

Brevet de technicien supérieur

**Analyses de
biologie médicale**

**Sujets et corrigés
Sessions 2024 - 2025**



**UPBM-Edition
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), François AIRAULT (Niort), Nathalia BAMBAGINI (Niort), Jean Henri CLERGEAUD (Niort), Marine EUVRARD (Paris). M^{mes} Clarisse LIPPOF et Caroline PLATROZ (Lyon) en assurent la diffusion.

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

Photographies des couvertures :

- ✓ *Auteur de la photo de première de couverture*
Hémagglutination, Cédric CIVEL
- ✓ *Auteur de la photo de quatrième de couverture*
Coloration négative à l'encre de Chine pour la visualisation de la capsule d'une levure, Cédric CIVEL

Réalisation des couvertures pour toutes les éditions des annales du BTS ABM :
Antoine GAUDIN

ANNALES DU BTS ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE (ABM)

Sessions 2024 et 2025

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 2024 ET 2025	3
Nature des épreuves	5
Règlement d'examen	
Définition des épreuves	
SESSION 2024.....	11
E2 Mathématiques 2024	11
E3 Sciences Physiques et Chimiques 2024	17
E41 Biochimie 2024	26
E42 Microbiologie 2024	43
E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2024.....	61
SESSION 2025.....	73
E2 Mathématiques 2025	73
E3 Sciences physiques et chimiques 2025	79
E41 Biochimie 2025	89
E42 Microbiologie 2025	106
E43 Hématologie, Anatomopathologie et Immunologie 2025.....	125
E5 Analyses de Biologie Médicale	136
ÉLÉMENTS DE CORRIGÉS.....	137
SESSION 2024.....	138
E2 Mathématiques 2024 corrigé	138
E3 Sciences physiques et chimiques 2024 corrigé	143
E41 Biochimie 2024 corrigé	147
E42 Microbiologie 2024 corrigé	151
E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie 2024 corrigé.....	156
SESSION 2025.....	160
E2 Mathématiques 2025 corrigé	160
E3 Sciences physiques et chimiques 2025 corrigé	163
E41 Biochimie 2025 corrigé	168
E42 Microbiologie 2025 corrigé.....	172
E43 Hématologie Anatomopathologie et Immunologie 2025 corrigé	178

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
Epreuves facultatives								
Engagement étudiant	U6	1*	Ponctuelle orale	20 min				
Langue vivante étrangère (LV2)	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, 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...* Il est également possible de passer une deuxième langue vivante étrangère facultative.

Pour les candidats n'ayant pas la moyenne (moins de 210 points), le jury examine les résultats obtenus et le livret scolaire. Si le candidat a obtenu la moyenne aux épreuves E4, E5 et E6 (moyenne des trois épreuves supérieure à 10/20), le jury l'autorise à passer des épreuves de contrôle de rattrapage.

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.

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.

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.

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

Unité U52 : Analyses de microbiologie médicale

Programme

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

Objectifs

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

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

La sous-épreuve "Analyses de microbiologie médicale" permet de vérifier la compétence C34 et éventuellement

C36, mais aussi des compétences transversales aux trois sous-épreuves : C11, C12, C14, C31, C32, C37, C42, C43 et C52.

L'évaluation porte sur :

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

- l'organisation du travail ;

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

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

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

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

E6 Soutenance de rapport de stages

Contenu de l'épreuve

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

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

Le travail effectué dans le cadre du thème retenu, les résultats obtenus, les conclusions et les prolongements à

envisager sont présentés au cours d'un exposé suivi d'un entretien avec le jury.

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

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 rectoriale pour la session considérée et jusqu'à la

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

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

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

Épreuve facultative : 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 :
 - o la présentation du contexte
 - o la description et l'analyse de(s) activité(s)
 - o la présentation des démarches et des outils
 - o le bilan de(s) activité(s)
 - o 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.

Épreuves de contrôle

Depuis la session 2022, après délibération du jury, les candidats qui ont obtenu une moyenne générale supérieure ou égale à 8 sur 20 et inférieure à 10 sur 20 aux épreuves ainsi qu'une moyenne supérieure ou égale à 10 sur 20 aux épreuves professionnelles sont autorisés à se présenter aux épreuves de contrôle.

Les candidats passent deux interrogations orales choisies parmi les mathématiques, la physique-chimie et la langue vivante étrangère.

Formes de l'évaluation

- Ponctuelle : épreuve orale de 20 minutes (10 minutes pour l'épreuve de langue vivante étrangère) ; temps de préparation de 20 minutes.

Chaque épreuve de contrôle est notée par l'examineur concerné sur 20 points et est affectée du coefficient de l'épreuve correspondante. À l'issue des épreuves de contrôle, les candidats sont déclarés admis, après délibération du jury, dès lors qu'ils ont obtenu une moyenne générale supérieure ou égale à 10 sur 20.

SESSION 2024

E2 Mathématiques

2024

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.

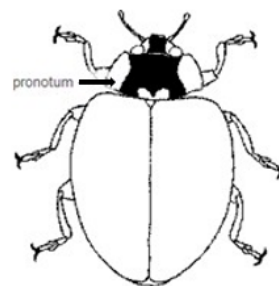
Exercice 1 (10 points)

Les questions 1) à 5) de cet exercice peuvent être traitées indépendamment les unes des autres.

Les probabilités seront arrondies à 10^{-3} .

De par la diversité des coccinelles, on peut utiliser deux critères pour reconnaître certaines espèces de coccinelles :

- La taille de la coccinelle ;
- Le type de pronotum (le pronotum est la face dorsale d'une partie du thorax de la coccinelle : voir dessin ci-contre).



Un type de pronotum répandu est le pronotum dit de type P.

1. On s'intéresse à toutes les coccinelles présentes dans une forêt d'Europe. Des études statistiques montrent que :

- 25 % des coccinelles présentes dans cette forêt ont une taille inférieure ou égale à 5 mm ; parmi les coccinelles qui ont une taille inférieure ou égale à 5 mm, 40 % ont un pronotum de type P ;
- Parmi les coccinelles présentes dans cette forêt de taille strictement supérieure à 5 mm, 68 % ont un pronotum de type P.

Dans cette forêt, on prélève au hasard une coccinelle. On appelle :

- T l'évènement : « la coccinelle a une taille inférieure ou égale à 5 mm » ;
- P l'évènement : « la coccinelle a un pronotum de type P ».

On note $\bar{T}$ l'évènement contraire de l'évènement T et $\bar{P}$ l'évènement contraire de l'évènement P .

a. Sur l'**annexe**, compléter l'arbre modélisant la situation décrite ci-dessus.

Pour les questions b à d, on prélève au hasard une coccinelle dans la forêt.

b. Déterminer la probabilité de l'évènement A : « la coccinelle prélevée a une taille inférieure ou égale à 5 mm et n'a pas un pronotum de type P ».

- c. Déterminer la probabilité de l'événement B : « la coccinelle prélevée dans la forêt n'a pas un pronotum de type P ».
- d. Déterminer la probabilité que la coccinelle prélevée soit de taille inférieure ou égale à 5 mm sachant qu'elle n'a pas un pronotum de type P.

2. Les critères « avoir une taille moyenne inférieure ou égale à 5 mm » et « ne pas avoir un pronotum de type P » caractérisent une espèce particulière : la coccinelle à deux points.

On appelle X la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 10 coccinelles prélevées au hasard dans cette forêt, associe le nombre de coccinelles à deux points dans l'échantillon. La population de coccinelles de la forêt est suffisamment importante pour que ce prélèvement soit assimilé à un tirage avec remise. On admet que la probabilité de prélever au hasard dans la forêt étudiée une coccinelle à deux points est égale à 0,15.

- a. Donner la loi suivie par la variable aléatoire X et préciser ses paramètres. On ne justifiera pas la réponse.
 - b. On prélève au hasard 10 coccinelles dans la forêt étudiée. Calculer la probabilité d'avoir au moins une coccinelle à deux points dans le prélèvement.
3. On considère un élevage de coccinelles. On note L la variable aléatoire qui, à chaque coccinelle de l'élevage associe sa taille. On estime que cette taille exprimée en mm suit la loi uniforme sur l'intervalle $[3 ; 6]$.
 - a. On prélève au hasard une coccinelle dans cet élevage. Quelle est la probabilité que sa taille soit comprise entre 4 mm et 5 mm ?
 - b. Quelle est la taille moyenne des coccinelles dans cet élevage ?
 4. On s'intéresse ici à la ponte d'une espèce particulière de coccinelles : les coccinelles à deux points. On modélise le nombre d'œufs par ponte à l'aide d'une variable aléatoire U qui suit la loi normale d'espérance égale à 35 et d'écart-type égal à 6.
 - a. Donner le nombre moyen d'œufs par ponte d'une coccinelle à deux points.
 - b. Calculer la probabilité $p(31 \leq U \leq 39)$.
 - c. Déterminer un nombre entier h tel que : $p(35 - h \leq U \leq 35 + h) \approx 95$ à 10^{-2} près. Interpréter sous forme d'une phrase la probabilité correspondante dans le contexte.
 5. Une autre espèce spécifique est utilisée dans la lutte contre l'infestation des pucerons.

Michel a créé un mur végétalisé. Avec effroi, il constate une infestation de pucerons. Sachant que les larves de cette espèce spécifique de coccinelles dévorent un grand nombre de pucerons, il en commande un lot de 80 larves pour traiter le mur. Le vendeur annonce que la durée de vie de ces larves, en jours, suit la loi normale d'espérance $m = 20$ et d'écart-type $\sigma = 3$.

Michel constate que la durée de vie moyenne des larves de son lot n'est que de 18 jours.

Peut-il remettre en question l'annonce du vendeur au seuil de confiance de 95 % ?

On s'aidera d'un test bilatéral relatif à une moyenne pour répondre à cette question.
On rappelle la formule de l'intervalle de confiance de la moyenne :

$$\left[m - 1,96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; m + 1,96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right]$$

Exercice 2 (10 points)

Cet exercice est composé de trois parties indépendantes entre elles.

Dans une usine agroalimentaire, il y a une seule ligne de production, qui fonctionne en continu. Elle peut fabriquer deux variétés M1 et M2 d'un même produit, qui diffèrent par leur teneur en matière grasse :

- la variété M1 correspond à une teneur idéale en matière grasse de 8,6 %, soit 0,086 ;
- la variété M2 correspond à une teneur idéale en matière grasse de 15,2 %, soit 0,152.

La ligne était réglée jusqu'alors pour produire la variété M1. On injecte continûment de la matière grasse dans le produit en fabrication, sans arrêter la ligne de production, jusqu'à obtenir la variété M2. Durant cette phase de transition, la production est recyclée.

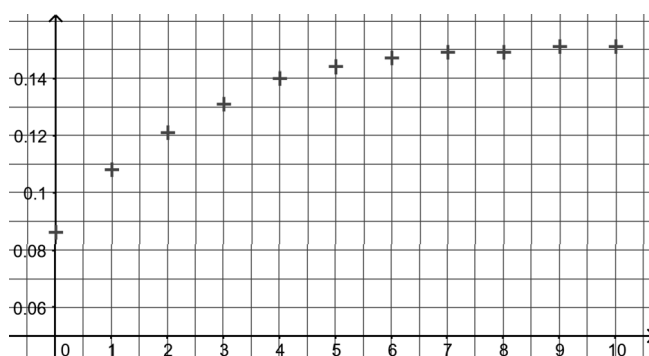
La variété M2 est considérée commercialisable par le service qualité dès que sa teneur en matière grasse dépasse 14,9 %, soit 0,149.

Partie A

La phase de transition pour passer de la variété M1 à la variété M2 est lancée. Un prélèvement est réalisé toutes les minutes pour mesurer la teneur en matière grasse du produit (le temps $t = 0$ correspond au démarrage de la période de transition). Les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

Temps t_i (en minutes)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Teneur en matière grasse y_i	0,086	0,108	0,121	0,131	0,14	0,144	0,147	0,149	0,149	0,151	0,151

1. Le nuage de points $(t_i ; y_i)$ est représenté sur le graphique ci-dessous.



Un ajustement linéaire paraît-il approprié ? Pourquoi ?

2. On pose $z_i = \ln(0,152 - y_i)$. Le tableau ci-dessous donne certaines valeurs de z_i arrondies à 10^{-3} :

t_i	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
z_i	- 2,718	z_1	z_2	- 3,863	-4,423	- 4,828	- 5,298	- 5,809	- 5,809	- 6,908	- 6,908

- Indiquer sur la copie les deux valeurs manquantes z_1 et z_2 du tableau, arrondies à 10^{-3} .
- À l'aide de la calculatrice, déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite d'ajustements du nuage de points $(t_i ; z_i)$ sous la forme $z = at + b$, les réels a et b étant arrondis à 10^{-3} .
- Pour cette question, on prendra $a = -0,44$ et $b = -2,7$. Déterminer une expression de la fonction y ajustant le nuage de points $(t_i ; y_i)$ dans le cadre de cette modélisation.

Partie B

1. L'étude expérimentale menée conduit à considérer la fonction C définie sur $[0 ; 10]$ par :

$$C(t) = 0,152 - 0,067e^{-0,44t}.$$

On admet que la fonction C modélise la teneur en matière grasse du produit (nombre entre 0 et 1) en fonction du temps en minutes, décompté depuis le démarrage de la période de transition.

- Calculer l'arrondi de $C(2)$ à 10^{-3} . Interpréter par rapport à la situation étudiée.
 - Calculer la dérive de la fonction C en déduire le sens de variation de la fonction C sur $[0 ; 10]$. Ce résultat est-il cohérent avec la situation étudiée ?
2. On considère l'algorithme ci-dessous rédigée en langage naturel.

```

M prend la valeur 0
D prend la valeur 0,085
Tant que D ≤ 0,149
    M prend la valeur M+1
    D prend la valeur C(M)
Fin Tant que
Renvoyer M

```

Quelle est la valeur numérique renvoyée par cet algorithme lorsqu'il a été exécuté ?

3.

- a. On admet que l'équation $C(t) = 0,149$ admet une unique solution, notée T , sur l'intervalle $[0 ; 10]$. Déterminer une valeur approchée de T à 10^{-2} près.
- b. Dédurre de la question précédente le temps, à la seconde près, qu'il faut attendre après le démarrage de la phase de transition afin d'obtenir une variété M2 commercialisable.

Partie C

On considère la fonction f définie sur l'intervalle $[0 ; 10]$ par $f(t) = 0,152 - 0,062e^{-0,5t}$.

Le génie des procédés permet de considérer que la fonction f constitue une autre modélisation acceptable de la teneur en matière grasse du produit en fonction du temps t en minutes qui s'est écoulé à partir du démarrage de la période de transition.

On admet que le plus grand nombre réel t appartenant à l'intervalle $[0 ; 10]$ tel que $f(t) \leq 0,149$ vaut approximativement 6 au dixième près.

1. On considère la fonction F définie sur l'intervalle $[0 ; 10]$ par

$$F(t) = 0,152t + 0,124e^{-0,5t}.$$

Vérifier que la fonction F est une primitive de la fonction f sur l'intervalle $[0 ; 10]$.

2.

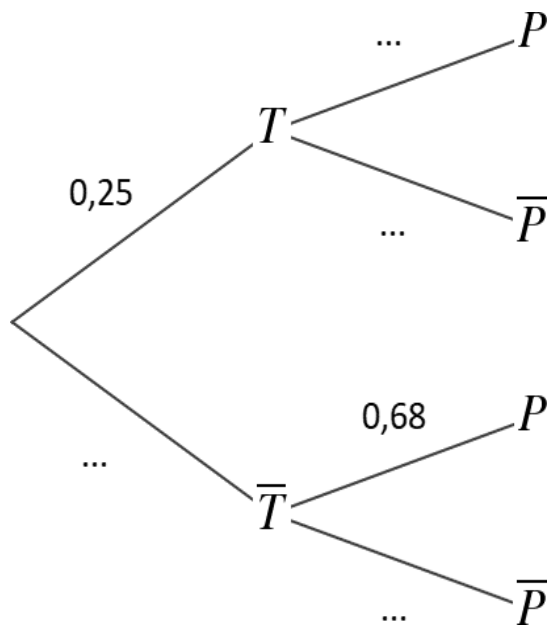
- a. Dédurre de la question précédente que l'arrondi à 10^{-4} de $\int_0^6 f(t)dt$ est 0,7942.
- b. Hachurer sur le graphique fourni **en annexe** le domaine dont l'aire est égale à la valeur de cette intégrale.

3. On note $\frac{1}{6} \int_0^6 f(t)dt$

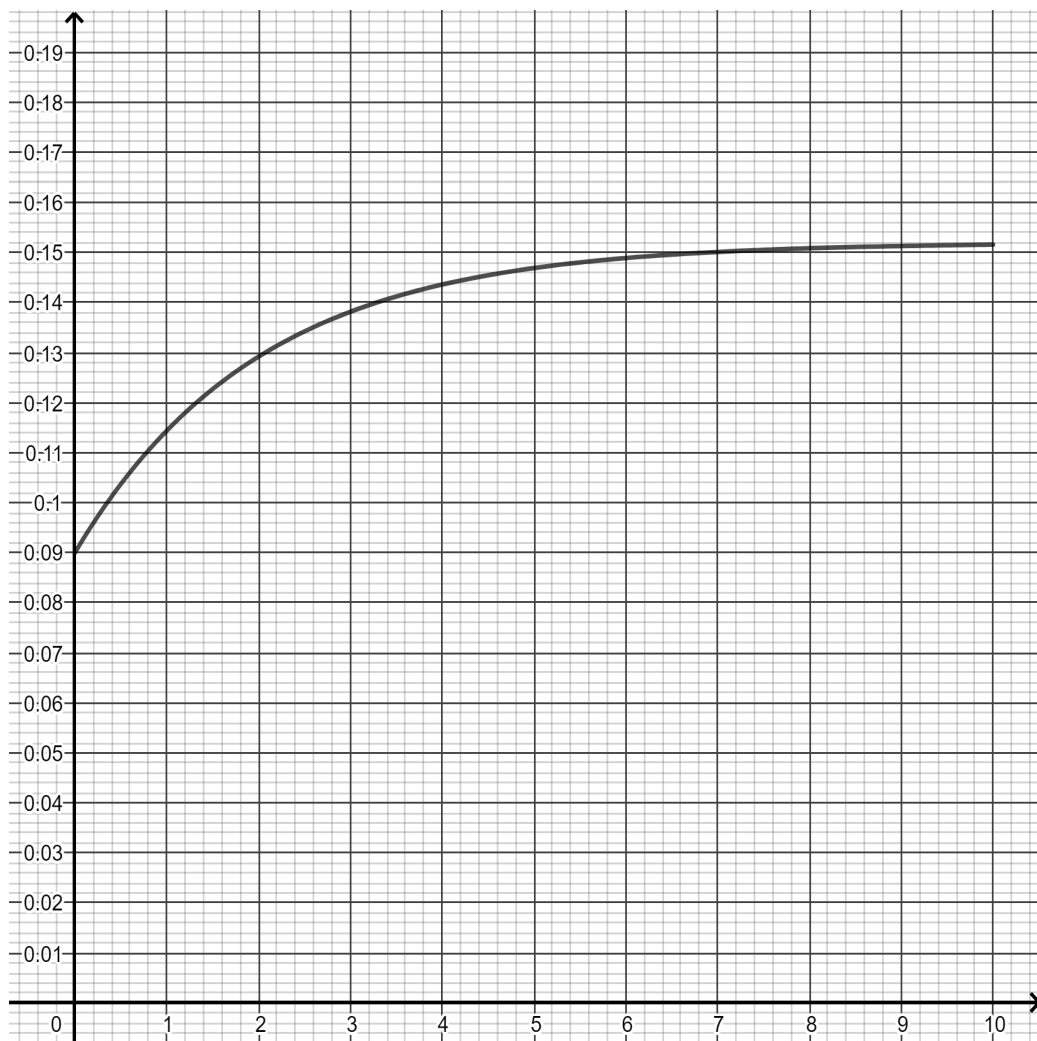
Calculer l'arrondi du réel m à 10^{-3} et interpréter la valeur obtenue dans le contexte de l'exercice.

Annexes

Exercice 1 - Question 1 a



Exercice 2 – Partie C – Question 2 b



E3 Sciences Physiques et Chimiques 2024

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.

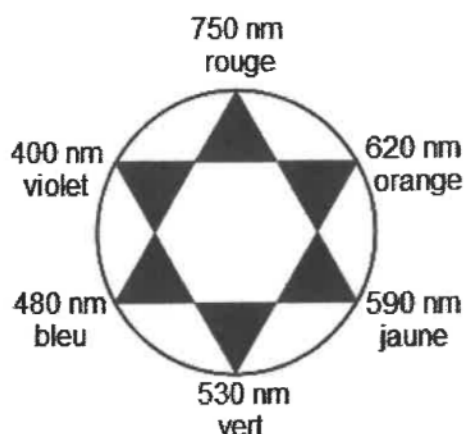
La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part dans l'appréciation des copies.

Documents à rendre avec la copie

La maladie de Lyme, ou borréliose de Lyme, est transmise lors d'une piqûre de tique infectée par des bactéries les *Borrelia*. Ce sujet s'articule autour de cette maladie. Il est composé de deux exercices indépendants.

Données relatives à l'ensemble du sujet

- **Cercle chromatique des couleurs :**



- **Unité enzymatique :**

L'unité enzymatique noté U représente la quantité d'enzyme nécessaire pour traiter 1 μmol de substrat en 1 min.

- **Relation de conjugaison des lentilles minces :**

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

Où O désigne le centre optique de la lentille de distance focale f' ;

A désigne un point objet ;

A' est l'image du point objet A donnée par la lentille de distance focale f' ; A et A' sont sur l'axe optique ;

- **Pouvoir de résolution (ou pouvoir séparateur) d'un microscope :**

Le pouvoir de résolution du microscope, ε , est donné par l'expression $\varepsilon = \frac{0,61\lambda}{N}$ dans laquelle N est l'ouverture numérique de l'objectif.

- **Numéros atomiques :**

Elément	H	C	N	O	S
Z	1	6	7	8	16

- **Conductivité molaire ionique limites :**

Ion	Mg^{2+}	Na^+	H_3O^+	Cl^-	HO^-
λ^0 en mS.m ² .mol ⁻¹	10,6	5,0	35,0	7,6	19,8

- **Produit de solubilité hydroxyde de magnésium :** $K_S = 5,6 \times 10^{-12}$
- On considère, ici, une transformation chimique comme totale dès lors que la constante d'équilibre associée est supérieure à 10^4 .
- **Masse molaire moléculaire du chlorure de magnésium hexahydraté :**
M = 203,3 g.mol⁻¹

Exercice I : diagnostiquer la maladie (9 points)

Les parties A et B sont indépendantes

La phase aiguë de la maladie de Lyme est caractérisée par un érythème (éruption cutanée circulaire) souvent accompagné de symptômes grippaux. Des anticorps apparaissent ensuite. Ce sont les anticorps IgM et IgG qui apparaissent en général entre 3 et 6 semaines après l'infection. D'autres manifestations peuvent apparaître sur le long terme. C'est pourquoi il est important d'établir un diagnostic pendant le stade précoce de la maladie. Le diagnostic de la maladie de Lyme est d'autant plus difficile que les symptômes sont variés et qu'il existe plusieurs espèces de *Borrelia*.

A. Diagnostic direct par microscope

Il est possible de détecter les *Borrelia* et de diagnostiquer la maladie de Lyme en réalisant une biopsie de la peau suivie d'une mise en culture *in vitro* puis d'une observation au microscope optique. L'objectif et l'oculaire du microscope sont modélisés par deux lentilles minces, respectivement L_1 et L_2 , de centres optiques O_1 et O_2 .

Les distances focales de l'objectif et de l'oculaire sont respectivement $f'_1 = 4 \text{ mm}$ et $f'_2 = 25 \text{ cm}$. Une bactérie *Borrelia*, modélisée par la flèche AB, est placée perpendiculairement à l'axe optique du microscope, le point A étant sur l'axe optique (voir **document réponse à rendre avec la copie**).

On suppose que l'œil de l'observateur n'accommode pas. Dans ce cas l'image intermédiaire A_1B_1 donnée par l'objectif L_1 se forme dans le plan focal objet de l'oculaire. On appelle A_1 l'image du point A par rapport à lentille L_1 , B_1 l'image du point B par rapport à lentille L_1 , A_2 l'image du point A_1 par rapport à lentille L_2 et B_2 l'image du point B_1 par rapport à lentille L_2 .

Q1. Indiquer où se situe l'image définitive A_2B_2 dans ce cas.

Q2. Compléter le schéma du dispositif, sur le **document réponse à rendre avec la copie**, sans respect d'échelle, en construisant l'image intermédiaire A_1B_1 fournie par l'objectif et l'image finale A_2B_2 .

L'objet AB observé est placé à une distance 4,1 mm de l'objectif.

Q3. En exploitant la relation de conjugaison fournie, calculer la valeur de l'intervalle optique, $\Delta = \overline{F'_1F_2}$ du microscope.

Q4. Expliquer ce qu'est le pouvoir de résolution d'un microscope.

On suppose que la longueur d'onde de la lumière utilisée est de 600 nm, longueur d'onde moyenne de la lumière blanche. Les *Borrelia* sont des bactéries de diamètre de 0,40 μm . On souhaite pouvoir les observer à travers ce microscope.

Q5. Le microscope utilisé dispose de quatre objectifs d'ouvertures numériques respectives 0,16; 0,40; 0,70 et 0,95. Choisir celui ou ceux qui permettront cette observation. Justifier clairement la réponse (on ne prendra pas en compte le pouvoir de résolution de l'œil de l'observateur).

Le candidat est invité à prendre des initiatives. Tout raisonnement, même incomplet, sera pris en compte.

B. Diagnostic indirect par la méthode ELISA

Le test ELISA est un test immuno-enzymatique qui permet le dosage des anticorps IgG et de confirmer la suspicion de la maladie de Lyme.

Le protocole, non développé ici, conduit à la coloration finale jaune-orangé du milieu étudié. Cette coloration est due à la réaction, entre le peroxyde d'hydrogène et le 3,3',5,5' tétraméthylbenzidine (TBM). Cette réaction est catalysée par une association enzyme-anticorps IgG. Dans cette association, l'enzyme est liée quantitativement aux anticorps.

La coloration obtenue dépend de la quantité d'enzyme liée aux anticorps et donc à la quantité d'anticorps IgG. Le dosage peut être ainsi réalisé à partir d'une courbe d'étalonnage.

Q6. L'enzyme est un catalyseur. Définir ce terme.

Les formules du TBM dans ses formes oxydée et réduite sont données **figure 1** et **figure 2**.

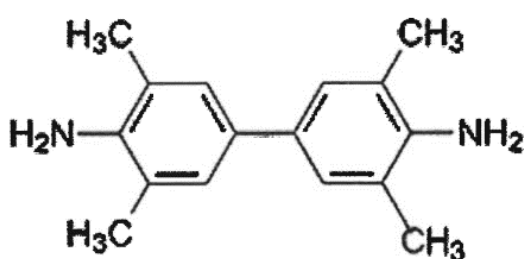


Figure 1

TBM sous forme réduite (TBM_{red})

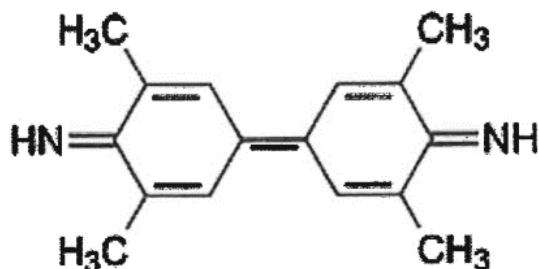


Figure 2

TBM sous forme oxydée (TBM_{ox})

Avant l'introduction de l'enzyme, le TBM est présent dans sa forme réduite incolore. En présence de l'enzyme liée aux anticorps et de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le TBM est oxydé et prend une coloration d'autant plus importante que la concentration en anticorps est élevée.

Q7. Ecrire les demi-équations des couples TBM_{ox} / TBM_{red} et H_2O_2 / H_2O .

Q8. En déduire l'équation de réaction entre TBM_{red} et le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

Les mesures d'absorbance de différentes solutions étalons conduisent à une courbe d'étalonnage qui permet de statuer sur le résultat du test.

Q9. Pour réaliser les mesures spectrophotométriques, on choisit la longueur d'onde de 450 nm comme longueur d'onde de travail. En utilisant le cercle chromatique des couleurs, montrer que ce choix est cohérent.

Les mesures permettent de tracer la courbe ci-dessous. Les absorbances mesurées sont reportées, en fonction des concentrations en enzyme des solutions étalons correspondantes. On obtient la courbe **figure 3**.

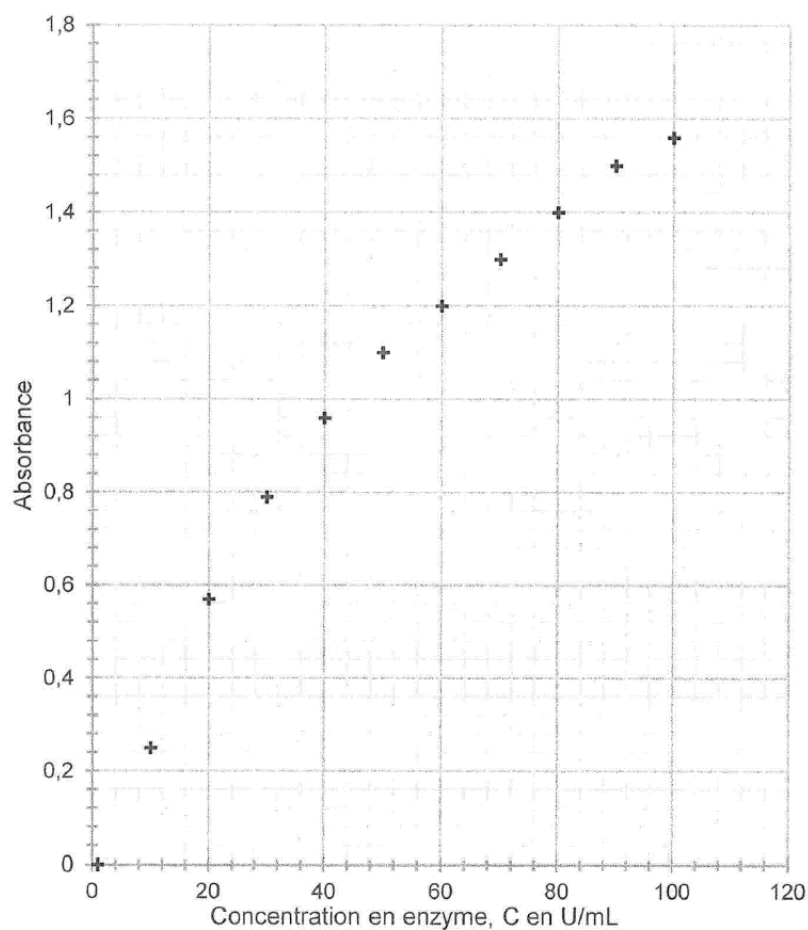


Figure 3

Interprétation des résultats :

Concentration C en enzyme	Interprétation du test
> 11 U/mL	positif
9-11 U/mL	limite
< 9 U/mL	négatif

Q10. L'échantillon de plasma d'un patient a révélé une absorbance de 1,1. Expliquer, en justifiant la réponse, si la suspicion de la maladie de Lyme peut être fondée.

Exercice II : soulager la maladie (11 points)

Les parties A et B sont indépendantes.

Les antibiotiques sont souvent utilisés dans le cas de la maladie de Lyme. C'est le cas de l'amoxicilline. D'autres « remèdes » dont le chlorure de magnésium, qui n'est pas un médicament à proprement parler, peuvent être également utilisés.

A. Les antibiotiques

Historiquement, la recherche de la modification de la molécule de pénicilline a engendré une famille d'antibiotiques. L'amoxicilline est née de cette recherche. Elle offre une meilleure tolérance dans l'organisme et une meilleure efficacité que la pénicilline.

Les molécules de pénicilline G et d'amoxicilline sont représentées respectivement sur la **figure 4** et la **figure 5**.

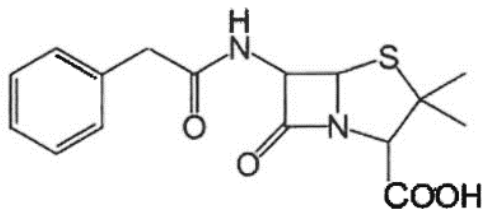


Figure 4 : pénicilline G

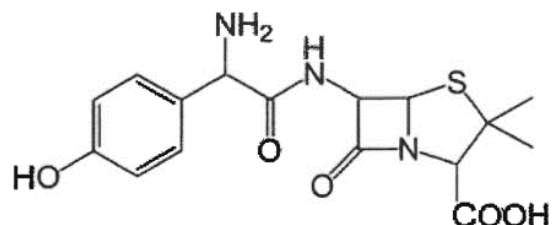


Figure 5 : amoxicilline

Q11. Entourer et nommer, sur le **document réponse à rendre avec la copie**, les groupes fonctionnels de l'amoxicilline qui permettent de distinguer ces deux molécules l'une de l'autre.

Plus hydrophile que la pénicilline G, l'amoxicilline passe mieux dans certaines membranes de bactéries.

Q12. Justifier que l'amoxicilline est plus hydrophile que la pénicilline G.

L'activité biologique de ces deux antibiotiques est liée à la configuration absolue des trois carbones asymétriques de la partie de la molécule dont les atomes sont numérotés de 1 à 7 représentée figure 6. Ces trois carbones asymétriques sont les carbones 2, 5 et 6. Pour que l'action antibiotique ait lieu ces trois carbones doivent être de configurations absolues respectives : S, R et R.

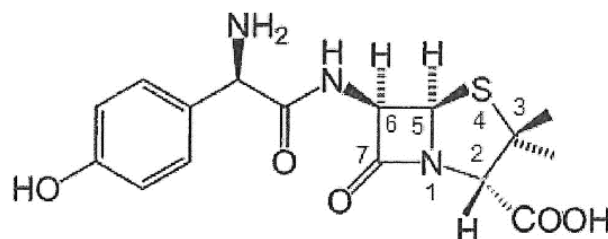


Figure 6

Q13. Justifier que le carbone 2 est bien de configuration absolue S.

Q14. Justifier que l'amoxicilline possède un carbone asymétrique supplémentaire par rapport à la pénicilline G. Le repérer sur le **document réponse à rendre avec la copie**.

La recherche a permis de dégager le pharmacophore de cette famille d'antibiotiques, c'est-à-dire la plus petite structure qui induit l'effet recherché. Il s'agit de l'acide 6-aminopenicillanique représenté **figure 7**.

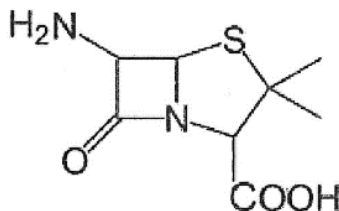


Figure 7 : acide 6-aminopenicillanique

En théorie, il serait possible de former l'amoxicilline à partir d'acide 6-aminopenicillanique en le faisant réagir avec une espèce susceptible de créer une liaison peptidique.

Q15. Proposer, en la dessinant et en justifiant le choix opéré, la formule semi-développée d'une molécule qui pourrait réagir, en une seule étape, avec l'acide 6-aminopenicillanique pour former la molécule d'amoxicilline.

Le candidat est invité à prendre des initiatives. Tout raisonnement, même incomplet, sera pris en compte.

B. Le chlorure de magnésium

La maladie de Lyme s'accompagne de douleurs articulaires qu'il est possible de soulager avec un apport de magnésium. Cet apport peut être apporté par du sel de Nigari qui n'est autre que du chlorure de magnésium. On souhaite vérifier le pourcentage massique annoncé du sel de Nigari vendu dans le commerce et dont l'étiquette est reproduite **figure 8**.

Chlorure de magnésium
NIGARI

Le chlorure de magnésium est un produit qui contribue à réduire la fatigue et participe au fonctionnement normal du système nerveux.

Composition : chlorure de magnésium hexahydraté ; chlorure de sodium.
Contient plus de 90% en masse de chlorure de magnésium hexahydraté.

Conservation : tenir à l'abri de l'humidité

Figure 8

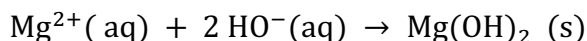
On réalise un titrage par précipitation suivi par conductimétrie. Pour réaliser ce titrage, on fabrique une première solution, notée S_0 , obtenue en dissolvant une masse $m_{\text{poudre}} = 0,20 \text{ g}$ de poudre de sel de Nigari dans un volume $V_0 = 100,0 \text{ mL}$ d'eau distillée. La solution S_0 est ensuite diluée 10 fois pour obtenir la solution S_1 .

On titre un volume $V_1 = 100,0 \text{ mL}$ de solution S_1 par une solution d'hydroxyde de sodium ($\text{Na}^+ + \text{HO}^-$) de concentration $C = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$.

La réaction de dissolution du chlorure de magnésium hexahydraté ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) dans l'eau est considérée comme étant totale.

Q16. Écrire l'équation bilan de la réaction de dissolution du chlorure de magnésium hexahydraté dans l'eau.

L'équation bilan de la réaction support du titrage est la suivante :



Q17.1 Exprimer la constante d'équilibre K_R de cette transformation en fonction du produit de solubilité K_S de l'hydroxyde de magnésium.

