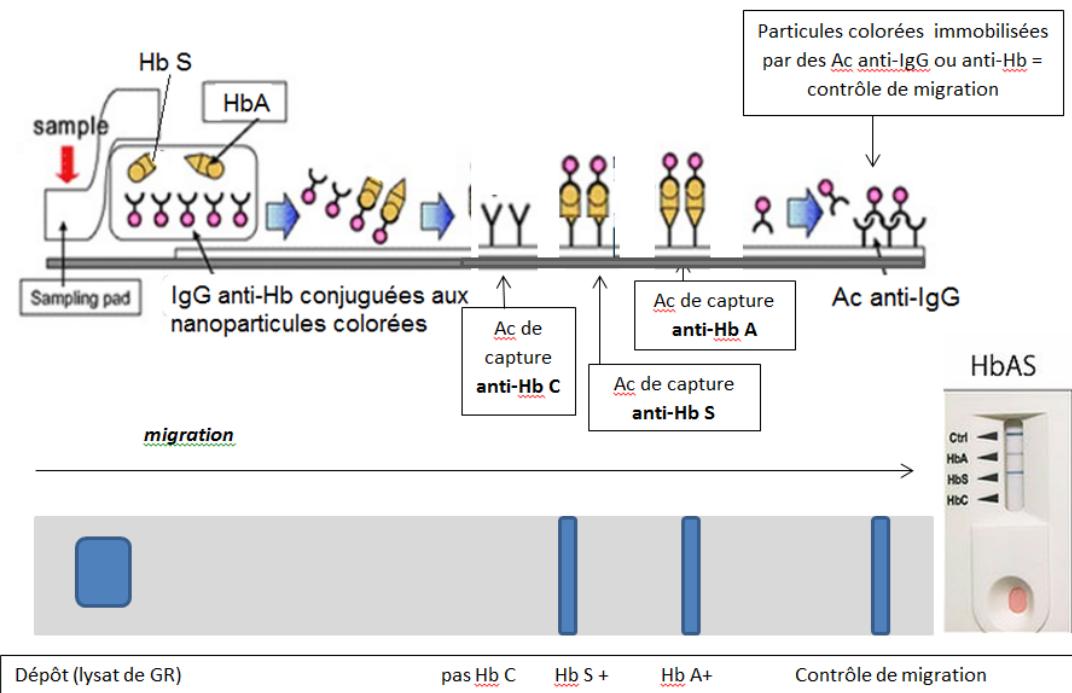
## 3- Le dépistage des sujets à risque

3.1- Le contrôle permet de vérifier la séparation des différentes hémoglobines dans les conditions analytiques (validation technique) et d'avoir une référence du niveau de migration de chaque type d'hémoglobine.

3.2- Les hémoglobines A, S et C ont des pH<sub>i</sub> différents (donc une charge différente) du fait de la nature de l'acide aminé n°6 de la globine β qui les différencie (glutamate pour l'Hb A, valine neutre pour l'Hb S et une lysine basique pour l'Hb C). Les Hb A, S et C peuvent ainsi être séparées par électrophorèse.

3.3- Les bandes parasites sont dues à l'apparition de formes dégradées de l'hémoglobine ce qui rendrait l'interprétation délicate.

3.4- L'étape 4 permet l'hémolyse et la libération de l'hémoglobine.



#### **4- Le traitement des sujets drépanocytaire**

- 4.1- L'antigène vaccinal est l'oligoside de *Neisseria meningitidis* ou le polyoside de *Neisseria meningitis* (vaccin méningococcique)
- 4.2- L'Ag vaccinal est un haptène qui n'est pas immunogène s'il est injecté seul. Il faut le coupler à une protéine (conjugué avec la protéine CRM 197 de *Corynebacterium* ou l'anatoxine téstanique) pour obtenir une réponse immunitaire humorale et mémorisée.  
Les sels d'aluminium sont des adjuvants : ils augmentent et prolongent l'action des macrophages (immunité naturelle) amplifiant ainsi la réaction immunitaire spécifique.
- 4.3- La réponse d'un organisme à un vaccin peut être modulée par différents facteurs dont :
- la nature et la dose de l'antigène vaccinal
  - Le mode d'administration (voie d'injection voire voie orale)
  - l'état immunitaire du patient
  - L'âge du patient...

# SESSION 2019

## E2 Mathématiques

## 2019 corrigé

### EXERCICE 1 :

#### Partie A :

- Soit  $t$  un réel positif. Cette équation différentielle équivaut à :  $y' - (20,8/20) y = 0$  soit  $y' - 1,04 y = 0$ .

Les solutions de cette équation sont donc les fonctions du type  $y(t) = k e^{1,04t}$  où  $k$  est une constante réelle.

- Avec la condition  $f(0) = 10$ , en la remplaçant dans l'équation précédente, on obtient :  $k e^{1,04 \times 0} = 10$ , soit  $k = 10$  donc  $f(t) = 10 e^{1,04t}$ .

#### Partie B :

- Voici le tableau des valeurs :

Heure ( $t_i$ )	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Quantité de SA ( $N_i$ )	10	27	78	232	650	1800	5100	14100	39000
$z_i = \ln(N_i)$	2,30	3,30	4,36	5,45	6,48	7,50	8,54	9,55	10,57

- A l'aide de la calculatrice, on trouve :  $z(t) = 1,037t + 2,301$ .

- Comme  $z_i = \ln(N_i)$  alors  $N_i = e^{z_i}$  donc  $N(t) = e^{1,037t + 2,301}$ .

- On résout l'équation  $N(t) = 20$  donc  $10e^{1,04t} = 20$

$$\text{soit } e^{1,04t} = 2 \Rightarrow 1,04t = \ln 2 \Rightarrow t = \frac{\ln 2}{1,04} \approx 0,666$$

On obtient environ  $G \approx 60 \times 0,666 \approx 40$  minutes.

- Comme  $t \rightarrow +\infty$ , alors  $1,04t \rightarrow +\infty$ ,  $e^{1,04t}$  et  $10e^{1,04t} \rightarrow +\infty$  donc **la limite de  $N$  en  $+\infty$  est  $+\infty$ .**

#### Partie C :

- Afin de trouver le sens de variation de la fonction  $M$  sur  $[0 ; +\infty[$ , on étudie le signe de sa dérivée  $M'$ : le dénominateur est strictement positif du fait que ce soit un carré, et le numérateur est également strictement positif puisque c'est le produit de constantes positives et  $e^{1,04t} > 0$ .

