Brevet de technicien supérieur

Analyses de biologie médicale

Sujets et corrigés
Sessions 2020 - 2021

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), Nathalia BAMBAGINI (Niort), Jean Henri CLERGEAUD (Niort), Brigitte PESIER (Niort), Céline VIGNAUD (Niort), Antoine GAUDIN (Paris), J-Noël JOFFIN (retraité).

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

Rappelons que l'ensemble du travail réalisé est bénévole.

Éditions UPBM-ÉDILION
Lycée de la Martinière
Avenue Andreï Sakharov
69339 Lyon Cedex 9
http:// www.upbm.org

Photographies de couverture : d'après un produit Panbio™ Covid-19 Ag des laboratoires Abbott™ (Antoine GAUDIN).

ANNALES DU BTS ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE (ABM)

Sessions 2020 et 2021

Nous avons rassemblé dans ces annales les sujets de la session 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
christel.chatelais@ac-toulouse.fr

Sommaire

ANNALES DU BTS ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE (ABM) 3

SESSIONS 2020 ET 2021 3

Définition de la nature des épreuves 6

SESSION 2020 13

E2 Mathématiques 2020 13
E3 Sciences Physiques et Chimiques 2020 18
E41 Biochimie 2020 26
E42 Microbiologie 2020 39
E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2020 53

SESSION 2021 65

E2 Mathématiques 2021 65
E3 Sciences physiques et chimiques 2021 70
E41 Biochimie 2021 76
E42 Microbiologie 2021 91
E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2021 104
E5 Analyses de Biologie Médicale 112

ÉLEMENTS DE CORRIGES 113

SESSION 2020 114

E2 Mathématiques 2020 corrigé 114
E3 Sciences physiques et chimiques 2020 corrigé 118
E41 Biochimie 2020 corrigé 123
E42 Microbiologie 2020 corrigé 126
E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2020 corrigé 132

SESSION 2021 135

E2 Mathématiques 2021corrigé 135
E3 Sciences physiques et chimiques 2021 corrigé 139
E41 Biochimie 2021 corrigé 142
E42 Microbiologie 2021 corrigé 149
E43 Hématologie Anatomopathologie, Immunologie 2021 corrigé 157

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 : Engagement étudiant	U6	1*	Ponctuelle orale	20 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 rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité 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 rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité U43 : Hématologie, anatomopathologie et immunologie

Programme

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

Le contrôle en cours de formation comporte deux situations d'évaluation organisées dans l'établissement de formation par les professeurs responsables des enseignements. Les corps d'inspection veillent au bon déroulement du contrôle en cours de formation. Les candidats sont prévenus par convocation à l'avance de la date prévue pour leur évaluation.
Les deux situations d'évaluation ont chacune une durée maximale de 2 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 2. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.
La première situation d'évaluation, affectée d'un coefficient 1, porte sur les modules 1 et 4 d'hématologie et sur les modules 1 et 2 d'immunologie.
La seconde situation d'évaluation, affectée d'un coefficient 2, porte sur les modules 2 et 3 d'hématologie, sur le module d'anatomopathologie et sur les modules 3 et 4 d'immunologie.
À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies…). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

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 rectorale pour la session considérée et cela jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

Unité 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 maximales de 6 heures et sont affectées globalement d'un coefficient 3. Elles sont organisées respectivement en fin de première année et en fin de seconde année.

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

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

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

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

Programme

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

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

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

E6 Soutenance de rapport de stages

Contenu de l'épreuve

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

L'étudiant doit dans un premier temps présenter avec concision ses différents lieux de stage en 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 rectorale pour la session considérée et jusqu'à la session suivante. Après examen attentif des documents fournis, le jury formule toutes remarques et observations qu'il juge utiles et arrête la note.

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

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

E6 Epreuve facultative Engagement étudiant

Forme du rapport

Fiche d'engagement étudiant à remettre en même temps que le rapport de stage.

Formes de l'évaluation

- Ponctuelle : épreuve orale de 20 minutes : exposé de 10 minutes maximum suivi d'un entretien avec le jury de 10 minutes maximum.

Cette épreuve facultative a pour objectifs de valoriser lors de l'examen du BTS les compétences, connaissances et aptitudes acquises par un étudiant **au cours d'un engagement personnel**, et qui relèvent de celles prévues par le référentiel du BTS concerné.

Engagements valorisés :

- Bénévolat dans une association de loi 1901
- Activité professionnelle
- Engagement sapeur-pompier
- Service civique
- Activité militaire : réserviste, volontariat dans les armées

Modalités d'inscription et déroulement de l'épreuve facultative :

1- **Inscription** : L'étudiant demande à passer l'épreuve facultative lors de l'inscription au BTS

2- **Document à remettre** : L'étudiant fournit une *fiche d'engagement étudiant* servant de support d'évaluation au jury. Cette fiche est à remettre en même temps que le rapport de stage. Cette fiche présente une ou plusieurs activités du candidat et présente le contexte, le bilan des compétences acquises.

3- **Déroulement de l'épreuve** : L'étudiant présente l'épreuve facultative à la suite de la soutenance orale du rapport de stage et avec le même jury. C'est une épreuve orale qui se déroule sur une durée 20 minutes :

- **Pas de préparation**
- **Exposé de 10 min** qui comprend :
  - la présentation du contexte
  - la description et l'analyse de(s) activité(s)
  - la présentation des démarches et des outils
  - le bilan de(s) activité(s)
  - le bilan des compétences acquises.
- **Entretien avec le jury 10 min**

Critères d'évaluation :

- Appropriation des compétences liées au domaine professionnel
- Capacité à mettre en œuvre les méthodes et outils
- Qualité de l'analyse
- Qualité de la communication.

SESSION 2020

E2 Mathématiques 2020

Durée : 2 heures Coefficient 1

Matériel autorisé :
L'usage de la calculatrice, avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de calculatrice sans mémoire « type collège » est autorisé.

Exercice 1 : 12 points

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

A. Évolution de la population de poissons au fil des mois dans certains aquariums

Les deux questions suivantes sont des QCM (questionnaire à choix multiples). Dans chaque question, une seule proposition est correcte. Indiquer la bonne proposition. Aucune justification n'est demandée.

1) Dans un aquarium, il y a initialement 10 poissons. On admet que la population de poissons augmente de 30% chaque mois. Quel est le nombre de poissons au bout de 5 mois ? Le résultat a été arrondi à l'unité.

a. 12 b. 50 c. 160 d. 37

2) Dans un aquarium, au temps $t = 0$, on compte 10 poissons. On modélise le nombre de poissons présents dans l'aquarium par une fonction g. On admet que la fonction g est la solution de l'équation différentielle $y' + 0{,}3y = 0$ vérifiant la condition initiale $g(0) = 10$. Alors g est définie par:

a. $g(t) = 10e^{0,3t}$ ***b***. $g(t) = 10e^{-0,3t}$ **c**. $g(t) = 10 + e^{0,3t}$ ***d***. $= g(t) = 10 + e^{-0,3t}$

B. Étude statistique

On cherche à évaluer l'effet d'un pesticide que l'on peut trouver dans les rivières, sur la diminution de la fertilité d'une population de poissons. Pour cela un laboratoire va disposer huit aquariums, contenant chacun dix poissons de la même espèce et de l'eau avec différentes quantités de ce pesticide. Au bout d'un mois on relève le nombre total d'œufs pondus par les poissons des différents aquariums et on obtient les résultats suivants :

Numéro de l'aquarium	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentration en pesticide (en mg/1) (*xi*)	0	1	4	5	6	7	8	10
Nombre d'œufs pondus dans le mois (*N*)	249	248	246	230	130	50	40	35

Un ajustement affine ne semblant pas approprié, on effectue le changement de variable

$$y = -ln(\frac{250}{N} - 1)$$

1) Compléter le tableau en annexe à rendre avec la copie. On arrondira les résultats à 10^{-3}.

2) À l'aide de la calculatrice, déterminer le coefficient de corrélation linéaire de la série statistique (*xi* ; *yi*). Arrondir à 10^{-3}. Interpréter le résultat.

3) À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement de la série statistique (*xi* ; *yi*) par la méthode des moindres carrés sous la forme y = *ax* + *b.*
On arrondira *a* et *b* à 10^{-3}.

4) On note *N(x)* la fonction modélisant le nombre d'œufs pondus dans un aquarium en un mois, en fonction de la concentration *x* en pesticide (en mg/L).

a. En s'aidant du changement de variables $y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$, vérifier que *N(x)* est solution de l'équation $\frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x-5,905}$

b. En déduire que l'expression de la fonction *N* est :

$$N(x) = \frac{250}{1 + e^{0,857x-5,905}}$$

C. Étude de la fonction.

On considère la fonction f définie sur l'intervalle [0 ; + ∞[par :

$$f(x) = \frac{250}{1 + 0,003e^{0,9x}}$$

1) Calculer $\lim\limits_{x \to +\infty} f(x)$.

2) a. Vérifier que, pour tout *x* appartenant à [0 ; + ∞[, $f'(x) = \frac{-0,675e^{0,9x}}{(1+0,003e^{0,9x})^2}$

b . Étudier le signe de $f'(x)$ et donner le sens de la variation de f sur l'intervalle [0 ; +∞[.

3) Tracer dans le repère fourni en annexe la courbe représentative de la fonction f.

Pour la suite, on admet que a fonction f modélise le nombre d'œufs pondus par mois dans un aquarium, en fonction de la concentration x en pesticide (en mg/l) sur l'intervalle [0 ; 50].

4) La concentration efficace médiane notée CE50 est la concentration qui correspond à une diminution de 50% du nombre d'œufs pondus par mois par rapport à une eau sans pesticide.

5) Déterminer cette concentration CE50 à 10^{-1} près. Expliquer votre démarche.

6) Une primitive *F* de *f* est calculée par le logiciel de calcul formel :

$$F(x) = -\frac{2500}{9}\ln\left(e^{-0,9x} + 0,003\right)$$

Estimer, à l'unité près, le nombre moyen d'œufs pondus par mois, pour des concentrations en pesticide comprises entre 4 et 6 mg/l.

On rappelle que la valeur moyenne d'une fonction *f* sur l'intervalle [*a ; b*] est :

$$\frac{1}{b-a}\int_a^b f(x)dx$$

Exercice 2 : 8 points

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

A. Étude du taux d'hémoglobine chez la femme en France

L'anémie se définit par un taux d'hémoglobine dans le sang inférieur aux valeurs normales. Une femme est en anémie lorsque son taux d'hémoglobine est inférieur ou égal à 12g/dl. Une femme est en polyglobulie si son taux d'hémoglobine est supérieur ou égal à 16g/dl.

Soit *T* la variable aléatoire qui, à chaque femme de la population française, associe son taux d'hémoglobine en grammes par décilitre (g/dl). On admet que *T* suit la loi normale d'espérance μ=14 et d'écart type σ = 1,15.

1) Déterminer la probabilité qu'une femme choisie au hasard dans la population française soit en anémie. On arrondira le résultat à 10^{-3}.

2) En déduire, sans utiliser la calculatrice, la probabilité qu'une femme choisie au hasard dans la population française soit en polyglobulie. Expliquer votre démarche. On pourra s'aider d'un schéma.

B. Prévisions d'erreurs d'analyses

Un laboratoire procède à 300 analyses de taux d'hémoglobine chaque mois.

On suppose que la probabilité qu'une analyse soit erronée est 0,005.

On note *X* la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 300 analyses, associe le nombre d'analyses erronées de cet échantillon. On suppose que la constitution d'un tel échantillon peut être assimilée à un tirage avec remise de 300 analyses.

1) Quelle loi suit la variable aléatoire *X* ? En préciser les paramètres.

2) Un tableur fournit les résultats suivants :

En utilisant cet extrait, déterminer en arrondissant les valeurs demandées à 10^{-2} :

a. La probabilité qu'aucune des 300 analyses de l'échantillon ne soit erronée.

b. $P(2 \leq X \leq 4)$. Interpréter le résultat dans le contexte de l'exercice.

	A	B
1	k	P(X=k)
2	0	0,2222922
3	1	0,335113869
4	2	0,251756399
5	3	0,125667348
6	4	0,046888445
7	5	0,013948723
8	6	0,003446293
9	7	0,000727358
10	8	0,000133867
11	9	2,18253E-05

C. Délai des résultats des analyses du taux d'hémoglobine

Un laboratoire qui pratique des analyses affirme que le délai moyen pour fournir les résultats d'une analyse du taux d'hémoglobine est de 60 minutes.

On souhaite tester cette hypothèse à l'aide d'un test bilatéral au seuil de confiance de 95%.

On note m le délai moyen pour fournir le résultat d'une analyse et on définit les hypothèses nulle et alternative suivantes :

H_0 "m = 60" et H_1 "$m \neq 60$".

Soit $\bar{Y}$ la variable aléatoire qui à tout échantillon de 100 analyses associe le délai moyen pour fournir les résultats de ces analyses.

On admet que $\bar{Y}$ suit la loi normale d'espérance m et d'écart type 1,5.

Donc sous l'hypothèse « H_0 est vraie », Y suit la loi normale d'espérance 60 et d'écart type 1,5.

1) Déterminer l'arrondi au centième du nombre réel h vérifiant $P(60 - h \leq \bar{Y} \leq 60 + h) = 0,95$.

2) Énoncer la règle de décision du test.

3) On prélève un échantillon de 100 analyses et on trouve un délai moyen pour fournir les résultats de $\bar{y}$ = 62,5 minutes. Que peut-on en conclure ?

Annexes

Exercice 1- Partie A- Question 1

Concentration en pesticide (en mg/l) (x_i)	0	1	4	5	6	7	8	10
Nombre d'œufs pondus dans le mois (N_i)	249	248	246	230	130	50	40	35
$y_i = -ln(\frac{250}{N} - 1)$	5,52				0,08			

Exercice 1- Partie B- Question 3

E3 Sciences Physiques et Chimiques 2020

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :

L'usage de la calculatrice, avec mode examen actif est autorisé.

L'usage de calculatrice sans mémoire « type collège » 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.

Documents à rendre avec la copie : documents réponse en fin de sujet.

Document annexe : courbe de titrage des ions $Fe^{2+}_{(aq)}$ par les ions $Ce^{4+}_{(aq)}$.

Anémie et carence en fer

Une femme enceinte va consulter son médecin pour une grosse fatigue et des essoufflements. Son médecin lui prescrit une analyse de sang.

L'anémie par carence de fer touche souvent les femmes enceintes car elle peut être due à des pertes de sang ou à un manque de fer dans l'alimentation quotidienne. Elle se définit par un taux d'hémoglobine dans le sang inférieur aux valeurs normales. Lorsque les globules rouges ont une taille inférieure à la normale on parle d'anémie microcytaire. Dans le cas de carence en fer, un complément alimentaire en fer sous forme de comprimé est prescrit.

Les trois exercices sont indépendants.

Exercice I : La place du fer dans l'hémoglobine (4 points)

Données relatives à l'exercice :

- On rappelle que dans le cas d'une liaison d'un ligand avec un ion ou un atome central pour former un complexe, les deux électrons partagés dans la liaison proviennent du ligand.
- Numéro atomique de l'azote : Z = 7.

- <u>Règles de Gillespie</u> :

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

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

La fonction principale de l'hémoglobine, protéine présente dans les globules rouges, est de transporter le dioxygène dans tout l'organisme.
La forme oxygénée de l'hémoglobine est appelée oxyhémoglobine qui est un complexe dont la structure est donnée
figure 1.

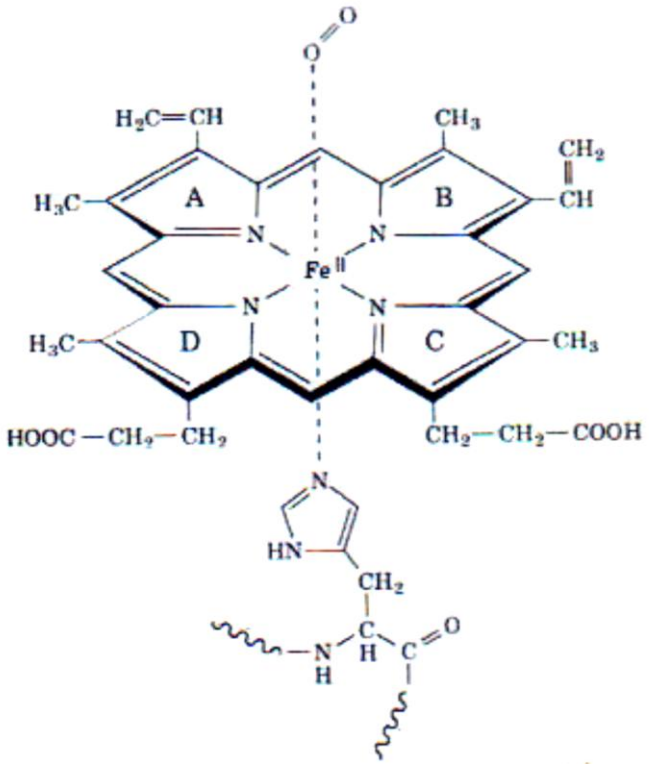
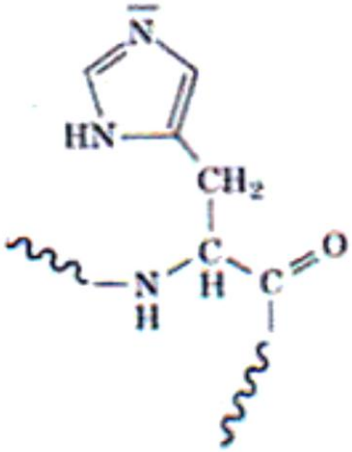
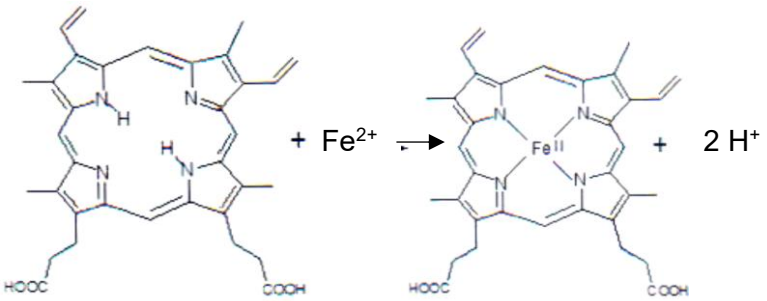


Figure 1 : Complexe oxyhémoglobine

L'oxyhémoglobine est formée par l'assemblage de quatre chaînes polypeptidiques, chacune liées à un hème, par l'intermédiaire d'un acide aminé appelé histidine proximale et représenté **figure 2.**	 La forme ∿∿ représente le reste de la molécule. **Figure 2 : histidine proximale**
L'hème est un complexe fer(II)-porphyrine. Sa synthèse débute dans les mitochondries. L'enzyme ferrochélatase catalyse la transformation de la porphyrine en hème par la réaction avec le fer II (**figure 3**). C'est le fer central de l'hème que viennent de lier l'histidine proximale et le dioxygène transporté par le sang pour former l'oxyhémoglobine.	 **Figure 3 : synthèse de l'hème**

1. Étude structurale

Q1. Écrire la configuration électronique de l'atome d'azote.

Q2. Représenter les cases quantiques de la couche de valence de l'atome d'azote et justifier que l'azote puisse être à l'origine de la liaison formée par le ligand dans un complexe.

Q3. En s'appuyant sur la figure 1 et les données, indiquer en justifiant la réponse, la géométrie du complexe oxyhémoglobine autour du fer II central.

2. L'anémie microcytaire

La forme la plus courante de l'anémie microcytaire est une anémie dite ferriprive c'est-à-dire liée à une carence en fer dans l'organisme.

Q4. Une anémie ferriprive a-t-elle une conséquence sur la fabrication de l'hémoglobine ? Justifier.

Q5. Proposer une explication à l'essoufflement dont se plaint la femme enceinte.

Exercice II : Analyse des globules rouges (8 points)

Données relatives à l'exercice :

- Ouverture numérique :
  $O.N = n \times \sin(u)$
  n est l'indice de réfraction du milieu situé entre la lentille frontale et la lamelle.
  u est le demi-angle d'ouverture maximum sous lequel la lumière pénètre dans l'objectif.

- Pouvoir de résolution du microscope : $ABmin = \frac{0{,}61 \times \lambda}{O.N}$

- Indices de réfraction : n_{air} = 1,000 ; n_{huile} = 1,518 ; n_{verre} = 1,515

- Grossissement du microscope : $G_{micr} = G_{oc} \times |\gamma_{obj}|$

Le laboratoire d'analyse médicale prélève un échantillon de sang à la patiente et réalise une numération formule sanguine (NFS) dont une partie des résultats est indiquée ici :

Nombre de globules rouge par mm^3	3 950 000
Taux d'hémoglobine	89 g · L^{-1}

Afin de vérifier l'aspect des globules rouges, il effectue également un frottis sanguin. Ce frottis est observé avec un microscope doté de trois objectifs.

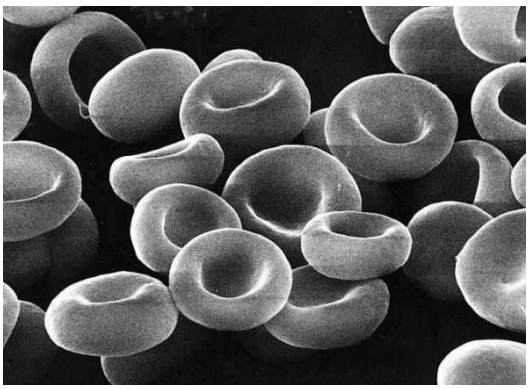


Image 1
Globules rouges dans les vaisseaux sanguins. Ce sont de petits disques biconcaves de 7 µm de diamètre pour un organisme sain.

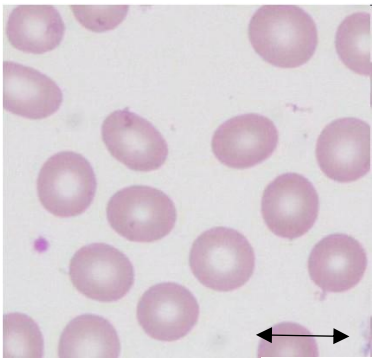


Image 2
Visualisation au microscope optique du frottis sanguin de la patiente.
Grossissement du microscope (×1000)

1. Intérêt de l'objectif à immersion à huile

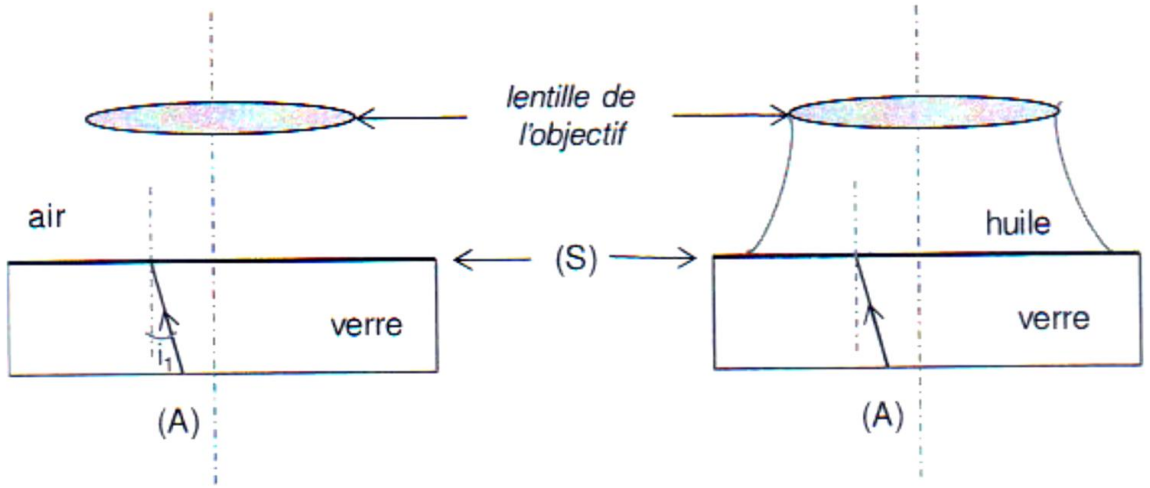
L'objectif à immersion à huile s'utilise en déposant une goutte d'huile sur la lame.
Il s'agira dans cette partie de montrer l'intérêt d'utiliser la technique d'immersion dans de l'huile par rapport à un objectif utilisé à sec (air).

Q6. Pouvoir de résolution du microscope

Q6.1. A quoi correspond le pouvoir de résolution du microscope ?

Q6.2. En s'appuyant sur son expression littérale, expliquer comment varie le pouvoir de résolution AB_{min} lorsqu'il y a immersion dans de l'huile. Conclure sur un premier avantage de l'objectif à immersion à huile par rapport à l'objectif à sec.

Pour illustrer le principe de l'objectif à immersion à huile, on s'intéresse au trajet du rayon lumineux (A) qui arrive sur la surface de séparation (S) avec un angle d'incidence i_1=20° et qui en sort avec un angle i_2 **(document 3).**



a. Objectif à sec (air) **b.** *Objectif à immersion (huile)*

Document 3 : trajet d'un rayon (A) qui traverse la couvre-lame dans le cas d'un objectif à sec **(a)** et dans le cas d'un objectif à immersion **(b)**

Q7. Énoncer les lois de Snell-Descartes relatives à la réfraction à l'interface de deux milieux d'indices de réfraction respectifs n_1 et n_2.

Q8. Montrer que les angles de sortie i_{2a} dans le cas de l'objectif à sec (**a**) et i_{2b} dans le cas de l'objectif à immersion à huile (**b**) ont pour valeurs respectives i_{2a}= 31° et i_{2b}= 20°.

Q9. Compléter qualitativement le trajet du rayon (A) sur le schéma de l'annexe 1 (la mesure exacte des angles avec un rapporteur n'est pas demandée).

Q10. En déduire un autre avantage de l'objectif à immersion à huile par rapport à l'objectif à sec.

2. Étude du frottis sanguin de la patiente

Le microscope utilisé pour l'observation du frottis est constitué d'un oculaire (x 10) et d'une tourelle avec le trois objectifs (x 20), (x 40) et (x 100).

On s'intéresse à **l'image 2,** qui représente l'image du frottis observée au microscope.

Q11. Quel objectif a-t-on utilisé pour obtenir cette image ? Justifier.

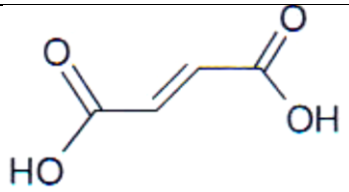
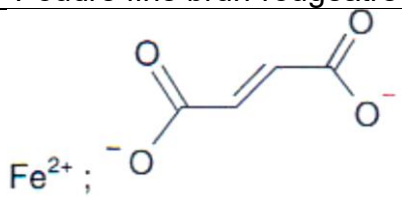
Q12. En utilisant cette image, montrer que les globules rouges observés confirment une anémie de type microcytaire. Justifier la cohérence avec les résultats de la NFS au regard des valeurs de référence ci-dessous.

Valeurs de références	Homme	Femme
Taux d'hémoglobine (en gramme par litre de sang)	135-175 g · L^{-1}	125- 155 g · L^{-1}
Nombre de globules rouges par mm^3 de sang	4,0 millions	5,3 millions

Exercice III : Étude d'un complément alimentaire à base de fer (8 points)

Données relative à l'exercice :

- Acide fumarique et fumarate terreux :

Nom	Acide fumarique	Fumarate terreux
Formule	$C_4H_4O_4$	$C_4H_2FeO_4$
Caractéristiques	Poudre cristalline blanche	Poudre fine brun-rougeâtre
Structure		

- Masse molaire atomique du fer : M(Fe) = 55,8 g· mol^{-1}

- Constante d'acidité de l'acide fumarique (à 25 °C) = 4,4

$pKa_1(C_4H_4O_4 / C_4H_3O_4^-) = 3,0$ et $pKa_2(C_4H_3O_4^- / C_4H_2O_4^{2-}) = 4,4$

- Équation de Nernst dans les conditions standards : $E = E^\circ + \frac{0,059}{n} \times \log \frac{[ox]^a}{[red]^b}$

Où n est le nombre d'électrons échangés.

Le Fumafer® est un médicament prescrit pour prévenir ou traiter la carence en fer chez la femme enceinte, le nouveau-né ou le nourrisson lorsque les apports alimentaires sont insuffisants. Le médicament étudié se présente sous la forme de comprimés composés de fumarate terreux.

Indications sur une boîte de Fumafer®

Composition

Fumarate terreux ……..200 mg

(quantité correspondant en fer 66 mg)

Pour un comprimé pelliculé

Indications thérapeutiques

Ce médicament contient du fer. Il est préconisé dans le traitement des anémies dues à un manque de fer chez l'adulte et l'enfant à partir de 10 ans et en traitement préventif de la carence en fer chez la femme enceinte.

1. Étude de l'acide fumarique

Q13. L'acide fumarique possède un diastéréoisomère. Le représenter.

2. Préparation d'une solution à partir d'un comprimé de Fumafer®

On souhaite vérifier la composition d'un comprimé de Fumafer®. Pour cela, on écrase un comprimé et on récupère le solide dans une fiole jaugée de 100,0 mL que l'on complète avec de l'eau distillée. La solution obtenue est notée S. Elle a un pH de 5,6.

Q14. Tracer le diagramme de prédominance des couples relatifs à l'acide fumarique et à l'ion fumarate. En déduire la forme prédominante dans la solution S.

3. Titrage du fer

On souhaite titrer le fer présent dans un comprimé de Fumafer®, sous forme d'ions $Fe^{2+}_{(aq)}$ et suivre le titrage par potentiométrie. On verse entièrement la solution S dans un bêcher dans lequel on plonge deux électrodes ; une électrode de référence (électrode au calomel saturé ECS) et une électrode de mesure (au platine).

On réalise le titrage de la solution S par une solution de sulfate de cérium qui contient des ions $Ce^{4+}_{(aq)}$ à la concentration $C = 0{,}10\ mol \cdot L^{-1}$.

La courbe représentant l'évolution du potentiel de l'électrode de mesure en fonction du volume de sulfate de cérium versé est donnée en **annexe 2.**

Q15. À partir des demi-équations électroniques des couples mis en jeu dans le dosage $Fe^{3+}_{(aq)}/Fe^{2+}_{(aq)}$ et $Ce^{4+}_{(aq)}/Ce^{3+}_{(aq)}$, établir l'équation de la réaction support du titrage des ions $Fe^{2+}_{(aq)}$ par les ions $Ce^{4+}_{(aq)}$. Cette réaction est supposée totale.

Q16. Déterminer sur la courbe en **annexe 2,** le volume à l'équivalence V_E.

3A- Première exploitation de la courbe : vérification de la quantité de fer dans le médicament.

Q17. Déterminer la valeur de la quantité de matière en fer contenu dans un comprimé de Fumafer®.

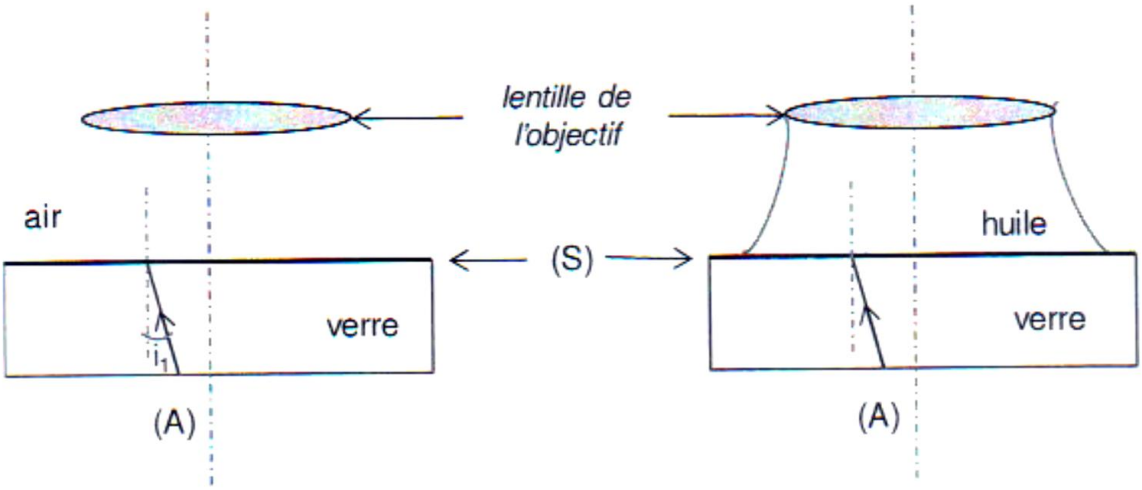
Q18. Cette quantité est-elle cohérente par rapport à l'indication de la boite ?

3B- Deuxième exploitation de la courbe : détermination du potentiel standard du couple $Fe^{3+}_{(aq)}$ / $Fe^{2+}_{(aq)}$.

Q19. Donner l'expression littérale du potentiel du couple $Fe^{3+}_{(aq)}$ / $Fe^{2+}_{(aq)}$ et montrer, par le calcul, qu'à la demi-équivalence le potentiel de l'électrode de mesure est égal au potentiel standard de ce couple.

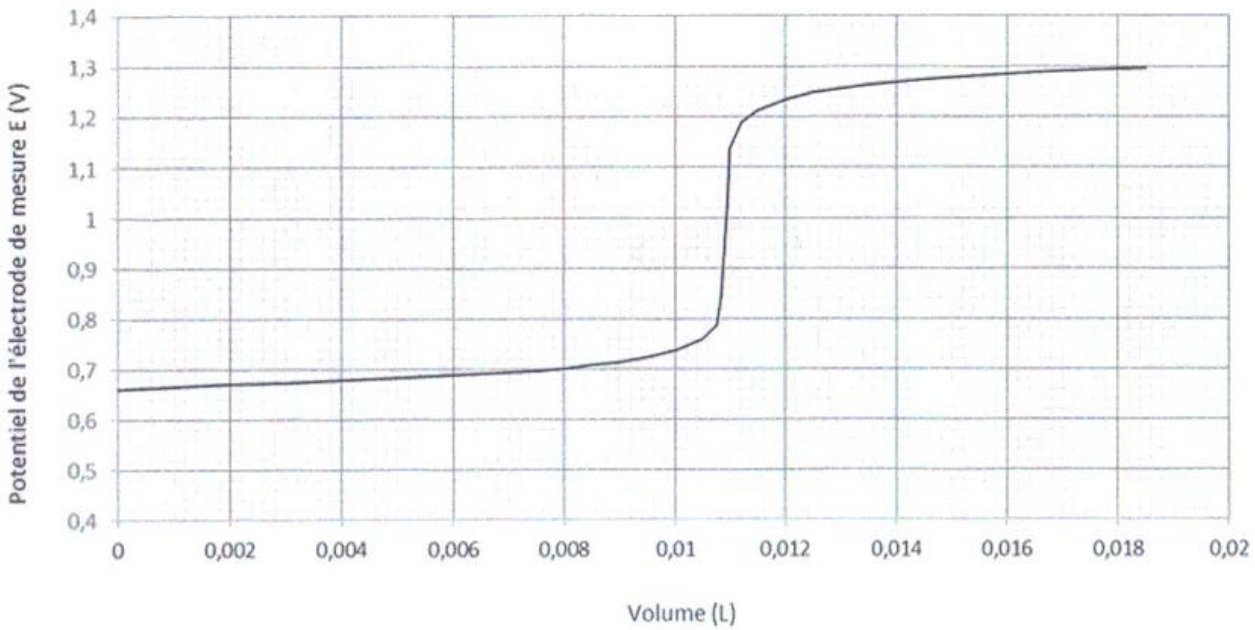
Q20. Estimer une valeur pour le potentiel standard du couple $Fe^{3+}_{(aq)}$ / $Fe^{2+}_{(aq)}$.

Annexe 1 : tracé du trajet du rayon (A) qui sort de la lame de verre.



a. Objectif à sec (air) **b.** *Objectif à immersion (huile)*

Annexe 2 : courbe de titrage des ions $Fe^{2+}_{(aq)}$ par les ions $Ce^{4+}_{(aq)}$.



E41 Biochimie 2020

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

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

LES DIABÈTES

Le mot diabète vient du grec ancien « dia baïno » qui signifie « passer au travers ». Les médecins grecs avaient remarqué que les malades semblaient uriner aussitôt ce qu'ils venaient de boire, comme s'ils ne pouvaient retenir l'eau.

On distingue le diabète sucré, caractérisé par la présence de glucose dans les urines et le diabète insipide (absence de glucose dans les urines).
Ces deux types de diabètes ont des origines très différentes et ont les symptômes de polyurie et de polydypsie en commun.

1. Le diabète sucré et son métabolisme (7,5 points)

Le diabète sucré de type 1 se manifeste dans un premier temps par une polydipsie et une polyurie. D'autres troubles peuvent apparaître s'il n'est pas traité.
Une patiente de 29 ans se présente aux urgences de l'hôpital pour une fatigue intense, proche du malaise. Un bilan sanguin complet est réalisé.

1.1. Le glucose et son métabolisme

1.1.1. Analyser le résultat de la glycémie de la patiente et conclure.
Le glucose est dosé par la méthode GLU.

1.1.2. Lister les éléments constituant le réactif 1.

1.1.3. Justifier la durée de réaction à respecter.

1.1.4. Justifier le sens de l'évolution de l'absorbance lors du dosage.

Le glucose est stocké dans l'organisme sous forme de glycogène.

1.1.5. Dessiner la molécule d'α-D-glucopyrannose en représentation de Haworth puis décrire la structure du glycogène et citer l'organe de stockage qui intervient dans la régulation de la glycémie.

1.1.6. Nommer les voies métaboliques 1 à 4 intervenant dans le métabolisme glucidique hépatique.

1.1.7. Citer le mécanisme de régulation de l'activité des enzymes E1 et E2. Justifier laquelle de ces enzymes est activée par l'insuline.

1.2. Diabète et acidose

Malgré une hyperglycémie, l'hypoinsulinémie entraîne une baisse de l'apport en glucose des cellules. Deux voies métaboliques compensent ce déficit en produisant du glucose intracellulaire à partir de composés non glucidiques et des corps cétoniques acides. Un bilan de gazométrie est effectué chez cette patiente.

1.2.1. Proposer un appareillage de mesure des paramètres pH, pCO_2 et pO_2.

1.2.2. Sur la base du bilan gazométrique, justifier si la patiente est en état d'acidose ou d'alcalose, ainsi que l'origine métabolique ou respiratoire du trouble observé.

1.2.3. Indiquer le nom de l'organe et la voie métabolique produisant les corps cétoniques.

1.2.4. Préciser la molécule à l'origine des corps cétoniques ainsi que la voie métabolique qui permet de l'obtenir en cas de diabète.

1.2.5. Citer deux organes utilisant ces corps cétoniques comme source énergétique.

2. Le suivi du diabète sucré (7 points)

Le suivi des patients diabétiques se fait par le dosage de l'hémoglobine glyquée A1c (HbA1c)

2.1 Dosage de l'hémoglobine glyquée par HPLC

2.1.1. Argumenter l'intérêt du dosage de l'hémoglobine glyquée lors du suivi des patients diabétiques.

2.1.2. Expliquer sur quelle fraction sanguine est effectué te dosage de l'Hb glyquée

La méthode de dosage de l'HbA1c utilisée par le plateau technique de l'hôpital fait appel à l'HPLC.

2.1.3. Préciser la charge des hémoglobines au début de l'analyse et expliquer le mode d'élution.

2.1.4. Reporter sur la copie et expliquer l'ordre d'élution des différentes hémoglobines.

2.1.5. Établir l'équation aux grandeurs et l'équation aux valeurs numériques permettant le calcul du pourcentage correspondant à l'hémoglobine HbA1c.

2.1.6. Proposer deux autres techniques permettant de réaliser le dosage de l'hémoglobine glyquée.

2.2. Contrôle national de qualité sur l'hémoglobine glyquée

L'ANSM a envoyé un Contrôle National de Qualité (CNQ) à tous les laboratoires effectuant le dosage de l'hémoglobine glyquée.
Deux échantillons ont été envoyés H21 et H22, il s'agit d'échantillons de sang total d'origine humaine lyophilisé.

2.2.1. Comparer deux points principaux qui différencient les CNQ et les CIQ.

2.2.2. Indiquer le nombre de laboratoires qui ont participé à cette campagne, ainsi que le nombre de laboratoire effectuant le dosage avec le même automate que le laboratoire de l'hôpital.

2.2.3. Identifier l'appareil de plus fidèle dans la campagne 2015 de l'ANSM et justifier ce choix.

2.2.4. Sachant que l'échantillon H21 avait pour valeur cible 4,83 %, calculer le biais des deux appareils étudiés (le variant II BIORAD et l'appareil précédemment identifié). Conclure quant à l'appareil le plus juste.

2.2.5. Proposer une méthode permettant au laboratoire d'obtenir cette valeur cible de 4,83 %.

3. Le diabète insipide (5,5 points)

Le diabète insipide se définit comme une situation où les urines sont abondantes, hypotoniques et non « sucrées ». Le diabète insipide peut avoir plusieurs origines :

> Une anomalie de synthèse de l'hormone antidiurétique (ADH).
> Une anomalie des récepteurs de l'ADH sur les cellules du tube rénal.
> Une anomalie des aquaporines 2, qui interviennent dans la réabsorption d'eau.

Ces pathologies peuvent avoir des causes multiples (traumatiques, génétiques, infectieuses...).

3.1. L'hormone antidiurétique ADH

L'ADH (aussi appelée vasopressine) est une neurohormone sécrétée par la neurohypophyse C'est un nonapeptide.

3.1.1. À partir des données fournies, écrire en formule semi-développée le début de la séquence peptidique composé des acides aminés Cys-Tyr-Phe.

3.1.2. «L'ADH agit en se fixant sur un récepteur membranaire ». Justifier cette affirmation.

3.2. Le rein et le mode d'action de l'ADH

L'ADH agit sur la réabsorption facultative de l'eau au niveau de protéines : les aquaporines (AQP2) du tube collecteur du néphron. Elle permet ainsi de réguler le volume d'eau plasmatique. Les aquaporines sont des canaux transmembranaires qui permettent le passage d'eau.

3.2.1. Reporter sur la copie les éléments constitutifs du néphron.

3.2.2. Exposer les 3 principales étapes de la formation de l'urine en précisant les mouvements des solutés.

3.2.3. En détaillant le mode d'action de l'ADH au niveau de la cellule rénale, établir le lien entre un défaut d'ADH et une polyurie.

3.2.4. Localiser dans la cellule la synthèse des aquaporines ainsi que leur cheminement jusqu'à leur site d'action.

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Extrait des résultats biologiques d'une patiente de 29 ans

Document 2 : Extrait de la fiche technique SIEMENS Dosage du Glucose

Document 2 (suite) : Spectre d'absorption du NAD^+ et du NADH

Document 3 : Schéma du métabolisme du glucose de la cellule hépatique

Document 4 : Métabolisme des corps cétoniques

Document 5 : Extrait de la notice d'utilisation du VARIANT II BIORAD pour le dosage de l'HbAlc

Document 6 : Annales du contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie médicale

Document 7 : Formule semi-développée de quelques acides aminés

Document 8 : Structure d'un néphron

Document 9 : Mode d'action de l'ADH au niveau du néphron

Document 1

Extrait des résultats biologiques d'une patiente de 29 ans

BIOCHIMIE DU SANG

Analyses		Résultats		Valeurs de référence	Résultats précédents
GLUCOSE	(Hexokinase)	25,00	mmol/L	4,07 – 5,83	
UREE	(Uréase GLDH)	7,5	mmol/L	2,5 – 6,4	
CREATININE	(Jaffé)	60	µmol/L	49 – 90	
PROTIDES PLASMA	(Biuret)	85	g/L	64 -82	
BILIRUBINE TOTALE	(Jendra.mod)	15	µmol/L	3 -17	
SODIUM	(Potent. Ind)	142	mmol/L	136- 145	
POTASSIUM	(Potent. Ind)	5,20	mmol/L	3,20 – 4,80	
CHLORE	(Potent. Ind)	106	mmol/L	98 - 107	

BIOCHIMIE DU SANG

Analyses	Résultats		Valeurs de référence	Résultats précédents
HbA1c (hémoglobine glyquée) (chromato HPLC variant II) Diabète de type I < 7,5% HAS 07/2007 Diabète de type II < 7% HAS/ANSM 01/2013	9,2	%		
	78	mmol/mol		

GAZOMETRIE

Analyseur RADIOMETER ABL 835

Attention ! changement des valeurs de référence à compter du 24/11/2017

GAZOMETRIE ARTERIELLE				Valeurs de référence	Résultats précédents
PH	…….	7,170		7,350 – 7,450	
PCO2	…….	41,0	mmHg	32,0 – 48,0	
HCO3	…….	13,5	mmol/L	21,0 – 28,0	
PO2	…….	85,0	mmHg	83,0 – 108,0	

Document 2

Extrait de la fiche technique SIEMENS Dosage du Glucose

SIEMENS

REF K1039

Dimension Vista® System

Flex® reagent cartridge

GLU

PN 781039.001 2017-08-29 G

Glucose

Utilisation : La méthode GLU est un test diagnostique *in vitro* utilisé pour la mesure quantitative du glucose dans le sérum, le plasma, l'urine et le liquide céphalorachidien humains sur le Système Dimension Vista®.

Résumé : La méthode glucose est une adaptation de la méthode hexokinase-glucose-6-phosphate déshydrogénase, présentée comme une méthode de laboratoire clinique générale par Kunst, et al.[1]

La méthode par l'hexokinase constitue la méthode de référence généralement acceptée pour mesurer le glucose.[2] Les mesures de glucose sont utilisées pour diagnostiquer et traiter les troubles du métabolisme des glucides comme le diabète sucré, l'hypoglycémie néonatale et l'insulinome.[2]

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \xrightarrow[\text{MG}^{++}]{\text{HK}} \text{Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucose-6-phosphate} + \text{NAD}^{+} \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-phosphogluconate} + \text{NADH} + \text{H}^{+}$$

Étapes du dosage

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange et le traitement sont automatiquement assurés par le Système Dimension Vista®. Pour les détails du traitement, voir le guide de l'utilisateur du Système Dimension Vista®.