Q17.2 Justifier le caractère total de cette transformation.

Q17.3 En plus d'être totale, indiquer quelle autre condition cinétique doit respecter la réaction support du titrage.

Le graphique donné sur le **document réponse à rendre avec la copie** représente l'évolution de la conductivité σ du milieu réactionnel en fonction du volume V d'hydroxyde de sodium versé.

Q18. À partir des données de la page 2/10, justifier que la conductivité diminue puis augmente au cours du titrage.

Q19.1 Relever, en montrant le tracé sur le **document réponse à rendre avec la copie** le volume V_{eq} d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre l'équivalence du titrage.

Q19.2 Exploiter la valeur de V_{eq} pour calculer la concentration des ions magnésium $[Mg^{2+}]_1$ dans la solution S_1 puis $[Mg^{2+}]_0$ dans la solution S_0 .

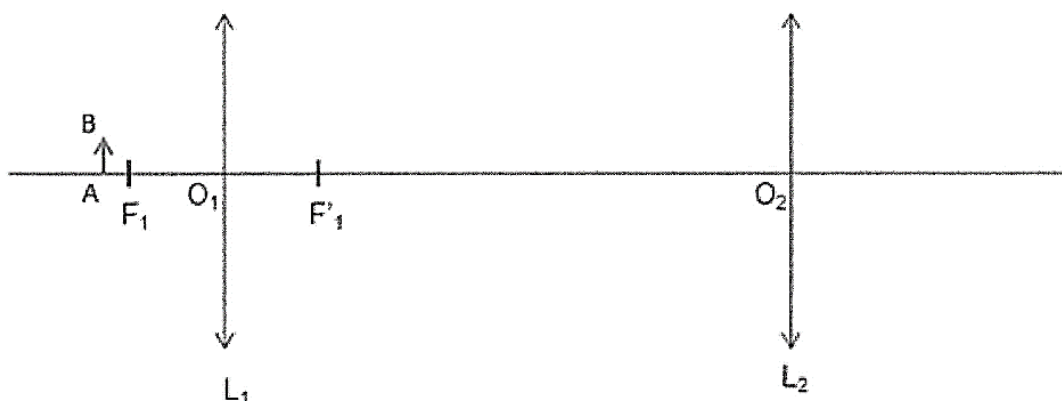
Q19.3 En déduire le pourcentage de chlorure de magnésium hexahydraté ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), dont la masse molaire est donnée page 2/10, dans la poudre de sel de Nigari. Commenter le résultat.

DOCUMENT RÉPONSE À rendre avec la copie

Exercice I

Question Q2

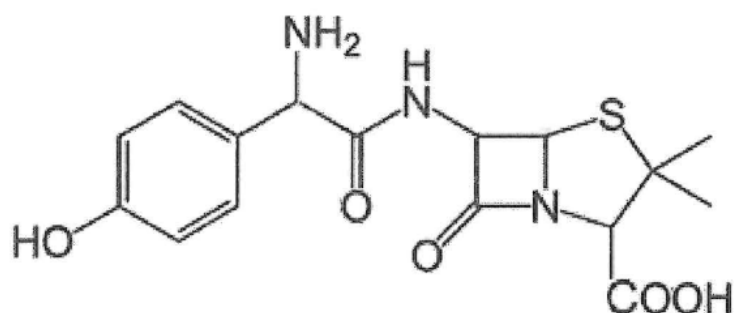
Ce schéma doit être complété sans respecter les échelles.



DOCUMENT RÉPONSE
À rendre avec la copie

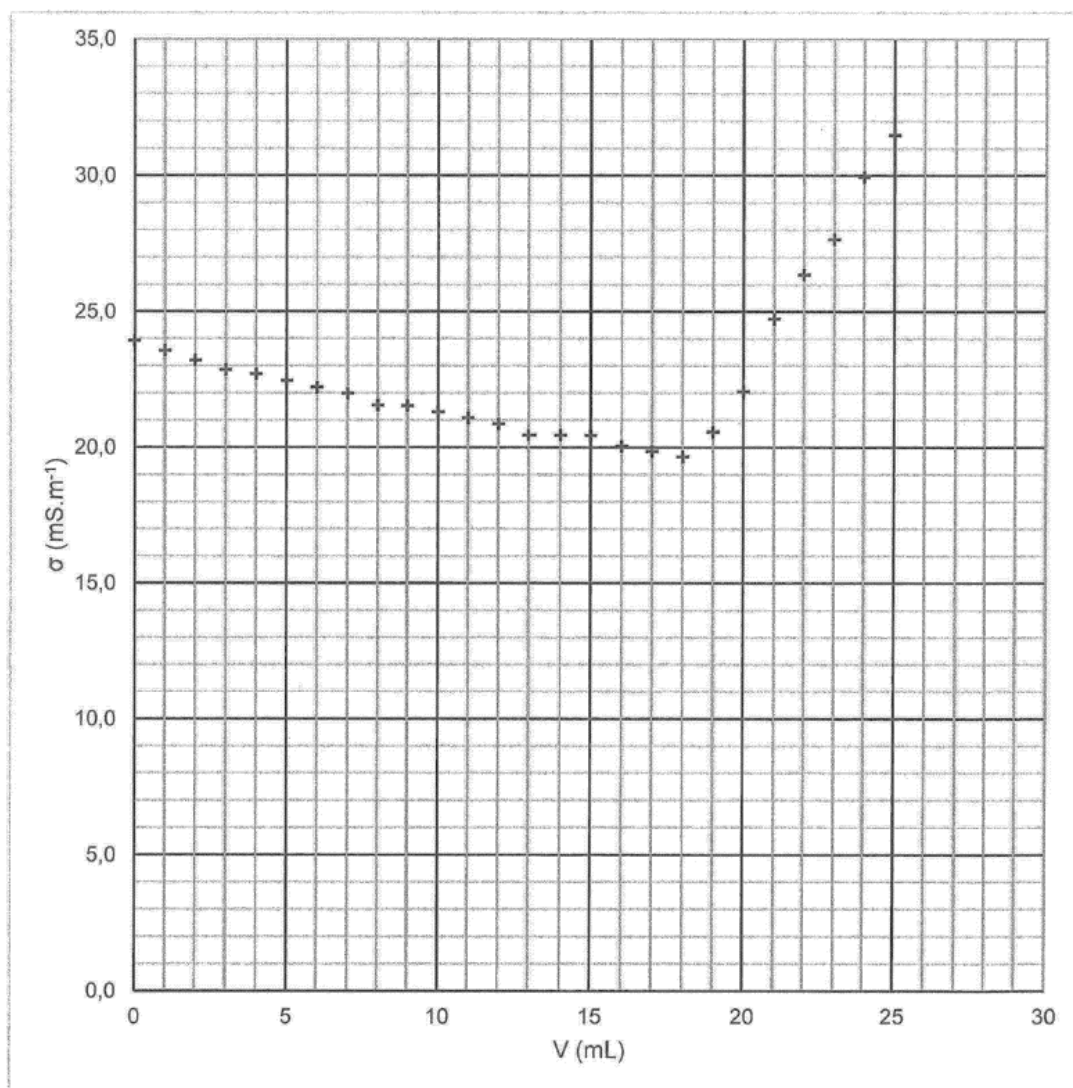
Exercice II

Questions Q11 et Q14



Exercice II

Questions Q18 et Q19.1



Les 3 épreuves E4 sont évaluées par compétences et capacités selon la répartition ci-dessous :

C1	C2	C3	C4	C5
Analyser des ressources documentaires en s'appuyant sur savoirs scientifiques et technologiques	Exercer un regard critique sur la faisabilité d'une analyse ou la fiabilité d'un résultat	Analyser un résultat, une procédure dans une situation professionnelle	Établir une synthèse à partir d'un raisonnement rigoureux	S'exprimer à l'écrit avec clarté et rigueur

E41 Biochimie

2024

Durée : 3 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

LE DÉPISTAGE NÉONATAL

À la naissance, un dépistage est proposé aux parents de chaque nouveau-né. Il repose sur le prélèvement au talon du nourrisson de quelques gouttes de sang, déposées sur un papier buvard. Ce dépistage, couramment appelé « test de Guthrie », est ensuite envoyé à un laboratoire spécialisé pour y détecter des marqueurs de maladies rares et graves dont la leucinose, la mucoviscidose et l'hypothyroïdie congénitale.

1. Dépistage néonatal de la leucinose

La leucinose est une affection génétique rare (1 cas sur 85 000 nouveau-nés) de transmission autosomique récessive liée à un déficit de l'enzyme « déshydrogénase des alpha-cétoacides à chaînes ramifiées ». Il conduit à l'accumulation d'acides aminés ramifiés : leucine, isoleucine, allo-isoleucine à l'origine d'une toxicité cérébrale. La méthode historiquement utilisée pour le dosage de ces acides aminés est la chromatographie échangeuse d'ions (CEI) avec détection photométrique après dérivatisation post-colonne par la ninhydrine.

Le **document 1** présente les recommandations pour les étapes pré-analytiques et analytiques du dosage des acides aminés par chromatographie.

1.1. Phase pré-analytique

Q1. Évaluer la conformité des prélèvements 1, 2 et 3 présentés dans le **document 2** (C3).

Q2. Indiquer la procédure à suivre dans le cas d'un prélèvement non conforme. (C2)

1.2. Phase analytique : la chromatographie échangeuse de cations

La chromatographie d'échangeuse d'ions (CEI) fut la première méthode biochimique utilisée pour le dosage global des acides aminés ramifiés leucine, isoleucine, allo-leucine.

Q3. Réaliser un schéma légendé montrant la fixation d'un acide aminé sur une colonne échangeuse de cations lors de la chromatographie. (C1)

L'élution est réalisée par modification du pH et de la force ionique dans la colonne.

Q4. Expliquer comment ces modifications entraînent l'élution des acides aminés de la phase stationnaire. (C1)

La chromatographie échangeuse d'ions tend à être remplacée par la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) ou la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

1.3. Phase analytique : la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse ou spectrométrie de masse en tandem

Le diagnostic néonatal de la leucinose par spectrométrie de masse repose sur le dosage de la leucine totale, noté XLE. Il correspond à la somme des concentrations en pmol L^{-1} de la leucine, de l'isoleucine, de l'allo-isoleucine et de l'hydroxyproline.

Les masses molaires des acides aminés sont données dans le **document 3**.

Q5. Émettre une hypothèse permettant d'expliquer que le dosage de XLE repose sur l'analyse d'un seul pic par spectrométrie de masse. (C2)

1.4. Comparaison des deux méthodes

Q6. Dégager de l'étude du **document 1** trois arguments en faveur du développement des techniques de chromatographie couplées à de la spectrométrie de masse. (C4)

1.5. Analyse des résultats par chromatographie LC-MS/MS

Le dosage XLE est effectué pour un échantillon conforme prélevé sur un nouveau-né.

Q7. Analyser la carte de contrôle réalisée pour le dosage, fournie dans le **document 4**. (C2)

Le **document 5** présente un extrait de l'arrêté du 09 novembre 2022 relatif à l'organisation du programme national de dépistage néonatal de la leucinose, désormais proposé à tous les nouveau-nés depuis le 1^{er} janvier 2023.

Le **document 6** fournit les résultats de deux séries d'analyses effectuées sur le même buvard à 24 h d'intervalle.

Q8. Analyser les résultats obtenus pour le « premier passage » et argumenter la nécessité de réaliser une deuxième analyse sur le même prélèvement du nouveau-né. (C3)

Q9. Analyser les résultats du « deuxième passage » et conclure. (C3)

2. Dépistage néonatal de la mucoviscidose

La mucoviscidose est une maladie génétique à transmission autosomique récessive. Les atteintes sont potentiellement graves et touchent surtout les fonctions digestives et respiratoires. Elle est due à une anomalie du gène codant la protéine CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*), porté par le chromosome 7.

Le gène *CFTR* peut être porteur de nombreuses mutations. Le laboratoire FUJIREBIO propose une trousse de détection de 88 mutations du gène *CFTR* basée sur la technique LiPATM (*Line Probe Assays*). Les mutations les plus courantes du gène *CFTR* sont répertoriées dans le **document 7**.

Q10. Dédurre de l'analyse du schéma du **document 7** la fonction de la protéine CFTR. (C1)

Q11. Expliquer l'effet de chacune des deux mutations les plus fréquentes sur l'expression de la protéine CFTR. (C1)

Les séquences du gène *CFTR* sauvage et muté (mutation F5086) sont fournies dans le **document 8**.

Q12. Établir la séquence protéique attendue par expression de la séquence nucléotidique du gène *CFTR* sain et muté. Identifier la mutation observée. (C1)

La technique LipaTM repose sur l'hybridation du produit d'amplification du gène *CFTR* à des sondes oligonucléotidiques immobilisées sur une bande de nitrocellulose.

Q13. Citer une technique permettant d'obtenir le produit d'amplification du gène *CFTR*. (C1)

Q14. Analyser le **document 9** pour identifier les éléments notés 1 à 6 et expliciter le principe de la technique LipaTM. (C3)

Q15. Indiquer deux critères qui assurent la spécificité d'une réaction positive. (C3)

Q16. Exploiter les résultats présentés dans le **document 10**. (C3)

3. Dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale

Avec une prévalence de 1 cas sur 3500 nouveau-nés, l'hypothyroïdie congénitale est la principale cause évitable de retard mental et l'anomalie congénitale endocrinienne la plus fréquente dans les pays industrialisés.

Le dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale est basé sur le dosage quantitatif de l'hormone thyroïdienne humaine (hTSH) dans un échantillon de sang séché sur papier buvard.

Un extrait de la fiche technique DELFIA[®] Neonatal hTSH kit est fourni dans le **document 11**.

Q17. Décrire, à l'aide d'un schéma, la boucle de régulation de la fonction thyroïdienne en précisant les organes et les hormones impliqués en vous aidant des informations fournies dans le paragraphe « RESUME ET EXPLICATION DU TEST ». (C4)

Le principe du dosage de la hTSH est fourni dans le **document 11**.

Q18. Montrer, à l'aide d'un schéma de l'édifice moléculaire, que le dosage est spécifique de la hTSH et non des autres hormones glycoprotéiques. (C3)

La technique est validée par le passage de deux contrôles de concentrations différentes.

Q19. Expliquer l'intérêt de procéder à la validation analytique à l'aide de deux contrôles de concentrations différentes. (C2)

Les valeurs approximatives des contrôles sont fournies dans la fiche technique.

Q20. Expliquer comment le laboratoire procède pour déterminer la valeur cible de chacun des contrôles. (C1)

La fiche technique du **document 11** (paragraphe « Réactifs ») indique un facteur de conversion pour un hématoците de 55 %.

Q21. Argumenter les différences de concentrations entre le sang et le sérum fournies pour le dosage de la hTSH. (C2)

La performance de la technique a été évaluée. Les données sont fournies dans le paragraphe « Précision ».

Q22. En déduire la condition opératoire la plus adaptée au dosage de la hTSH sur sang séché. (C3)

Lors du passage de l'échantillon d'un nouveau-né, l'écran de l'automate affiche une alarme pour une valeur trop élevée.

Q23. Émettre une hypothèse quant à la cause de cette alarme.
Indiquer la conduite à tenir par un technicien devant une telle alarme. (C3)

SOURCES

Leucinose : Fiche 06 pour le nouveau-né dépisté pour la leucinose (version du 12/09/2022)

https://www.filiere-g2m.fr/media/attachments/2023/02/27/g2m_fiche-leucinose1.pdf

Mucoviscidose : Des pistes thérapeutiques encourageantes :

<https://www.inserm.fr/dossier/mucoviscidose/>

Hypothyroïdie congénitale, D. Carranza, G. Van Vliet, M. Polak, Annales d'Endocrinologie Orphanet

<https://www.orpha.net/data/patho/Pro/fr/HypothyroïdieCongenitale-FRfrPro760.pdf>

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENTS	Titre du document
Document 1	Extraits de « Recommandations concernant l'analyse de la chromatographie des acides aminés »
Document 2	Photographies de 3 prélèvements sur buvard.
Document 3	Masses molaires des acides aminés.
Document 4	Carte de contrôle pour le dosage XLE par LC-MS/MS. Règles de Westgard.
Document 5	Extrait de l'arrêté du 09 novembre 2022 relatif à l'organisation du programme national de dépistage néonatal.
Document 6	Résultats obtenus pour le prélèvement du nouveau-né.
Document 7	Effet des différentes classes de mutations du gène <i>CFTR</i> sur la protéine CFTR. Fréquences des mutations du gène <i>CFTR</i> détectées par la trousse INNO-LiPA TM CFTRiage.
Document 8	Séquences codantes d'une portion du gène <i>CFTR</i> sauvage et muté. Code génétique.
Document 9	Principe de la technique LiPA TM (<i>Line Probe Assays</i>).
Document 10	Résultat obtenu avec la trousse INNO-LiPA TM CFTRiage.
Document 11	Extrait de la fiche technique DELFIA® Neonatal hTSH kit.

Extraits de « Recommandations concernant l'analyse de la chromatographie des acides aminés »

Source : d'après Annales de Biologie Clinique 2020 ; 78 (5) : 555-64, vol. 8, n° 5, septembre-octobre 2020

Étape pré-analytique

Sang séché sur buvard

Le sang capillaire ou le sang veineux doit être déposé immédiatement et en une seule fois sur une seule face d'un papier-filtre marqué CE (Whatman 903 ou Ahlstrom grade 226). Après avoir déposé une goutte de sang par cercle sur le buvard, celui-ci doit sécher 2 heures à température ambiante et à l'abri de l'humidité. La quantité minimale est de deux spots correctement remplis, les tâches devant être symétriques au recto et au verso. L'acheminement au laboratoire se fait dans une enveloppe, ne pas mettre le buvard directement dans un sachet plastique.

Les recommandations concernant les critères d'acceptation des buvards (rejeter les tâches superposées, quantité insuffisante, imprégnation incomplète du buvard) et localisation du poinçonnage (préférentiellement à la périphérie de la tâche [9]) sont celles émises dans le cadre du dépistage néonatal [10].

Étape analytique

Actuellement, trois méthodologies sont classiquement utilisées pour le dosage quantitatif des AA : la CEI, la LC-MS et la LC-MS/MS. Concernant les techniques par spectrométrie de masse, elles peuvent utiliser soit des kits commerciaux [11] soit des méthodes développées en interne par le laboratoire [12-16].

Principes et caractéristiques des techniques (Encadré 2)

Chromatographie échangeuse d'ions

Le dosage des AA par CEI est réalisé sur un analyseur dédié. Les AA sont séparés sur une colonne de résine synthétique échangeuse de cations. L'échantillon préalablement déprotéinisé est dilué dans un tampon à pH 2,2. Les AA sous forme canionique déplacent les ions Li^+ de la résine et s'y fixent plus ou moins fortement en fonction de leur degré d'ionisation. La séparation des AA est obtenue en augmentant progressivement le pH et la force ionique des tampons et en faisant varier la température de la colonne. En sortie de colonne, les AA sont dérivatisés à chaud par une solution de ninhydrine donnant une coloration pourpre, ou jaune pour les imines. L'intensité de la coloration proportionnelle à la concentration est mesurée à 570 et 440 nm. Le rapport des absorbances 570 nm/440 nm est utilisé comme critère d'identification en plus du temps de rétention. Le dosage quantitatif des AA est réalisé grâce à une solution de calibration comportant tous les AA à quantifier (tableau 2) et inclus dans chaque série.

Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse ou à la spectrométrie de masse en tandem

L'échantillon est mélangé à une solution d'étalons internes avant déprotéinisation. Il est ensuite dérivatisé ou non avant d'être analysé. Le principe de la quantification repose sur l'utilisation d'une gamme de calibration comportant tous les AA à quantifier et le calcul du rapport entre le signal de l'AA à doser sur celui de son étalon interne (isotope stable ou molécule chimiquement très proche).

Encadré 2

Caractéristiques des techniques applicables au dosage des acides aminés

	CEI	LC-MS et LC-MS/MS
Analyseur dédié	O	N
Kits commerciaux	O	O
Méthodes « maison »	N	O
Déprotéinisation échantillons	O	O
Préparation échantillons	Simple et rapide	
Dérivation	Oui (ninhydrine)	Pas obligatoire
Calibration externe	O	O
Etalons internes	O	O
Durée d'analyse	2h30	10-30 min
Sensibilité	+++	+++
Spécificité	+	+++

O : oui ; N : non.
 CEI : chromatographie échangeuse d'ions ;
 LC-MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse ;
 LC-MS/MS : chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.

DOCUMENT 2

Photographies de 3 prélèvements sur buvard

Prélèvement 1	Recto	Verso
		
Prélèvement 2	Recto	Verso
		
Prélèvement 3	Recto	Verso
		

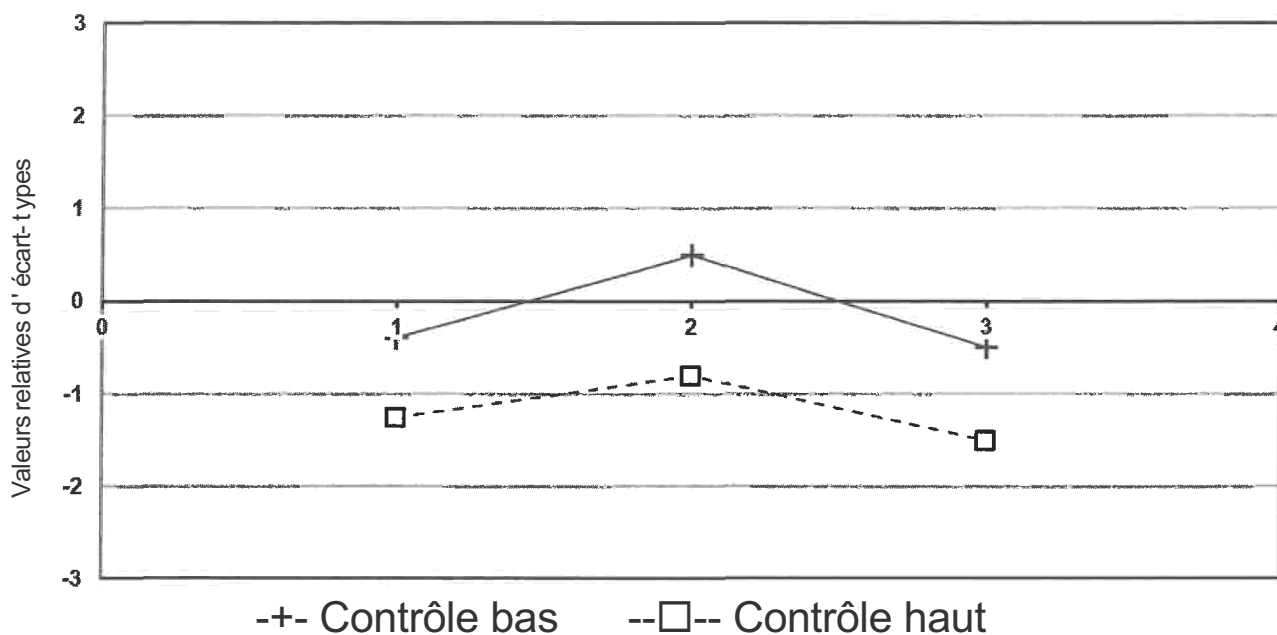
Source : Procédure de prélèvement d'un CHU

Masses molaires des acides aminés

Nom de l'acide aminé ou dérivé	Masse molaire (g · mol ⁻¹)
Alanine	89,1
Allo-isoleucine	131,2
Arginine	174,2
Asparagine	132,1
Aspartate	133,1
Cystéine	121,2
Glutamate	147,1
Glutamine	146,2
Glycine	75,07
Histidine	155,2
Hydroxyproline	131,1
Isoleucine	131,2
Leucine	131,2
Lysine	146,2
Méthionine	149,2
Phénylalanine	165,2
Proline	115,1
Sérine	105,1
Thréonine	119,1
Tryptophane	204,2
Tyrosine	181,2
Valine	117,1

DOCUMENT 4

Carte de contrôle pour le dosage XLE par LC-MS/MS



Règles de Westgard

(extrait du SH-GTA 06)

Règles de rejet :

1_{3s} : 1 valeur éloignée de plus de 3 écart-types de la moyenne,

2_{2s} : 2 valeurs consécutives éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne,

R_{4s} : 2 valeurs consécutives éloignées l'une de l'autre de plus de 4 écart-types.

Règles d'alarme :

1_{2s} : 1 valeur éloignée de plus de 2 écart-types de la moyenne,

4_{1s} : 4 valeurs consécutives éloignées de plus de 1 écart-type du même côté de la moyenne,

10_x : 10 valeurs consécutives situées du même côté de la moyenne.

DOCUMENT 5

Extrait de l'arrêté du 09 novembre 2022 relatif à l'organisation du programme national de dépistage néonatal

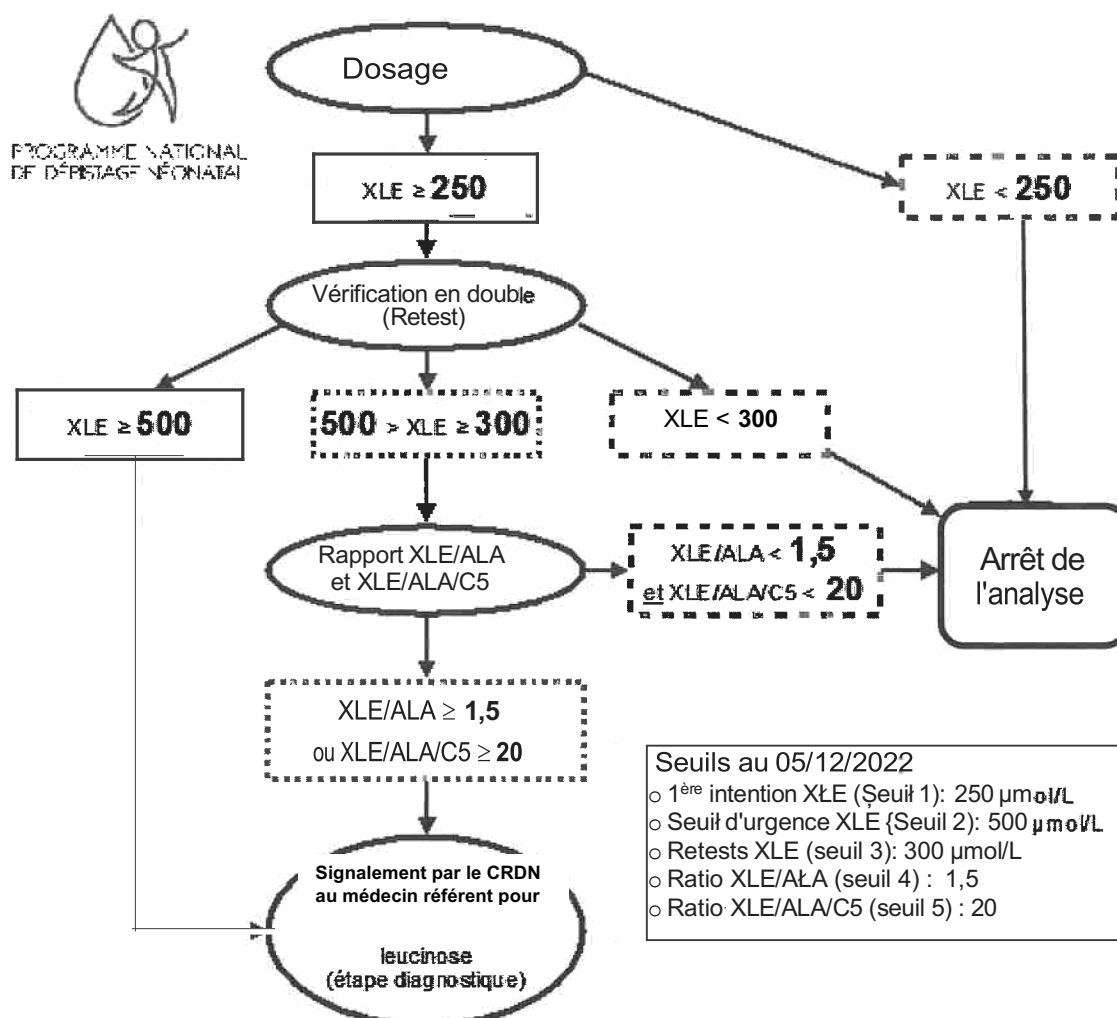
Source : extrait du Journal officiel de la République Française - 17 novembre 2022

« Les examens de biologie médicale permettant le dépistage néonatal de la leucine sont effectués avec des réactifs conformes aux normes en vigueur, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle spécifiquement destinés à cet usage. Ces réactifs sont adaptés à des méthodes de spectrométrie de masse en tandem permettant le dosage de la leucine totale (XLE — composé de la somme de la leucine et des acides aminés iso-masses de la leucine : l'isoleucine et l'allo-isoleucine) à partir de sang déposé sur buvard. Ils doivent également permettre de doser l'alanine (ALA) et l'isovalérylcarnitine (C5) qui permettront de calculer les ratios XLE/ALA et XLE/ALA/C5, utiles à la prise en charge d'un nouveau-né suspect. Le prélèvement sanguin est réalisé au moins 48 heures après la naissance, idéalement 72 heures après la naissance. Les résultats sont rendus en $\mu\text{mol/L}$ de sang total. L'interprétation biologique de la mesure de XLE est réalisée à l'aide de seuils d'action dépendants de la technique utilisée. Les valeurs de ces seuils sont proposées et validées à partir des données des percentiles de la population concernée et réévaluées régulièrement et à chaque changement majeur de la technique.

Pour tenir compte de l'incertitude de mesure de la méthode de dosage, un seuil de retest, inférieur au seuil d'action est déterminé. Sa valeur est donnée à titre indicatif et doit être adaptée par chaque laboratoire en fonction de ses propres données. »

Le Centre National de Coordination du Dépistage Néonatal (CNCNDN) propose l'arbre décisionnel ci-dessous décrivant la démarche de dépistage néonatal de la leucine.

Arbre décisionnel de dépistage néonatal de la leucine



DOCUMENT 6**Résultats obtenus pour les prélèvements du nouveau-né
Premier passage**

Test Name	Function	Calculated concentration	High concentration	Low concentration	Units
01_Ala	1:Amino Acids	152.5	750.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
02_XLE	1:Amino Acids	286.7	250.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
03_Met	1:Amino Acids	23.79	35.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
04_Phe	1:Amino Acids	74.96	100.0	25.00	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
05_Tyr	1:Amino Acids	135.6	650.0	30.00	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

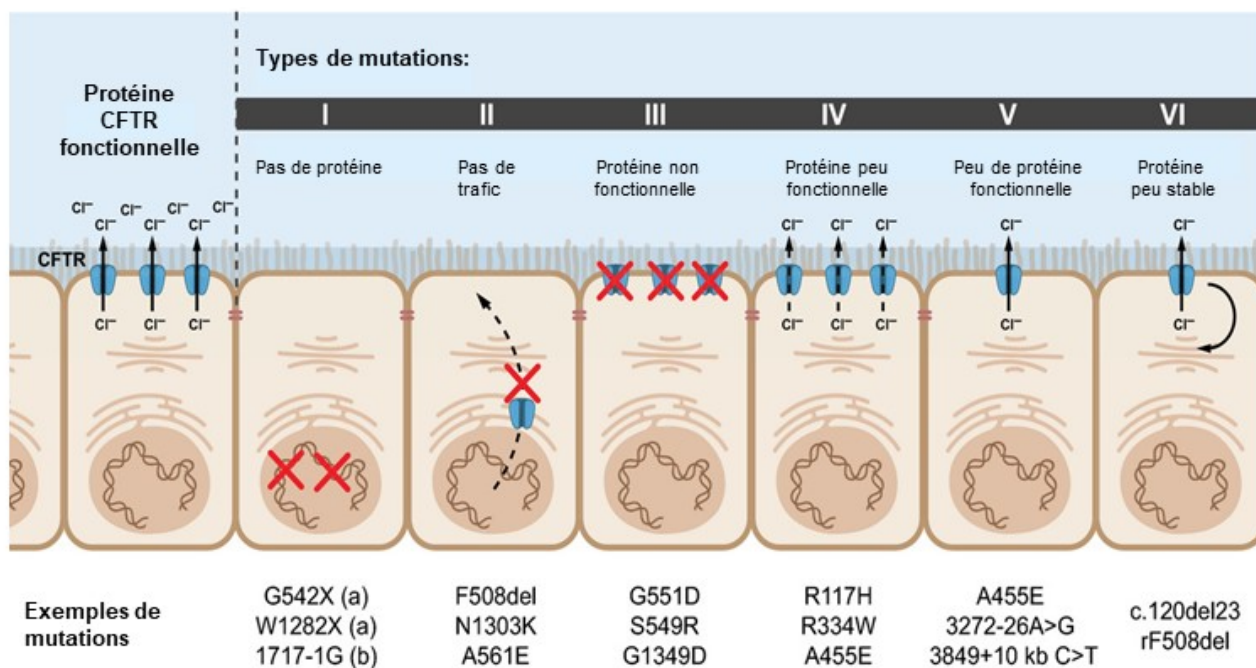
Deuxième passage — Lendemain à partir du même buvard (« Retest »)

Test Name	Function	Calculated concentration	High concentration	Low concentration	Units
01_Ala	1:Amino Acids	151.3	750.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
02_XLE	1:Amino Acids	272.1	250.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
03_Met	1:Amino Acids	22.90	35.0	0.000	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
04_Phe	1:Amino Acids	70.69	100.0	25.00	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
05_Tyr	1:Amino Acids	130.8	650.0	30.00	$\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Source : résultats d'un cas clinique fourni par un laboratoire spécialisé dans le dépistage néonatal

DOCUMENT 7

Effet des différentes classes de mutations du gène *CFTR* sur l'activité biologique de la protéine CFTR



Source : d'après M.D. Amaral, Novel personalized therapies for cystic fibrosis: treating the basic defect in all patients, J. Intern. Med. 277 (2015) 155-166. doi:10.1111/joim.12314.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/joim.12314>

Fréquences des mutations du gène *CFTR* détectées par la trousse INNO-LIPA™CF7Riage

Mutations du gène <i>CFTR</i>	Fréquence
F508del	69,74 %
G542X	2,54 %
G551D	2,10 %
R117H	1,31 %
N1303K	1,58 %
W1282X	1,22 %
621+1G->T	0,93 %
1717-1G->A	0,86 %
2789+5G->A	0,72 %
A455E	0,35 %
CFTRdele2,3 (21kb)	0,29 %
L927P	0,02 %

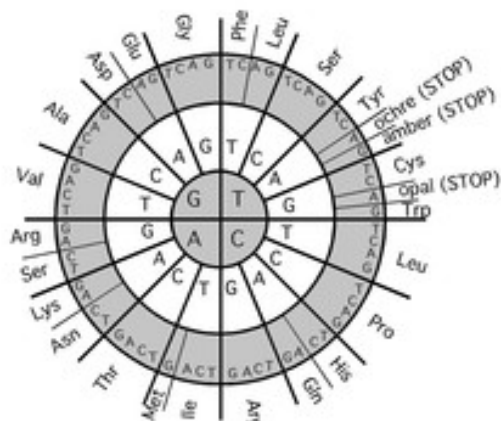
Source : trousse INNO-LiPA™ CF7Riage
https://www.fujirebio.com/sites/default/files/media/files/2019-10/inno-lipa_cf7riage_2_pager.pdf

DOCUMENT 8

Séquences codantes d'une portion de gène *CFTR* sauvage et muté (mutation F508A)

Codons		504	505	506	507	508	509	600	
Séquence sauvage	5'	...GAA	AAT	ATC	ATC	TTT	GGT	GTT	3'
Séquence mutée F508Δ	5'	...GAA	AAT	ATC	ATT	GGT	GTT...		3'

Code génétique



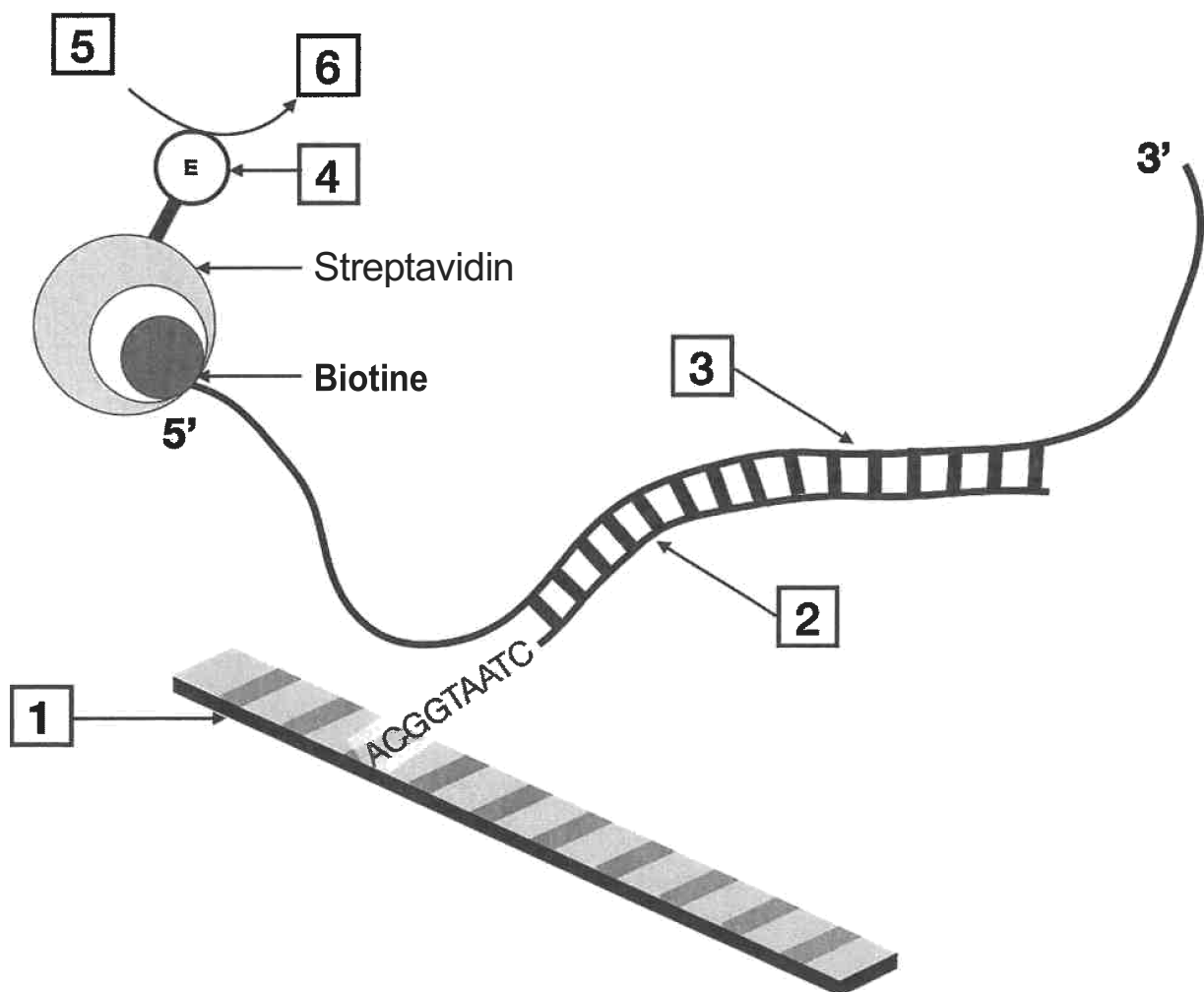
Acide aminé	Symbole à trois lettres	Symbole à une lettre
Acide aspartique	Asp	D
Acide glutamique	Glu	E
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Cystéine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Méthionine	Met	M
Phénylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Sérine	Ser	S
Thréonine	Thr	T
Tryptophane	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

Source : <http://monde.ccdmd.gc.ca/ressource/?id=55597&demande=desc>

DOCUMENT 9

Principe de la technique LiPA™ (Line Probe Assays)

Le système de détection *Line Probe Assays* (LiPA™) est basé sur le principe de l'hybridation inverse. La bande de nitrocellulose contient une série de sondes courtes d'oligonucléotides immobilisées en lignes parallèles permettant une identification facile de séquences sauvages (W) ou de séquences mutées (M). Les fragments d'ADN recherchés amplifiés et biotinylés s'hybrident aux sondes immobilisées. La streptavidine marquée à la phosphatase alcaline est ensuite ajoutée et se lie aux hybrides biotinylés préalablement formés. L'incubation avec un chromogène entraîne le développement de la couleur. Après amplification, la réalisation d'un tel test prend moins de 3 heures.