Ainsi  $M'(t) > 0$  donc la fonction **M est strictement croissante sur  $[0;+\infty[$ .**

2. a. Quand  $t$  tend vers  $+\infty$ , alors :  $-1,04t \rightarrow -\infty$ ,  $e^{-1,04t} \rightarrow 0$  donc  $1350 e^{-1,04t} + 1 \rightarrow 1$ .  
 Ainsi **la limite de M en  $+\infty$  est 13500.**

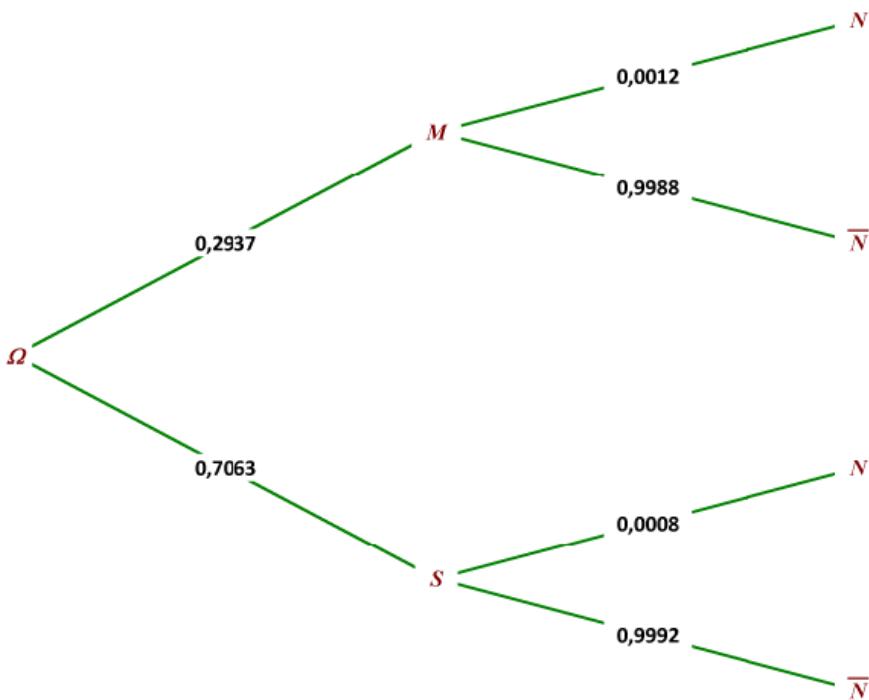
b. Dans la réalité, le nombre de bactéries ne peut pas augmenter de manière illimitée.  
**C'est le modèle logistique de la fonction M qui semble le plus vraisemblable** comparé au modèle exponentiel où la fonction a pour limite  $+\infty$  quand  $t$  tend vers  $+\infty$ .

3. Par lecture graphique, on voit que cela correspond à **8 heures**.
4. La **réponse b.** est la réponse correcte. En effet, c'est à **7 heures** que la courbe de la fonction M admet la tangente la plus pentue, c'est à dire avec le coefficient directeur le plus élevé.

## EXERCICE 2 :

### Partie A :

1.  $p(M) = 37000/126000$  soit environ **0,2937** et  $p(S) = 89000/126000$  soit environ **0,7063**.
2. En utilisant un arbre pondéré :



3. À l'aide de la formule des probabilités totales, on obtient :  
 $p(N) = p(M) \times p_M(N) + p(S) \times p_S(N) = 0,2937 \times 0,0012 + 0,7063 \times 0,0008 \approx 0,0009$ .
4.  $p_N(M) = \frac{p(M \cap N)}{p(N)} = \frac{0,2937 \times 0,0012}{0,0009} \approx 0,3916$ .

## Partie B :

1. La moyenne pour cette série donne  $\bar{x} \approx 4,5213$  et l'écart-type  $s' \approx 0,0975$ .
2. La valeur estimée de  $\sigma$  est égale à  $s = s' \sqrt{\frac{600}{599}} \approx 0,0976$ .
3. a. Le graphique choisi est celui qui a son pic dont l'abscisse est située à 4,5, ce qui correspond à la moyenne (n°1 et n°2). De plus, l'écart-type étant de 0,004, on sait que 99% des valeurs se situent dans l'intervalle  $[\mu - 3\sigma ; \mu + 3\sigma] \approx [4,512 ; 4,488]$ . On en déduit qu'il s'agit de la **courbe n°2**.
- b. Pour que cette probabilité soit environ égale à 0,95, ce nombre « a » doit être égal à  $2 \times \sigma$ , donc à **0,008**.
- c. Si le taux moyen de nitrate de l'échantillon appartient à l'intervalle  $[4,5 - 0,008 ; 4,5 + 0,008]$  soit  $[4,492 ; 4,508]$  alors on accepte l'hypothèse  $H_0$  sinon on accepte  $H_1$ .
- d.  $\bar{x} \approx 4,5213$  donc **l'hypothèse que le taux moyen de nitrate de la production soit égal à 4,5 est rejetée au risque de se tromper de 5%**.

## Partie C :

1. Le biologiste semble avoir tort car pour considérer la probabilité qu'un lot de 540 bouteilles prélevées au hasard contienne moins de 520 bouteilles de très bonne qualité, il faut additionner les probabilités liées à 0, 1, ....518, 519 bouteilles de très bonne qualité. **Graphiquement, on constate qu'en additionnant, on dépasse les 0,005.**
2. **n=540** car on peut obtenir au maximum 540 bouteilles de très bonne qualité. De plus, on sait que l'espérance de Y correspond au nombre moyen de bouteilles de très bonne qualité car on considère que la production est jugée suffisamment importante.  
 $E(Y) = np = 528$  donc  $p=528/540$  soit environ 0,978. Ainsi Y suit la loi binomiale **B(540, 0,978)**.

## Exercice I : L'urée et son dosage au laboratoire

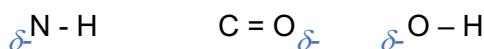
### PARTIE A : Caractéristiques de la molécule d'urée

**Q1**

**Q1.1** Les liaisons N-H et C=O de l'urée sont des liaisons polarisées car les électronégativités des atomes formant ces liaisons sont différentes (3,0 pour N et 2,2 pour H ; 2,5 pour C et 3,4 pour O).

De même pour la liaison O-H de la molécule d'eau (électronégativité de 3,4 pour O et de 2,2 pour H).

Dans une liaison polarisée, l'atome le plus électronégatif possède une charge partielle négative  $\delta^-$  et l'atome le moins électronégatif a une charge partielle positive  $\delta^+$ .