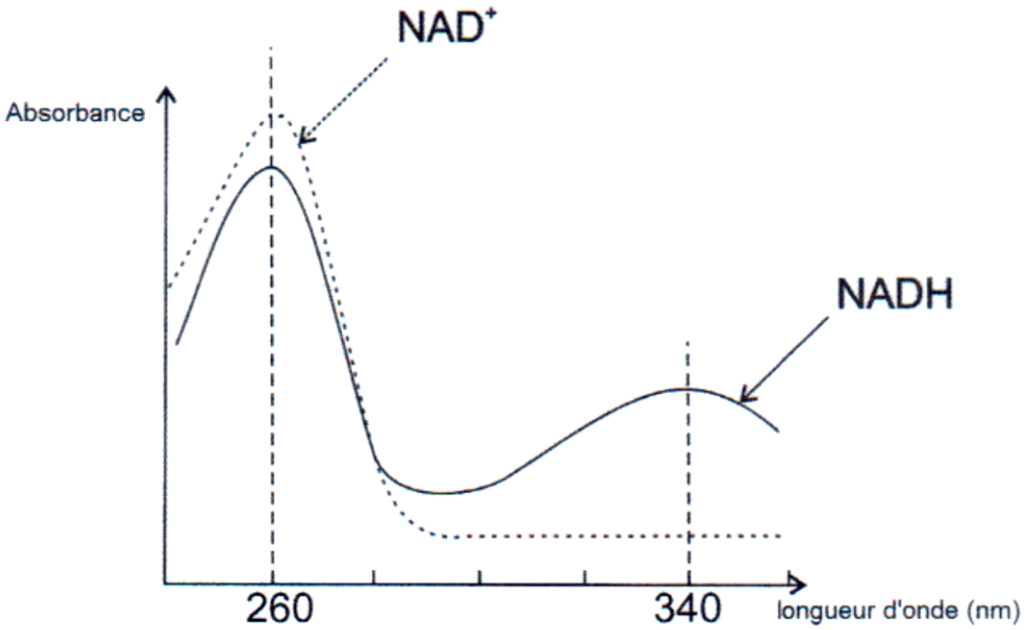
Conditions du dosage

Volume d'échantillon (distribué dans la cuvette)	1.2 µl
Volume de réactif 1	22.4 µl
Température	37.0 °C
Temps de réaction	2.0 minutes
Longueur d'onde	340 et 383 nm
Type de mesure	Bichromatisme en point final

Document 2 (suite)

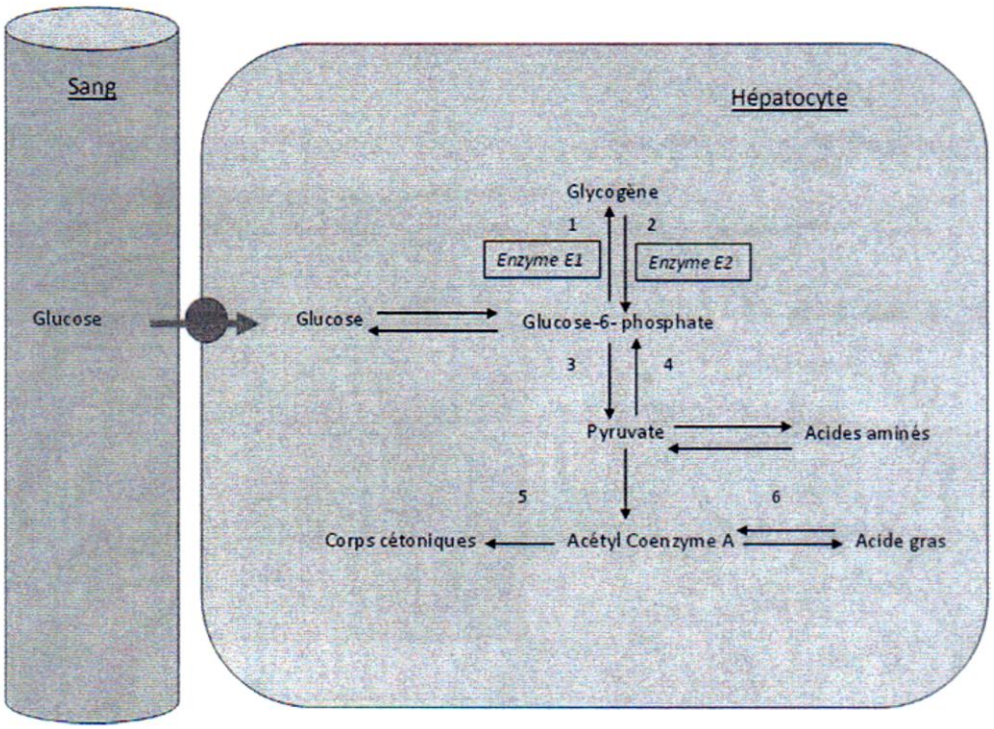
Spectre d'absorption du NAD^+ et du NADH

Disciplines.ac-montpellier.fr/



Document 3

Schéma du métabolisme du glucose de la cellule hépatique

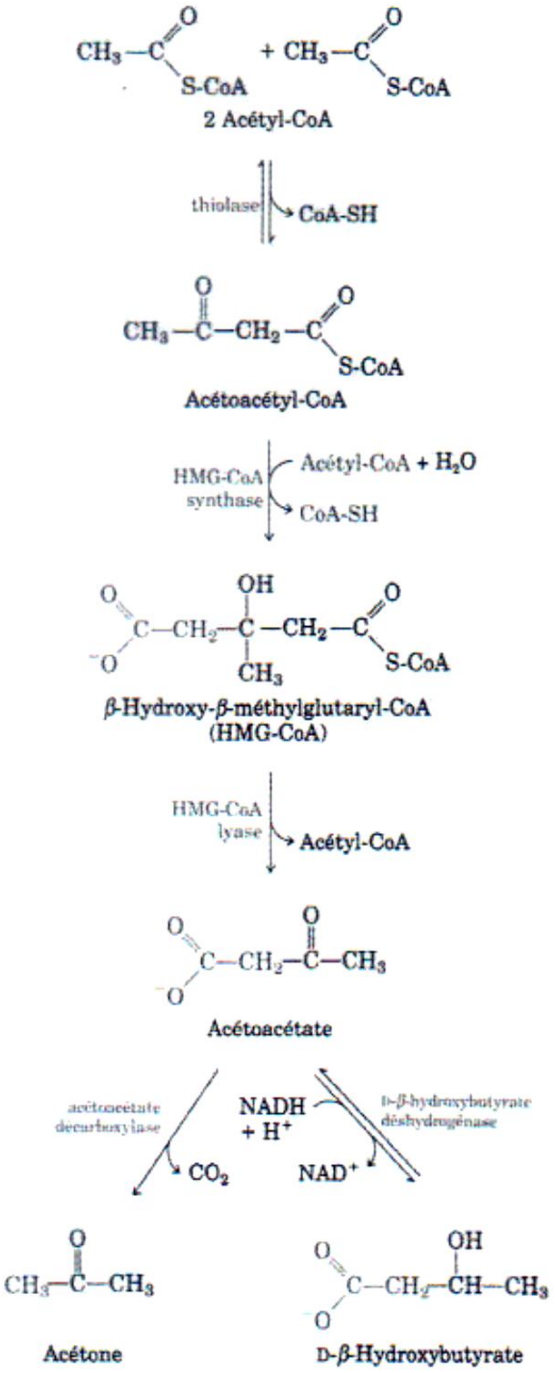


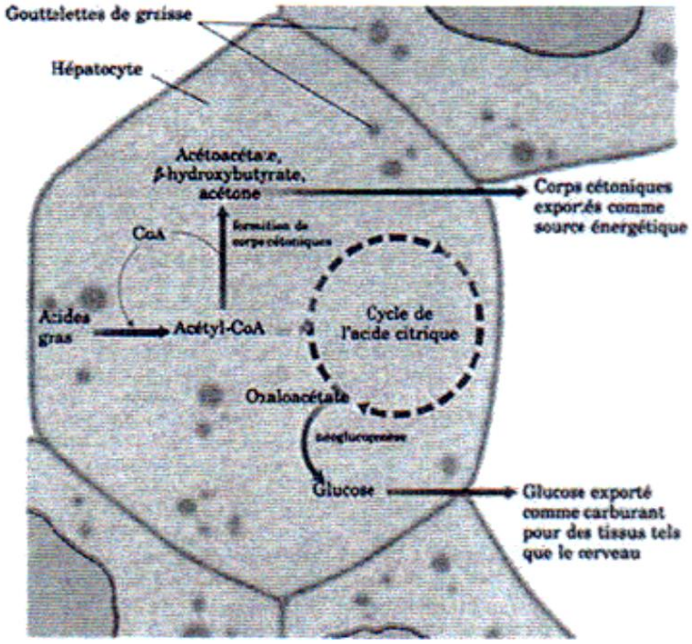
Enzyme E1 : Glycogène synthase
Enzyme E2 : Glycogène phosphorylase

Document 4

Métabolisme des corps cétoniques

D'après « Principes de Biochimie » de Lehninger, Nelson, Cox 2ème édition Médecines-Sciences Flammarion





Document 5

Extrait de la notice d'utilisation du VARIANT II BIORAD pour le dosage de l'HbAlc

UTILISATION

Le VARIANT™ II HbA_2/HbA_{1c} Dual Program de Bio-Rad est conçu pour permettre le dosage des hémoglobines A_2, F et A_{1c} dans le sang total humain par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) par échange d'ions.

Le VARIANT II HbA_2/HbA_{1c} Dual Program de Bio-Rad est destiné à être utilisé avec le VARIANT™ II Hemoglobin Testing System de Bio-Rad.

Utilisation comme test de diagnostic in vitro.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le VARIANT II HbA_2/HbA_{1c} Dual Program utilise les principes de la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) par échange d'ions pour effectuer la séparation automatique des hémoglobines normales et anormales et le dosage précis des hémoglobines A_2, F et A_{1c} dans des échantillons de sang total, sans subir d'interférence ni de l'A_{1c} labile, ni d'une lipémie, ni de fluctuations de température.

Les échantillons sont automatiquement mélangés et dilués dans la VARIANT II Sampling Station (VSS, Station d'échantillonnage VARIANT II), puis injectés dans la cartouche analytique. Les pompes à double piston de la VARIANT II Chromatographic Station (VCS, Station chromatographique VARIANT II) envoient un gradient programmé de tampon de force ionique croissante dans la cartouche où les molécules d'hémoglobine sont alors séparées en fonction de leur interaction ionique avec le matériau contenu dans la cartouche. Les molécules d'hémoglobine séparées traversent ensuite la cellule à circulation du photomètre filtre où sont mesurés les changements d'absorbance (à 415 nm) ; les variations dues au bruit sont corrigées à l'aide d'un filtre supplémentaire à 690 nm.

Prélèvement des échantillons

Les échantillons de sang total doivent être recueillis dans un tube sous vide contenant de l'EDTA en tant qu'anticoagulant. Les échantillons de patients restent stables pendant 7 jours lorsqu'ils sont conservés entre 2 et 8 °C.

Contrôle de la qualité

Comme l'exigent les bonnes pratiques de laboratoire, des échantillons de contrôle haut et bas doivent être inclus dans chaque série. Si les valeurs des contrôles obtenues ne se situent pas dans la fourchette attendue, recommencer l'analyse.

MATÉRIEL DISPONIBLE SÉPARÉMENT AUPRÈS DE BIO-RAD

REF	*Description*
270-2510	ANLT CRTR SET, **jeu de cartouches analytiques** contenant : • 1 ANLT CRTR échangeuse de cations, 4,6 mm DI x 30 mm • WB PRM, sang total de conditionnement, lyophilisé, 1 x 1,0 ml, hémolysat lyophilisé de globules rouges humains, contient de la gentamicine, de la tobramycine et de l'EDTA en tant qu'agents conservateurs. Conserver entre 2 et 8 °C. • 2 préfiltres, 0,5 µm x 4 mm, pour 400 injections chacun.

Exemple de résultat :

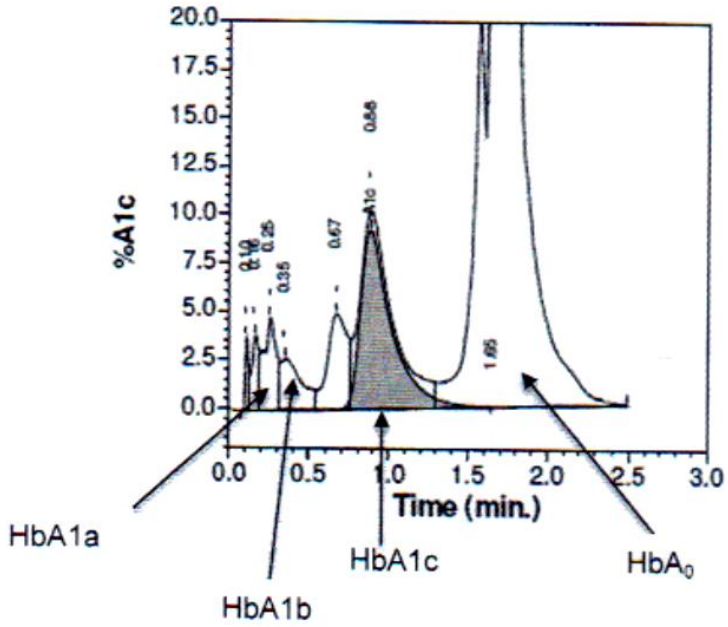
Peak Name	IFCC mmol/mol	NGSP %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	---		0.101	4828
A1a	---	---		0.160	11103
A1b	---	---		0.253	23445
F	---	---		0.352	20526
LA1c	---	---		0.666	54568
A1c	78*	9.2*		0.880	114332
Ao	---	---		1.646	1536383

*Values outside of expected ranges 1,765,186

* Values outside of expected ranges: valeurs en dehors des références attendues
Peak Name : Nom du pic
IFCC : International Federation Clinical Chemistry
NGSP : National Glycohémoglobin Standardization Program
Area : Aire
Peak Area : Aire du pic

HbA1c (IFCC) = 78* mmol/mol HbA1c (NGSP) = 9.2* %

Analysis comments:

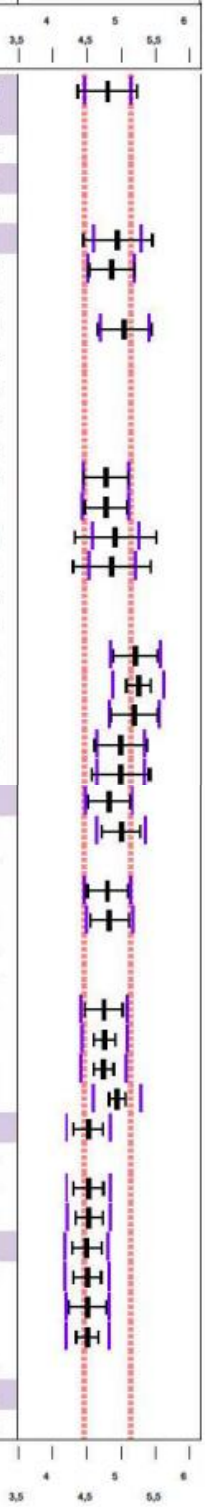


Document 6

Annales du contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie médicale

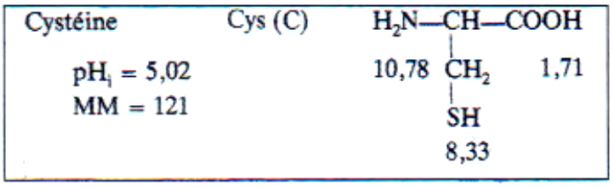
ANSM 2015 (extraits publication de septembre 2017)

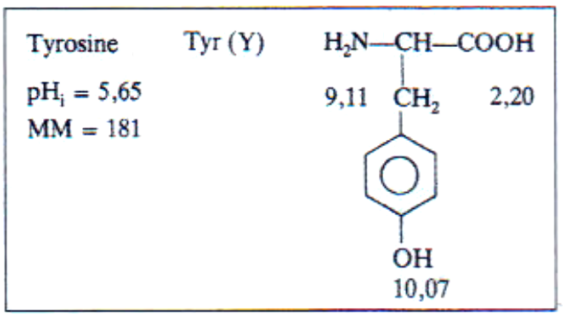
HbA1c (%)			H21	
Techniques ou appareils	Effectif	%	Moyenne (%)	CV (%)
TOUTES TECHNIQUES	934		4,80	4,6
EIA, fluorimétrie	1	0,1	–	–
ABBOTT, AxSYM HbA1c	1	0,1	–	–
IA, chimiluminescence	1	0,1	–	–
ABBOTT (AXIS-SHIELD), ARCHITECT I-Systems | HbA1c, 4P72	1	0,1	–	–
IA, immuno-turbidimétrie	238	25,5	4,95	5,1
BECKMAN COULTER, AU Systems | HbA1c	11	1,2	4,86	3,5
– BECKMAN COULTER AU480	5		–	–
BECKMAN COULTER, UniCel DxC | HbA1c3	10	1,1	5,05	3,9
– BECKMAN COULTER UniCel DxC 600/600i	5		–	–
DIASYS, One HbA1c FS	1	0,1	–	–
HORIBA, ABX Pentra | HbA1c WB	4	0,4	–	–
ORTHO-CD, VITROS d%A1c	7	0,7	–	–
ROCHE, COBAS C-Systems | A1C-3	81	8,7	4,78	3,4
– ROCHE COBAS C501/502	78		4,78	3,3
ROCHE, COBAS Integra | A1C-2	15	1,6	4,92	6,0
– ROCHE COBAS Integra 400/400+	13		4,87	5,8
ROCHE, Hitachi/MODUALR P | HbA1c Gen.3	1	0,1	–	–
SIEMENS, ADVIA Chemistry | HbA1C_3	6	0,6	–	–
SIEMENS, DCA 2000+ / DCA Vantage	35	3,7	5,20	3,1
– SIEMENS DCA 2000+	11		5,25	1,7
– SIEMENS DCA Vantage	24		5,19	3,2
SIEMENS, Dimension | HB1C	48	5,1	4,99	3,9
– SIEMENS Dimension EXL	29		5,00	4,2
Techniques CHROMATOGRAPHIQUES (HPLC)	530	56,7	4,83	3,1
BIO-RAD, D-10	104	11,1	5,00	2,9
BIO-RAD, D-100	2	0,2	–	–
BIO-RAD, Variant II	41	4,4	4,80	3,1
BIO-RAD, Variant II TURBO	120	12,8	4,84	2,9
ELITECH (ARKRAY), ADAMS A1c HA-8180V	4	0,4	–	–
MENARINI (ARKRAY), ADAMS A1c HA-8160	2	0,2	–	–
TOSOH, G7	57	6,1	4,75	2,9
TOSOH, G8	176	18,8	4,76	1,7
TOSOH, GX (HLC-723GX)	11	1,2	4,74	1,5
TRINITY | MENARINI, Premier Hb9210	13	1,4	4,95	1,2
Techniques ÉLECTROPHORÉTIQUES	138	14,8	4,53	2,4
SEBIA, CAPI 3 Hb A1c w/ CAPILLARYS 3	1	0,1	–	–
SEBIA, CAPILLARYS Hb A1c w/ CAPILLARYS 2 Flex-Piercing	107	11,5	4,53	2,4
SEBIA, MINICAP Hb A1c w/ MINICAP Flex-Piercing	30	3,2	4,54	2,2
Techniques ENZYMATIQUES	24	2,6	4,50	2,4
ABBOTT, ARCHITECT C-Systems | HbA1c, 4P52	23	2,5	4,51	2,2
– ABBOTT ARCHITECT C4000	13		4,51	3,0
– ABBOTT ARCHITECT C8000	10		4,51	1,9
DIASYS, HbA1c net FS	1	0,1	–	–
Techniques par AFFINITÉ	2	0,2	–	–
BIO-RAD, in2it A1C	2	0,2	–	–

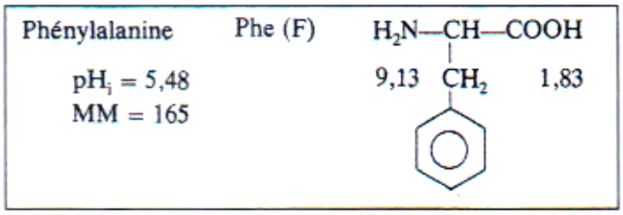


Document 7

Formule semi-développée de quelques acides aminés



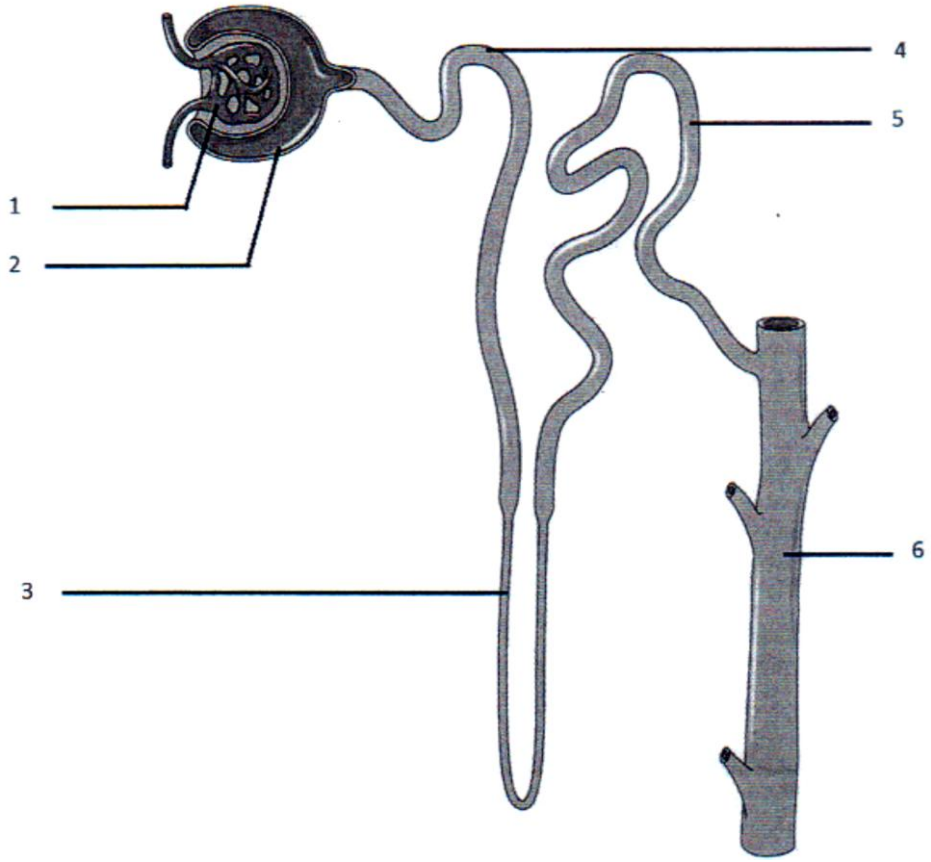




Document 8

Structure d'un néphron

Document créé à partir du site d'illustrations : https://smart.servier.com/

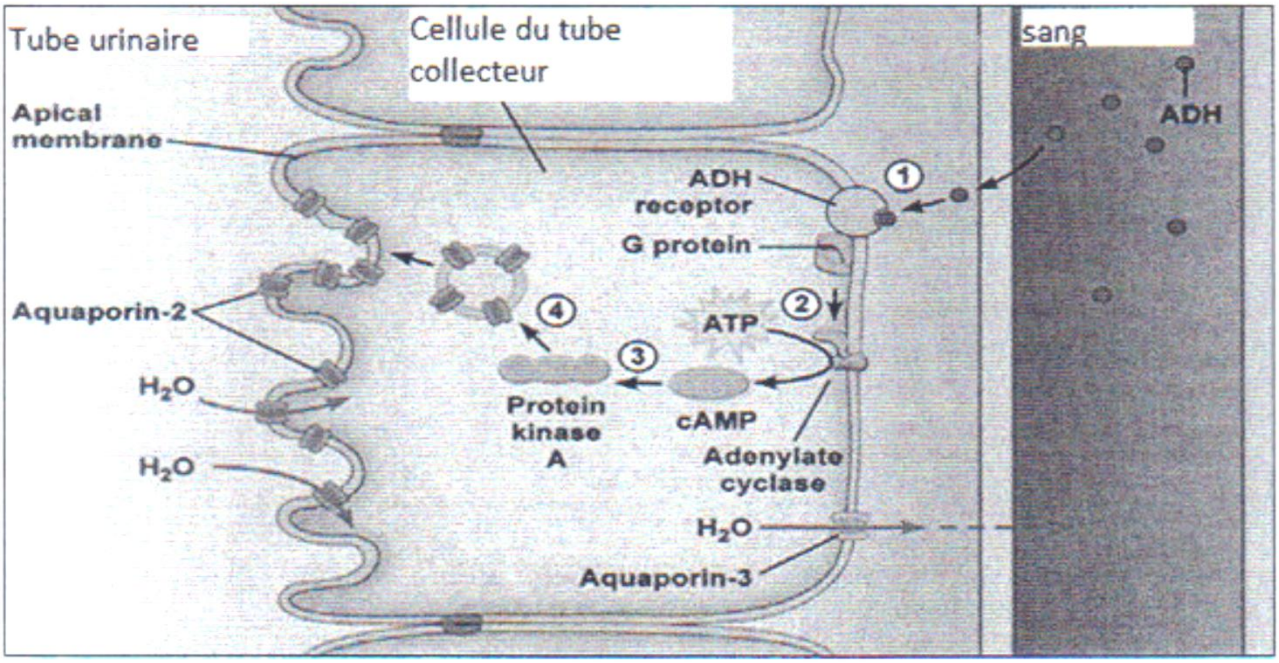


Document 9

Mode d'action de l'ADH au niveau du néphron

http://www.keywordbasket.com

Published by Allyson Jacobs



E42 Microbiologie 2020

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

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

SIDA ET INFECTIONS OPPORTUNISTES ASSOCIÉES

Les Virus de l'Immunodéficience Humaine VIH-1 et VIH-2, isolés respectivement en 1983 et 1985, sont responsables d'une infection chronique évoluant vers un Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise (SIDA) en absence de traitement efficace.

1. L'infection par le VIH (4,5 points)

1.1. Données épidémiologiques

L'OMS a évalué que, depuis le début de la pandémie, 35 millions de personnes sont décédées du SIDA dans le monde. Selon les estimations, en 2017, 37 millions de personnes vivaient avec le VIH dont environ 2 millions nouvellement infectées. Le taux de mortalité a été réduit de plus de 51 % depuis le pic de 2004.

1.1.1. Définir le terme pandémie.

1.1.2. Expliquer l'augmentation de la prévalence malgré la baisse de l'incidence.

1.2. Caractéristiques des VIH

Les VIH sont des virus de la famille des *Retroviridae.* VIH-1 et VIH-2 présentent les mêmes caractéristiques structurales et le même cycle de multiplication.

1.2.1. Donner les caractéristiques structurales du VIH.

1.2.2. Décrire les étapes du cycle de multiplication virale du VIH.

1.3. Diagnostic de l'infection par le VIH

Le diagnostic de l'infection par le VIH repose sur la détection combinée d'anticorps anti-VIH et d'antigènes de capside p24 dans le sérum ou le plasma sanguin. VIDAS® HIV DUO Quick de BioMérieux® est un test de dépistage de l'infection par le VIH par méthode immunoenzymatique, avec une détection finale en fluorescence (ELFA ou Enzyme Linked Fluorescent Assay).

1.3.1. À l'aide d'un schéma légende, représenter l'édifice moléculaire obtenu pour un résultat positif à l'anticorps anti-VIH 1 (représenter uniquement la recherche de l'anticorps anti-VIH1, sur la partie basse du cône).

1.3.2. Indiquer le rôle des étapes de lavage.

Les résultats obtenus pour un patient X sont présentés dans le dossier technique.

1.3.3. Interpréter les résultats du patient X.

2. Des infections opportunistes associées : les pneumopathies bactériennes (7,5 points)

La tuberculose et les pneumopathies récurrentes à *Streptococcus pneumoniae* figurent parmi les infections bactériennes opportunistes les plus fréquemment contractées par les sidéens.

2.1. Examen direct d'un prélèvement trachéo-bronchique

Le principal agent étiologique de la tuberculose a été baptisé « bacille de Koch » suite à sa découverte par Robert Koch en 1882.

2.1.1. La mise en évidence au microscope de cette bactérie nécessite la mise en œuvre d'une coloration de Ziehl-Neelsen. Justifier l'utilisation de cette coloration.

2.1.2. Décrire le champ microscopique d'un frottis d'expectoration montrant des pneumocoques après coloration de Gram.

2.1.3. Proposer un protocole de contrôle qualité de la coloration de Gram.

2.2. Diagnostic des infections à pneumocoques

Le dépistage du pneumocoque à un stade précoce améliore le diagnostic et évite une pneumonie grave, réduisant ainsi la mortalité. Un premier diagnostic rapide est réalisé par un test immunochromatographique à partir des urines du patient X.

2.2.1. Schématiser les molécules présentes sur la zone test de la cassette après dépôt de la solution de contrôle positif.

2.2.2. Émettre une hypothèse concernant la molécule immobilisée sur la zone de contrôle, en précisant sa spécificité.

2.2.3. Analyser les résultats obtenus pour le patient X.

Madame Y présente une forte fièvre, de la toux et une gêne respiratoire. Lors de son hospitalisation, l'aspect des clichés radiographiques évoque une pneumonie. Le médecin prescrit un examen cytobactériologique des sécrétions bronchopulmonaires à partir d'une expectoration.

Dans l'idéal, le délai entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas dépasser deux heures. Le prélèvement doit être conservé à température ambiante pendant ce temps.

2.2.4. Justifier les conditions de délai d'analyse et de conservation des échantillons.

Les sécrétions bronchopulmonaires ont été recueillies après expectoration. Un examen microscopique du crachat est d'abord réalisé afin d'évaluer la qualité du prélèvement.

2.2.5. Expliquer la suite à donner à l'analyse du prélèvement, d'après les résultats de l'examen microscopique de l'expectoration.

2.2.6. Indiquer le milieu et les conditions d'incubation recommandés pour isoler le pneumocoque, et préciser l'aspect des colonies sur ce milieu.

2.3. Antibiothérapie

Un antibiogramme miniaturisé a été réalisé à partir d'une souche de pneumocoques isolée à partir de l'expectoration de Madame Y.

2.3.1. Déterminer sur la copie la concentration minimale inhibitrice en céfotaxime pour la souche de pneumocoque isolée. En déduire la catégorie clinique (sensible, intermédiaire, résistante) à laquelle cette souche appartient.

2.3.2. Interpréter le résultat obtenu dans les cupules témoins.

Les pneumocoques présentent une résistance de bas niveau aux aminosides.

2.3.3. Donner le mode d'action de cette famille d'antibiotiques.

2.3.4. Expliquer succinctement le mécanisme de la résistance naturelle aux aminosides.

2.3.5. Indiquer comment rechercher la résistance de haut niveau sur un antibiogramme standard.

3. La candidose, une infection opportuniste fongique du SIDA (3,5 points)

La candidose œsophagienne est fréquente chez le sujet séropositif lorsque le taux de lymphocytes T4 (CD4+) est inférieur à 200 par mm^3 de sang. L'espèce la plus souvent isolée est *Candida albicans.*

Les fabricants de matériel destiné aux diagnostics in vitro ont développé des dispositifs permettant un diagnostic rapide de cette espèce.

3.1. Identification de *Candida albicans*

À partir d'un prélèvement, le germe peut être isolé et identifié sur un milieu chromogène.

3.1.1. Démontrer l'intérêt de ce type de milieu.

L'isolement d'un prélèvement buccal d'un patient sidéen (patient Z) montre la présence de nombreuses colonies mauve pâle après 48 heures d'incubation à 37 °C.

3.1.2. Interpréter ce résultat et proposer une poursuite d'étude.

3.2. Traitement d'une candidose

Une candidose œsophagienne a été diagnostiquée chez le patient Z. Le fluconazole peut généralement être utilisé pour le traitement.

Le résultat du E-test® effectué sur le fluconazole avec la souche isolée chez le patient Z est donné dans le dossier technique.

3.2.1. Expliquer le principe du E-test®.

3.2.2. Réaliser la lecture du résultat.

4. La toxoplasmose cérébrale chez le sujet séropositif au VIH (4,5 points)

La toxoplasmose est une anthropozoonose cosmopolite provoquée par le parasite *Toxoplasma gondii.* Cette parasitose est normalement asymptomatique chez le sujet sain mais devient grave chez le sujet immunodéprimé.

Chez le patient séropositif pour le VIH et la toxoplasmose, la réactivation du toxoplasme se traduit généralement par une encéphalite toxoplasmique.

4.1. Classifications de la maladie et du parasite impliqué

La toxoplasmose est une anthropozoonose. Justifier cette appellation.

4.2. Cycle parasitaire

4.2.1. Identifier sur la copie les stades parasitaires 1, 2 et 3 représentés sur le cycle de *Toxoplasma gondii.*

4.2.2. Expliciter les voies de transmission du parasite à l'être humain.

4.2.3. Nommer, en justifiant, les hôtes définitif(s) et intermédiaire(s).

4.3. Diagnostic par PCR

Le diagnostic de toxoplasmose de réactivation chez le patient VIH positif est réalisé par la recherche de l'ADN du toxoplasme par amplification génique de type PCR sur sang périphérique et/ou LCR.

Les techniques de diagnostic usuelles de toxoplasmose reposent sur la mise en évidence d'Ig G et/ou d'IgM sur sang périphérique.

4.3.1. Justifier la mise en œuvre d'une technique PCR chez les patients VIH positifs.

Pour le diagnostic de toxoplasmose cérébrale dans le LCR, par PCR, la sensibilité est de 40 à 50%. La spécificité est, par contre, de 96 à 100 %.

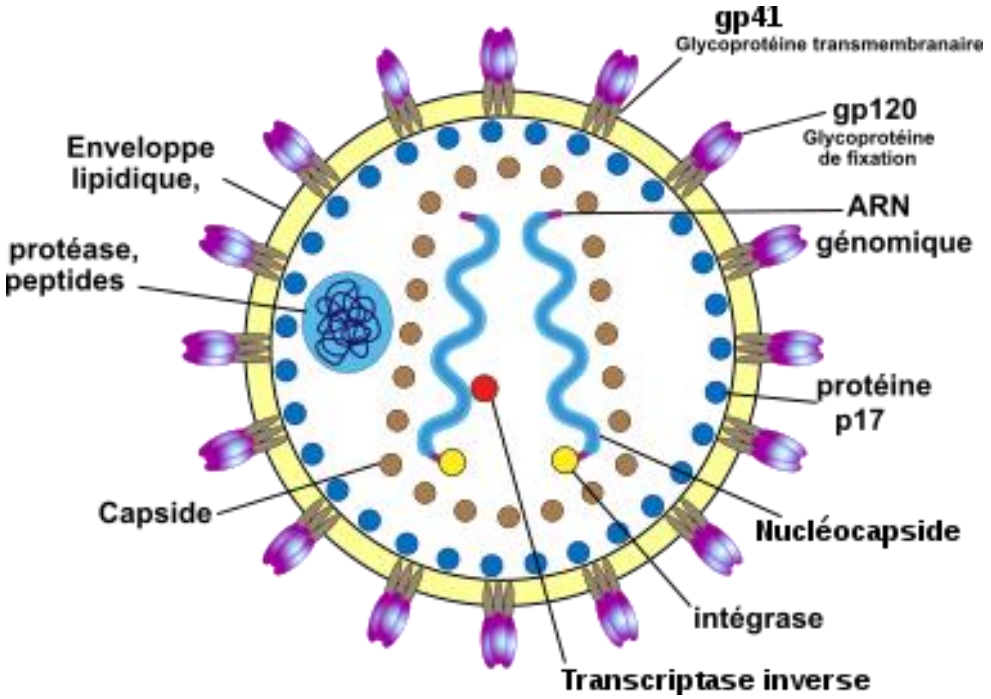
4.3.2. Discuter la fiabilité d'un résultat négatif lors de l'amplification de l'ADN toxoplasmique.

DOSSIER TECHNIQUE

Document 1 :	Structure du VIH
Document 2 :	Cycle de multiplication du VIH
Document 3 :	Extrait de la notice technique du VIDAS® HIV DUO Quick de BioMérieux®
Document 4 :	Schéma de la paroi des mycobactéries
Documents 5 :	Extraits de la notice du test BIOSYNEX® *S. pneumoniae* Photographie du résultat attendu pour le contrôle positif Photographie du résultat obtenu pour le patient X
Documents 6 :	Tableau de décision de mise en culture d'une expectoration Résultats de l'examen microscopique de l'expectoration de la patiente Y
Document 7 :	Extraits de la notice de la galerie ATB® PNEUMO de BioMérieux®
Document 8 :	Extrait du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
Document 9 :	Cibles des principaux antibiotiques
Document 10 :	Extrait de la fiche technique de la gélose Candi*Select*™ REF : 63740
Document 11 :	Résultat du E-test® réalisé avec le fluconazole pour le patient Z
Document 12 :	Cycle de *Toxoplasma gondii*

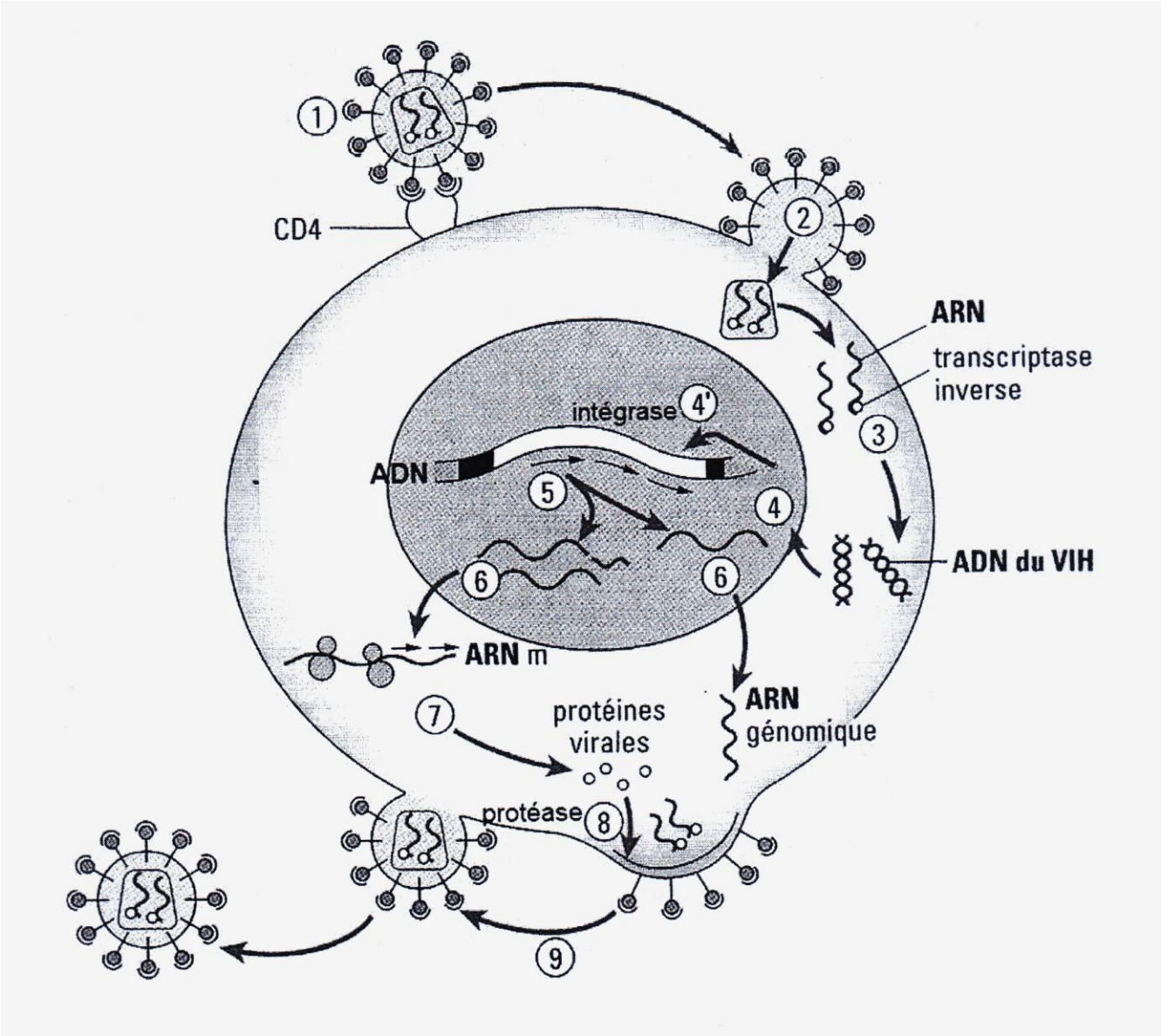
Document 1 : structure du VIH

https://fr.wikipedia.org/



Document 2 : cycle de multiplication du VIH

Belin édition



Document 3 : Extrait de la notice technique du VIDAS® HIV DUO Quick de BioMérieux®

Le principe du dosage associe deux réactions immunoenzymatiques avec une détection finale en fluorescence (ELFA). Le cône (SPR®) à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Les autres réactifs 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 d'une première incubation, l'échantillon, l'anticorps de lapin anti-p24 biotinylé présents dans la cartouche et les antigènes biotinylés (les mêmes que ceux utilisés pour la sensibilisation) sont aspirés et refoulés dans le cône. Durant cette incubation, le virus est lysé et les antigènes p24 libérés se lient avec les anticorps monoclonaux anti-p24 fixés sur le cône et sont reconnus par les anticorps anti-p24 biotinylés. En même temps, les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 se fixent à la gp160 et/ou aux peptides présents sur la partie basse du cône et sont reconnus par les antigènes biotinylés. Des étapes de lavage éliminent les composants non liés.	Une deuxième incubation avec des antigènes biotinylés présents dans la cartouche (les mêmes que ceux utilisés pour la sensibilisation) n'est réalisée que sur la partie basse du cône. Ces antigènes biotinylés se fixent aux anticorps anti-VIH éventuellement présents sur la partie basse du cône. Le réactif en excès est éliminé par des étapes de lavage. Une troisième incubation est effectuée avec de la streptavidine marquée à la phosphatase alcaline. Dans cette étape, la streptavidine se fixe aux anticorps anti-p24 biotinylés s'ils sont présents dans la partie haute du cône et aux antigènes biotinylés s'ils sont présents dans la partie basse du cône. Le réactif en excès est éliminé par des étapes de lavage. 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 présence de d'anticorps anti-VIH et/ou d'antigènes p24 présents dans l'échantillon. A la fin du test, les résultats sont calculés automatiquement par l'instrument par rapport au standard mémorisé, puis imprimés.

Remarque : la streptavidine possède une affinité naturelle et forte pour la biotine.

L'interprétation en fonction de la valeur du test est la suivante :

Valeur du test	Interprétation
< 0,25	Négatif
≥ 0,25	Positif

Résultat du patient X:

L'automate effectue la mesure de la fluorescence dans la cuvette de lecture et exprime la RFV (Relative Fluorescence Value).

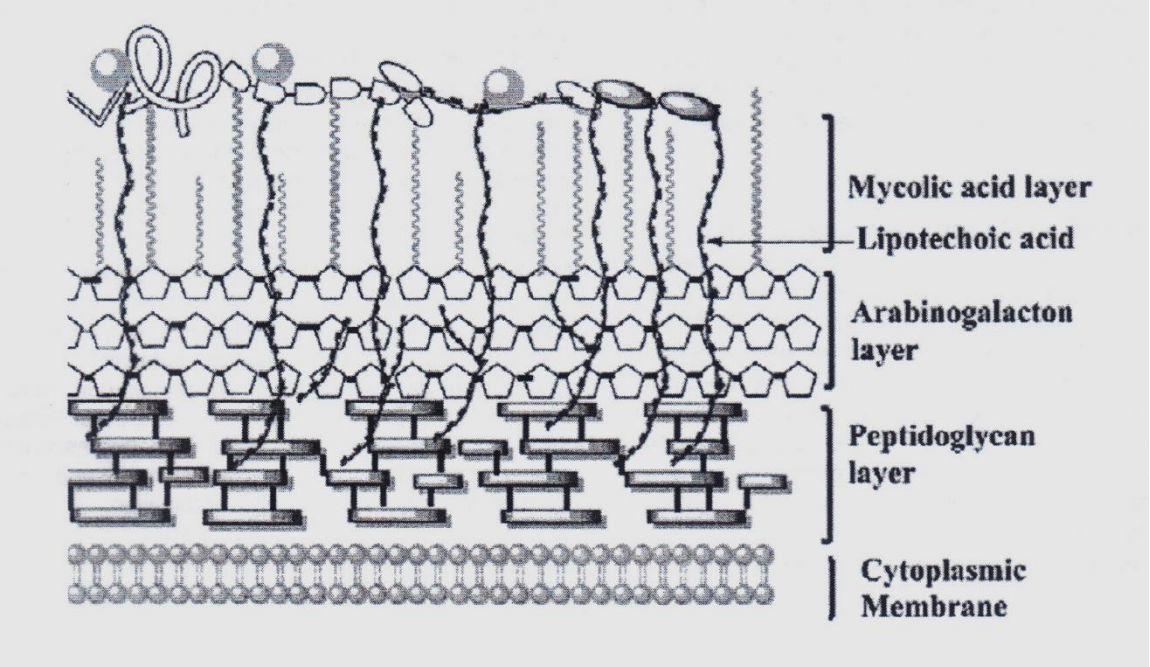
La valeur test est calculée pour chaque échantillon: **Valeur du test = RFV patient / RFV standard**

	Composition	**Valeur du test**
Contrôle positif anticorps	Sérum humain contenant des anticorps anti-VIH	0,50
Contrôle négatif	Sérum humain ne contenant aucun anticorps anti-VIH	0,20
Échantillon patient	Sérum	0,80

Document 4 : Schéma de la paroi des mycobactéries

https://ars.els-cdn.com

Mycobacterial Cell wall structure



Document 5 : Extraits de la notice du test BIOSYNEX® S. pneumoniae

https://www.biosynex.com/

PRINCIPE DU TEST

Le test Biosynex® S. pneumoniae est basé sur une technologie immunochromatographique détectant les Polysaccharides capsulaires (CWPS) dans les urines et les échantillons de LCR.

Une paire d'anticorps monoclonaux anti-CWPS (antigène) est utilisée pour la détection des Polysaccharides Capsulaires (CWPS). L'un des deux est immobilisé sur la membrane de nitrocellulose au niveau de la ligne test : cela correspond à l'anticorps de capture. Un autre est couplé à des particules d'or colloïdal servant de marqueur colorée pour la révélation ultérieure.

Lors de la migration du prélèvement, les antigènes CWPS, si présent dans le prélèvement, forment des complexes antigène-anticorps avec les anticorps couplés. Ces complexes seront capturés par les anticorps de capture au niveau de la ligne test, créant une ligne colorée en pourpre produite par les nanoparticules d'or.

La présence d'une ligne de contrôle interne colorée en pourpre dans la partie supérieure de la membrane indique que le résultat est valide et que la bonne procédure a été suivie.

PROCÉDURE

Transférer 1 goutte d'échantillon d'urine ou de LCR dans le puits de la cassette avec la pipette fournie.

Ajouter 3 gouttes de diluant.

Lire le résultat à 15 minutes. Lecture visuelle ou à l'aide du BIOSYNEX® Reader.

CONTRÔLE QUALITÉ

- Les contrôles procéduraux internes sont inclus dans le test. Une ligne de couleur apparaissant au niveau de la ligne contrôle (C) assure qu'un volume d'échantillon suffisant a été utilisé et que la bonne procédure a été suivie.

- Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôles négatifs et positifs pour vérifier le bon fonctionnement du test, Un contrôle positif qui permet de contrôler le fonctionnement du test est fourni dans ce kit. Les contrôles positifs doivent être testés une fois pour chaque nouveau kit ouvert et à la fréquence requise, selon le cas, par les procédures de contrôle qualité de votre laboratoire.

RÉSULTATS ATTENDUS

Photographie du résultat attendu pour le contrôle positif	Photographie du résultat obtenu pour le patient X
Zone de contrôle (C) **Zone test (T)** **Zone de dépôt de l'échantillon (S)**	

Document 6 : Tableau de décision de mise en culture d'une expectoration

REMIC 5ème édition 2015, tome I, table 3, p.184

(X 100)			
Cellules/champ		Score (Murray et Washington)	Indication de mise en culture (Bartlett)
Epithéliales	Leucocytes		
> 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 de l'examen microscopique de l'expectoration de la patiente Y

Aspect de l'expectoration	Mucopurulent, présence de sang
Coloration de Gram (grossissement ×100)	Nombreux diplocoques Gram-positifs, majoritaires
Coloration de May-Grümwald Giemsa (grossissement ×100)	- 16 cellules épithéliales pharyngées par champ, - 55 leucocytes par champ, - nombreux macrophages alvéolaires, - rares cellules bronchiques

Document 7 : Extraits de la notice de la galerie ATB® PNEUMO de BioMérieux®

PRINCIPE

Les galeries ATB PNEUMO permettent de déterminer la sensibilité des pneumocoques aux antibiotiques en milieu semi-solide dans des conditions très proches de la technique de référence (dilution en gélose). Elles permettent également la détermination de CMI pour trois β-lactamines majeures.

La galerie ATB PNEUMO comporte 16 paires de cupules. La première, sans antibiotique, sert de témoin de culture. Les 15 suivantes contiennent des antibiotiques à une ou plusieurs concentrations pour catégoriser les souches.

La bactérie à tester est mise en suspension puis transférée dans le milieu de culture et inoculée dans la galerie. Après 18-24 heures d'incubation, la lecture de la croissance se fait soit visuellement, soit avec l'automate ATB ou *mini API.* Le résultat obtenu permet de catégoriser la souche Sensible, Intermédiaire ou Résistante ou de fournir une CMI (pénicilline, amoxicilline et céfotaxime).

LECTURE ET INTERPRETATION

Rechercher dans chaque cupule la présence d'un trouble (+) par lecture visuelle ou automatique.

DETERMINATION DE LA CMI

Pour les antibiotiques suivants :

- Pénicilline (PEN)
- Amoxicilline (AMO)
- Céfotaxime (CTX)

La CMI correspond à la plus basse concentration sans culture visible, déterminée selon les concentrations sur la fiche de résultats.

Autres tests :

Pour les antibiotiques testés à deux concentrations :

Aspect des cupules		Résultats		La souche est :
c	C	c	C	
Clair	Clair	-	-	S SENSIBLE
Trouble	Clair	+	-	I INTERMEDIAIRE
Trouble	Trouble	+	+	R RESISTANTE

Pour les antibiotiques testés à une seule concentration :

Aspect des cupules	Résultats	La souche est :
Clair	-	S SENSIBLE
Trouble	+	R RESISTANTE

NOTES :

- L'absence de croissance dans les deux cupules-témoin invalide l'antibiogramme qui doit être recommencé.
- Un résultat c(-) C(+) est un non-sens (N) : répéter le test avec une nouvelle galerie.

Fiche de résultats de l'antibiogramme de la patiente Y

ATB PNEUMO **14 250**

Origine
Souche de pneumocoque isolée de l'expectoration de Madame Y

	c	C	c	C	Interprétation	c C mg/l
PEN	●		+			0.031
AMO		●		+		0.031
PEN	○		-			0.063
AMO		●		+		0.063
PEN	○		-			0.125
AMO		○		-		0.125
PEN	○		-			0.250
AMO		○		-		0.250
PEN	○		-			0.500
AMO		○		-		0.500
PEN	○		-			1
AMO		○		-		1
PEN	○		-			2
AMO		○		-		2
PEN	○		-			4
AMO		○		-		4
CTX	●	○	+	-		0.125 - 1
CTX	●	○	+	-		0.250 - 2
CTX	●	○	+	-		0.500 - 4
ERY	○	○	-	-		1 - 4
TET	○		-			4
RFA		○		-		4
PRI	○		-			2
FOS		○		-		32
TSU	○		-			2/38
VAN		○		-		4

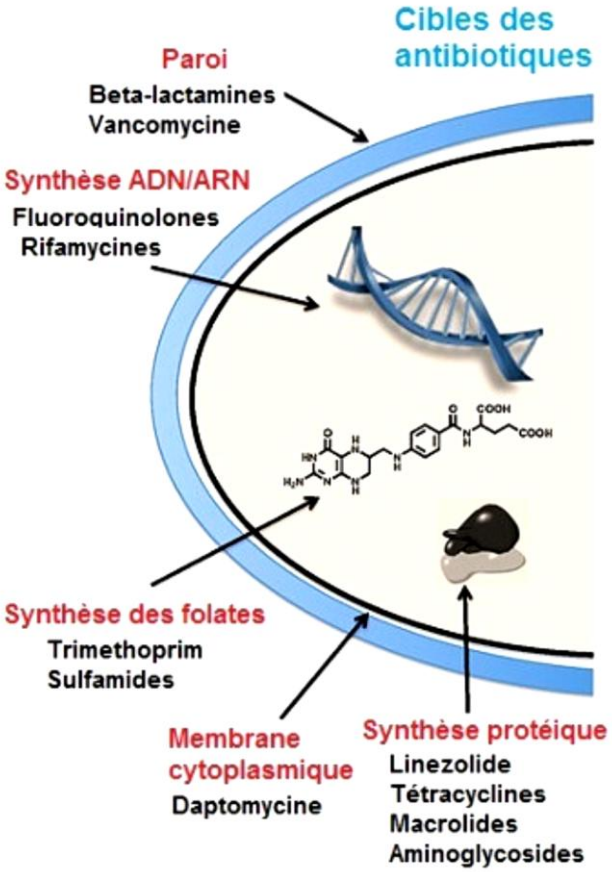
Note : Présence d'un trouble dans les deux cupules-témoins

Document 8 : Extrait du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

Céphalosporines	Concentrations critiques (mg/L) S ≤	R >
Céfépime	1	2
Céfotaxime	0,5	2
Cefpodoxime	0,25	0,5
Ceftaroline	0,25	0,25
Ceftriaxone	0,5	2
Céfuroxime iv	0,5	1
Céfuroxime oral	0,25	0,5

Document 9 : Cibles des principaux antibiotiques

https://www.encyclopedie-environnement.org



Milieu de culture chromogénique sélectif utilisé pour l'isolement des levures, l'identification directe de *Candida albicans,* et l'identification présomptive de *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C.krusei*

7.5. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Lire les boîtes après 24 à 48 heures d'incubation.