Source: d'après https://www.researchgate.net/figure/Example-of-line-probe-assay-LiPA-detection-system-based-on-the-reverse-hybridization_fig3_7775769

DOCUMENT 10

Résultat obtenu avec la trousse INNO-LiPA™ CF7Riage

	Marker line 1
	Conj. Control
1	CFTR19 A
2	CFTR19 B
3	CFTR17 A
4	CFTR17 B
5	CFTR Italian A
6	CFTR Italian B
7	CFTR deletions A
8	CFTR deletions B
9	CFTR Extra A
10	CFTR Extra B
11	W.F508del
12	W.G542X
13	W.G551D
14	W.R117H
15	W.N1303K
16	W.W1282X
17	W.621-1G→A
18	W.1717-1G→A
19	W.2789+5G→A
20	W.A455E
21	W.CFTRdele2,3(21kb)
22	W.L927P
23	M.F508del
24	M.G542X
25	M.G551D
26	M.R117H
27	M.N1303K
28	M.W1283X
29	M.621-1G→T
30	M.1717-1G→A
31	M.2789+5G→A
32	M.A455E
33	M.CFTRdele2,3 (21kb)
34	M.L927P
	Marker line 2

W: *wild* (sauvage)

M: *muted* (mute)

Extrait de la fiche technique DELFIA® Neonatal hTSH kit

BUT

Cette trousse est destinée à la mesure quantitative de l'hormone thyroestimulante humaine (hTSH) dans les échantillons de sang séchés sur papier-filtre, pour le dépistage chez les nouveaux-nés de l'hypothyroïdisme congénital (néonatal).

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

L'hormone thyroestimulante humaine (hTSH ou thyrotropine) est une hormone glycoprotéique synthétisée et sécrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse. La hTSH est un dimère constitué d'une sous-unité α commune aux glycoprotéines hCG, LH, FSH et une sous-unité β spécifique.

Elle stimule la production des hormones thyroïdiennes (T3, T4) par la glande thyroïde. La fonction première de l'hTSH est de réguler la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes principales, la thyroxine (T4) et la 3,5,5'-triiodo-thyronine (T3). Le niveau d'hTSH est régulé par l'équilibre de deux facteurs majeurs et opposés. Le premier est l'influence de la TRH (thyrotropine releasing hormone), un tripeptide produit par l'hypothalamus et qui agit sur les cellules adénohypophysaires pour stimuler la synthèse et la sécrétion de l'hTSH. Le second facteur est constitué des hormones thyroïdiennes elles-mêmes qui freinent la réponse des cellules adénohypophysaires à la TRH.

[...]

Immédiatement après la naissance, on constate une augmentation rapide de la concentration de hTSH dans le sang néonatal (pic de hTSH). La concentration se stabilise quelques jours après la naissance à un niveau plus bas si la thyroïde du nouveau-né fonctionne normalement.

Une concentration élevée de hTSH dans le sang de l'enfant est la manifestation la plus précoce de l'hypothyroïdisme primaire. Grâce à sa haute spécificité et sensibilité, le dosage de la hTSH est la méthode de choix pour le dépistage de l'hypothyroïdisme néonatal. Comme un diagnostic clinique est difficile à établir et que la condition nécessite un traitement médical précoce, des programmes de dépistage à grande échelle pour la détection de l'hypothyroïdisme néonatal ont été implantés dans plusieurs pays.

PRINCIPE DU DOSAGE

La méthode DELFIA® hTSH Néonatale est un dosage immunofluorimétrique deux-sites sur phase solide fondé sur le principe du « sandwich » direct dans lequel deux anticorps monoclonaux (provenant de souris) sont dirigés contre deux déterminants antigéniques distincts de la molécule d'hTSH. Des standards, des contrôles et des échantillons contenant l'hTSH vont réagir simultanément avec les anticorps monoclonaux immobilisés dirigés contre un site antigénique spécifique de la sous-unité β d'hTSH et avec les anticorps monoclonaux marqués à l'euporium (dirigés contre un site antigénique différent localisé en partie sur la sous-unité β et en partie sur la sous-unité α). Le tampon détache l'hTSH des taches de sang séché sur les disques de papier-filtre. Le dosage complet ne nécessite qu'une seule étape d'incubation. La solution de développement dissocie dans la solution les ions euporium de l'anticorps marqué, qui forment alors des chélates hautement fluorescents avec les composants de la solution de développement. La fluorescence est ensuite mesurée dans chaque puits. La fluorescence de chaque échantillon est proportionnelle à la concentration de hTSH présente dans l'échantillon.

DOCUMENT 11-SUITE (2)

[...] REACTIFS

Constituants		Quantité	Durée de vie et conservation
Standards hTSH (valeurs approx.)		1 feuille de papier-filtre (Whatman, n°903) contenant 5 séries de tâches de sang séchée.	Conserver réfrigéré et à l'abri de l'humidité et de la lumière dans son emballage d'origine. Stable entre +2 et +8 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette.
A	1 µU/mL de sang		
B	10 µU/mL de sang		
C	25 µU/mL de sang		
D	50 µU/mL de sang		
E	100 µU/mL de sang		
F	250 µU/mL de sang		
Contrôles (valeurs approx.)		1 feuille de papier-filtre (Whatman, n°903) contenant 5 séries de tâches de sang séchée.	Conserver réfrigéré et à l'abri de l'humidité et de la lumière dans son emballage d'origine. Stable entre +2 et +8 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette.
C1	15 µU/mL de sang		
C2	60 µU/mL de sang		

Facteur de conversion : 1 µU/mL de sang = 2.22 µU/mL de sérum (avec un hémocrite de 55%)

[...]

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES ANALYTIQUES

[...]

Précision⁵ : La variation présentée par le dosage DELFIA hTSH Néonatale a été déterminée à l'aide d'échantillons de taches de sang surchargées en 18 dosages répétés 8 fois (4 répétitions par plaque). La méthode d'analyse de variance a été utilisée pour calculer les variations suivante :

Procédure de 4 h

Échantillon	Valeur moyenne totale µU/mL		Variation intra- dosage (% CV)	Variation inter- dosage (% CV)	Variation totale (% CV)
	sang	sérum			
1	14.8	32.6	5.6	16.1	17.0
2	22.9	50.4	11.4	13.7	17.8
3	66.5	146	6.0	10.8	12.3

Procédure d'incubation d'une nuit

Échantillon	Valeur moyenne totale µU/mL		Variation intra- dosage (% CV)	Variation inter- dosage (% CV)	Variation totale (% CV)
	sang	sérum			
1	15.0	33.0	7.0	8.0	10.6
2	23.7	52.1	7.8	9.0	11.9
3	66.1	145	7.5	7.9	10.9

⁵ Etude réalisée à Wallac Oy, Turku, Finlande

Source : https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/IFU_A032_310_DELFIA_Neonatal_hTSH_fr_13904642_18.pdf

Aucun document ou matériel autorisé.

MALADIES CONTAGIEUSES NÉCESSITANT UNE ÉVICTION SCOLAIRE

Les mesures d'évictions scolaires ont été définies par l'arrêté du 3 mai 1989 relatif aux durées et conditions d'éviction à l'égard des élèves et du personnel dans les établissements scolaires en cas de maladie contagieuse.

L'éviction de la collectivité est une obligation réglementaire pour certaines pathologies infectieuses et contagieuses. Ces dernières sont peu nombreuses mais nécessitent un diagnostic au laboratoire justifiant, sur avis médical, la décision d'éviction. Pour certaines d'entre elles, un suivi de la présence de l'agent infectieux permet le retour en collectivité.

Le sujet traitera de trois maladies donnant lieu à une éviction scolaire.

1. Infections invasives à méningocoques

Le méningocoque, *Neisseria meningitidis*, porté au niveau du rhinopharynx est exclusivement retrouvé chez l'humain. Parmi les douze sérogroupes décrits, seules les souches des sérogroupes A, B, C, Y et W sont responsables de la quasi-totalité des infections invasives à méningocoque (IIM).

Les infections invasives à méningocoques se manifestent le plus souvent sous forme de méningite et/ou de septicémie.

1.1. Diagnostic des infections invasives à méningocoques

À l'hôpital, des prélèvements sont effectués très rapidement sur tout patient suspecté de méningite. Un prélèvement de liquide céphalorachidien (LCR), appelé aussi liquide cérébrospinal (LCS), par ponction lombaire est réalisé systématiquement en urgence.

Le document 1 présente la procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques sur un prélèvement de LCR.

Q1. Argumenter la nécessité de rechercher la présence de méningocoques sur un prélèvement de LCR plutôt que sur un prélèvement du rhinopharynx. (C1)

Dans le cadre de l'accréditation ISO 15189, la totalité des procédures et protocoles doit être rédigée et intégrée au système documentaire du laboratoire.

Monsieur D, technicien de laboratoire, doit compléter le document qualité du laboratoire relatif à la procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques dont la trame est présentée dans le **document 2**.

La procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques relève du processus analytique, secteur microbiologie et est identifiée dans le système documentaire de la façon suivante : ANA/Micro/Proc/Méningocoque.

Q2. Reporter, sur la copie, l'en-tête et le compléter pour permettre l'intégration du document qualité dans le système documentaire du laboratoire. (C1)

Monsieur D. repère que des informations sont manquantes dans l'en-tête du document qualité.

Q3. Indiquer les informations manquantes. (C2)

Les analyses engagées à partir du LCR sont présentées dans le **document 1**.

Q4. Établir, sur la copie, sous forme d'organigramme, la procédure décrivant la démarche de diagnostic des infections invasives à méningocoques. (C4)

Q5. Expliquer l'intérêt d'utiliser trois milieux pour la mise en culture du prélèvement. (C1)

1.2. Traitement des infections invasives à méningocoques

La prise en charge du patient inclut, dès la suspicion clinique, l'administration par voie intraveineuse d'un antibiotique, une céphalosporine de 3^{ème} génération. En cas de confirmation de la présence du méningocoque par les analyses microbiologiques, la céphalosporine de 3^{ème} génération est maintenue à la même dose ou bien remplacée par de fortes doses de pénicilline.

Un traitement antibiotique court à visée préventive est instauré rapidement aux cas contacts. La rifampicine est l'antibiotique habituellement proposé. Cette antibioprophylaxie peut être suivie d'une vaccination des personnes faisant partie de l'entourage du malade.

Une souche de *Neisseria meningitidis* a été isolée chez un patient à partir d'un prélèvement de LCR selon la procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques. La sensibilité de la souche aux antibiotiques est déterminée par méthode E-TEST® sur milieu gélosé.

Les résultats sont présentés dans le **document 3**.

Q6. Analyser les résultats de concentration minimale inhibitrice (CMI).

Conclure sur la sensibilité aux antibiotiques testés. (C3)

1.3. Contrôle qualité de la méthode E-TEST®

Dans un objectif de contrôle qualité de la méthode E-TEST®, mais aussi dans le but d'un maintien de compétences des techniciens du laboratoire, des analyses sont effectuées chaque semaine par des techniciens différents sur des souches bactériennes de référence identifiées par un numéro ATCC.

La souche ATCC 49619 de *Streptococcus pneumoniae* est testée sur gélose MH-F avec un panel d'antibiotiques. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Q7. Analyser les résultats obtenus pour chacun des antibiotiques testés. (C3)
Proposer les suites immédiates à donner par le technicien. (C2)

Q8. Proposer deux causes possibles de non conformités puis les éventuelles actions correctives correspondantes à mettre en œuvre. (C2)

2. Teignes de la peau et du cuir chevelu : dermatophytoses

Les dermatophytoses font l'objet d'une éviction de la collectivité jusqu'à présentation d'un certificat médical attestant d'une consultation et de la prescription d'un traitement adapté.

Un garçon de 10 ans s'est présenté au service de dermatologie avec une lésion sur le cuir chevelu qui avait mis environ 8 semaines à se développer.

Un prélèvement de squames et de cheveux a été effectué afin d'identifier l'origine de la lésion.

2.1. Examen direct et mise en culture du prélèvement

La microscopie directe en présence de potasse (KOH) a montré la présence d'éléments fongiques.

Il est recommandé de mettre squames et cheveux en culture sur deux milieux :

- gélose Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine
- gélose Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine Actidione. Un extrait de la fiche technique de ce milieu est présenté dans le **document 5**.

Q9. Argumenter l'intérêt d'ensemencer en parallèle ces deux milieux. (C1)

Au regard de la durée de croissance des principaux dermatophytes in vitro, un diagnostic moléculaire est réalisé.

2.2. Diagnostic moléculaire

Un test PCR en temps réel avec analyse des courbes de fusion est réalisé, en parallèle de la mise en culture. Une étape préalable d'extraction de l'ADN sur le prélèvement de cheveu du patient est nécessaire.

Le principe du diagnostic par PCR quantitative multiplex « Dermagenius ® 2.0 complete » et les critères d'exploitation des résultats sont présentés dans le **document 6**.

Q10. Préciser la composition du contrôle interne. (C1)

Expliquer l'intérêt d'introduire le contrôle interne avant l'étape d'extraction de l'ADN. (C1)

Le laboratoire de biologie moléculaire est organisé en différentes salles selon les indications du **document 6**.

Q11. Expliquer l'intérêt de cette organisation au sein du laboratoire de biologie moléculaire d'analyses médicales. (C3)

Les résultats des contrôles et du patient sont présentés dans le **document 7**.

Q12. Analyser les résultats des différents contrôles. (C2)

L'identification nécessite deux étapes : la détermination des Ct à partir des courbes d'amplification puis l'analyse des courbes de fusion (**documents 6 et 7**).

Q13. Exploiter les valeurs de Ct de l'échantillon patient pour chaque fluorochrome pour orienter l'identification. (C3)

Q14. Préciser l'intérêt d'analyser les courbes de fusion après l'étude des résultats de l'amplification. (C3)

2.3. Diagnostic après culture

La mise en culture sur gélose Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine Actidione a permis de mettre en évidence l'apparition d'une culture après 12 jours d'incubation à 30 °C. Après 21 jours, la culture développe une couleur « abricot sec ».

Un état frais coloré au bleu de lactophénol est observé au microscope, une photo de l'observation microscopique et les caractéristiques biologiques de quelques dermatophytes sont présentées dans le **document 8**.

Q15. Décrire le champ microscopique observé. (C1)

Q16. Synthétiser l'ensemble des informations obtenues puis identifier l'espèce de dermatophyte responsable de la teigne du cuir chevelu. (C4)

3. La tuberculose

La tuberculose est une maladie qui nécessite une éviction de la collectivité si la personne présente des mycobactéries tuberculeuses dans les crachats. La durée d'éviction est au minimum d'un mois après le début du traitement.

Un examen microscopique négatif est nécessaire avant le retour en collectivité ainsi qu'une culture négative s'il y a contact avec des personnes à risque.

Dans le cadre du suivi de l'efficacité du traitement ou pour un retour en collectivité, des analyses sont réalisées tous les 15 jours, jusqu'à l'obtention d'une culture négative pour vérifier l'absence de mycobactéries tuberculeuses vivantes. En cas de culture positive, un test rapide immunochromatographique est effectué pour confirmer la présence de *M. tuberculosis*.

L'organigramme de la procédure d'identification des mycobactéries tuberculeuses au laboratoire est présenté dans le **document 9**.

La fiche technique du test immunochromatographique TB Ag MPT64 Rapid® est présentée dans le **document 10**.

Q17. Schématiser les différents édifices moléculaires sur les trois zones de la bandelette d'immunochromatographie dans le cas d'un résultat positif. (C1)

Q18. Expliquer le rôle de la zone contrôle C. (C1)

Le technicien de laboratoire a réalisé les analyses de deux échantillons patients A et B. Les résultats sont présentés dans le **document 10**.

Q19. Analyser l'ensemble des résultats des deux patients. (C3)

Proposer la démarche à suivre par le technicien de laboratoire après lecture des résultats. (C2)

La lecture du test immunochromatographique se fait à l'œil nu. Un test de performance est réalisé au laboratoire avec des suspensions de concentrations croissantes en mycobactéries. Il est présenté dans le **document 11**.

Q20. Préciser le paramètre de performance étudié. (C1)

Proposer un intervalle de concentration pour lequel l'interprétation d'un résultat positif ne présente aucune incertitude. (C3)

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENT	Titre du document
Document 1	Procédure de diagnostic des Infections Invasives à méningocoques à partir de LCR.
Document 2	Document qualité : procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoque.
Document 3	Détermination de la CMI des antibiotiques vis-à-vis de <i>Neisseria meningitidis</i> .
Document 4	Contrôle qualité de la méthode E-TEST®.
Document 5	Extrait de la fiche technique du milieu Sabouraud chloramphénicol gentamicine actidione de chez BIO RAD.
Document 6	Test PCR en temps réel Dermagenius® 2.0 Complete.
Document 7	Résultats obtenus avec le kit PCR multiplex Dermagenius® 2.0 Complete pour un échantillon de cheveu du patient.
Document 8	Identification des dermatophytes après culture.
Document 9	Procédure d'identification des mycobactéries tuberculeuses au laboratoire.
Document 10	Test immunochromatographique TB Ag MPT64.
Document 11	Test de performance du test immunochromatographique TB Ag MPT64.

DOCUMENT 1

Procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques à partir de LCR

L'examen macroscopique du LCR puis ses examens cytologique et biochimique sont suivis d'une cyto centrifugation permettant une observation microscopique après coloration de Gram : la présence de diplocoques Gram négatif à l'examen direct du LCR oriente fortement l'identification vers le méningocoque.

Directement à partir du LCR sont menées simultanément :

- une détection de l'ADN de *Neisseria meningitidis* par PCR,
- une mise en culture : un bouillon d'enrichissement cœur-cerveau, une gélose au sang et une gélose chocolat supplémentée sont ensemencés puis incubés à 35 +/- 2°C sous une atmosphère enrichie à 5% de CO₂.

Une subculture à partir du bouillon cœur-cerveau sera réalisée en cas d'isolement négatif.

Dès l'apparition des premières colonies sur gélose, l'examen macroscopique des cultures est suivi d'une vérification de l'identification microbienne par spectrométrie de masse (MALDI-TOF®). L'identification de *Neisseria meningitidis* entraîne l'obligation d'effectuer un sérogroupage et d'étudier la sensibilité de la souche à plusieurs antibiotiques par détermination de la CMI, méthode E-TEST®.

Après validation par le biologiste, les résultats sont rendus au service demandeur. Une culture fraîche et pure doit être envoyée au Centre National de Référence des méningocoques pour phénotypage et génotypage. Un signalement à l'Agence Régionale de Santé est obligatoire.

Source : D'après la procédure du laboratoire de microbiologie – CHU Nantes.

DOCUMENT 2

Document qualité du laboratoire

Procédure de diagnostic des infections invasives à méningocoques à partir de LCR

Laboratoire d'analyses de biologie médicale	Processus :	Identification alpha numérique :
	Secteur :	Version N°1 Date de rédaction :
	Titre :	

QUI ?	QUOI ?
Pré analytique Médecin Préleveur Secrétaire Technicien	Prélèvement de LCR ↓ Enregistrement Conformité du prélèvement ↓
Analytique Technicien	A établir sur la copie
Post analytique Biologiste	↓ Validation des résultats Transmission au prescripteur Envoi de la souche au CNR et déclaration à l'ARS

DOCUMENT 3

Étude de la sensibilité aux antibiotiques

Interprétation de la CMI des antibiotiques vis-à-vis de *Neisseria meningitidis* selon la société française de microbiologie (SFM)

Détermination de la CMI (suivre les recommandations du fabricant pour les méthodes commercialisées). Milieu de culture : gélose Mueller-Hinton + 5 % de sang de cheval défibriné et 20 mg/L de β -NAD (MH-F). Inoculum : 0,5 McFarland. Incubation : $\approx$ 5 % CO ₂ , 35 $\pm$ 2 °C, 20 $\pm$ 4 h. Lecture : en l'absence d'indication particulière, la CMI correspond à la concentration la plus faible pour laquelle la croissance bactérienne n'est plus visible.	Méthode par diffusion en milieu gélosé. Les diamètres critiques n'ont pas encore été établis pour <i>Neisseria meningitidis</i> : utiliser une méthode permettant de déterminer les CMI.
Contrôle de qualité : EP.	

Liste standard	Liste complémentaire
Amoxicilline Céfotaxime ou ceftriaxone Rifampicine	Chloramphénicol Ciprofloxacine Pénicilline G

Antibiotiques	Concentrations critiques (mg/L)			Notes Chiffres : commentaires généraux ou portant sur les concentrations critiques Lettres : commentaires portant sur les diamètres critiques
	S $\leq$	R >	ZIT	
Pénicilline G¹	0,25	0,25		1. Les souches résistantes à haut niveau aux pénicillines par production de β -lactamase sont extrêmement rares. La détection de la production de β -lactamase peut être détectée par une technique chromogénique. Les souches productrices de β -lactamase doivent être catégorisées « résistantes » à la pénicilline G et aux aminopénicillines. 2. Les souches résistantes aux céphalosporines de 3 ^e génération sont exceptionnelles. Vérifier le résultat ainsi que l'identification, et envoyer la souche à un laboratoire référent pour expertise si les résultats sont confirmés.
Amoxicilline¹	0,125	1		
Amoxicilline (méningites)¹	0,125	0,125		
Céfotaxime²	0,125	0,125		
Ceftriaxone²	0,125	0,125		
Chloramphénicol	2	2		
Ciprofloxacine	0,016	0,016		
Rifampicine	0,25	0,25		

Source : extrait EUCAST-SFM Juin 2023 page 117

Résultats des CMI en antibiotiques de la souche de *N. meningitidis* isolée. Méthode E-TEST®

Antibiotique testé	CMI lues en mg/L
Amoxicilline	0,094
Céftriaxone	0,094
Rifampicine	0,19

DOCUMENT 4

Contrôle qualité de la méthode E-TEST®

Souche de référence testée : *Streptococcus pneumoniae*, souche ATCC 49619

Identification du technicien : M. Dxxxx

Date : 19/03/2024

Méthode de détermination de la CMI par diffusion en milieu gélosé

Milieu : gélose Mueller Hinton + 5% de sang de cheval défibriné et 20 mg/L de β -NAD (MH- F)

Inoculum : 0,5 Mc Farland

Incubation : 5% de CO₂, 35 +/- 2 °C, 20 +/- 4 h

Antibiotique	CMI valeur cible (mg/L)	Limites acceptables (mg/L)	CMI lues sur bandelette E-TEST® (mg/L)
Amoxicilline	0,06	0,03 – 0,125	0,023
Céfotaxime	0,06	0,03 – 0,125	0,094
Rifampicine	0,03	0,016 – 0,06	0,023

Source : D'après EUCAST-SFM Juin 2023

DOCUMENT 5

Extrait de la fiche technique BIO RAD de la gélose Sabouraud chloramphénicol gentamicine actidione

Principe

La présence d'un mélange antibiotique (chloramphénicol et gentamicine) inhibe la croissance de la presque totalité des espèces bactériennes. L'actidione inhibe la croissance des champignons saprophytes, mais aussi de certaines levures (*Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans*), et de certains *Aspergillus* et *Fusarium*.

Présentation

Milieu prêt à l'emploi.
25 tubes inclinés de 8 mL.

Composition théorique (en g/L d'eau distillée)

Cette gélose est préparée selon la formule théorique du milieu C de la Pharmacopée Européenne, additionnée de chloramphénicol, de gentamicine et d'actidione.

Peptones : 10

Glucose : 40

Agar : 12

pH 6,3 à 20°C

Performances / contrôle qualité du test

Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose ambrée

Les performances culturales du milieu Sabouraud Chloramphénicol Gentamicine Actidione sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	CONDITION D'INCUBATION	RESULTAT DE LA CULTURE
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	24-48H à 30-35°C	Bonne croissance
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	24-48 H à 30-35°C	Inhibition
<i>Candida glabrata</i>	24-48 H à 30-35°C	Inhibition
<i>Trichophyton rubrum</i>	7 jours à 30-35°C et 7 jours à 20-25°C	Dessus duveteux, revers pigmenté en rouge brun
<i>Trichophyton violaceum</i>	7 jours à 30-35°C et 7 jours à 20-25°C	Bonne croissance, pigment violet
<i>Epidermophyton floccosum</i>	7 jours à 30-35°C et 7 jours à 20-25°C	Aspect poudreux, revers pigmenté en rouge brun
<i>Microsporum canis</i>	7 jours à 30-35°C et 7 jours à 20-25°C	Bonne croissance, chamois, revers jaune orangé
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24-48 H à 35-38°C	Inhibition
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	24-48 H à 35-38°C	Inhibition

Source : D'après <https://commerce.bio-rad.com>

DOCUMENT 6

Test PCR en temps réel « Dermagenius® 2.0 Complete »

PRINCIPE

Le kit multiplex PCR en temps réel « Dermagenius® 2.0 Complete » permet de détecter des ADN cibles fongiques dans les échantillons d'ongles, de cheveux et de peau. Il détecte *C. albicans* et permet la différenciation de la plupart des espèces de dermatophytes.

La PCR en temps réel utilise des sondes spécifiques de chaque ADN cible couplées à des fluorochromes différents (FAM, HEX, ROX, Cy5).

La détection de la fluorescence se fait pendant l'étape d'hybridation-amplification sur les différents canaux de fluorescence :

Critères d'interprétation des signaux d'amplification des ADN cibles fongiques

FAM Vert	HEX Jaune	ROX Orange	Identification
+	-	-	<i>Candida albicans</i>
-	+	-	<i>Trichophyton interdigitale</i> / <i>Trichophyton mentagrophytes</i> / <i>Trichophyton tonsurans</i>
-	-	+	<i>Trichophyton rubrum</i> <i>Trichophyton soudanense</i> / <i>Trichophyton violaceum</i>
-	-	-	<i>Pas d'espèces de Trichophyton ou de C. albicans</i>

CONTRÔLES

Un contrôle interne (IC) est ajouté dans tous les échantillons avant l'étape d'extraction de l'ADN. Il s'agit d'une solution d'ADN de bactériophage M13.

Un contrôle positif (PC) est intégré dans chaque série. Il s'agit de fragments d'ADN synthétique correspondant à des zones cibles détectées par le test, des espèces : *C. albicans*, *T. interdigitale*, *T. violaceum*

Un contrôle négatif (NTC : no template control) est réalisé en ajoutant du tampon de dilution à la place de l'échantillon.

Canaux de détection utilisés pour les contrôles PC et IC

Contrôle	Cible	Canal de détection
PC (Contrôle positif)	<i>C. albicans</i>	Vert - FAM
	<i>T. interdigitale</i>	Jaune - HEX
	<i>T. violaceum</i>	Orange - ROX
IC (Contrôle interne)	<i>Phage M13</i>	Rouge - Cy5

ORGANISATION DU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Étapes de la manipulation dans différents lieux

Lieu	Manipulation
Pièce 1	Stockage des mix PCR, Taq polymérase, Tampon de Dilution Préparation du mix PCR en temps réel
Pièce 2	Stockage IC, Contrôles Positifs et kit d'Extraction Extraction de l'ADN des échantillons Addition des extraits d'ADN dans le mix PCR en temps réel Addition des Contrôles Positifs dans le mix PCR en temps réel
Pièce 3	Réaction PCR en temps réel

VALEURS DE T_m DES DIFFÉRENTS ADN CIBLES AMPLIFIÉS

Après l'étape d'amplification, des courbes de fusion sont tracées pour déterminer la température de fusion (T_m) de chaque type amplicon.

Les valeurs des T_m sont caractéristiques des espèces fongiques.

Canaux	Vert FAM	Jaune HEX			Orange ROX	
Cible	<i>C. albicans</i>	<i>T. interdigitale</i>	<i>T. tonsurans</i>	<i>T. mentagrophytes</i>	<i>T. rubrum / T. soudanense</i>	<i>T. violaceum</i>
T _m (°C)	63,0-66,0	70,5-73,5	75,5-78,5	77,5-80	57,5-60,5	67,5-70,5

Source : D'après la documentation technique Dermagenius® 2.0 complete – Pathonostics®

DOCUMENT 7

Résultats obtenus avec le kit PCR multiplex Dermagenius® 2.0 Complete pour un échantillon de cheveu du patient

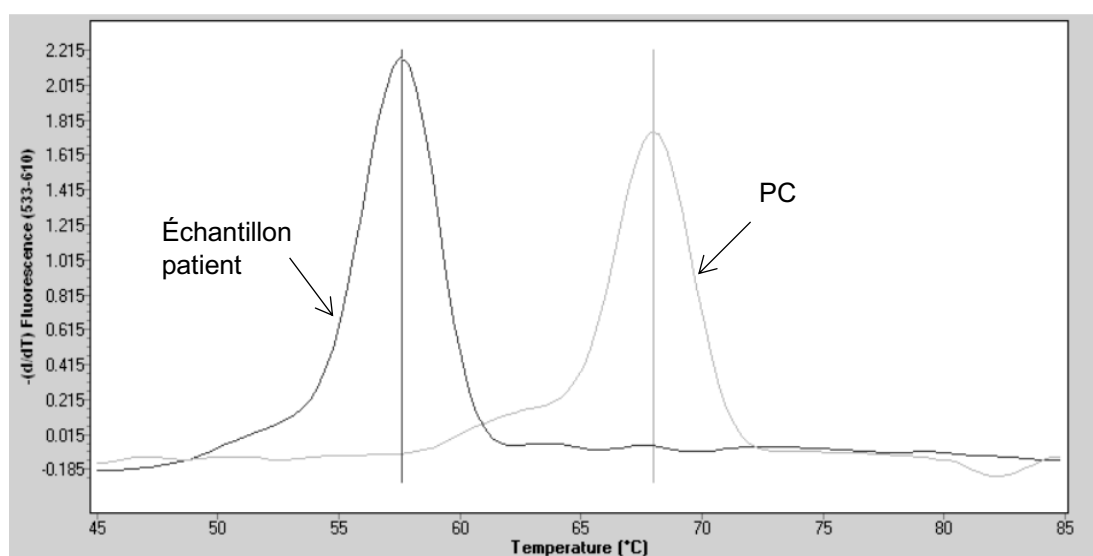
Tableau des résultats obtenus après lecture des courbes d'amplification :

	Cible	Canal de détection	Valeur C _t obtenue	C _t attendu ou C _t limite
NTC (Contrôle négatif)	Aucune	Tous	> 40	> 40
PC (Contrôle positif)	<i>C. albicans</i>	Vert - FAM	27	25-29
	<i>T. interdigitale</i>	Jaune - HEX	26	25-28
	<i>T. violaceum</i>	Orange - ROX	28	25-29
Échantillon patient + IC (Contrôle interne)	A déterminer	Vert - FAM	> 40	> 40
		Jaune - HEX	> 40	> 40
		Orange - ROX	29	Inférieur à 40
	Phage M13	Rouge - Cy5	35	30-38

La valeur du Ct (cycle threshold) montre la présence d'une amplification de la cible.
Un Ct supérieur à 40 est considéré comme un résultat négatif.

Courbes de fusion obtenues sur le canal de détection Orange - ROX :

La courbe dérivée de la courbe de fusion permet de mettre en évidence un pic de fusion dont le sommet correspond à la température de fusion T_m.