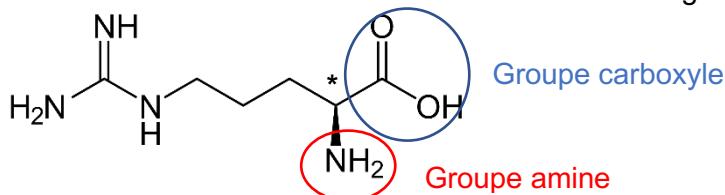


**Q1.2** L'urée est un composé organique très soluble dans l'eau car des substances polaires sont très solubles dans un solvant polaire comme l'eau. Il se forme des liaisons hydrogènes entre l'hydrogène des molécules d'eau et la molécule d'urée.

**Q2.** Dans le spectre IR de la molécule d'urée on observe :

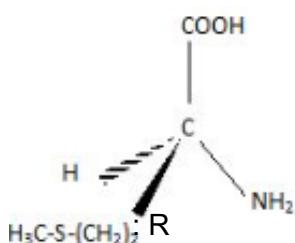
- deux bandes d'absorption au nombre d'onde  $1600 \text{ cm}^{-1}$  et  $1650 \text{ cm}^{-1}$  correspondant à la liaison N-H des fonctions amine et amide.
- une bande d'absorption au nombre d'onde  $1680 \text{ cm}^{-1}$  correspondant à la liaison C=O de la fonction amide.
- une bande d'absorption au nombre d'onde  $3450 \text{ cm}^{-1}$  de forte intensité, correspondant à la liaison N-H de la fonction amide.
- une bande d'absorption au nombre d'onde  $3350 \text{ cm}^{-1}$  d'intensité moyenne correspondant à la liaison N-H de la fonction amine.
- une bande d'absorption au nombre d'onde  $3250 \text{ cm}^{-1}$  d'intensité moyenne, correspondant à la liaison C<sub>tri</sub>-H de la fonction amide.

**Q3.** Groupes fonctionnels caractérisant un acide  $\alpha$ -aminé dans la molécule d'arginine :



**Q4.** Un carbone asymétrique est un atome de carbone tétraédrique lié à quatre atomes (ou groupes d'atomes) tous différents. Un seul dans la molécule d'arginine, le carbone  $\alpha$  noté C\*.

**Q5.** Représentation de Cram de l'isomère S de l'arginine.



Classement des groupes : règles séquentielles de Cahn, Ingold, Prelog

① NH<sub>2</sub>    ② COOH    ③ R = (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-C(NH)-NH<sub>2</sub>    ④ H

La molécule a la configuration S si on tourne dans le sens inverse des aiguilles d'une montre.

## Partie B- Cinétique de décomposition de l'urée

**Q6.** Expression de la vitesse de disparition de l'urée :  $v(t) = -\frac{dc}{dt}$  C étant la concentration en urée.

**Q7.** Sur la courbe I,  $t_{1/2}$  correspond à l'abscisse du point d'ordonnée  $C = \frac{C_i}{2} = 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  :  $t_{1/2} = 4,8 \text{ h}$

**Q8.** Dans le cas d'une cinétique d'ordre 1,  $\ln C = -kt + \ln C_0$  donc  $\ln(C) = f(t)$  est une droite et  $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ .

Or la courbe II montre que  $\ln(C) = f(t)$  est bien une droite avec  $k = 0,144$ .

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{0,144} = 4,8 \text{ h.}$$

Donc la cinétique de décomposition de l'urée est bien d'ordre 1.

## Partie C- Analyse de l'urée au laboratoire

**Q9.**

**Q9.1.** Masse molaire de l'urée :  $M(\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}) = M(\text{C}) + 4 M(\text{H}) + 2 M(\text{N}) + M(\text{O}) = 60 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

**Q9.2.** Relation entre concentration molaire et concentration massique :  $C = \frac{cm}{M}$

Concentration molaire en urée pour une concentration massique de  $0,65 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  :

$$C = \frac{0,65}{60} = 0,011 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

L'urémie de la patiente est de  $11 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Cette urémie est anormale car la concentration en urée est supérieure à  $8,1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

**Q10.** Soit le couple acide/ base  $\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O} / \text{HCO}_3^-$  de  $\text{pK}_a = 6,3$

Relation entre le pH et le  $\text{pK}_a$  :  $\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}]}$

Pour un pH sanguin de 7,4 on obtient :  $\log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}]} = 7,4 - 6,3 = 1,1$  soit  $\frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}]} = 10^{1,1} = 12,6$

Donc les 2 espèces sont présentes à  $\text{pH} = 7,4$ , la forme basique  $\text{HCO}_3^-$  est plus prédominante (12,6 fois plus concentrée).

**Q11.** Les boissons contenant des ions  $\text{HCO}_3^-$  permettent de tamponner le sang et donc d'éviter l'acidose du sang pour les patients souffrant d'insuffisance rénale.

## Exercice II : La méthode du biuret

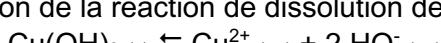
**Q12**

**Q12.1.** Equation de la réaction de précipitation des ions cuivre II :



Expression de la constante d'équilibre :  $K = \frac{1}{[\text{Cu}^{2+}] \times [\text{HO}^-]^2}$

**Q12.2.** Equation de la réaction de dissolution de l'hydroxyde de cuivre II :



Expression de la constante d'équilibre :  $K_s = [\text{Cu}^{2+}] \times [\text{HO}^-]^2 = \frac{1}{K}$

**Q12.3.**  $\text{pK}_s = 19,3$  d'où  $K_s = 10^{-\text{pK}_s} = 10^{-19,3} = 5,01 \cdot 10^{-20}$  Or  $K = 1/K_s = 2,0 \cdot 10^{19}$

À partir des concentrations initiales en ions cuivre II et hydroxyde on peut calculer le quotient de réaction initial  $Q_{ri}$  de la réaction de précipitation :  $Q_{ri} = \frac{1}{[Cu^{2+}]_i \times [HO^-]_i^2} = \frac{1}{3.0 \cdot 10^{-3} \times (0,20)^2} = 8,3 \cdot 10^3$

## Partie B- Dosage des protéines par la méthode du biuret

**Q14.** Loi de Ber-Lambert : l'absorbance est proportionnelle à la concentration. Or la modélisation mathématique nous donne la relation de proportionnalité entre A et C :  $A = 4,8 \cdot 10^{-2} \times C$ .  
Donc la loi de Beer-Lambert est vérifiée.

**Q15.** Absorbance de l'échantillon dosé :  $A = 0,165$

$$\text{Concentration en protéines : } C_p = A / 4,8 \cdot 10^{-2} = 0,165 / 4,8 \cdot 10^{-2} = 3,4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$$

**Q16.** Facteur de dilution :  $f_d = \frac{V_{fille}}{V_{mère}} = \frac{1,0 \text{ mL}}{50 \cdot 10^{-3} \text{ mL}} = 20$

Le plasma a été dilué 20 fois, donc la concentration en protéines dans le plasma est 20 fois plus importante.

$$C_{\text{protéines}} = C_p \times 20 = 3,4 \times 20 = 68 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$$

**Q17.** Les spectres continus observés sont dus à la diffraction de la lumière blanche par les traits du réseau.

**Q18.** Une lumière monochromatique est une lumière composée d'une seule radiation (une seule longueur d'onde dans son spectre d'émission)

**Q19.** Avec le laser on observe sur l'écran une tâche centrale colorée et une succession de points colorés de part et d'autre.