Résultats après 24-48 h à 35-37°C	Couleur des colonies	Morphologie typique des colonies	Interprétation
ID directe	Colonies de couleur rose à mauve	Colonies lisses à rugueuses (S-R)	*C. albicans*
ID présomptive	Colonies de couleur bleu-vert intense	Colonies sphériques, lisses (S)	*C. tropicalis*
	Colonies de couleur bleu-vert pâle	Colonies plates et brillantes, lisses (S), présentant le plus souvent un motif de couleur caractéristique : « œil de poisson » (colonies avec un centre plus foncé)	*C. glabrata*
	Colonies de couleur bleu-vert	Colonies larges, aspect sec, contour irrégulier, rugueuses (R)	*C. krusei*
	Blanche ou légèrement colorée	Aucune morphologie typique	Pas d'identification présomptive

Si aucune croissance ou coloration distincte n'est observée en 24 heures, prolonger l'incubation jusqu'à 48 heures. Les résultats du test doivent être interprétés en tenant compte de l'historique du patient, de la source de l'échantillon, de la morphologie, de l'aspect microscopique des colonies et, si nécessaire, des résultats de tout autre test effectué. Pour une identification définitive, réaliser des tests conventionnels complémentaires.

7.6. OBSERVATIONS

D'autres tests d'identification, tels que des tests d'agglutination au latex ou l'analyse des caractéristiques biochimiques, morphologiques et métaboliques, et des tests de sensibilité aux antifongiques peuvent être effectués directement à partir de colonies isolées sur **Candi***Select*™ [**Auxa***Color*™**2** (code 56513) et **FUNGITEST**™ (code 60780)]. Remarque : Les tests **Auxa***Color*™**2** et **FUNGITEST**™ ne sont pas disponibles aux États-Unis.

8. LIMITES DU TEST

a) Une exposition prolongée à la lumière (≥ 6 heures) peut conduire à une diminution de la sensibilité et/ou de la coloration des souches de contrôle de qualité ou d'isolats de patients. Minimiser l'exposition des boîtes **Candi***Select*™ à la lumière (< 6 heures) avant et pendant l'incubation. Une incubation sous CO2 peut conduire à des cultures faussement négatives. **Incuber uniquement en atmosphère ambiante**.

b) Les performances du **Candi***Select*™ ont été optimisées pour une incubation à 35-37 °C de 24-48 heures. Les boîtes peuvent être lues à tout moment durant cette période. Des températures d'incubation inférieures ou supérieures (ex. 33 ou 39°C) et/ou une durée d'incubation plus courte (< 20 heures pour *C. albicans* et < 24 heures pour les autres espèces de *Candida*) peuvent réduire la sensibilité du **Candi***Select*™. La combinaison des deux facteurs (température et durée d'incubation) peut conduire à des variabilités de colorations et de taille des colonies.

c) De rares souches de levures ayant des exigences métaboliques particulières peuvent ne pas se développer sur **Candi***Select*™ (à savoir *C. zeylanoides, C. curvata, C. norvegica, C. sake)*.

d) Une durée d'incubation prolongée jusqu'à 72 heures est recommandée pour la recherche des cryptocoques.

e) Les souches de *C. dubliniensis* (espèce rarement isolée (11,12)) ont une activité hexosaminidasique et présentent des colonies de couleur rose à mauve sur **Candi***Select*™, toutefois la coloration est souvent plus pâle et apparaît plus tardivement que celle du *C. albicans* (à 48 heures d'incubation).

f) Certaines souches de *C. ciferri* et *C. stellatoidea* peuvent présenter des colonies de coloration rose à 48 heures sur **Candi***Select*™, toutefois elles peuvent être facilement distinguées par leur taille de colonies beaucoup plus petites que celles de *C. albicans.*

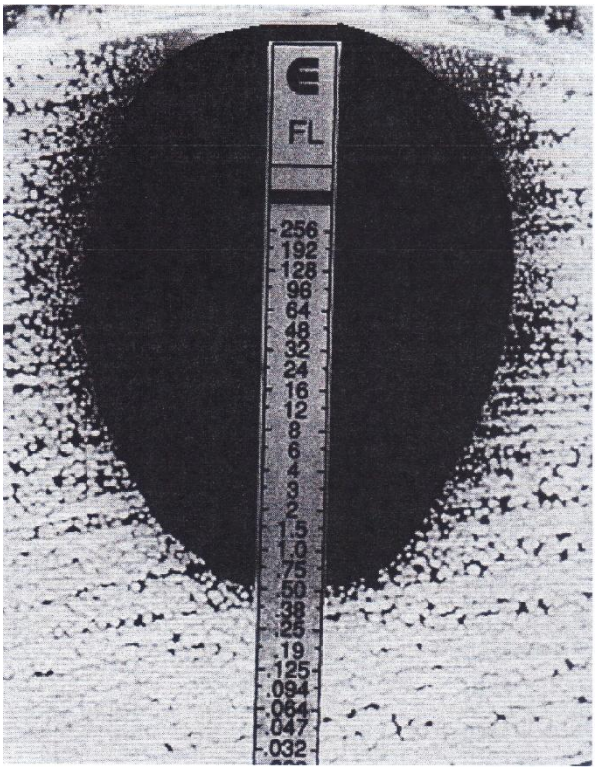
g) De rares souches de *C. albicans* présentent des colonies blanches en 24 heures d'incubation, mais la coloration rose de ces colonies apparaît en 48 heures d'incubation.

h) Certains échantillons peuvent colorer non spécifiquement le milieu **Candi***Select*™ au niveau du dépôt de l'inoculum sur la boîte. L'interprétation de la couleur des colonies doit être effectuée sur des colonies bien isolées et dissociées du point d'ensemencement.

i) Les souches *Candida* ayant une faible activité phosphatasique peuvent présenter des colonies de couleur blanche à bleu-vert pâle après 48 heures d'incubation.

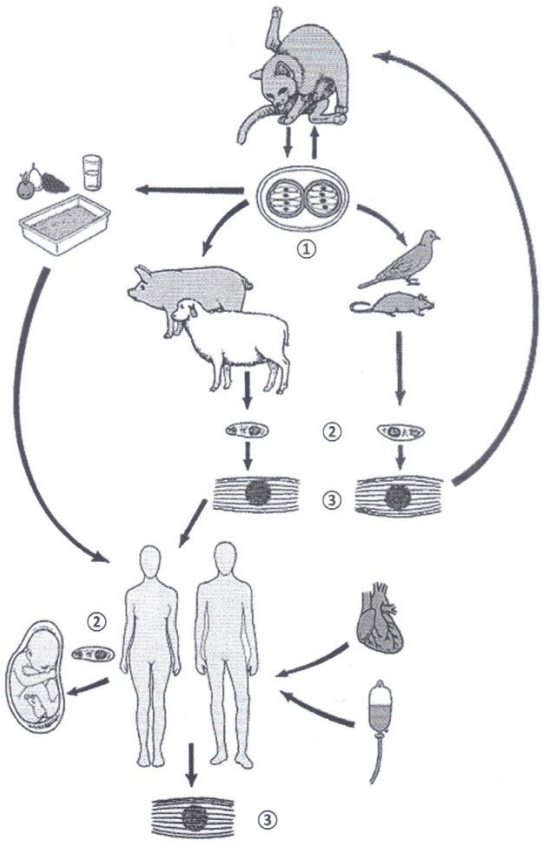
j) Des espèces rares de *Candida* peuvent se développer en formant des colonies ressemblant à celles des espèces *C. tropicalis*, *C. glabrata* ou *C. krusei*.

Document 11 : Résultat du E-test® réalisé avec le fluconazole pour le patient Z



Document 12 : Cycle de *Toxoplasma gondii*

https://www.msdmanuals.com



E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2020

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 4

SUIVI DES ANALYSES BIOLOGIQUES DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC DU LUPUS ÉRYTHÉMATEUX DISSÉMINÉ (LED) ET TRAITEMENT

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune systémique caractérisée par la présence d'auto-anticorps anti-ADN natif.
Dans le cadre de son diagnostic, différentes analyses sont réalisées au laboratoire d'analyses de biologie médicale.

1. Analyse immunologique permettant d'orienter le diagnostic : de la phase pré-analytique à la phase post-analytique (5,5 points)

1.1. Réception et tri de l'échantillon sanguin en phase préanalytique

Après réception et enregistrement de l'échantillon sanguin sur le Système Informatique du Laboratoire (SIL), l'automate de préanalytique COBAS® p512 de chez Roche Diagnostics scanne et photographie les tubes avant de les distribuer dans les différents secteurs.
Le tube sec avec gel séparateur, destiné au secteur immunologie, déclenche une alarme sur le SIL.

1.1.1. Analyser et justifier le déclenchement de l'alarme à l'aide des photos éditées par le SIL

1.1.2. Expliquer la procédure à suivre dans cette situation. Proposer une remédiation au problème rencontré.

Les auto-anticorps anti-ADN natif impliqués dans le LED sont mis en évidence par le processus ImmunoCAP et EliA Well.

1.2. Phase analytique

1.2.1. Justifier la qualification de « maladie auto-immune systémique » pour le LED.

1.2.2. Réaliser un schéma soigneusement légende de l'étape finale de la détection des anticorps anti-ADN natif. Préciser le rôle des lavages.

1.3. Validation technique de la recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well

Afin de valider techniquement la recherche des anticorps anti-ADN natif, des contrôles internes de qualité (CIQ) sont passés chaque jour sur l'automate. Le technicien responsable de l'automate, reporte les mesures obtenues sur le diagramme de Levey-Jennings.

1.3.1. Préciser la nature du CIQ utilisé pour cette validation.

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

2. Analyses complémentaires (9 points)

2.1. Analyses du bilan sanguin

2.1.1. Présenter les équations aux grandeurs et aux unités permettant de calculer la CCMH.

2.1.2. Interpréter l'ensemble du bilan sanguin (document 4) puis conclure.

2.1.3. Justifier la réalisation d'un test direct à l'antiglobuline (test de Coombs direct) afin d'orienter le diagnostic.

2.1.4. Analyser et interpréter les résultats du test et conclure.

2.2. Ponction-biopsie rénale

La présence d'auto-anticorps peut induire une néphropathie lupique.
Dans le cas d'une protéinurie supérieure à 0,5 g/24 h, une ponction-biopsie rénale (PBR) est indiquée et son analyse est réalisée au laboratoire d'anatomocytopathologie.

2.2.1. Expliquer le rôle du formol.

2.2.2. Proposer les précautions à prendre lors de l'utilisation du formol pour chacun des risques identifiés.

2.2.3. Expliquer l'intérêt de réaliser des bains successifs d'éthanol de concentrations croissantes et du passage dans des bains de xylène.

2.2.4. Nommer la coloration topographique trichromique la plus utilisée en anatomocytopathologie. Préciser le rôle de chaque composant.

3. Traitement anticoagulant (5,5 points)

Le LED s'associe parfois au syndrome des anti-phospholipides (SAPL).
La présence d'anticorps anti-phospholipides (ou anticorps circulants (ACC) de type lupique) induit l'activation des cellules endothéliales. Ils semblent également inhiber la fibrinolyse.
L'ensemble de ces anomalies favorise la formation de thromboses.

3.1. Nommer l'anomalie érythrocytaire, visible sur frottis coloré au MGG, en corrélation avec la présence de thromboses. Justifier.

3.2. Indiquer le résultat attendu pour le TCA.

3.3. Nommer le test permettant de mettre en évidence les ACC lupiques.
Expliquer sa réalisation et le résultat attendu dans le contexte pathologique.

Afin de traiter cette hypercoagulabilité, un traitement anticoagulant oral de type antivitamine K (AVK) : Warfarine est prescrit.

La mise en place et le suivi du traitement se fait grâce à l'INR (International Normalized Ratio).

3.4. Nommer les facteurs vitamine-K-dépendants. Expliquer le mode d'action de l'antivitamine K.

3.5. Expliquer le rôle de l'ISI (Indice de Sensibilité Internationale du réactif) dans le calcul de l'INR.

3.6. Calculer l'INR et conclure quant à la surveillance du traitement.

Données :
TQ patient = 30 s
TQ témoin = 15 s
ISI = 2

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Photographies de tubes prise par l'automate de pré-analytique COBAS® p512

Document 2 : Recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia® 250, ThermoSCIENTIFIC

Document 3 : Validation technique de la détection des anticorps anti-ADN natif

Document 4 : Résultats partiels du bilan sanguin de la patiente

Document 5 : Extrait adapté de la fiche technique du ScanGel™COOMBS Anti-IgG, -C3d, BioRad®

Document 6 : Résultats du ScanGel™COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad®

Document 7 : Étapes de la préparation d'une ponction-biopsie rénale en vue de son analyse au laboratoire d'anatomocytopathologie

Document 8 : Frottis sanguin coloré au MGG observable au cours d'un LED

Document 9 : Surveillance des patients traités par un anticoagulant oral de type AVK Warfarine.

DOCUMENT 1

Photographies de tubes prises par l'automate de préanalytique COBAS® p512

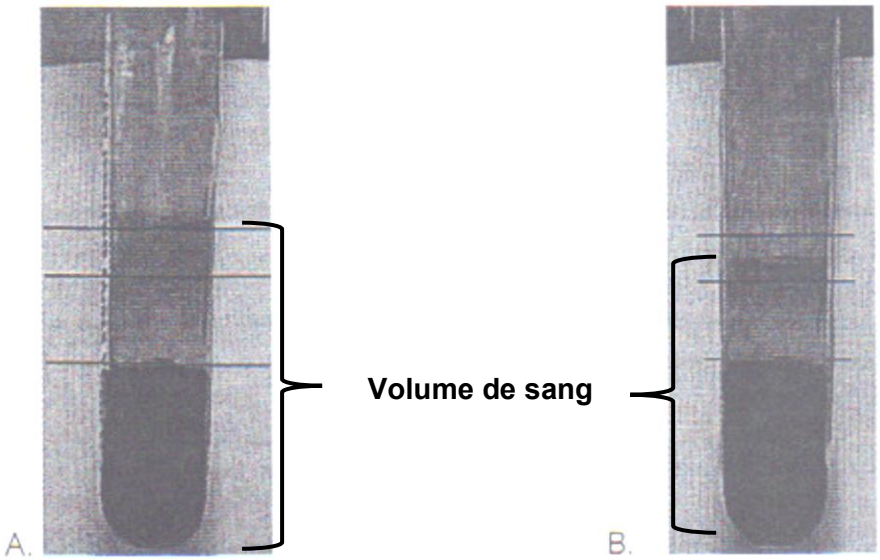
Source : Manuel Opérateur, v 2.0, 04-2016

Le système préanalytique COBAS® p512 est un système automatisé, autonome et assisté par ordinateur. Il trie les tubes centrifugés portant un code barre.

Le COBAS® p512 comprend plusieurs modules :

- d'enregistrement
- d'ouverture de tubes
- de détection du niveau du liquide et de qualité de l'échantillon
- de scellage des échantillons.

Le système pré-analytique COBAS® p512 est conçu comme un accessoire à des fins de diagnostic.



Photographies des tubes éditées par SIL - A. Tube normal, B. Tube patient

DOCUMENT 2

Recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia® 250, ThermoSCIENTIFIC

Extrait adapté du manuel technique

1. Présentation générale

Le Phadia® 250 est un instrument entièrement automatisé qui permet d'effectuer des tests *in vitro* dans les domaines cliniques tels que l'allergie, l'asthme et les affections auto-immunes.

Le Phadia® 250 est un système en chargement continu et permet de réaliser 60 tests par heure. L'opérateur charge les réactifs, les échantillons et les stylos d'ImmunoCAP/EliA Well dans l'instrument qui va réaliser toutes les étapes, du pipetage des échantillons à la lecture.

2. Réactifs ImmunoCAP et EliA Well

Support : les antigènes sont couplés de façon covalente à une matrice cellulosique tridimensionnelle activée au bromure de cyanogène.

Conjugué : couplé à une enzyme, il est capable de se lier de manière spécifique à la molécule d'analyte recherchée.

Substrat : un substrat non fluorescent est utilisé. Au cours de la réaction enzymatique, le substrat est converti en produit fluorescent. La fluorescence est directement proportionnelle à la concentration d'analyte.

3. Déroulement de la réaction

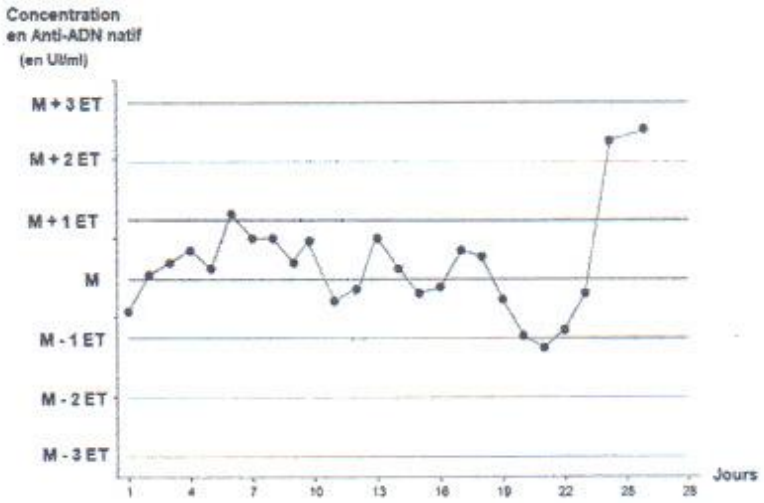
1	Prélèvement de l'échantillon	90 µL
2	Incubation	30 min à 37°C
3	Lavage 1	-1000 µL
4	Prélèvement du conjugué	90 µL
5	Incubation	28 min à 37°C
6	Lavage 2	-1000 µL
7	Prélèvement du substrat	90 µL
8	Incubation	39 min à 37°C
9	Prélèvement de la solution d'arrêt	200 µL
10	Lecture	

DOCUMENT 3

Validation technique de la détection des anticorps anti-ADN natif

Processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia® 250, ThermoSCIENTIFIC

Diagramme de Levey-Jennings

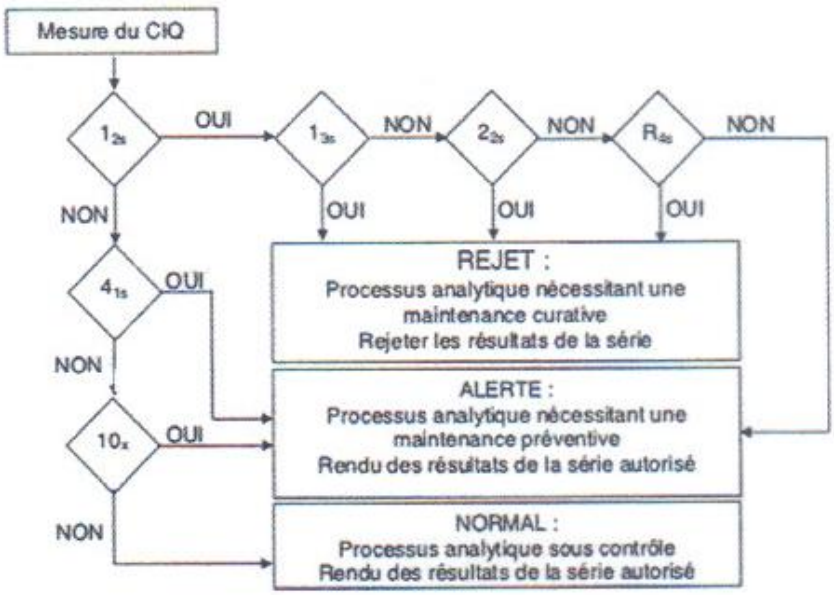


Signification des règles de Westgard

Règles	Signification
1_{2s}	1 mesure est au-delà de +2 ET ou de -2 ET
1_{3s}	1 mesure est au-delà de +3 ET ou de -3 ET
2_{2s}	2 mesures consécutives du même côté de la moyenne au-delà de +2 ET ou de -2 ET
R_{4s}	2 mesures consécutives sont éloignées de plus de 4 ET
4_{1s}	4 mesures consécutives sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET, du même côté de la moyenne
10_x	10 mesures consécutives sont du même côté de la moyenne

ET : Écart-Type

Logigramme décisionnel



DOCUMENT 4

Résultats partiels du bilan sanguin de la patiente

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence	Interprétations
HEMOGRAMME *(SIEMENS ADVIA 2120i cytométrie de flux, cytochimie)*			
HÉMATIES	3,09 T · L^{-1}	3,80 – 5,80	
Hémoglobine	8 g · dL^{-1}	12,0 – 15,5	
Hématocrite	25 %	37,0 – 47,0	
VGM	81 fL	80,0 – 100,0	
TCMH	26 pg	26,0 – 35,0	
CCMH	32 g · dL^{-1}	32,0 – 36,0	
LEUCOCYTES	3,26 G · L^{-1}	4,00 – 10,00	
Poly.neutrophile	0,80 G · L^{-1}	1,80 – 7,50	
Poly.éosinophile	0,42 G · L^{-1}	0,10 – 0,80	
Poly.basophile	0,10 G · L^{-1}	0,00 – 0,20	
Lymphocyte	1,20 G · L^{-1}	2,00 – 4,00	
Monocyte	0,74 G · L^{-1}	0,20 – 0,80	
PLAQUETTES	88 G · L^{-1}	150 - 400	
BIOCHIMIE			
Bilirubine totale (méthode colorimétrique)	20 mg · L^{-1}	< 12	
Bilirubine libre (indirecte)	16 mg · L^{-1}	<10	
Bilirubine conjuguée (direct)	4 mg · L^{-1}	<5	
LDH-1	512 UI · L^{-1}	190 - 430	
Haptoglobuline	0,33 g · L^{-1}	0,50 – 2,50	

DOCUMENT 5

Extrait adapté de la fiche technique du ScanGel™COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad®

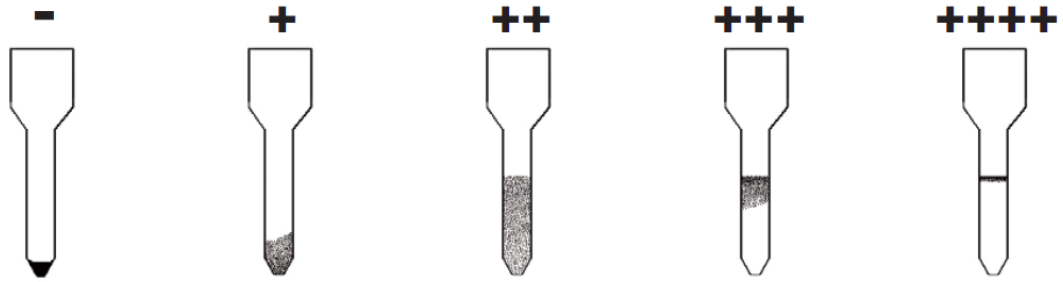
GEL FORMULE AVEC UNE ANTIGLOBULINE POLYSPECIFIQUE (FRACTIONS POLYCLONALE ET MONOCLONALE MURINE)

I - UTILISATION ET PRINCIPE DU TEST

Cette carte est strictement réservée à des usages professionnels et diagnostiques *in vitro.*

Destiné à la recherche (dépistage et identification) des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires, à l'épreuve de compatibilité, au test direct à l'antiglobuline (Coombs direct) et au phénotypage érythrocytaire, le test associe les principes d'agglutination et de filtration sur gel.

La réaction est obtenue et lue après centrifugation de microtubes spécialement conçus, remplis de gel imprégné du réactif antiglobuline. La suspension de globules rouges et, si nécessaire, le sérum ou le plasma sont déposés dans la cupule des microtubes et centrifugés après ou non (suivant le test) une période d'incubation. Les globules rouges non agglutinés sont collectés au fond du microtube, tandis que les agglutinats sont retenus dans la hauteur de gel en fonction de leur taille. Leur position dans le gel détermine l'intensité de la réaction.



La capacité du gel à séparer les globules rouges du sérum ou du plasma supprime la phase de lavage obligatoire des techniques conventionnelles.

II - CARACTÉRISTIQUES DES RÉACTIFS

Les microtubes de la carte ScanGel COOMBS Anti-IgG,-C3d contiennent un gel imprégné du réactif antiglobuline polyspécifique (AHG). La fraction anti-IgG est préparée à partir de sérums de chèvres hyperimmunisées. La fraction anti-complément est préparée à partir d'un mélange de sérums de chèvres hyperimmunisées et d'un anticorps monoclonal murin de spécificité anti-C3d produit à partir du clone 053A714.

Ce réactif contient de l'azide de sodium (< 0,1 %) comme conservateur.

Le code produit et le nombre de cartes par boite sont mentionnés sur l'étiquette de la boîte.

III – TECHNIQUE

Test direct à l'antiglobuline (Coombs direct)

Contrôles

• Témoins positif (globules rouges sensibilisés par un anticorps de nature IgG connu et/ou par la fraction C3d du complément) et négatif (globules rouges non sensibilisés).

Mode opératoire

Le mode opératoire doit être strictement suivi.

Tous les réactifs doivent être remis à température ambiante avant utilisation.

Par centrifugation séparer le sérum ou le plasma et les globules rouges de l'échantillon.

a) Préparation de la suspension des globules rouges

Pour chaque échantillon :

• Distribuer 1 ml de ScanLiss dans un tube à usage unique, identifié.
• Ajouter 10 µl du culot globulaire de l'échantillon.
• Mélanger.
• La suspension de globules rouges est prête à être utilisée.

b) Technique

1. Identifier chaque microtube par le nom ou le numéro d'échantillon correspondant.

Retirer la totalité de la languette aluminium des cartes.

Remettre en suspension les globules rouges.

2. Déposer 50 µl de chaque suspension de globules rouges à tester dans la cupule des microtubes appropriés.
3. Centrifuger **immédiatement** 10 minutes dans la ScanGel Centrifuge. En aucun cas le délai entre le dépôt de la suspension de globules rouges et le début de la centrifugation ne doit dépasser 10 minutes.
4. Lire les réactions.

IV - RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION

• La présence d'agglutinats (en surface ou dispersés dans le gel) ou d'une hémolyse dans un microtube correspond à un résultat positif.
• Un culot de globules rouges collectés au fond du microtube et l'absence d'hémolyse correspond à un résultat négatif.
• **Les résultats sont valides uniquement si les contrôles positif et négatif donnent les résultats attendus.**

Un résultat négatif indique l'absence d'IgG et de complément sur les globules rouges testés.
Un résultat positif indique la présence d'IgG, de complément ou des deux sur les globules rouges testés.

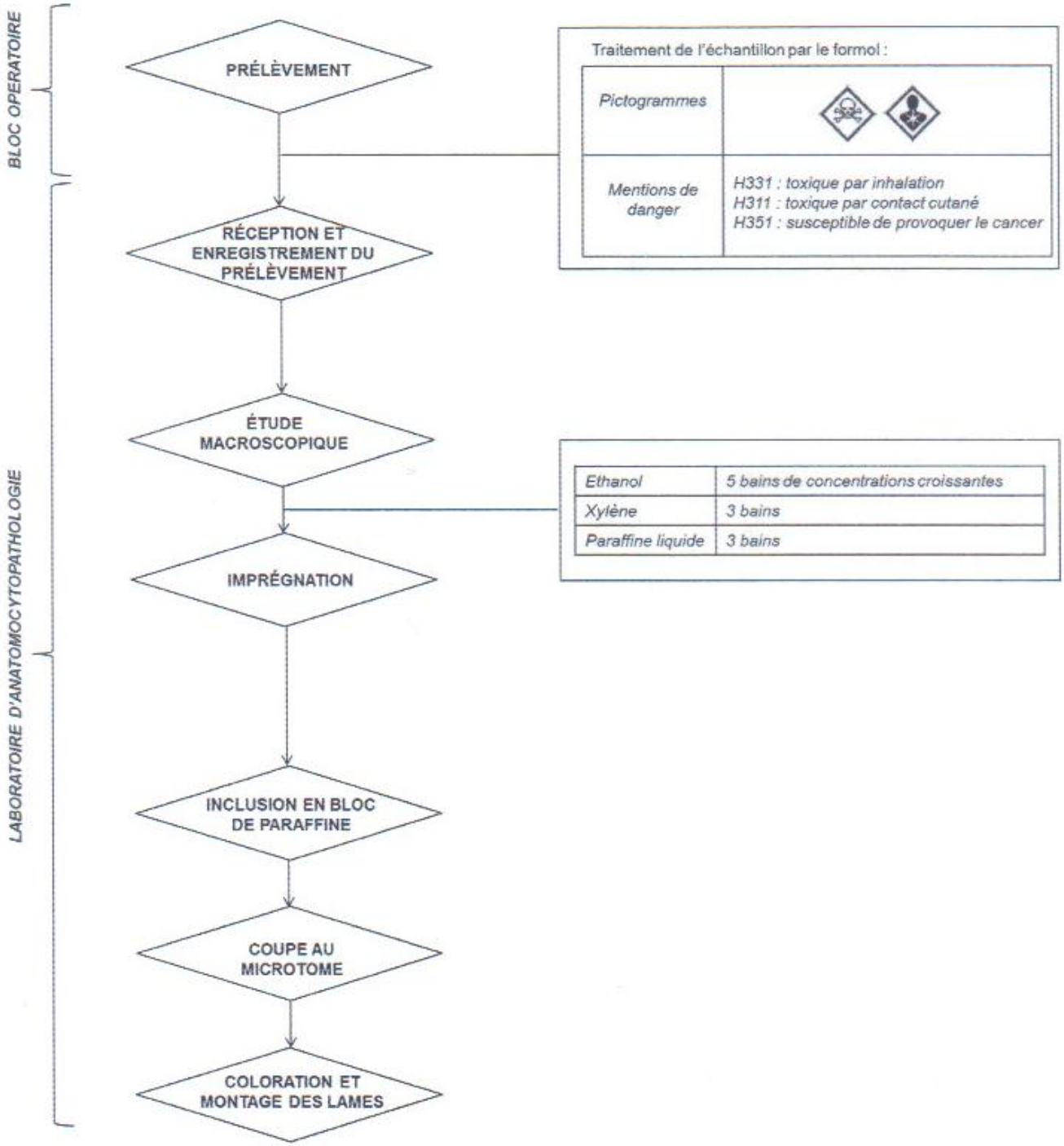
DOCUMENT 6

Résultats du ScanGel™COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad®

IgG C3d ctl- ctl+

DOCUMENT 7

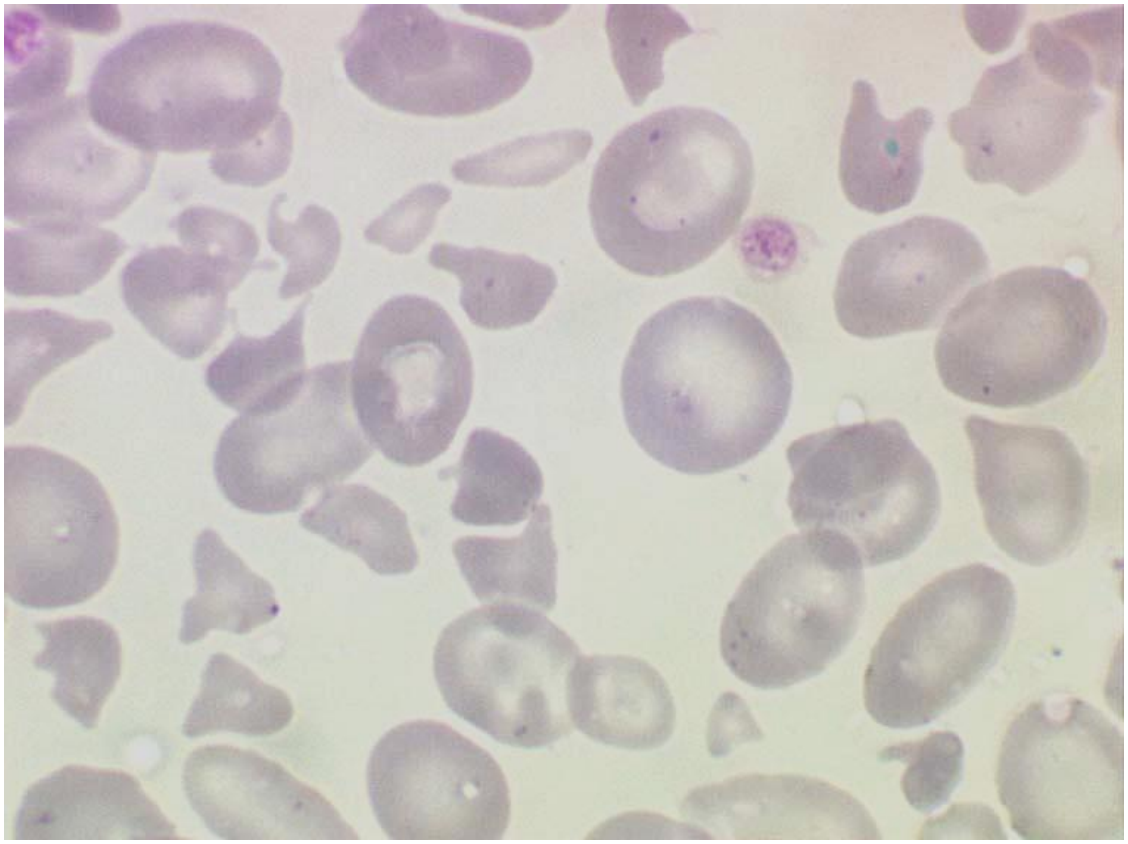
Étapes de la préparation d'une ponction-biopsie rénale en vue de son analyse au laboratoire d'anatomocytopathologie



DOCUMENT 8

Frottis sanguin coloré au MGG observable au cours d'un LED

http://www.cytologie-sanguine.com



DOCUMENT 9

Surveillance des patients traités par un anticoagulant oral de type AVK Warfarine.

- Calcul de l'INR

$$INR = \left(\frac{TQ\ patient}{TQ\ témoin}\right)^{ISI}$$

TQ : Temps de Quick

- Ajustement posologique de la Warfarine

http://www.thromboclic.fr

INR cible 2,5	
INR < 1,5	Augmenté la dose hebdomadaire de 15%. Contrôle INR à J7. Discuter la mise en route d'un traitement héparinique.
1,5 ≦ INR < 2	Ne rien changer ou augmenter le dose hebdomadaire de 10%. Contrôle INR à J7.
2 ≦ INR ≦ 3	Ne rien changer.
INR < 4	Ne rien changer ou diminuer le dose hebdomadaire de 10%. Contrôle INR à J7.
4 ≦ INR < 6	Saut d'une prise. Suivi INR quotidien. Reprise AVK quand INR est dans la cible thérapeutique. Diminuer la dose hebdomadaire de 15 à 20%. Monitorage de l'INR.
6 ≦ INR < 10	Arrêt AVK. 2 mg de vitamine K par voie orale. Suivi INR quotidien. Reprise AVK quand INR est dans la cible thérapeutique. Diminuer la dose hebdomadaire de 15 à 20%. Monitorage de l'INR.
INR ≧ 10	Arrêt AVK. 5 mg de vitamine K par voie orale. Monitorage de l'INR.

SESSION 2021

E2 Mathématiques 2021

Durée : 2 heures Coefficient 1

Matériel autorisé :
L'usage de la calculatrice, avec mode examen actif est autorisé.

L'usage de calculatrice sans mémoire « type collège » est autorisé.

Exercice 1 : (10 points)

Une usine agroalimentaire produit de la viande de bœuf hachée. On souhaite évaluer la durée de conservation de la viande de bœuf une fois hachée et conservée dans une chambre froide réglée à 0 °C.

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

PARTIE A :

Voici le relevé du nombre de germes putréfiants par centimètre carré (cm^2) tous les cinq jours à la surface d'un échantillon de viande de bœuf hachée conservée dans la chambre froide :

Nombre de jours de conservation t_i	**0**	**5**	**10**	**15**	**20**
Nombre N_i de germes putréfiants par cm^2	1000	4000	199000	5 960 000	48 600 000

1) On effectue un changement de variable logarithmique : $z_i = \ln(N_i)$
Compléter le tableau donné en **annexe 1.** On arrondira les valeurs au dixième.

2) À l'aide de la calculatrice, déterminer une équation de la droite d'ajustement du nuage de points $M_i(t_i ; z_i)$ par la méthode des moindres carrés sous la forme $z = at + b$. Les réels a et b seront arrondis au centième.

3) Sur le graphique donné en **annexe 2 :**
   a) Placer les points $M_i(t_i ; z_i)$.
   b) Tracer la droite D d'équation $z = 0{,}6t + 6{,}4$.

4) On considère que la droite D est une droite d'ajustement du nuage de points $M_i(t_i ; z_i)$ et que ce modèle reste valable jusqu'au 30e jour de conservation dans la chambre froide. Donner une estimation du nombre de germes putréfiants par cm^2 sur l'échantillon de viande hachée si celui-ci était stocké et conservé pendant 25 jours dans la chambre froide. Arrondir au million.

PARTIE B :

Soit f la fonction définie sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$ par $f(t) = 600\ e^{0,6t}$.
On admet que la fonction f modélise le nombre de germes par cm^2 sur la surface de la viande hachée conservée en chambre froide. Plus précisément, $f(t)$ est le nombre de germes par cm^2 sur la viande hachée après t jours de conservation dans la chambre froide à 0 °C.

1) Déterminer la limite de la fonction f en $+\infty$ et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.
2) On note f' la fonction dérivée de la fonction f. Calculer $f'(t)$ pour tout réel t appartenant à l'intervalle $[0 ; +\infty[$.

3) Déterminer le sens de variation de la fonction f sur l'intervalle $[0; +\infty[$ et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.

On définit le réel m par $m=\frac{1}{10-5}\int_5^{10} f(t)dt$.

a) Sans la calculer, interpréter la valeur du réel m dans le contexte de l'exercice.
b) Déterminer une primitive de la fonction f sur l'intervalle $[0; +\infty[$.
c) En déduire que $m = 200\ e^6 - 200\ e^3$.

6) On admet que la viande hachée peut être commercialisée si, lorsqu'elle quitte l'usine, la concentration de germes putréfiants à sa surface est strictement inférieure à 3 000 germes par cm^2.
   a) Résoudre l'inéquation $f(t) < 3\ 000$ sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.
   b) En déduire si l'usine peut conserver la viande de bœuf hachée produite en chambre froide plus de deux jours avant de la commercialiser.

7) La viande hachée pourra ensuite être vendue à des particuliers tant que le nombre de germes par cm^2 ne dépasse pas 27 000. On appelle durée limite de consommation le nombre maximal de jours pendant lequel cette viande hachée peut être vendue à des particuliers.
   a) En précisant la démarche employée, donner la valeur numérique affichée par l'algorithme ci-dessous :

```
J←0
N←600
Tant Que N≤ 27 000
        J←J+1
        N←600×e^(0,6×J)
Fin Tant Que
Afficher J
```

   b) Interpréter cette valeur dans le contexte de l'exercice.

Exercice 2 : (10 points)

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

Pour améliorer l'hygiène de baignade dans un spa, il est possible de traiter l'eau aux ultra-violets (UV). La lampe UV (Figure 1), placée dans une chambre de désinfection, diffuse des rayons ultra-violets en continu. En passant devant cette lampe, dans le système de filtration, l'eau est désinfectée et débarrassée des micro-organismes.

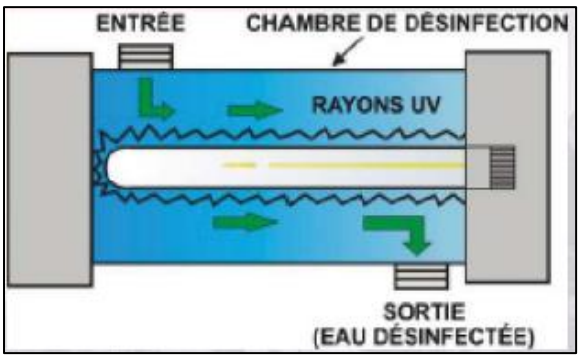


Figure 1. Schéma d'une chambre de désinfection équipée d'une lampe UV

PARTIE A

Les résultats seront donnés à 10^{-3} près.

Une étude effectuée sur l'ensemble des spas installés par un fabricant indique que :

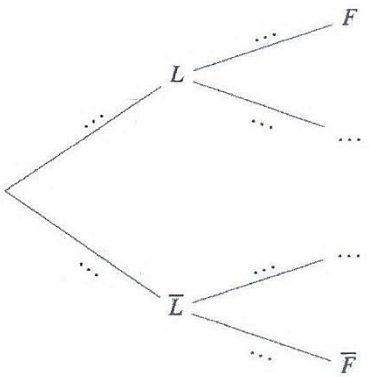
- 40 % des spas sont équipés de lampe UV et, parmi eux, 2 % présentent un problème de filtration ;
- Parmi les spas non-équipes de lampe UV, 15 % présentent un problème de filtration.

On choisit un spa au hasard parmi ceux installés par le fabricant.

On note :

- L l'événement « le spa est équipé d'une lampe UV » ;
- F l'événement « le spa présente un problème de filtration » ;
- $\overline{L}$ et $\overline{F}$ les événements contraires respectifs des événements L *et* F.

1) Recopier sur la copie l'arbre pondéré ci-dessous et compléter les pointillés.



2) Montrer que la probabilité de l'évènement F est égale à 0,098.

3) Le spa choisi au hasard présente un problème de filtration. Calculer la probabilité que ce spa ne possède pas de lampe UV.

4) Lors d'une opération de maintenance sur un parc de 78 spas installés par le fabricant, un technicien comptabilise 12 spas présentant un problème de filtration.

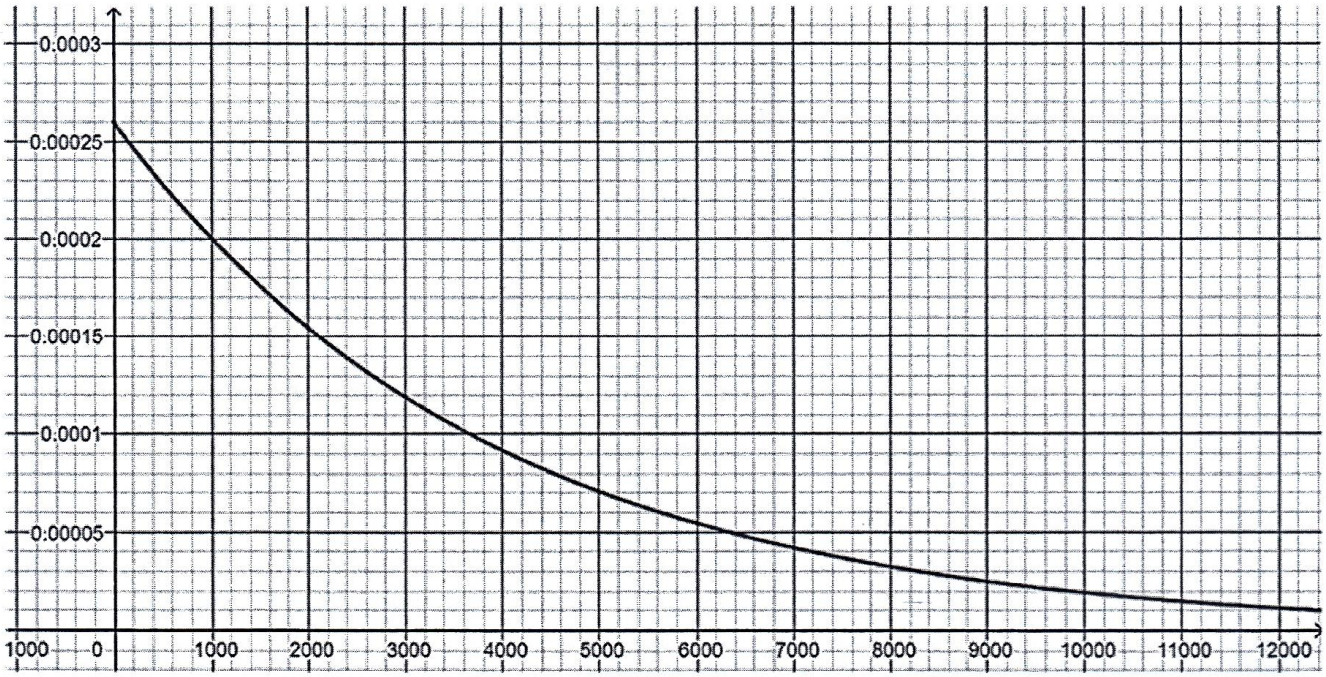
   a) Donner une estimation ponctuelle f de la proportion inconnue p des spas installés par ce fabricant qui présentent un problème de filtration.
   b) Déterminer par un intervalle de confiance au seuil de 95 % cette proportion p.

PARTIE B

On s'intéresse désormais à la durée de vie des lampes UV. Celle-ci, exprimée en heures, est une variable aléatoire X qui suit une loi exponentielle de paramètre λ où λ est un réel strictement positif. On rappelle que la fonction de densité f d'une telle variable aléatoire est donnée pour tout réel $t \geq 0$ par :

$$f(t) = \lambda e^{-\lambda t}$$

La courbe ci-dessous est une représentation graphique de la fonction de densité f.



1) A l'aide du graphique, justifier que $\lambda = 0{,}00026$.

2) On considère la proposition suivante : « en moyenne, une lampe UV tombe en panne au bout de 1 000 heures ». Cette proposition est-elle vraie ? Justifier.

3) Montrer que la probabilité qu'une lampe n'ait pas eu de panne au cours des 500 premières heures est égal à $e^{-0{,}13}$.

PARTIE C

Lors de l'utilisation des lampes UV, on constate que la probabilité que la durée d'utilisation d'une lampe UV prise au hasard dépasse 1000 heures est $p = 0{,}77$.

On prélève au hasard un lot de 50 lampes dans la production, jugée suffisamment importante pour assimiler ce choix à un tirage avec remise. On appelle Y la variable aléatoire qui, à un échantillon de 50 lampes UV de la production, associe le nombre de lampes UV dont la durée d'utilisation dépasse 1000 heures.

1) Justifier que la variable aléatoire Y suit une loi binomiale dont on déterminera les paramètres.

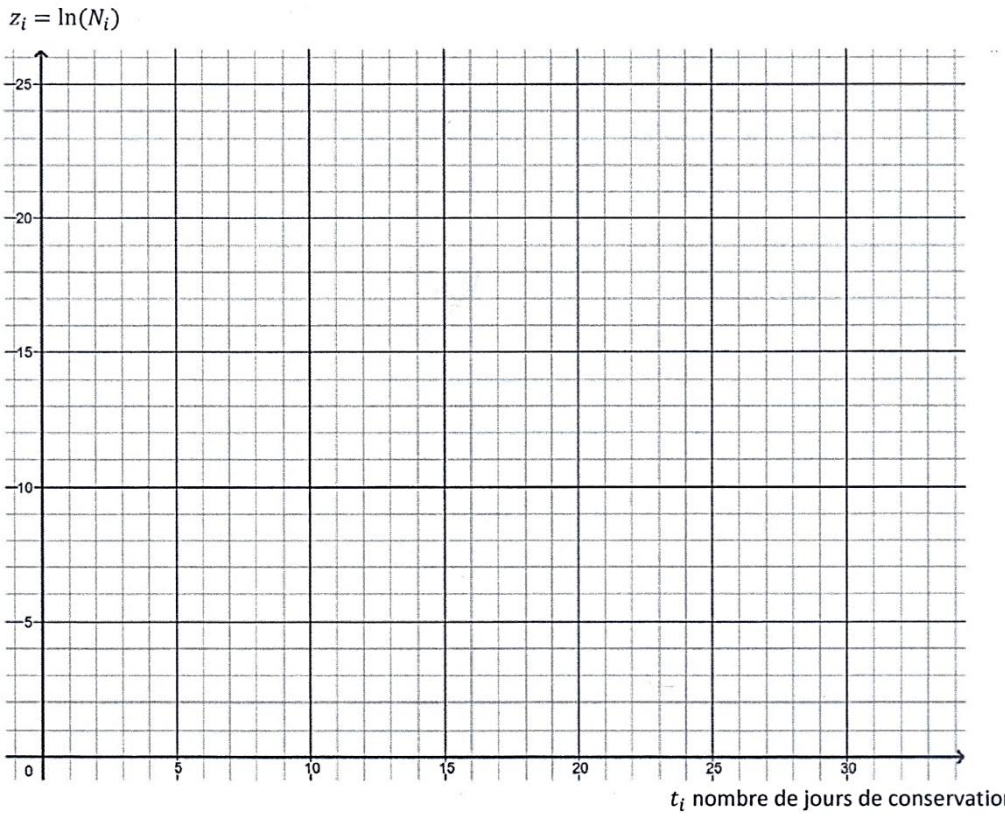
2) Déterminer l'arrondi à 10^{-3} de la probabilité $P(Y \geq 42)$ et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.

3) Calculer l'espérance de la variable aléatoire Y et interpréter ce résultat dans le contexte de l'exercice.

ANNEXE 1 : Exercice 1 - Partie A - Question 1

Nombre de jours de conservation ti	**0**	**5**	**10**	15	20
Nombre N_i de germes putréfiants par cm^2	1000	4000	199000	5 960 000	48 600 000
$z_i = \ln(N_i)$					

ANNEXE 2 : Exercice 1 - Partie A - Question 3



E3 Sciences physiques et chimiques 2021

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :
L'usage de calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
L'usage de calculatrice sans mémoire, « type collège » est autorisé.