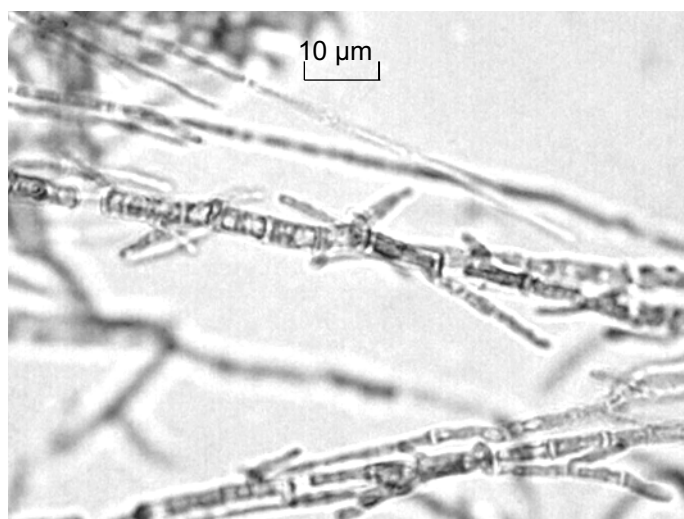


Source : D'après la documentation technique Dermagenius® 2.0 complete – Pathonostics®

DOCUMENT 8

Identification des dermatophytes après culture

Photo de l'examen microscopique d'une préparation colorée au bleu de lactophénol (grossissement non précisé)



Source : D'après <https://www.adelaide.edu.au/>

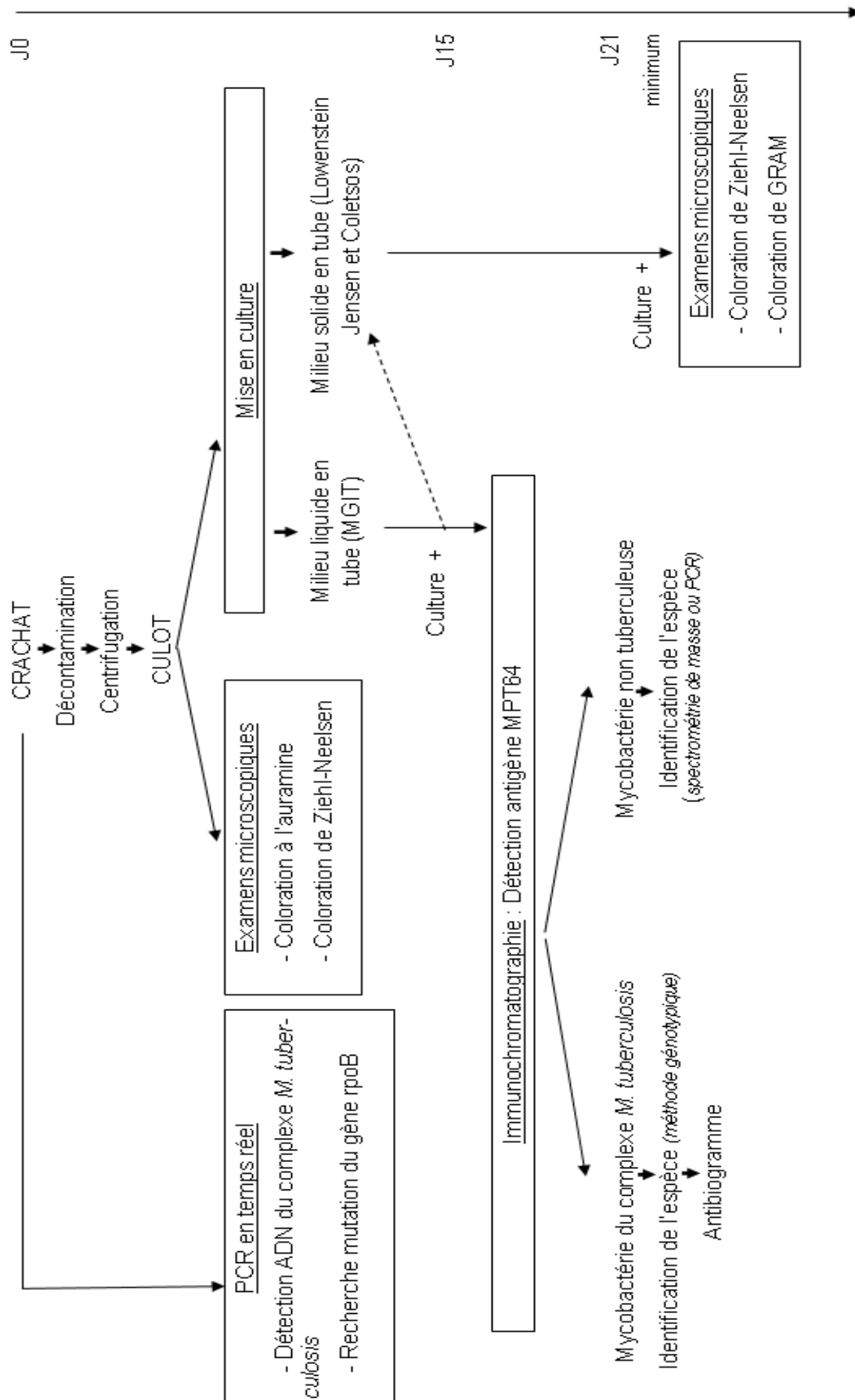
Caractéristiques biologiques de quelques dermatophytes

Espèces	Atteintes	Apparition de culture (en jours)	Microconidies	Macroconidies	Particularités des hyphes cloisonnés
<i>T. mentagophytes</i>	Peau, poils	5-6	Nombreuses, arrondies, en buisson	Rares, en massue, lisses	Vrilles, filaments articulés à angle droit
<i>T. rubrum</i>	Peau et ongles	6-7	Piriformes, disposées en acacladium	Très rares, lisses, allongées	
<i>T. soudanense</i>	Cheveux (très répandu), peau et ongles	10-15	Exceptionnelles, piriformes	Exceptionnelles, lisses	Filaments formant des angles aigus en « fil de fer barbelé »
<i>T. tonsurans</i>	Cheveux, peau et ongles	10-15	Nombreuses, piriformes	Rares, lisses, allongées	Chlamydoconidies
<i>T. verrucosum</i>	Peau et poils	21	Absentes	Absentes	Chlamydoconidies,
<i>T. violaceum</i>	Cheveux, peau, ongles et poils	10-15	Absentes	Absentes	

Source : D'après Cahiers de formation – Biologie médicale – Bioforma (2004)

DOCUMENT 9

Procédure d'identification des mycobactéries tuberculeuses au laboratoire



Test immunochromatographique TB Ag MPT64**Application**

Mycobacterium tuberculosis est connue pour sécréter plus de 33 protéines différentes. Une des protéines prédominantes, MPT64, est retrouvée uniquement dans les cultures liquides des souches du complexe *M. tuberculosis*. SD BIOLINE TB Ag MPT64 est un test d'identification rapide par immunochromatographie du complexe *M. tuberculosis*. Ce test peut être facilement utilisé pour une identification rapide du complexe *M. tuberculosis* à la suite d'une culture en milieu liquide.

Composition du test

Le dispositif de test TB Ag MPT64 Bioline® comporte une bandelette de nitrocellulose composée de trois zones :

- une zone de dépôt où se trouve le conjugué [anticorps de souris anti-MPT64-or colloïdal],
- une zone test (T) où sont immobilisés des anticorps monoclonaux de souris anti-MPT64,
- une zone contrôle (C) où sont immobilisés des anticorps monoclonaux anti-anticorps de souris.

Lecture et interprétation après 15 minutes.

Note :

L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration de l'antigène MPT64.

Un résultat positif ne changera pas après 15 minutes.

Résultat non valide : si la bande de contrôle n'est pas visible dans la fenêtre de résultat 15 minutes après avoir effectué le test, le résultat est considéré comme non valide.

Résultats obtenus chez deux patients A et B**Résultats patient A :**

Examen microscopique : -

Culture liquide : +

Culture solide : -

TDR MPT64 : 

Résultats patient B :

Examen microscopique : +

Culture solide : +

Culture liquide : +

TDR MPT64 : 

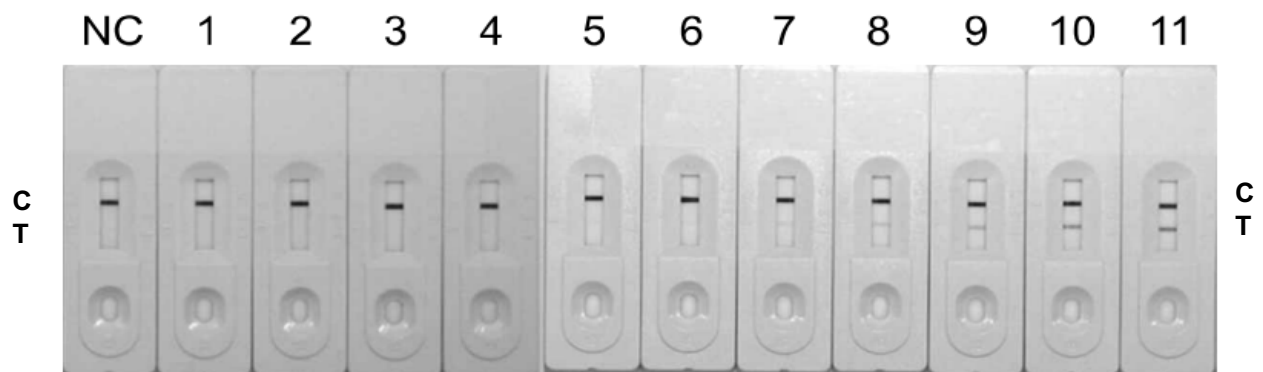
Source : D'après la fiche technique du test TB Ag MPT64 Rapid Standard Diagnostics, INC
http://www.digitalthyrocare.com/pdf/Tuberculosis_Kit_Insert.pdf

DOCUMENT 11

Test de performance du test immunochromatographique TB Ag MPT64

Des tests ont été effectués avec des suspensions titrées de concentrations croissantes en *Mycobacterium*. Les résultats sont présentés ci-dessous.

Identification	NC	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Concentration bactérienne en UFC / mL	0	$2,1 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^4$	$3,4 \cdot 10^4$	$6,8 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$	$5,4 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$



Source : D'après l'article « Performance of the SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid test for quick confirmation ». <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4367147/>

E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie

2024

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

DIAGNOSTIC DE SYNDROMES LYMPHOPROLIFÉRATIFS CHRONIQUES

Dans le cadre d'une consultation médicale, le médecin traitant de madame B. âgée de 52 ans, observe à l'examen clinique quelques adénopathies cervicales bilatérales et une discrète splénomégalie, motivant la réalisation d'un bilan sanguin. L'état général de la patiente est bon par ailleurs.

Le sang prélevé sur tube E.D.T.A (acide éthylène diamine tétra acétique) parvient au laboratoire d'hématologie le 27 mai 2023. L'hémogramme prescrit est réalisé à l'aide de l'automate d'hématologie.

1. Contrôle Interne de Qualité (CIQ) de l'automate d'hématologie

Les données concernant certains paramètres hématologiques du CIQ utilisé sont consignées dans le **document 1**.

Le **document 2** relève les résultats obtenus pour les paramètres du CIQ sur quatre jours consécutifs.

Q1. Établir, sur la copie, la carte de Levey-Jennings pour le seul paramètre des globules blancs (GB) à l'aide du modèle proposé par le **document 3**. (C2)

Q2. Argumenter l'alarme de Westgard figurant sur le **document 4**. (C2)

Q3. Argumenter la décision prise à l'issue du CIQ, en utilisant le **document 5**. (C2)

2. Diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique

2.1. Hémogramme

Les résultats de l'hémogramme de madame B. figurent dans le **document 6**.
L'automate déclenche une alarme.

Q4. Identifier le(s) paramètre(s) à l'origine de cette alarme. Argumenter la réponse. (C3)

Q5. Exposer les actions que le technicien doit mener face à cette alarme. (C2)

Q6. Procéder à l'analyse cytologique de la photographie d'un champ microscopique du frottis sanguin de madame B., présentée dans le **document 7**. (C3)

Le biologiste médical suspecte une leucémie lymphoïde chronique (LLC).

Q7. Argumenter l'orientation diagnostique privilégiée par le biologiste médical compte-tenu des résultats techniques qui lui ont été remis. (C2)

2.2. Immunophénotypage lymphocytaire

Suite aux résultats de l'hémogramme, le médecin a décidé de prescrire la réalisation d'un immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux.

Q8. Expliquer l'intérêt de la réalisation de l'immunophénotypage dans le cas de madame B. (C1)

Q9. Indiquer la nature des réactifs à utiliser en amont de la cytométrie en flux dans le but d'identifier les différentes populations lymphocytaires. (C1)

La démarche diagnostique, ainsi que les résultats obtenus pour madame B., sont donnés dans le **document 8**.

Q10. Analyser les 3 premiers scattergrammes pour identifier la population lymphocytaire impliquée dans la pathologie de madame B. (C3)

Grâce à l'exploitation des résultats techniques, le médecin a établi un diagnostic de leucémie lymphoïde chronique.

Q11. Etablir le lien entre les résultats de l'immunophénotypage de madame B. et le diagnostic posé. (C4)

3. Traitement par immunothérapie

Suite au diagnostic posé à partir de l'hémogramme du 27 mai 2023, madame B. bénéficie depuis quelques mois d'un traitement immunothérapeutique à base de rituximab (Mabthera®), anticorps monoclonal chimérique anti-CD20.

Un hémogramme de contrôle est réalisé en date du 23 mars 2024. Les résultats sont consignés dans le **document 9**.

Q12. Interpréter les résultats au regard du dossier patient. Conclure quant à la nécessité éventuelle d'alerter le biologiste médical. (C4)

Q13. Argumenter la pertinence de l'anticorps anti-CD20 dans le cas du traitement de la patiente. (C4)

4. Diagnostic des lymphomes

Dans le cas de madame B, les analyses réalisées par le laboratoire d'immuno-hématologie ont permis d'établir le diagnostic d'une leucémie lymphoïde chronique.

Dans d'autres cas de cancers du sang caractérisés par des adénopathies, une biopsie d'un ganglion lymphatique est réalisée pour diagnostiquer un lymphome.

L'étude histologique de la biopsie est menée au laboratoire d'anatomocytopathologie (ACP).

Q14. Valider le choix de l'organe prélevé pour le diagnostic du lymphome. (C2)

Le biologiste a demandé d'améliorer la rédaction de la fiche de poste de cette étude histologique présentée dans le **document 10**.

Q15. Rédiger sur la copie une fiche de poste plus complète, à destination des techniciens. (C3)

L'observation de la coupe colorée à l'hématéine-éosine-safran (HES) est fréquemment complétée d'une étude immunohistochimique.

L'immunohistochimie (IHC), en effet, est essentielle car elle confirme le diagnostic et permet de rechercher des biomarqueurs pronostiques et théranostiques (pratique médicale basée sur l'utilisation d'un test diagnostique combiné à une thérapeutique spécifique, adaptée à un patient donné).

Q16. Analyser le protocole donné dans le **document 11** pour schématiser l'édifice moléculaire obtenu avant coloration à l'hématoxyline. (C1)

Q17. Choisir un point critique du protocole et expliquer en quoi il est déterminant pour garantir le résultat. (C2)

Q18. Proposer la composition de deux témoins indispensables à la validation de cette technique d'IHC en précisant leur rôle respectif. (C2)

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENT	Titre du document
Document 1	CIQ Numération/Formule/Erythroblastes, COULTER 6C Cell Control Niveau 2.
Document 2	CIQ obtenus par le laboratoire sur l'automate d'hématologie sur quatre jours consécutifs.
Document 3	Carte de Levey-Jennings vierge.
Document 4	CIQ du 27 mai 2023 niveau 2.
Document 5	Logigramme décisionnel des CIQ et règles de Westgard.
Document 6	Hémogramme de madame B en date du 27 mai 2023.
Document 7	Observation du frottis sanguin MGG de madame B.
Document 8	Démarche diagnostique de la LLC par immunophénotypage et résultats de madame B.
Document 9	Hémogramme de madame B en date du 23 mars 2024.
Document 10	Extrait des principales étapes de la technique d'analyse histologique en ACP.
Document 11	Protocole général d'immunohistochimie.

DOCUMENT 1

CIQ Numération/Formule/Erythroblastes, COULTER 6C Cell Control Niveau 2.

	Level 2 LOT 244293481 2023-05-13		
US Units	Parameters	UniCel DxH Systems Cible	2s
x10 ³ /μL	GB	8,6	1,2
x10 ⁶ /μL	GR	3,90	0,15
g/dL	HB	11,7	0,6
%	Ht	35,1	1,9
fL	VGM	90,0	4,5
pg	CCMH	30,0	1,6
g/dL	TCMH	33,3	2,2
%	IDC	15,5	2,5
x10 ³ /μL	PLT	414	45

GB : Globules blancs ; GR : Globules rouges ; HB : hémoglobine ; Ht : hématocrite ; VGM : Volume globulaire moyen ; CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; TCMH : Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; IDC : Indice de distribution cellulaire des GR ; PLT : Plaquettes

Source : laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 2

CIQ obtenus par le laboratoire sur l'automate d'hématologie (Coulter Unicel DxH 800 v2.0 de Bekman) sur quatre jours consécutifs.

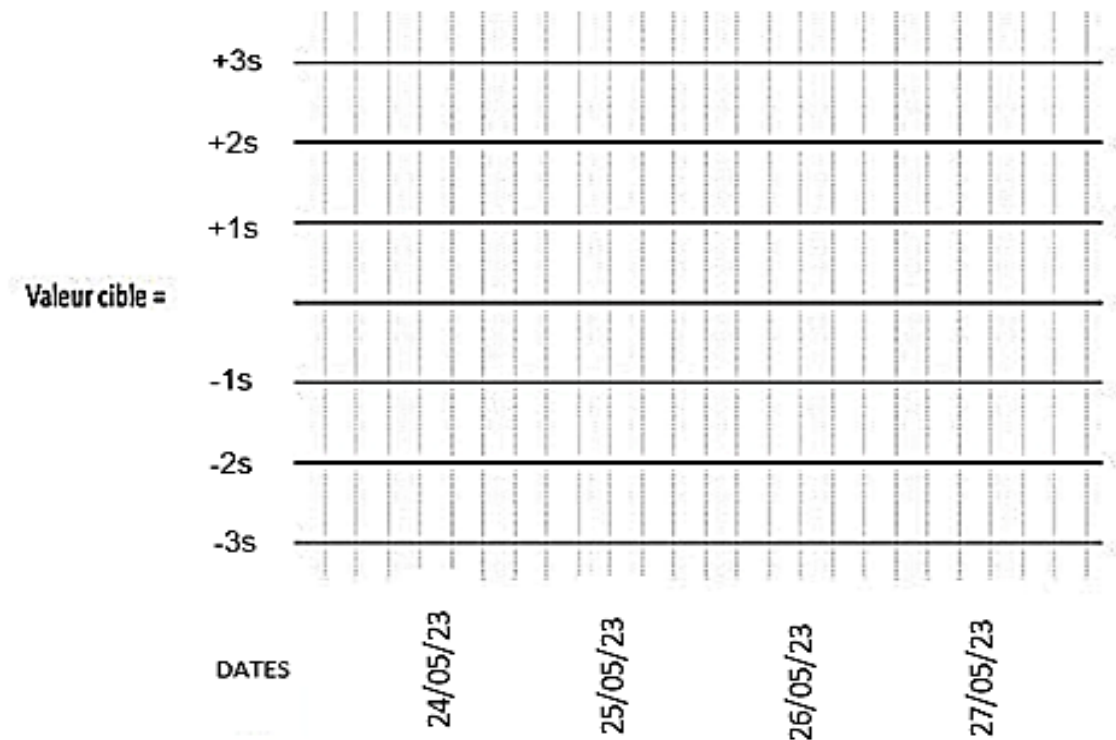
Paramètres	24/05/2023	25/05/2023	26/05/2023	27/05/2023 *
GB	9,1	9,6	9,5	10,3
GR	3,76	3,96	3,89	3,92
HB	11,9	11,8	11,9	12,0
Ht	34,1	35,8	35,4	35,4
VMC	90,7	90,4	91	90,3
TCMH	31,7	29,7	30,6	30,5
CCMH	34,9	32,9	33,6	33,8
IDC	15,3	15,3	15,7	15,6
PLT	380	392	377	390

** CIQ passé en amont du prélèvement de madame B.*

Source : laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 3

Carte de Levey-Jennings vierge



DOCUMENT 4

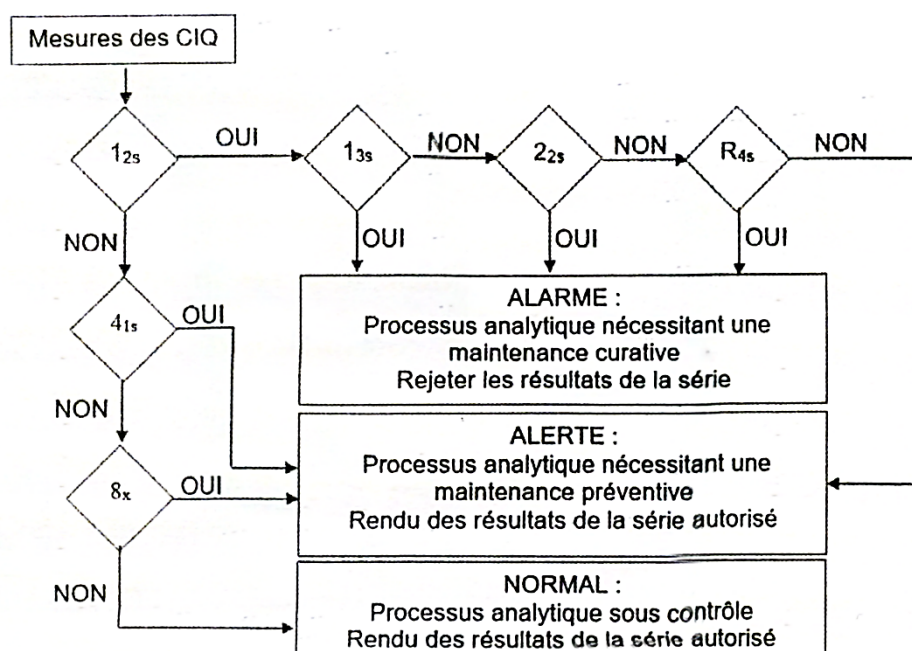
CIQ du 27 mai 2023 niveau 2

Analyse	Automate	Lot de contrôle	Valeur	Alarmes de Westgard
GB	DXHA01	244293481	10,3	1:2s
GR	DXHA01	244293481	3,92	
HB	DXHA01	244293481	12,0	
Ht	DXHA01	244293481	35,4	
VMC	DXHA01	244293481	90,3	
TCMH	DXHA01	244293481	30,5	
CCMH	DXHA01	244293481	33,8	
IDC	DXHA01	244293481	15,6	
PLT	DXHA01	244293481	390	

Source : laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 5

Logigramme décisionnel des CIQ



Source : <https://www.jle.com>

Règles de Westgard

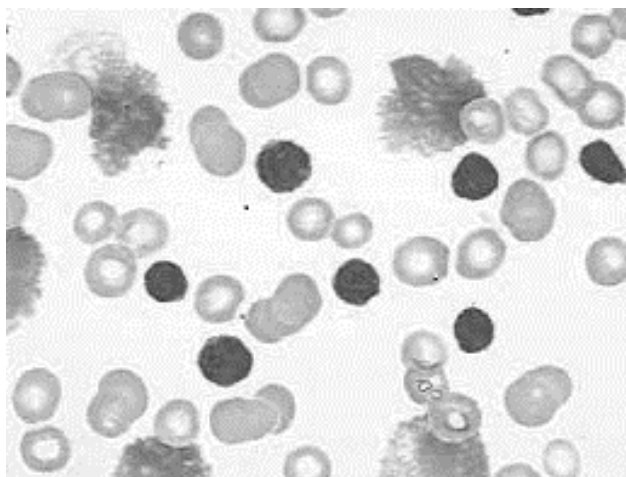
1_{2s}	1 mesure est au-delà de +2 ET ou de -2 ET
1_{3s}	1 mesure est au-delà de +3 ET ou de -3 ET
2_{2s}	2 mesures consécutives sont au-delà +2 ET ou de -2 ET
R_{4s}	2 mesures consécutives sont éloignées de plus de 4 ET
4_{1s}	4 mesures consécutives sont au-delà de +1 ET ou -1 ET, du même côté de la moyenne
8x	8 mesures consécutives sont du même côté de la moyenne

Source : SH-GTA-06

DOCUMENT 6**Hémogramme de madame B en date du 27 mai 2023**

PARAMÈTRES	VALEURS PATIENTE	VALEURS DE RÉFÉRENCE	UNITÉS
Numération des hématies	4,30	4,0 à 5,4	$10^{12} \cdot L^{-1}$
Hémoglobine	121	110 à 150	$g \cdot L^{-1}$
Hématocrite	0,38	0,37 à 0,47	$L \cdot L^{-1}$
VGM	89	80 à 100	fL
CCMH	320	320 à 360	$g \cdot L^{-1}$
TCMH	28	27 à 32	pg
IDR	13,2	11 à 16	%
Numération des leucocytes	23,6	4 à 10	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes neutrophiles	5,19	1,5 à 7	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes éosinophiles	0,24	0,05 à 0,5	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes basophiles	0,05	0,01 à 0,05	$10^9 \cdot L^{-1}$
Lymphocytes	17,58	1,5 à 4	$10^9 \cdot L^{-1}$
Monocytes	0,54	0,1 à 1	$10^9 \cdot L^{-1}$
Numération des plaquettes	328	150 à 450	$10^9 \cdot L^{-1}$

Source : Laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 7**Photographie d'un champ microscopique
du frottis sanguin de madame B. (x1000)**

Source : Laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 8

Démarche diagnostique de la LLC par immunophénotypage et résultats de madame B.

Document 8a : spécificité des marqueurs lymphocytaires

Marqueur pan-leucocytaire	CD45
Lymphocytes B	CD19, CD20, CD22, CD10, CD5
Plasmocytes	CD38, CD138
Lymphocytes T	CD3, CD4, CD8, CD2, CD5, CD7
Cellules NK	CD16, CD56, CD57

Source : D'après B. Drénou, O. Fardel, R. Fauchet, L. Amiot, "La cytométrie en flux : intérêt dans le diagnostic phénotypique et le suivi des hémopathies malignes". Annales de Biologie Clinique. 2002, 60 (6) : 663-72

Document 8b : score de Matutes/Moreau et diagnostic de la LLC

Le pourcentage des sous-populations de cellules CD19+ exprimant des marqueurs spécifiques permet de définir le **score de Matutes/Moreau**.

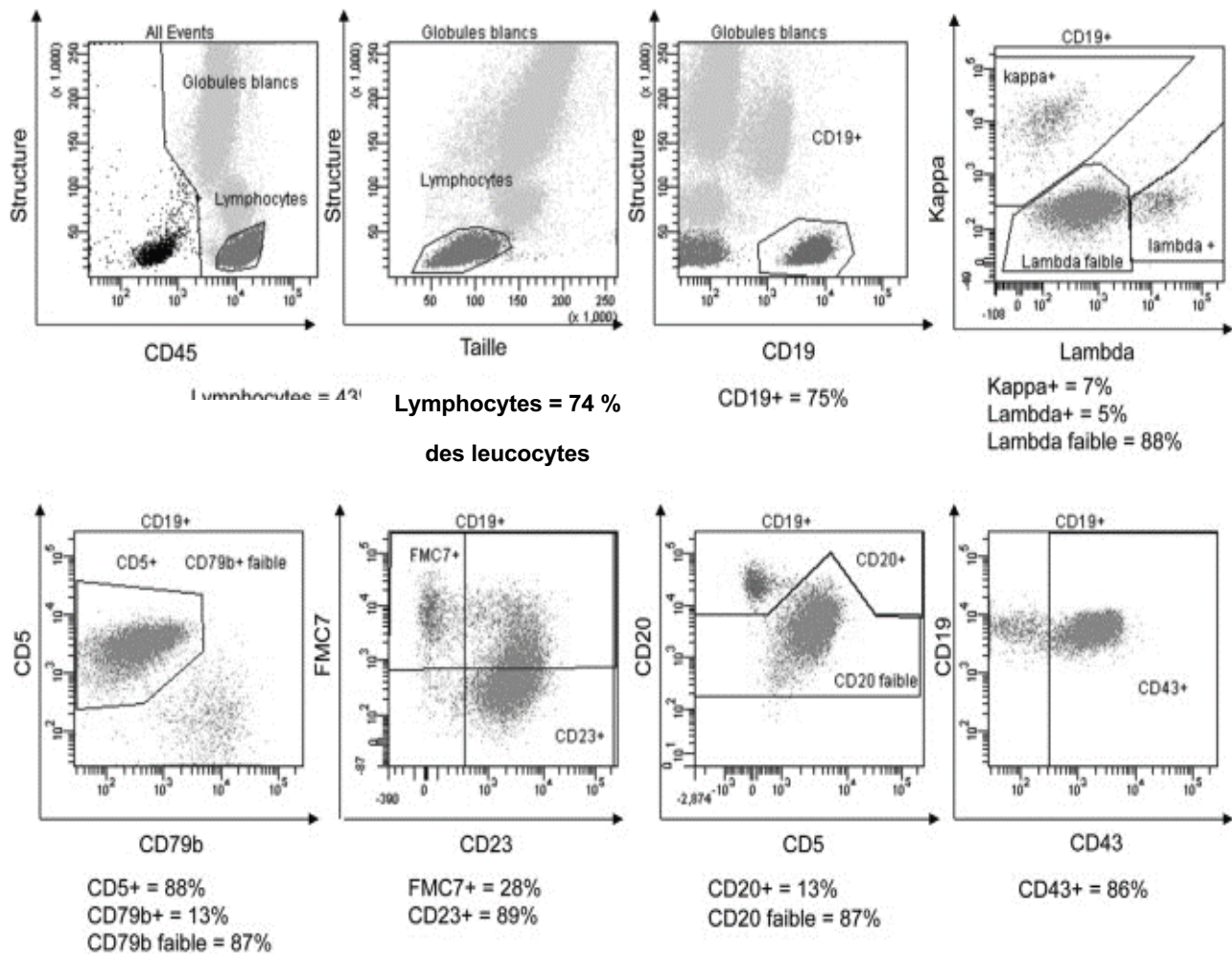
Une valeur de 0 ou de 1 est attribuée pour chacun des marqueurs d'intérêt selon les critères figurant dans le tableau ci-dessous.

La LLC est définie par un score de 4 ou 5.

Marqueurs	Points	
	0	1
Ig de surface	Expression modérée ou forte	Expression faible
CD5	-	+
CD23	-	+
FMC7	+	Faible ou -
CD22 ou CD79b	+	Faible ou -

Source : D'après F. Geneviève, V. Delisle, M. Gardembas, C. Foussard, J. Gardais, M. Zandecki. « Les hémopathies lymphoïdes chroniques de l'adulte : la leucémie lymphoïde chronique et la phase de dissémination des lymphomes à petites cellules ». Annales de Biologie Clinique. 2001 ;59(4) :403-15.

Document 8c : résultats d'immunophénotypage de madame B.



Source : D'après Magali Le Garff-Tavernier, Myrto Costopoulos, Hélène Merle-Béral, "Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs B," *Revue Francophone Des Laboratoires* 452 (05/2013) : 37–47

DOCUMENT 9

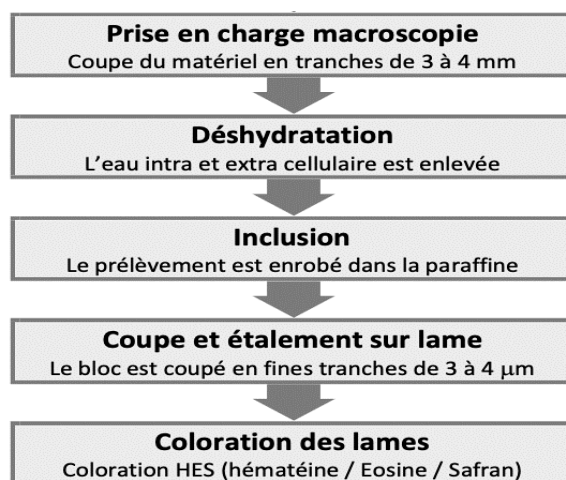
Hémogramme de madame B en date du 23 mars 2024

PARAMÈTRES	VALEURS PATIENTE	VALEURS DE RÉFÉRENCE	UNITÉS
Numération des hématies	4,15	4,0 à 5,4	$10^{12} \cdot L^{-1}$
Hémoglobine	123	110 à 150	$g \cdot L^{-1}$
Hématocrite	0,38	0,37 à 0,47	$L \cdot L^{-1}$
VGM	91	80 à 100	fL
CCMH	323	320 à 360	$g \cdot L^{-1}$
TCMH	29	27 à 32	pg
IDR	12,8	11 à 16	%
Numération des leucocytes	11,07	4 à 10	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes neutrophiles	4,19	1,5 à 7	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes éosinophiles	0,34	0,05 à 0,5	$10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes basophiles	0,02	0,01 à 0,05	$10^9 \cdot L^{-1}$
Lymphocytes	6,18	1,5 à 4	$10^9 \cdot L^{-1}$
Monocytes	0,34	0,1 à 1	$10^9 \cdot L^{-1}$
Numération des plaquettes	225	150 à 450	$10^9 \cdot L^{-1}$

Source : Laboratoire d'analyses de biologie médicale

DOCUMENT 10

Fiche de poste de la technique d'analyse histologique en ACP



Source : Laboratoire d'analyses de biologie médicale

Protocole général d'immunohistochimie

- Bloquer les peroxydases endogènes en incubant le tissu dans du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 3% pendant 10 min.
- Rincer à l'eau distillée.
- Immerger la lame dans du tampon Tris-EDTA, pH 9,0 ; 0,05% Tween-20 et incuber à 95°C dans un bain-marie pendant 30 minutes.
- Sortir la lame à température ambiante et la laisser refroidir dans du tampon Tris-EDTA, pH 9,0 pendant 15 min.
- Rincer à l'eau distillée.
- Laver dans du tampon Tris-HCl 0,05 M (pH 7,6) avec 0,2% de Tween-20 (Tampon A) pendant 5 minutes.
- Appliquer sur le tissu l'anticorps primaire dilué dans du tampon Tris-HCl 0,05 M (pH 7,6) avec 0,05% de Tween-20 selon une dilution comprise entre 1/100 et 1/200 pendant 1 heure en chambre humide.
- Laver 2 fois pendant 5 minutes dans le tampon A.
- Appliquer l'anticorps secondaire couplé à l'enzyme HRP (peroxydase de Raifort).
- Laver 2 fois pendant 5 minutes dans le tampon A.
- Ajouter le chromogène (DAB - 3,3'-diaminobenzidine).
- Incuber 10 minutes.
- Rincer à l'eau.
- Colorer à l'hématoxyline pendant 5 minutes.
- Laver à l'eau pendant 10 minutes.
- Déshydrater le tissu dans 2 bains d'alcool benzylique à 96% pendant 5 minutes chacun.
- Laver le tissu dans 2 bains de xylène pendant 2 minutes chacun.
- Monter la lame pour l'observation.

Source : <https://www.biovalley.fr>

SESSION 2025

E2 Mathématiques

2025

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 collègue » est autorisé.

Exercice 1 : (11 points)

Dans le bassin d'aération d'une station d'épuration, les matières polluantes contenues dans les eaux usées sont dégradées par des micro-organismes vivants nécessitant un apport en dioxygène insufflé par le plancher.

Le mélange d'eaux et boues obtenu est ensuite transféré dans un bassin de décantation.

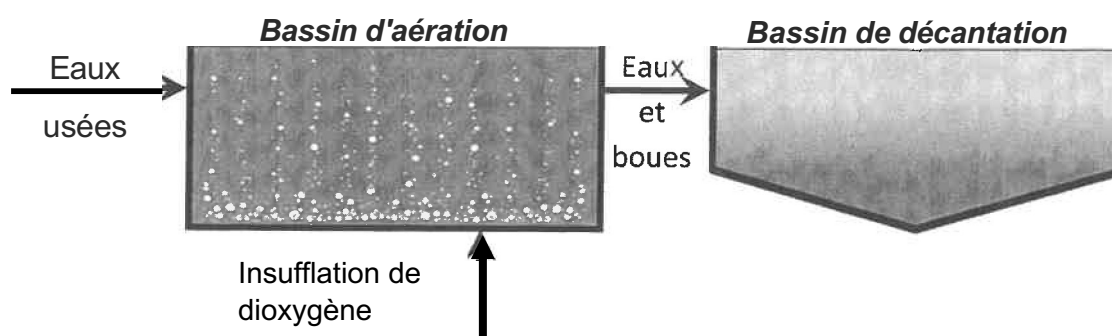


Schéma d'une station d'épuration à « boues activées »

PARTIE A :

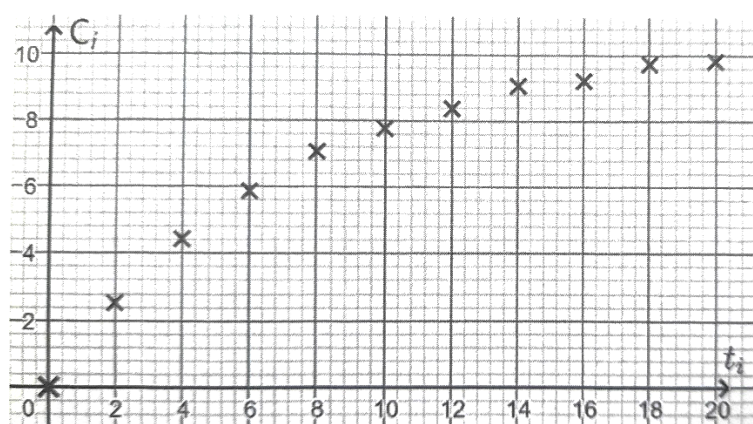
Pour vérifier le fonctionnement correct du bassin d'aération, il est rempli d'eau pure et on y insuffle le dioxygène. Au fur et à mesure de l'absorption du dioxygène insufflé, la concentration en dioxygène dans l'eau augmente jusqu'à se stabiliser à une concentration appelée concentration de saturation en dioxygène.

On mesure la concentration en dioxygène dans l'eau toutes les deux minutes à partir du début de la phase d'aération. Les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous:

temps t_i (en min)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
C_i (en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	0	2,531	4,438	5,875	7,063	7,770	8,378	9,066	9,215	9,726	9,809

1. Le nuage de points $(t_i ; C_i)$ est représenté sur le graphique ci-dessous.

Expliquer graphiquement pourquoi un ajustement linéaire de ce nuage de points ne paraît pas approprié.



2. On pose $y_i = \ln(10,54 - C_i)$. Le tableau ci-dessous donne certaines valeurs de Y_i arrondies à 10^{-3} .

temps t_i (en min)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
$y_i = \ln(10,54 - C_i)$	2,355	2,081	1,809	1,540	u	1,019	0,771	0,388	v	-0,206	-0,313

Indiquer sur la copie les deux valeurs manquantes u et v du tableau, arrondies à 10^{-3} .

3. A l'aide de la calculatrice, déterminer par la méthode des moindres carrés une équation de la droite d'ajustement du nuage de points $(t_i ; y_i)$ sous la forme $y = at + b$, où les coefficients a et b seront arrondis à 10^{-3} .

4. Dans ce qui suit, on choisit la droite d'équation $y = -0,14t + 2,35$ pour effectuer un ajustement du nuage de points $(t_i ; y_i)$.

On souhaite utiliser cet ajustement pour exprimer, en mg.L^{-1} , la concentration en dioxygène dans l'eau, notée $C(t)$, en fonction du temps t écoulé en minutes.

Déduire de ce qui précède que $C(t) = 10,54 - Ae^{-0,14t}$ où A est un réel dont on donnera la valeur arrondie à 10^{-2} .

PARTIE B :

Dans cette partie, on modélise la concentration en dioxygène dans l'eau (en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) au temps t écoulé (en minutes) par la fonction f définie sur $[0; +\infty[$ qui vérifie $f(0) = 0$ et qui est solution de l'équation différentielle (E):

$$y' + ry = 10,54r$$

Où r est un nombre réel constant exprime en min^{-1} .

1. a. Écrire, en fonction du réel r , l'ensemble des solutions de l'équation

$$y' + ry = 0$$

- b. Vérifier que la fonction constante g définie sur $[0; +\infty[$ par $g(t) = 10,54$ est une solution particulière de l'équation différentielle (E).