**Q20.** Le pouvoir de résolution est défini par la relation :  $R = k \times N$

N est le nombre de traits sur la largeur éclairée, ici 5 cm (50 mm). Or on dispose d'un réseau de 2000 traits par mm. Donc  $N = 2000 \times 50 = 100 \ 000$

A l'ordre 2 ( $k = 2$ ) on obtient un pouvoir de résolution de :  $R = 2 \times 100 \ 000 = 200 \ 000 = 2 \cdot 10^5$

**Q21.** Autre expression du pouvoir de résolution :  $R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda}$

Calcul de  $\Delta\lambda$ , différence entre 2 longueurs d'ondes séparables, pour une longueur d'onde de 589 nm :

$$\Delta\lambda = \frac{\lambda}{R} = \frac{589}{2 \cdot 10^5} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ nm}$$

Pour le doublet jaune du sodium  $\Delta\lambda = 589,9 - 589 = 0,9 \text{ nm}$

Conclusion : ce réseau permet de différencier les raies jaunes du doublet D du sodium ( $0,9 > 3 \cdot 10^{-3}$ )

## L'HÉMOCHROMATOSE HÉRÉDITAIRE

### 1. Recherche d'une anomalie du métabolisme du fer

1.1.1. Dans la fiche technique on peut voir dans le principe qu'il y a un anticorps spécifique reconnaissant la transferrine. La formation des complexes immuns conduit à un trouble de la solution mesurable par turbidimétrie ou néphélosométrie.

**Méthode :** Immunoprécipitation en milieu liquide.

**Principe :** Formation de complexes immuns entre la transferrine du sérum et les anticorps. Le réseau de complexes immuns précipite et trouble le milieu. L'intensité du trouble est proportionnelle à la concentration en transferrine, et mesurable à 340 nm

1.1.2. Chaque niveau de contrôle permet de valider le processus analytique du dosage. Les niveaux sont généralement choisis en fonction des valeurs physiologiques. On aura un niveau bas (pathologique avec de faibles concentrations), haut (pathologique avec de fortes concentrations) et moyen (physiologique). Ces contrôles permettent de vérifier le processus analytique sur une large gamme de valeurs comprises dans la gamme de linéarité du dosage.

1.1.3. Lorsque l'on regarde les différentes valeurs reportées sur le diagramme de Levey-Jennings, on observe que la règle  $4_{1S}$  intra-série est transgressée, cela signifie donc que le processus analytique est encore sous contrôle, mais il **nécessite une maintenance préventive** et que le rendu des séries de résultat **est autorisé**.

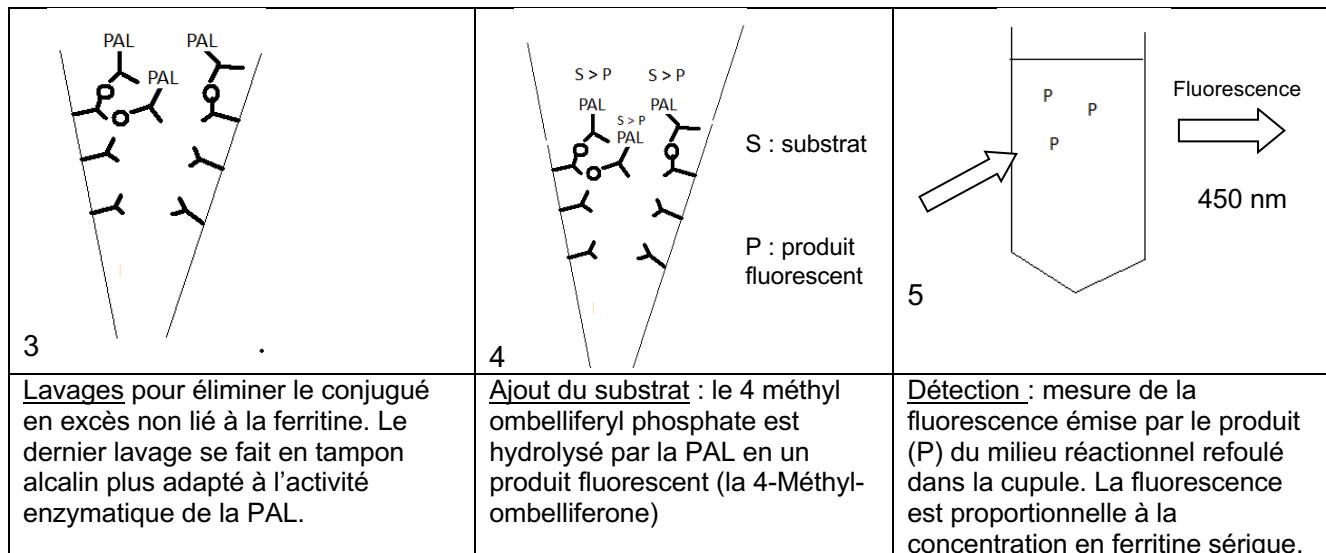
$$1.1.4. \text{CS-Tf}(\%) = (\text{Fer}/\text{Transferrine} \times 25) \times 100 = (72/(4 \times 25)) \times 100 = 72 \%$$

1.1.5. Le patient est un homme de 45 ans, les valeurs physiologiques du coefficient de saturation de la transferrine sont normalement comprises entre 20 et 40 %. La valeur 72% est largement au-dessus des valeurs de références. Le patient présente donc un excès de fer dans son organisme.

1.2.1. Ferritine = protéine de stockage du fer

1.2.2. Schéma des étapes : Le cône sert de phase solide où sont fixés des anticorps anti-ferritine

<p>1</p>	<p>2</p>	<p>3</p>
<u>Incubation du sérum</u> : fixation de la ferritine (o) à doser sur les Ac anti-ferritine fixés à la surface du cône	<u>Lavage</u> pour éliminer les protéines sériques non fixées.	<u>Ajout du conjugué</u> (Ac anti-ferritine couplés à la phosphatase alcaline PAL)



Lavages pour éliminer le conjugué en excès non lié à la ferritine. Le dernier lavage se fait en tampon alcalin plus adapté à l'activité enzymatique de la PAL.