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

La carie se caractérise par la destruction irréversible de l'émail dentaire, très souvent liée à une consommation excessive de sucres, dits sucres fermentescibles. Ce sujet s'articule autour des caries dentaires et se divise en trois exercices indépendants.

Exercice I : Mécanisme simplifié de la formation des caries (7,5 points)

Dans cet exercice, on modélise la salive par une solution aqueuse contenant un système tampon composé d'ions hydrogénocarbonate HCO_3^- et de dioxyde de carbone dissous CO_2, H_2O. Elle possède un *pH* à peu près égal à 7,2. On modélise l'émail dentaire par des cristaux d'hydroxyapatite de formule $Ca_5(PO_4)_3OH$.

On modélise la formation des caries par deux grandes étapes :

1) Les bactéries présentes dans la salive (lactobacilles, *Streptococcus mutans…*) produisent des acides en présence de sucres fermentescibles (glucose, saccharose, fructose, etc.) issus de l'alimentation. Bactéries et sucres forment un enduit collant et incolore sur les dents, la plaque dentaire. Celle-ci peut se calcifier et se transformer en tartre si elle n'est pas éliminée, elle est aussi la cause principale des caries.

2) Les acides produits et présents dans la plaque dentaire vont agir et détruire l'émail dentaire ; c'est l'acidogenèse, modélisée par la réaction d'équation suivante :

$$Ca_5(PO_4)3OH_{(s)} + 4\,H_3O^+_{(aq.)} = 5\,Ca^{2+}_{(aq.)} + 3\,HPO_4^{2-}{}_{(aq.)} + 5\,H_2O_{(l)} \quad (1)$$

La valeur du *pH* de la plaque dentaire baisse très rapidement après ingestion de sucres, la destruction de l'hydroxyapatite (phase de déminéralisation) est favorisée lorsque la valeur du *pH* est inférieure à 5,10. *À contrario* la réaction inverse de formation de hydroxyapatite (phase de reminéralisation) est favorisée pour un *pH* supérieur à 5,35. La courbe ci-dessous appelée courbe de Stephan (figure 1), modélise l'évolution du pH de la plaque dentaire en fonction du temps après ingestion d'une boisson à base de glucose, contenant 10 % en masse de glucose.

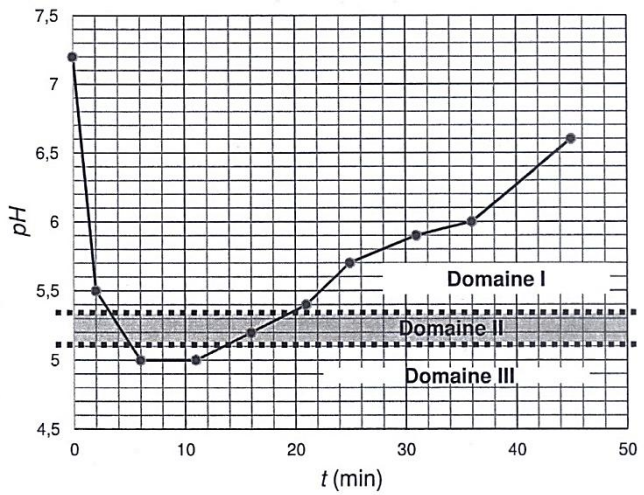


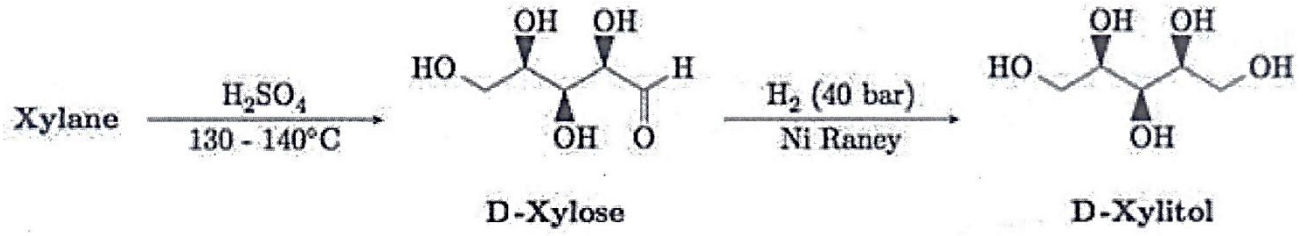
Figure 1 : courbe de Stephan

Q1. Identifier, sur la courbe de Stephan dans quel domaine (I, II ou III) se trouve les zones de déminéralisation et de reminéralisation.

Q2. En utilisant la courbe de Stephan, estimer la durée au cours de laquelle une personne ayant absorbé une boisson à base de glucose risque une attaque acide de son émail dentaire.

Lorsqu'il n'est pas possible de se brosser les dents, on peut utiliser des chewing-gums spécifiques contenant du xylitol. Le xylitol offre une saveur sucrée avec un apport calorique faible et il possède un caractère inhibiteur vis-à-vis du développement des caries.

Le D-xylitol est obtenu à partir de xylane, issu du bois. Les chaînes de xylane sont constituées, en première approximation, d'une succession de molécules de xylose reliées entre elles. On casse les chaînes de xylane en hydrolysant le bois à l'aide d'acide sulfurique à une température comprise entre 130 et 140 °C. La solution obtenue, riche en D-xylose, subit une hydrogénation catalytique sous une pression en dihydrogène $H_{2(g)}$ égale à 40 bar et en présence d'un catalyseur, le nickel de Raney, qui permet d'obtenir le D-xylitol.



Q3. Préciser les groupes caractéristiques et nommer les fonctions chimiques présentes sur le D-xylose et le D-xylitol, dont les formules topologiques sont représentées ci-dessus.

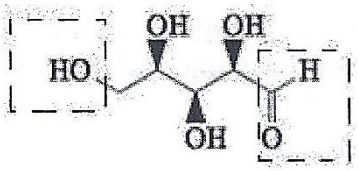
Q4. L'hydrogénation catalytique du D-xylose correspond-elle à une oxydation ou à une réduction du D-xylose? Justifier en utilisant le formalisme des demi-équations électroniques.

Q5.1 Identifier le (ou les) carbone(s) asymétrique(s) dans le D-xylitol et donner sa (ou leurs) configuration(s) absolue(s).

Q5.2 Le D-xylitol est-elle une molécule chirale ? Justifier la réponse.

Q6. Donner la représentation de Fischer du D-xylose.

Q7. Le passage de la forme ouverte à la forme cyclique du D-xylose résulte de la réaction entre les deux groupes entourés ci-dessous. Donner le nom de cette réaction ainsi que la formule du produit formé.



Q8. La consommation de chewing-gums à base de xylitol provoque une augmentation du flux salivaire, même en présence de sucres fermentescibles. Expliquer en quoi cela contribue à la lutte contre les caries.

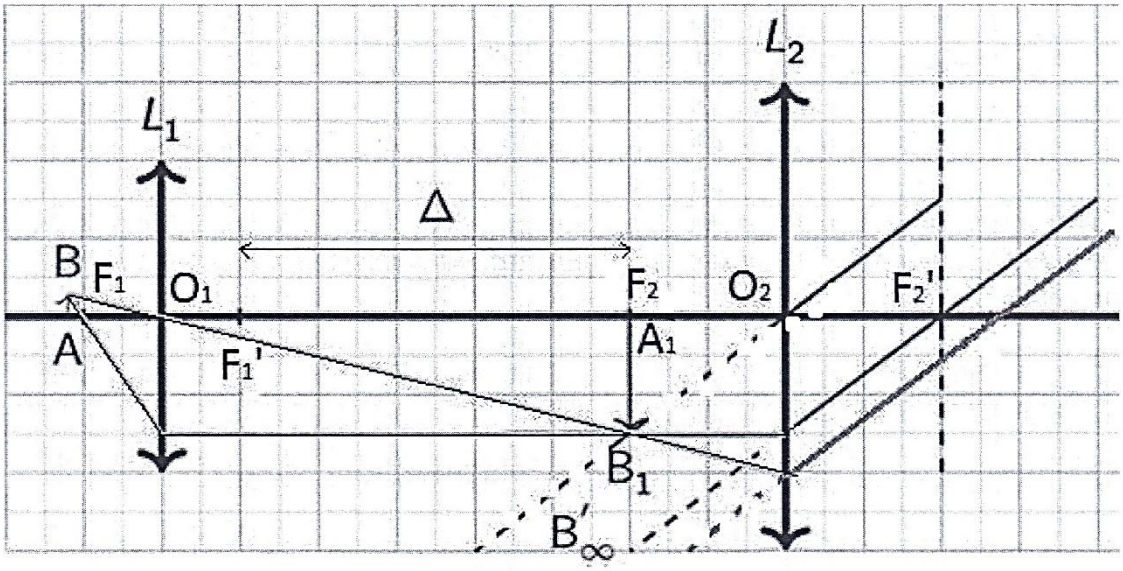
Exercice II : Observation de *Streptococcus mutans* (7,5 points)

Les *Streptococcus mutans* sont des bactéries présentes dans la salive. De formes sphériques et de diamètre compris entre 0,50 et 0,75 µm, elles contribuent à l'apparition de caries. En présence de sucres fermentescibles, le saccharose notamment, ces bactéries forment de longues chaînes insolubles appelées glucans qui assurent l'adhérence des bactéries sur les muqueuses et les dents : c'est le début de la formation de la plaque dentaire.

On s'intéresse à l'observation de *Streptococcus mutans* à l'aide d'un microscope modélisé par deux lentilles minces convergentes centrées sur le même axe optique : un objectif, noté L_1, assimilé à une lentille mince convergente, de centre optique O_1 et de distance focale f'_1 = + 0,40 cm ; un oculaire, noté L_2, assimilé à une lentille mince convergente, de centre optique O_2 et de distance focale f'_2 = + 2,00 cm. L'intervalle optique de cet instrument est $\Delta = \overline{F'_1F_2}$ = 16,00 cm. Le microscope est réglé de telle manière que l'observateur n'ait pas besoin d'accommoder. L'objet d'étude *(Streptococcus mutans)* sera représenté par un objet AB plan placée perpendiculairement pour lequel le point A se trouve sur l'axe optique.

Données :

- Schéma simplifié (sans souci d'échelle) du principe d'un microscope dans le cas d'une observation d'un objet $\overline{AB}$ sans accommodation :



- Formule de conjugaison pour les lentilles minces :

$$\frac{1}{\overline{OA'}} - \frac{1}{\overline{OA}} = \frac{1}{f'}$$

où O est le centre optique de la lentille utilisée, A désigne le point objet et A' son image donnée par la lentille de distance focale f'. A et A' sont deux points situés sur l'axe optique.

Grossissement commercial G_c d'un microscope : $G_c = |\gamma_1| \times G_{oc}$ où la notation G_{oc} correspond au grossissement de l'oculaire L_2 et γ_1 le grandissement de l'objectif L_1.

Q9. Expliquer, sans calcul, pourquoi une observation de l'objet AB sans accommodation impose nécessairement la formation d'une image intermédiaire A_1B_1 dans le plan focal objet de l'oculaire.

Q10. Calculer la distance algébrique $\overline{0_1A}$ entre l'objet AB et l'objectif L_1 pour obtenir une observation sans accommodation.

Q11. Définir le grandissement à travers l'objectif L_1 et le calculer dans le cas de l'objet AB vu sans accommodation.

On peut lire au niveau de l'oculaire la valeur gravée « 10 X ».

Q12.1. À quelle grandeur correspond cette valeur ?

Q12.2. Calculer alors la valeur du grossissement commercial G_c de l'ensemble du microscope.

Le pouvoir de résolution (ou pouvoir séparateur), qualité essentielle d'un instrument d'optique, représente sa capacité à distinguer séparément deux points objets A et B très voisins. Le pouvoir de résolution d'un microscope est donné par la relation :

$$AB_{lim} = \frac{0{,}61\lambda}{n.\sin u}$$

où λ = 650 nm représente la longueur d'onde de la lumière utilisée et $n.\sin u$ = 0,65 est l'ouverture numérique de l'objectif L_1.

Q13. Est-il possible d'observer des *Streptococcus mutans* avec ce microscope ? Justifier et proposer un autre moyen à la disposition de l'expérimentateur pour l'observation de ces bactéries.

Exercice III : Le fluor, un moyen de lutte efficace contre les caries (5 points)

L'usage des ions fluorure F^- joue un rôle déterminant dans la prévention des caries et constitue l'un des principes actifs présents dans les dentifrices. Par sa présence, il participe au renforcement de l'émail dentaire. Néanmoins une consommation élevée de fluor peut abimer les tissus dentaires, ce qui oblige à contrôler de manière efficace les quantités de fluor engagées dans les dentifrices d'autant plus que d'autres sources de fluor sont disponibles : eaux minérales, aliments, etc.

On s'intéresse ici à la conformité de la teneur en ions fluorure présents dans un lot de dentifrices dont la **teneur attendue en ions fluorure est de 145 mg pour 100 g de dentifrice.**

Données :

Masse molaire atomique du fluor M_F = 19,0 g · mol^{-1}

La détermination de la quantité d'ions fluorure F^- peut s'effectuer en utilisant un montage potentiométrique constitué d'une électrode spécifique aux ions fluorure F^- accompagnée d'une électrode dite de référence dont le potentiel E_{ref} reste constant. On note ΔE la différence de potentiel mesurée entre les deux électrodes.

Protocole suivi pour la réalisation des mesures de ΔE à partir des solutions étalon :

Une électrode spécifique doit être étalonnée à partir d'au moins 5 solutions étalon toutes préparées à partir d'une solution mère. Pour l'électrode spécifique au fluor la solution mère est une solution de fluorure de sodium notée S de concentration molaire égale à Co = 2,5 x 10^{-}mol · L^{-1}. Pour la préparation de chaque solution étalon, on prélève respectivement un volume *V* (mL) de la solution mère que l'on place dans une fiole jaugée de 100,0 mL et que l'on complète avec de l'eau distillée.

Solutions étalon	S1	S2	S3	S4	S5
Volume *V* de solution S (mL)	1,0	2,0	5,0	10,0	20,0
$[F^-]$ (mol · L^{-1})	$2,5\times10^{-5}$	$5,0\times10^{-5}$	…	$2,5\times10^{-4}$	$5,0\times10^{-4}$

Après avoir rincé les différentes électrodes, puis les avoir essuyées à l'aide de papier Joseph, on fabrique 5 nouvelles solutions en plaçant pour chacune d'elle 10,0 mL de solution étalon et 10,0 mL de solution tampon dans un bêcher. On obtient alors les 5 solutions. La solution 1 a été obtenue avec 10,0 mL de solution étalon S1 et 10,0 mL de solution tampon, la solution 2 a été obtenue avec 10,0 mL de solution étalon S2 et 10,0 mL de solution tampon et ainsi de suite. Dans chacun des béchers, on mesure au bout de 3 minutes, la différence de potentiel *ΔE* à l'aide des deux électrodes : électrode spécifique au fluor et électrode de référence.

solutions	1	2	3	4	5
Volume de chaque solution étalon utilisé	10,0 mL de S_1	10,0 mL de S_2	10,0 mL de S_3	10,0 mL de S_4	10,0 mL de S_5
Volume de solution tampon (mL) utilisé	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
$[F^-]$ (mol · L^{-1})	$1,3.10^{-5}$	$2,5.10^{-5}$	$6,3.10^{-5}$	$12,5.10^{-5}$	$25,0.10^{-5}$
ΔE (mV)	175,3	158,7	135,3	119,2	102,9

À partir des valeurs expérimentales, la courbe *ΔE*= f (log $[F^-]$) est représentée figure 2.

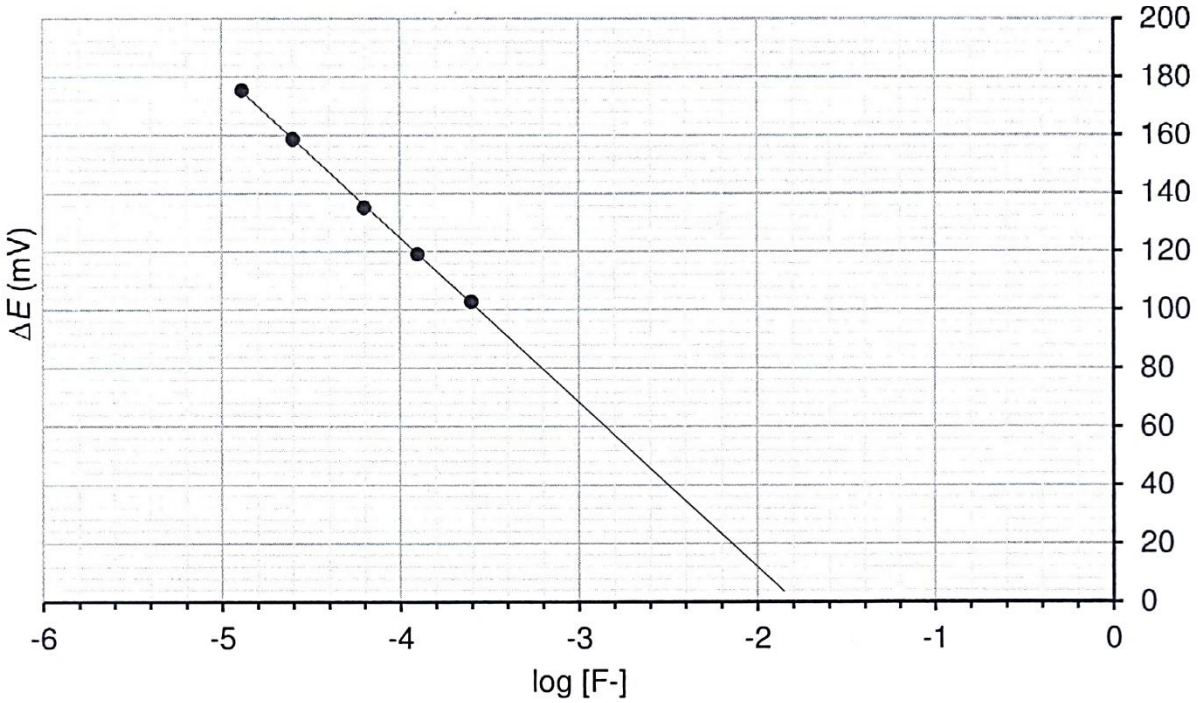


Figure 2 : évolution de la différence de potentiel *ΔE en fonction de* log$[F^-]$

On réalise une régression linéaire qui donne :

Équation de droite : $\Delta E = -56{,}45 . \log[F^-] - 100{,}99$ (ΔE en mV)

Coefficient de corrélation : $R^2 = 0{,}999\ 631$

Q14. Décrire précisément le protocole expérimental à suivre afin de préparer la solution étalon S_3 à partir de la solution mère S. Déterminer la valeur de la concentration molaire en ions fluorure $[F^-]$ présents dans la solution étalon S_3.

À l'aide d'une balance précise, on place une masse m = 0,20 g du dentifrice étudié dans bêcher de 250 mL dans lequel on ajoute aussitôt 10,0 mL de solution tampon. Le mélange est porté à ébullition pendant 2 minutes, puis laissé à refroidir à l'air libre avant d'être transvasé dans une fiole jaugée de 100,0 mL que l'on complète alors avec de l'eau distillée. La différence de potentiel ΔE mesurée est de 114,4 mV dans les mêmes conditions que pour les solutions étalons.

Q15. A l'aide des résultats expérimentaux, déterminer la valeur de la concentration molaire en ions fluorure $[F^-]$ dans la solution de mesure.

Q16. Ce dentifrice présente-t-il une bonne conformité par rapport à la teneur en fluorure ?

E41 Biochimie 2021

Durée : 3 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

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

EXPLORATION DES FONCTIONS THYROÏDIENNES ET DES DYSTHYROÏDIES

La thyroïde est une glande endocrine située à la face antérieure du cou et dont la principale fonction est la synthèse des deux hormones thyroïdiennes iodées, la tétraiodothyronine ou thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3).
Les dysthyroïdies (hypothyroïdie et hyperthyroïdie) comptent parmi les maladies endocriniennes les plus fréquentes.

1. Étiologie de quelques dysthyroïdies et interférence médicamenteuse (7,5 points)

1.1. Perturbation de la synthèse des hormones thyroïdiennes

Lors de la synthèse des hormones thyroïdiennes, les iodures sanguins sont captés par les thyréocytes grâce à un symporteur Na^+/I^-, selon un mécanisme de transport actif secondaire.

1.1.1. Schématiser les transports membranaires à l'origine de l'entrée de I^- dans la cellule et du maintien du gradient de concentration en Na^+.

La synthèse des hormones thyroïdiennes nécessite la synthèse d'une protéine iodée appelée thyroglobuline.

1.1.2. Nommer et localiser les étapes permettant la synthèse de la thyroglobuline iodée à partir de son gène.

La thyroglobuline iodée de la colloïde est endocytée par le thyréocyte.

1.1.3. Expliquer le mécanisme permettant la libération des hormones thyroïdiennes T4 et T3 à partir de la thyroglobuline.

Un grand nombre de dysthyroïdies est d'origine auto-immune. Des auto-anticorps neutralisants agissent à différents niveaux lors de la synthèse des hormones thyroïdiennes:
- auto-anticorps anti-Thyro-PerOxydase (anti -TPO) dans la thyroïdite d'Hashimoto ;
- auto-anticorps anti-symporteur Na^+/I^-.

1.1.4. Expliquer le mode d'action des auto-anticorps conduisant à la diminution de la synthèse des hormones thyroïdiennes.

1.2. Interférence de l'héparine dans le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes et dans leur dosage

Le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes est assuré par trois protéines d'importance et d'affinité variables pour les hormones thyroïdiennes : la TBG ou *Thyroxin-Binding Globulin,* la TTR ou transthyrétine et l'albumine.

1.2.1. Justifier la nécessité de transporteurs plasmatiques pour T3 et T4.

1.2.2. Identifier la protéine ayant la meilleure capacité de transport.

1.2.3. Justifier les valeurs des pourcentages des fractions libres de T3 et T4.

Certains médicaments interfèrent sur la fixation des hormones thyroïdiennes aux protéines de transport et risquent de fausser les résultats du dosage des hormones thyroïdiennes libres. Lors de la prise d'héparine par un patient à risque thrombotique, la lipoprotéine lipase est activée. Cette enzyme hydrolyse les triglycérides, libérant les acides gras qui entrent en compétition avec les hormones thyroïdiennes pour se fixer aux protéines de transport.

1.2.4. Tracer les courbes théoriques de l'évolution de la concentration en T4 liée (fraction B) en fonction de la concentration en T4 libre (fraction F), en absence et en présence d'héparine.

1.2.5. Déduire la conséquence de cette interférence médicamenteuse sur le dosage des hormones thyroïdiennes.

1.3. Mutations à l'origine de la résistance aux hormones thyroïdiennes

La mutation A317T du gène codant le récepteur nucléaire de la triiodothyronine $_{F}$T3 est une des mutations à l'origine de la résistance aux hormones thyroïdiennes.

1.3.1. Déterminer la séquence en acides aminés correspondant aux 4 codons de l'exon 9 du brin codant de l'ADN pour l'allèle de référence et l'allèle muté.

1.3.2. En déduire le type de mutation et sa conséquence au niveau protéique.

Dans les conditions physiologiques, l'hypophyse antérieure régule la synthèse des hormones thyroïdiennes par le biais de la TSH *(Thyroïd Stimulating Hormon* ou thyréostimuline) sous contrôle de la TRH hypothalamique *(Thyrotropin-Releasing Hormon* ou hormone thyréotrope).

1.3.3. Présenter les principales caractéristiques d'une hormone.

1.3.4. Justifier que la mutation A317T entraîne une hyperthyroïdie.

2. Conséquences des dysthyroïdies (5,5 points)

2.1. Effets de l'hyperthyroïdie au niveau métabolique

Les hormones thyroïdiennes stimulent le métabolisme basal en accélérant le catabolisme des lipides et du glucose. Ces effets sont accrus en cas d'hyperthyroïdie.

2.1.1. Identifier les molécules (A, B) et les voies métaboliques (1 à 6) du document 7.

La synthèse d'ATP a lieu, en aérobiose, au niveau de la membrane interne mitochondriale par couplage énergétique avec la voie métabolique (6).

2.1.2. À l'aide du bilan moléculaire suivant, établir le bilan énergétique du catabolisme du glucose en aérobiose, en moles d'ATP formées par mole de glucose oxydée.

$$\text{Glucose} + 2\,H_2O + 4\,ADP + 4\,P_i + 2\,FAD + 10\,NAD^+ \longrightarrow 6\,CO_2 + 4\,ATP + 2\,FADH_2 + 10\,NADH,H^+$$

Afin de favoriser la thermogénèse, les hormones thyroïdiennes empêchent le couplage énergétique entre la voie métabolique (6) et la synthèse d'ATP.

2.1.3. En déduire le bilan énergétique du catabolisme du glucose dans ces conditions.

2.2. Hyperlipidémie chez les patients atteints d'hypothyroïdie

L'hypothyroïdie est responsable d'une réduction du nombre de récepteurs cellulaires aux LDL, à l'origine de l'accumulation du cholestérol-LDL dans le sang et d'un risque cardio-vasculaire accru. L'hypothyroïdie peut donc conduire à l'apparition d'une hypercholestérolémie diagnostiquée par le dosage du cholestérol-LDL selon la méthode directe BIOLABO.

2.2.1. Justifier la nécessité de réaliser, chez le patient, le prélèvement après 12 h de jeûne.

La lecture des absorbances A1 et A2 est réalisée respectivement après l'addition du réactif 1 et du réactif 2.

2.2.2. Justifier l'intérêt des deux phases d'incubation de 5 minutes à 37 °C.

2.2.3. Justifier le facteur 0,75 dans la formule de calcul de l'absorbance.

2.2.4. Établir l'équation aux grandeurs permettant le calcul de la concentration en cholestérol-LDL dans le sérum du patient.

Deux contrôles internes de qualité (CIQ) peuvent être réalisés : Taux 1 et Taux 2.

2.2.5. Qualifier le CIQ Taux 2 en fonction de son niveau de concentration.

2.2.6. Interpréter le résultat du contrôle Taux 2 et indiquer la conduite à tenir pour valider la série patients.

3. Méthodes de diagnostic des dysthyroïdies primaires (7 points)

Le dosage sanguin de la TSH est l'examen de première intention prescrit pour évaluer l'état fonctionnel de la glande thyroïde. En cas de taux pathologique, le dosage de la $_F$T4 confirmera la dysthyroïdie.

3.1. Dosage de la TSH et de la $_F$T4 sériques

La TSH et de la $_F$T4 sont dosées sur des automates d'immunoanalyse.

L'obtention d'anticorps monoclonaux et le développement des dosages immunométriques ont conduit à l'amélioration de la performance de ces dosages. Ainsi, la limite de détection des méthodes de dosage de la TSH est passée de 1 mUI · L^{-1} à 0,01 mUI · L^{-1}.

3.1.1. Indiquer l'impact de cette évolution sur le diagnostic des hyperthyroïdies.

Le Cobas® 8000 Module e-801 de Roche permet le dosage immunologique de la TSH et de la $_F$T4 avec détection par électrochimiluminescence, fondé sur deux méthodes différentes.

3.1.2. Pour chacun des dosages hormonaux :

- représenter le complexe fixé sur l'électrode aimantée en respectant la légende,
- en déduire le type de méthode utilisée,
- indiquer le sens de variation du signal chimiluminescent mesuré en fonction de la concentration en hormone dans l'échantillon.

3.2. Évaluation externe de qualité du dosage de la TSH

Les performances du dosage de la TSH par le Cobas® e-801 de Roche et l'automate Alinity de ABBOTT sont comparées par l'évaluation externe de qualité (EEQ) de ProBioQual pour l'échantillon 20MD02.

Le coefficient de variation CV évalue la reproductibilité d'une série de mesures.

3.2.1. Nommer et définir la performance quantifiée par le CV.

3.2.2. Préciser les conditions opératoires répondant à la reproductibilité.

3.2.3. Comparer les CV obtenus pour les deux systèmes analytiques. Conclure.

Le dosage de la TSH sur Alinity (ABBOTT) fourni par le laboratoire N° 2086 a été évalué.

3.2.4. Établir les équations aux valeurs permettant de calculer l'écart-type et le z- score du laboratoire par rapport au groupe de pairs.

3.2.5. Justifier la notation attribuée au laboratoire N° 2086.

3.2.6. Conclure quant aux performances du laboratoire, en termes de notation et de z-score.

DOSSIER TECHNIQUE

Document 1 : Schéma récapitulatif de la synthèse des hormones thyroïdiennes T4 et T3

Document 2 : Caractéristiques des protéines de transport plasmatique et des hormones thyroïdiennes

Document 3 : Évolution de la concentration en hormone liée aux protéines (B pour *bound)* en fonction de la concentration en hormone libre (F pour *free)*

Document 4 : Étude de la mutation A317T du gène codant pour le récepteur de la triiodothyronine $_{F}$T3

Document 5 : Code génétique

Document 6 : Régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes par l'axe hypothalamo - hypophysaire

Document 7 : Effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme basal

Document 8 : Extrait de la fiche technique BIOLABO pour le dosage du Cholestérol-LDL

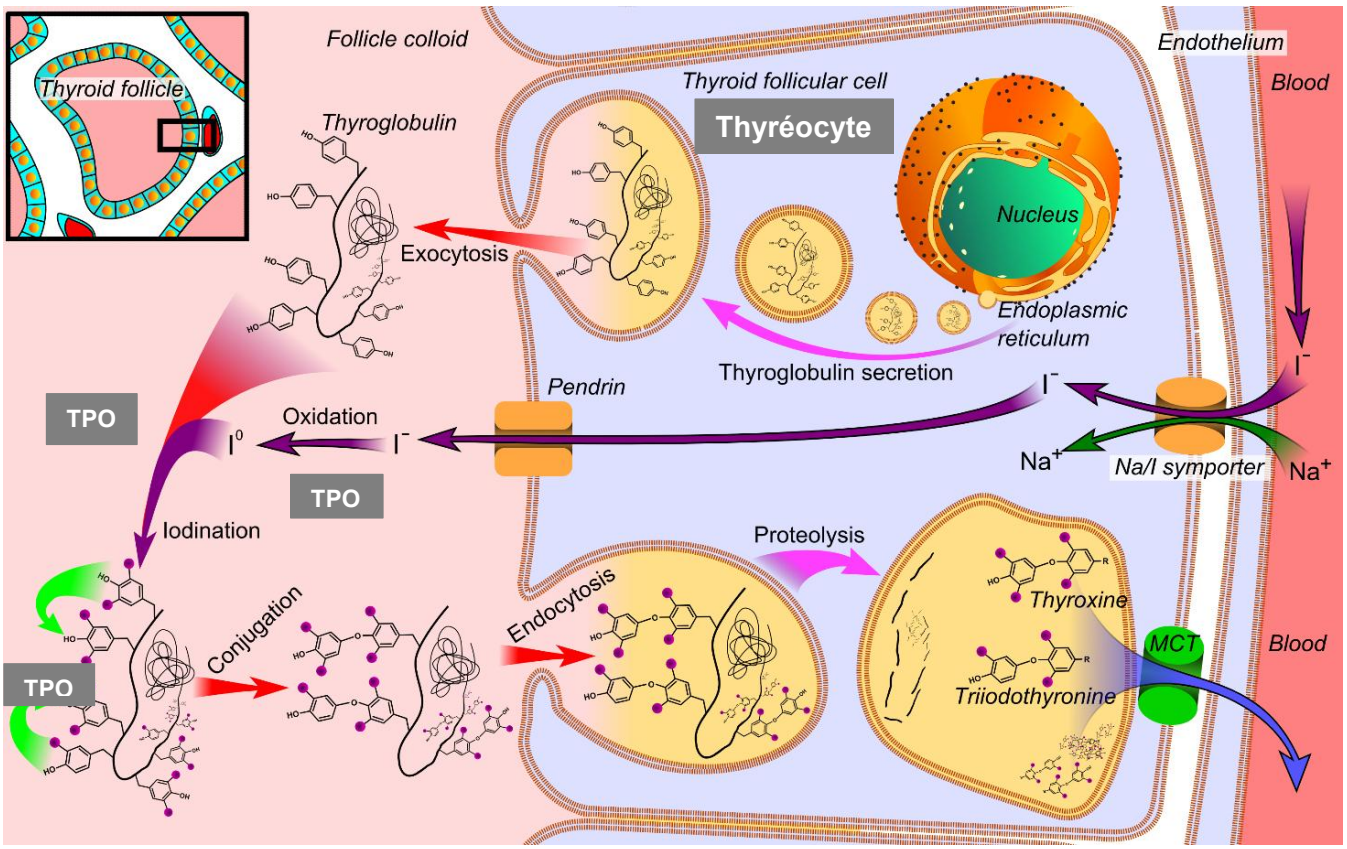
Document 9 : Résultats du dosage du Cholestérol-LDL dans le contrôle interne de qualité Taux 2

Document 10 : Dosage de la TSH et de la $_{F}$T4 sur Cobas® 8000 Module e-801 de Roche

Document 11 : Extrait d'un rapport d'Évaluation Externe de la Qualité (EEQ) de ProBioQual

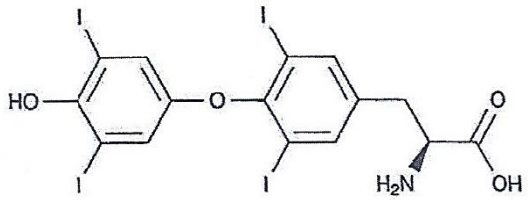
Document 1 : Schéma récapitulatif de la synthèse des hormones thyroïdiennes T4 et T3

Le follicule thyroïdien correspond à l'unité fonctionnelle de la thyroïde. La colloïde centrale renferme une glycoprotéine iodée, la thyroglobuline (Tg) iodée, forme de stockage des hormones thyroïdiennes, synthétisée par les cellules folliculaires. La thyroglobuline est riche en tyrosine, acide aminé dont dérivent les hormones thyroïdiennes.

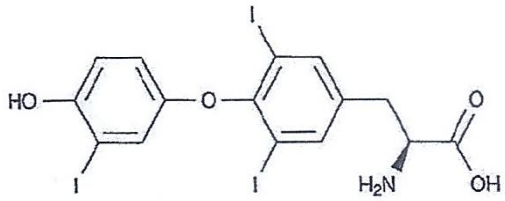


(Walter F., PhD. Le bore, *Physiologie médicale: Une approche cellulaire et moléculaire,* Elsevier / Saunders)

T4 : tétraiodothyronine ou thyroxine



T3 : triiodothyronine



Document 2 : Caractéristiques des protéines de transport plasmatique et des hormones thyroïdiennes

Par convention on écrit :

- $_F$T4 et $_F$T3 pour les formes libres,
- $_B$T4 et $_B$T3 pour les formes liées.

Les formes liées des hormones thyroïdiennes servent de réservoir circulant aux fractions libres $_F$T4 et $_F$T3, qui, bien qu'en infime proportion dans le plasma, sont les formes biologiquement actives. Dans les organes cibles, $_F$T4 est désiodée en $_F$T3 très active, alors que l'activité de $_F$T4 est minime.

$_F$T4 : 0,03 % de la T4 totale plasmatique

$_F$T3 : 0,3 % de la T3 totale plasmatique

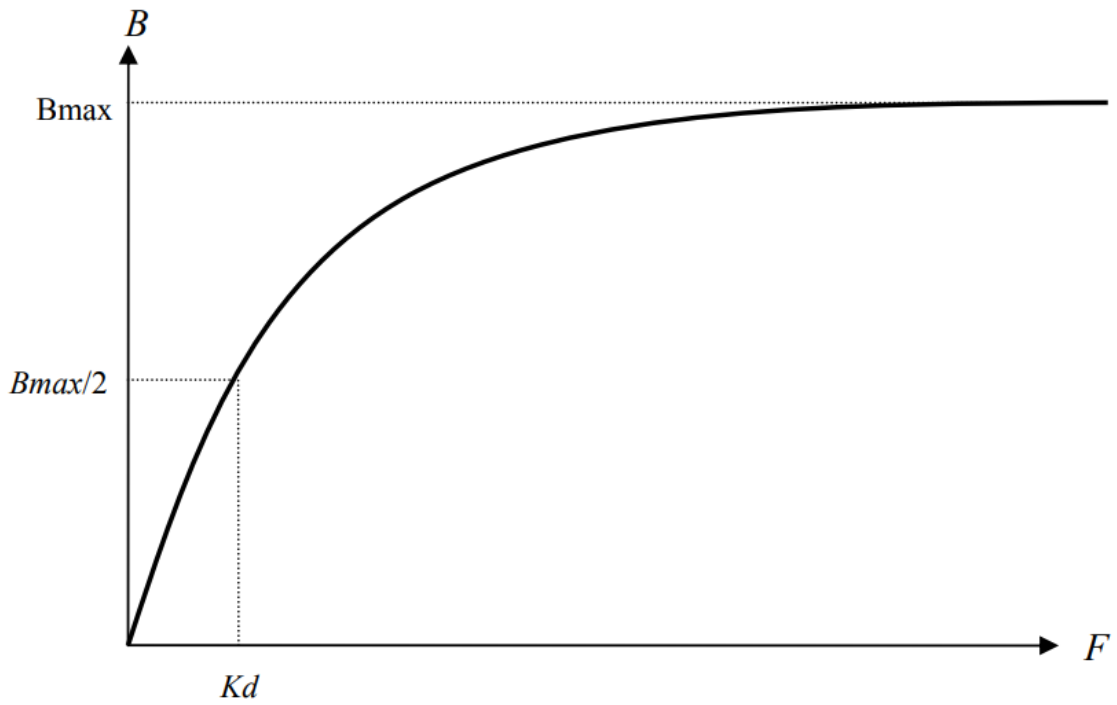
Protéines de transport	TBG *Thyroxin-Binding Globulin*	TTR Transthyrétine	Albumine
Proportion de $_B$T4	75-80 %	10-15 %	10 %
Proportion de $_B$T3	75-80 %	< 10 %	10 %
Constante de dissociation Kd pour T4 en nmol · L^{-1}	0,1	14	1 400
Constante de dissociation Kd pour T3 en nmol · L^{-1}	2	70	10 000

Les valeurs indiquées dans le tableau sont des ordres de grandeur.

La constante de dissociation Kd est définie comme étant l'inverse de la constante d'affinité Ka. Ka est proportionnelle à l'affinité de la protéine de transport plasmatique pour l'hormone.

Document 3 : Évolution de la concentration en hormone liée aux protéines (B pour *bound)* en fonction de la concentration en hormone libre (F pour *free)*

(https://oatao.univ-toulouse.fr/1714/1/debouch 1714.pdf)



Document 4 : Étude de la mutation A317T du gène codant pour le récepteur de la *triiodothyronine* $_{F}$T3

- **Localisation et nature de la mutation**

Les récepteurs TRβ aux hormones thyroïdiennes sont des protéines de localisation nucléaire, qui, liées aux hormones thyroïdiennes, contrôlent l'expression de gènes cibles.

De nombreuses mutations du gène *c-ErbAβ* codant le récepteur TRβ ont été identifiées, dont récemment la mutation A317T.

La mutation A317T se situe en position 949 de l'exon 9 du gène *c-ErbAβ.*

Séquence de 4 codons de l'exon 9 du brin codant de l'ADN du gène *c-ErbAβ* :

Allèle de référence	---	C	T	T	C	G	C	G	C	T	G	C	T	---
Allèle muté	---	C	T	T	C	G	C	A	C	T	G	C	T	---

- **Mécanisme de la résistance hypophysaire consécutive à la mutation**

Les mutations du récepteur TRβ entraînent une forte diminution de l'affinité du récepteur muté pour $_{F}$T3.

Elles sont ainsi à l'origine d'une résistance aux hormones thyroïdiennes, pathologie rare, qui se caractérise par l'absence de réponse des tissus cibles aux hormones thyroïdiennes.

Dans le cas présent, la résistance n'affecte que l'hypophyse. Le rétrocontrôle normalement exercé par les hormones thyroïdiennes sur l'hypophyse est alors atténué.

- **Conséquences de la mutation**

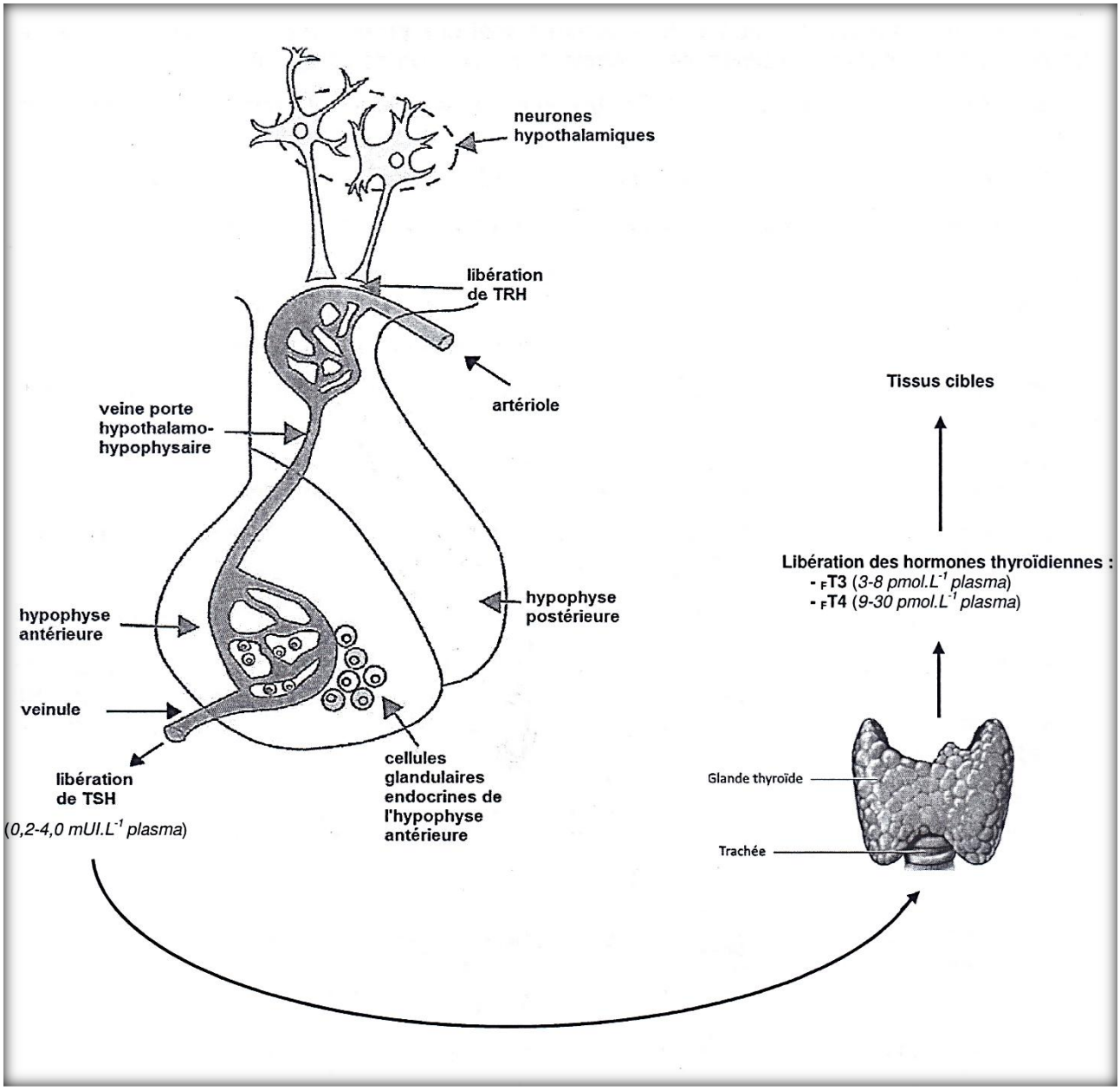
Cette mutation A317T est responsable de symptômes d'hyperthyroïdie. Le diagnostic biologique montre une concentration sérique accrue de $_{F}$T4 et $_{F}$T3 et une concentration en TSH modérément élevée, confirmant un diagnostic de résistance de l'hypophyse aux hormones thyroïdiennes.

Document 5 : Code génétique

(https://svtfevder.wordpress.com/le-code-genetique/)

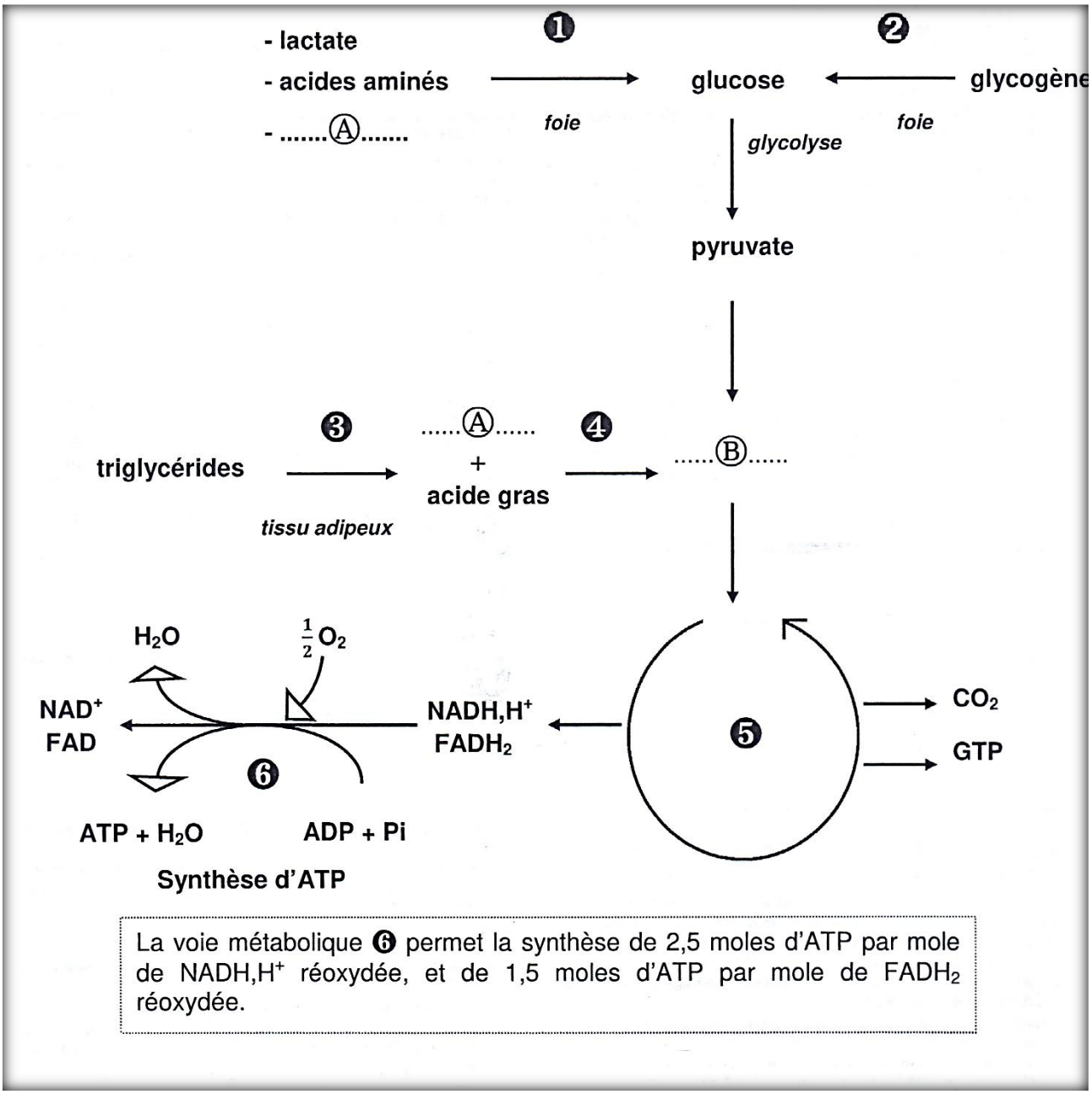
Première lettre	Deuxième lettre : U		Deuxième lettre : C		Deuxième lettre : A		Deuxième lettre : G		Troisième lettre
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

Document 6 : Régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes par l'axe hypothalamo - hypophysaire



(https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcR5J3MWcZlsD3uNKnbvOfAsxFb3ctaDJUT6TA&usqp=CAU
https://barf-raw-feeding.fr/wp-content/uploads/2019/03/2019-03-12-00 05 54-Window.png)

Document 7 : Effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme basal



La voie métabolique ❻ permet la synthèse de 2,5 moles d'ATP par mole de $NADH,H^+$ réoxydée, et de 1,5 moles d'ATP par mole de $FADH_2$ réoxydée.

Document 8 : Extrait de la fiche technique BIOLABO pour le dosage du Cholestérol-LDL

BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CHOLESTEROL-LDL Méthode directe

Réactif pour le dosage quantitatif du cholestérol-LDL dans le sérum ou le plasma humains

INTERET CLINIQUE (1) (3)

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), sont synthétisées dans le foie sous l'action de différentes enzymes lipolytiques sur les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en triglycérides. De nombreuses études cliniques et épidémiologiques ont montré qu'une augmentation du Cholestérol-LDL sérique peut être significative d'une augmentation du risque d'athérosclérose et de maladies des artères coronaires. D'autres études ont montré qu'une diminution du Cholestérol-LDL sérique peut être corrélée avec une régression des lésions athérosclérotiques.

PRINCIPE

Méthode directe avec détergents sélectifs, sans pré-traitement du spécimen.
Au cours de la première phase, seules les lipoprotéines non-LDL sont solubilisées par le détergent 1. Le cholestérol ainsi généré, soumis à l'action de la cholestérol Oxydase (CO) et de la cholestérol Estérase (CE), produit un composé incolore.

Au cours de la seconde phase, le détergent 2 solubilise le cholestérol-LDL. Le couple chromogénique développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-LDL. La lecture s'effectue à 546 nm (520-580).