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

- d. En déduire que, pour tout réel $t \geq 0$, $f(t) = 10,54(1 - e^{-rt})$.

2. La quantité de dioxygène transférée par minute dans le bassin d'aération est notée AHs et vérifie :

$$\text{AHs} = r \times C_s \times V$$

On admet que $\text{AHs} = 1000 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$, $C_s = 0,01054 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ et $V = 700\,000 \text{ L}$.

- a. Déterminer une valeur approchée du réel r exprimée à 10^{-2} min^{-1} près.

- b. La modélisation par la fonction f et la valeur du réel r obtenue apparaissent-elles cohérentes avec la fonction C obtenue à la **partie A**, question 4. ?

PARTIE C

Après cette première phase d'insufflation, une fois la concentration en dioxygène stabilisée, on désactive le système d'insufflation. Des réactions chimiques se déroulent alors dans le bassin d'aération, et la concentration en dioxygène dans ce bassin diminue alors jusqu'à atteindre $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

On remet alors en marche le système d'insufflation de dioxygène. La concentration en dioxygène dans le bassin d'aération augmente jusqu'à atteindre une nouvelle valeur de saturation.

Soit la fonction g définie pour tout $t \geq 0$ par $g(t) = 4,77(1 - e^{-0,09t})$.

On admet que la fonction g modélise l'évolution de la concentration en dioxygène en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ dans le bassin d'aération à partir de la remise en marche du système d'aération en fonction du temps t mesure en minutes.

1. a. Déterminer la limite de la fonction g en $+\infty$. Interpréter cette valeur dans le contexte de l'exercice.

b. Déterminer au bout de combien de minutes la concentration en dioxygène atteindra la valeur $4,293 \text{ mg L}^{-1}$, c'est-à-dire 90 % de la valeur de saturation apparente. On précisera la méthode utilisée.

2. a. On note G la fonction définie pour tout $t \geq 0$ par $G(t) = 4,77t + 53e^{-0,09t}$.
Vérifier que la fonction G est une primitive de la fonction g sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.

b. On admet que la concentration moyenne en dioxygène pendant les vingt-cinq premières minutes d'aération est égale à :

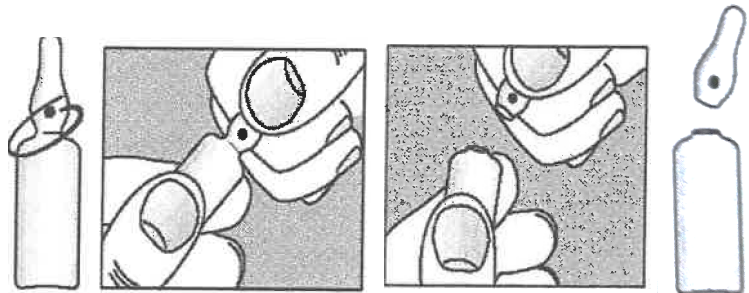
$$C_m = \frac{1}{25} \int_0^{25} g(t) dt$$

Déterminer l'arrondi, à $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, de la concentration moyenne en dioxygène pendant les vingt-cinq premières minutes d'aération.

Exercice 2 : (9 points)

Les trois parties A, B, et C de cet exercice sont indépendantes.

Des produits pharmaceutiques, injectables ou buvables, sont conditionnés dans des ampoules en verre dont une extrémité est faite pour être facilement cassée (cf. schéma ci-contre). Une telle ampoule est appelée ampoule bouteille.



PARTIE A

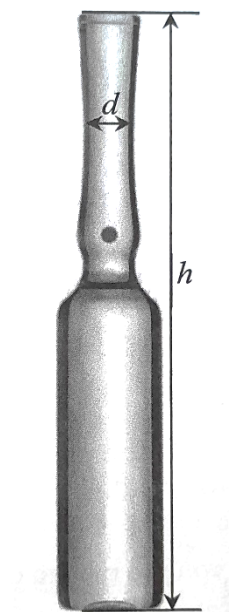
Dans cette partie, les probabilités seront arrondies à 10^{-3} .

Lors du calibrage, on contrôle deux dimensions de l'ampoule bouteille et on procède à son éjection de la ligne définition si les deux dimensions sont hors tolérances. Ces deux dimensions sont (cf. schéma ci-contre):

- le diamètre d de scellage où l'ampoule sera fermée après remplissage du produit pharmaceutique ;
- la hauteur totale h de l'ampoule.

Ces deux dimensions sont contrôlées en début de ligne de finition.

On choisit au hasard une ampoule et on note D la variable aléatoire qui à chaque ampoule associe son diamètre d de scellage exprimé en mm et H la variable aléatoire qui, à chaque ampoule, associe sa hauteur totale h exprimée en mm.

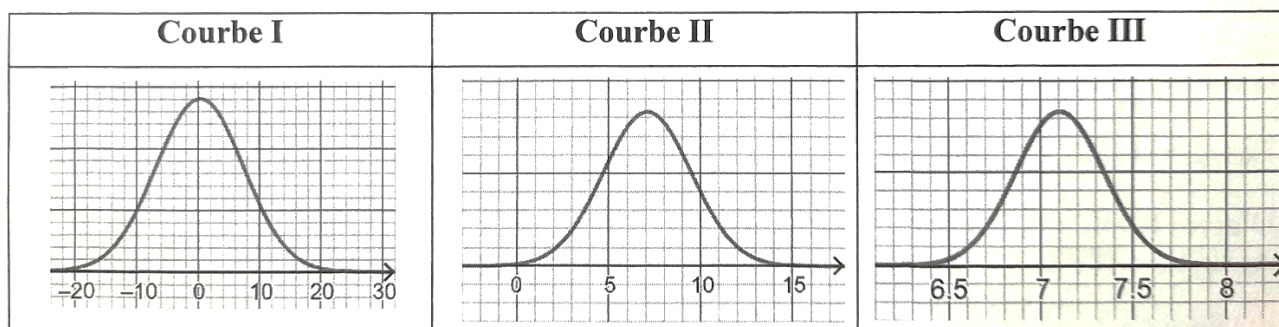


On admet que ces variables aléatoires peuvent être modélisées de la façon suivante :

- la variable aléatoire D suit la loi normale de moyenne 7,1 et d'écart type 0,24 ;
- la variable aléatoire H suit la loi normale de moyenne 102 et d'écart type 0,7.

On suppose que les variables aléatoires D et H sont indépendantes.

1. Parmi les trois courbes I, II et III représentées ci-dessous, une seule est la représentation graphique de la variable aléatoire D . Indiquer sur la copie quelle est cette courbe et justifier ce choix.



2.
 - a. Déterminer la probabilité $P(6,48 \leq D \leq 7,72)$.
 - b. Déterminer la probabilité $P(100,6 \leq H \leq 104,1)$.
3. Une ampoule est correctement calibrée si elle vérifie en même temps les deux conditions suivantes :
 - son diamètre de scellage d appartient à l'intervalle $[6,48 ; 7,72]$;
 - sa hauteur totale h appartient à l'intervalle $[100,6 ; 104,1]$.

Déduire de la question 2. la probabilité qu'une ampoule prise au hasard en début de ligne de finition soit correctement calibrée.

PARTIE B

Dans cette partie, on prélève 50 ampoules bouteilles en début de ligne de finition.

Le nombre d'ampoules produites est suffisamment important pour que ce prélèvement puisse être assimilé à un tirage avec remise de 50 ampoules.

On admet que la probabilité qu'une ampoule, prise au hasard dans le prélèvement, soit correctement calibrée est égale à 0,97.

On désigne par X la variable aléatoire qui, à tout prélèvement de 50 ampoules en début de ligne de finition, associe le nombre d'ampoules correctement calibrées.

1. Sans justifier, donner la loi suivie par la variable aléatoire X et préciser ses paramètres.

2. Déterminer l'espérance de la variable aléatoire X et interpréter cette valeur dans le contexte de l'exercice.

3. On prélève 50 ampoules bouteilles en début de ligne de finition. Déterminer la probabilité, arrondie à 10^{-3} , que, dans un tel prélèvement, au moins quatre ampoules ne soient pas correctement calibrées (dans ce cas, la ligne de finition est arrêtée pour réglage).

PARTIE C

Un technicien souhaite contrôler la qualité du remplissage des ampoules bouteilles par une solution. Dans ce but, il prélève un échantillon de 100 ampoules (un tel prélèvement peut être assimilé à un tirage avec remise du fait de l'importance de la production).

Le volume moyen de la solution contenue dans ces 100 ampoules est $v_e = 9,67 \text{ mL}$.

Il souhaite tester l'hypothèse « *le volume de solution contenue dans une ampoule est égal à 10 mL* » à l'aide d'un test bilatéral au seuil de signification de 5 %.

On désigne par V la variable aléatoire qui, à un échantillon de 100 ampoules prélevées au hasard dans l'ensemble de la production, associe la moyenne des volumes de solution contenue.

On pose pour hypothèse nulle « $H_0: \mu = 10 \text{ mL}$ » et pour hypothèse alternative « $H_1: \mu \neq 10 \text{ mL}$ ».

1. Sous l'hypothèse H_0 , on admet que la variable aléatoire V suit la loi normale d'espérance 10 et d'écart type 0,03.

Donner, sans justifier, un nombre réel h tel que $P(10 - h \leq V \leq 10 + h) \approx 0,95$ à 10^{-2} près.

2. Énoncer la règle de décision du test.

3. D'après l'échantillon prélevé par le technicien, peut-on accepter l'hypothèse H_0 au seuil de signification de 5 % ? Justifier.

4. Si le test bilatéral avait été réalisé au seuil de signification de 1 %, quelle aurait été la région d'acceptation du test parmi les quatre proposées ci-dessous ? On ne justifiera pas la réponse.

A = [9,97; 10,03] B = [9,95; 10,05] C = [9,94; 10,06] D = [9,92; 10,08]

E3 Sciences physiques et chimique 2025

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :

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

L'usage de calculatrice sans mémoire, « type collègue » 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.

Indispensable à la santé, le sel alimentaire ou chlorure de sodium (NaCl) est pourtant néfaste lorsqu'il est consommé en excès. Une surconsommation de sel (supérieure à 12 grammes par jour) a des effets négatifs sur la santé en augmentant notamment la pression artérielle (hypertension) et en développant certaines maladies cardiovasculaires.

Ce sujet s'articule autour de l'élément sodium dans le corps humain. Il comporte deux exercices indépendants.

Données relatives à l'ensemble du sujet

- **Constantes fondamentales**

Constante de Planck : $h = 6,62 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$

Célérité de la lumière dans le vide : $c = 3,00 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$

- **Masses molaires atomiques**

$M(\text{Na}) = 23,0 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $M(\text{Cl}) = 35,5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

- **Numéros atomiques**

Élément chimique	H	C	N	O
Z	1	6	7	8

- **Correspondance entre unités**

1 eV = $1,60 \times 10^{-19} \text{ J}$

- **Enthalpies molaires standard de formation à 298 K**

Formule chimique	État	$\Delta_f H^\circ (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
NaCl	Solide	- 411,2
Na ⁺	Aqueux	- 240,3
Cl ⁻	Aqueux	- 167,1

- **Énergie E** associée à un photon de longueur d'onde λ $E = \frac{h \times c}{\lambda}$

Exercice I - Dosage de l'élément sodium dans le sang (13 points)

Un « ionogramme sanguin » est un examen permettant de doser certains ions présents dans le sang, dont l'ion sodium (Na^+). La teneur en ion sodium dans le sang est nommée « natrémie ». Une natrémie normale se situe autour d'une valeur moyenne de 140 mmol.L^{-1} . On parle respectivement de « hypernatrémie » et « hyponatrémie » lorsque la concentration en sodium est trop élevée ($> 145 \text{ mmol.L}^{-1}$) ou trop faible ($< 135 \text{ mmol.L}^{-1}$).

Le dosage de l'élément sodium dans le sang se fait par photométrie d'émission de flamme (FEP ou *Flame Emission Photometry*). L'appareil utilisé est un photomètre à émission de flamme.

Partie A - Solubilité du chlorure de sodium et hypernatrémie

La figure 1, ci-dessous, montre l'influence de la température sur la solubilité dans l'eau du chlorure de sodium.

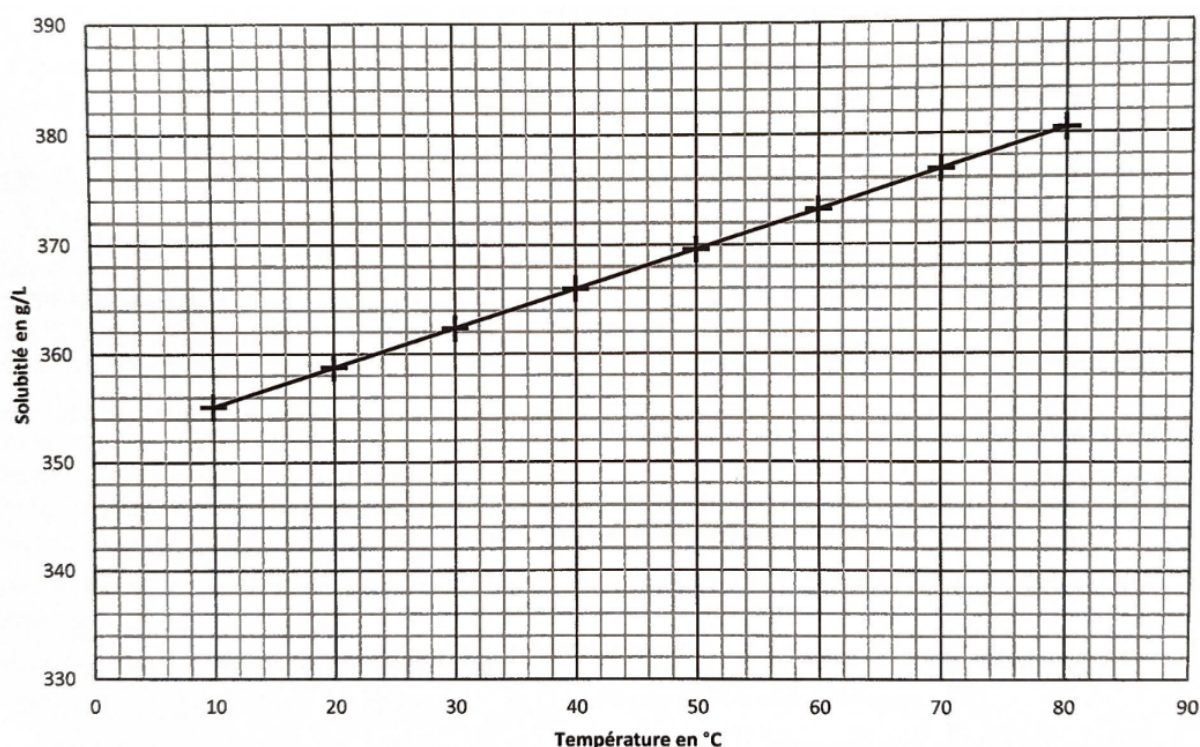


Figure 1

- Q1.** Le chlorure de sodium est un cristal ionique. Définir ce terme.
- Q2.1** Écrire l'équation de dissolution du chlorure de sodium solide dans l'eau.
- Q2.2** Calculer l'enthalpie standard de dissolution $\Delta_r H^\circ_{diss}$ du chlorure de sodium solide à 298 K et commenter son signe.
- Q2.3** D'après la courbe de la **figure 1** ci-dessus, décrire comment la solubilité du chlorure de sodium évolue avec la température.
- Q2.4** Justifier cette évolution à partir de la question **Q2.2.** et de vos connaissances.

On modélise élémentairement le plasma sanguin comme étant composé à 100 % d'eau. Les autres composants du plasma sont considérés comme inertes vis-à-vis du chlorure de sodium.

Q3.1 Relever, sur la **figure 1**, la valeur de la solubilité du chlorure de sodium dans l'eau à la température de 37 °C, puis exprimer cette valeur en mmol.L⁻¹.

Q3.2 On considère que la température du corps humain est de 37 °C. Montrer qu'en pourcentage, le rapport entre la quantité de matière de sodium dissous dans 1 L de plasma d'une personne ayant un taux de natrémie normale et la quantité de matière maximale que l'on pourrait dissoudre dans le même volume de plasma vaut moins de 3 %.

Q3.3 À partir des questions **Q3.1** et **Q3.2**, justifier qu'une alimentation trop riche en sel alimentaire peut conduire à une hypernatrémie (on précise que le sel est dissous lors de la digestion mais que les ions formés ne sont pas transformés lors de la digestion).

Partie B - Principe de la photométrie d'émission de flamme

Le schéma d'un photomètre d'émission de flamme est représenté dans la figure 2 ci-dessous.

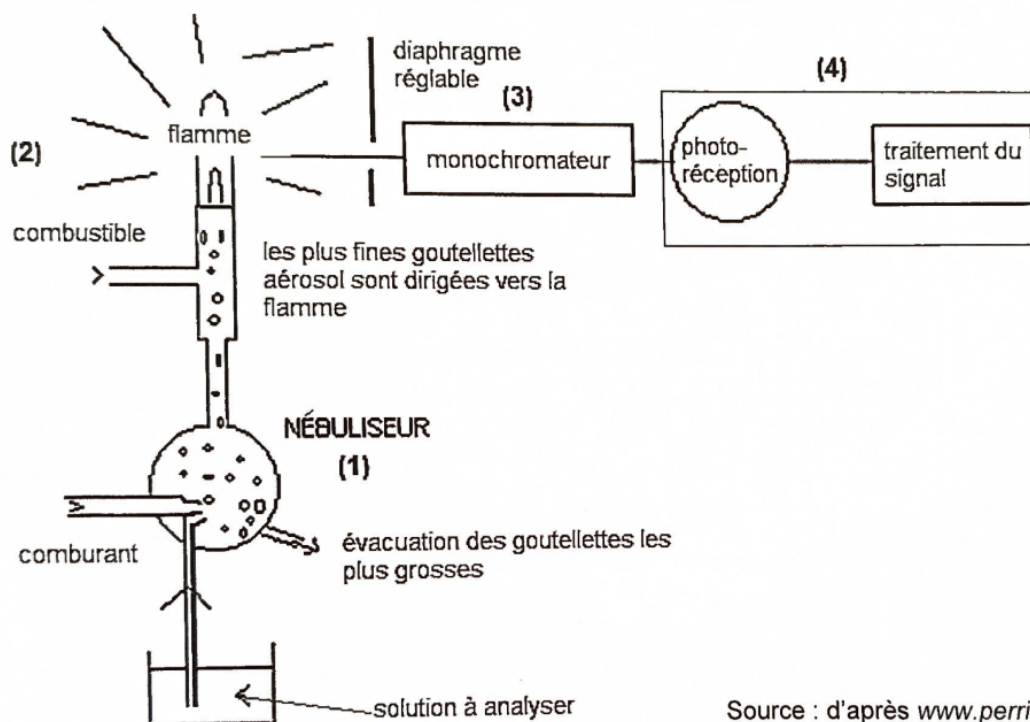


Figure 2

Il comporte quatre éléments principaux :

- le nébulisateur (1) qui disperse en fines gouttelettes la solution à analyser ;
- le brûleur/la flamme (2) qui atomise l'ion à doser présent dans les gouttelettes, puis qui excite l'atome formé ;

- le monochromateur (3) qui permet de sélectionner la longueur d'onde caractéristique du rayonnement produit par l'atome formé ;
- le dispositif de détection et de traitement (4) qui permet de détecter et d'amplifier le signal.

Dans le cas du sodium, la flamme utilisée a pour température 2000 K. Sous cette température élevée, les ions sodium contenus dans la solution à analyser sont d'abord atomisés (ils sont transformés en atomes de sodium), puis ces atomes sont excités ; seule une fraction du sodium atomique formé passe de l'état fondamental à un état excité. Le retour à l'état fondamental s'accompagne d'une émission d'un photon de longueur d'onde $\lambda = 589 \text{ nm}$ (il s'agit en réalité de deux radiations de longueurs d'onde très proches). La mesure de l'intensité lumineuse émise lors de cette désexcitation est à la base de la photométrie d'émission atomique.

Q4.1 Calculer en joules, puis en électronvolts, l'énergie E_{589} transportée par un photon de longueur d'onde $\lambda = 589 \text{ nm}$ émis lors du retour à l'état fondamental de l'atome de sodium excité.

Q4.2 Indiquer par une flèche, sur le diagramme simplifié des niveaux d'énergie en **annexe 1**, la transition correspondant à l'émission de ce photon ($\lambda = 589 \text{ nm}$).

D'après le schéma du photomètre de flamme (**figure 2**), un monochromateur est utilisé pour sélectionner les longueurs d'onde de travail.

Q5. Citer deux exemples de dispositifs optiques pouvant jouer le rôle de monochromateur.

Partie C - Dosage du sodium dans le sang par photométrie d'émission de flamme

La théorie permet de montrer qu'avec un débit et une température de flamme constants, l'intensité du rayonnement émis est proportionnelle à la concentration des ions dans la solution à analyser. Les dosages sont donc réalisés par comparaison des intensités du rayonnement émis lors de mesures faites sur la solution à analyser et une gamme de solutions de concentrations connues. Une courbe d'étalonnage permet ensuite de déterminer la concentration inconnue.

Les mesures peuvent être faussées par différents facteurs. Pour éviter cela et des manipulations préalables, les meilleurs appareils de FEP mettent en œuvre une méthode d'utilisation d'étalon interne. Cette méthode consiste à mesurer les intensités émises par deux éléments chimiques différents dont l'élément sur lequel porte l'analyse, ici l'élément sodium (Na). On utilise l'élément lithium (Li) en tant qu'étalon interne : sa longueur d'onde caractéristique est de 671 nm.

Une gamme de solutions de concentrations connues est fabriquée à partir de deux solutions ioniques :

- une solution de chlorure de sodium ($\text{Na}^+ + \text{Cl}^-$) de concentration $10,0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$;
- une solution de chlorure de lithium ($\text{Li}^+ + \text{Cl}^-$) de concentration $5,00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

On mélange, un volume V_i de solution de chlorure de sodium et un volume connu $V_{et} = 10,0 \text{ mL}$ de solution de chlorure de lithium selon les proportions indiquées dans le tableau ci-dessous. Chaque mélange est préparé dans une fiole jaugée de 100 mL, complétée à 100 mL avec de l'eau distillée.

$S_i = i^{\text{ème}}$ solution « étalon »	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
V_i (en mL)	0	1,00	2,00	5,00	7,00	10,0
V_{et} (en mL)	0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Concentration C_i en ion Na^+ (en $10^{-1} \text{ mmol.L}^{-1}$)	0	1,00	2,00	5,00	7,00	10,0
Concentration C_{et} en ion Li^+ (en $10^{-1} \text{ mmol.L}^{-1}$)	0	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
$\frac{C_i}{C_{et}}$	0	0, 200	0, 400	1, 00	1, 40	2, 00

On mesure ensuite l'intensité émise par le sodium (I_i) et le lithium (I_{et}) pour les cinq solutions « étalon ». Les valeurs du rapport $\frac{I_i}{I_{et}}$ sont indiquées ci-dessous.

	S_0	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5
$\frac{I_i}{I_{et}}$	0	0, 232	0, 470	1, 32	1, 83	2, 79

Q6. Décrire brièvement le protocole à mettre en œuvre lors de la préparation de la solution S_3 (choix du matériel, étapes).

Q7. Représenter en **annexe 2 (à rendre avec la copie)**, la courbe donnant les variations de $\frac{I_i}{I_{et}}$ en fonction de $\frac{C_i}{C_{et}}$.

On prépare ensuite la solution S à analyser contenant l'échantillon sanguin à doser. Pour cela, on dilue d'abord d'un facteur 400 l'échantillon sanguin à doser. On prélève 90 mL de cet échantillon sanguin dilué au 400^{ème} et on les verse dans une fiole jaugée de 100 mL. On ajoute 10,0 mL d'une solution de chlorure de lithium de concentration $5,00 \text{ mmol.L}^{-1}$.

La mesure conduit alors au rapport $\frac{I_i}{I_{et}} = 0,951$.

Q8. Montrer, par le calcul, que la concentration molaire en ions Li^+ dans la solution S analysée vaut $C_{et} = 5,00 \times 10^{-1} \text{ mmol.L}^{-1}$.

Q9. À l'aide des questions **Q7** et **Q8**, déterminer la concentration en ions sodium dans l'échantillon à doser en détaillant la démarche. En déduire si l'on diagnostique alors une natrémie normale, une hyponatrémie ou une hypernatrémie.

Exercice II – L'acébutolol contre l'hypertension artérielle (7 points)

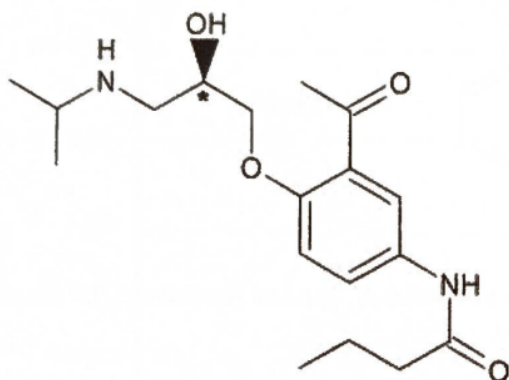
L'hypernatrémie est l'une des causes principales de l'hypertension artérielle.

Les « antihypertenseurs » sont des médicaments qui font baisser la tension artérielle, sans pour autant éliminer la cause de la maladie. Ils sont subdivisés en cinq sous-classes principales en fonction de leur mécanisme d'action :

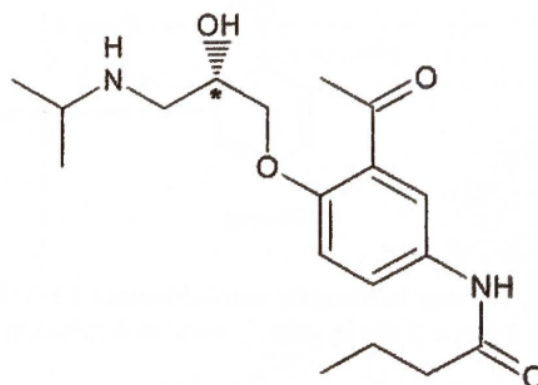
- les β -bloquants ;
- les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) ;
- les antagonistes de l'angiotensine II (ATA 2) ;
- les inhibiteurs calciques ;
- les diurétiques.

Dans cet exercice, on étudie la molécule d'acébutolol, un « β -bloquant » utilisé pour soigner une pression artérielle légèrement à modérément élevée.

L'acébutolol existe sous la forme de deux stéréoisomères, notés (A) et (B) :



Molécule (A)



Molécule (B)

Q10. Donner la définition d'un carbone asymétrique.

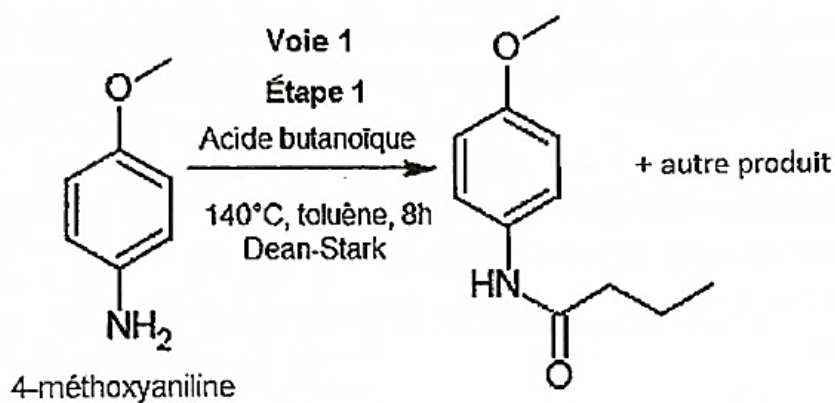
Q11. Sur la représentation de l'acébutolol donnée en **annexe 3 (à rendre avec la copie)**, entourer et nommer les différents groupements caractéristiques qu'elle comporte.

Q12. Déterminer la configuration absolue du carbone asymétrique dans la molécule (A). Justifier succinctement en précisant les règles utilisées.

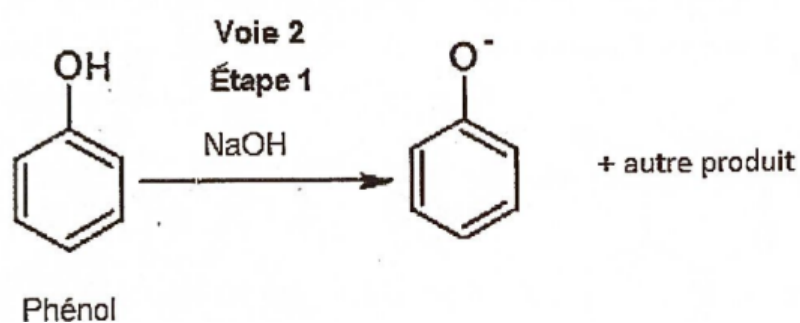
Q13. Indiquer la relation de stéréoisomérisie entre les molécules (A) et (B). Justifier.

Il existe plusieurs voies de synthèse de l'acébutolol. On s'intéresse ici à la première étape de deux voies de synthèse.

La première voie de synthèse se fait à partir de la 4-méthoxyaniline :



La deuxième voie de synthèse se fait à partir du phénol :

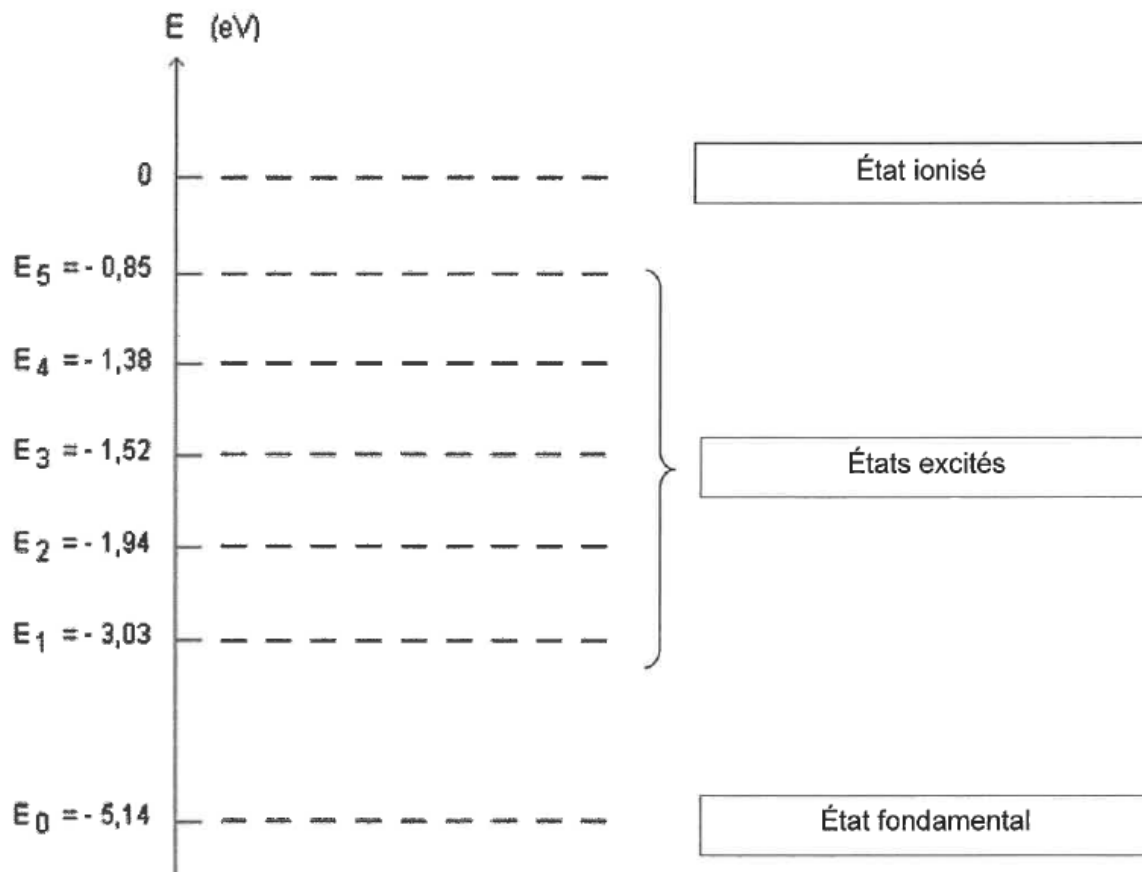


- Q14.** Donner la formule semi-développée de l'acide butanoïque, espèce réagissant, au cours de l'étape 1 de la voie 1, avec la 4-méthoxyaniline.
- Q15.** Indiquer la nature de la transformation chimique mise en jeu dans l'étape 1 de la voie 2.
- Q16.** Préciser la formule chimique et le nom du second produit formé dans l'étape 1, sachant qu'il s'agit du même produit pour les deux voies de synthèse.

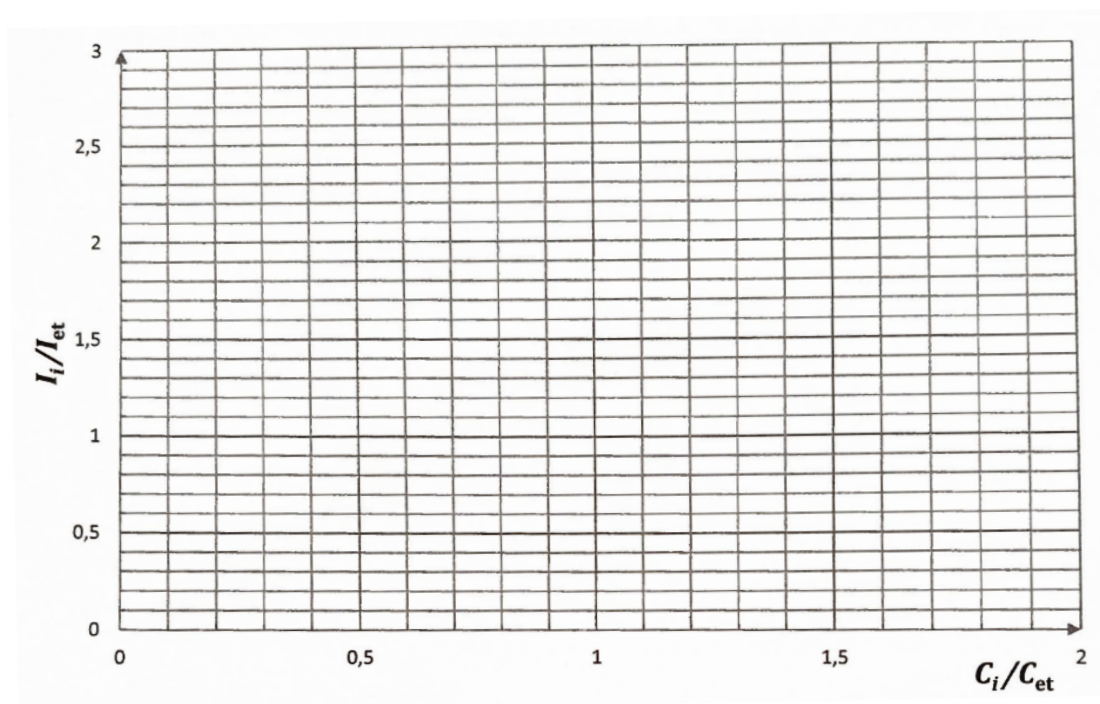
ANNEXE

À rendre avec la copie

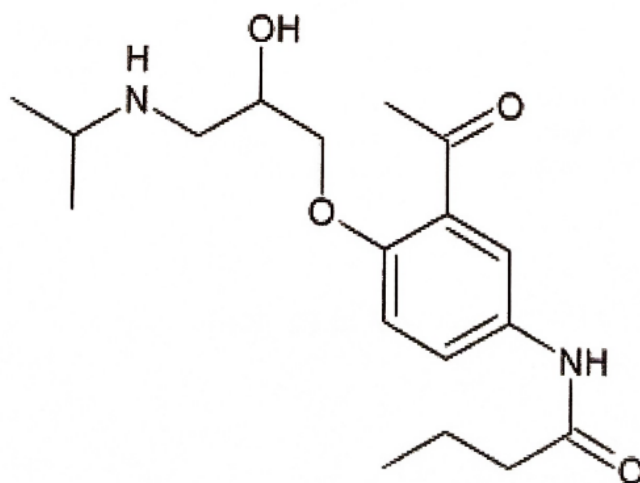
Annexe 1 (question Q4.2)



Annexe 2 (question Q7)



Annexe 3 (question Q11)



Compétences et capacités évaluées pour les trois enseignements de spécialité :

C1	C2	C3	C4	C5
Analyser des ressources documentaires en s'appuyant sur savoirs scientifiques et technologiques	Exercer un regard critique sur la faisabilité d'une analyse ou fiabilité d'un résultat	Analyser un résultat, une procédure dans une situation professionnelle	Établir une synthèse à partir d'un raisonnement rigoureux	S'exprimer à l'écrit avec clarté et rigueur

Aucun document ou matériel autorisé.

LA MYOPATHIE DE DUCHENNE

La Haute autorité de santé (HAS) précise que la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD) est une maladie héréditaire transmise sur le mode récessif, liée au chromosome X. C'est la dystrophie musculaire progressive la plus fréquente chez l'enfant. Elle touche essentiellement les garçons. Son incidence atteint 1 pour 3 300 naissances de garçons par an en France.