Ajout du substrat : le 4 méthyl ombelliferyl phosphate est hydrolysé par la PAL en un produit fluorescent (la 4-Méthyl-ombelliferone)

Détection : mesure de la fluorescence émise par le produit (P) du milieu réactionnel refoulé dans la cupule. La fluorescence est proportionnelle à la concentration en ferritine sérique.

### 1.2.3. La molécule qui présente un danger pour l'organisme est la diéthanolamine.

La différence entre le puits 8 et 10 est la concentration des solutions en diéthanolamine, en effet, à forte concentration ( $1.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) la diéthanolamine présente un risque présumé d'effets graves pour les organes. À concentration plus faible ( $0.62 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), ce risque présumé est considéré comme non relevant, d'où la différence entre les deux cupules.

L'azoture de sodium présente également un danger, mais comme il est dans les mêmes proportions dans les deux cupules, ce n'est pas lui dont il est question dans ce sujet.

## 2. Recherche de la mutation C282Y du gène HFE

2.1. Autosomique = caractère présent sur une des 22 paires d'autosomes qui sont les chromosomes autres que les chromosomes sexuels X ou Y.

Un allèle récessif par comparaison à un allèle dominant ne s'exprimera dans le phénotype de la cellule ou de l'individu que s'il est présent au niveau des deux allèles du locus étudié.

2.2. Légendes : n°1 = promoteur, n°2 = codon initiateur, n°3 = = Introns et n°4 = Exons

2.3. La structure tertiaire d'une protéine correspond au repliement dans l'espace des différentes structures secondaires (hélices  $\alpha$  et feuillets  $\beta$ ) grâce à des liaisons de faible énergie (ioniques, hydrogènes, hydrophobes...) ou covalentes (pont S-S)

2.4. Liaisons hydrogènes / Liaisons ioniques / Liaisons hydrophobes / Liaisons de Van der Walls

2.5. La séquence du triplet n°282 code pour la cystéine selon le code génétique donné dans le document 7.

On peut voir que selon le code génétique, la tyrosine se différencie de la cystéine par un changement d'une base (la deuxième) le G est remplacé par le A

La séquence du triplet muté est donc : TAC

2.6. Une cystéine étant remplacée par une tyrosine, la liaison covalente abolie sera donc le pont disulfure formé par 2 cystéines.

## 2.7. PCR = Polymerase Chain Reaction

Intérêt : Amplification d'une séquence particulière d'une partie d'un ADN de plus grande taille.  
2.8. Il faut préparer un mix pour tous les échantillons à tester et prévoir une réaction supplémentaire pour compenser une imprécision du pipetage. S'il y en a 10, il faut donc mélanger :  $11 \times 10 \mu\text{L} = 110 \mu\text{L}$  de realfact et  $11 \times 5 \mu\text{L} = 55 \mu\text{L}$  de HFE C282Y Assay Mix. Ce qui fera un volume final de  $165 \mu\text{L}$ .

2.9. Il faut rajouter  $5 \mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  ultrapure stérilisée.

2.10. La dénaturation comprend la destruction des liaisons hydrogènes présentes entre les bases des 2 brins d'ADN. Cela assure la séparation des deux brins d'ADN ce qui permettra l'activité polymérase ensuite.

2.11. La Taq polymérase a une activité ADN polymérase  $5' \rightarrow 3'$  du brin d'ADN complémentaire et exonucléase  $5'-3'$  s'il y a un brin ou une sonde sur le brin matrice.

2.12.

Sonde pour allèle WT : marquée HEX, donc fluorescence à 556 nm s'il y a dégradation de la sonde et libération du fluorophore.

Sonde pour allèle muté : marquée FAM, donc fluorescence à 520 nm s'il y a dégradation de la sonde et libération du fluorophore.

NTC sera dans la zone A (pas d'amplification)

WT-control dans la zone B (hybridation avec la sonde marquée HEX ce qui permet un signal fluorescent à 556 nm)

MUT-Control dans la zone C (hybridation avec la sonde marquée FAM ce qui permet un signal fluorescent à 520 nm)

Patient homozygote pour la mutation C282Y dans la zone C aussi.

## 3. Recherche de complications

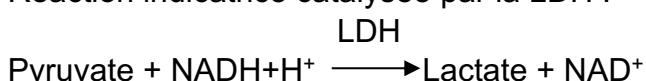
### 3.1.1. Dosage enzymatique en continu.

Principe : On suit l'activité de l'ALAT du patient grâce à la réaction indicatrice catalysée par la LDH.

### 3.1.2. Réaction principale catalysée par l'ALAT :



Réaction indicatrice catalysée par la LDH :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, et proportionnelle à l'activité ALT dans le spécimen.

3.1.3. Le NADH absorbant à 340 nm, on va suivre sa disparition à cette longueur d'onde : 340 nm.

3.1.4. Si la concentration catalytique de l'ALAT sérique est supérieure aux valeurs de références, cela signifie qu'il y a probablement une lyse des hépatocytes, car cette enzyme cytoplasmique se retrouvera en plus grande quantité dans le sérum. A confirmer avec d'autres marqueurs hépatiques.

3.2.1. HPGO : Hyperglycémie provoquée par voie orale : Prise de la glycémie à jeun du patient. On lui fait avaler une solution de glucose de quantité connue (généralement 75 g pour un adulte ou une femme enceinte).

Ensuite on prélève le sang à plusieurs temps après l'ingestion de glucose (30 min, 60 min, 120 min voire 180 min)

Maintenant ce test se fait éventuellement qu'avec le temps 120 minutes.

Le patient reste allongé durant la totalité du protocole.

### 3.2.2.

Héparine = effet anticoagulant (amplifie l'action de l'antithrombine sur la thrombine)

Fluorure = anti glycolytique qui inhibe l'activité de l'énoïlase et donc bloque la glycolyse des cellules sanguines.

### 3.2.3.

Normalement un patient peut-être dit diabétique si :

- Glycémie à jeun supérieure à 1,2 g/L (norme de 0,8-1,0 g/L)
- Glycémie à 120 minutes supérieure à 2,0 g/L.

*Exemple* : la glycémie à jeun du patient est de 1,3 g•L<sup>-1</sup>, mais dans certains cas, elle peut être bonne. Par contre sa glycémie à 120 minutes sera par exemple de 3 g/L

**DÉPISTAGE DES INFECTIONS CHEZ LA FEMME ENCEINTE****1. La toxoplasmose chez la femme enceinte****1.1. Épidémiologie de la toxoplasmose**

1.1.1. Séroprévalence : nombre de personnes dans une population donnée, pendant une période donnée, ayant une sérologie anti-*Toxoplasma gondii* positive, preuve qu'elles ont été contaminées par le parasite.