REACTIFS

flacon R1 **REACTIF ENZYMES**

Tampon MES pH 6,3	Cholestérol oxydase
Acide ascorbique oxydase	Cholestérol estérase
4-amino-antipyrine	Détergent 1
Péroxydase	Conservateur

flacon R2 **DETERGENT SPECIFIQUE**

Tampon MES pH 6,3	Détergent 2
DSBmT	Conservateur

MES : acide morpholino-éthane-sulfonique
DSBmT : N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

REF 95506 **BIOLABO CALIBRATEUR HDL / LDL / CK MB**

Flacon R1 (lyophilisat): 1 x 2 mL Flacon R2 (diluant) : 1 x 5 mL

Voir la Notice technique spécifique du lot incluse dans ce coffret

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière

- Avant ouverture, s'ils sont conservés et stockés dans les conditions préconisées, les réactifs et calibrateur sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.
- Après ouverture et en l'absence de contamination les réactifs sont stables au moins 3 mois (transférer par versement la quantité nécessaire, bien reboucher les flacons et stocker à 2-8°C).
- Après reconstitution, REF 95506, consulter la notice spécifique du lot

Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si l'absorbance mesurée à 546 nm > 0,050.

Ce réactif doit être réfrigéré pendant le transport.

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (4)

Patient prélevé après au moins 12-14 h de jeûne. Ne pas utiliser d'oxalate, fluorure, citrate ou héparine.

Plasma : Prélevé sur EDTA et séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Sérum : Séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Le cholestérol-LDL est stable dans le spécimen :

- 1 à 3 jours à 2-8°C
- 1 mois à –20°C.

INTERFERENCES (6) (7)

Concentrations (g/L) sans interférences significatives (± 10%) :

Bilirubine Conjuguée :	0,20
Bilirubine Totale :	0,20
Hémoglobine :	5,00
Acide Ascorbique :	0,50
Triglycérides (TG) :	12,93
Gamma-globulines :	50,00

Au-delà, diluer le spécimen avec NaCl 9 g/L, refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat.

Ne pas diluer les spécimens avec TG > 12,93 g/L, augmenter le volume de réactif R1 et R2 en respectant les ratios et tenir compte de la dilution pour le calcul du résultat.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL REF 95806 (2 x 1 mL) ou tout calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.
3. Calibrateur HDL / LDL / CK-MB REF 95506 (2 x 2 mL)
4. ou tout calibrateur traçable d'origine humaine.
5. Sérums de contrôle HDL / LDL / CK-MB (origine humaine)
   REF 95516 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 1 (2 x 2 mL)
   REF 95526 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 2 (2 x 2 mL)
   ou tout Sérum de contrôle d'origine humaine.

Document 8 : suite

CALIBRATION

- Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.
- Utiliser le Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL REF 95806.
- Ou le Calibrateur HDL LDL CK-MB REF 95506 traçable sur SRM® 1951b (Standard Reference Material®) titrés au CDC (Center for Disease Control)
- Ou tout Calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opération de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

CONTRÔLE DE QUALITE — CODE CNQ : SX

- REF 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 1
- REF 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 2
- Ou tout sérum de contrôle d'origine humaine titré pour cette méthode (détergent sélectif et accélérateur).
- 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 indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test 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, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant 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.

INTERVALLES DE REFERENCE (5)

Cholestérol-LDL	g/L	[mmol/L]
Valeurs recommandées	< 1,30	[< 3,36]
Risque faible	1,30-1,59	[3,36 – 4,11]
Risque élevé	≥ 1,60	[≥ 4,13]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Vérifier et régler l'appareil pour lecture sur des micro-volumes	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R1	300 µL	300 µL	300 µL
Calibrateur		3 µL	
Spécimen			3 µL
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C. Enregistrer les absorbances A1 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif			
Ajouter	Blanc	Calibrateur	Dosage
Réactif R2	100 µL	100 µL	100 µL
Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C. Enregistrer les absorbances A2 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif.			

Remarques :

1- En fonction des caractéristiques de l'instrument, les volumes ci dessus peuvent être modifiés en conservant le rapport de dilution (ex : R1 240 µL, R2 80 µL, spécimen 2.4 µL ou 3 µL).
Se reporter au § **LINEARITE.**

2- Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

CALCUL

L'utilisation d'un analyseur automatique en mode bi-chromatique (546-660 nm) est recommandée.

En méthode manuelle, calculer **ΔAbs.= (A2 – 0,75 A1)** pour le dosage et le Calibrant.

Document 9 : Résultats du dosage du Cholestérol-LDL dans le contrôle interne de qualité Taux 2

Valeur cible	2,10 g · L^{-1}
Écart-type de reproductibilité (ET)	0,04 g · L^{-1}
Seuils d'avertissement	Valeur cible ± 2 ET
Seuils d'alarme	Valeur cible ±3 ET
Résultat expérimental du CIQ de la série en cours	2,25 g · L^{-1}

Document 10 : Dosage de la TSH et de la $_{F}$T4 sur Cobas® 8000 Module e-801 de Roche

Principe du test Elecsys TSH pour le dosage de la TSH	**Principe du test Elecsys $_{F}$T4 pour le dosage de la T4 libre**
Étape 1 : 1ère incubation	
Mise en présence de l'échantillon avec un anticorps monoclonal anti-TSH biotinylé (Ac anti-TSH~biotine) et un anticorps monoclonal anti-TSH ruthénylé (Ac anti-TSH~Ru).	Mise en présence de l'échantillon avec un anticorps monoclonal anti-T4 ruthénylé (Ac anti-T4~Ru).
Étape 2 : 2ème incubation	
Addition d'une phase solide de microparticules paramagnétiques tapissées de streptavidine dans la cuvette réactionnelle.	Addition dans la cuvette réactionnelle de T4 biotinylée (T4~biotine) et d'une phase solide de microparticules paramagnétiques tapissées de streptavidine.
Étape 3 : révélation	
Aspiration du mélange réactionnel dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode de platine par un aimant. Élimination de la fraction libre par lavage et ajout du révélateur du ruthényle. L'application d'une différence de potentiel à l'électrode déclenche la production de luminescence à 620 nm par la fraction liée, qui est mesurée par un photomultiplicateur.	
Légende — Created in BioRender.com bio	
Antigène à doser : TSH Ac anti-TSH~ biotine Ac anti-TSH~Ru Microparticule paramagnétique tapissée de streptavidine	Antigène à doser T4 T4~biotine Ac anti-T4~Ru Microparticule paramagnétique tapissée de streptavidine

Document 11 : Extrait d'un rapport d'Évaluation Externe de la Qualité (EEQ) de ProBioQual

Évaluation externe de la qualité

Rapport définitif

ProBioQual

*Centre lyonnais pour la **PRO**motion de la **Bio**logie et du contrôle de **QUAL**ité*

Immunodosages avec marqueur

Sérums 20MD01 / 20MD02 (origine humaine)

1. Exploitation statistique des résultats du dosage de la TSH du sérum de contrôle externe de qualité 20MD02 (niveau de concentration élevé) pour les groupes techniques ABBOTT et ROCHE Elecsys/Modular/Cobas.

20MD02 / TSH (mUI.L^{-1})

Limites acceptables (LA) à +/-10.9 %

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	Limites
ABBOTT Architect / Alinity	RJ		246	25,30	4,4	22,54-28,06
- dont Architect	RJ U4Y		159	25,55	4,5	22,77-28,33
- dont Alinity	RJ U4Z		84	24,87	3,6	22,16-27,58
ROCHE Elecsys/Modular/Cobas	RD		406	33,47	3,3	29,82-37,12
- dont Cobas e-411	RD UWL		12	33,62	5,0	29,76-37,48
- dont Cobas e-601/e 602	RD UWR, UWT		287	33,76	2,9	30,08-37,44
- dont Cobas e-801	RD UWS		106	32,63	2,8	29,07-36,19

Document 11 : suite

2. Évaluation personnalisée du laboratoire de N° d'anonymat 2086 pour les résultats du dosage de la TSH du CEQ 20MD02 sur l'automate ABBOTT Alinity.

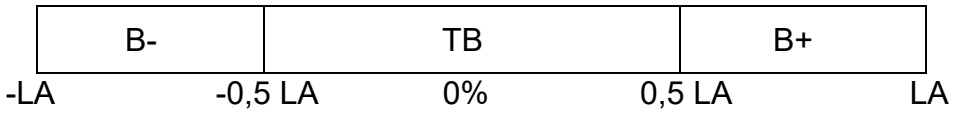
L'évaluation du laboratoire N° 2086 est réalisée par rapport à la valeur cible (moyenne) du groupe de pairs utilisant le même appareil ABBOTT Alinity.

2.1. Données générales sur l'évaluation des laboratoires.

L'exactitude de la méthode analytique est évaluée selon deux critères :

- **la notation**

  L'inexactitude relative est comparée aux limites acceptables (LA, exprimées en %).
  Si le résultat est « conforme », on distingue trois notations : TB, B- et B+



Le résultat est « non-conforme » si l'inexactitude relative se trouve au-delà des limites acceptables.

- **le z-score**

  Il désigne en nombre d'écart-types, l'écart entre le résultat du laboratoire et la valeur cible du groupe de pairs.

$$\text{z-score} = \frac{(résultat\ du\ laboratoire - valeur\ cible)}{écart-type\ du\ groupe\ de\ pairs}$$

|z-score| ≤ 2 : performance satisfaisante
2 < |z-score| < 3 : performance discutable (à surveiller, action préventive)
|z-score| ≥ 3 : performance non satisfaisante (action corrective)

2.2. Évaluation du laboratoire N°2086

				Pairs				
Analyte	**Référence du contrôle**	**Limites acceptables (LA)**	**Résultat du laboratoire**	**Cible**	**Inexactitude relative %**	**CV %**	**Notation**	**z-score**
TSH (mUI · L⁻¹)	**20MD01**	21,8 %	**0,121**	0,122	-0,8	3,8	**TB**	**-0,2**
	20MD02	10,9 %	**23,840**	24,870	-4,1	3,6	**TB**	**-1,2**
	Votre codage : RJ U4Z (ABBOTT Diagnostic sur Alinity)							

E42 Microbiologie 2021

Durée : 3 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

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

ÉVOLUTION DES TECHNIQUES DE MICROBIOLOGIE AU SEIN DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Les laboratoires de microbiologie ont fortement évolué ces dernières années avec l'émergence des plateaux techniques. La multiplication des analyses liée notamment au vieillissement de la population, la demande d'obtention de résultats toujours plus rapide, ont entraîné une adaptation des techniques disponibles ainsi que leur automatisation.

Des techniques récentes cohabitent aujourd'hui avec des techniques plus classiques afin de répondre au mieux à la demande d'un rendu rapide de résultats : ce sujet explore ces deux aspects au travers de quelques exemples.

1. Microscopie et diagnostic (6 points)

La microscopie conserve un rôle important dans la démarche de diagnostic.

1.1. Apport de la coloration de Gram

Cette technique historique reste dans de nombreux cas un élément clé dans la démarche d'identification.

1.1.1. Indiquer le résultat obtenu à la coloration de Gram pour une bactérie possédant le type de paroi représentée dans le document 1.

1.1.2. Citer un genre bactérien pour lequel cette coloration n'est pas adaptée.

La morphologie observée à la coloration de Gram reste un critère toujours utilisé dans l'orientation du diagnostic.

1.1.3. Décrire l'aspect à la coloration de Gram des genres *Pseudomonas* et *Neisseria.*

1.2. Apport de la microscopie dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires

L'observation microscopique est essentielle à l'établissement du diagnostic de l'aspergillose pulmonaire. Elle a été réalisée sur un liquide broncho-alvéolaire (LBA).

1.2.1. Justifier l'utilisation préférentielle, dans le cadre du diagnostic d'une aspergillose, d'un LBA.

1.2.2. Interpréter l'observation microscopique du LBA coloré selon la méthode de Grocott.

L'identification du germe responsable de l'aspergillose pulmonaire nécessite un examen microscopique réalisé après mise en culture du prélèvement de LBA.

1.2.3. Citer l'espèce généralement en cause dans l'aspergillose pulmonaire et indiquer le nom du milieu utilisé pour l'isoler, en précisant les conditions d'incubation.

1.2.4. Réaliser un schéma d'interprétation annoté de la photographie de l'examen microscopique de la souche isolée du LBA.

1.3. Microscopie automatisée

La microscopie n'est pas réservée aux méthodes manuelles : des automates utilisent la microscopie dans leur principe analytique. C'est le cas de certains automates de cytologie urinaire qui réalisent l'analyse du sédiment urinaire grâce à un système vidéo couplé à un microscope.

Ces automates répondant aux contraintes d'efficacité et de rendement imposées aux Laboratoires d'analyses de Biologie Médicale, sont devenus incontournables dans la phase analytique de l'Examen CytoBactériologique de l'Urine (ECBU). Leurs répétabilité et reproductibilité sont meilleures que celles des méthodes manuelles. Ils satisfont aux exigences de l'accréditation : échantillons de contrôle interne de qualité (bas et haut niveau) et enregistrement des résultats dans le système de Gestion Électronique des Documents (GED) ou le Système Informatique du Laboratoire (SIL).

Une étude de répétabilité est réalisée à l'aide du contrôle interne de bas niveau.

1.3.1. Préciser les caractéristiques de l'échantillon de contrôle interne de bas niveau.

1.3.2. Indiquer les conditions permettant d'évaluer la répétabilité.

1.3.3. Préciser en quoi l'enregistrement des résultats dans le GED (ou SIL) répond aux exigences de l'accréditation.

1.3.4. Rappeler les principales modalités de prélèvement d'une urine.

Lorsque le délai d'acheminement de l'échantillon est supérieur à 2 heures, les urines doivent être prélevées dans un flacon contenant une quantité fixe de borate qui assure la stabilité de l'échantillon. Le flacon borate présente deux repères de remplissage : un minimum et un maximum.

1.3.5. Expliquer l'impact sur l'ECBU d'un remplissage insuffisant du flacon boraté.

1.3.6. Présenter de façon succincte le principe de fonctionnement de l'automate iQ1200.

1.3.7. Expliquer pourquoi les résultats des paramètres « WBC » et « BAC » présentent une alarme.

2. Identification par détection de molécules caractéristiques (10 points)

De nombreux tests visant à raccourcir le délai de rendu des résultats reposent sur la détection de molécules spécifiques d'agents pathogènes.

2.1. Détection de molécules de surface de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est isolé à partir de prélèvements variés. Son identification peut être réalisée avec le kit Phadebact® Staph Aureus Test (MKL Diagnostics AB).

2.1.1. Justifier la présence de fibrinogène et d'immunoglobulines à la surface des particules du « réactif latex ».

Le coffret du test contient un contrôle positif et un contrôle négatif.

2.1.2. Schématiser les résultats obtenus lors de l'identification validée d'une souche de *Staphylococcus aureus.*

La spécificité et la sensibilité de ce test ont été établies en utilisant comme méthode de référence la recherche de la coagulase caractéristique des souches de *Staphylococcus aureus.*

La sensibilité du test Phadebact® Staph Aureus correspond au nombre de souches de *Staphylococcus aureus* rendues positives par le test rapporté à l'ensemble des souches de *Staphylococcus aureus* testées.

2.1.3. Établir le calcul ayant permis de déterminer la sensibilité du test Phadebact® Staph Aureus.

La coagulase et la fibrinolysine interviennent dans le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* notamment dans le cas des bactériémies d'origine thromboembolique.

2.1.4. Présenter le rôle de ces deux enzymes dans la survenue d'une bactériémie d'origine thromboembolique.

2.2. Détection d'enzymes bactériennes

BBL chromagar O157 est un milieu chromogène utilisé pour la recherche d'*Escherichia coli* O157 H7 à partir d'échantillons biologiques.

2.2.1. Donner la signification de O157 et de H7.

2.2.2. Détailler le principe général de fonctionnement et de lecture d'un milieu chromogène.

Ce milieu permet l'identification présomptive *d'Escherichia coli* O157 H7.

2.2.3. Expliquer la signification de l'expression « identification présomptive ».

2.3. Détection d'antigènes viraux du VIH

L'infection par le VIH, virus de l'immunodéficience humaine reste un problème de santé publique. Le sérodiagnostic consiste à détecter dans un échantillon sérique des anticorps anti-VIH et la présence d'antigènes viraux p24.

2.3.1. Reporter sur la copie, les numéros de 1 à 8 indiqués sur le schéma du cycle de multiplication du VIH et compléter par les légendes correspondantes.

2.3.2. Nommer l'enzyme caractéristique de la famille des *Retroviridae* à laquelle le VIH appartient.

2.3.3. Citer les trois principaux critères de classification des virus et préciser ceux correspondant au VIH.

La détection de l'Ag p24 peut être réalisée par une méthode immuno-enzymatique associée à une détection finale en fluorescence (ELFA : *Enzyme Linked Fluorescent Assay*) dont la composition des réactifs est présentée dans le dossier technique.

2.3.4. Localiser l'antigène p24 dans la structure virale.

2.3.5. Schématiser l'édifice moléculaire de détection de l'antigène p24.

2.4. Détection de l'ADN de l'agent responsable du paludisme

Selon le dernier rapport du 4 décembre 2019 de l'OMS, le paludisme fait partie des maladies infectieuses les plus importantes dans le monde. Les manifestations du paludisme sont différentes selon les espèces de *Plasmodium.*

2.4.1. Nommer l'espèce responsable d'un cas d'urgence de paludisme.

2.4.2. Indiquer le mode de transmission de ce parasite à l'Homme.

De nouveaux tests de diagnostic fondés sur la technologie de PCR en temps réel permettent la détection de l'ADN spécifique des différentes espèces de *Plasmodium.*

2.4.3. Citer les trois étapes d'un cycle de PCR.

2.4.4. Indiquer un avantage de la PCR en temps réel par rapport à une PCR classique.

À partir d'un prélèvement sanguin d'un patient de retour d'une zone à risque, l'ADN parasitaire est recherché à l'aide du Kit PCR RealStar® Malaria Screen & Type.

2.4.5. Expliquer l'origine de la fluorescence mesurée dans le cas d'un test positif.

2.4.6 Interpréter les résultats des analyses réalisées sur le prélèvement sanguin du patient X.

3. Détection de résistances aux antibiotiques (4 points)

La détection et le suivi de l'évolution des résistances bactériennes sont des préoccupations majeures dans les services hospitaliers. Des méthodes classiques et récentes coexistent au laboratoire pour mettre en évidence la présence d'entérobactéries résistantes aux β-lactamines par des mécanismes enzymatiques.

3.1. Mise en œuvre d'une technique classique

L'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé est une technique classique permettant de détecter des résistances aux β-lactamines.

3.1.1. Indiquer les trois principaux groupes de β-lactamines. Expliquer le mode d'action des β-lactamines sur la cellule bactérienne en précisant leur molécule cible.

3.1.2. Citer un mécanisme non enzymatique permettant aux bactéries d'être résistantes aux β-lactamines.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est souvent liée à la transmission de gènes de résistance par l'intermédiaire de plasmides.

3.1.3. Définir le terme plasmide puis nommer un mécanisme de transfert de plasmides entre bactéries.

Un antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM / EUCAST avril 2020). L'extrait du communiqué de l'EUCAST indique les méthodes qualitatives et quantitatives permettant de détecter la présence d'une β- lactamase à spectre élargi (BLSE).

3.1.4. Interpréter les résultats de l'antibiogramme réalisé sur une souche *d'Escherichia coli.*

3.1.5. En déduire le rôle de l'acide clavulanique.

3.2. Mise en œuvre d'une technique récente

L'émergence des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) impose une identification rapide des patients infectés et porteurs. Il est donc essentiel de disposer de techniques efficaces de diagnostic. La spectrométrie de masse MALDI-TOF est une méthode récente qui peut être utilisée pour la détection rapide de ces enzymes.

Le dossier technique présente une étude évaluant l'utilisation du spectromètre de masse pour détecter la présence d'une carbapénémase chez les entérobactéries. Le carbapénème utilisé pour cette étude est le faropénème de masse moléculaire 308 Da.

3.2.1. Reporter sur la copie la structure du noyau β-lactame du faropénème.

3.2.2. Expliquer la résistance au faropénème consécutive à son hydrolyse par une carbapénémase.

3.2.3. Analyser les spectres et en déduire si la souche de *Klebsiella pneumoniae* produit une carbapénémase.

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Schéma de la structure d'une paroi bactérienne

Document 2: Observation microscopique d'un LBA selon la méthode de Grocott

(Grossissement x400)

Document 3 : Observation microscopique d'une souche isolée d'un LBA coloré au bleu de méthylène (grossissement x400)

Document 4 : Cytologie urinaire automatisée et résultats d'un patient

Document 5 : Extrait de la fiche technique Phadebact® Staph Aureus Test

Document 6 : Cycle du VIH

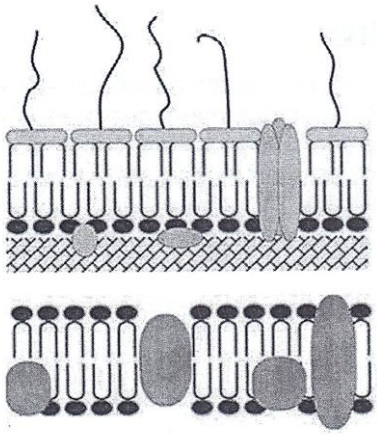
Document 7 : Détection des antigènes p24 de l'échantillon sérique par VIDAS® HIV

Document 8 : Extrait de la fiche technique du Kit PCR RealStar® Malaria Screen & Type et résultat d'un patient

Document 9 : Extrait du communiqué du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM / EUCAST avril 2020) et résultats d'un antibiogramme d'une souche *d'Escherichia coli* réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélose

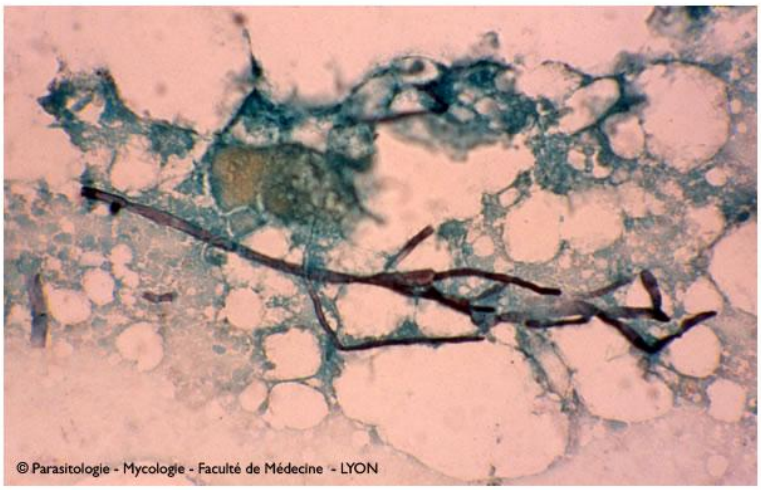
Document 10 : Technique de détection des carbapénémases par spectrométrie de masse

Document 1 : Schéma de la structure d'une paroi bactérienne

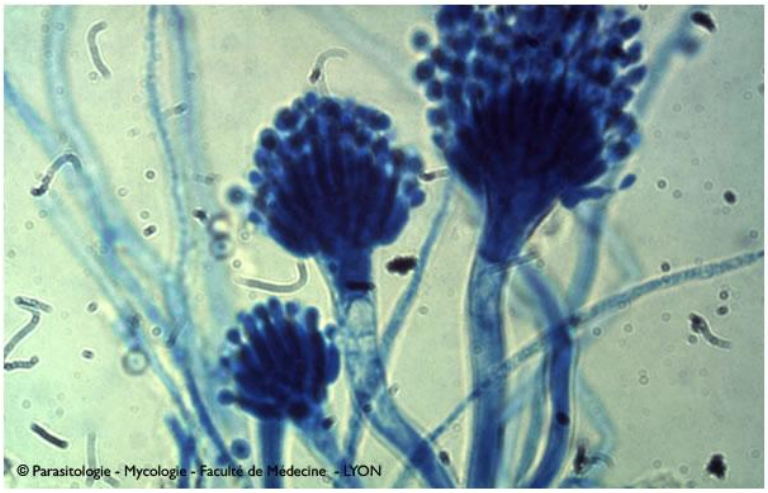


Source : https://researchgate.net

Document 2 : Observation microscopique d'un LBA selon la méthode de Grocott (grossissement x400)



Document 3 : Observation microscopique d'une souche isolée d'un LBA coloré au bleu de méthylène (grossissement x400)



Document 4 : Cytologie urinaire automatisée et résultats d'un patient

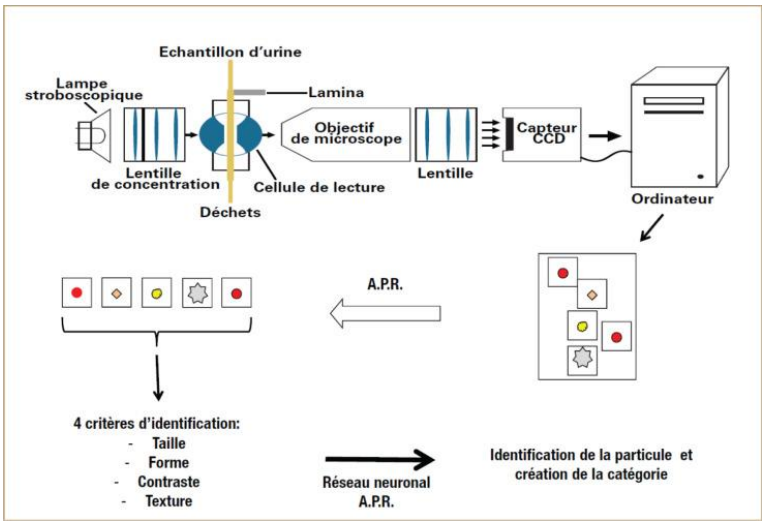
La cytologie urinaire automatisée

La cytologie urinaire est de plus en plus automatisée car elle permet d'obtenir une répétabilité et reproductibilité meilleures que celles des méthodes manuelles et ce pour un coût moindre et une rapidité d'exécution augmentée. De plus l'existence d'échantillons de contrôle ainsi que l'enregistrement de la totalité des résultats répond aux exigences de l'accréditation. L'automate de cytologie urinaire iQ1200 réalise des captures d'image microscopique puis classe et compte les particules du sédiment urinaire, selon des critères morphologiques. Le volume d'urine correspondant à un champ d'observation est déterminé en utilisant une solution de calibration dont la concentration de particules est connue.

Description de l'iQ1200

APR : logiciel de reconnaissance automatique des particules

CCD : caméra numérique haute définition CCD (charged couple device)



https://ars.els-cdn.com/content/image/1 -s2.0-S1773035X16301691-gr4.jpg

Cet automate permet la reconnaissance des éléments suivants : Hématies (RBC) ; Leucocytes (WBC) ; Cellules Épithéliales (EPI) et cellules rondes (NEC) ; Cylindres Hyalins (HYA) ; Cylindres Pathologiques (PAT) ; Levures (YEA) ; Bactéries (BAC) ; Cristaux (CRY) ; CaOx monohydraté (CaOxm) ; CaOx dihydraté (CaOxd) ; cristaux de phosphate triple (TRI) ; Acide urique (URI) ; Mucus (MUC) et Spermatozoïdes (SPRM).

Les résultats sont exprimés en nombre de particules/µL.

Extrait des résultats pour l'urine d'un patient :

N° échantillon 1102163111
ID patient XXXXXXXX
iQ1200

RBC	4,6	[/µL]
WBC	105,3*	[/µL]
EPI	8,1	[/µL]
HYA	0,12	[/µL]
BAC	1810,2*	[/µL]

Document 5 : Extrait de la fiche technique Phadebact® Staph Aureus Test

BUT DU DOSAGE : Phadebact® Staph Aureus Test est utilisé pour détecter le récepteur du fibrinogène (dumping factor) et/ou la protéine A caractéristiques du *Staphylococcus aureus* obtenu de cultures primaires. Le réactif Phadebact est constitué de particules de latex recouvertes de fibrinogène et d'immunoglobulines d'origine humaine et porcine capables de réagir avec *Staphylococcus aureus.*

RÉACTIFS : Composants du test Phadebact® Staph Aureus 100 tests

- Phadebact® Staph Aureus réactif latex : particules rouges de latex recouvertes de protéines humaines et porcines en suspension dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle positif : *S.aureus* (ATCC 25923) non viable dans un tampon contenant un conservateur.
- Phadebact® Staph Aureus contrôle négatif : *S.epidermidis* (CDC 3258) non viable dans un tampon contenant un conservateur.

RECUEIL ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS :
Cultures pures de 18 heures sur boîtes de Pétri avec des colonies d'environ 2 mm. Prélever la colonie avec une anse stérile.

MÉTHODE :

Paramètres du test :
- Température de réalisation : température ambiante
- Volume de réactif Staph Aureus : 1 goutte
- Volume des contrôles : 1 goutte
- Temps de réalisation : 10 s d'homogénéisation puis 50 s d'agitation

Procédé du test :
Les réactifs doivent être à température ambiante au moment de leur utilisation. Homogénéiser les réactifs en les agitant vivement avant leur utilisation.
Noter chaque zone de réaction à utiliser. Inclure une zone pour le contrôle positif et une zone pour le contrôle négatif.

- Déposer une goutte de latex sur chaque zone de réaction.
- Déposer ensuite une goutte de contrôle positif et négatif sur les zones correspondantes.
- Prélever une colonie avec une anse. Homogénéiser la colonie et la goutte de latex pendant 10 secondes.
- Agiter la lame en l'inclinant à 45° pour mélanger le contenu de chaque zone de réaction.
- Quand une agglutination évidente apparaît dans les 60 secondes suivant le mélange initial, le résultat est positif.

Stabilité du mélange réactionnel final : la réaction d'agglutination est stable mais il est préférable de lire le résultat au bout de 60 secondes tant que le mélange est encore humide (l'évaporation provoquant l'assèchement des réactifs peut conduire à une mauvaise interprétation des résultats).

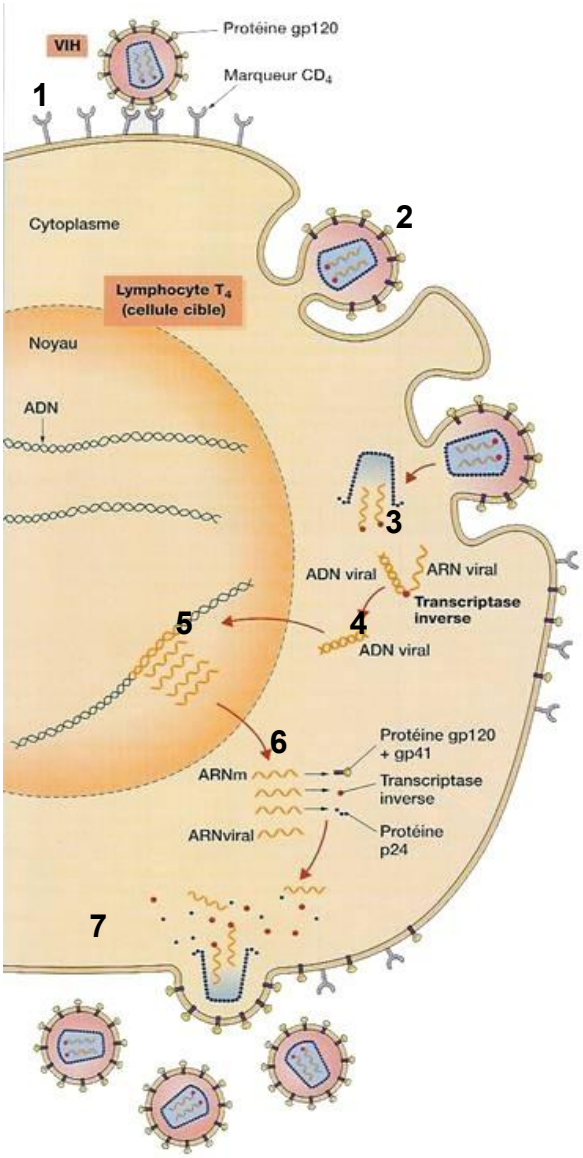
CARACTÉRISTIQUES DU TEST : Le réactif latex Phadebact® Staph Aureus a été évalué par des laboratoires indépendants sur 1000 échantillons de cultures avec une suspicion de Staphylocoque. L'évaluation a consisté en la comparaison du système Phadebact® Staph Aureus avec le test coagulase classique réalisé en tube. Les échantillons étaient des cultures sur milieux usuels de *Staphylococcus aureus* méticilllino-résistants ou méticillino-sensibles et des souches de Staphylocoques à coagulase négative.
Les résultats des évaluations sont résumés dans le tableau ci-dessous :

		Résultats du test Coagulase	
		+	**-**
Résultats du test Phadebact S.Aureus	**+**	991	11
	-	9	989

RÉSULTATS : Le réactif latex Phadebact® Staph Aureus a une **sensibilité de 99,1** % et une spécificité de 98,9 %. La couleur rouge du réactif latex facilite la lecture de l'agglutination obtenue pour les Staphylocoques à coagulase positive.

Document 6 : Cycle de multiplication du VIH

(Image site sylviejean.cazes.free.fr)



Document 7 : Détection des antigènes p24 de l'échantillon sérique par VIDAS® HIV

Cette recherche mettant en jeu une technique ELFA (Enzyme-Linked-Fluorescent-Assay) est réalisée sur un automate d'immunoanalyse.

Réactifs mis en jeu :

Anticorps polyclonaux anti-p24 biotinylés
Cône sensibilisé par des anticorps monoclonaux anti-p24
Conjugué phosphatase alcaline-streptavidine
Substrat de la PAL[1] : 4-mthyl-ombelliférylphosphate (produit d'hydrolyse fluorescent)

[1] PAL : phosphatase alcaline

Document 8 : Extrait de la fiche technique du Kit PCR RealStar® Malaria Screen & Type et résultat d'un patient

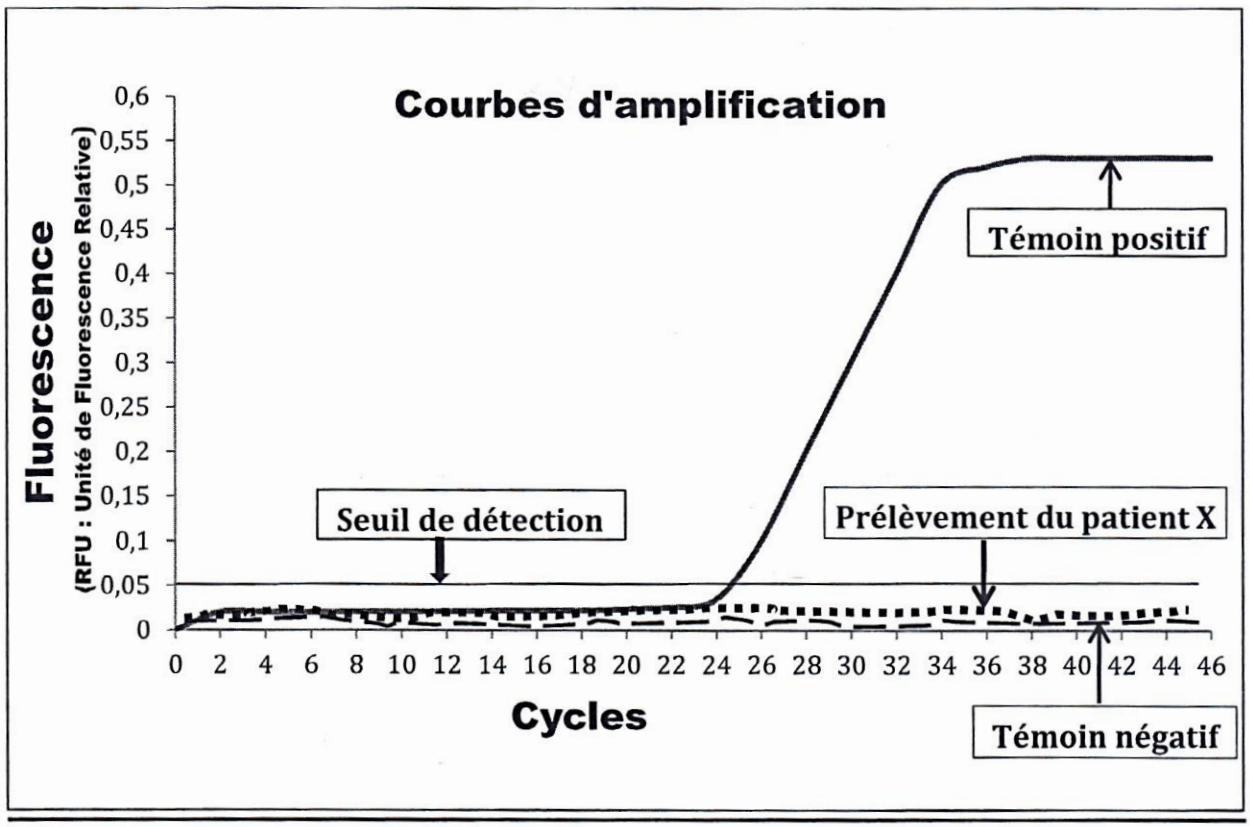
DESCRIPTION DU KIT ET USAGE PRÉVU

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR est un test de diagnostic *in vitro,* basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection qualitative et la différenciation de l'ADN des différentes espèces de *Plasmodium.*
La technologie PCR en temps réel, utilise une réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour l'amplification de séquences cibles spécifiques des différentes espèces de *Plasmodium.* L'utilisation de sondes spécifiques aux cibles marquées avec un marqueur fluorescent (reporter) et un désactivateur (quencher) permet la détection de l'ADN amplifié.

COMPOSANTS DU KIT

- Un témoin positif
- Un témoin négatif
- Réactif « Mastermix » contenant tous les éléments (tampon PCR, ADN Polymérase, sel de magnésium, amorces et sondes) nécessaires à l'amplification par PCR et à la détection des cibles spécifiques.
- L'utilisation de sondes associées à des colorants différents permet la détection en parallèle de l'ADN spécifique des différentes espèces pathogènes pour l'homme de *Plasmodium.*

RÉSULTATS PCR TEMPS RÉEL OBTENUS Á PARTIR DUN PRÉLÈVEMENT SANGUIN DU PATIENT X



Document 9 : Extrait du communiqué du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM / EUCAST avril 2020)

La présence d'une BLSE peut être confirmée par des méthodes quantitatives ou qualitatives :

• Les méthodes quantitatives peuvent consister en :

- la mesure d'une augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de céfotaxime, ceftazidime et céfépime combiné(s) à l'acide clavulanique comparativement à la zone d'inhibition autour de ce(s) même(s) disque(s) utilisé(s) sans acide clavulanique.
- la diminution d'au moins 3 dilutions de la CMI de ces céphalosporines mesurées en présence d'acide clavulanique. Toute synergie significative témoigne de la présence d'une BLSE et permet de distinguer ces enzymes de certaines β-lactamases plasmidiques non BLSE hyperproduites (OXA-1/30, SHV-1).

• La méthode qualitative peut consister en l'utilisation de la méthode de la synergie entre deux disques sur l'antibiogramme standard c'est-à-dire un disque de céfotaxime, ceftazidime, céfépime et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex. amoxicilline + acide clavulanique : AMC) distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de Champagne ».

Résultats partiels d'un antibiogramme d'une souche d'*Escherichia coli* réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Antibiotique testé	Diamètre mesuré (mm)
Céfotaxime (CTX)	14
Céfotaxime + acide clavulanique (CTX CLA)	25

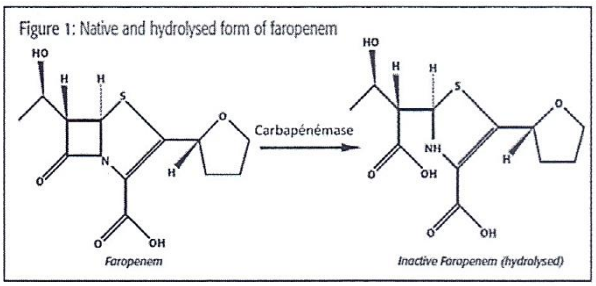
Document 10 : Technique de détection des carbapénémases par spectrométrie de masse

D'après l'étude : Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization -Time of Flight Mass Spectrometry pour la détection rapide de résistance aux antibiotiques. Mirande C., Canard I., Perrot N., Welker M., Van Belkum A. and Chatellier S. Research & Development Microbiology, bioMérieux, La Balme-les-Grottes, France

INTRODUCTION

La spectrométrie de masse (MS) est utilisée en routine pour l'identification des bactéries et des champignons.
Elle est testée dans cette étude pour mettre en évidence la présence de carbapénémase chez les bactéries.

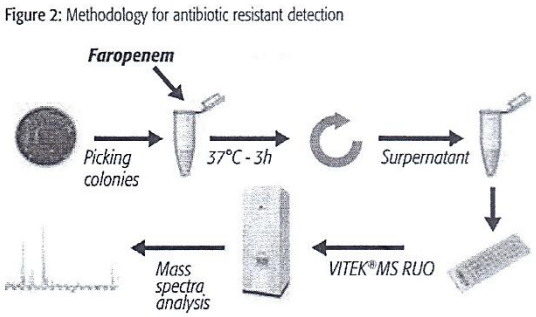
On cherche à détecter des produits d'hydrolyse de l'antibiotique par la β-lactamase. Dans les spectres de masse, l'hydrolyse du cycle β-lactame se traduit par :
- la disparition du pic de masse originel,
- l'apparition d'un pic ayant un décalage de masse de +18 Da (unité de masse moléculaire).



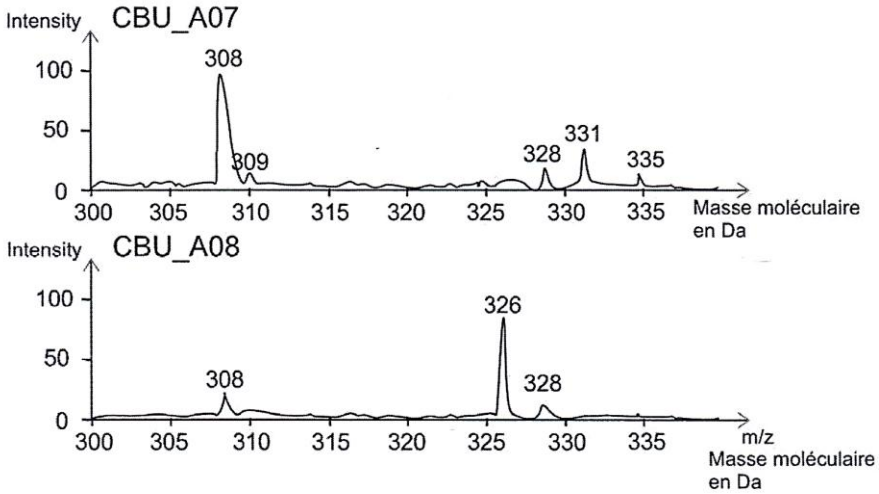
MÉTHODE

Une expérience utilisant du faropéneme de masse moléculaire 308 Da est réalisée sur deux souches bactériennes :

- Souche β-lactamase négative mise en présence de faropénème : le surnageant après incubation est déposé sur la plaque MALDI en position A07.
- Souche de *Klebsiella pneumoniae* à étudier mise en présence de faropénème : le surnageant après incubation est déposé sur la plaque MALDI en position A08.



SPECTRES OBTENUS



E43 Hématologie, Anatomopathologie et Immunologie 2021

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

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

CIRRHOSE HÉPATIQUE

Monsieur P, 40 ans, consulte son médecin généraliste car il se sent fatigué et perd du poids. Après un court interrogatoire et la mise en évidence d'un ictère et d'une hépatomégalie, le médecin suspecte une cirrhose hépatique. Les examens biologiques débutent par un hémogramme et un bilan standard de coagulation.

Après l'enregistrement en phase pré-analytique, les tubes sont distribués dans le secteur technique.

1. Hémogramme (4 points)

1.1. Choisir le tube de prélèvement sanguin à utiliser pour cette analyse.

L'hémogramme est réalisé sur un automate de marque Sysmex®.

Toute série d'analyses est encadrée par le passage des Contrôles Internes de Qualité (CIQ). Le matin, le CIQ de niveau bas du paramètre Volume Globulaire Moyen (VGM) génère une alarme de type 2S.

1.2. Indiquer pourquoi le technicien autorise le démarrage de l'analyse des tubes des patients.

En fin de série, le même contrôle génère la même alarme.

1.3. Indiquer la procédure à suivre suite à ce résultat.

Le CIQ a été validé.

1.4. Analyser les résultats de l'hémogramme de Mr P.

2. Bilan de coagulation (4,5 points)

2.1. Choisir le tube de prélèvement sanguin à utiliser pour cette analyse.

Ce bilan est réalisé sur un automate STA-R MAX2® de Stago®.

Cet automate fonctionne sur le principe de détection viscométrique du plasma après ajout de réactifs entrainant le processus de coagulation dans la cupule contenant l'échantillon plasmatique du patient.

2.2. Présenter le principe de la mesure d'un temps de coagulation par cet automate.

2.3. Interpréter les résultats obtenus pour chaque analyse de ce bilan et conclure.

2.4. Indiquer en quoi ces résultats sont en faveur du diagnostic envisagé par le médecin.

3. Dosage de la vitamine B12 et sérodiagnostic de l'hépatite B (5,5 points)

Une carence en vitamine B12 liée à l'alcoolisme ou une hépatite B chronique sont deux étiologies possibles de la cirrhose hépatique.
Le diagnostic différentiel peut être effectué par des analyses spécifiques. Elles sont réalisées sur un automate de type Cobas 6000®, Roche diagnostics®, par électrochimiluminescence selon le principe de compétition.

3.1. Indiquer, au regard des résultats de l'hémogramme de Mr P, l'intérêt du dosage de la vitamine B12. Préciser en quoi une carence en vitamine B12 peut expliquer l'anomalie constatée sur l'hémogramme.

3.2. Justifier le principe de compétition utilisé dans le dosage immunologique de la vitamine B12.

Le sérodiagnostic de l'hépatite B est réalisé selon la même méthode de dosage en électrochimiluminescence : par compétition des IgM anti HBc. (antigène capsidique du virus de l'hépatite B)

3.3. Lister les réactifs nécessaires pour ce test de sérodiagnostic de l'hépatite B.

3.4. Adapter le schéma de l'étape 5 au dosage des IgM anti HBc.

3.5. Discuter l'intérêt d'une recherche d'IgM anti HBc dans le cas de Mr P.

Une biopsie est prescrite pour vérifier le stade de la fibrose hépatique.
Une détermination de groupe sanguin ABO Rhésus est demandée dans le cadre du bilan pré-biopsie.

4. Groupage sanguin (3,5 points)

Cette analyse est réalisée sur un automate Saxoswing® utilisant des micro-cartes contenant des puits gélifiés.

4.1. Expliquer, après indication de la composition du gel, le comportement des hématies à l'issue de la centrifugation dans le test contrôle « ctl ».

4.2. Préciser l'information donnée par ce contrôle.

4.3. Analyser chaque résultat obtenu et conclure.

5. Anatomocytopathologie (2,5 points)

La biopsie hépatique est traitée préalablement à la réalisation de coupes histologiques colorées à HES (Hémalun Eosine Safran).

5.1. Préciser comment est réalisée l'étape de déshydratation du prélèvement.

5.2. Dégager l'intérêt de cette étape de déshydratation avant inclusion du prélèvement dans la paraffine.

5.3. Dégager l'intérêt de l'étape d'inclusion.

Au cours de la coloration Hémalun Eosine Safran (HES), l'hémalun colore le noyau alors que l'éosine teinte le cytoplasme.