La maladie résulte de mutations pathogènes du gène *DMD* qui code la dystrophine, une protéine essentielle au fonctionnement de la fibre musculaire. Les mutations conduisent à une absence totale de dystrophine dans les muscles squelettiques, mais aussi dans le cœur et le cerveau. Le déficit en dystrophine entraîne une nécrose musculaire. Les fibres musculaires sont peu à peu remplacées par du tissu fibro-adipeux, associé à un déficit moteur progressif qui débute dans l'enfance, souvent entre 3 et 5 ans. Il aboutit de façon inéluctable à la perte de la marche entre 7 et 14 ans en moyenne.

1. Bilan biochimique

Les parents d'un garçon, Y âgé de 3 ans, consultent pour une difficulté motrice observée chez leur fils : chutes fréquentes, acquisition de la marche tardive, difficultés pour courir, fatigabilité et douleurs musculaires.

Les examens biologiques suivants sont demandés au laboratoire :

- détermination de la concentration d'activité catalytique de la créatine kinase ;
- dosage de la créatininémie ;
- dosage de la troponine T.

1.1. Détermination de la concentration d'activité catalytique de la créatine kinase

L'automate KENZA 240 TX du laboratoire comporte un module photométrique de chimie clinique permettant de doser l'activité enzymatique de la créatine kinase. Le principe du dosage est fourni dans la fiche technique du **document 1**.

Avant le dosage de la créatine kinase par l'automate, le technicien réalise une évaluation visuelle de l'hémolyse échantillon à l'aide du **document 2**. Le technicien qualifie le prélèvement de l'enfant Y « hémolyse +++ ». Le biologiste alerté par le technicien conclut à la conformité du prélèvement pour l'analyse, en l'absence d'interférences.

Q1. Indiquer le type de tube de prélèvement utilisé pour ce dosage. (C3)

Q2. Expliquer la conclusion du biologiste quant à la conformité du prélèvement de l'enfant Y. (C2)

L'augmentation importante de la concentration d'activité catalytique de la créatine kinase sérique, exceptionnelle dans l'enfance, est caractéristique d'une atteinte musculaire telle que la myopathie de Duchenne.

- Q3.** Établir la liste des différents constituants du réactif 1 nécessaires au dosage. (C3)
- Q4.** Préciser les conditions opératoires concernant les concentrations en substrats pour ce type de méthode. (C1)
- Q5.** Argumenter la nécessité de coupler la réaction principale avec les deux réactions suivantes. (C3)
- Q6.** Poser l'équation aux valeurs numériques permettant de calculer le facteur théorique nommé « Facteur » présenté dans la fiche technique pour une technique manuelle. (C3)

1.2. Dosage de la créatinine

La dégénérescence musculaire entraîne une baisse de la créatininémie chez les patients atteints de la myopathie de Duchenne.

Les performances de la technique « Créatinine Méthode cinétique » de Biolabo ont été établies sur un automate KENZA 240 TX et sont fournies dans la fiche technique présentée dans le **document 3**.

- Q7.** Identifier les conditions opératoires de la procédure manuelle pour assurer la qualité du résultat. (C2)

Dans la partie « Intervalles de référence » de la fiche technique de dosage de la créatinine, il est indiqué « Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée ».

- Q8.** Justifier cette recommandation. (C2)

La fiche de programmation de l'automate indique « Domaine de mesure : entre 2,5 et 150 mg/L ».

- Q9.** Préciser la signification de cette information. (C2)

Le suivi mensuel des contrôles internes de qualité (CIQ) est réalisé afin de détecter les erreurs systématiques et/ou aléatoires. Les résultats de trois échantillons CIQ de niveaux différents sont présentés dans les **documents 4 et 5**.

- Q10.** Indiquer les critères de performance évalués respectivement par le CV et le biais %. (C1)

- Q11.** Analyser les résultats et proposer des actions correctives. (C4)

1.3. Dosage de la troponine T sérique

La présence dans le sérum de protéines exclusivement localisées dans le cytoplasme des myocytes révèle une lyse cellulaire.

Le principe du dosage de la troponine T cardiaque par immunodosage électro-chimioluminescent est présenté dans le **document 6**.

- Q12.** Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans la cellule de mesure. (C4)

- Q13.** Citer deux molécules éliminées lors de l'étape de lavage par la solution Procell. (C2)

L'automate nécessite une calibration régulière. Les calibrants sont stockés dans le congélateur et reconstitués en cas de besoin.

Le technicien en charge de cette reconstitution doit également vérifier le suivi métrologique des congélateurs.

Q14. Mentionner deux situations nécessitant une calibration. (C2)

Q15. Indiquer le rôle du suivi métrologique des congélateurs. (C2)

Le **document 7** précise les conditions de reconstitution, de stockage et d'utilisation des calibrants utilisés en immunologie.

Q16. Rédiger un document à destination des nouveaux techniciens synthétisant les bonnes pratiques pour la gestion du calibrant troponine (reconstitution, stockage, utilisation). (C4)

2. Analyse par western blot d'une biopsie musculaire

Une biopsie musculaire est réalisée en première intention du diagnostic de la myopathie de Duchenne. L'analyse des protéines musculaires par western blot permet de mettre en évidence le déficit en dystrophine musculaire. La masse moléculaire de la dystrophine est de 427 kDa.

Le **document 8** présente le mode opératoire décrivant les différentes étapes pour la réalisation d'un western blot.

Cette méthode révèle non seulement la dystrophine, mais aussi d'autres protéines musculaires : deux isoformes de la calpaïne et l'alphasarcoglycane.

Q17. Citer une cause de non-conformité pré-analytique. (C2)

Q18. Expliquer le principe de séparation des protéines par SDS-PAGE. (C1)

Q19. Expliquer l'intérêt de transférer les protéines depuis le gel électrophorétique sur la membrane de transfert avant l'étape de révélation. (C1)

Le **document 9** présente les résultats de la technique western blot de l'enfant Y.

Q20. Exploiter les résultats du western blot. (C3)

3. Diagnostic génétique de la myopathie de Duchenne

La recherche de mutations du gène *DMD* de la dystrophine est réalisée à partir d'un prélèvement de sang total. Les mutations sont recherchées par PCR multiplex.

Q21. Souligner l'intérêt de la PCR multiplex en comparaison à une PCR uniplex. (C1)

Q22. Expliciter les précautions organisationnelles à respecter en laboratoire de biologie moléculaire pour s'assurer de l'absence de faux positifs. (C2)

Le **document 10** rassemble :

- des informations concernant le gène *DMD* sauvage et la présentation de quelques mutations ;
- la séquence d'une partie l'exon 3 sauvage ;
- le code génétique.

Q23. Déterminer la séquence peptidique pour 5 codons du gène sauvage, à partir du nucléotide 356, ainsi que celle impactée par la mutation sur l'exon 3. (C1)

Q24. Corréler les conséquences de la mutation mise en évidence par la PCR multiplex avec le résultat obtenu par la technique western blot pour l'enfant Y. (C3)

4. Bilan des examens réalisés

Le bilan de biochimie sanguine rendu au patient Y est présenté dans le **document 11**.

Q25. Expliquer que les résultats obtenus sont en accord avec le contexte médical du patient Y. (C4)

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENT	TITRE DU DOCUMENT
DOCUMENT 1	Fiche technique CK NAC IFFCC Monoréactif de Biolabo (Réf. 92207)
DOCUMENT 2	Estimation de l'indice d'hémolyse des échantillons
DOCUMENT 3	Fiche technique CREATININE Méthode cinétique de Biolabo (Réf. 80107)
DOCUMENT 4	Diagramme de Levey-Jennings pour le dosage de la créatinine sérique (avril 2025)
DOCUMENT 5	Bilan mensuel de CIQ pour le dosage de la créatinine
DOCUMENT 6	Extrait de la fiche technique Elecsys Troponin T hs de l'automate Cobas
DOCUMENT 7	Modalités de reconstitution des calibrants utilisés en immunologie
DOCUMENT 8	Étapes du mode opératoire de la technique western blot
DOCUMENT 9	Résultats de la technique western blot
DOCUMENT 10	Gène <i>DMD</i> et mutations
DOCUMENT 11	Bilan biologique du prélèvement de l'enfant Y

Fiche Technique CK NAC IFFCC Monoréactif de Biolabo (Réf. 92207)



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CK-NAC IFFCC Monoréactif

Réactif pour le dosage quantitatif de l'activité Créatine Kinase
[EC 2.7.3.2] dans le sérum humain

REF 92207	R1 20 x 3 mL	R2 1 x 60 mL
REF 92307	R1 8 x 20 mL	R2 8 x 20 mL



USAGE IN VITRO

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

Fax : (33) 03 23 256 256

support@biolabo.fr

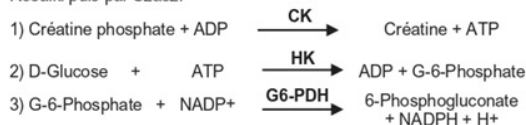
INTERET CLINIQUE (1)

La créatine kinase (CK) est localisée principalement dans les tissus cardiaques, cérébraux et dans les muscles squelettiques. Aussi toute atteinte ou maladie (infarctus du myocarde, atteinte cérébro-vasculaire aiguë, dystrophie musculaire) touchant l'un de ces tissus conduit à une élévation de l'activité CK dans le sérum. Il existe 3 isoenzymes différentes séparables par électrophorèse ou chromatographie sur colonne. La spécificité diagnostique du test est optimisée par détermination de chaque isoforme dans le sérum (variable en fonction du tissu d'origine).

Suite à un infarctus du myocarde, l'activité CK commence à augmenter dans les 4 à 6 heures, est maximale entre 18 et 30 h et revient à la normale après 3 jours.

PRINCIPE (4) (5) (6)

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



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

PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

PREPARATION DES REACTIFS

- **Substrat-Enzymes (R1)** : utiliser un objet non coupant pour détacher la capsule.

- **Tampon (R2)** : Prêt à l'emploi

REF 92307 : Ajouter sans délai le contenu de R1 dans R2

REF 92207 : Ajouter sans délai 3 mL de R2 dans R1

Mélanger doucement jusqu'à complète dissolution.

LIMITES (1) (3)

Ne pas utiliser de spécimens hémolysés (des enzymes et produits intermédiaires libérés sont susceptibles d'interférer avec la réaction). 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. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie

REACTIFS (7)R1 SUBSTRAT-ENZYMES **SUBS** CK

Attention

Avant reconstitution:

Skin Irrit. 2 : H315 – Provoque une irritation cutanée
STOT SE 3 : H335 – Peut irriter les voies respiratoires
Acute Tox. 4 : H302+H312+H332 – Nocif en cas d'ingestion, par contact cutané, par inhalation
Eye Irrit. 2 : H319 – Provoque une sévère irritation des yeux

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P264 : Se laver les mains soigneusement après manipulation, P302+P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon, P304+P340 : EN CAS D'INHALATION : Transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer, P305+P351+P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Créatine phosphate 25 - < 50%

R2 TAMPON **BUF** CK

Danger

Imidazole Acétate, pH 6,7 100 mmol/L

EDTA Na2 2 mmol/L

Acétate de Magnésium 10 mmol/L

Surfactant, stabilisant

Repro. 1B : H360 - Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus

P201 : Se procurer les instructions de sécurité, P202 : Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité, P308+P313 : En cas d'exposition prouvée ou suspectée : Consulter un médecin, P405 : Garder sous clef, P501 : éliminer le contenu et le récipient conformément à la réglementation sur les déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Imidazole < 1%

Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

Après reconstitution : Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme R2 (Tampon)

STABILITE ET CONSERVATION

Stocké à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :

- Le réactif de travail (R1+R2) est stable au moins 30 jours.
- Rejeter tout réactif trouble ou si le blanc réactif à 340 nm est > 0.500
- Ne pas utiliser le réactif de travail au-delà de la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (1) (2)

Sérum non hémolysé. Ne pas utiliser l'héparine, l'EDTA, le citrate ou le fluorure comme anticoagulant. Protéger de la lumière et stocker dans un récipient hermétique pour prévenir les pertes en CO₂. L'addition de thiols n'est pas nécessaire.

L'activité CK est stable dans le sérum :

- 4 à 8 h à température ambiante, 1 à 2 jours à 2-8°C, 1 mois à -20°C.

Fabricant	Date de péremption	Usage "In vitro"	Température de conservation	Référence Produit	Consulter la notice	Numéro de lot	Conserver à l'abri de la lumière
Suffisant pour	Diluer avec	Eau déminéralisée	Risque biologique				

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

Version : 11/02/2019

CALIBRATION

- **REF** 95015 BIOLABO Multicalibrator (*traçable sur Masterlot interne*)
- La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif

INTERVALLES DE REFERENCE (1) (2)

L'activité CK dans le sérum est influencée par l'âge, le sexe, l'origine, la masse corporelle, l'activité physique, et d'autres facteurs génétiques moins connus.

	UI/L (37°C)	μKat/L
Nouveau né	145-1578 (moy 382)	[2,47-26,85]
Nés sous césarienne	2-3 x adulte	
4 jours	3 x adulte	
6 semaines-12 ans	Valeurs de l'adulte	
Adulte Homme > 19 ans	20-200 UI/L	[0,34-3,40]
Adulte Femme > 19 ans	20-180 UI/L	[0,34-3,06]

L'activité CK varie également en fonction de la population étudiée et est respectivement répartie comme suit dans 97,5% des cas :

Population	UI/L
Homme Afro-Américain	520
Homme Caucasien	370
Femme Afro-Américaine	290
Femme Caucasienne	145

Les valeurs normales dépendent de la méthode et de l'instrument. Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

PERFORMANCES à 37°C sur KENZA 240TX

Domaine de mesure : entre 12 et 800 UI/L

Limite de détection : environ 4 UI/L.

Précision :

Intra-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé	Inter-série N = 20	Taux bas	Taux moyen	Taux élevé
Moy (UI/L)	63	123.4	556.4	Moy (UI/L)	65.8	131.2	583.4
S.D. UI/L	0.7	1.4	3.0	S.D. UI/L	2.2	3.8	14.4
C.V%	1.1	1.1	0.5	C.V%	3.3	2.9	2.5

Comparaison avec réactif du commerce :

Etude réalisée sur sérums humains (n=100) entre 12 et 1063 UI/L

$$y = 0,9745 x + 4,6059 \quad r = 0,9995$$

Sensibilité analytique : approx. 0,0035 abs/min pour 10 UI/L

Interférences :

Bilirubine totale	Interférence négative à partir de 247 μmol/L
Bilirubine directe	Pas d'interférence jusqu'à 427 μmol/L
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 10,6 g/L
Turbidité	Interférence positive à partir de 0,337 abs
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 257 μmol/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : Le réactif de travail est stable 21 jours

Stabilité de la calibration : 14 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opérations de maintenance

REFERENCES

- (1) Tietz N.W. *Text book of clinical chemistry*, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 657-666, 728, 1185-1190.
- (2) *Clinical Guide to Laboratory Test*, 4th Ed., N.W. Tietz (2006) p. 306-309
- (3) YOUNG D.S., *Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests*, 4th Ed. (1995) p. 3-185 à 3-190
- (4) Oliver I.T., *Biochem J.*, **61**(116) 1955
- (5) Rosalski S.B., *J. Lab. Clin. Med.*, **69** (1967), p.696-705
- (6) Szasz G., Gruber W., and Berni E., *Clin. Chem.*, **22** (1976), p.650-656
- (7) Horder M and al, *Approved IFCC recommendation on methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 7. IFCC method for creatine kinase [EC 2. 7. 3. 2]. Eur J. clin. Chem. Clin. Biochem.*, **29**, p435-456 (1991)

CONTRÔLE DE QUALITE

- **REF** 95010 BIOLABO EXATROL-N Taux I
 - **REF** 95011 BIOLABO EXATROL-P Taux II
 - 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 l'opération en utilisant le même contrôle
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, vérifier les paramètres de l'analyse : longueur d'onde, température, volume spécimen/volume réactif, temps de mesure et facteur de calibration
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre flacon de réactif et répéter le test
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

MODE OPERATOIRE

L'adaptation détaillée KENZA 240TX est disponible sur demande

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

	Automate	Technique manuelle
Réactif de travail	240 μL	1000 μL
Calibrator/Contrôle or Spécimen	12 μL	50 μL
Mélanger. Après 2 minutes, enregistrer l'absorbance à 340 nm toutes les minutes pendant 3 minutes.		
Calculer la moyenne des variations d'absorbance par minute (ΔAbs/min).		

Remarques :

- 1-Les données de performances et stabilité ont été validées sur analyseur KENZA 240 TX et KENZA 450TX
- 2- En technique manuelle et sur tout autre analyseur de biochimie, les données de stabilité et performances devront être établies par l'utilisateur
- 3-Des propositions d'applications sont disponibles sur demande

CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Avec multicalibrateur sériel

$$\text{Activité CK} = \frac{(\Delta\text{Abs/min}) \text{ Dosage}}{(\Delta\text{Abs/min}) \text{ Calibrant}} \times \text{Concentration du Calibrant}$$

Avec facteur théorique :

$$\text{Activité (UI/L)} = \Delta\text{Abs/min} \times \text{Facteur}$$

$$\text{Facteur} = \frac{\text{VR} \times 1000}{6,22 \times \text{VE} \times \text{P}}$$

Avec :

VR = Volume réactionnel (mL)

VE = Volume Specimen (mL)

6,22 = Coefficient d'extinction du NADPH à 340nm

P = Trajet optique (cm).

Exemple en technique manuelle

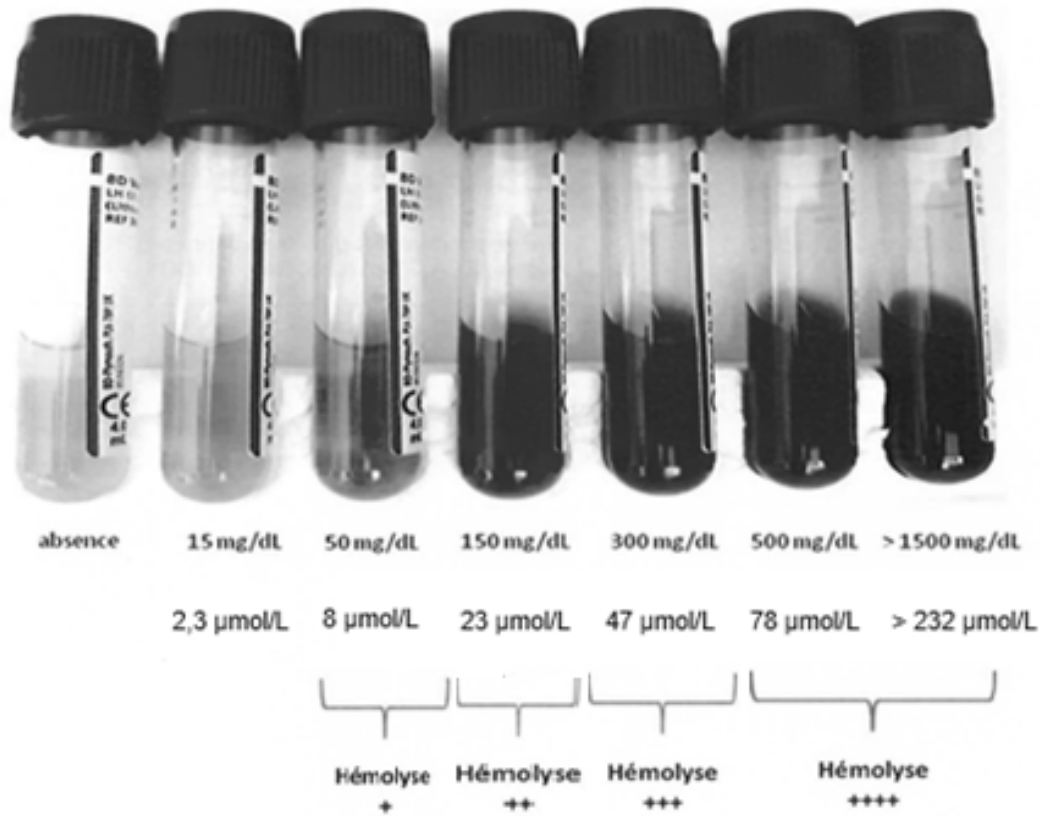
(trajet optique 1 cm, 37°C, 340 nm)

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

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

DOCUMENT 2

Estimation de l'indice d'hémolyse des échantillons



Source : d'après le pôle Biologie Clinique - CHU de Rouen.

Fiche technique CRÉATININE Méthode cinétique de Biolabo (Réf. 80107)



BIOLABO
www.biolabo.fr

FABRICANT :
BIOLABO S.A.S

Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

CREATININE Méthode cinétique

Réactif pour le dosage quantitatif de la créatinine
dans le sérum et le plasma humains ou les urines.

REF 80107 R1 1 x 125 mL R2 1 x 125 mL R3 1 x 10 mL



Made In France

SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 25 15 50

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr

I : correspond aux modifications significatives

I USAGE PREVU

Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée).

Il permet de mesurer la quantité de créatinine présente dans le sérum et le plasma humains ou les urines pour évaluer son taux.

GENERALITES (1)

L'interconversion de la phosphocréatine et de la créatine est un trait particulier du métabolisme de la contraction musculaire. La phosphocréatine et la créatine sont partiellement dégradés en créatinine. Ainsi, la quantité de créatinine produite chaque jour est fonction de la masse musculaire (et du poids du corps), de l'âge, du sexe, de l'alimentation ou de l'exercice, et varie peu d'un jour à l'autre.

PRINCIPE (4) (5)

Réaction colorimétrique (réaction de Jaffé, sans étape de pré-traitement du spécimen) de la créatinine avec l'acide picrique en milieu alcalin dont la cinétique de développement est mesurée à 490 nm (490-510). Cette méthode a été optimisée (spécificité, rapidité et adaptabilité) par le développement d'une méthode cinétique 2 points.

I REACTIFS

R1 CREATININE	Réactif 1
Phosphate disodique	6,4 mmol/L
Hydroxyde de sodium	150 mmol/L
Attention	

Met Corr.1 : H290 - Peut être corrosif pour les métaux

Skin Irrit.2 : H315 - Provoque une irritation cutanée

Eye Irrit.2 : H319 - Provoque une sévère irritation des yeux

Substance à l'origine de la classification : Sodium Hydroxyde 1- < 2.5%.

P264 : Se laver les mains soigneusement après manipulation,

P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage, P302+P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon, P305+P351+P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer,

P337+P313 : Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin,

P390 : Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

R2 CREATININE	Réactif 2
Dodécylsulfate de sodium	0,75 mmol/L
Acide picrique	4,0 mmol/L
pH 4,0	

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

Le Réactif de travail (R1+R2) est classé comme R1

R3 CREATININE	Standard
----------------------	----------

Se référer aux valeurs spécifiques du lot (urines et sérum) indiquées sur l'étiquette et sur le certificat d'analyse.

EUH210 : Fiche de données de Sécurité (FDS) disponible sur demande
Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE

PRECAUTIONS

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'Etat membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

PREPARATION DES REACTIFS

Mélanger 1 volume de R1 et 1 volume de R2

STABILITE ET CONSERVATION

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 18-25°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

- Avant ouverture :
- jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.
- Après ouverture :
- Transférer la quantité nécessaire, rebouché et stocker à 18-25°C.
 - Les réactifs séparés sont stables au moins 1 an.
- Après reconstitution :
- Le réactif de travail (R1+R2) est stable 30 jours à 2-8°C
 - Rejeter tout réactif trouble ou si l'absorbance est > 0,300 à 490 nm.
 - Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum ou plasma hépariné.

Urines : Collecter durant précipitément (4, 12 ou 24 h).
Diluer 1+19 dans l'eau déminéralisée avant dosage.

La créatinine est stable 24 h à 2-8°C.

LIMITES (1) (2) (3) (5)

L'intervalle de lecture à une incidence sur l'importance des interférences, certaines intervenant rapidement (acétoacétate) d'autres lentement (protéines). La majorité des techniques préconise un intervalle de lecture entre 30 et 150 secondes

Certains antibiotiques interfèrent également avec la détermination de la créatinine selon la méthode de Jaffé.
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. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie

Fabricant	Date de péremption	In vitro diagnostic	Température de conservation	Eau déminéralisée	Risque biologique
Référence Produit	Consulter la notice	Numéro de lot	Stocker à l'abri de la lumière	Suffisant pour	Diluer avec

CRE_220F_IFU_80107_V03_20231121

INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Sérum ou plasma	[µmol / L]	mg / L
Homme	[80-115]	9 à 13
Femme	[53-97]	6 à 11

Urines	[µmol / kg / 24 h]	mg / kg / 24 h
Homme	[124-230]	14 à 26
Femme	[97-177]	11 à 20

DFG (débit de filtration glomérulaire) en mL par minute

Adulte < 40 ans	120 (100 – 140)
Adulte > 40 ans	Diminution physiologique de 1% par an environ.

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

PERFORMANCES

Sur Kenza 240TX, 37°C, 505 nm (2 réactifs séparés) sur spécimens sériques.

Limite de détection : 0,5 mg/L

Domaine de mesure : entre 2,5 et 150 mg/L

Précision :

Intra-série	Taux	Taux	Taux
N = 20	1	2	3
Moy (mg/L)	6,6	16,0	57,5
S.D. mg/L	0,12	0,21	0,92
C.V. %	1,8	1,3	1,6

Inter-série	Taux	Taux	Taux
N = 20	1	2	3
Moy (mg/L)	6,6	16,4	58,1
S.D. mg/L	0,26	0,58	1,33
C.V. %	4,0	3,5	2,3

Sensibilité analytique : approx. 0.018 abs/120 sec pour 10 mg/L

Etude comparative avec réactif du commerce:

Réalisée sur spécimens humains (n=123) entre 4,1 and 136 mg/L

y = 1,1925x – 1,13

r = 0.9879

Interférences :

Turbidité	Interférence négative à partir de 0,220 abs
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Bilirubine totale	Interférence négative à partir de 209 µmol/L
Bilirubine directe	Interférence négative à partir de 24 µmol/L
Hémoglobine	Interférence négative à partir de 133 µmol/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 9,7 g/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

Stabilité à bords : les réactifs séparés sont stables 7 jours

Stabilité de la calibration : 4 jours

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

REFERENCES

- (1) TIETZ N.W. Textbook of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1241-1245.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2006) p. 316-321.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-190 à 3-211
- (4) Fabiny D. L., et Ertlingshausen G., Clin. Chem. (1971), 17, p.696-700
- (5) D. Labbé et al., Ann. Biol. Clin. (1996), 54, p. 285 – 298
- (6) SRM : Standard Reference Material ®

CALIBRATION (6)

- REF 95015 Multicalibrator traçable sur SRM917 pour la détermination quantitative dans le sérum/plasma
- REF 80107 Standard (flacon R3) :
 - Valeur traçable sur SRM914 pour la détermination quantitative dans les urines
 - Valeur traçable sur SRM967 pour la détermination quantitative dans les sérum/plasma

Selon les recommandations ANSM : 1 point zéro, 1 intermédiaire et 1 élevé ont été utilisés pour déterminer ces valeurs.

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

CONTRÔLE DE QUALITE

- REF 95010 EXATROL-N Taux 1
 - REF 95011 EXATROL-P Taux 2
 - REF 95012 Contrôles urinaires (à diluer comme le spécimen avant utilisation)
 - L'ANSM recommande un contrôle bas, moyen et élevé
 - Programme externe de contrôle de la qualité
- Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :
- Au moins un contrôle par série
 - Au moins un contrôle par 24 heures
 - Changement de flacon de réactif
 - Après opérations de maintenance sur l'analyseur

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

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.
2. Si la valeur obtenue reste hors des limites, utiliser un calibrant frais.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

MODE OPERATOIREMéthode manuelle

Porter les réactifs et spécimens à température de mesure.

Réactif de travail (R1+R2)	1000 µL
Spécimen (3)	100 µL

Bien mélanger.
Réaliser le test cinétique à 37°C (température constante).
Après 30 sec., lire l'absorbance A1 et exactement 120 sec. après lire l'absorbance A2 à 490 nm (490-510) contre de l'eau déminéralisée.
Procéder tube par tube en utilisant comme spécimen de l'eau (Blanc), puis le calibrant, les contrôles et enfin les patients.

1. Les performances en technique manuelle et sur urines devront être établies par l'utilisateur.
2. Les applications Kenza et d'autres propositions d'applications sont disponibles sur demande.
3. Calibrant : utiliser le Multicalibrator ou le standard aqueux comme indiqué au § Calibration
4. Spécimen : sérum, plasma, ou urines prédilué (1+19) dans l'eau déminéralisée avant la mesure

CALCUL (1)Sérum ou plasma

$$\text{Concentration} = \frac{(A2 - A1) \text{ Essai} - (A2-A1) \text{ Blanc}}{(A2 - A1) \text{ Calibrant} - (A2-A1) \text{ Blanc}} \times \text{Concentration du calibrant}$$

Urines diluées 1+19 :

Multiplier le résultat par le facteur de dilution 20.

DFG (par calcul de la clairance de la créatinine):

Dosage de la créatinine dans les urines de 24 h et le sérum.	
Clairance corrigée de la créatinine (mL/min) =	$\frac{UCr \times V \times 1.73}{SCr \times SC}$
UCr =	Créatinine urinaire en mg/L ou µmol/L
SCr =	Créatinine sérique en mg/L ou µmol/L
V =	Débit urinaire par minute (Volume des urines de 24 h/1440)
SC =	Surface corporelle en m ²

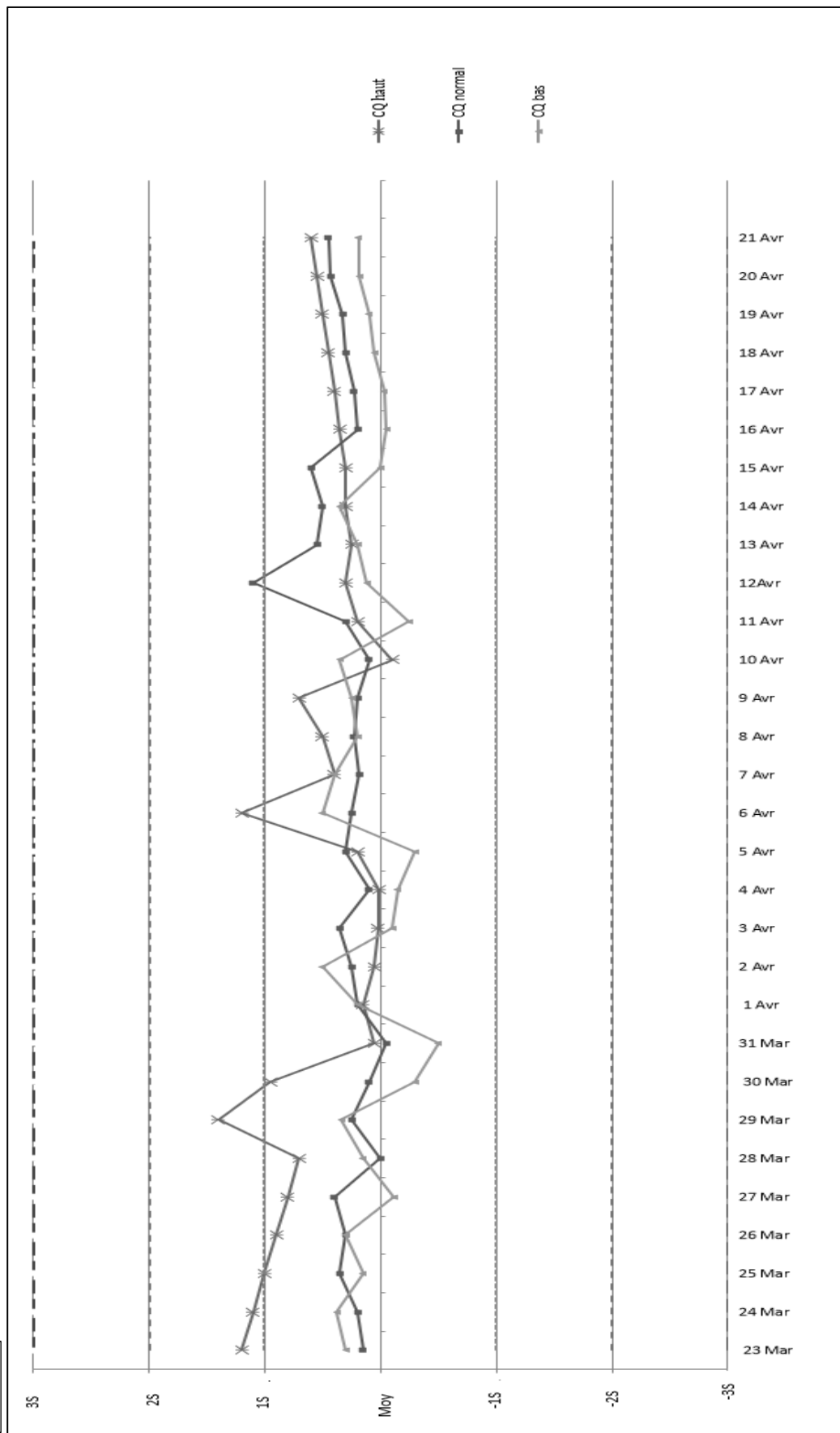
OUDosage de la créatinine sérique uniquement (formule de Cockcroft et Gault)

$$\text{Clairance de la créatinine} = \frac{140 - \text{âge (années)} \times 2.12 \times \text{poids en Kg} \times K}{\text{Créatinine sérique (µmol/L)} \times SC \text{ (m}^2\text{)}}$$

K = 1.00 pour les hommes ou K = 0.85 pour les femmes

DOCUMENT 4

**Diagramme de Levey-Jennings pour le dosage
de la créatinine sérique (avril 2025)**



*Source :
Document
laboratoire*

Bilan mensuel de CIQ pour le dosage de la créatinine

	Nombre de valeurs	Moyenne (mg/L)	Écart-type (mg/L)	CV (%)	CV limite acceptable (%)	Cible (mg/L)	Biais (%)	Biais (%) limite acceptable
CQ haut	30	57,7	0,40	0,7	1,6	54,5	+ 5,9	± 5,5
CQ normal	30	11,2	0,21	1,9	2,1	11,0	+ 6,7	± 6,0
CQ bas	30	6,6	0,25	3,8	4,0	6,6	+ 3,1	± 6,5

Source : document laboratoire.

Extrait de la fiche technique Elecsys Troponin T hs de l'automate Cobas

0891532200V3.0

Elecsys Troponin T hs

cobas®

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative in vitro de la troponine T cardiaque dans le sérum et le plasma humains. Ce test peut être une aide dans le diagnostic différentiel du syndrome coronarien aigu pour identifier une nécrose (infarctus aigu du myocarde (IAM) par ex.).

Caractéristiques

La troponine T (TnT) est un composant du dispositif contractile de la musculature striée. Bien que la fonction de la TnT soit la même dans tous les muscles striés, on trouve dans le cœur une forme de TnT (la TnT cardiaque, d'un poids moléculaire de 39.7 kDa) qui diffère nettement de la TnT des muscles squelettiques. En raison de sa spécificité tissulaire élevée, la cTnT est un marqueur spécifique très sensible des lésions du myocarde.

Le test Elecsys Troponin T hs utilise deux anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre la cTnT humaine^{85,86}. Ces anticorps reconnaissent deux épitopes (séquences d'acides aminés 125-131 et 136-147) situés dans la partie centrale de la cTnT (constituée de 288 acides aminés).

Les calibrateurs Troponin T hs CalSet contiennent de la troponine T cardiaque humaine recombinante (rec. hcTnT). Celle-ci a été isolée à partir de cultures cellulaires provenant de E. coli BL21 contenant un vecteur pET comportant le gène de l'isoforme 3 de la cTnT humaine.

Principe

Méthode « sandwich ». Durée totale du cycle analytique: 18 minutes

- 1ère incubation: 50 µL d'échantillon sont mis en présence d'un anticorps monoclonal spécifique de la troponine T cardiaque biotinylé et d'un anticorps monoclonal spécifique de la troponine T cardiaque marqué au ruthénium.⁸⁷ Il se forme un complexe de type « sandwich ».
- 2ème incubation: Des microparticules recouvertes de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immun est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est aspiré dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell ou ProCell M. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée spécifiquement pour l'analyseur utilisé par une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans l'étiquette code-barres ou le e-code-barres du réactif.

Réalisation du test

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules et la lecture de tous les paramètres spécifiques du test contenus dans le code-barres des réactifs. Si, exceptionnellement, le code-barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.

Amener les réactifs réfrigérés à environ 20 °C et les placer dans le compartiment réactifs de l'appareil thermostaté à 20 °C. Éviter la formation de mousse. L'analyseur gère le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Calibration

Fréquence des calibrations : Effectuer une calibration par lot de réactif en utilisant du réactif frais (le coffret de réactifs ayant été enregistré depuis au maximum 24 heures sur l'analyseur).

La fréquence de calibration peut être réduite après une vérification acceptable de la calibration par le laboratoire.

Une nouvelle calibration est recommandée :

- Après 12 semaines pour un même lot de réactif
- Après 7 jours (pour un même coffret de réactifs resté sur l'analyseur)
- Si nécessaire : Par ex. si les résultats du contrôle de qualité se situent en dehors des limites de confiance définies

Contrôle de qualité

Il est recommandé de réaliser un dosage simple des contrôles au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et après chaque calibration.

Réactifs - composition et concentrations

Le rackpack de réactifs est étiqueté TINTHSX.