En France, on compte 20 à 55 % de la population ayant développée une sérologie anti *Toxoplasma gondii*.

Incidence : nombre de nouveaux cas d'une maladie dans une population donnée pendant une période donnée. L'incidence de la Toxoplasmose en France est de 1 cas pour 1000 naissances par an.

1.1.2. *Toxoplasma gondii* est un protozoaire, parasite unicellulaire ; sporozoaire : parasite intracellulaire obligatoire, ordre des coccidies.

1.1.3. Stade 1 : oocyste ; stade 2 : sporocyste ou oocyte mature ( $2 \times 4$  sporozoïtes) ; stade 3 : trophozoïtes à croissance rapide : tachyzoïte ; stade 4 : trophozoïtes à croissance lente : bradyzoïtes

1.1.4. Hôte définitif, organisme où s'effectue le cycle sexué du parasite : le chat

Hôte intermédiaire, organismes où s'effectue le cycle asexué du parasite : mammifères dont l'homme, oiseaux.

1.1.5. Cycle hétéroxène car besoin d'hôtes intermédiaires pour pouvoir se réaliser.

1.1.6. - Éviter les contacts avec les chats éventuellement porteurs du parasite,

- consommer de la viande bien cuite pour détruire les kystes,

- bien laver les crudités et fruits pour éliminer les sporocystes déposés dessus.

**1.2. Diagnostic de la toxoplasmose**

1.2.1. Prélèvements des semaines 4 et 8 : taux IgM et IgG inférieurs au seuil de positivité donc femme non immunisée ; elle n'a pas été en contact avec le parasite.

Prélèvement de la semaine 12 : taux IgM très augmenté et supérieur au seuil de positivité et IgG toujours inférieurs au seuil de positivité : la présence d'IgM seule augmentée, première immunoglobuline synthétisée lors d'une réaction immunitaire, montre que la femme vient d'être contaminée, qu'elle est probablement en cours de maladie.

Prélèvements des semaines 16 à 24 : taux IgM et IgG très supérieurs au seuil de positivité donc preuve est faite que la femme enceinte a été contaminée et réagit à l'infection en synthétisant des immunoglobulines contre le parasite.

L'ensemble des résultats de la sérologie montre que la femme enceinte a été contaminée par *Toxoplasma gondii* entre la 8<sup>ème</sup> et la 12<sup>ème</sup> semaine d'aménorrhée.

1.2.2. - la qPCR a une bonne sensibilité et spécificité permettant la détection de faible quantité d'ADN dans le liquide amniotique,

- la rapidité du résultat

- vérifier si le fœtus a été contaminé,

### 1.2.3. Validation du test :

- absence de fluorescence pour le témoin négatif d'amplification, permet de vérifier que les amores sont bien spécifiques du gène Rep529
- fluorescence maximale pour le témoin positif d'amplification, permet de montrer la spécificité de l'amorce et que l'amplification s'est normalement déroulée

Les 2 témoins étant validés, les résultats pour l'échantillon de liquide amniotique peuvent être interprétés :

Résultat : fluorescence équivalente à celle du TA+ donc l'amplification a eu lieu, preuve que les amores du gène Rep529 ont pu s'hybrider indiquant la présence d'ADN du parasite dans le liquide amniotique.

Conclusion : le liquide amniotique contient des fragments d'ADN de *Toxoplasma gondii* preuve que le parasite a traversé la barrière placentaire et contaminé le fœtus.

### 1.2.4. CNR : Centre National de Référence : laboratoire expert pour la confirmation de l'identification d'un agent pathogène, qui assure la surveillance épidémiologique et alerte en cas de besoin. Ils interviennent également comme conseil pour les autres laboratoires.

### 1.2.5. – sérum de veau fœtal (SVF) : apport en facteurs de croissance cellulaire, facteurs permettant l'ancrage des cellules et inhibiteurs de certaines enzymes

- rouge de phénol : indicateur coloré montrant l'acidification du pH nuisible à la croissance cellulaire
- amphotéricine B : antifongique

## 2. Portage et infections materno-fœtales bactériennes

### 2.1. Dépistage du *Streptococcus agalactiae*

2.1.1. Coque Gram positif organisé en chaînette, catalase négatif, aéro-anaérobiose facultatif (anaérobiose préférentielle), fermentatif du glucose

2.1.2. Elle peut être responsable de bactériémie et de méningite.

2.1.3. Un milieu chromogène contient des substrats spécifiques d'enzymes bactériennes. Ces substrats hydrolysés par les enzymes donnent des produits colorés (chromophore). Les colonies bactériennes obtenues sur la gélose ont une couleur qui facilite ainsi l'identification de la bactérie présente.

2.1.4. Incubation à 37 °C sans CO<sub>2</sub> car peut donner de faux positif.

Les colonies obtenues seront de couleur mauve.

2.1.5. Le sérogroupage des streptocoques : le principe consiste à mettre en évidence à la surface des streptocoques le polyoside C par décapage avec la pronase. Puis une réaction d'agglutination est réalisée avec des anticorps contre chaque polyoside lié à des particules de latex colorée.

2.1.6. ATCC : American Type Culture Collection

Souche bactérienne référencée, authentifiée, dont on connaît toutes les caractères biochimiques et pouvant être utilisée pour vérifier et prouver le fonctionnement d'une technique : souche de contrôle qualité.

### 2.2. Risque d'infection néonatale à *Escherichia coli* K1

2.2.1. Antigène K : antigène capsulaire polyosidique recouvrant la surface de la bactérie.

2.2.2. Antigène O dans la paroi de la bactérie, constituant du lipopolysaccharide (LPS)  
Antigène H flagellaire, protéique.

2.2.3. Antigène K capsulaire :

- protège la bactérie de la phagocytose,
- lui permet d'adhérer aux muqueuses.

2.2.4. Ces 3 antibiotiques appartiennent à la famille des  $\beta$  lactamines car ils possèdent tous un noyau  $\beta$  lactame.

L'amoxicilline (AMX) est une pénicilline,

La céfoxitine (FOX) et le ceftazidime (CAZ) sont des céphalosporines.

2.2.5. La bactérie peut résister à ces antibiotiques par :

- synthèse d'une enzyme qui va couper le cycle  $\beta$  lactame :  $\beta$  lactamase
- par mécanisme d'efflux actif qui refoule d'antibiotique avant d'atteindre sa cible
- par modification de la cible de l'antibiotique (rare chez *E.coli*)

2.2.6. Le transfert de gènes bactériens peut se faire :

- par conjugaison, mécanisme le plus fréquent. Transfert d'une copie d'un plasmide d'une bactérie F+ à une bactérie compétente F- grâce à un passage ménagé par des pili sexuels.
- par transduction par un bactériophage qui a encapsidé le gène avec son ADN dans une autre bactérie et l'injecte ensuite dans une bactérie.
- par transformation : intégration d'un fragment d'ADN bactérien libre possédant le gène dans une bactérie après fixation à sa membrane.