5.4. Expliquer succinctement les différences d'affinités tinctoriales de ces compartiments cellulaires.

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Table de préconisation des tubes de prélèvements sanguins

Document 2 : Analyse et arbre décisionnel de vérification/validation des CIQ au poste d'hématologie

Document 3 : Résultats partiels de l'hémogramme de Monsieur P, réalisé sur automate XN3000 de Sysmex®

Document 4 : Principe de fonctionnement de l'automate d'hémostase STA-R MAX2® de Stago®

Document 5 : Résultats partiels du bilan de coagulation de Mr P

Document 6 : Principe du dosage immunologique de la vitamine B12 par compétition : méthode par électrochimiluminescence (ECL) sur le « Cobas 6000 » ® de chez Roche diagnostics®

Document 7 : Groupage sanguin par technique en carte avec des micro-puits gélifiés

Document 1 : Table de préconisation des tubes de prélèvements sanguins

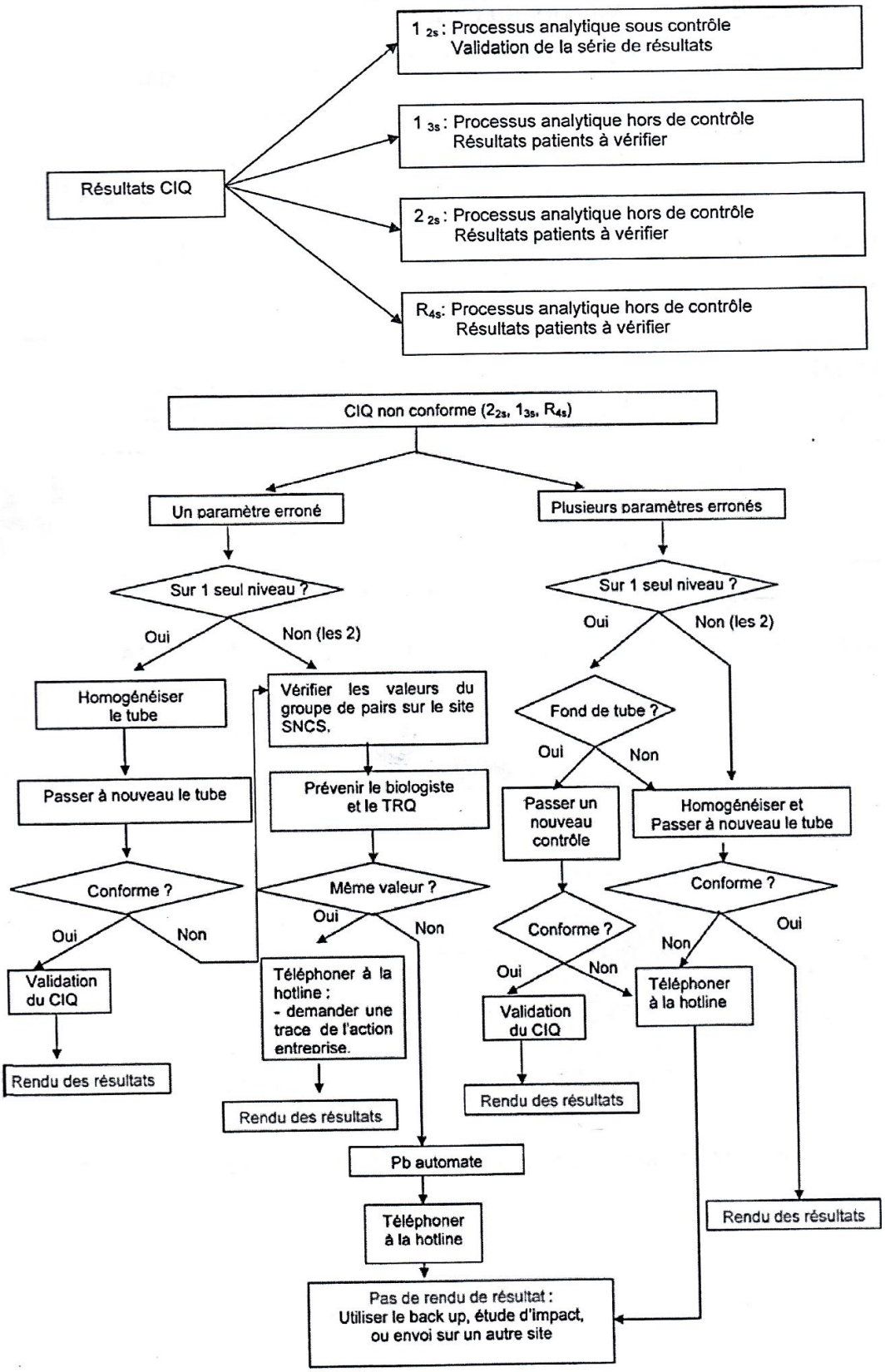
Ordre	Prélèvement avec dispositif à ailettes		Prélèvement avec aiguille Sécurisée
1	Avec Hémoculture 1.Aérobie 2.Anaérobie	Sans Hémoculture Tube de Purge	Commencer par le tube d'Hémostase
2	**Tube citraté d'hemostase** **Additif :** Le citrate de sodium inhibe l'activation de la coagulation, mais dilue le sang, d'où le rapport 1 vol. de citrate pour 9 vol. de sang et donc la nécessité d'un tube totalement rempli pour respecter ce rapport ***Homogénéisation du tube par 3 ou 4 retournements***		
3	**Tube avec ou sans gel séparateur** **Additif :** activateur de coagulation. ***Homogénéisation du tube par 5 retournements.***		
4	**Tube hépariné avec gel séparateur** **Additif :** L'héparine de lithium qui augmente la résistance à l'hémolyse, mais bloque irréversiblement la coagulation, modifie certaines propriétés ***Homogénéisation du tube par 8 à 10 retournements.***		
5	**Tube EDTA** **Additif :** L'éthylène diamine tétra acétate (anticoagulant anticalcique) qui dilue peu le sang et altère moins la morphologie cellulaire, mais qui entraîne une petite agrégation des thrombocytes. ***Homogénéisation du tube par 8 à 10 retournements.***		
6	**Autres tubes :** **Additif du tube gris :** Le fluorure oxalate qui inhibe la consommation de glucose par les globules rouges. **Additif du tube noir :** le citrate de sodium, comme le tube d'hémostase, mais avec une dilution différente (1 vol. de citrate pour 4 vol. de sang). La nécessité du tube suffisamment rempli est tout aussi importante. ***Homogénéisation du tube par 4 à 10 retournements.***		

Recommandations du NCCLS - 1999 - H3-A4 - § 7.13.3.2
Selon le Groupe d'Etude sur l'Hémostase et la Thrombose (GEHT) - Ann Bio Clin 2002 ; 60 (6:731-3)

Source : Service de Biologie Médicale Centre Hospitalier Sud Francilien 40 Avenue Serges Dassault 91106 CORBEIL ESSONNES, Janvier 2020

Document 2 : Analyse et arbre décisionnel de vérification/validation des CIQ au poste d'hématologie

Les résultats des CIQ sont analysés avec les deux échantillons de contrôle selon les règles suivantes



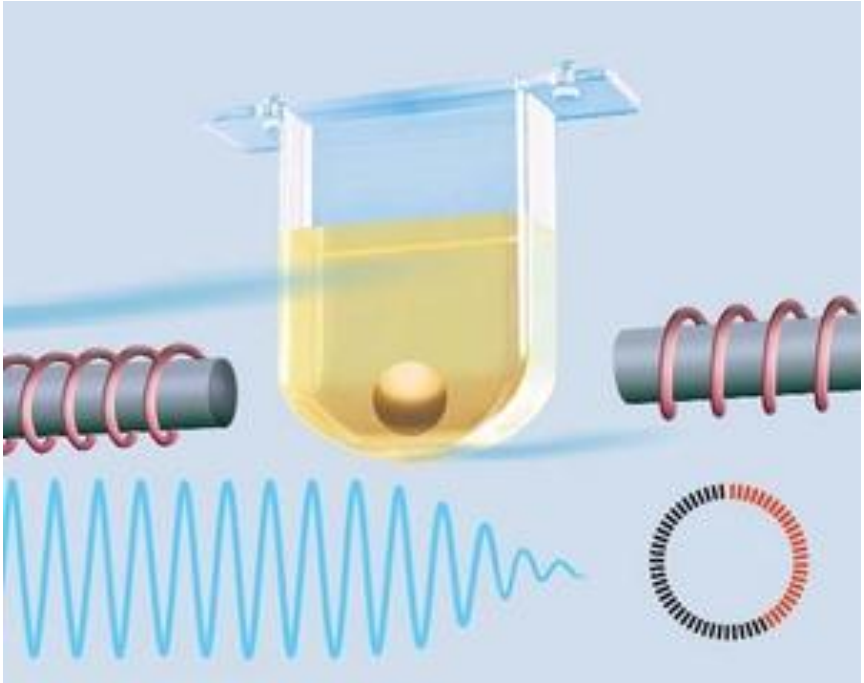
Documentation interne d'un LBM

Document 3 :

Résultats partiels de l'hémogramme de Monsieur P, réalisé sur automate XN3000 de Sysmex®

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
Leucocytes	$9\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$	4 à $10\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$
Thrombocytes	$152\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$	150 à $450\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$
Hématies	$3{,}9\ 10^{12} \cdot dm^{-3}$	$4{,}5$ à $5{,}8\ 10^{12} \cdot dm^{-3}$
Hémoglobine	$112\ g \cdot dm^{-3}$	130 à $170\ g \cdot dm^{-3}$
Hématocrite	$0{,}35\ L \cdot L^{-1}$	$0{,}40$ à $0{,}50\ L \cdot L^{-1}$
VGM	109 fL	82 à 97 fL
IDR	23 %	≤ 15 %
CCMH	$320\ g \cdot dm^{-3}$	320 à $360\ g \cdot dm^{-3}$
Réticulocytes	$76\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$	$\leq 150\ 10^{9} \cdot dm^{-3}$

Document 4 : Principe de fonctionnement de l'automate d'hémostase STA-R MAX2® de Stago®



Source : https://www.stago.fr/produits-services/analyseurs, Janvier2020

Document 5 : Résultats partiels du bilan de coagulation de Mr P

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
Thrombocytes	152 $10^9 \cdot dm^{-3}$	150 à 450 $10^9 \cdot dm^{-3}$
T.C.A	Témoin : 30 secondes Patient : 45 secondes	$\frac{TCA\ patient}{TCA\ témoin}$ <1,2
Taux de prothrombine	56 %	70 à 100 %
Fibrinogène	2,3 $g \cdot dm^{-3}$	2 à 4 $g \cdot dm^{-3}$

L'ensemble des contrôles internes de qualité effectués valide le bilan de coagulation.

ATTENTION : le document 6 est à la page suivante

Document 7 : Groupage sanguin par technique en carte avec des micropuits gélifiés

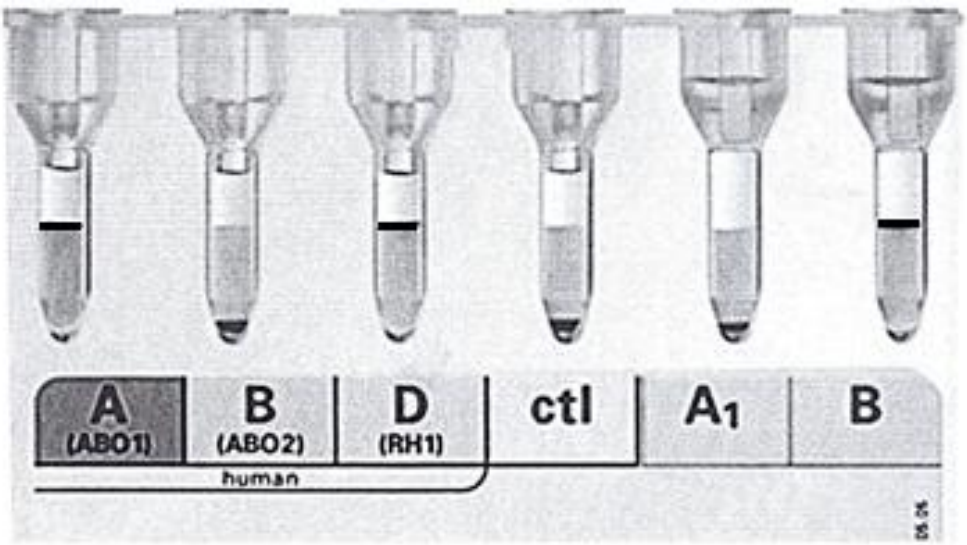
Principe du test

Destiné à la réalisation de l'épreuve globulaire ABO (microtubes A et B), de l'épreuve sérique de Simonin (microtubes A1 et B), et à la détermination de l'antigène RH1 (microtube D). Le test associe les principes d'agglutination et de filtration sur gel.

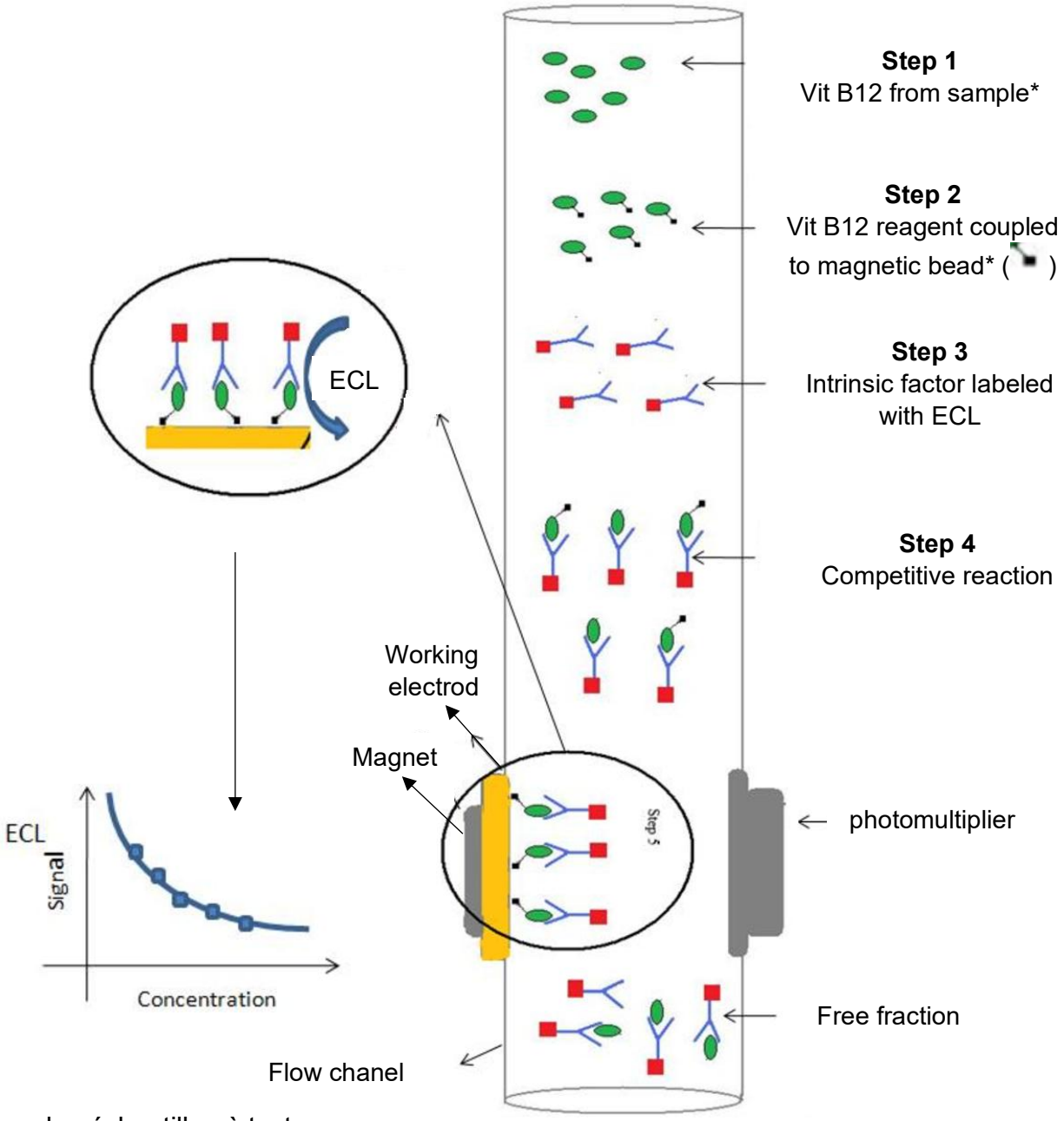
La réaction est obtenue et lue après centrifugation de microtubes spécialement conçus, contenant du gel, et en fonction des microtubes tests : des hématies, des solutions d'anticorps spécifiques ou du plasma.

Les globules rouges non agglutinés sont collectés au fond du tube tandis que les agglutinats sont retenus dans la hauteur du gel en fonction de leur taille.

Résultats de l'analyse réalisée sur le sang de Mr P.



Document 6 : Principe du dosage immunologique de la vitamine B12 par compétition : méthode par électrochimiluminescence (ECL) sur le « Cobas 6000 » ® de chez Roche diagnostics®



* sample : échantillon à tester
* magnetic bead : bille magnétique

Source: MEASUREMENT OF VITAMIN B 12 CONCENTRATION: A REVIEW ON AVAILABLE METHODS in IIOAB Journal 2(2):23-32 • January 2011 Ola Karmi and al; modifié.

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 oublis après l'impression… mais, cependant, 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

  christel.chatelais@ac-toulouse.fr

- ➪ de lire les éventuels erratums sur le site UPBM : http://www.upbm.org

SESSION 2020

E2 Mathématiques 2020 corrigé

Exercice 1 :

A.

1) **Réponse d.** $10\times1{,}3^5 \approx 37{,}1$ donc il y a environ **37** poissons au bout de 5 mois.

2) **Réponse b.** Les solutions de l'équation différentielle $y' + 0{,}3y = 0$ sont les fonctions définies sur $\mathbb{R}$ par $t \longmapsto Ce^{-0,3t}$ où $C \in \mathbb{R}$.

$g(t) = Ce^{-0,3t}$ *et* $g(0) = 10 \implies Ce^0=10$ *soit* $C = 10$. $\boldsymbol{g(t) = 10e^{-0,3t}}$

B. Étude statistique

1) *Attention, il y a une erreur d'énoncé. Les résultats ont été arrondis à 10^{-2}.*

Concentration en pesticide (en mg/l) (x_i)	0	1	4	5	6	7	8	10
Nombre d'œufs pondus dans le mois (N_i)	249	248	246	230	130	50	40	35
$y_i = -ln(\frac{250}{N} - 1)$	5,52	4,82	4,12	2,44	0,080	-1,39	-1,66	-1,82

2) **r ≈ - 0,95**. r est proche de -1. On peut en conclure qu'un ajustement affine du nuage de la série *(xi ; yi)* est approprié.

3) $y = -0{,}857x + 5{,}905$.

4)

a. Comme $y = -\ln\left(\frac{250}{N} - 1\right)$ et $y = -0{,}857x + 5{,}905$ alors $-\ln\left(\frac{250}{N(x)} - 1\right) = -0{,}857x + 5{,}905$

soit $\ln\left(\frac{250}{N(x)} - 1\right) = 0{,}857x - 5{,}905 \implies \boldsymbol{\frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x-5,905}}$

b. $\frac{250}{N(x)} - 1 = e^{0,857x-5,905} \implies \frac{250}{N(x)} = 1 + e^{0,857x-5,905} \implies \boldsymbol{N(x) = \frac{250}{1+e^{0,857x-5,905}}}$

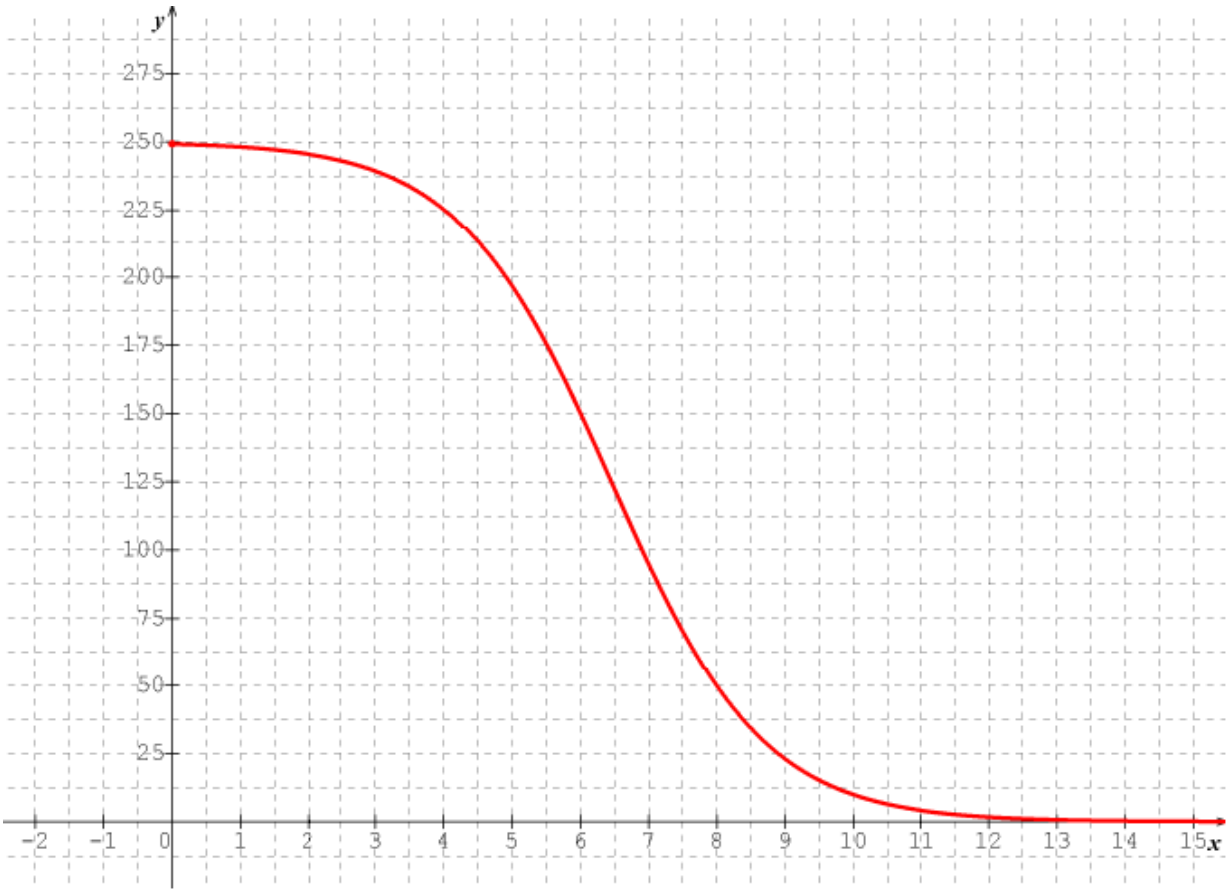
C. Étude de la fonction.

1) $\lim\limits_{x \to +\infty} f(x) = \mathbf{0}$ car $\lim\limits_{x \to +\infty} 0{,}9x = +\infty \Rightarrow \lim\limits_{x \to +\infty} e^{0{,}9x} = +\infty \Rightarrow \lim\limits_{x \to +\infty} 1 + 0{,}003\, e^{0{,}9x} = +\infty$

2) a. $f'(x) = 250 \times -\frac{0{,}003 \times 0{,}9 e^{0{,}9x}}{(1+0{,}003e^{0{,}9x})^2} = \frac{\mathbf{-0{,}675e^{0{,}9x}}}{(\mathbf{1+0{,}003e^{0{,}9x}})^2}$

b. $\boldsymbol{f'(x)}$ **< 0** pour tout $x \in [0\ ;\ +\infty[$ car $e^{0{,}9x} > 0$ et $(1 + 0{,}003e^{0{,}9x})^2 > 0$.
Par conséquent, $\boldsymbol{f}$ **est strictement décroissante sur [0 ; +∞[.**

3)



4) Si l'eau est sans pesticide, le nombre de poissons est égal à $f(0) = \frac{250}{1{,}003} \approx 249{,}3$.
On cherche donc la concentration x qui correspond donc la moitié de $f(0)$ soit environ 124,6.
A l'aide du mode GRAPH de la calculatrice, $x \approx$ **6,5 mg/l.**

On peut également résoudre l'équation $f(x) = \frac{250}{2{,}006}$:

$\frac{250}{1+0{,}003e^{0{,}9x}} = \frac{250}{2{,}006} \Rightarrow 1 + 0{,}003e^{0{,}9x} = 2{,}006 \Rightarrow e^{0{,}9x} = 335{,}3333 \Rightarrow x = \frac{\ln(335{,}3333)}{0{,}9} \approx 6{,}5.$

5)

$\frac{1}{6-4}\int_4^6 f(x)dx = \frac{1}{2}$ [F (6) – F (4)]

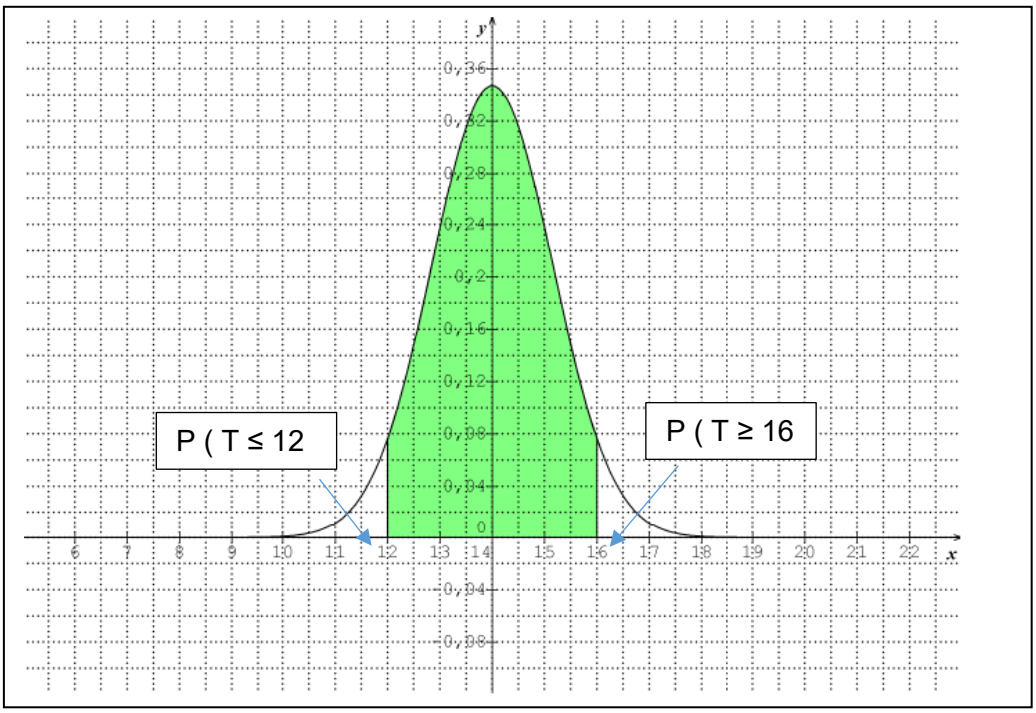
$= \frac{1}{2}\left[-\frac{2500}{9}\ln(e^{-5,4}+0,003)+\frac{2500}{9}\ln(e^{-3,6}+0,003)\right] \approx$ **194 œufs pondus en moyenne par mois pour des concentrations en pesticides comprises entre 4 et 6 mg/l.**

Exercice 2 :

A. Étude du taux d'hémoglobine chez la femme en France

1) P (T ≤ 12) ≈ **0,041** .

2) P (T ≥ 16) ≈ **0,041** . Comme $\mu = 14$, alors P(T ≤ 12) = P (T ≥ 16) .



B. Prévisions d'erreurs d'analyses.

1) On répète 300 fois de manière indépendante une même épreuve qui admet deux issues : succès : « l'analyse est erronée » p = 0,005 et échec : « l'analyse est exacte » 1-p = 0,995. X, nombre de succès, suit donc la **loi binomiale de paramètres 300 et 0,005**.

2)

a. La probabilité qu'aucune des 300 analyses de l'échantillon ne soit erronée est égale à **P (X = 0) ≈ 0,222.**

b. P(2 ≤ X ≤ 4) = P (X = 2) + P (X = 3) + P (X = 4) ≈ **0,424** .

La probabilité qu'il y ait de 2 à 4 analyses erronées parmi les 300 analyses de l'échantillon est égale à environ 0,424.

C. Délai des résultats des analyses du taux d'hémoglobine

1)

On pose Z = $\frac{\bar{Y}-60}{1,5}$. Ainsi Z suit la loi normale centrée réduite.

$P(60 - h \leq \bar{Y} \leq 60 + h) = P\left(-\frac{h}{1,5} \leq Z \leq \frac{h}{1,5}\right) = 0,95 \Longrightarrow \frac{h}{1,5} \approx 1,96 \Longrightarrow h \approx$ **2,94**.

2)

Règle de décision du test :

On prélève un échantillon de 100 analyses et on calcule le délai moyen pour fournir le résultat m.

- si m $\in$ I ≈ [57,06 ; 62,94] on accepte H_0 et on rejette H_1 ;
- si m $\notin$ I ≈ [57,06 ; 62,94] on rejette H_0 et on accepte H_1.

3) 62,5 $\in$ I ≈ [57,06 ; 62,94]. On accepte l'hypothèse H_0 et on rejette H_1.

On peut conclure que le laboratoire a raison quand il affirme que le délai moyen pour fournir les résultats d'une analyse du taux d'hémoglobine est de 60 minutes.

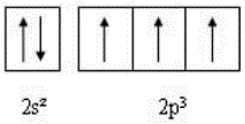
Exercice I : La place du fer dans l'hémoglobine

1. Etude structurale

Q1. Configuration électronique de l'atome d'azote :

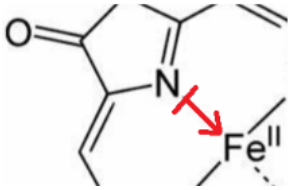
Z = 7 d'où la configuration de N : $1s^2\ 2s^2\ 2p^3$

Q2. Cases quantiques de la couche de valence de l'atome d'azote N :



Rappel du schéma de Lewis de l'azote N :

La présence du doublet d'électrons libre ($2s^2$) sur l'atome d'azote assure la liaison formée par le ligand avec les ions Fer II.



Q3. Il s'agit d'une géométrie de type AX_6 car le complexe est formé de 6 ligands entourant l'ion fer II.

D'après les règles de Gillespie (voir tableau), nous pouvons en déduire qu'il s'agit d'une géométrie octaédrique.

2. L'anémie microcytaire

Q4. Une anémie ferriprive liée à une carence en fer conduit à une diminution de la production d'hème, structure indispensable à la synthèse de l'hémoglobine (voir document sujet). Par voie de conséquence, une carence en fer provoque une diminution de production d'hémoglobine dans le sang.

Q5. L'essoufflement dont souffre la patiente est dû à un manque d'oxygène dans le sang. En effet, la carence en fer provoque un manque d'hémoglobine et donc un manque d'oxyhémoglobine. S'il y a moins d'oxyhémoglobine, il y aura donc moins d'oxygène transporté dans le sang d'où l'essoufflement provoqué.

Exercice II : Analyse des globules rouges

1. Intérêt de l'objectif à immersion à huile

Q 6.1. Le pouvoir de résolution du microscope est la plus petite distance entre deux points d'un objet que l'on peut distinguer avec le microscope.

Q 6.2. Lorsqu'il y a immersion dans l'huile, l'indice de réfraction « n » augmente comparé à celui de l'air (à sec). Ainsi l'ouverture numérique O.N = n x Sin(u) augmente aussi et comme celui-ci est placé au dénominateur, le pouvoir de résolution AB_{min} diminue d'après la relation :

$$AB_{min} = \frac{0{,}61 \text{ x } \lambda}{O.N}$$

L'avantage d'un objectif à immersion à huile est de diminuer la distance de résolution et donc de pouvoir distinguer deux points plus proches sur un objet observé.

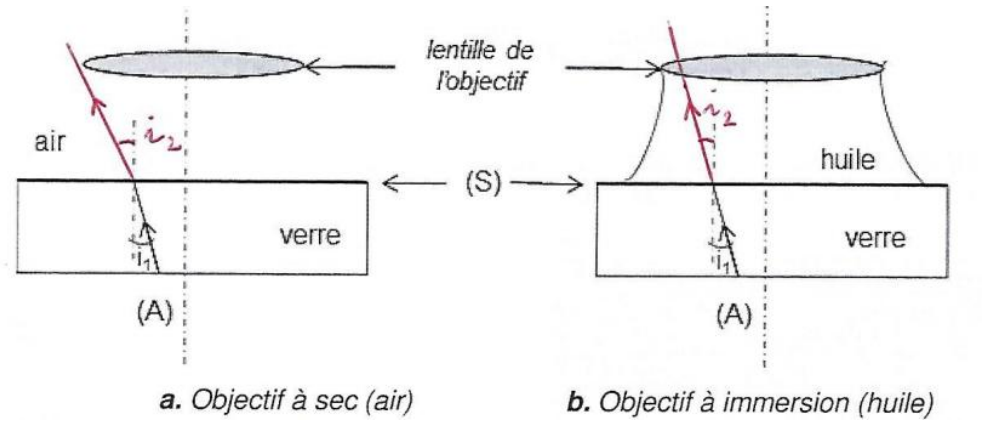
Q 7. Loi de Snell-Descartes mise en jeu :

$$n_1 \times \sin i_1 = n_2 \times \sin i_2$$

Q 8. Nous appliquons la relation précédente dans les deux cas suivants :

Objectif à sec (air)	Objectif à immersion (huile)
$\sin i_2 = \frac{n_{verre} \cdot \sin i_1}{n_{air}} = \frac{1{,}515 \cdot \sin 20}{1{,}000} = 0{,}518$	$\sin i_2 = \frac{n_{verre} \cdot \sin i_1}{n_{huile}} = \frac{1{,}515 \cdot \sin 20}{1{,}518} = 0{,}341$
D'où $i_2 = \sin^{-1}(0{,}518) = 31{,}2° \approx 31°$	D'où $i_2 = \sin^{-1}(0{,}341) = 20°$

Q 9.



a. Objectif à sec (air) *b. Objectif à immersion (huile)*

Q 10. D'après la figure précédente, on remarque que les rayons sont moins déviés au passage dans l'huile que dans l'air ainsi, l'objectif pourra recevoir davantage de rayons lumineux issus de l'objet.

2. Étude du frottis sanguin de la patiente

Q 11. Le grossissement du microscope utilisé est G_{micr} = 1 000 (voir fig. 2)

L'oculaire utilisé possède un grossissement (x10) soit G_{oc} = 10

Sachant que $G_{micr} = G_{oc} \times |\gamma_{obj}|$ on en déduit que $\gamma_{obj} = \frac{G_{micr}}{G_{oc}} = \frac{1\,000}{10} = 100$

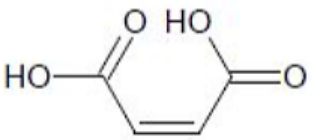
Q 12. D'après l'échelle : 1,5 cm représente 10 µm ;
La taille moyenne mesurée des globules rouges est d'environ 0,9 cm soit 6 µm ;
On constate donc qu'ils sont plus petits que ceux de taille normale d'un organisme sain (7 µm)

De plus on remarque que le taux d'hémoglobine de 89 $g.L^{-1}$ est inférieur à celui de référence 125 – 155 $g.L^{-1}$ pour une femme.
On en déduit donc que la patiente souffre d'une anémie de type microcytaire.

Exercice III : Étude d'un complément alimentaire à base de fer

1. Étude de l'acide fumarique

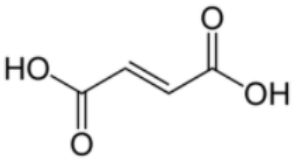
Q 13. Diastéréoisomère de l'acide fumarique :

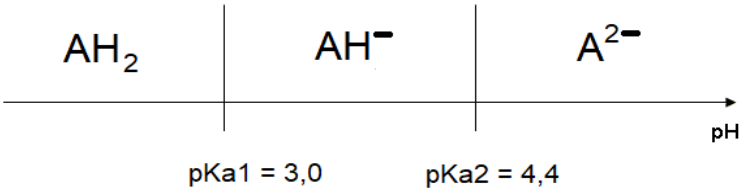


2. Préparation d'une solution à partir d'un comprimé de Fumafer®

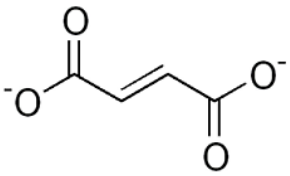
Q 14. Diagramme de prédominance des couples :

Rq : *pour simplifier on utilisera la notation* $\boldsymbol{AH_2}$ *pour représenter :*





Le pH de la solution étant de 5,6 donc supérieur à pKa_2, on en déduit que l'espèce prédominante dans la solution S est l'ion $\mathbf{A^{2-}}$ c'est-à-dire le fumarate :



3. Titrage du fer :

Q 15. Oxydation : $Fe^{2+}_{(aq)} \rightleftharpoons Fe^{3+}_{(aq)} + e^-$

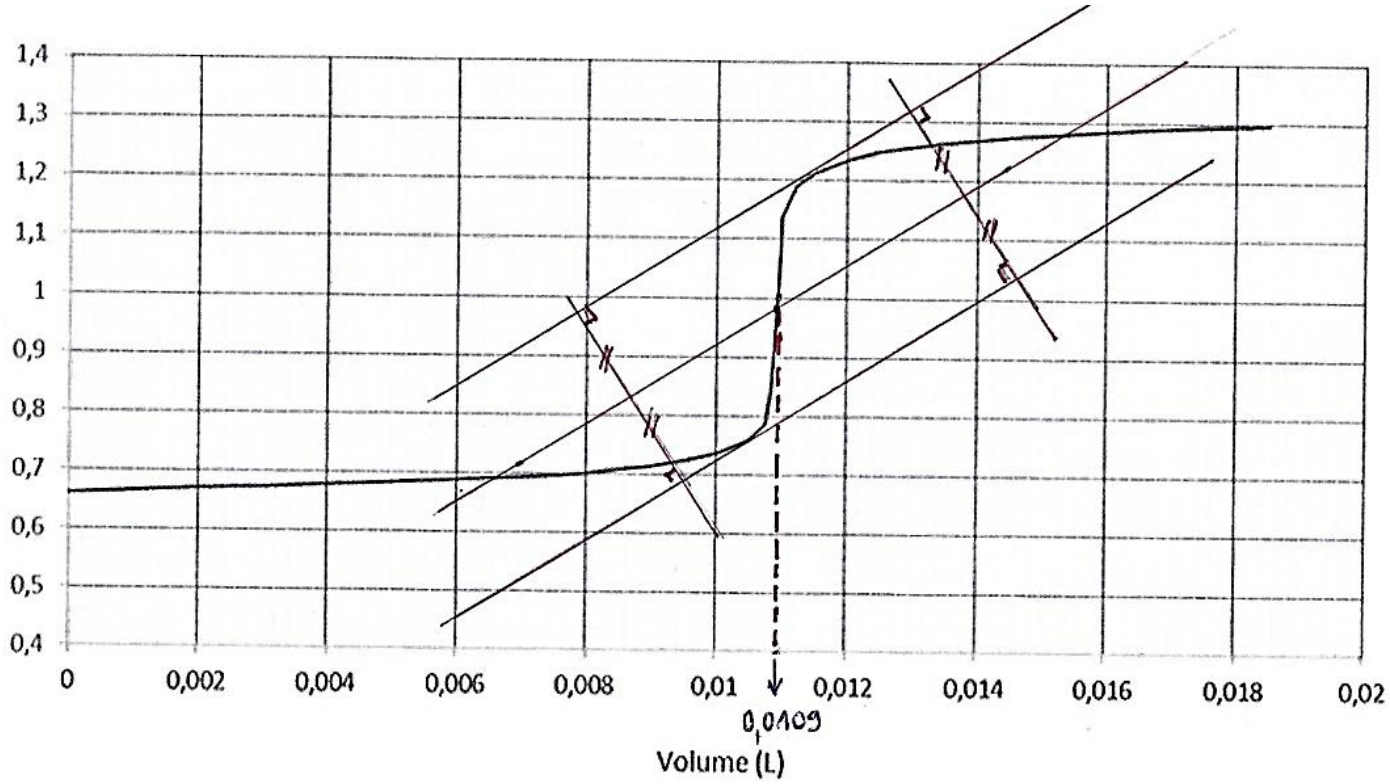
Réduction : $Ce^{4+}_{(aq)} + e^- \rightleftharpoons Ce^{3+}_{(aq)}$

Equation de réaction : $Fe^{2+}_{(aq)} + Ce^{4+}_{(aq)} \rightarrow Fe^{3+}_{(aq)} + Ce^{3+}_{(aq)}$

Q 16. Nous appliquons la méthode des tangentes :

Le volume lu à l'équivalence est : $V_E = 0{,}0109\ L = 10{,}9\ mL$

<u>3A- Première exploitation de la courbe</u> : vérification de la quantité de fer dans le médicament.



Q 17. A l'équivalence, les réactifs titré et titrant ont été introduits dans les proportions stœchiométriques de l'équation de la réaction support de dosage :

$n(Fe^{2+})_{dosé} = n(Ce^{4+})_{versé}$ d'où $n(Fe^{2+})_{dosé} = C \times V_E = 0,10 \times 0,0109 = 1,09.10^{-3}$ mol

Q 18. Déterminons la masse correspondant à cette quantité de matière en Fer II :

$m(Fe^{2+}) = n(Fe^{2+}) \times M(Fe) = 1,09.10^{-3} \times 55,8 = 6,1.10^{-2}$ g soit m = 61 mg

Cette valeur est cohérente avec l'indication de la boite sachant qu'on obtient un écart relatif de :

$$(|66 - 61| / 66) \times 100 = 7,5\ \% < 10\ \%$$

<u>3B- Deuxième exploitation de la courbe</u> : détermination du potentiel standard du couple $Fe^{3+}_{(aq)} / Fe^{2+}_{(aq)}$.

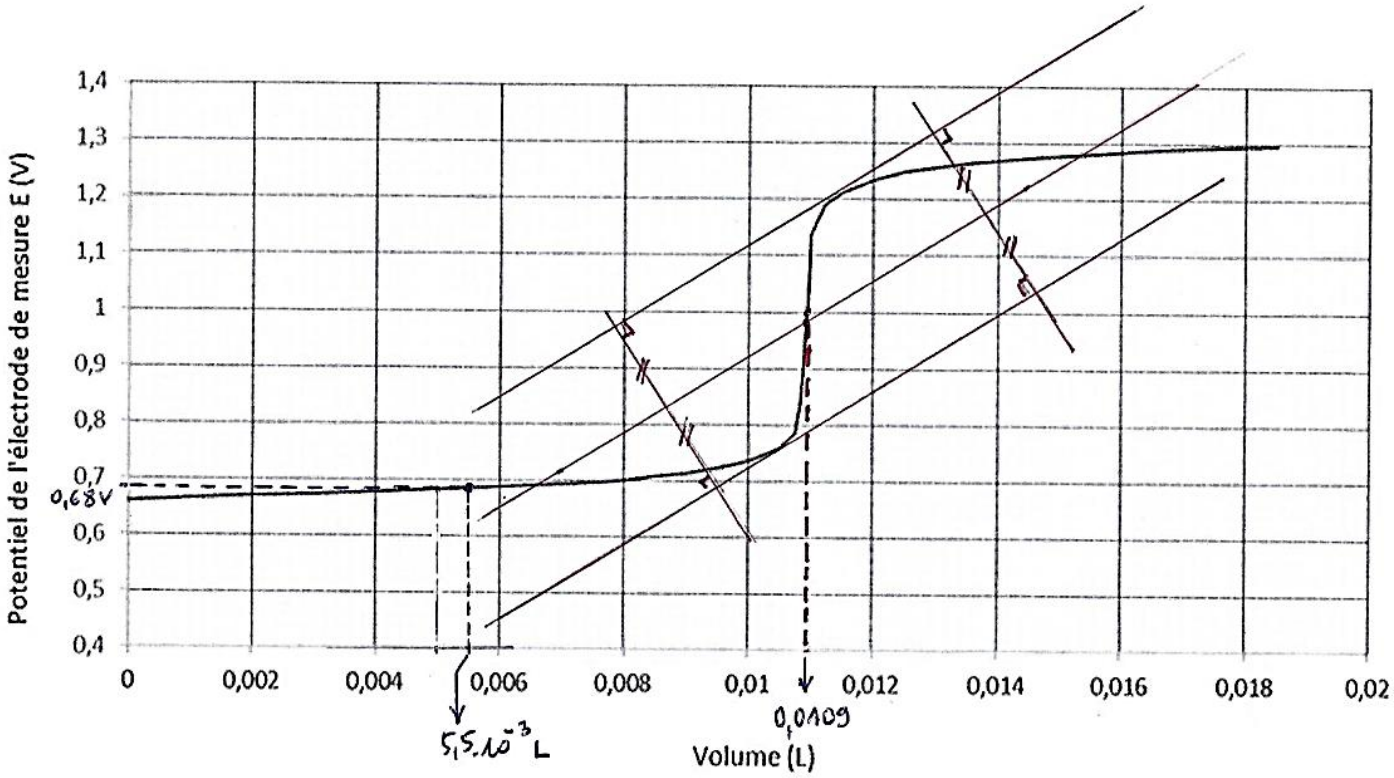
Q 19. Ecrivons l'équation de Nernst dans les conditions standards pour le couple Fe^{3+}/Fe^{2+} :

$$E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} = E^0_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} + 0,059 \times \log\frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}$$

A la demi-équivalence $[Fe^{3+}] = [Fe^{2+}]$ d'où $\log\frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} = 0$

ce qui conduit à : $E_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} = E^0_{Fe^{3+}/Fe^{2+}}$

Q 20. Graphiquement on lit sur la courbe : $E^0_{Fe^{3+}/Fe^{2+}} = 0{,}68\ V$



LES DIABETES

1. Le diabète sucré et son métabolisme

1.1. Le glucose et son métabolisme

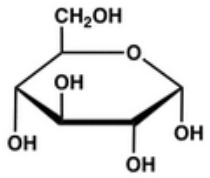
1.1.1. La glycémie de la patiente est de 25,00 mmol/L. Les valeurs de référence sont de 4,07 à 5,83 mmol/L. Patient en hyperglycémie.

1.1.2. Le réactif R1 contient les substrats autres que le glucose : ATP, NAD^+, les enzymes : HK, G-6-PDH et le tampon avec des ions Mg^{2+}.

1.1.3. Temps minimal pour une réaction terminée car méthode point final.

1.1.4. L'absorbance augmente car le $NADH,H^+$ apparaît et c'est cette forme qui absorbe à 340 nm.

1.1.5 Formule du glucose :



Structure du glycogène : Le glycogène est une molécule ramifiée résultant de l'enchaînement d'α D-glucopyranoses reliés par des liaisons osidiques α 1-4 et α 1-6 (ramifications).

Organe de stockage : foie.

1.1.6 1 – Glycogénogénèse, 2- Glycogénolyse, 3 – Glycolyse, 4 – Néoglucogénèse

1.1.7 Mécanisme de régulation : modification covalente : phosphorylation/déphosphorylation
Insuline est une hormone hypoglycémiante, elle active donc les enzymes qui interviennent dans la mise en réserve du glucose c'est à dire dans la glycogénogénèse donc active E1.

1.2. Diabète et acidose

1.2.1 Appareil de mesure des gaz du sang utilisant des électrodes (électrode de verre et électrodes sélectives)

1.2.2 pH de la patiente =7,170 inférieur aux normes : 7,350 à 7,450 donc acidose.
La cause de l'acidose est soit une augmentation de la pCO_2 soit une diminution de la $[HCO_3^-]$, ici c'est $[HCO_3^-]$ qui est inférieur aux normes donc acidose d'origine métabolique.

1.2.3 Foie par cétogenèse.

1.2.4 Les corps cétoniques sont synthétisés à partir d'acétylCoA. Si diabète (manque de glucose) ce sont les acides gras qui servent de source d'énergie et qui par β-oxydation donnent l'acétylCoA qui s'accumule (car ne peut subir le Cycle de Krebs) pour ensuite donner les corps cétoniques.

1.2.5 Deux organes : cœur, muscles, cerveau.

2. Le suivi du diabète sucré

2.1 Dosage de l'hémoglobine glyquée par HPLC

2.1.1 Hb glyquée se forme par fixation covalente de glucides et reflète la glycémie sur environ les 3 mois précédents le dosage.

2.1.2 Sur le sang total avec anticoagulant car l'hémoglobine est dans les hématies.

2.1.3 La HPLC par échange d'ions : ici des cations. Les différentes fractions d'hémoglobine sont donc chargées positivement au départ et fixées à la phase fixe. L'élution se fait en ajoutant un tampon de force ionique croissante dont les ions vont entrer en compétition avec les molécules d'Hb fixées et les décrocher progressivement.

2.1.4 Les Hb sont éluées dans l'ordre suivant : HbA1a, HbA1b, HbA1c puis HbA0. Les Hb les moins chargées positivement sont éluées en premier.

2.1.5 EG : % HbA1c = (Aire pic HbA1cx100)/ Aire totale
EVN : % HbA1c = (114332 x 100)/1765186

2.1.6 Parmi les techniques proposées dans le document 6, on peut citer les électrophorèses, les techniques enzymatiques, les méthodes immuno-turbinimétriques.

2.2 Contrôle national de qualité sur l'hémoglobine glyquée

2.2.1 CQI : Valeur cible connue, fréquent, organisé en interne
CQE : valeur cible non connue, moins fréquent, organisme extérieur ...autres.

2.2.2 Nombre de laboratoires ayant participé à cette campagne : 934
Nombre de laboratoires réalisant ce dosage avec le même automate (VARIANT II de BioRad) :41

2.2.3 L'appareil le plus fidèle est celui dont le CV ou l'écart type est le plus faible donc ici : CV=1.2 % avec le TRINITY MENARINI

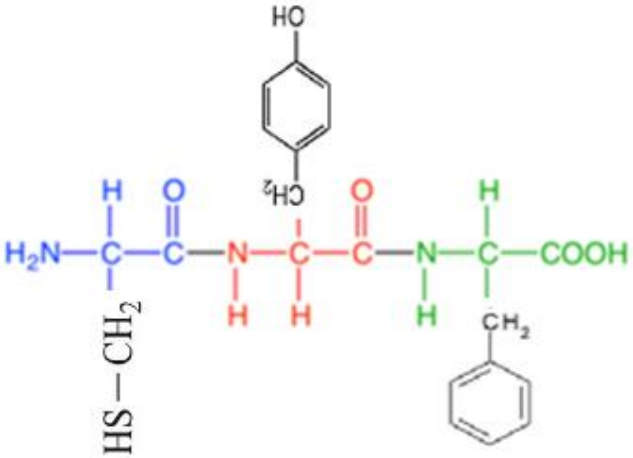
2.2.4 Valeur cible échantillon (H21) = 4,83 %.
Calcul du biais : biais = [Moyenne éch – Moyenne cible]
Pour le variant II : Biais = [4,80 - 4,83] =0,03 %
Pour le TRINITY MENARINI : Biais = [4,95 - 4,83] =0,12 %
L'appareil le plus juste est celui dont le biais est le plus faible donc le variant II

2.2.5 Réaliser des essais sur un échantillon testé en conditions de fidélité intermédiaire ou reproductibilité

3. Le diabète insipide

3.1. L'hormone antidiurétique ADH

3.1.1 Tripeptide avec αNH_2 à gauche et αCOOH à droite, liaisons peptidiques justes



3.1.2 ADH est une hormone peptidique donc hydrophile, elle ne peut donc traverser la membrane plasmique (centre hydrophobe) : le récepteur doit être membranaire.

3.2. Le rein et le mode d'action de l'ADH

3.2.1 1-Glomérule 2-Capsule de Bowman 3-Anse de Henlé
4-Tube contourné proximal 5-Tube contourné distal 6-Canal collecteur

3.2.2 <u>La filtration glomérulaire :</u> passage des solutés de petite taille du sang vers l'urine primitive (capsule) : protéines ne passent pas.
<u>La réabsorption tubulaire :</u> passage des solutés des tubules vers le sang
<u>La sécrétion tubulaire :</u> passage des solutés des cellules tubulaires vers l'urine définitive

3.2.3 L'ADH se fixe à son récepteur membranaire – via protéine G – augmentation du taux d'AMPc – activation d'une protéine kinase- augmentation de l'intégration des aquaporines dans la membrane apicale de la cellule tubulaire – passage d'eau de l'urine vers sang via la cellule : diminution de la diurèse.
Si défaut d'ADH, pas d'aquaporine et donc pas de réabsorption d'eau : diurèse augmente.