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon (bouchon transparent), 12 mL :
Microparticules tapissées de streptavidine, 0.72 mg/mL ; conservateur.
- R1 Ac anti-troponine T-biotine, 1 flacon (bouchon gris), 14 mL :
Anticorps monoclonal (de souris) anti-troponine T cardiaque biotinylé 2.5 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6.0 ; conservateur ; inhibiteurs.
- R2 Ac anti-troponine T-Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon (bouchon noir), 14 mL :
Anticorps monoclonal (de souris) anti-troponine T cardiaque ruthénylé 2.5 mg/L ; tampon phosphate 100 mmol/L, pH 6.0 ; conservateur.

Source : d'après la fiche technique Elecsys Troponin T hs de l'automate Cobas, Medibiolab.

Modalités de reconstitution des calibrants utilisés en immunologie

GESTION DES CALIBRANTS A -20°C (cobas e602)

- ① La reconstitution des calibrants doit impérativement se faire avec une bouteille d'eau distillée neuve, après reconstitution agiter 30 minutes.
- ② Reconstituer un seul flacon de calibrant 1 et calibrant 2
- ③ Tous les calibrants en immunologie sont à reconstituer dans les calsets vials (flacons vides à bouchon).
- ④ Toute boîte entamée doit être identifiée par une croix.
- ⑤ Pour chaque calibrant reconstitué, penser à inscrire sur son portoir :
- le nom du calibrant
 - le numéro de lot
 - la date de reconstitution
 - la durée de stabilité
- ⑥ Veiller à ranger dans le congélateur, les calibrants par ordre alphabétique (cf tableau).

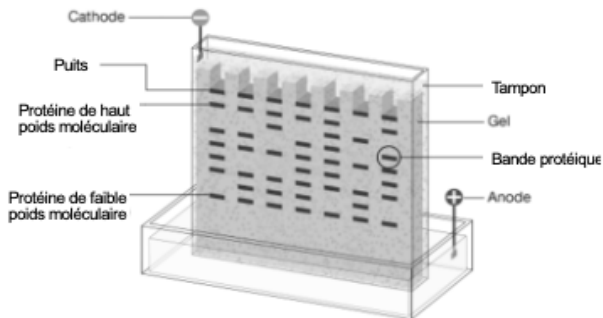
Test (Appellation)	Reconstitution par flacon	Aliquot CAL 1 bouchon blanc	Aliquot CAL 2 Bouchon noir	Conservation après reconstitution	Utilisation	Nombre de boîte nécessaire en stock
ACTH (ACTH)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	1 mois	Usage unique	1
AMH	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	1 mois	Usage unique	1
CKMB (CKMB)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
Cortisol (CORT)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
CSA (Cyclo)	1 ml H ₂ O	3 x 330µL	3 x 330µL	28 jours	Usage unique (stable 30 min sur analyseur)	1
Estradiol (E2 III)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	1 mois	Usage unique	1
Folate (FOL III)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
FSH (FSH)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
Insuline	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
LH (LH II)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
Peptide C	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	1 mois	Usage unique	1
ProBNP (ProBNP)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
Procalcitonine (PCT)	4 ml H ₂ O	4 x 1000µL	4 x 1000µL	3 mois	Usage unique	1
Progestérone (PRG III)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	1 mois	Usage unique	1
Prolactine (PRL II)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
SHBG (SHBG)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	2 mois	Usage unique	1
Troponine T (TNT HS)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1
Vitamine B12 (B12)	1 ml H ₂ O	2 x 500µL	2 x 500µL	3 mois	Usage unique	1

Source : d'après le Pôle de Biologie Clinique – CHU Rouen.

DOCUMENT 8

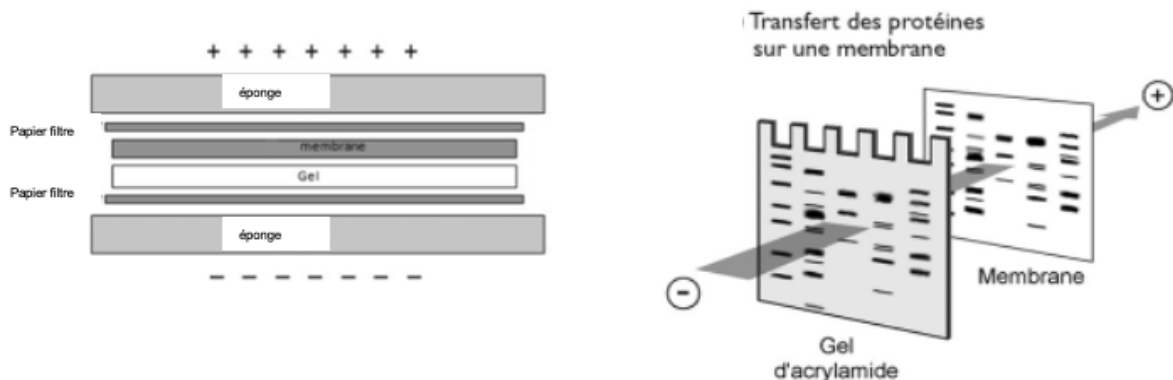
Étapes du mode opératoire de la technique western blot

Étape 1 : séparation des protéines par électrophorèse de type SDS-PAGE (Poly Acrylamide Gel Electrophoresis).

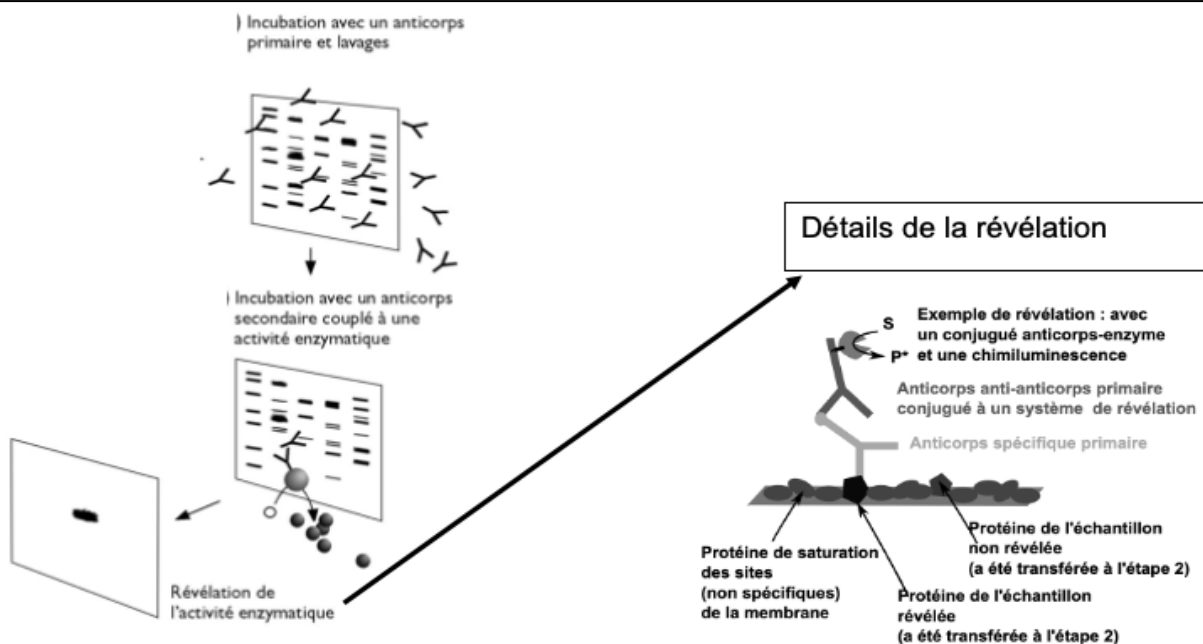


En présence de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate), détergent anionique, et à chaud, les protéines sont dénaturées et chargées négativement avec une densité de charge constante.

Étape 2 : schéma de montage et électro-transfert sur membrane de nitrocellulose depuis le gel d'électrophorèse.



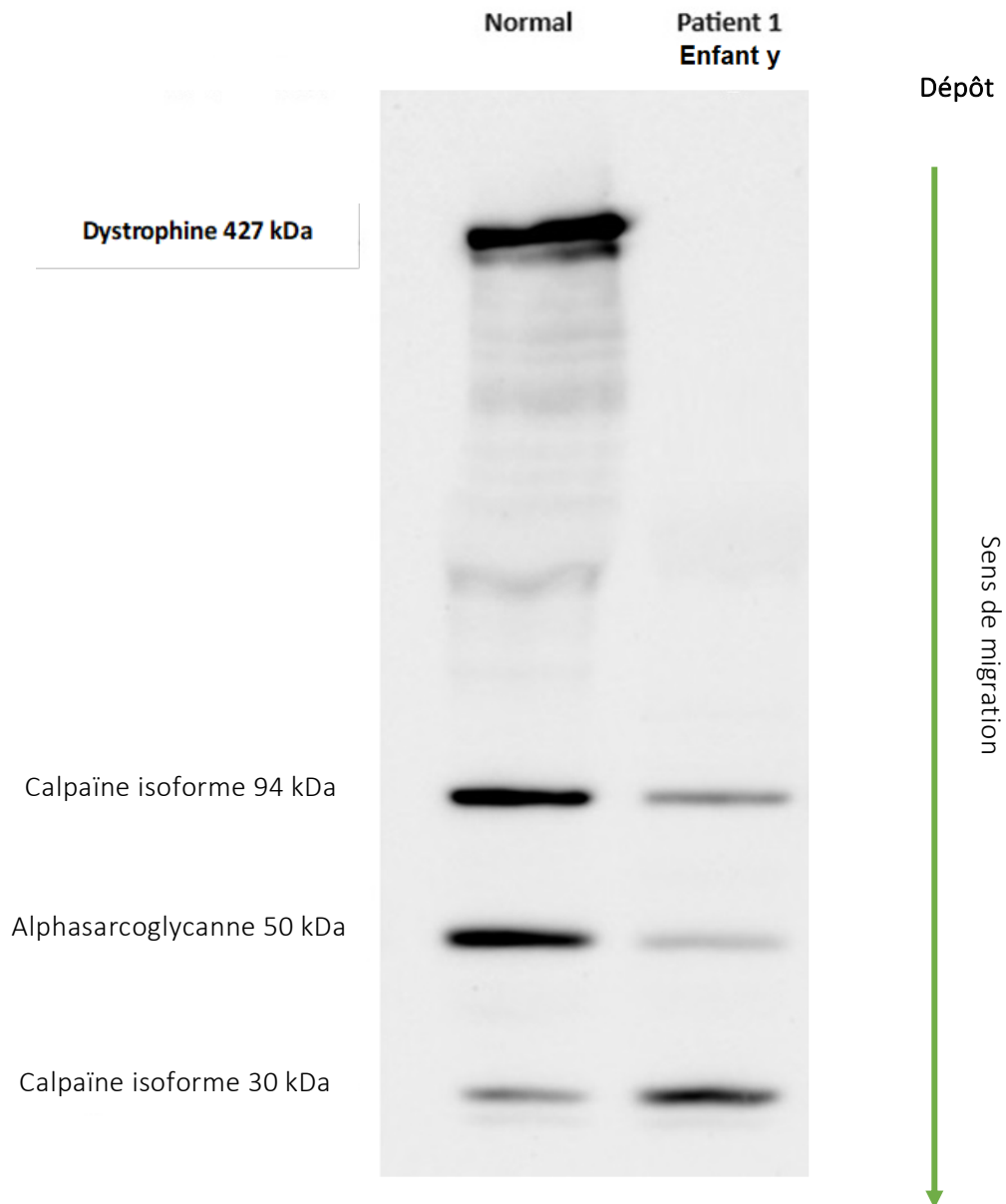
Étape 3 : révélation des protéines d'intérêt.



Source : d'après http://www.perrin33.com/biochanalys/electroph/wblot_1.php et <https://wiki.fablab/sorbonne-universite.fr/BookStack/books/techniques-de-base/page/western-blot>.

Résultats de la technique western blot

La myopathie de Duchenne entraîne une absence totale de dystrophine au niveau des muscles.



Source : d'après le Service de Médecine Génomique des Maladies de système et d'organes - Hôpital Cochin Paris.

Gène *DMD* et mutations

Quelques exemples de mutations du gène *DMD*

Le gène *DMD* codant la dystrophine constitue le plus grand gène humain connu. Il est organisé en 79 exons qui codent une protéine comportant 3685 acides aminés : la dystrophine.

La grande taille du gène *DMD* contribue significativement au taux élevé de mutations spontanées.

Exon	Modification nucléotidique
2	266 del A
3	369 T→G
8	932 C→T
8	983 del A
12	1646 G→T

NB : « del » signifie délétion d'un nucléotide.

« → » signifie substitution d'un nucléotide par un autre.

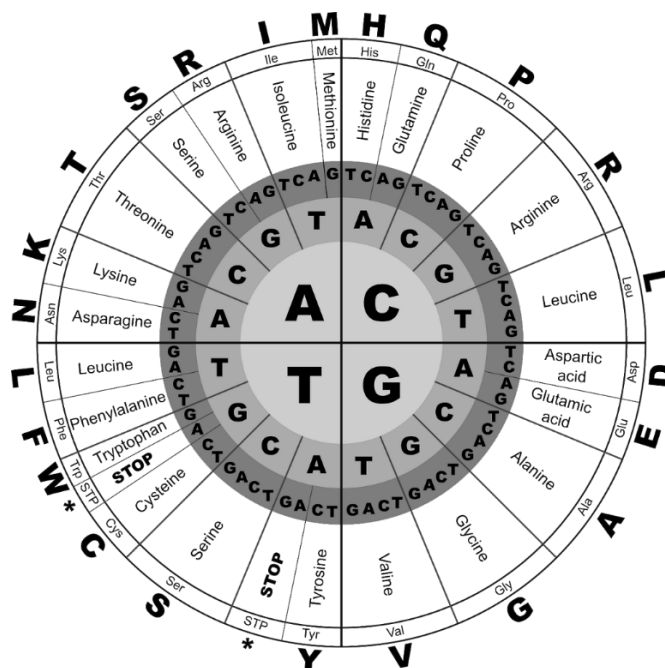
Séquence partielle d'ADN du brin codant de l'allèle sauvage de l'exon 3 du gène *DMD*

Position des nucléotides 360 370 380 390 400

Exon 3 sauvage (5') AGTAGAGACGGGATTACACCATGTTAGTCAGGCTGGTCTCAAACCTCCTCA (3')

Source : d'après <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>
et "Spectrum of small mutations in the dystrophin coding region", Prior et al. (1995)

Code génétique



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

Bilan biologique du prélèvement de l'enfant Y

LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE

IDENTITE NATIONALE DE SANTE (INS)	
Nom de naissance : Y	
1 ^{er} prénom de naissance : N	
Nom utilisé : Y	
Prénom utilisé :	
Date de naissance : 11.11.2021	Sexe : M
Code lieu naissance : 45004	AMILLY

BIOCHIMIE SANGUINE

			Intervalle de référence	Antécédents
CREATININEMIE	* 1,2	mg/L	3,3 à 6,4	
Tech enzym. std IDMS - Roche - (OR) @	soft 11	μmol/L	29 à 56	
	Résultat contrôlé.			
CYSTATINE C	0,73	mg/L	0,44 à 0,94	
Immunoturbidimétrie C6000 Roche Diagnostics (BP)				
TRANSAMINASES (SGOT-ASAT)	* 112	U/L	Inf. à 40	
IFCC - Roche - cf Information 10 - (OR) @				
TRANSAMINASES (SGPT-ALAT)	* 201	U/L	Inf. à 41	
IFCC - Roche - cf Information 10 - (OR) @				
CPK TOTALES	* 4 516	U/L	20 à 247	
IFCC - Roche - (OR) @				
TROPONINE Ths	* 0,149	ng/mL	Inf. à 0,014	
ECL - Roche - @ (OR) @				

Source : d'après MEDIBIOLAB Orléans.

Donnée :

La cystatine C est un marqueur d'insuffisance rénale.

Aucun document ou matériel autorisé.

MALADIES INFECTIEUSES ÉMERGENTES

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit les maladies émergentes comme des maladies qui apparaissent dans une population pour la première fois ou qui existent déjà mais connaissent une augmentation soudaine du nombre de cas ou de leur distribution géographique.

Les laboratoires de biologie médicale sont en première ligne dans le diagnostic de ces maladies.

Quatre exemples de procédures d'identification des agents pathogènes responsables d'infections apparues ou réapparues récemment seront étudiés dans ce sujet.

1. Infections invasives à streptocoque du groupe A

La Haute autorité de santé a décrit une augmentation significative du nombre de cas pédiatriques d'infections invasives à streptocoque de groupe A (SGA) depuis 2022. Cette recrudescence semble liée à la levée des mesures barrières post-CoVID.

Les infections invasives à streptocoque de groupe A sont potentiellement graves et parfois mortelles.

Un patient Z souffre d'une angine avec forte fièvre. Ce patient ayant été en contact avec un enfant atteint d'une infection invasive à streptocoque de groupe A, le médecin traitant réalise un test rapide d'orientation diagnostique (TROD) dont le résultat est positif.

Un prélèvement pharyngé par écouvillonnage est réalisé au laboratoire de biologie médicale pour l'identification de la souche pathogène et la réalisation d'un antibiogramme.

1.1. Test rapide d'orientation diagnostique et mise en culture

Le test rapide d'orientation diagnostique effectué par le médecin repose sur une technique immunochromatographique. Il est indiqué dans la fiche technique que ce test est spécifique à 94,7 % et sensible à 96,8 %.

- Q1.** Préciser la signification de « spécifique à 94,7 % » et « sensible à 96,8 % ». (C1)
- Q2.** Proposer une démarche mise en œuvre par le fournisseur du test pour vérifier la conformité d'un lot. (C2)

Une mise en culture est réalisée sur les géloses BD BBL® ssA et BD BBL® TSAII dans une boîte de Pétri à double compartiment. Le **document 1** présente la composition de ces milieux et les résultats obtenus après 48h d'incubation à 37°C sous 10 % de CO₂. Le streptocoque de groupe A étant sensible à la bacitracine, un disque de cet antibiotique est déposé sur la gélose ssA après ensemencement.

- Q3.** Dans le contexte clinique du patient Z, démontrer l'intérêt d'utiliser les deux milieux de la boîte à double compartiment. (C1)
- Q4.** Interpréter l'ensemble des résultats obtenus. (C3)

1.2. Identification de la souche suspecte

En analyses de routine, l'identification des colonies suspectes se poursuit en utilisant la spectrométrie de masse. Le laboratoire fonctionne ici en mode dégradé ; l'identification implique alors la réalisation d'un groupage antigénique manuel.

Le test utilisé est présenté sur le **document 2**. Les contrôles effectués sont conformes.

- Q5.** Schématiser les résultats obtenus sur la carte dans le cas où un streptocoque de groupe A est identifié. (C3)

1.3. Réalisation d'un antibiogramme

Un antibiogramme standard est réalisé en milieu gélosé par une méthode automatisée présentée dans le **document 3**.

- Q6.** Lister les opérations non automatisées réalisées par le technicien au cours de la procédure. (C3)
- Q7.** Indiquer cinq intérêts de l'automatisation de la procédure de réalisation de l'antibiogramme. (C2)
- Q8.** Identifier un point critique pour les trois entrées suivantes représentées dans le diagramme d'Ishikawa : matériel, matière, main d'œuvre. (C2)

2. Infections respiratoires à *Mycoplasma pneumoniae*

Une augmentation inhabituelle d'infections respiratoires à *Mycoplasma pneumoniae* a été observée en France depuis la fin de l'été 2023, avec notamment une survenue accrue de pneumonies aiguës communautaires, c'est-à-dire en dehors d'un établissement de santé, qui sont attribuées à cette bactérie.

L'assurance maladie rembourse le diagnostic de cette infection à *Mycoplasma pneumoniae* par PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) uniquement à l'hôpital. En conséquence, les laboratoires de ville privilégient le diagnostic sérologique par méthode ELISA.

Une enfant Y de 8 ans, présentant des symptômes respiratoires depuis 7 jours, est adressée par son médecin traitant à un laboratoire de ville. Une recherche d'IgM est réalisée grâce au kit « *Mycoplasma pneumoniae* ELISA » de IBL international. Des extraits de la fiche technique et les résultats d'analyse sont présentés sur le **document 4**.

- Q9.** Préciser la composition et le rôle de chaque contrôle. (C1)
- Q10.** Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans la cupule contrôle positif. (C1)
- Q11.** Analyser les résultats obtenus pour l'enfant Y. (C3)
- Q12.** À l'aide du **document 5**, élaborer une synthèse organisée dans un tableau, afin de comparer les différentes méthodes de diagnostic d'une infection à *Mycoplasma pneumoniae* : PCR, mise en culture, diagnostic sérologique. (C4)

3. Infections à virus Mpox

Le virus Mpox, ou Monkeypox (MPV) appartient à la famille des *Poxviridae*, du genre *Orthopoxvirus*. C'est un virus enveloppé de grande taille dont le génome est composé d'ADN double brin linéaire. Il est très proche de celui de la variole. Il peut provoquer une éruption, faite de vésicules remplies de liquide qui se développent sur la peau ou les muqueuses. Cette éruption peut s'accompagner de fièvre, de maux de tête, des courbatures et d'asthénie.

La transmission interhumaine se fait essentiellement par contact direct avec une personne infectée, avec les lésions cutanées ou les muqueuses internes, plus rarement, à l'occasion d'un contact prolongé en face à face par des gouttelettes respiratoires ou par contact avec des objets que le malade a contaminés.

Depuis mai 2022, des cas d'infection à virus Mpox sont identifiés en France, rendant essentiel un diagnostic très rapide.

3.1. Du prélèvement à l'analyse

Le diagnostic peut être établi sur la base des résultats d'analyses effectuées sur des prélèvements réalisés par écouvillonnage des ulcérations de la peau ou des muqueuses.

Les recommandations concernant la réalisation de ces prélèvements et leur acheminement vers le laboratoire d'un établissement de santé de référence (ESR) sont présentés sur le **document 6**.

Un technicien A prend en charge les prélèvements effectués par le biologiste dans un centre de prélèvement.

Q13. Rédiger une synthèse structurée de l'ensemble des mesures d'hygiène et de sécurité à prendre par le technicien A chargé de la préparation de l'échantillon en vue de son acheminement vers l'établissement de santé de référence (ESR). (C4)

Le technicien B du laboratoire de l'ESR réceptionne un prélèvement effectué chez Madame W, la personne prise en soin. Le tube de transport viral contenant l'écouvillon a été conservé à 4°C. Il est accompagné d'une fiche de prélèvement correctement renseignée.

Q14. Indiquer les tâches effectuées par le technicien B qui réceptionne l'échantillon jusqu'à la prise en charge de celui-ci par le laboratoire NSB3. (C2)

3.2. Identification du virus à l'aide du kit qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus

Le kit qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus, dont des extraits de la fiche technique sont fournis dans le **document 7** pages 14/20 et 15/20, est un test de transcription inverse et de PCR en temps réel (RT-qPCR) destiné à la détection de l'ADN et des ARNm du virus Mpox. Le kit Bio-Speedy® Monkeypox Virus qPCR s'applique aux isolats d'acides nucléiques obtenus à partir d'échantillons de prélèvements de lésions cutanées.

Q15. Expliquer la nécessité d'effectuer l'analyse sur un prélèvement riche en cellules épithéliales. (C2)

Q16. Indiquer les molécules amplifiées détectées par les canaux HEX et FAM. (C1)

Q17. Argumenter l'intérêt de rechercher l'expression du gène codant la RNase P dans le contrôle positif PC et dans l'échantillon de la patiente. (C2)

Q18. Exploiter les résultats présentés dans le **document 8**. (C3)

4. Infections à *Candida auris*

Candida auris fait désormais partie de la liste des agents pathogènes fongiques prioritaires de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Dans sa note du 17 avril 2023, le Centre national de référence des mycoses invasives et Antifongiques rappelle que « bien qu'à ce jour, peu de cas aient été recensés sur notre territoire, une surveillance active de cette espèce émergente est indispensable du fait notamment de sa moindre sensibilité à certains antifongiques, de sa persistance intra-hospitalière et de son potentiel de transmission interhumaine à l'origine d'infections liées aux soins ».

Le dépistage ciblé de *Candida auris* par culture à partir d'écouvillonnages inguinal, axillaire ou nasal est préconisé pour tout patient :

- rapatrié d'une réanimation d'un pays étranger,
- hospitalisé dans les 12 mois précédents dans un pays où une épidémie à *C. auris* est en cours,
- antérieurement colonisé ou infecté par *C. auris*,
- contact d'un cas.

Un écouvillonnage nasal est réalisé afin d'effectuer ce dépistage.

3.1. Identification de *Candida auris*

Un milieu CHROMagar™ Candida Plus est ensemencé à partir d'une pré-culture de 48h de l'échantillon en milieu liquide SSDB (Salt Sabouraud Dulcitol Broth). Les caractéristiques des milieux de culture sont fournies dans le **document 9**.

Q19. Expliquer le rôle de chacun des milieux. (C2)

Les profils de *Candida auris* sont inclus dans les bases de données MALDI-TOF, permettant ainsi leur identification par spectrométrie de masse. Le **document 10** présente une procédure d'identification des levures par le MALDI-TOF MS Bruker Biotyper®.

Q20. Préciser ce que représentent les scores donnés par l'automate. (C1)

Q21. Analyser les résultats présentés dans le **document 10**. (C3)

3.2. Test de sensibilité aux antifongiques

La sensibilité de la souche à deux antifongiques a été testée par la méthode E-test®.

Q22. Analyser les résultats en se référant au **document 11**. (C3)

Q23. Récapituler l'ensemble de la procédure et des résultats du dépistage de *C. auris*. (C4)

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENT	TITRE DU DOCUMENT
DOCUMENT 1	Extrait de la fiche technique des géloses BD BBL [®] ssA et BD BBL [®] TSAII et résultats des cultures chez le patient Z
DOCUMENT 2	Extrait de la fiche technique SLIDEX [®] Strepto Plus
DOCUMENT 3	Extrait de la procédure de réalisation d'un antibiogramme standard en milieu gélosé par méthode automatisée
DOCUMENT 4	Extrait de la fiche technique « <i>Mycoplasma pneumoniae</i> IgM ELISA » de IBL international et résultats d'analyse
DOCUMENT 5	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
DOCUMENT 6	Infection au Mpox virus : Procédure opérationnelle de prélèvement et d'acheminement des échantillons
DOCUMENT 7	Extraits de la fiche technique du kit « qPCR Bio-Speedy [®] Monkeypox Virus »
DOCUMENT 8	Résultats de la RT-qPCR réalisée sur le prélèvement de Madame W
DOCUMENT 9	Milieux d'ensemencement pour la culture de <i>Candida auris</i>
DOCUMENT 10	Identification des isolats de levure par la plateforme MALDI-TOF MS Bruker Biotyper [®]
DOCUMENT 11	Détermination de la sensibilité au fluconazole (FC) et à l'amphotéricine B (AP) d'une souche de <i>C. auris</i> par méthode E-test [®]

**Extrait de la fiche technique des géloses BD BBL® ssA et BD BBL® TSAII
et résultats des cultures chez le patient Z**

Fiche technique :

BBL Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood (ssA)

et

BBL Trypticase Soy Agar with 5 % Sheep Blood (TSA II) – boîte à double
compartment

**Introduction**

La BD BBL GroupA Selective Strep Agar with 5% sheep Blood (ssA) est un milieu sélectif servant à l'isolement et l'identification présomptive des streptocoques du groupe A à partir de cultures d'écouvillonnages de gorge ou d'autres échantillons.

La BD BBL trypticase Soy Agar with 5% Sheep Blood (TSA II) sert à cultiver des microorganismes exigeants et à visualiser des réactions hémolytiques.

Composition des milieux

Formules par litre d'eau purifiée.

BBL ssA		BBL TSAII	
Digestion pancréatique de caséine	14,5 g	Digestion pancréatique de caséine	14,5 g
Digestion pancréatique de semoule de soja	5,0 g	Digestion pancréatique de semoule de soja	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g	Chlorure de sodium	5,0 g
Gélose	14,0 g	Gélose	14,0 g
Facteurs de croissance	1,5 g	Facteurs de croissance	1,5 g
Sang de mouton défibriné	5 %	Sang de mouton défibriné	5 %
Agents sélectifs	40,2 mg		

Source : <https://www.bd.com> ressources.

Résultats : aspect des colonies après mise en culture de l'échantillon du patient Z

	Gélose ssA	Gélose TSAII
Aspect des colonies	Petites colonies grisâtres translucides à opaques entourées d'un halo clair à bords nets. Absence de croissance autour du disque de bacitracine.	Petites colonies translucides ou opaques, blanches à grises entourées d'un halo clair à bords nets. Majoritaires. Très petites colonies grisâtres translucides avec un halo verdâtre à bords irréguliers. Colonies moyennes incolores, translucides.

Extrait de la fiche technique SLIDEX® Strepto Plus**Intérêt**

Les streptocoques beta-hémolytiques possèdent le plus souvent des antigènes spécifiques de groupe qui peuvent être extraits et identifiés avec des anti-sérums. Les réactifs sont constitués de particules de latex sensibilisées par des anticorps dirigés contre les antigènes de groupe. La présence des antigènes correspondants entraîne une agglutination visible des particules de latex. SLIDEX® Strepto Plus est un test d'agglutination de particules de latex pour le groupage des streptocoques A, B, C, D, F et G selon la classification de Lancefield. Le groupage des souches de streptocoques permettra l'orientation du traitement antibiotique.

Principe

Après culture, les colonies isolées de streptocoques sont prélevées et placées dans un tube contenant le réactif d'extraction. L'antigène spécifique du groupe contenu dans la paroi est extrait par une enzyme. L'antigène extrait est identifié par des particules de latex sensibilisées par un anticorps anti-antigène de groupe des streptocoques. Si l'antigène est présent, le réactif latex correspondant est agglutiné. Si l'antigène est absent, le réactif latex reste en suspension homogène.

Composition du coffret

latex Streptococcus groupe A

latex Streptococcus groupe B

latex Streptococcus groupe C

latex Streptococcus groupe D

latex Streptococcus groupe F

latex Streptococcus groupe G

Contrôle positif

Enzyme d'extraction 50 cartes jetables à 6 emplacements réactionnels

6 x 50 bâtonnets jetables

Mode opératoire**Préparation de l'extrait**

Dans un tube à hémolyse, mettre 0,4 ml d'enzyme d'extraction.

À partir de cultures sur milieu solide prélever selon leur taille 3 à 5 colonies caractéristiques et les émulsionner dans 0,4 ml d'enzyme d'extraction.

Mélanger à l'aide d'un agitateur de type Vortex et incuber 10 minutes à 37°C.

Groupage

1. Laisser les réactifs à température ambiante (18-25°C) avant utilisation au moins 10 min.
2. Bien remettre en suspension les réactifs latex. Chasser les bulles retenues dans les compte-gouttes.
3. Noter la référence de la souche sur une carte (en dehors de la zone réactionnelle).
4. Bien homogénéiser les suspensions de latex.
5. Déposer sur une carte 1 goutte de chacun des latex dans les emplacements correspondants. Veiller à tenir les flacons compte-gouttes verticalement lors de la distribution des gouttes.
6. Déposer 15 µl d'extrait à côté de chaque goutte de latex.
7. À l'aide d'un bâtonnet, mélanger les 2 gouttes en utilisant toute la surface de chaque zone réactionnelle.
8. Donner à la carte un mouvement de rotation pendant 2 minutes maximum et lire sous éclairage normal sans utiliser de loupe.

Lecture et interprétation des résultats

Un résultat positif est indiqué par l'apparition d'une agglutination nette avec un réactif latex en 2 minutes maximum.

Un résultat négatif est indiqué par une absence d'agglutination : suspension homogène ou très fine granulation à 2 minutes.

Un résultat est non interprétable si on observe une agglutination dans plusieurs suspensions de latex.

Un résultat est non groupable si on observe une absence d'agglutination avec tous les latex.

Source : *slidex strepto® plus* ; ref 58811. Biomérieux® sa.

**Extrait de la procédure de réalisation d'un antibiogramme standard
en milieu gélifié par méthode automatisée**

Organigramme réalisation d'un antibiogramme automatisé

Préparation de l'inoculum bactérien (inoclic[®]) à partir de la culture sur gélose adaptée
Inoclic[®] : tige métallique qui permet de piquer à travers une colonie puis de la mettre en suspension dans un tube d'eau physiologique de façon à obtenir une suspension calibrée à 0,5 MF.

↓
Ensemencement de l'antibiogramme par l'automate PreLUD[®]

↓
Dépôt des disques d'antibiotiques par l'automate PreLUD[®]

↓
Incubation dans l'étuve intelligente Sirscan2000 automatic[®]

↓
Lecture* de l'antibiogramme par le SIRscan[®]

* **Lecture** de l'antibiogramme.

Les boîtes sont transférées de façon automatique dans l'enceinte de lecture depuis l'étuve intelligente. L'automate dispose d'un système de lecture de boîte (caméra ou scanner) permettant de lire les diamètres d'inhibition.

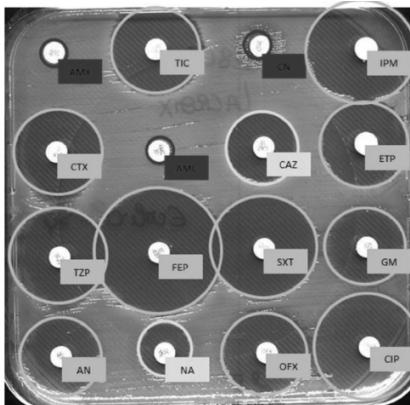
Une fois que la boîte a été lue, l'image est analysée par un logiciel d'analyse d'images permettant à l'opérateur d'obtenir sur écran la photographie de la boîte ainsi que la mesure des diamètres. Si nécessaire, la mesure du diamètre d'inhibition peut être ajustée manuellement.

Le logiciel expert intervient par la suite afin de permettre la catégorisation S (sensible), SFP (sensible à forte posologie) ou R (résistant) et le déclenchement d'aides à la validation biologique (rappel de règles CA-SFM/EUCAST, alertes pour les multirésistants).

Les résultats sont ensuite transmis vers le système de gestion de l'information du laboratoire (SIL).

Source : d'après l'antibiogramme par diffusion F Leysour de Rohello : HAL open science : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas>.

Image type obtenue après lecture par système automatisé



Source : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française : atbg-rapide-nguyen-van.pdf.

**Extrait de la fiche technique « *Mycoplasma pneumoniae* IgM ELISA »
de IBL international et résultats d'analyse**

Principe

La détermination immunoenzymatique des IgM spécifiques est basée sur la technique ELISA (de l'anglais, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Des microplaques sont recouvertes d'antigènes spécifiques de *Mycoplasma pneumoniae* pour lier les anticorps correspondants de l'échantillon. Après le lavage des puits, le conjugué peroxydase de raifort (HRP) est ajouté. Ce conjugué se lie aux anticorps capturés. Dans une deuxième étape de lavage, le conjugué non lié est éliminé. Le complexe immun formé par le conjugué lié est visualisé par l'addition de tétraméthylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu. L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps spécifiques dans l'échantillon. L'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Cela produit un changement du bleu au jaune. L'absorbance à 450/620 nm est lue en utilisant un lecteur de microplaques ELISA.

Schéma de la procédure

	Blanc substrat (A1)	Contrôle négatif	Contrôle Cut-off	Contrôle positif	Échantillon
Contrôle négatif	-	100 µL	-	-	-
Contrôle Cut-off	-	-	100 µL	-	-
Contrôle positif	-	-	-	100 µL	-
Échantillon	-	-	-	-	100 µL
	Bien recouvrir avec la feuille métallisée fournie dans le kit Incuber 1h à 37°C Laver chaque cupule trois fois avec 300 µL de tampon de lavage				
Conjugué	-	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
	Incuber 30 minutes à température ambiante (20-25°C) Ne pas exposer directement à la lumière Laver chaque cupule trois fois avec 300 µL de tampon de lavage				
Solution de substrat TMB	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
	Incuber exactement 15 minutes à température ambiante (20-25°C) dans le noir				
Solution Stop	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
	Réaliser la mesure par spectrophotomètre à 450 nm				

**Extrait de la fiche technique « *Mycoplasma pneumoniae* IgM ELISA »
de IBL international et résultats d'analyse**

Analyse des résultats :

1. Critères de validation technique

Afin de valider le test, les critères suivants doivent être respectés :

Blanc Substrat : Valeur d'absorbance **< 0,100**

Contrôle négatif : Valeur d'absorbance **< 0,200** et **< absorbance cut-off**

Contrôle cut-off : Valeur d'absorbance entre **0,150** et **1,300**

Contrôle positif : Valeur d'absorbance **> absorbance cut-off**

Lorsque ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

2. Calcul des résultats

La valeur seuil correspond à la valeur d'absorbance du contrôle cut-off.