2.2.7. 1- Désorption-ionisation : libération des molécules bactériennes puis ionisation des protéines par bombardement par un laser de la colonie recouverte de matrice.

2- Migration et séparation : accélération des protéines ionisées dans un champ électrique couplé à un analyseur du temps de parcours dans le tube à vide (temps de vol). Séparation en fonction de la masse/charge des protéines. Les petites molécules migrent plus vite que les grosses.

3- Détection : pour chaque protéine arrivant sur le détecteur, un signal est enregistré qui sera fonction du temps de vol et de l'intensité du signal.

4- Interprétation : chaque micro-organisme donne par sa composition en protéines un spectre de l'ensemble des signaux qui lui est spécifique. Ce spectre est comparé à une banque de spectres référencés. Le micro-organisme pour être identifié, devra avoir un spectre le plus proche possible d'un spectre référencé indiqué par un score.

### 3. Candidose vaginale pendant la grossesse

3.1. *Candida albicans*.

3.2. Infection opportuniste : infection provoquée par un micro-organisme commensal qui profite de l'affaiblissement des défenses de l'hôte pour se multiplier et induire une maladie.

3.3. Prélèvement avec un écouvillon stérile placé dans un milieu de transport. Le prélèvement est transporté à 2-8 °C et analysé dans les 2 heures.

3.4. Aspect du frottis vaginal dans le cas d'une mycose : cellules épithéliales roses et bacilles de Doderlein (bacilles Gram+) en nombre, peu de leucocytes, présence de levures isolées et filaments mycéliens de couleur violette.

3.5. Milieu Sabouraud + chloramphénicol : milieu Sabouraud est spécifique des mycètes, chloramphénicol inhibe la croissance bactérienne.

3.6.

	c	0/1/2/3/4			C	Témoin sans antifongique : vérifie la croissance des levures en l'absence d'antifongique ; validation du test	S/I/R
	0	(4)		(4)	0		
<b>5FC</b>	4	(1)		(0)	16	Score<2 dans les 2 cupules	<b>S</b>
<b>AMB</b>	0.5	(1)		(0)	4	CMI= première cupule sans croissance donc CMI= 1 mg/L	
<b>AMB</b>	1	(0)		(0)	8	<u>Interprétation</u> : CMI $\geq$ 2 mg/L suggère une résistance	<b>S</b>
<b>AMB</b>	2	(0)		(0)	16		
<b>FCA</b>	1	(4)		(4)	16	CMI= première cupule avec un score de 2, 1, ou 0 : CMI= 128 mg/L	
<b>FCA</b>	2	(4)		(3)	32	<u>Interprétation</u> :	
<b>FCA</b>	4	(4)		(3)	64	CMI $\leq$ 8 mg/L : S	<b>R</b>
<b>FCA</b>	8	(4)		(0)	128	CMI : 16-32 mg/L : I	
<b>ITR</b>	0.125	(2)		(0)	1	CMI= première cupule avec un score de 2, 1, ou 0 : CMI= 0,125mg/L	
<b>ITR</b>	0.25	(0)		(0)	2	<u>Interprétation</u> :	<b>S</b>
<b>ITR</b>	0.5	(0)		(0)	4	CMI $\leq$ 0,125 mg/L : S	
<b>VRC</b>	0.06	(4)		(0)	1	CMI : 0,25-0,5 mg/L : I ; CMI $\geq$ 1 mg/L : R	
<b>VRC</b>	0.125	(4)		(0)	2	<u>Interprétation</u> :	
<b>VRC</b>	0.25	(3)		(0)	4	CMI $\leq$ 1 mg/L : S	<b>S</b>
<b>VRC</b>	0.5	(2)		(0)	8	CMI = 2 mg/L : I	
						CMI $\geq$ 4 mg/L : R	

#### 4. Dépistage du parvovirus B19 chez la femme enceinte

**4.1.** Les virus sont classés en fonction de la forme de la capsidé, de la nature et l'aspect de l'acide nucléique, de la présence ou non d'une enveloppe.

Parvovirus B19 est un virus icosaédrique nu avec de l'ADN simple brin.

**4.2.** -ADN : ADN orienté 3'-5' non transcrit

+ADN : ADN orienté 5'-3' transcrit

**4.3.** Western blot : technique d'immuno-empreinte.

- Bandelette avec des protéines VP1 et VP2 séparées par électrophorèse.
- Dépôt uniforme du sérum du patient contenant ou non les anticorps spécifiques.
- Formation de complexe immun
- Lavage pour éliminer les éléments non fixés
- Addition d'anticorps conjugués à de la peroxydase pour révéler les bandes
- Lavage pour éliminer les Ac non fixés
- Ajout du substrat de la peroxydase qui hydrolysé colorera les bandes.

**4.4.** Échantillon 102 : présence des deux bandes VP1 et VP2 comme les prélèvements précédents notés positifs. Présence des anticorps anti VP1 et anticorps anti VP2 dans le sérum maternel donc contamination par le virus parvovirus B19 responsable de l'éruption cutanée.

### HÉMOPATHIES MALIGNES LES PLUS FRÉQUENTES

#### 1- MYÉLOME MULTIPLE

##### 1.1. Mise en évidence du myélome

- 1.1.1- Anémie (concentration en hémoglobine de 89 g/L de sang inférieure aux valeurs de référence) normocytaire (VGM de 80 fL normal) normochrome (CCMH normale à 342 g/L de cytoplasme des hématies) arégénérative (numération des réticulocytes non supérieure à la valeur de référence). L'hématocrite à 0.26 L<sub>GR</sub>/L<sub>sang</sub> est donc faible et la TCMH à 28 pg est normale.
- 1.1.2- La mesure de la VS est justifiée par le contexte clinique pouvant évoquer une pathologie inflammatoire (fatigue et douleur) et la présence de rouleaux de GR pouvant évoquer une hyperprotéinémie. Les douleurs osseuses, le type d'anémie et les rouleaux d'hématies sont par ailleurs compatibles avec le diagnostic de myélome multiple associé à la production d'Ig monoclonales.
- 1.1.3- La VS correspond à la hauteur de plasma (en mm) après une heure de sédimentation en condition standardisée (tube de Westergren) d'un sang homogénéisé et recueilli sur tube citraté (tube avec un volume de citrate de sodium à 3.09 % à remplir avec 4 volumes de sang = tube à bouchon noir).
- 1.1.4- La VS est accélérée (VS supérieure à 20 mm à la première heure) : cela n'est pas lié à un contexte inflammatoire voire infectieux (car la concentration en CRP est normale) mais à l'accélération du rapprochement des hématies due à une hyperprotéinémie comme le suggère la présence des rouleaux d'hématies.