3.2.4 Synthèse des aquaporines grâce aux ribosomes fixés au réticulum endoplasmique : intégration dans la membrane des vésicules d'exocytose puis via l'appareil de Golgi, fusion de la vésicule avec la membrane cytoplasmique

SIDA ET INFECTIONS OPPORTUNISTES ASSOCIÉES

1. L'infection par le VIH

1.1. Données épidémiologiques

1.1.1. Pandémie : propagation d'une maladie à l'échelle mondiale. Elle se définit par le fait qu'elle touche une partie importante de la population, dépassant largement les frontières et favorisée par les moyens de communication.

1.1.2. Expliquer l'augmentation de la prévalence (nombre de personnes infectées) malgré la baisse de l'incidence (nombre de nouvelles personnes infectées).

La prévalence est plus importante car les progrès de la thérapie ont diminué de 51% la mortalité depuis 2004.

1.2. Caractéristiques des VIH

1.2.1. Donner les caractéristiques structurales du VIH.

Le core viral comprend :
- 3 protéines virales qui composent la capside conique hélicoïdale (p24CA), la nucléocapside (p7NC) et la matrice (p17MA).
- Les enzymes virales : la transcriptase inverse, l'intégrase et la protéase.
- Le génome viral formé de 2 molécules ARN simple brin à polarité positive, homologues.

L'enveloppe virale, double couche de phospholipides d'origine cellulaire (membrane) associée à 2 glycoprotéines virales qui forment les spicules : gp41 transmembranaire liée à la sous unité gp120.

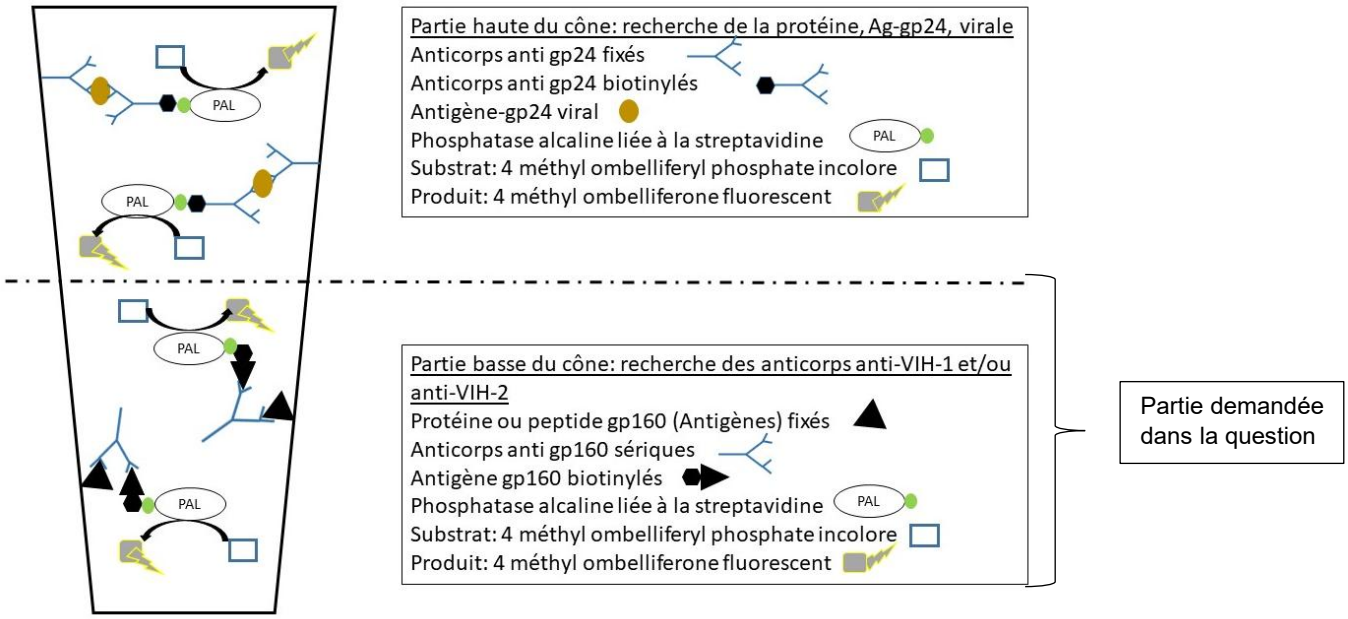
1.2.2. Décrire les étapes du cycle de multiplication virale du VIH.

1- Attachement du virus sur le récepteur CD4 du lymphocyte T4 (interaction entre la protéine gp120 et le CD4). Modification de la conformation démasquant la gp41 qui s'ancre à la membrane cellulaire.
2- Fusion des enveloppes membranaires virale et cellulaire permettant la pénétration cytoplasmique de la nucléocapside. Décapsidation de l'ARN viral.
3- La transcriptase inverse présente dans la nucléocapside virale transcrit l'ARN viral en ADN viral double brin.
4- Migration de l'ADN viral dans le noyau cellulaire et intégration à l'ADN du Lymphocyte T4 grâce à l'intégrase virale, formant un provirus.
5- Transcription de l'ADN viral en ARN messager ou ARN viral par l'ARN polymérase cellulaire.
6- Sortie du noyau des ARN qui vont constituer le génome du virus (ARN viral)
7- Ou être traduits en protéines virales (ARNm)
8- Assemblage des constituants du virus (nucléocapside, protéines, ARN).
9- Sortie de la cellule par bourgeonnement formant des nouveaux virions enveloppés recouverts de protéines virales.

1.3. Diagnostic de l'infection par le VIH

1.3.1. Édifice moléculaire obtenu pour un résultat positif à l'anticorps anti-VIH 1 (représenter uniquement la recherche de l'anticorps anti-VIH1, sur la partie basse du cône).

VIDAS® HIV DUO Quick de BioMérieux®



1.3.2. Indiquer le rôle des étapes de lavage.
Elles permettent d'éliminer les composants non fixés comme antigènes gp160 biotinylés, la phosphatase alcaline-streptavidine.

1.3.3. Interpréter les résultats du patient X.
Contrôle négatif: value r= 0,20 < 0,25: résultat négatif confirmant la spécificité du test,
Contrôle positif: valeur = 0,50 ≥ 0,25 : résultat positif confirmant la fonctionnalité du test.
Les deux contrôles sont donc validés.
Résultat du patient valeur = 0,80 >0,25 donc résultat positif, le patient possède des anticorps anti VIH dans son sérum.

2. Des infections opportunistes associées : les pneumopathies bactériennes

2.1. Examen direct d'un prélèvement trachéo-bronchique

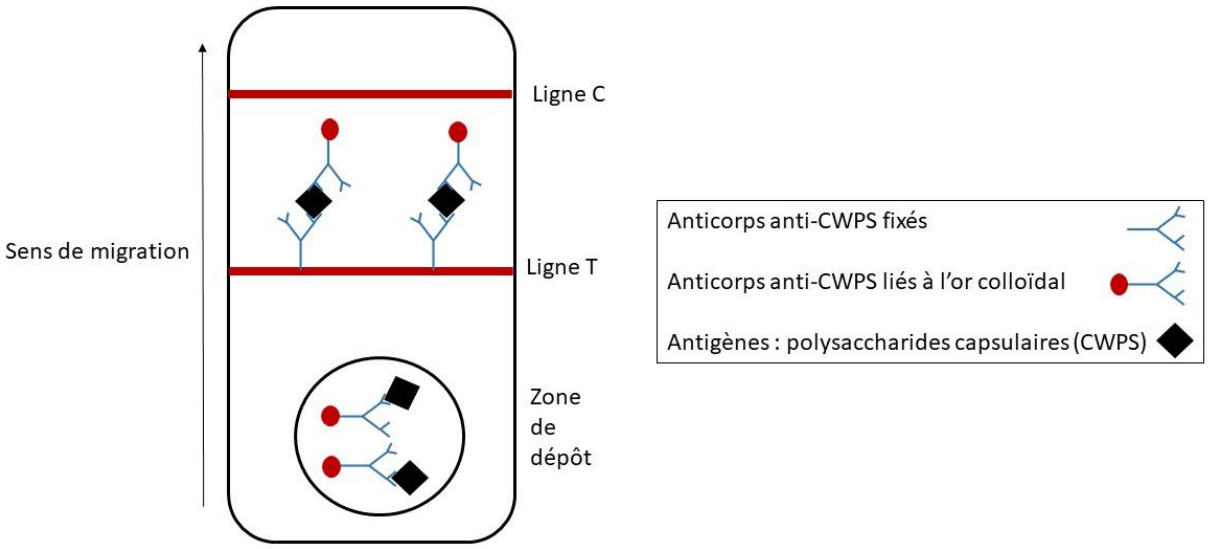
2.1.1. La coloration de Ziehl Neelsen est spécifique aux mycobactéries qui ayant une paroi de structure particulière (acides mycoliques-arabinogalactane) ne sont pas colorables au Gram. La fuchsine de Ziehl peut traverser la paroi et colorer les bactéries en rose.

2.1.2. Sur un frottis d'expectoration de pneumocoques après coloration de Gram, on observera des diplocoques Gram positif capsulés, entouré d'un halo clair, sur fond de cellules bronchiques et de leucocytes roses.

2.1.3. Un protocole de contrôle qualité de la coloration de Gram peut être réalisé en utilisant des souches référencées Gram positive et Gram négative (ATCC, CIP). Le résultat sera ensuite comparé avec celui attendu pour vérifier la concordance.

2.2. Diagnostic des infections à pneumocoques

2.2.1. Schéma de la zone test de la cassette après dépôt de la solution de contrôle positif.



2.2.2. La molécule immobilisée sur la zone de contrôle peut être :
- un anticorps anti-anticorps qui liera les anticorps anti-CWPS liés à l'or colloïdal qui seront restés libres,
- des polysaccharides capsulaires (Antigènes) qui seront reconnus par les anticorps anti-CWPS liés à l'or colloïdal qui seront restés libres.

2.2.3. Analyser les résultats obtenus pour le patient X.
- **Ligne C visible** dans les deux tests indique que la migration des molécules a été complète et au-delà de la ligne T. Permet de valider les résultats des deux tests.
- **Le contrôle positif** testé présente une ligne T positive prouvant la fonctionnalité du test.
- **Le résultat du patient X** peut être lu ; Absence de ligne T visible, l'urine du patient ne contient pas de polysaccharides capsulaires de pneumocoque ; le patient n'est pas infecté par *Streptococcus pneumoniae*.

2.2.4. Les conditions de délai d'analyse et de conservation des échantillons très courts (2 heures) sont dues à la fragilité des bactéries. Elles limitent également la prolifération des micro-organismes des voies aériennes supérieures qui ont contaminé l'expectoration.

2.2.5. Détermination de la qualité du prélèvement (expectoration)

Cellules	Nombre/ champ	Proportion	Score de Murray	Indication de mise en culture
Épithéliales	16	10-25	4	oui
Leucocytes	55	>25		

Le prélèvement est de qualité suffisante pour pouvoir être analysé.

2.2.6. Le milieu et les conditions d'incubation recommandés pour isoler le pneumocoque sont la gélose au sang + ANC (Acide Nalidixique-Colistine) ; milieu sélectif des *Streptococcus*, incubée à 37 °C sous 5% de CO_2 pendant 24 heures.
On obtiendra des colonies translucides α hémolytiques (hémolyse incomplète donnant un aspect verdâtre à la gélose).

2.3. Antibiothérapie

2.3.1. La concentration minimale inhibitrice en céfotaxime pour la souche de pneumocoque isolée est comprise entre 0,500 et 1 mg/L :

- une croissance est visible jusqu'à la concentration 0,500 mg/l (cupule trouble), bactérie résistante à cette concentration en antibiotique : CMI > 0,55 mg/L.
- absence de culture dans la cupule 1 mg/L, bactérie sensible : CMI ≤ 1 mg/L.

Selon le CA-SFM, pour le céfotaxime, une bactérie est sensible si CMI ≤ 0,5 mg/L et résistante si CMI > 2 mg/L. Dans ce cas, 0,500 < CMI ≤1 mg/L donc elle est intermédiaire.

2.3.2. Les cupules témoins ne contiennent pas d'antibiotiques et donc permettent la croissance bactérienne se traduisant par un trouble. Dans ce cas, elles sont troubles, la bactérie s'est multipliée, le test est validé.

2.3.3. Les aminosides agissent au niveau des ribosomes. En se fixant sur la sous unité 30S, ils inhibent la translocation et stoppent la synthèse des chaines polypeptidiques.

2.3.4. Les *Streptococcus* sont résistants à des concentrations normales en aminosides (résistance de bas niveau) par imperméabilité membranaire (faible efficacité des transporteurs membranaires : porines).

2.3.5. La recherche de la résistance de haut niveau des *Streptococcus* aux aminosides est réalisée avec un disque d'aminosides fortement chargé (Gentamicine 500, Streptomycine 300).

3. La candidose, une infection opportuniste fongique du SIDA

3.1. Identification de *Candida albicans*

3.1.1. Un milieu chromogène permet en 24 heures d'avoir une pré-identification de la Candida et donc un diagnostic plus rapide.
Le milieu contient des substrats chromogènes spécifiques d'enzymes secrétées par les levures. Chaque chromophore issu de l'hydrolyse par une enzyme donnera une couleur définie. Selon le panel enzymatique de la levure, on obtient différentes couleurs spécifiques d'espèce.

3.1.2. Les colonies mauves pâles correspondent à la couleur des colonies de *Candida albicans.* Mais elles peuvent également être des colonies de *Candida dubliniensis* bien que rarement isolées.
Un test discriminant sera donc à effectuer.

3.2. Traitement d'une candidose

3.2.1. Le E-test® est constitué d'une bandelette imprégnée d'une concentration croissante en un antifongique (fluconazole). Cette bande est déposée sur une gélose semi-synthétique ou casitone, ensemencée par écouvillonnage de la levure en suspension 0,5Mac Farland. La gélose est ensuite incubée 24 à 48 heures à 30°C.

3.2.2. La CMI correspond à la limite de croissance (limite de la zone d'inhibition) soit 0,5 µg/mL ou 0,5 mg/L.

4. La toxoplasmose cérébrale chez le sujet séropositif au VIH

4.1. Classifications de la maladie et du parasite impliqué

Anthropozoonose : anthropo : être humain ; zoo : animal ;

La toxoplasmose est bien une anthropozoonose car dans son cycle évolutif, le parasite, *Toxoplasma gondii,* infecte alternativement l'homme et les animaux.

4.2. Cycle parasitaire

4.2.1. **Stade parasitaire 1 : oocyste**, forme de résistance du parasite dans l'environnement, sur les plantes et qui sera absorbée par les herbivores.
Stade parasitaire 2 : trophozoïte (tachyzoïte), forme de dissémination dans l'organisme
Stade parasitaire 3 : kyste toxoplasmique est formé par l'accolement d'un grand nombre de trophozoïtes à croissance lente : bradyzoïtes qui se multiplient dans la cellule hôte (cellule musculaire) entouré d'une membrane.

4.2.2. Les voies de transmission du parasite chez l'être humain sont :
- Consommation de légumes ou fruits contaminés et mal lavés recouverts d'oocystes,
- Consommation de viandes crues ou peu cuites contenant des kystes toxoplasmiques non détruits par la chaleur,
- Contamination transplacentaire mère-enfant par des trophozoïtes induisant une toxoplasmose congénitale.
- Contamination exceptionnelle par du sang contenant des trophozoïtes lors d'une transfusion ou d'une greffe.

4.2.3. Les hôtes définitifs correspondent aux espèces où le cycle sexué du parasite de déroule. Dans le cas de la toxoplasmose, l'hôte définitif est le chat. Les hôtes intermédiaires regroupent toutes les espèces qui hébergent les autres étapes du cycle du parasite (homme, mammifères, oiseaux).

4.3. Diagnostic par PCR

4.3.1. Justifier la mise en œuvre d'une technique PCR chez les patients VIH positifs.

Le système immunitaire d'un patient VIH positif étant déficient, la production d'immunoglobulines IgM et IgG est faible et peut ne pas être détectée par les techniques de diagnostic usuelles (en dessous du seuil de sensibilité de la méthode). La recherche de la présence d'ADN du toxoplasme par PCR permet de détecter la présence du parasite même en faible quantité et avec une grande spécificité.

4.3.2. Discuter la fiabilité d'un résultat négatif lors de l'amplification de l'ADN toxoplasmique.

Spécificité proche de 100% montre qu'un résultat positif certifie une infection à *Toxoplasma gondii*.

Sensibilité < 50% montre que dans près de 50% des cas, le résultat peut être faussement négatif.

Donc un résultat rendu négatif ne correspond pas forcément à une absence de toxoplasmose cérébrale.

SUIVI DES ANALYSES BIOLOGIQUES DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC DU LUPUS ÉRYTHEMATEUX DISSÉMINE (LED) ET TRAITEMENT

1. Analyse immunologique permettant d'orienter le diagnostic : de la phase pré-analytique à la phase post-analytique.

1.1- Réception et tri de l'échantillon sanguin en phase préanalytique

1.1.1- Le déclenchement de l'alarme est dû au volume insuffisant d'échantillon dans le tube de prélèvement.

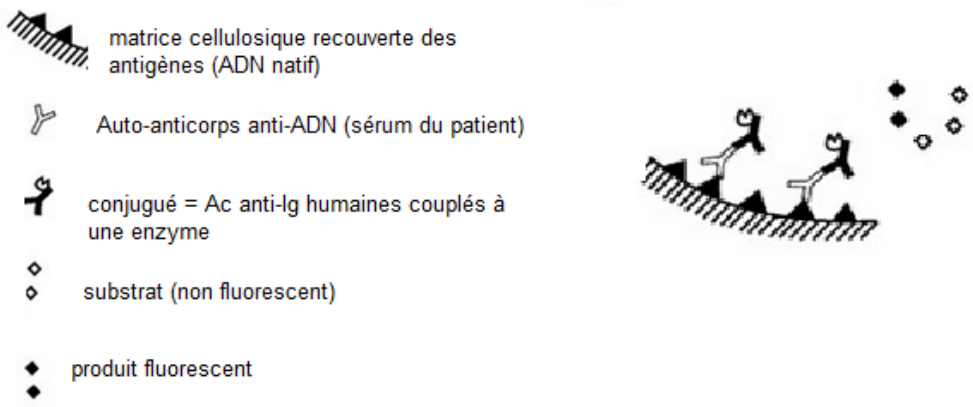
1.1.2- Il faut donc :

- Refuser l'échantillon
- Compléter une fiche de non-conformité
- Redemander un prélèvement

1.2- Phase analytique

1.2-1. Une maladie autoimmune est une maladie caractérisée par une réaction immunitaire inappropriée contre un constituant du soi. Elle est dite « systémique » quand elle présente des manifestions au niveau de plusieurs organes.

1.2-2. Schéma de l'étape finale de la détection des anticorps anti-ADN natif



Lavage 1 : il permet d'éliminer les Ac et autres éléments sériques non fixés
Lavage 2 : il permet d'éliminer le conjugué non fixé

1.3- Validation technique de la recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCap et ELiA Well

1.3-1. Le CQI est un sérum contenant des anticorps anti-ADN natif de concentration connue

1.3-2. Le dernier CQI donne un résultat compris entre +2 et +3 ET. Il y a donc deux mesures consécutives à +2ET. La règle de 2_{2S} est donc transgressée. D'après le logigramme décisionnel, les résultats de la série sont rejetés. Le processus analytique nécessite une maintenance curative.

2. Analyses complémentaires

2.1- Analyses du bilan sanguin

2.1-1. CCMH = concentration en hémoglobine / hématocrite = [$g.L^{-1}$] / [$L.L^{-1}$]

2.1-2. Analyse des résultats du bilan sanguin

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence	Interprétation
HÉMOGRAMME			
HÉMATIES	3.09 T · L^{-1}	3.80 - 5.80	Résultat < normal
Hémoglobine	8 g · dL^{-1}	12.0 - 15.5	**anémie**
Hématocrite	25 %	37.0 47.0	faible
VGM	81 fL	90.0 – 100.0	**GR normocytaires**
TCMH	26 pg	26.0 – 35.0	Résultat normal
CCMH	32 g · dL^{-1}	32.0 – 36.0	**GR normochromes**
LEUCOCYTES	3.25 G · L^{-1}	4.00 – 10.00	**leucopénie**
Poly. Neutrophiles	0.80 $G.L^{-1}$	1.80 – 7.50	**neutropénie**
Poly. Eosinophiles	0.42 G · L^{-1}	0.10 – 0.80	Résultat normal
Poly. Basophiles	0.10 G · L^{-1}	0.00 – 0.20	Résultat normal
Lymphocytes	1.20 G · L^{-1}	**1**.00 – 4.00	Résultat normal
Monocytes	0.74 G · L^{-1}	0.20-0.80	Résultat normal
PLAQUETTES	88 G · L^{-1}	150 - 400	**thrombopénie**
BIOCHIMIE			
Bilirubine totale	20 mg · L^{-1}	< 12	Hyperbilirubinémie = signe d'hyperhémolyse
Bilirubine libre (indirect) *Bilirubine conjuguée (direct)*	16 mg · L^{-1} 4 mg · L^{-1}	<10 < 5	
LDH-1	521 UI · L^{-1}	190 - 430	LDH-1 > norme = signe d'hyperhémolyse
Haptoglobine	0.33g · L^{-1}	0.50- 2.50	Résultat < norme = signe d'hyperhémolyse intravasculaire

Conclusion :

- Anémie normochrome normocytaire de type hémolytique. L'hyperhémolyse est intravasculaire
- Thrombopénie
- Leucopénie due à une neutropénie.

2.1-3. Le test direct à l'antiglobuline permet de rechercher des anticorps anti-érythrocytaires fixés à la surface des hématies et qui pourraient expliquer l'hémolyse vasculaire. Cela orienterait vers le diagnostic d'anémie hémolytique autoimmune (AHAI).

2.1-4. Interprétation du TDA

- absence d'agglutination dans le contrôle négatif = résultat conforme
- agglutination dans le contrôle positif = résultat conforme

➔ technique validée puisque les résultats des 2 contrôles sont conformes.

- Présence d''agglutinat (GR en surface du gel) lorsque les hématies du patient sont mises en présence d'anti-IgG ➔ Il y a donc des IgG fixées à la surface des hématies du patient.
- Absence d'agglutinat (GR sédimentés) lorsque les hématies du patient sont mises en présence d'anti-C3d (C3d = fragment C3 du complément lorsque celui a été activé par certains complexes Ag/Ac).
  ➔ AHAI due à des auto-anticorps anti-GR qui entrainent une hémolyse des hématies dont une hémolyse intravasculaire.

2.2- Ponction-biopsie rénale

2.2-1. Le formol assure la fixation = il évite la nécrose du tissu et permet ainsi de conserver la morphologie des cellules et du tissu.

2.2-2. Précautions à prendre : travailler sur hotte, et automate utilisant le formol dans des pièces avec une ventilation adaptée (car toxique par inhalation), avec des gants et lunettes (toxique par contact cutané). Les déchets contenant le formol doivent être traités.

2.2-3. Les bains d'alcool de concentration croissante permettent de deshydrater le tissu (remplacer l'eau par l'alcool) puis les bains de xylène permettent d'imprégner le tissu d'un solvant miscible à la paraffine qui est hydrophobe.

2.2-4. coloration HES = hémalun (colorant basique des noyaux), Eosine (colorant acide des cytoplasmes), Safran (colorant du tissu conjonctif en jaune).

3. <u>Traitement anticoagulant.</u>

3.1- Des schizocytes, qui sont des fragments d'hématies, sont le signe d'une hémolyse mécanique due par exemple à des thromboses.

3.2- TCA allongé car les anti-PL neutralisent les phospholipides (PL) du réactif. Or ces phospholipides (qui remplacent les PL anioniques de la surface des plaquettes activées) sont nécessaires à la coagulation *in vitro.*

3.3- Pour mettre en évidence des ACC : réaliser le TCA mélange (TCA avec le plasma du patient et un plasma normal) ➔ le TCA mélange n'est pas corrigé car les ACC bloquent aussi la coagulation du plasma normal.

Pour savoir ensuite que ces ACC sont des anti-PL, on peut refaire un TCA avec un large excès de PL ➔ le résultat est alors moins allongé (voire résultat normal) = les PL en excès ne sont qu'en partie neutralisés par les anti-PL. IL y a suffisamment de PL pour assurer une coagulation normale dans le test *in vitro*.

3.4- Les facteurs vitamine K dépendant sont les facteurs II, VII, IX et X (+ protéines S et C). L'anti-vitamine K inhibe le cycle de la vitamine K qui est le cofacteur de la gamma-carboxylase hépatique. Cette enzyme assure une modification post traductionnelle nécessaire pour rendre les facteurs fonctionnels (résidus acide glutamique de l'extrémité N terminale modifiés en résidus gamma carboxyglutamique).

3.5- INR = $(30/15)^2 = 4$

L'INR est donc trop fort (> cible de 2,3) indiquant une coagulation trop ralentie. IL faut ajuster la posologie (saut d'une prise, suivre l'INR quotidiennement et reprendre l'AVK quand l'INR est stabilisé et en diminuant la dose hebdomadaire de 15%).

SESSION 2021

E2 Mathématiques 2021corrigé

Exercice 1 : (10 points)

PARTIE A :

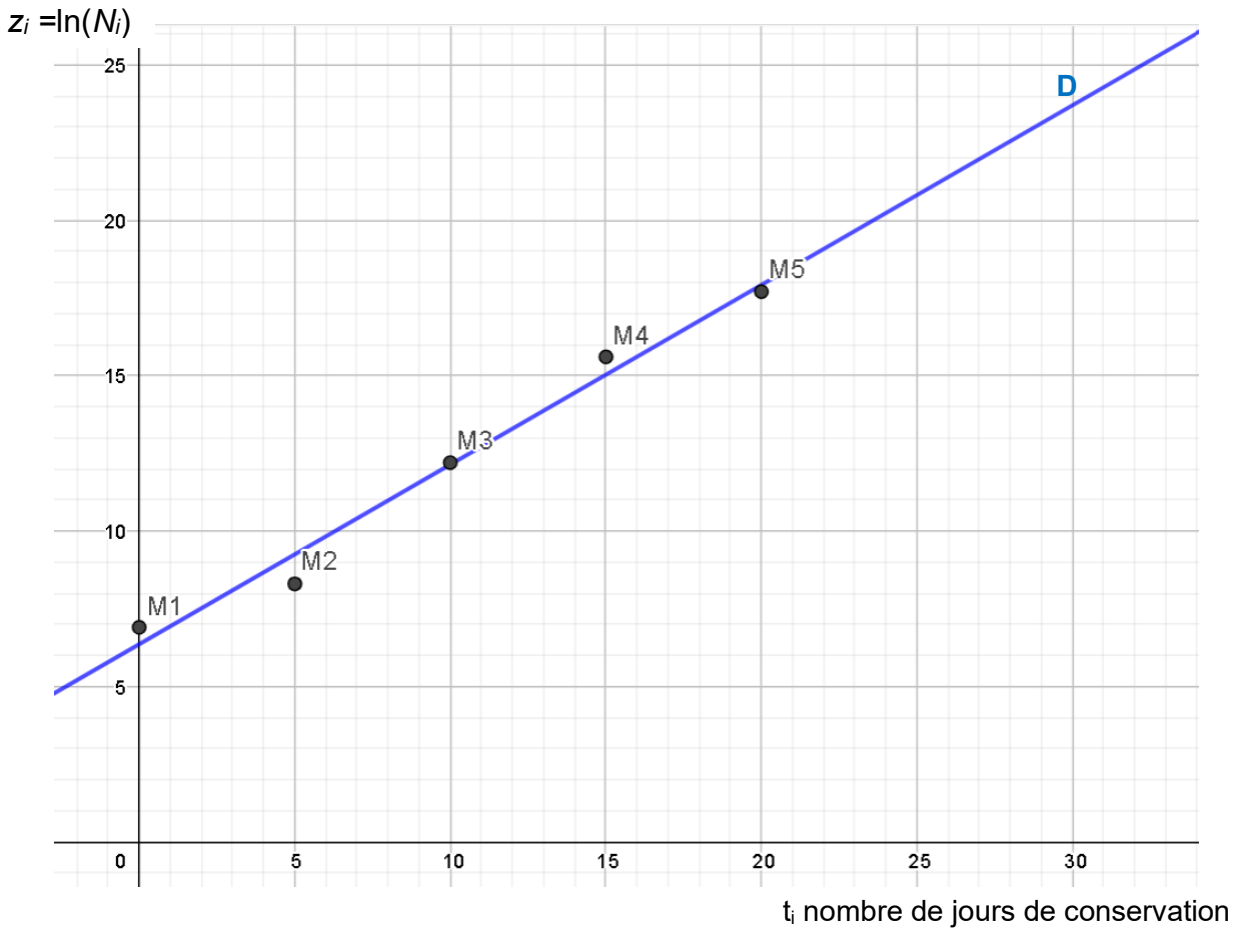
1)

Nombre de jours de conservation t_i	0	5	10	15	20
Nombre N_i de germes putréfiants par cm^2	1000	4000	199 000	5 960 000	48 600 000
$z_i = \ln(N_i)$	6,9	8,3	12,2	15,6	17,7

2) $z \approx 0{,}58t + 6{,}36$.

3)

a) b) Voir graphique ci-dessous :



4) z = 0,6× 25 + 6,4 = 21,4. Comme z = ln (N) alors ln(N) = 21,4 $\Longrightarrow$ N= $e^{21,4}$≈1 967 442×10^9 soit environ **1 967 millions** de germes putréfiants par cm² observés au bout de 25 jours.

PARTIE B :

1) $\lim\limits_{t\to+\infty} 0,6t = +\infty \Longrightarrow \lim\limits_{t\to+\infty} e^{0,6t} = +\infty \Longrightarrow \lim\limits_{t\to+\infty} \boldsymbol{f(t)} = +\infty$.

Ainsi, plus la viande hachée est stockée et conservée sur une très longue période, plus le nombre de germes putréfiants devient infiniment grand.

2) $f'(t)$ = 600×0,6$e^{0,6t}$= $\mathbf{360e^{0,6t}}$.

3) 360 >0 et, pour tout réel t de [0; +∞ [, $e^{0,6t}$ >0$\Longrightarrow f'(t)$ > 0.
Ainsi f est **strictement croissante** sur [0; +∞ [.
Lorsque le temps de stockage et de conservation augmente, le nombre de germes putréfiants augmente.

4)

a) m est le **nombre moyen** de germes putréfiants par cm², par jour, entre le 5ième et le 10ièmejour.

b) F(t) = 600×$\frac{e^{0,6t}}{0,6}$ = $\mathbf{1000e^{0,6t}}$.

c) $m = \frac{1}{10-5}\int_5^{10} f(t)dt = \frac{1}{5} \times [F(10) - F(5)] = \frac{1}{5} \times [1000e^6 - 1000e^3]$=**200e⁶ - 200e³**.

5)

a) $f(t)$ < 3 000 $\Longrightarrow$ 600×$e^{0,6t}$ <3000$\Longrightarrow$ $e^{0,6t}$ <5 $\Longrightarrow$ 0,6t <ln 5 $\Longrightarrow$ $t < \frac{\ln 5}{0,6} \approx 2,68$

b) L'usine peut conserver la viande de bœuf hachée produite en chambre froide jusqu'à environ 2 jours et demi avant de la commercialiser.

6)

a) A l'aide d'un tableau , la valeur numérique affichée par l'algorithme est **7.**

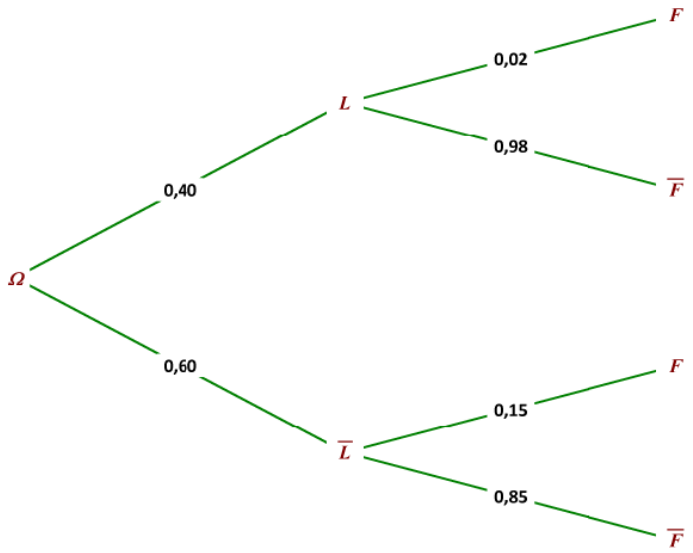
J	0	1	2	3	4	5	6	7
N	600	1093	1992	3630	6614	12 051	21 959	40 011
Test N≤ 27 000	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	VRAI	FAUX

b) La durée limite de consommation de la viande hachée est de 7 jours.

Exercice 2 : (10 points)

PARTIE A :

1)



2) D'après la formule des probabilités totales,

$P(F) = P(F \cap L) + P(F \cap \bar{L}) = P(L) \times P_L(F) + P(\bar{L}) \times P_{\bar{L}}(F)$

$= 0{,}40 \times 0{,}02 + 0{,}60 \times 0{,}15 =$ **0,098**.

3) $P_F(\bar{L}) = \dfrac{P(F \cap \bar{L})}{P(F)} = \dfrac{0{,}60 \times 0{,}15}{0{,}098} \approx$ **0,918.**

4)

a) $f = \dfrac{12}{78} \approx$ **0,154** est une estimation ponctuelle de la proportion inconnue *p* des spas installés par ce fabricant qui présentent un problème de filtration.

b) $\left[f - 1{,}96\sqrt{\dfrac{f(1-f)}{n}}\ ;\ f + 1{,}96\sqrt{\dfrac{f(1-f)}{n}}\right] \approx$

$\left[0{,}154 - 1{,}96\sqrt{\dfrac{0{,}154 \times 0{,}846}{78}}\ ;\ 0{,}154 - 1{,}96\sqrt{\dfrac{0{,}154 \times 0{,}846}{78}}\right] \approx$ **[0,074 ; 0,234]** est un intervalle de confiance au seuil de 95 % de la proportion *p*.

PARTIE B :

1) $f(0) = \lambda$ or d'après le graphique $f(0) = 0{,}00026$ donc λ **=0,00026**.

2) $E(X) = \dfrac{1}{\lambda} = \dfrac{1}{0{,}00026} \approx 3\,846 \neq 1\,000$ .Cette proposition est donc **fausse** .

3) P(X≥ 500) = 1 – P (X < 500) = 1 – $\int_0^{500} 0{,}00026\, e^{-0{,}00026\mathrm{t}}.dt$ = 1 – $[F\ (500) - F\ (0)]$

F(t) = - $e^{-0{,}00026\mathrm{t}}$ = 1 – ($-e^{-0{,}13} + 1$)= $\boldsymbol{e^{-0{,}13}}$.

PARTIE C :

1) Choisir une lampe au hasard est une épreuve de Bernoulli :
   Succès : « La lampe a une durée de vie qui dépasse 1 000 heures » p = 0,77.
   Echec : « La lampe a une durée de vie qui ne dépasse pas 1 000 heures » 1-p = 0,23.
   On obtient le schéma de Bernoulli en répétant 50 fois cette même épreuve de manière indépendante.
   Y, nombre de succès, suit donc **la loi binomiale de paramètres 50 et 0,77.**

2) P(Y ≥ 42)= 1 – P(Y≤ 41) ≈ 1 – 0,844 ≈ **0,156**. On a environ **15,6% de chances de choisir au moins 42 lampes dont la durée de vie dépasse 1 000 heures.**

3) E(Y) = 50×0,77= **38,5** .Si on répète un grand nombre de fois l'expérience, le nombre moyen de lampes dont la durée de vie dépasse 1 000 heures est de **38,5**.

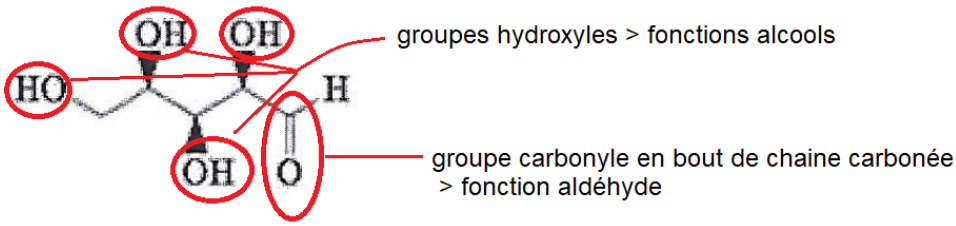
Exercice I - Mécanisme simplifié de la formation des caries

Q1. La zone de déminéralisation se situe dans le domaine III où le pH est inférieur à 5,1.

La zone de reminéralisation se situe dans le domaine I où le pH est supérieur à 5,35.

Q2. La durée estimée au cours de laquelle une attaque acide est envisageable est d'environ 9 min.

Q3. Groupes caractéristiques et fonctions chimiques sur le D-xylose :



Groupes caractéristiques et fonctions chimiques sur le D-xylitol :

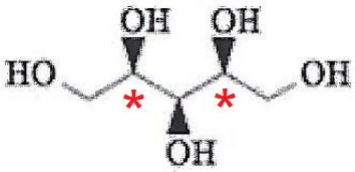
Q4. D'après le formalisme des demi-équations électroniques associées au couple $R\text{-}CH_2OH$ / RCHO où $R\text{-}CH_2OH$ et RCHO sont respectivement l'alcool primaire (Oxydant) et RCHO l'aldéhyde (Réducteur), on a :

Oxydation de l'alcool 1^{aire} en aldéhyde : $R\text{-}CH_2OH \rightarrow RCHO + 2\,H^+ + 2\,e^-$ (perte d'électrons)

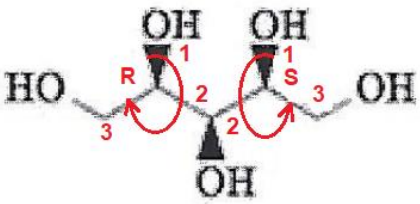
Réduction de l'aldéhyde en alcool : $RCHO + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow R\text{-}CH_2OH$ (gain d'électrons)

Ici la fonction aldéhyde est réduite en fonction alcool en passant du D-xylose au D-xylitol selon la demi-équation : $C_5H_{10}O_5 + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow C_5H_{12}O_5$

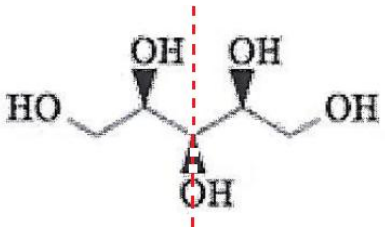
Q5.1 Il y a deux carbones asymétriques dans le D-xylitol :



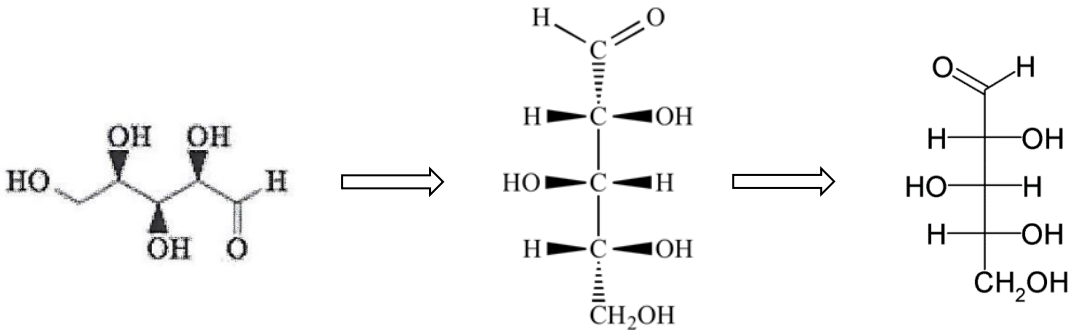
Configurations absolues du D-xylitol :



Q5.2 Le D-xylitol n'est pas une molécule chirale car elle possède un plan de symétrie passant par le carbone n°3.

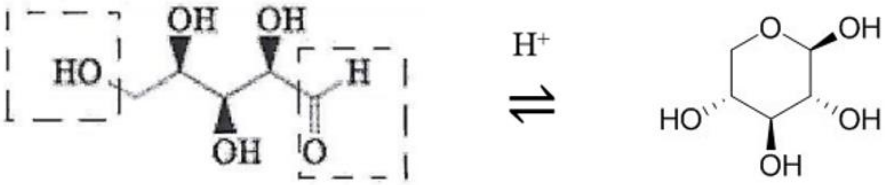


Q6. Représentation de Fisher du D-xylose :



Représentation Fisher

Q7. Il s'agit d'une hémiacétalisation intramoléculaire du D-xylose dont le produit issu du bilan est :



Q8. Sachant que pH de la salive est voisin de 7,2 et que celle-ci joue un rôle de solution tampon, on en déduit que l'augmentation du flux salivaire permettra d'assurer un pH suffisamment grand pour éviter la déminéralisation et l'apparition de caries dans le cas d'un pH plus faible. On se situera dans le domaine I de la courbe de Stephan.

Exercice II – Observation de *Streptococcus mutans*

Q9. L'image intermédiaire A_1B_1 doit se former dans le plan focal objet de l'oculaire pour que l'image définitive observable à travers l'oculaire soit projetée à l'infini. Ainsi les rayons issus de cette image arriveront tous parallèles entre eux et l'œil n'aura pas besoin d'accommoder.

Q10. Nous appliquons la relation de conjugaison pour la lentille L_1 (objectif) : $\frac{1}{\overline{O_1A_1}} - \frac{1}{\overline{O_1A}} = \frac{1}{f_1'}$

d'où $\frac{1}{\overline{O_1A}} = \frac{1}{\overline{O_1A_1}} - \frac{1}{f_1'} = \frac{1}{f_1'+\Delta} - \frac{1}{f_1'} = \frac{1}{0{,}40+16{,}00} - \frac{1}{0{,}40} = -2{,}44\ cm^{-1}$

Soit $\overline{O_1A} = -0{,}41\ cm$

Q11. Le grandissement γ_1 à travers l'objectif L_1 est donné par la relation : $\gamma_1 = \frac{\overline{A_1B_1}}{\overline{AB}} = \frac{\overline{O_1A_1}}{\overline{O_1A}}$

$$\gamma_1 = \frac{\overline{O_1A_1}}{\overline{O_1A}} = \frac{f_1' + \Delta}{\overline{O_1A}} \qquad AN: \ \gamma_1 = \frac{0{,}40 + 16{,}00}{-0{,}41} = -40$$

Q12.1. Cette valeur « 10 X » correspond au grossissement de l'oculaire G_{oc}.

Q12.2. La valeur du grossissement commercial est donnée par la relation : $G_c = |\gamma_1| \times G_{oc}$

D'où la valeur calculée : $G_c = 40 \times 10 = 400$

Q13. Calculons la valeur limite de la taille d'un objet observable à travers le microscope :

$$AB_{lim} = \frac{0{,}61 \times 650.10^{-9}}{0{,}65} = 6{,}1.10^{-7}m = 0{,}61\mu m$$

On peut donc observer des *Streptococcus mutans* dont le diamètre est supérieur à 0,61 µm mais pas ceux dont le diamètre est compris entre 0,50 µm et 0,61 µm.

L'expérimentateur devra déposer entre la lamelle et l'objectif de l'huile à immersion pour augmenter le pouvoir de résolution. L'indice de réfraction n sera plus grand et il pourra observer dans de bonnes conditions les bactéries à l'aide du microscope.

Exercice III – Le fluor : un moyen de lutte efficace contre les caries

Q14. Protocole de dilution pour préparer la solution S_3 :
On verse une quantité de la solution S dans un bécher de prélèvement propre et sec.
On prélève à l'aide d'une pipette jaugée de 5 mL, préalablement rincée avec la solution S, 5 mL de la solution mère que l'on verse dans une fiole jaugée de 100,0 mL.
On rajoute de l'eau distillée au 2/3, on bouche puis on agite.
On complète ensuite avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge, on bouche et on homogénéise la solution.
Le prélèvement de S nécessaire à la préparation de 100,0 mL de solution S_3 étant de 5,0 mL, on en donc déduit le facteur de dilution : $F = \frac{100{,}0}{5{,}0} = 20$

d'où la concentration molaire en ions fluorure de la solution S_3 :

$$[F^-] = \frac{C}{F} = \frac{2{,}5.10^{-3}}{20} = 1{,}25.10^{-4} mol \cdot L^{-1}$$

Q15. $\Delta E = 114{,}4$ mV

A l'aide de la régression linéaire, on en déduit que :

$$\log[F^-] = \frac{\Delta E + 100{,}99}{-56{,}45} = \frac{114{,}4 + 100{,}99}{-56{,}45} = -3{,}816 \quad \text{soit } [F^-] = 1{,}528.10^{-4}\, mol \cdot L^{-1}$$

Q16. Masse de fluor dans 0,20 g de dentifrice : $m(F) = n \times M(F) = [F^-] \times V \times M(F)$

D'où $m(F) = 1{,}528.10^{-4} \times 100{,}0.10^{-3} \times 19{,}0 = 2{,}90.10^{-4}$ g

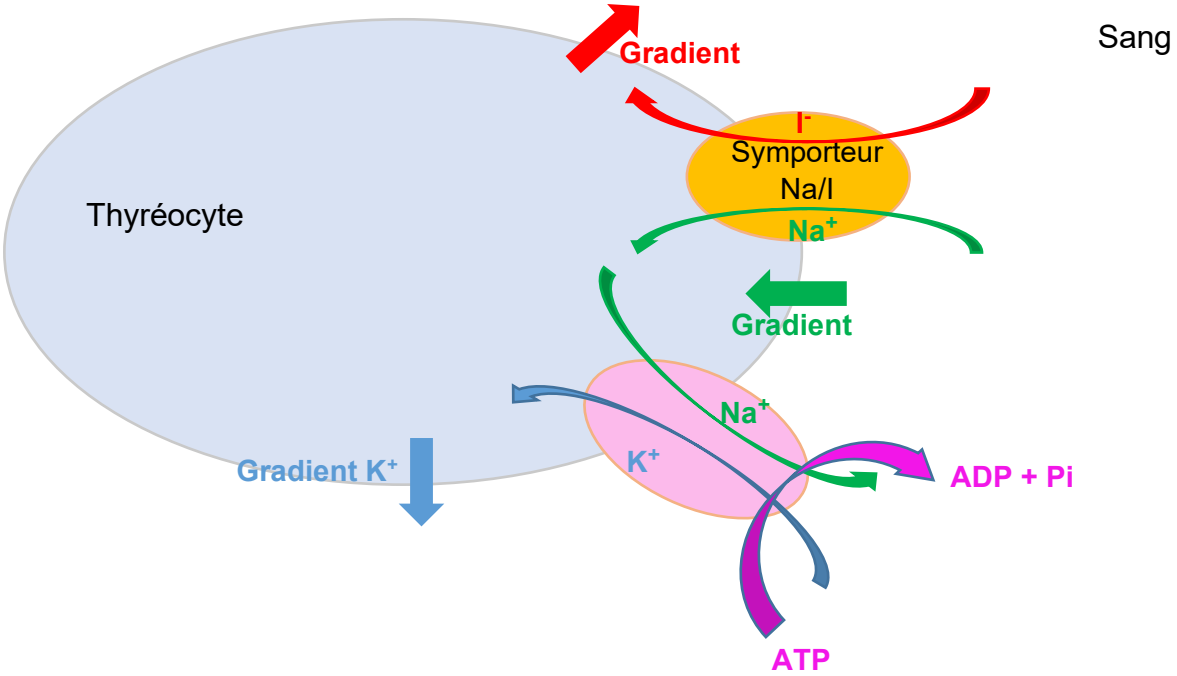
Dans 100 g de dentifrice la masse en fluor sera donc :
$m_d = 2{,}90.10^{-4} \times 100 / 0{,}20 = 0{,}145$ g = 145 mg
Cette valeur obtenue est conforme avec celle de 145 mg indiquée par le fabriquant du dentifrice.

EXPLORATION DES FONCTIONS THYROÏDIENNES ET DES DYSTHYROÏDIES

1. Étiologie de quelques dysthyroïdies et interférence médicamenteuse (7,5 points)

1.1. Perturbation de la synthèse des hormones thyroïdiennes

1.1.1. Schématiser les transports membranaires à l'origine de l'entrée de I^- dans la cellule et du maintien du gradient de concentration en Na^+.



1.1.2. Nommer et localiser les étapes permettant la synthèse de la thyroglobuline iodée à partir de son gène.

Transcription : Dans le noyau, l'ADN du gène de la thyroglobuline est transcrit en ARNm.
Traduction : L'ARNm sort du noyau par les pores nucléaires et est traduit en protéines au niveau des ribosomes du REG dans le cytoplasme.
La thyroglobuline est exocytée du thyréocyte vers la colloïde où elle subit une iodation sur ses groupements tyrosine.

1.1.3. Expliquer le mécanisme permettant la libération des hormones thyroïdiennes T4 et T3 à partir de la thyroglobuline.

La thyronine formée pénètre dans le thyréocyte par endocytose. Ce mécanisme est réalisé par invagination de la membrane du thyréocyte qui se creuse jusqu'à former un phagosome. Ce phagosome fusionne avec les lysosomes cellulaires. Dans le phagolysosome, les enzymes protéolytiques digèrent la thyroglobuline. Les hormones T3 et T4 ainsi formées seront ensuite libérées dans le sang.

1.1.4. Expliquer le mode d'action des auto-anticorps conduisant à la diminution de la synthèse des hormones thyroïdiennes.

Les auto-anticorps anti TPO neutralisent l'enzyme TPO. La thyroglobuline ne peut donc plus être iodée normalement et les hormones T3 et T4 sont produites en quantité insuffisante.
Les auto-anticorps anti symporteur Na^+/I^- détruisent ce transporteur indispensable à l'entrée d'iode dans le thyréocyte. La concentration en iode dans les thyréocytes est donc plus faible et moins d'iode parvient dans la colloïde. Le processus d'iodation de la thyroglobuline se fait alors de manière insuffisante, ce qui produit à la synthèse d'une quantité diminuée de T3 et T4.