##### 1.2. Confirmation du diagnostic

- 1.2.1- On remarque la disparition du pic monoclonal lorsque le sérum est traité par des anti-IgG et anti-Lambda. En effet, les complexes immuns formés de l'Ig monoclonale et des anti-IgG ou anti-lambda ne migrent que tardivement. Les autres antisérum ne font que modifier très légèrement le profil électrophorétique : l'anti-IgA diminue légèrement les alpha, béta et gamma globulines (disparition des IgA polyclonales migrant à ces niveaux), l'anti-IgM fait diminuer légèrement le pic des gammaglobulines (disparition des IgM polyclonales peu abondantes). Il en est de même pour l'anti-kappa (disparition des Ig à chaîne légère kappa). L'Ig monoclonale n'est donc pas de chaîne légère kappa ni d'isotype de chaîne lourde alpha ou mu.

1.2.2- L'immunoglobuline monoclonale est donc une IgG, lambda.

1.2.3- L'immunofixation permet de type l'immunoglobuline monoclonale aussi.

1.2.4- les plasmocytes

### **1.3. Complications du myélome**

1.3.1- Les gammaglobulines standard sont des préparations d'immunoglobulines polyclonales (principalement IgG) purifiées à partir d'un mélange de dons de plasmas humains

1.3.2- Elles assurent une immunité polyvalente, spécifique (contre les germes et antigènes vaccinaux qui ont induit une immunité humorale chez les donneurs) passive et transitoire (non mémorisée) visant à corriger en partie le déficit immunitaire induit par l'hémopathie chez le patient. C'est donc un traitement préventif contre les infections courantes.

## **2- LYMPHOME**

**2.1.**Les organes lymphoïdes secondaires (ganglions, rate, tissus lymphoïdes associés aux muqueuses) sont le lieu de la réaction immunitaire spécifique : activation des lymphocytes T et B, prolifération et différenciation en cellules effectrices, production des anticorps par les plasmocytes et production des cellules mémoires.

**2.2.**Cytogramme PEROX : l'axe des abscisses représente l'activité peroxydasique (mesure de la diffraction lumineuse au grand angle). L'axe des ordonnées représente la taille des cellules (mesure de la diffraction lumineuse au petit angle)

**2.3.**Des cellules lymphoïdes immatures seraient sans activité peroxydasique (l'activité peroxydasique est caractéristique de la lignée granulocyttaire, absente au sein des cellules lymphoïdes) donc proche de l'origine sur l'axe des abscisses et de grande taille (plus grande que les lymphocytes matures naïfs) donc en haut de l'axe des ordonnées. Elles se situent donc au niveau des « LUC » du graphe PEROX.

**2.4.**Hématoxyline : pour la coloration des noyaux en violet

Phloxine : pour la coloration des cytoplasmes en rose

Safran : pour la coloration du collagène en jaune.

**2.5.**le bain n°6 (au bicarbonate de sodium 0,5 %)

**2.6.**Le xylène est un solvant de la colle hydrophobe (résine) nécessaire au collage d'une lamelle sur chaque coupe colorée. Le bain de xylène permet donc de remplacer l'éthanol par ce solvant avant le dépôt de la résine de montage.

**2.7.-** La détermination du groupe ABO repose sur :

- la recherche des antigènes A et B à la surface des hématies du patient à l'aide des réactifs anti-A, anti-B, anti-A+B. C'est l'épreuve globulaire (ou épreuve de Beth Vincent)
- La recherche des anticorps naturels anti-A et anti-B dans le plasma du patient à l'aide d'hématies tests A et B. C'est l'épreuve plasmatique (ou épreuve de Simonin).

Les deux épreuves doivent donner des résultats concordants (Ac présents contre les Ag absents).

**2.8.-** Les particularités de la technologie Qwalys sont :

- un système automatisé (analyse + lecture + édition des résultats) comme recommandé.

- sauvegarde des résultats (image des agglutinations) assurant une traçabilité des résultats voire une consultation ultérieure si nécessaire.
- la solution magnétisante permet le rapprochement des hématies au fond du puits tout en évitant la centrifugation des plaques.
- le traitement des hématies à la broméline permet la réalisation des tests que les anticorps soient de type IgG (Ac immuns lors de la RAI par exemple) ou IgM (lors des phénotypages ABO-RH1 et RH-KEL) : une technologie identique quel que soit le test réalisé.
- des plaques dont certains puits contiennent déjà des anticorps réactifs (facilité d'utilisation)

Lecture des résultats :

- Réaction négative : hématies remises en suspension, non agglutinées (cupule rouge et trouble) du fait de l'absence de réaction entre les anticorps et les Ag érythrocytaires.
- Réaction positive : culot d'hématies au fond de la cupule, surnageant clair (hématies agglutinées par les anticorps se liant aux antigènes de la surface des hématies).

**2.9.** Réaction d'agglutination (avec des hématies qui sont des particules) active (les Ag sont naturellement présents à la surface des hématies) et directe (avec les IgM monoclonales des réactifs ou les IgM naturelles anti-A et anti-B, agglutinant en milieu salin et à 20 °C).

**2.10.** Le contrôle contient un milieu réactif sans anticorps et les hématies du patient diluées à 1 % selon la méthode Qwalys (en solution magnétisante et broméline). On attend une absence d'agglutination prouvant que les hématies du patient n'agglutinent pas spontanément en absence d'anticorps et dans les conditions techniques. C'est le témoin des épreuves globulaires.

**2.11- Interprétation des résultats :**

- **CTL** = pas d'agglutination → Le témoin de l'épreuve globulaire est conforme. On peut donc interpréter les tests globulaires.

- **Groupage ABO :**

- Épreuve de Beth Vincent : pas d'agglutination des hématies du patient avec les réactifs anti-A, anti-A1, anti-B, anti-A+B = pas d'Ag A ni B sur les hématies

- Épreuve de Simonin : agglutination des cellules tests A1 et B avec le plasma du patient  
→ le plasma contient des Ac anti-A et anti-B

- les résultats des deux épreuves sont concordants → groupe O

- **Phénotype Rhésus et Kell :**

- Agglutination des hématies du patient avec les réactifs anti-D, anti-C, anti-c et anti-e : présence en surface des hématies des Ag D (dont Rhésus positif), C,c et e.

- pas d'agglutination des hématies avec les réactifs anti-E et K : absence des Ag E et K.

**Conclusion :** Le patient est de groupe O+ (O RH1) et de phénotype C+, c+, E-, e+ et K-