1.2. Interférence de l'héparine dans le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes et dans leur dosage

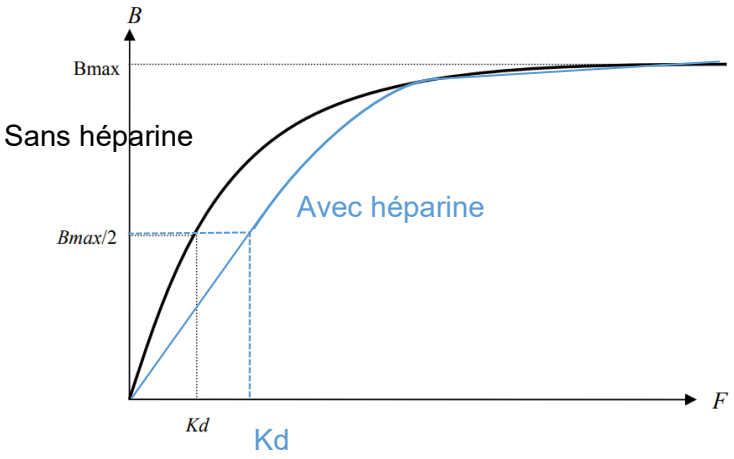
1.2.1. Justifier la nécessité de transporteurs plasmatiques pour T3 et T4.
Les hormones T3 et T4 sont formes de 2 cycles aromatiques et comportent peu d'atomes électronégatifs. On en déduit que ces molécules sont apolaires et donc peu solubles dans l'eau. Le transport plasmatique des hormones T3 et T4 nécessite donc des protéines puisque le plasma est un milieu riche en eau.

1.2.2. Identifier la protéine ayant la meilleure capacité de transport.
D'après le document 2, c'est la TBG qui a la constante de dissociation la plus faible aussi bien pour la T4 que pour la T3. C'est donc ce transporteur qui a la meilleure affinité pour ces deux hormones.
Au contraire, c'est l'albumine qui a la constante de dissociation la plus forte et donc l'affinité la plus faible pour la T3 et la T4.

1.2.3. Justifier les valeurs des pourcentages des fractions libres de T3 et T4.
Il y a moins de T4 libre que de T3 libre car l'affinité des protéines de transport est plus faible pour la T3 que pour la T4.

1.2.4. Tracer les courbes théoriques de l'évolution de la concentration en T4 liée (fraction B) en fonction de la concentration en T4 libre (fraction F), en absence et en présence d'héparine.
Il a une inhibition compétitive due aux acides gras. L'affinité des transporteurs pour les hormones thyroïdiennes diminue et donc la constante Km augmente. Cependant, la Bmax est inchangée.

Évolution de la concentration en $_B$T4 en fonction de la concentration en $_F$T4 en absence et en présence d'héparine



1.2.5. Déduire la conséquence de cette interférence médicamenteuse sur le dosage des hormones thyroïdiennes.
Les hormones T3 et T4 se fixant moins bien sur les protéines transporteuses en cas de traitement par héparine, les formes libres seront plus importantes. On risque un dosage faussé par excès.

1.3. Mutations à l'origine de la résistance aux hormones thyroïdiennes

1.3.1. Déterminer la séquence en acides aminés correspondant aux 4 codons de l'exon 9 du brin codant de l'ADN pour l'allèle de référence et l'allèle muté.

Allèle de référence	---	C	T	T	C	G	C	**G**	C	T	G	C	T	---
ARNm		C	U	U	C	G	C	**G**	C	U	G	C	U	
Acides aminés			Leu			Arg			**Ala**			Ala		
Allèle muté	---	C	T	T	C	G	C	A	C	T	G	C	T	---
ARNm		C	U	U	C	G	C	A	C	U	G	C	U	
Acides aminés			Leu			Arg			**Thr**			Ala		

1.3.2. En déduire le type de mutation et sa conséquence au niveau protéique.
La mutation est une substitution au niveau du premier nucléotide du troisième codon de la séquence présentée. La guanine est remplacée par une adénine. On parlera donc de transversion.

Au niveau protéique, cela se manifeste par le changement d'un acide aminé ; une thréonine remplace une alanine. C'est une mutation faux sens. Cela aura des conséquences sur la structure spatiale de la protéine TRβ qui altère sa fonction. Le récepteur nucléaire aux hormones thyroïdiennes sera défaillant.

1.3.3. Présenter les principales caractéristiques d'une hormone.
Une hormone est une molécule organique produite par les cellules endocrines d'une glande et libérée dans la circulation sanguine. Elle agit à longue distance sur les cellules cibles qui possèdent un récepteur spécifique. Elle est efficace à faible dose.

1.3.4. Justifier que la mutation A317T entraîne une hyperthyroïdie.
La mutation A317T rend les récepteurs spécifiques de T3 et T4 incapables de fixer ces hormones thyroïdiennes ou limite leur affinité pour ces hormones. Ainsi les tissus cibles sont dits « résistants » aux hormones thyroïdiennes et ne produisent aucune réponse (ou une réponse diminuée) à ces messagers. Parmi les réponses habituellement observées, il existe un rétrocontrôle négatif ; T3 et T4 inhibent normalement la synthèse de la TSH par l'anté-hypophyse et limitent ainsi la production des hormones thyroïdiennes. Dans le cas de la mutation A317T, l'absence ou la diminution de rétrocontrôle entraîne une production continue d'hormones thyroïdiennes et donc une hyperthyroïdie.

2. Conséquences des dysthyroïdies

2.1. Effets de l'hyperthyroïdie au niveau métabolique

2.1.1. Identifier les molécules (A, B) et les voies métaboliques (1 à 6) du document 7.

A = glycérol	1 = néoglucogenèse	2 = glycogénolyse
B = acétyl-CoA	3 = lipolyse	4 = β-oxydation
	5 = cycle de Krebs	6 = chaîne respiratoire

2.1.2. À l'aide du bilan moléculaire suivant, établir le bilan énergétique du catabolisme du glucose en aérobiose, en moles d'ATP formées par mole de glucose oxydée.

La chaîne respiratoire permet la synthèse de 2,5 moles d'ATP par mole de $NADH,H^+$ réoxydée et de 1,5 moles d'ATP par mole de $FADH_2$ réoxydée.

D'après le bilan moléculaire, une mole de glucose permet donc de produire :

4 + 2 x 1,5 + 10 x 2,5 = 32 moles d'ATP

2.1.3. En déduire le bilan énergétique du catabolisme du glucose dans ces conditions.

En absence de couplage énergétique entre la chaîne respiratoire et la synthèse d'ATP, l'oxydation d'une mole de glucose en aérobiose ne fournira que 4 ATP

2.2. Hyperlipidémie chez les patients atteints d'hypothyroïdie

2.2.1. Justifier la nécessité de réaliser, chez le patient, le prélèvement après 12 h de jeûne.

Le prélèvement doit être effectué après 12 heures de jeûne car après un repas, l'absorption intestinale des nutriments modifie temporairement la composition du sang. Le jeûne doit être suffisamment long pour que l'on soit sûr que la digestion est terminée et que les résultats du patient seront comparables aux normes physiologiques établies en respectant ces conditions de prélèvement. Si le jeûne n'est pas respecté le dosage risque d'être faussé par excès.

2.2.2. Justifier l'intérêt des deux phases d'incubation de 5 minutes à 37 °C.

Lors de la première phase d'incubation, le réactif R1 solubilise les lipoprotéines non LDL (Cholestérol-HDL et cholestérol-VLDL) et entraîne la formation d'un composé incolore.

Lors de la deuxième phase d'incubation, le réactif R2 solubilise le cholestérol-LDL et entraîne la formation d'un composé coloré.

2.2.3. Justifier le facteur 0,75 dans la formule de calcul de l'absorbance.

Lors de la première phase d'incubation qui permet la mesure de A1, le volume réactionnel est d'environ 300 µL. Or, la deuxième phase d'incubation, qui conduit à la mesure de A2, nécessite l'ajout de 100µL de réactif R2 portant le volume réactionnel à 400µL. Pour soustraire correctement la valeur du blanc échantillon (A1) nous devons tenir compte de cette dilution : $d = V_{mère} / V_{fille}$ soit d = 300 / 400 = 0,75

2.2.4. Établir l'équation aux grandeurs permettant le calcul de la concentration en cholestérol-LDL dans le sérum du patient.

$C_{LDL\text{-}chol,\ sérum} = \Delta A_{sérum} / \Delta A_{calibrant} \times C_{LDL\text{-}chol\ calibrant}$

Deux contrôles internes de qualité (CIQ) peuvent être réalisés : Taux 1 et Taux 2.

2.2.5. Qualifier le CIQ Taux 2 en fonction de son niveau de concentration.

Le CIQ Taux 2 à 2,10 g · L^{-1} est un contrôle qualité de niveau haut. Il correspond à une concentration au-dessus des normes physiologiques (valeurs recommandées du cholestérol-LDL : < 1,30 g · L^{-1}). C'est un contrôle « pathologique haut ».

2.2.6. Interpréter le résultat du contrôle Taux 2 et indiquer la conduite à tenir pour valider la série patients.

Le contrôle sera validé si la limite du seuil d'alarme est respectée soit si

$|C_{LDL\text{-}chol\ taux\ 2\ expérimental} - C_{LDL\text{-}chol\ taux\ 2\ cible}| < 3\ ET$

Ici $|C_{LDL\text{-}chol\ taux\ 2\ expérimental} - C_{LDL\text{-}chol\ taux\ 2\ cible}| = 2{,}25 – 2{,}10 = 0{,}15$ g · L^{-1}

Et 2ET = 0,04 x 3 = 0,12 g · L^{-1}

On constate que la méthode ne peut être validée. Le résultat du contrôle est au-delà du seuil d'alarme. Pour valider la série patients, des mesures correctives doivent être envisagées. Il faudra repasser le même contrôle. S'il est toujours hors limite, on reconstituera un autre échantillon de contrôle afin de répéter le test. Si le contrôle est toujours hors limite, on préparera un nouveau calibrant avant de répéter le test. Si cette tentative est infructueuse, on répétera l'opération. Enfin si le contrôle n'est toujours pas valide, on contactera le fournisseur.

3. Méthodes de diagnostic des dysthyroïdies primaires (7 points)

3.1. Dosage de la TSH et de la $_F$T4 sériques

3.1.1. Indiquer l'impact de cette évolution sur le diagnostic des hyperthyroïdies.

Dans le cas de certaines hyperthyroïdies franches, la concentration sérique de la TSH peut être très basse voire indétectable. L'abaissement du seuil de détection permet donc d'affiner le diagnostic.

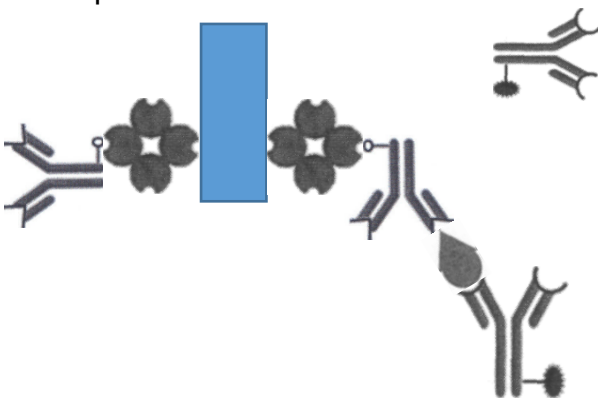
3.1.2. Pour chacun des dosages hormonaux :

- représenter le complexe fixé sur l'électrode aimantée en respectant la légende,
- en déduire le type de méthode utilisée,
- indiquer le sens de variation du signal chimiluminescent mesuré en fonction de la concentration en hormone dans l'échantillon.

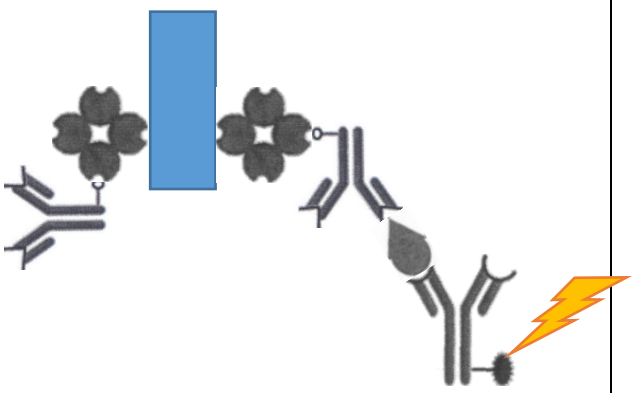
Dosage immunologique de la TSH

Étape 1 :

Étape 2 :



Étape 3 :

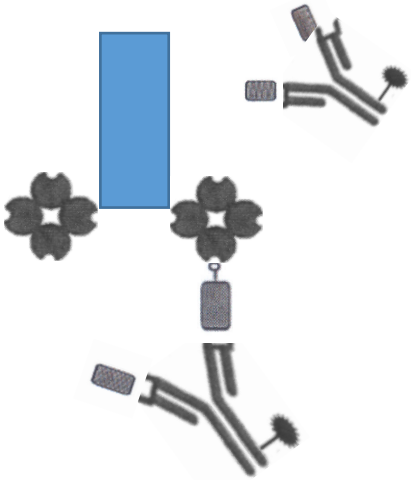


Méthode utilisée : ELISA hétérogène en sandwich direct
Plus la concentration de TSH est élevée dans l'échantillon, plus le signal est important

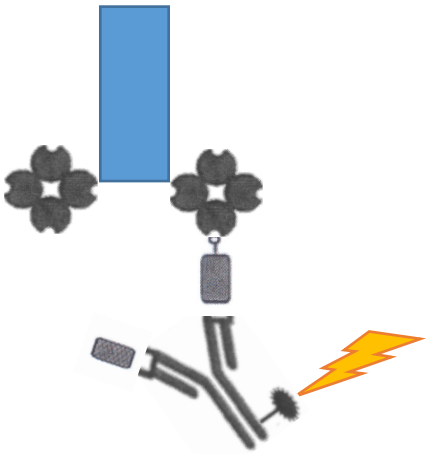
Dosage immunologique de la $_{F}$T4

Étape 1 :

Étape 2 :



Étape 3 :



Méthode utilisée : ELISA hétérogène par compétition au niveau de l'antigène.
Plus la concentration en T4 libre dans, l'échantillon est élevée, moins le signal est important.

3.2. Évaluation externe de qualité du dosage de la TSH

Le coefficient de variation CV évalue la reproductibilité d'une série de mesures.

3.2.1. Nommer et définir la performance quantifiée par le CV.

Le CV permet d'évaluer la fidélité c'est-à-dire la dispersion des résultats.

3.2.2. Préciser les conditions opératoires répondant à la reproductibilité.

La reproductibilité correspond aux conditions opératoires suivantes : la série de résultats est obtenue à partir du même échantillon grâce à la même méthode dans des laboratoires différents avec du matériel différent grâce au travail de techniciens différents sur un laps de temps qui peut être relativement long.

3.2.3. Comparer les CV obtenus pour les deux systèmes analytiques. Conclure.

Le CV du système ABBOTT Alinity (CV = 3,6 %) est plus élevé que celui du système ROCHE Cobas e-801 (CV = 2,8 %). Le système ROCHE Cobas est donc plus fidèle. La dispersion des résultats est plus faible avec ce système.

3.2.4. Établir les équations aux valeurs permettant de calculer l'écart-type et le z- score du laboratoire par rapport au groupe de pairs.

Ecart type = CV x moyenne

Ecart type = 3,6/100 x 24,870 = 0,89532 mU · L^{-1}

$z\text{-score}_{labo2086,test20MD02}$ = (23,840 -24,870)/ 0,89532

$z\text{-score}_{labo2086,test20MD02}$ = -1,15

3.2.5. Justifier la notation attribuée au laboratoire N° 2086.

Inexactitude relative = $(C_{exp} – C_{ref})/C_{ref}$ x 100
Inexactitude relative = (23,840 – 24,870)/24,870 x 100
Inexactitude relative = - 4,1 %
Or les limites acceptables sont de +ou- 10,9% donc 0,5 LA = 10,9 x 0,5 = 5,45 %
Donc le laboratoire a bien une |inexactitude relative| < |0,5 LA|, ce qui correspond à la notation TB.

3.2.6. Conclure quant aux performances du laboratoire, en termes de notation et de z-score.

Le laboratoire a des performances satisfaisantes :

- en terme de fidélité car son z-score est < 2 donc performance satisfaisante
- en terme de justesse car son inexactitude relative est conforme, notation TB

ÉVOLUTION DES TECHNIQUES DE MICROBIOLOGIE AU SEIN DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MÉDICALE

1. Microscopie et diagnostic

1.1. Apport de la coloration de Gram

1.1.3. Indiquer le résultat obtenu à la coloration de Gram pour une bactérie possédant le type de paroi représentée dans le document 1.

Le document 1 représente une paroi possédant une fine couche de peptidoglycane et une membrane externe. La fine couche de peptidoglycane ne permet pas de retenir le violet de gentiane (ou cristal violet) de la coloration de Gram lors de l'étape de décoloration à l'alcool donc la bactérie sera contre-colorée par la safranine (ou la fuchsine). La bactérie aura une coloration rose, elle sera Gram négatif.

1.1.4. Citer un genre bactérien pour lequel cette coloration n'est pas adaptée.

Les genres bactériens ayant une paroi structuralement différente comme les Mycobactéries, les Spirochetales ou les genres bactériens sans paroi comme les Mycoplasmes.

1.1.3. Décrire l'aspect à la coloration de Gram des genres *Pseudomonas* et *Neisseria.*

Pseudomonas : bacilles Gram négatif, fin à bords parallèles, extrémités arrondies, long de 3 à 4 µm et avec une coloration tigrée, bipolaire.

Neisseria : diplocoques Gram négatif dit en « grain de café »

1.2. Apport de la microscopie dans le diagnostic des aspergilloses pulmonaires

1.2.1. Justifier l'utilisation préférentielle, dans le cadre du diagnostic d'une aspergillose, d'un LBA.

Le LBA est obtenu par un lavage des voies bronchiques par 100 à 200 mL de sérum physiologique stérile instillés dans le chenal du fibroscope puis réaspiré.

L'avantage est qu'il permet de faire un prélèvement directement au niveau des bronches sans contamination par la flore commensale des voies aériennes supérieures comme lors d'une expectoration.

1.2.2. Interpréter l'observation microscopique du LBA coloré selon la méthode de Grocott.

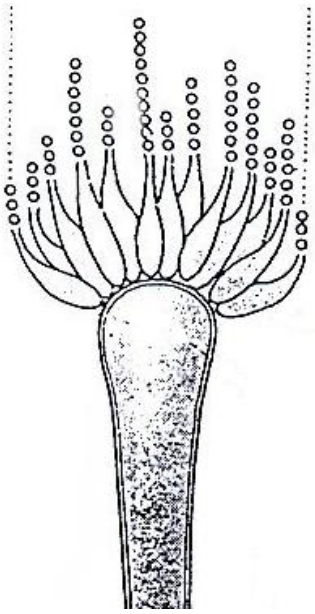
On observe des filaments mycéliens caractéristiques de champignons filamenteux.

1.2.3. Citer l'espèce généralement en cause dans l'aspergillose pulmonaire et indiquer le nom du milieu utilisé pour l'isoler, en précisant les conditions d'incubation.

Aspergillus fumigatus est le pathogène opportuniste le plus fréquemment isolé dans ce type d'infection (80 à 90% des cas).

1.2.4. Réaliser un schéma d'interprétation annoté de la photographie de l'examen microscopique de la souche isolée du LBA.

Aspergillus fumigatus est un champignon filamenteux ayant un hyphe cloisonné (Septomycète) avec une tête aspergillaire unisériée et présentant des phialides uniquement sur la partie supérieure de la vésicule.



1.3. Microscopie automatisée

1.3.1. Préciser les caractéristiques de l'échantillon de contrôle interne de bas niveau.

Un contrôle interne de bas niveau possède une faible concentration connue en hématies et leucocytes, quelques éléments autres identifiés (cellules épithéliales, cylindres, cristaux). Il permet d'avoir un contrôle bas équivalent à des urines pauvres en éléments.

1.3.2. Indiquer les conditions permettant d'évaluer la répétabilité.

La répétabilité doit être évaluée sur les leucocytes et les hématies dans des conditions standards (même opérateur, même lot de réactif, même automate, même méthode) en passant consécutivement au moins 20 fois un échantillon dans une même série. Elle peut être déterminée en utilisant trois niveaux d'échantillons patients (valeurs basses, moyennes ou hautes) pour les leucocytes, les hématies et les particules. (QUAMIC édition 2017)

1.3.3. Préciser en quoi l'enregistrement des résultats dans le GED (ou SIL) répond aux exigences de l'accréditation.

Élimination d'erreurs de retranscriptions manuelles,
Meilleure traçabilité des résultats des CIQ,
Facilite le suivi des résultats et leurs variations.

1.3.4. Rappeler les principales modalités de prélèvement d'une urine.

L'urine est un bon milieu de culture, le développement des germes contaminants pendant trois ou quatre heures à la température du laboratoire est suffisant pour rendre la numération ininterprétable. Aussi le recueil des urines nécessite une hygiène rigoureuse pour limiter les contaminations.

Méthode de recueil des urines : **“ à la volée” ou du “milieu de jet”**

Les urines sont recueillies de préférence le matin (première urine de la journée) après lavage soigneux des organes génitaux externes avec une solution antiseptique ou un savon doux, et rinçage soigneux à l'eau.

La 1ère partie de la miction sera rejetée pour éliminer la flore commensale. Seul le “milieu de jet” sera recueilli dans un flacon stérile.

1.3.5. Expliquer l'impact sur l'ECBU d'un remplissage insuffisant du flacon borate

Le borate est un agent bactériostatique qui permet la conservation des urines à température ambiante jusqu'à 48 h avant analyses.

Si les proportions urine/borate ne sont pas respectées (remplissage inférieur à 75 % du volume du tube), il y a un risque d'inhibition de la croissance bactérienne.

1.3.6. Présenter de façon succincte le principe de fonctionnement de l'automate iQ1200.

Le principe de l'automate iQ1200 est l'association de la cytométrie de flux couplée à une technique d'analyse d'images après capture par un système vidéo. La cytométrie de flux permet de compter les éléments en les faisant défiler dans un capillaire très fin devant un faisceau lumineux. Chaque passage de cellule provoque une extinction du faisceau. En comptant le nombre d'extinctions, on obtenait le nombre de cellules. Un système de captures d'images microscopiques permet de visualiser les éléments urinaires, de les identifier et de les classer en fonction de critères morphologiques et comparaison à une bande de données.

L'opérateur peut ensuite intervenir et effectuer des modifications directement sur l'écran, éliminer les artéfacts et valider en visualisant comme sur un microscope tous les éléments urinaires détectés.

Le volume d'urine analysé étant connu, l'automate donne des résultats en concentration de particules.

1.3.7. Expliquer pourquoi les résultats des paramètres « WBC » et « BAC » présentent une alarme.

L'urine est normalement stérile, la présence de bactéries (BAC=1810,2 /µL ou $1{,}8.10^3$/µL soit $1{,}8.10^6$/mL) est supérieure au seuil de significativité de la bactériurie (10^3 à 10^5/mL suivant les espèces isolées) ce qui explique l'alarme.

La présence de bactéries induit une réaction inflammatoire qui est confirmée par la présence élevée de leucocytes (WBC=105,3 /µL ou $1{,}05.10^2$/µL soit $1{,}05.10^5$/mL), supérieure au seuil de 10^4/mL.

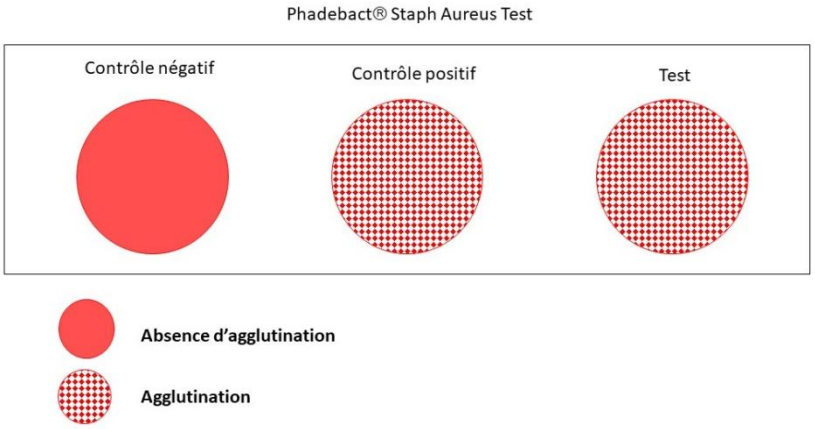
2. Identification par détection de molécules caractéristiques

2.1. Détection de molécules de surface de *Staphylococcus aureus*

2.1.1. Justifier la présence de fibrinogène et d'immunoglobulines à la surface des particules du « réactif latex ».

Le *Staphylococcus aureus* possède à sa surface des récepteurs au fibrinogène et la protéine A reconnue par les immunoglobulines qu'il utilise pour exprimer son pouvoir pathogène invasif. Les particules de latex étant sensibilisées avec ces molécules, le *Staphylococcus aureus* viendra donc s'y fixer de façon spécifique.

2.1.2. Schématiser les résultats obtenus lors de l'identification validée d'une souche de *Staphylococcus aureus.*



2.1.3. Établir le calcul ayant permis de déterminer la sensibilité du test Phadebact® Staph Aureus.

$$\% \text{ de sensibilité} = \frac{\text{Résultats positifs du test Phadebact S.aureus}}{\text{Résultats positifs du test coagulase}} = \frac{991}{1\,000} \times 100 = 99{,}1\%$$

2.1.4. Présenter le rôle de ces deux enzymes dans la survenue d'une bactériémie d'origine thromboembolique.

La coagulase permet au Staphylocoque la formation d'un caillot pour se protéger de la phagocytose. La bactérie se multiplie à l'intérieur du caillot.

Fibrinolysine va provoquer la dissolution du caillot et la libération dans la circulation sanguine de fragments septiques qui vont se disséminer et venir obturer de petits vaisseaux provoquant une thrombose septique responsable de la bactériémie thomboembolique.

2.2. Détection d'enzymes bactériennes

2.2.1. Donner la signification de O157 et de H7.

O157 : AgO partie polysaccharidique du lipopolysaccharide de surface de la membrane externe des bactéries Gram négatif,

H7 : Ag H= Ag flagellaire de nature protéique en surface de la bactérie et permettant sa motricité.

2.2.2. Détailler le principe général de fonctionnement et de lecture d'un milieu chromogène.

Un milieu chromogène contient une ou plusieurs molécules qui, une fois hydrolysée par une enzyme bactérienne va donner un chromophore coloré non diffusible dans le milieu.

Chromogène + enzyme bactérienne $\rightarrow$ chromophore coloré

La lecture correspond à la couleur des colonies qui est spécifique d'une espèce bactérienne et correspond au nombre de chromogènes hydrolysés donc à son patrimoine enzymatique.

Quand le milieu contient plusieurs chromogènes hydrolysés par différentes enzymes bactériennes, on peut obtenir un panel de couleur des colonies permettant l'identification présomptive de plusieurs espèces bactériennes.

2.2.3. Expliquer la signification de l'expression « identification présomptive ».

Le milieu chromogène permet uniquement une identification présomptive, c'est-à-dire une orientation vers une espèce bactérienne mais ne certifie pas l'identification. En effet, plusieurs espèces bactériennes peuvent donner des couleurs proches.

2.3. Détection d'antigènes viraux du VIH

2.3.1. Reporter sur la copie, les numéros de 1 à 8 indiqués sur le schéma du cycle de multiplication du VIH et compléter par les légendes correspondantes.

1 Fixation du virus sur les récepteurs CD4 grâce à sa protéine de surface gp120

2 Fusion membranaire entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire

3 Décapsidation et libération du génome viral dans le cytoplasme de la cellule

4 Réverse transcription de l'ARN viral en ADN viral grâce à son enzyme, la rétrotranscriptase ou transcriptase inverse.

5 Passage de l'ADN viral dans le noyau de la cellule et intégration dans l'ADN cellulaire grâce à son intégrase.

6 Transcription de l'ADN viral en ARNm viral qui dans le cytoplasme cellulaire va être traduit pour former les protéines virales de surface, de capside, et les enzymes virales (transcriptase, intégrase et protéase).

7 L'assemblage consiste en l'encapsidation de l'ARN viral formé à l'intérieur de sa capside protéique avec ses enzymes.

8 Exocytose par bourgeonnement du virion qui est enveloppé par la membrane cellulaire et qui expose à sa surface ces protéines.

2.3.2. Nommer l'enzyme caractéristique de la famille des *Retroviridae* à laquelle le VIH appartient.

La réverse transcriptase ou transcriptase inverse qui permet la lecture de l'ARN viral pour former de l'ADN viral.

2.3.3. Citer les trois principaux critères de classification des virus et préciser ceux correspondant au VIH.

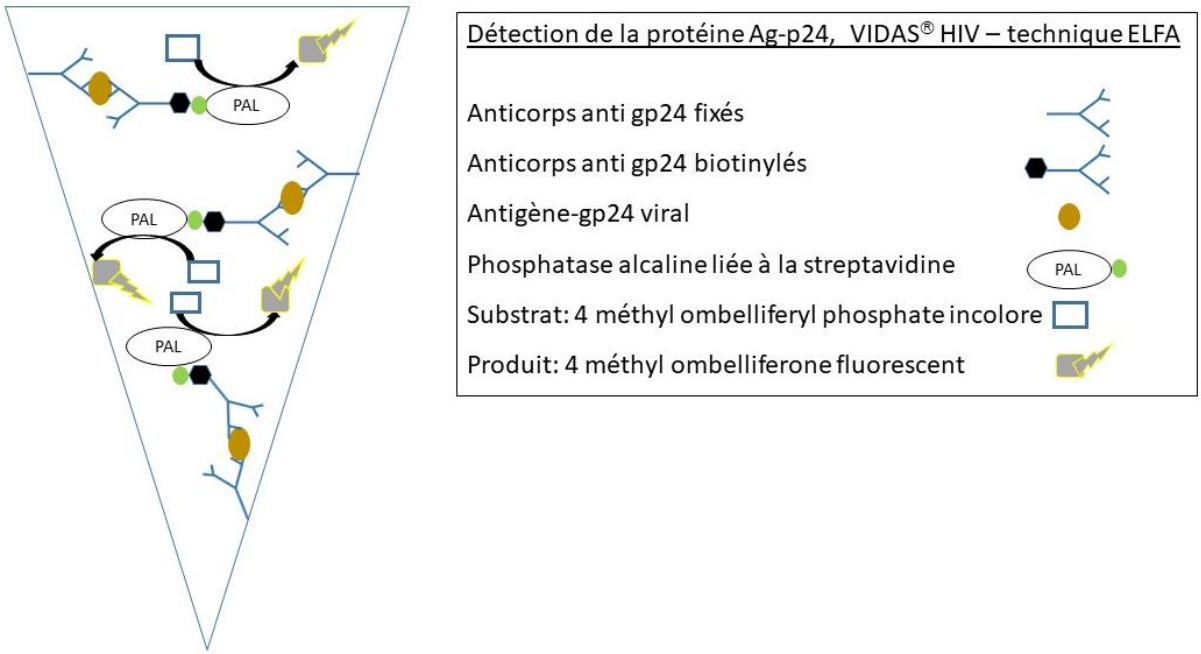
- Nature et structure de l'acide nucléique qui contient l'information génétique du virus : ARN ou ADN, mono ou bi caténaire,
- la forme de la capside : hélicoïdale, icosaédrique,
- la présence ou non d'une enveloppe membranaire

Le VIH est constitué de 2 brins distincts ARN monocaténaire à polarité positive, d'une capside icosaédrique et d'une enveloppe provenant de la membrane cytoplasmique sur laquelle il expose ses spicules (protéines virales).

2.3.4. Localiser l'antigène p24 dans la structure virale.

La protéine p24 est constitutive de la capside conique du virus.

2.3.5. Schématiser l'édifice moléculaire de détection de l'antigène p24.



2.4. Détection de l'ADN de l'agent responsable du paludisme

2.4.1. Nommer l'espèce responsable d'un cas d'urgence de paludisme.
Plasmodium falciparum est l'espèce de *Plasmodium* responsable de la forme mortelle de l'infection en raison de son parasitisme élevé.

2.4.2. Indiquer le mode de transmission de ce parasite à l'Homme.
L'homme est contaminé lors d'une piqure par un moustique hématophage, l'anophèle femelle. Elle injecte de sa salive contenant des sporozoïtes lors de la piqure. Les sporozoïtes vont alors gagner le foie pour commencer leur cycle de multiplication.

2.4.3. Citer les trois étapes d'un cycle de PCR.
1ere étape : Dénaturation : séparation des 2 brins d'ADN,
2ème étape : Hybridation : fixation des amorces sur chaque brin,
3ème étape : Elongation par l'ADN polymérase

2.4.4. Indiquer un avantage de la PCR en temps réel par rapport à une PCR classique.
La PCR en temps réel permet de voir l'amplification en direct, est plus rapide et peut être quantitative.

2.4.5. Expliquer l'origine de la fluorescence mesurée dans le cas d'un test positif.
Lors de l'étape de fixation des amorces, des sondes viennent se fixer dans une autre zone du brin d'ADN. Ces sondes possèdent à une extrémité un marqueur fluorescent (reporter) inactivé par un désactivateur (quencher) fixé à l'autre extrémité. Lors de l'élongation par l'ADN polymérase, la sonde est dégradée libérant le marqueur qui émet sa fluorescence. Cette fluorescence mesurée est donc proportionnelle au nombre de copies des brins d'ADN réalisées.

2.4.6 Interpréter les résultats des analyses réalisées sur le prélèvement sanguin du patient X.
Les 2 témoins sont validés :
- Le témoin négatif reste en dessous du seuil de détection,
- Le témoin positif montre une courbe qui dépasse le seuil de détection avant le 35ème cycle

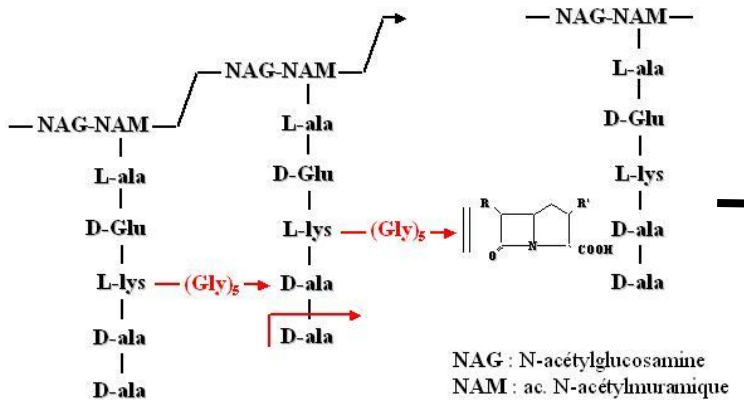
La fluorescence reste en dessous du seuil de détection, le résultat du patient est négatif. Il n'a pas été contaminé par un *Plasmodium*.

3. Détection de résistances aux antibiotiques (4 points)

3.1. Mise en œuvre d'une technique classique

3.1.1. Indiquer les trois principaux groupes de β-lactamines. Expliquer le mode d'action des β-lactamines sur la cellule bactérienne en précisant leur molécule cible.
Les trois principaux groupes de β-lactamines sont :
- Les pénicillines G, A (amino, carboxy ou uréido pénicillines),
- Les céphalosporines de 1ère à 4ème génération (céfotaxime)
- les carbapénèmes (imipénème, faropénème)

Mode d'action : Les β lactamines inhibent la transpeptidation qui permet grâce à la transpeptidase bactérienne (aussi appelée plp : protéine liant la pénicilline) de faire le pontage des tétrapeptides formant le maillage du peptidoglycane.



Conséquence :
Peptidoglycane fragilisé, la bactérie est sensible aux variations de pression osmotique :
Bactérie ne se multiplie plus : bactériostase ou meurt : bactéricidie

http://pedagogie.univ-fcomte.fr/bacterioweb/

3.1.2. Citer un mécanisme non enzymatique permettant aux bactéries d'être résistantes aux β-lactamines.

Les « autres mécanismes les plus fréquents de résistance des bactéries aux antibiotiques sont :

- L'imperméabilité membranaire : les porines membranaires ne permettent pas l'entrée de l'antibiotique dans la bactérie (exemple : la résistance de bas niveau des *Streptococcaceae* aux aminosides)
- La modification de la cible de l'antibiotique (modification de la structure de la PLP des *Staphylococcus aureus* diminuant son affinité pour les pénicillines)
- L'efflux actif, la bactérie rejette l'antibiotique présent dans son cytoplasme avant qu'il atteigne sa cible intracellulaire.

3.1.3. Définir le terme plasmide puis nommer un mécanisme de transfert de plasmides entre bactéries.

Un plasmide est une molécule d'ADN circulaire bicaténaire (double brin) cytoplasmique, indépendante du génome bactérien (extrachromosomique) et capable de réplication autonome. Les plasmides sont des molécules d'intérêt pour la bactérie. Ils possèdent des gènes qui leur confèrent de nouvelles propriétés utiles pour l'expression de leur pouvoir pathogène et leur propagation (synthèse d'enzymes, de toxines, …).

Le mécanisme le plus fréquent est la conjugaison, transfert d'une copie du plasmide entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice compatible grâce à des pili sexuels permettant un appariement entre les 2 bactéries.

3.1.4. Interpréter les résultats de l'antibiogramme réalisé sur une souche *d'Escherichia coli.*

Céfotaxime (CTX) : diamètre d'inhibition mesuré ∅ = 14 mm

Céfotaxime + acide clavulanique (CTX CLA) : diamètre d'inhibition mesuré ∅ = 25 mm

$$\varnothing_{CTX\,CLA} - \varnothing_{CTX} = 25 - 14 = 11 \text{ mm}$$

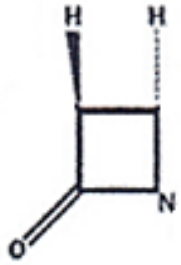
Différence supérieure à 5 mm donc présence d'une β- lactamase à spectre élargi (BLSE).

3.1.5. En déduire le rôle de l'acide clavulanique.

L'acide clavulanique est une β lactamine peu active qui est ajouté pour « détourner l'attention » de la β lactamase bactérienne. L'acide clavulanique peut se fixer de façon irréversible sur la β lactamase libérant ainsi l'action de la β lactamine qui lui est associée. C'est un inhibiteur de β lactamases.

3.2. Mise en œuvre d'une technique récente

3.2.1. Reporter sur la copie la structure du noyau β-lactame du faropénème



3.2.2. Expliquer la résistance au faropénème consécutive à son hydrolyse par une carbapénémase.

L'hydrolyse du noyau β lactame du faropénème ne lui permet plus de se fixer sur sa cible, la plp (protéine liant la pénicilline) et donc d'inhiber la transpeptidation. La bactérie se développe normalement. Il n'y a plus d'effet antibactérien.

3.2.3. Analyser les spectres et en déduire si la souche de *Klebsiella pneumoniae* produit une carbapénémase.

Masse moléculaire du faropénème = 308 Da
L'hydrolyse du faropénème par β lactamase induit la modification de la fonction cétone (CO) du noyau β lactame en fonction carboxylique (COOH). La masse moléculaire du faropénème hydrolysé est donc 308 + 18 = 326 Da

<u>Souche CBU_A07, souche β-lactamase négative connue</u>: pic à 308 Da indiquant la présence de faropénème et absence de pic à 326 Da donc absence de faropénème hydrolysé. Le spectre est valide.

<u>Souche CBU_A08 de *Klebsiella pneumoniae* à étudier</u>: faible pic à 308 Da : peu de faropénème et pic d'intensité élevée au niveau de 326 Da donc présence de faropénème hydrolysé en grande quantité.

Souche CBU_A08 de *Klebsiella pneumoniae* possède une β lactamase donc une carbapénèmase capable d'hydrolyser le faropénème.

Klebsiella pneumoniae est une EPC : Enterobactéries productrices de carbapénèmases.

CIRRHOSE HÉPATIQUE

1. Hémogramme

1.1. Tube EDTA car l'anticoagulant dilue peu le sang et préserve mieux la morphologie des cellules.

1.2. Une première alarme de type 2S (1 $_{2S}$) indique un processus analytique sous contrôle : il s'agit d'une erreur aléatoire acceptable une fois. Cela permet de valider les résultats précédents (si encadrés par des CIQ conformes) et autorise le passage des échantillons suivants.

1.3. Une deuxième alarme de type 2S (2 $_{2S}$) indique un CIQ non conforme : Le processus est alors hors de contrôle. D'après l'arbre décisionnel, et si on considère un seul paramètre erroné (VGM) et sur un seul niveau (bas), il faut homogénéiser le tube CIQ et refaire l'analyse avec ce CIQ. Puis,

- Si CIQ conforme = rendre les résultats et passer les échantillons
- Si CIQ non conforme = comparer le résultat de ce CIQ au groupe de pairs et prévenir le biologiste. Cela peut être dû à un problème d 'automate

1.4. Analyse de l'hémogramme

- La numération des leucocytes et celle des plaquettes sont normales
- Anémie (concentration en hémoglobine < norme), macrocytaire (VGM > norme) normochrome (CCMH normale) arégénérative (numération des réticulocytes < 150 $G.L^{-1}$) de cause centrale. On note aussi une anisocytose (IDR > norme)

2. Bilan de coagulation (4,5 points)

2.1. Tube citraté pour l'hémostase, bien rempli (9 volumes de sang pour un volume de citrate de sodium) : le citrate de sodium inhibe la coagulation en bloquant le calcium.

2.2. Une bille oscille tant que le plasma est fluide : l'arrêt de l'oscillation de la bille indique la formation de caillot de fibrine. Ce test chronométrique mesure donc le temps nécessaire à l'arrêt de l'oscillation de la bille.

2.3. Interprétation des résultats du bilan en hémostase :

- La numération des thrombocytes est normale.
- TCA allongé ([rapport TCA patient / TCA témoin] = 1.5 donc supérieur à 1.2) = cela indique une insuffisance de la voie intrinsèque de la coagulation (déficit en facteur(s) ou production d'un inhibiteur)
- le taux de prothrombine est inférieur à la norme : insuffisance de la voie extrinsèque de la coagulation (déficit en facteur(s) ou production d'un inhibiteur)
- La concentration en fibrinogène est normale

  ➔ L'allongement du TCA et du Temps de Quick (ou TP abaissé) n'est donc pas lié à un déficit en fibrinogène.

  ➔ Les deux voies de la coagulation sont ralenties : on peut évoquer un déficit en facteurs de la coagulation ou la production d'n inhibiteur (type ACC par exemple).

2.4. Cela est cohérent avec une cirrhose hépatique : en effet, le foie est l'organe principal qui produit l'ensemble des facteurs de coagulation. En cas d'insuffisance hépatique, la production de facteurs de coagulation devient rapidement insuffisante.

3. Dosage de la vitamine B12 et sérodiagnostic de l'hépatite B

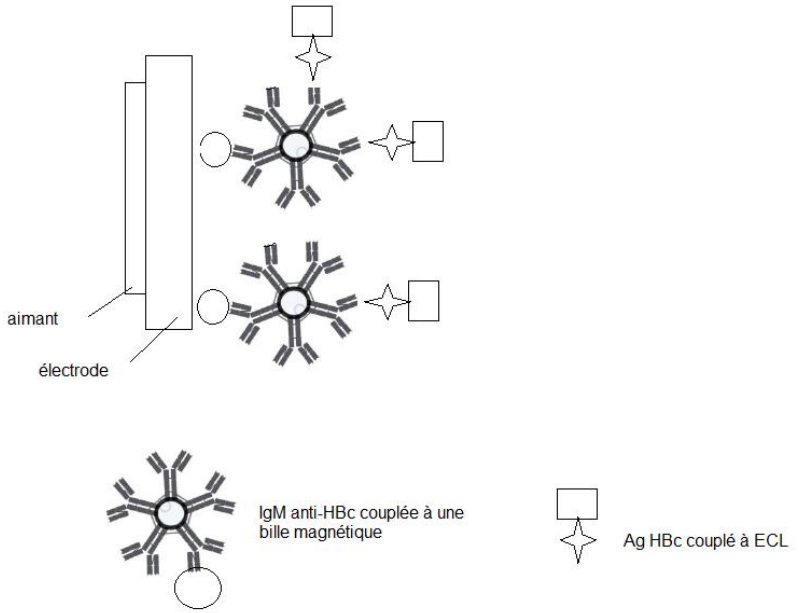
3.1. La vitamine B12 est nécessaire à la production des acides nucléiques et donc de l'ADN. L'hématopoïèse s'accompagnant de nombreuses mitoses, une insuffisance en vitamine B12 se traduit par une difficulté pour la moelle d'assurer correctement les mitoses et un nombre suffisant de cellules sanguines. Au sein des érythroblastes, la maturation des noyaux est ralentie, il y a moins de mitose. La production d'hématies est diminuée et les hématies deviennent macrocytaires. La synthèse de l'hémoglobine en revanche est normale dans le cytoplasme des érythroblastes : les hématies sont normochromes ➔ on a une anémie macrocytaire normochrome.

3.2. Le dosage utilise un réactif composé de vitamine B12 couplée à des billes magnétiques et un réactif avec le facteur intrinséque marqué : il y a compétition entre la vitamine B12 de l'échantillon et la vitamine B12 couplée du réactif pour la liaison au facteur intrinsèque (affinité naturelle pour la vitamine B12). Le signal sera inversement proportionnel à la concentration en vitamine B12 de l'échantillon (signal fort si peu de vitamine B12 dans l'échantillon patient)

3.3. Réactifs pour le dosage en électrochimiluminescence : par compétition des IgM anti HBc.

- IgM anti-HBc couplées à des billes magnétiques (retenus par l'aimant et en compétition avec les IgM à doser)
- Antigène HBc couplé à ECL

3.4. Schéma de l'étape 5 au dosage des IgM anti HBc.



Lors des étapes 1 à 4 les IgM du patient se mélangent aux IgM anti-HBc couplées aux billes magnétiques et aux antigènes HBc marqués (ECL). Si le sérum du patient contient des IgM anti-HBc, celles-ci fixent une partie des antigènes HBc marqués (ECL). Une autre partie des Ag HBc marqués se fixent aux IgM anti-HBc couplées aux billes magnétiques.
Plus il y a d'IgM anti-HBc dans le sérum du patient, moins il y aura d'Ag HBc marqués liés aux IgM du réactif : le signal luminescent sera plus faible

Remarque : *Certains kits fournis par Roche Diagnostic prévoient un pré-traitement du sérum par des anticorps anti-Fdγ pour bloquer les IgG et ainsi permettre le dosage seulement des IgM spécifiques. D'autres kits reposent sur l'immunocapture des IgM par des anticorps anti-IgM biotinylés. Des microparticules tapissées de streptavidine retiennent des complexes immuns composés d'anti-IgM biotinylées + des IgM anti-HBc du patient + des antigènes HBc couplés au marqueur chimiluminescent (Ruthénium qui émet le signal luminescent lorsqu'une différence de potentiel est appliquée à l'électrode)*

3.5. Le dosage des IgM anti-HBc permet de dépister une infection débutante donc une hépatite aiguë (IgM produites en premier lors de la réponse humorale primaire). Le dosage des IgM anti-HBc n'a donc pas d'intérêt pour dépister une hépatite B chronique à l'origine éventuellement de la cirrhose du patient. (on attendrait un résultat négatif car le moment de l'infection est éloigné). Il est préférable de doser les IgG anti-HBc qui sont les anticorps produits dans un second temps puis qui persistent.

4. Groupage sanguin

4.1. Le test contrôle « ctl » contient, en plus des billes de gel, un milieu réactif mais sans anticorps. Les hématies ne doivent donc pas agglutiner. Lors de la centrifugation, les hématies traversent les billes de gel et sédimentent au fond du tube.

4.2. Absence d'agglutination des hématies du patient en absence d'anticorps réactif = cela valide l'épreuve globulaire (pas d'agglutination spontanée des hématies en absence d'anticorps réactif sinon cela fausserait l'interprétation du groupage ABO)

4.3. Analyse des résultats

	Réactif	**Lecture**	**Interprétation**
Contrôle	Pas d'anticorps	Absence d'agglutination	Résultat conforme qui valide le test globulaire
Épreuve globulaire			
A	Anti-A	agglutination	Présence d'Ag A en surface des hématies du patient
B	Anti-B	Absence d'agglutination	Pas d'antigène B
D	Anti-D	agglutination	Présence d'Ag D en surface des hématies du patient = Rhésus D positif (RH1)
Épreuve plasmatique			
A1	Hématies tests A1	Absence d'agglutination	Pas d'Ac anti-A dans le plasma du patient
B	Hématies tests B	Agglutination	Ac anti-B dans le plasma du patient

Les deux épreuves sont concordantes (présence d'Ag A sur les hématies et d'anticorps anti-B dans le plasma)

⇨ **Le patient est de groupe A + (A RH : 1)**

5. Anatomocytopathologie

5.1. Le prélèvement fixé est plongé successivement dans des bains d'alcool de concentration croissante jusqu'à l'alcool 100 %.

5.2. La paraffine étant hydrophobe, il est nécessaire de chasser l'eau du prélèvement. L'eau est « remplacée » par l'alcool puis un solvant de la paraffine puis enfin la paraffine liquide.

5.3. L'inclusion permet de durcir le prélèvement pour pouvoir ensuite faire des coupes fines de quelques micromètres d'épaisseur au microtome.

5.4. Le cytoplasme des cellules fixe l'éosine (cytoplasme avec es protéines acidophiles qui fixe les colorants acides comme l'éosine) et le noyau fixe l'hémalun (noyau avec d'ADN basophile qui fixe les colorants basiques comme l'hémalun)