Résultats en unités [U] :

(Valeur (moyenne) d'absorbance de l'échantillon x 10) / Cut-off = [unités = U]

Exemple : $(1,591 \times 10) / 0,43 = 37 \text{ U}$

3. Interprétation des résultats

Cut-off	10 U	-
Positif	> 11 U	Les anticorps dirigés contre l'agent pathogène sont présents. Il ya eu un contact avec l'antigène (pathogène resp. vaccin).
Zone grise	9 – 11 U	Les anticorps dirigés contre l'agent pathogène ne pouvaient pas être détectés clairement. Il est recommandé de répéter le test avec un échantillon frais dans 2 à 4 semaines. Si le résultat est encore dans la zone grise l'échantillon est jugé négatif .
Négatif	< 9 U	L'échantillon ne contient pas d'anticorps contre l'agent pathogène. Un contact préalable avec l'antigène (pathogène resp. vaccin) est peu probable.
Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne devrait pas être établi sur la base du résultat d'une seule analyse. Un diagnostic précis devrait prendre en considération l'histoire clinique, la symptomatologie ainsi que les données sérologiques. Les données sérologiques sont de valeur limitée dans le cas des patients immunodéprimés et des nouveaux-nés.		

Source : d'après IBL International, fiche technique kit ref RE58781.

Résultat du test ELISA réalisé pour la patiente Y de 8 ans :

Test	Blanc substrat	Contrôle négatif	Contrôle Cut-off	Contrôle positif	Échantillon essai 1	Échantillon essai 2
Absorbance (à 450 nm)	0	0,173	0,400	0,865	0,399	0,401

Mycoplasma pneumoniae

Définition

Les mycoplasmes appartiennent à la classe des Mollicutes, ordre des *Mycoplasmatales*, genre *Mycoplasma*. Ce sont des bactéries polymorphes dépourvues de véritable paroi cellulaire. Elles sont plus petites que les bactéries conventionnelles (0,2-2 μm), de forme sphérique ou ovoïde avec une membrane unique à triple feuillet.

Traitement

Les mycoplasmes sont naturellement résistants à certaines familles d'antibiotiques (β -lactamines, rifampicine, polymyxine). Les antibiotiques potentiellement actifs sont les tétracyclines, les fluoroquinolones, les macrolides et apparentés. De très rares cas de résistance aux macrolides ont été décrits. Dans les formes sévères, l'érythromycine est utilisée par voie intraveineuse.

Méthodes de diagnostic et interprétation

Diagnostic direct

La culture, longue (habituellement 2 à 3 semaines) et difficile, est rarement pratiquée. Le mycoplasme peut être mis en évidence dans les prélèvements de gorge, des aspirations nasopharyngées chez l'enfant, des lavages bronchoalvéolaires (formes sévères). La mise en culture, en anaérobiose, doit se faire sans délai. La croissance est lente (2 à 6 semaines) et se traduit par l'apparition de petites colonies d'aspect granuleux.

La PCR en temps réel est une excellente méthode alternative compte tenu de la difficulté de culture.

Diagnostic indirect

Différentes techniques sont utilisées. La réaction de fixation du complément détecte des anticorps dirigés contre un antigène glycolipidique. L'agglutination de particules de latex sensibilisées est plus sensible que la réaction de fixation du complément. Les techniques ELISA ou en chimioluminescence permettent d'analyser séparément les IgG et IgM.

À la suite d'une infection, la réponse anticorps est rapide chez l'enfant et l'adolescent, avec apparition précoce d'IgM dès la première semaine après le début de l'infection et pic à 3-6 semaines, suivie de la montée des IgG environ 2 semaines après. La présence d'IgM témoin d'une primo-infection est souvent observée chez les enfants, plus rarement chez l'adulte.

Source : d'après *précis de biopathologie, analyses médicales spécialisées, Biomnis 2013.*

Infection au Mpox virus : Procédure opérationnelle de prélèvement et d'acheminement des échantillons

Procédure opérationnelle de prélèvement Agent viral de groupe 3 + classification MOT (micro-organismes et toxines) - Maladie à déclaration obligatoire Protéger (milieux de soins et laboratoire d'analyses biologiques) <i>Dès la suspicion – transmission interhumaine directe et indirecte, respiratoire et contact</i> Patient contagieux du début des symptômes jusqu'à guérison complète des lésions cutanéo-muqueuses ▶ Patient : privilégier la prise de rendez-vous, masque chirurgical + hygiène des mains + couvrir les lésions cutanées. ▶ Soignant, préleveur, précautions CONTACT et AIR => masque FFP2, lunettes, gants, protection de la tenue avec surblouse à manches longues. ▶ Traitement des surfaces : désinfectant avec au minimum une virucide à spectre limitée. ▶ Déchets de soins et EPI : filière DASRI. ▶ Aération des locaux régulière (risque minimisé quand patient masqué). Modalités de prélèvement (en cas de suspicion, l'autorisation MOT du laboratoire n'est pas nécessaire) Prélèvement à risque significatif de contamination : ORL et cutanéomuqueux : ▶ PRÉPARER les étiquettes avant de prélever (identification patient et localisation exacte du site de prélèvement). ▶ PRÉLEVER avec un tube de transport viral et 1 écouvillon sécable type <i>Virocult</i> : écouvillonner puis introduire l'écouvillon directement dans le tube contenant du milieu de transport viral. ▶ DÉCONTAMINER la surface des tubes de prélèvement avant le triple emballage (détergent désinfectant avec une virucide à spectre limitée pendant 5 minutes ou javel 0,25 %). ▶ EMBALLER-ACHEMINER vers le laboratoire : Pour les patients suspects/possibles : <i>En intra-site</i> : triple emballage sachet 95 kPa (type <i>diagnobag</i>- contenant un buvard avec fermeture hermétique) avec le bon de demande rempli et mis à l'extérieur du sachet. <i>En inter-sites</i> : triple emballage cartonné catégorie B et transport habituel. Bon de demande rempli et mis à l'extérieur du carton. ▶ STOCKER si besoin à température ambiante sous 24h, ou si possible à 4°C ▶ Contactez l'ARS pour leur signaler votre demande d'analyse <i>Sources : d'après https://coreb.infectiologie.com, Procédure opérationnelle de prélèvement MPXV, version 13 mai 2023.</i>	Logigramme d'acheminement d'un prélèvement pour diagnostic de Mpox vers le laboratoire d'un ESR (Établissement de Santé de Référence) Prévenir le service de virologie par mail → Faire prélèvement pour diagnostic de Mpox → Centre de Biologie-Pathologie Réception des prélèvements extérieurs → Destination Laboratoire de virologie → Prise en charge en laboratoire NSB3 <i>Source : CHU Lille : Fiche technique type pour l'envoi d'un échantillon biologique de recherche des Monkey Pox virus (V1 31/05/2022).</i>
--	--

DOCUMENT 7 (1/2)

Extraits de la fiche technique du kit « qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus »

Contenu du kit

Tableau 1 : Composition du kit.

Composant	Description des composants	Qté (10 µL / réaction)
		25 réactions
2X Prime script Mix	Mélange prêt à l'emploi pour les réactions de RT-PCR.	1x125 µL
MPV Oligo Mix	Amorces et sondes pour : - l'amplification des régions cibles du gène FL3 du MPox et du gène codant la RNase P humaine (contrôle interne, IC) ; - la détection des amplicons des régions cibles du gène FL3 (FAM) et du gène codant la RNase P (HEX).	1x 62,5 µL
NTC	No Template Control : contrôle négatif : eau ultra-pure.	1x1000 µL
PC-MPV	Contrôle positif (PC) : mélange de fragments d'acides nucléiques synthétiques correspondant aux régions cibles des gènes FL3 du virus MPox (MPV) et RNase P humain.	1x100 µL

Principe

La détection à l'aide du kit à partir de prélèvements de lésions cutanées est réalisée par RT-qPCR multiplex directe ciblant la région du gène F3L spécifique du virus Monkeypox et ses transcrits d'ARNm dans des équipements de PCR en temps réel munis de canaux de détection FAM et HEX. Le kit permet d'obtenir des résultats de RT-qPCR en 45 minutes.

L'ensemble des oligonucléotides ciblant le gène codant la RNase P humaine sert de contrôle de l'échantillonnage, de l'extraction des acides nucléiques, de la transcription inverse et de la qPCR.

Le kit contient également des modèles de contrôle négatif et positif pour tester respectivement la contamination et la stabilité du réactif de RT-qPCR.

Protocole d'application de la RT-qPCR

Programmer le thermocycleur comme suit. Préparer les tubes comme indiqué ci-dessous, les fermer et les placer dans le thermocycleur. Lancer l'analyse.

Tableau 2 : Contenu des tubes et programme de la RT-qPCR.

Contenu des tubes		Programme de RT-qPCR			
Réactifs	Volume / réaction	Étape	Nombre de cycles	Température	Durée
2X Prime script Mix	5 µL	Transcription inverse	1	52°C	3 min
		Montée en température	1	95°C	10 sec
		Dénaturation		95°C	1 sec
MPV Oligo Mix	2,5 µL	Hybridation - polymérisation	12 diminution de 1°C par cycle	67 à 56°C	20 sec
		Dénaturation		95°C	1 sec
Échantillon contenant les acides nucléiques	2,5 µL	Hybridation - polymérisation	35	55°C	20 sec
VOLUME RÉACTIONNEL TOTAL	10 µL	Détection (lecture)		FAM/HEX	

Extraits de la fiche technique du kit « qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus »

Interprétation des résultats de l'essai

- Le niveau de seuil doit être réglé sur auto-calculé pour calculer les valeurs de Cq (cycle de quantification).
- La forme des courbes d'amplification obtenues dans les canaux FAM/HEX doit être examinée pour tous les puits réactionnels retournant des valeurs Cq. Toutes les courbes sigmoïdales supérieures au seuil doivent être enregistrées comme "positives". Les courbes non sigmoïdales doivent être enregistrées comme "négatives".
- Pour les échantillons dont la courbe sigmoïdale est inférieure au seuil calculé automatiquement, ajuster manuellement le niveau du seuil à 200 RFU. Si la courbe sigmoïdale dépasse le seuil, enregistrer le Cq comme 35.

Tableau 5 : Résultats attendus pour les contrôles.

Type de contrôle	Nom du contrôle	Résultats attendus et valeurs de Cq	
		RNase P (canal HEX)	F3L (canal FAM)
Contrôle négatif	NTC	Non détecté (pas de Cq)	Non détecté (pas de Cq)
Contrôle positif	PC	Détecté (Cq ≤ 33)	Détecté (Cq ≤ 33)
Contrôle interne	IC	Détecté (Cq ≤ 33) si Cq > 33, lire le Cq de la cible sur le canal FAM	si Cq de la cible < 35, considérer que IC est conforme

Cq : cycle de quantification.

Si l'un des contrôles n'est pas conforme, la série est considérée comme non valide et le test est répété. Si tous les contrôles sont conformes, procéder à l'interprétation des résultats.

Tableau 6 : Interprétation des résultats du patient.

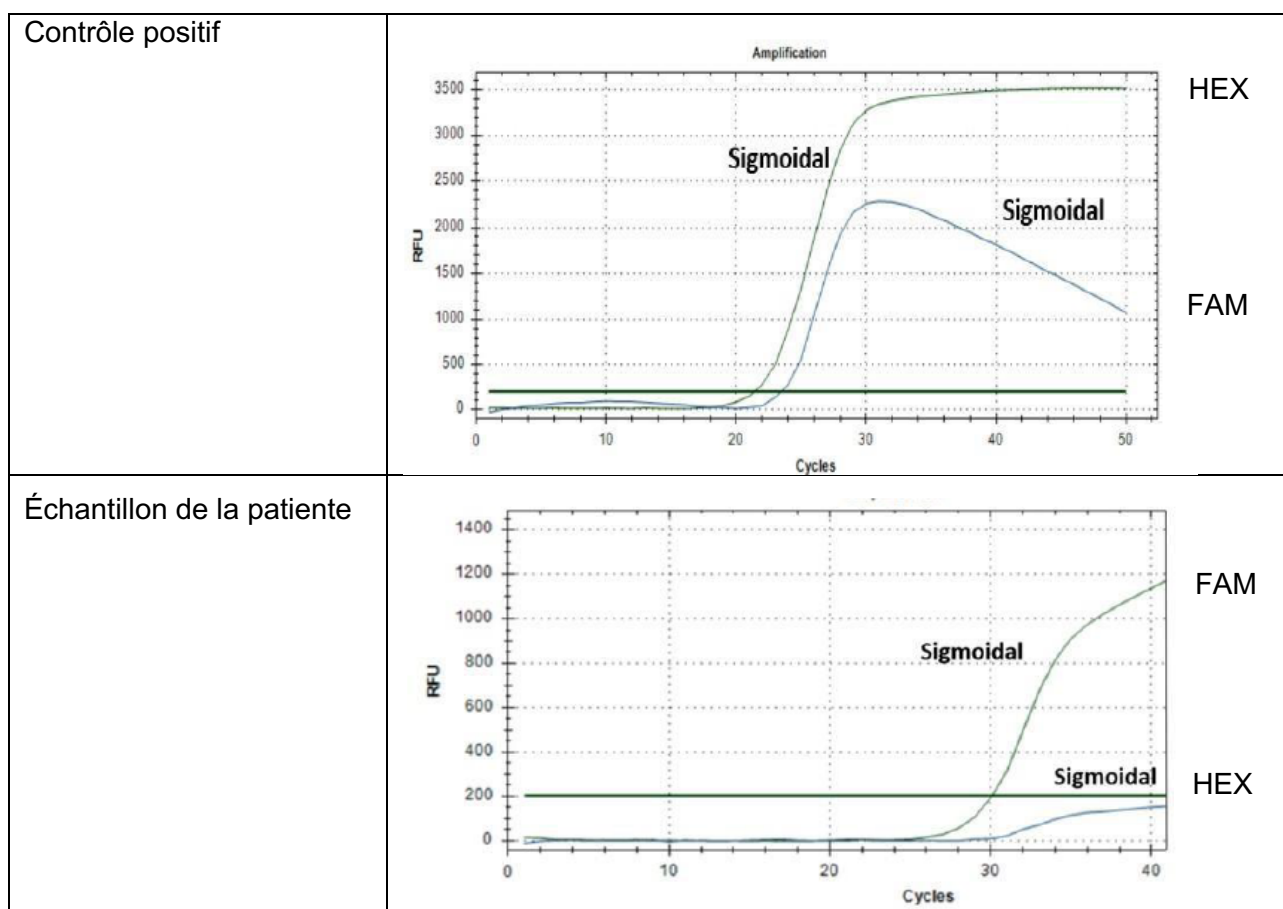
F3L (FAM)	RNase P (HEX)	Interprétation des résultats	Action
Positif (+)	Positif (+)	Les résultats sont valides. L'ADN du virus est détecté.	Indiquer POSITIF .
Positif (+)	Négatif (-)	Les résultats sont valides. L'ADN du virus est détecté.	Indiquer POSITIF .
Négatif (-)	Positif (+)	Les résultats sont valides. L'ADN du virus n'est pas détecté.	Indiquer NÉGATIF
Négatif (-)	Négatif (-)	Les résultats sont invalides. (Problème : échantillonnage / extraction / inhibition)	Refaire l'extraction et la RT-qPCR. Si le résultat est toujours invalide, refaire un prélèvement. Si le nouvel échantillon donne un résultat non valide, indiquer NON VALIDÉ .

Source : d'après Fiche technique qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus, révisée le 2022-06-17.

DOCUMENT 8

Résultats de la RT-qPCR réalisée sur le prélèvement de Madame W

	HEX	FAM
Contrôle négatif (no template control – NTC)	Pas de détection	Pas de détection
Contrôle positif (PC)	Cq = 21	Cq = 23
Échantillon de la patiente	Cq > 33	Cq = 30



Source : courbes : Fiche technique qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus, révisée le 2022-06-17 (QRcode).

Milieux d'ensemencement pour la culture de *Candida auris*

Milieu liquide Sabouraud Salt Dulcitol Broth (SSDB) avec Chloramphénicol et Gentamicine

Peptones de caséine	5 g/L
Hydrolysate de viande	5 g/L
Dulcitol	20 g/L
NaCl	100 g/L
Chloramphénicol	50 mg/L
Gentamicine	50 mg/L
pH 5,6 +/- 0,2	

Source : Fisher scientific.

Milieu CHROMagar™ Candida Plus (extraits)

PRÉLÈVEMENTS ET MANIPULATIONS DES ÉCHANTILLONS

CHROMagar™ Candida Plus peut être utilisé avec les échantillons suivants : écouvillons de peau, de gorge, d'oreilles, vaginaux ainsi que des échantillons de crachats, d'urine et de selles.

L'équipement d'échantillonnage et de transport doit être utilisé conformément aux recommandations de leurs fournisseurs pour la conservation des souches de *Candida*.

INOCULATION

Les échantillons appropriés sont inoculés directement en isolement sur la boîte.

- Si vos boîtes ont été réfrigérées, merci de les laisser revenir à température ambiante avant inoculation.
- Isoler l'échantillon sur la boîte.
- Incuber dans des conditions d'aérobiose à 30-37°C pendant 24-48 h.

INTERPRÉTATION

Lecture et interprétation qualitative des boîtes de Petri.

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>C. albicans</i>	→ vert-bleu
<i>C. auris</i>	→ bleu clair avec halo bleu. Le bleu est visible au dos de la boîte
<i>C. tropicalis</i>	→ bleu métallique avec halo rose
<i>C. krusei</i>	→ rose et duveteuse
<i>C. glabrata</i>	→ mauve
Bactéries	→ majoritairement inhibées

LIMITATIONS ET TESTS COMPLÉMENTAIRES

- L'identification finale doit être confirmée par des tests biochimiques ou par spectrométrie de masse (ex. : MALDI-TOF). Ils peuvent être faits directement depuis les colonies suspectes observées sur le milieu.
- Certaines souches de *C. auris* peuvent présenter des colonies avec un centre rose. Elles gardent leur halo bleu. Le bleu est visible au dos de la boîte.

CONTRÔLE QUALITÉ

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'utilisation du milieu et les normes locales de contrôle qualité.

La bonne préparation du milieu peut être testée grâce à l'isolement des souches ATCC suivantes :

Microorganisme	Apparence des colonies typiques
<i>C. albicans</i> ATCC® 60193	→ vert-bleu
<i>C. auris</i> ATCC® MYA-5001	→ bleu clair avec halo bleu. Le bleu est visible au dos de la boîte
<i>C. tropicalis</i> ATCC® 1369	→ bleu métallique avec halo rose
<i>C. krusei</i> ATCC® 14243	→ rose et duveteuse
<i>C. glabrata</i> ATCC® 2001	→ mauve
<i>E. coli</i> ATCC® 25922	→ inhibé

Source : notice d'utilisation CHROMagar™ Candida Plus, version 5.0.

**Identification des isolats de levure
par la plateforme MALDI-TOF MS Bruker Biotyper®**

Extrait de la procédure MALDI-TOF MS Bruker Biotyper®

Ce document décrit :

- la procédure d'identification des isolats de levure en utilisant la plateforme MALDI-TOF MS Bruker Biotyper® ;
- un protocole d'extraction personnalisé optimisé pour identifier les isolats référencés dans les bases de données Bruker et MicrobeNet.

6. Informations sur la préparation des échantillons/traitement

Une culture pure obtenue après 24 heures d'incubation peut être utilisée pour l'identification de routine des micro-organismes ; les levures à croissance lente (par exemple, *Candida haemulonii*) peuvent nécessiter une croissance de plusieurs jours avant d'être testées.

7. Contrôle de la qualité

Pour chaque série, inclure une culture pure de *Candida auris* et de *Candida parapsilosis*, en double, comme contrôles positifs.

8. Procédure d'extraction et de dépôt

- Effectuer la procédure d'extraction en double.
- Étiqueter deux tubes de microcentrifugation pour chaque échantillon.
- Ajouter 50 µL d'eau de qualité WFI stérile à chaque tube.
- Transférer une anse de micro-organisme dans les deux tubes contenant 50 µL d'eau stérile.
- Ajouter 50 µL d'éthanol à 100 % dans chaque tube.
- Pipeter le liquide de haut en bas 10 fois pour l'homogénéiser.
- Pour chaque tube, déposer un microlitre de la suspension résultante sur une plaque cible réutilisable de 96 points en acier inoxydable.
- Laisser la plaque sécher à l'air pendant deux minutes.
- Recouvrir la tache séchée avec 1 µL d'acide formique à 70 %.
- Laisser sécher à l'air pendant deux minutes.
- Déposer 1 µL de la suspension de BTS (Bacterial test Standard) sur deux autres points de la plaque cible. Effectuer cette étape une fois par semaine.
- Dès que les taches sont sèches, les recouvrir immédiatement de 1 µL de matrice HCCA.
- Sécher à l'air libre pendant deux minutes.
- Dès que les spots sont secs, ils sont prêts à être soumis à l'analyse MALDI-TOF.
- S'assurer que l'emplacement de chaque spécimen sur la plaque cible en acier inoxydable réutilisable de 96 points est enregistré sur une feuille de calcul. Vérifier les numéros de la feuille de calcul pour s'assurer qu'ils correspondent aux numéros d'échantillons originaux.
- Les échantillons sont maintenant prêts pour l'essai MALDI-TOF MS sur la plateforme Bruker Biotyper.
- Les spectres obtenus doivent être interprétés à l'aide de la base de données Bruker.

Résultat de l'analyse de 2 échantillons de levure par la plateforme MALDI-TOF MS Bruker Biotyper®

10. Interprétation des résultats

10.1 Examiner les souches de contrôle.

Au moins un des doublons de chaque souche de contrôle doit générer un résultat ≥ 2 avec une identification correcte.

Si les souches de contrôle génèrent des scores < 2 ou une identification incorrecte, les résultats ne peuvent pas être interprétés et le processus d'extraction/de soumission doit être répété.

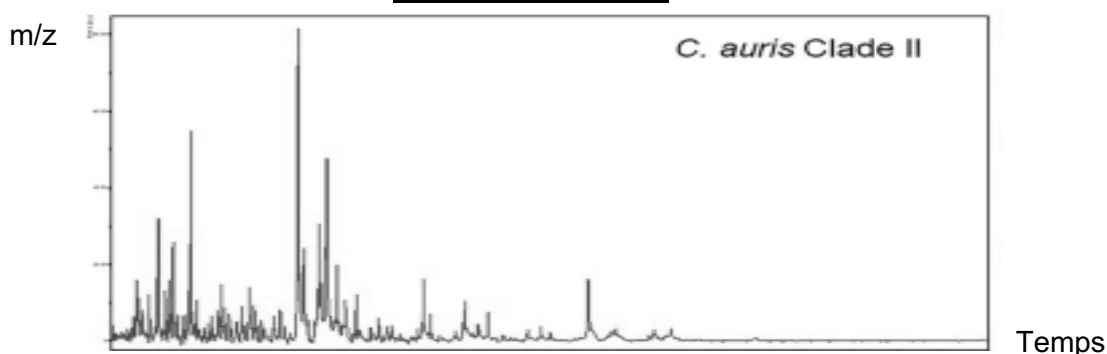
10.2 Les espèces de *Candida* seront identifiées si les scores de correspondance de la base de données sont ≥ 2 pour un ou plusieurs des doublons.

10.3 Si aucune espèce n'est identifiée, répéter le processus d'extraction/de soumission en utilisant une nouvelle sous-culture.

10.4 Si aucune identification n'est possible après la deuxième soumission, l'isolat doit être identifié par une autre méthodologie.

Source : d'après <https://www.cdc.gov/fungal/lab-professionals/yeast-MALDI-TOF.html>, consulté le 06/04/2024.

Exemple de spectre :



Source : https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-2417-3_2.

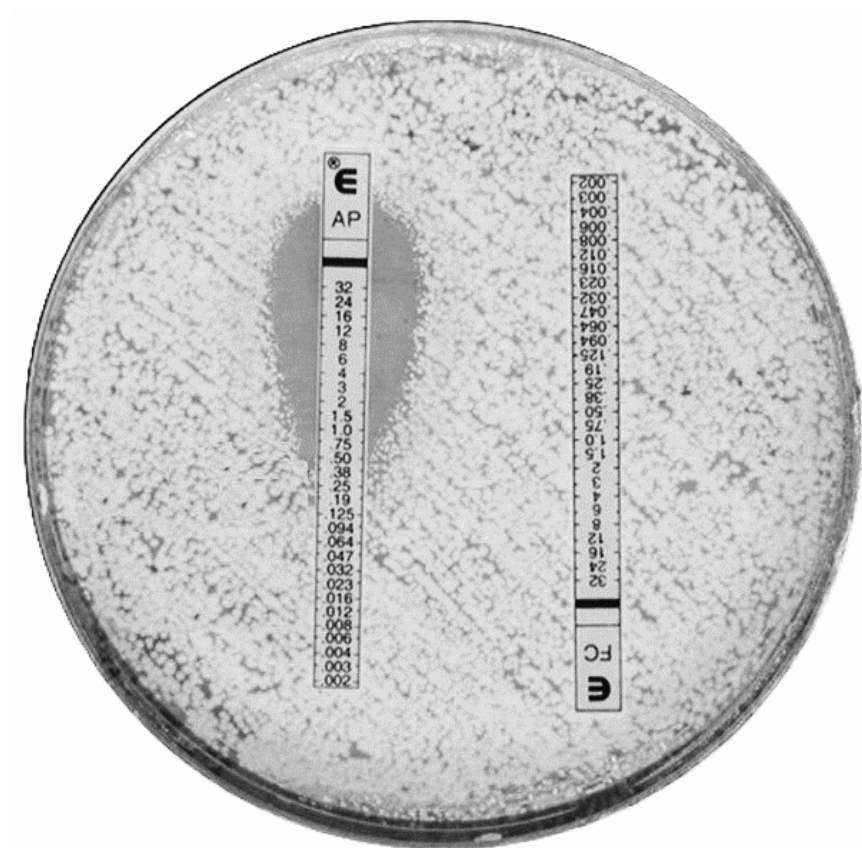
Résultats d'analyse :

	Résultats rendus par le MALDI-TOF	
	Souche identifiée	Score
Contrôles	<i>Candida auris</i>	2,6
		2,4
	<i>Candida parapsilosis</i>	2,2
		2,3
Échantillon	<i>Candida auris</i>	1,9
		2,2

**Détermination de la sensibilité au fluconazole (FC) et à l'amphotéricine B (AP)
d'une souche de *C. auris* par méthode E-test ®**

**Résultats
après 24-48h
d'incubation**

(concentrations en µg/mL)



Source : d'après Johnson, E.M., Borman, A.M. (2022). Susceptibility Testing of *Candida auris* Isolates. In: Lorenz, A. (eds) *Candida auris. Methods in Molecular Biology*, vol 2517. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2417-3_5.

Concentrations critiques :

Tableau II – Seuils provisoires de concentration critique établis par les Centers for Disease Control and Prevention.

Antifongique	Concentration critique (µg/mL)
Fluconazole	32
Voriconazole et autres triazolés de deuxième génération	Utiliser la sensibilité au fluconazole comme substitut pour l'évaluation de la sensibilité aux triazolés de deuxième génération. Les isolats résistants au fluconazole peuvent occasionnellement répondre à d'autres triazolés. La décision de traiter avec un autre triazolé devra être prise au cas par cas.
Amphotéricine B	2
Anidulafungine	4
Caspofungine	2
Micafungine	4

Traduit de : Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Antifungal susceptibility testing and interpretation [Internet]. Atlanta, GA: CDC, 2020. Accessible à : <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html> (Consulté le 06-12-2023).

Source : HYGIÈNES • 2023 - VOLUME XXXI - N° 6, Alanio, *Candida auris* en France en 2023 : épidémiologie nationale, diagnostic, prévention.

E43 Hématologie, Anatomopathologie et Immunologie

2025

Durée : 2 heures Coefficient 2

Aucun document ou matériel autorisé.

GREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Une greffe de cellules souches hématopoïétiques est envisagée chez un patient de 55 ans traité pour une leucémie aigüe myéloïde (LAM).

La prise en charge médicale pour ce type de greffe comprend quatre étapes :

- le bilan pré-greffe ;
- la recherche d'un donneur compatible ;
- le conditionnement du patient receveur avant transfusion des cellules souches hématopoïétiques ;
- le suivi post-greffe du patient receveur.

1. Bilan pré-greffe du receveur

Le bilan pré-greffe du receveur est effectué au cours d'une hospitalisation de quelques jours et comprend de nombreux examens dont un hémogramme et un bilan d'hémostase.

Les **documents 1 et 2** présentent quelques résultats du bilan sanguin pré-greffe du receveur ainsi que des résultats de contrôle qualité associés.

1.1. Hémogramme

Q1. Analyser le résultat de l'hémogramme automatisé du patient receveur. (C3)

Lors de l'observation du frottis du patient au microscope, le technicien identifie des cellules anormales. Une photo d'un leucocyte caractéristique de cette lame est présentée dans le **document 1B**.

Q2. Porter sur la copie les légendes correspondantes aux numéros 1 à 5. (C1)

Q3. Démontrer que les résultats du patient sont en accord avec le diagnostic posé par le médecin. (C4)

1.2. Bilan d'hémostase

Le **document 2A** présente la carte de contrôle obtenue à partir des résultats du contrôle de qualité interne du taux de prothrombine (TP).

Q4. Mener la démarche de validation technique à l'aide des **documents 2B et 2C**. (C2)

Q5. Interpréter les résultats du bilan d'hémostase du patient receveur, présentés dans le **document 1C**. (C3)

2. Recherche d'un donneur compatible

Afin de tester la bio-compatibilité, les lymphocytes du patient receveur et de potentiels donneurs sont typés pour identifier les molécules HLA (Human Leukocyte Antigen) présentes à leur surface.

Q6. Argumenter la nécessité d'une compatibilité HLA entre le donneur et le patient receveur. (C1)

Le **document 3** présente la technique de lymphocytotoxicité (LCT) qui peut être utilisée pour le phénotypage HLA des lymphocytes.

Q7. Schématiser le mécanisme moléculaire conduisant à la lyse des lymphocytes en présence de l'antigène HLA recherché. (C1)

Q8. Préciser les conditions de prélèvement sanguin et de préparation de l'échantillon en vue de réaliser les étapes du phénotypage. (C3)

En parallèle de l'analyse des échantillons du receveur et des donneurs potentiels, le laboratoire participe à une évaluation externe de la qualité.

Le **document 4** présente les résultats obtenus pour le patient receveur et de potentiels donneurs ainsi qu'un résultat de Contrôle National de Qualité (CNQ).

Q9. Expliquer l'intérêt de la réalisation d'un CNQ. (C2)

Q10. Exploiter les résultats obtenus pour le CNQ. (C2)

Les résultats obtenus pour le CNQ sont adressés à l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé). Le laboratoire reçoit en retour un avis conforme de l'ANSM au regard du phénotype attendu pour le CNQ :

HLA-A2, A24 ; HLA-B13, B54 ; HLA-CW3, CW4
HLA-DR12, DR15 ; HLA-DQ3, DQ9 ; HLA-DP1, DP11

Q11. Argumenter les raisons de l'avis conforme. (C2)

D'après les résultats présentés dans le **document 4**, les témoins réalisés pour le patient receveur et les donneurs potentiels sont conformes. La technique est validée.

Q12. Identifier le ou les donneurs compatibles. Argumenter le choix. (C3)

3. Conditionnement du patient avant transfusion des cellules souches hématopoïétiques

La préparation du patient receveur, encore appelée « conditionnement », consiste en une chimiothérapie, le plus souvent associée à un traitement par un sérum anti-lymphocytaire et à une radiothérapie.

Cette étape a pour objectif d'obtenir une aplasie médullaire en détruisant les lymphocytes et les cellules de la moelle osseuse du receveur, dont toutes les cellules cancéreuses.

- Q13.** Citer le principal paramètre de l'hémogramme modifié par le conditionnement du patient et confirmant son efficacité. (C1)

4. Suivi du post-greffe du receveur

Après la transfusion des cellules souches hématopoïétiques (CSH), le patient reste environ 2 à 3 semaines en aplasie avant que les nouvelles cellules souches assurent une hématopoïèse efficace.

Pour limiter le rejet de greffe, le patient est placé sous traitement immunosuppresseur à la ciclosporine A.

- Q14.** Expliquer à l'aide du **document 5**, comment l'effet biologique de la ciclosporine A participe à l'immunosuppression. (C4)

De nombreuses analyses sont réalisées régulièrement afin de suivre la prise de la greffe ou de détecter une éventuelle complication.

Une Numération - Formule Sanguine est notamment réalisée tous les jours afin de suivre l'évolution de l'hémogramme.

- Q15.** Lister les paramètres nécessaires au biologiste pour vérifier le succès de la greffe. (C1)

LISTE DES DOCUMENTS

DOCUMENT	TITRE DU DOCUMENT
DOCUMENT 1	Résultats partiels du bilan pré-greffe du receveur
DOCUMENT 2	Contrôle de qualité pour le taux de prothrombine
DOCUMENT 3	Extrait de la fiche technique de typage HLA par lymphocytotoxicité
DOCUMENT 4	Résultats du typage HLA (CNQ, receveur, donneurs potentiels)
DOCUMENT 5	Réponse immunitaire et immunosuppression

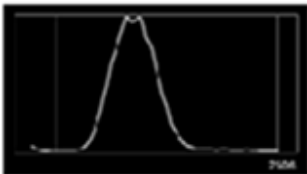
DOCUMENT 1 – RÉSULTATS PARTIELS DU BILAN PRÉ-GREFFE DU RECEVEUR

DOC. 1A – Résultats d'hémogramme sur l'automate Xn-Sysmex

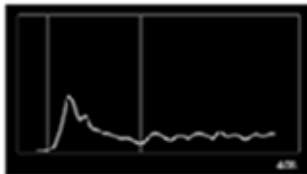
ID prélèvement : 012308220509 Date prélèvement : 23/08/2022 15:42 Service : Hemato-Greffe			
ID patient : 137931459		Date de naissance : 15/06/1967	
CIQ validés			

Analyse	Résultats	Unité	Valeurs de référence
NUMERATION GLOBULAIRE			
GR	1.97	10 ⁶ /μL	4,28 – 6
HB	7.1	g/dL	13 – 18
HT	21.0	%	39 – 53
VGM	106.6	fL	78 – 98
TCMH	36.0	pg	26 – 34
CCMH	33.8	g/dL	31 – 36,5
IDR	18.7	%	<15%
GB	40.40	10 ³ /μL	4 – 11
ERB%	0.3	%	0
ERB#	0.13	10 ³ /μL	0
RET#	14.60	10 ³ /μL	10 – 120
PLQ	18	10 ³ /μL	150 – 400
VPM	9.3	fL	7,4 – 10,6

Aucun agrégat plaquettaire visible



RBC



PLT

Analyse	Résultats	Unité	Valeurs de référence
FORMULE SANGUINE			
NEUT%	10.0	%	
EO%	1.0	%	
BASO%	0.0	%	
LYMPH%	2.0	%	
MONO%	1.0	%	
METAMYELOCYTE %	1.0	%	
MYELOCYTE%	1.0	%	
BLASTE%	84.0	%	
NEUT#	4.04	10 ³ /μL	1,4 – 7,7
EO#	0.40	10 ³ /μL	0,02 – 0,63
BASO#	0.00	10 ³ /μL	0 – 0,11
LYMPH#	0.81	10 ³ /μL	1 – 4,8
MONO#	0.40	10 ³ /μL	0,18 – 1
METAMYELO#	0.40	10 ³ /μL	0
MYELOCYTE#	0.40	10 ³ /μL	0
BLASTE#	33.94	10 ³ /μL	0

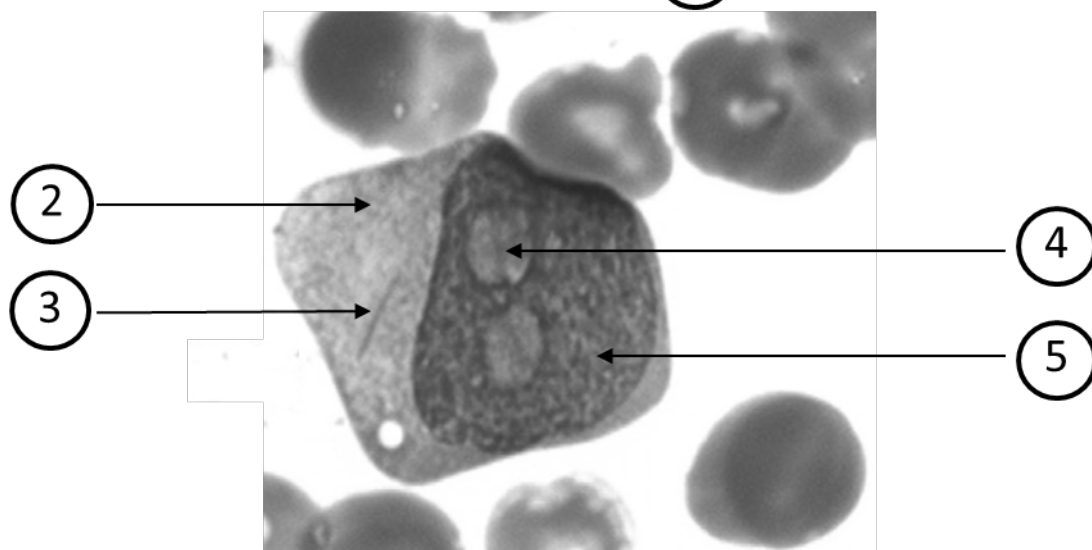
Formule leucocytaire réalisée au microscope automatique (technologie CellaVision)

Source : d'après résultats fournis par un laboratoire.

DOCUMENT 1 – SUITE

DOC. 1B – Photo d'un leucocyte caractéristique du frottis du patient receveur

Nom de la cellule : ①



Source : d'après <http://www.cytologie-sanguine.com>.

DOC. 1C – Résultats du bilan d'hémostase

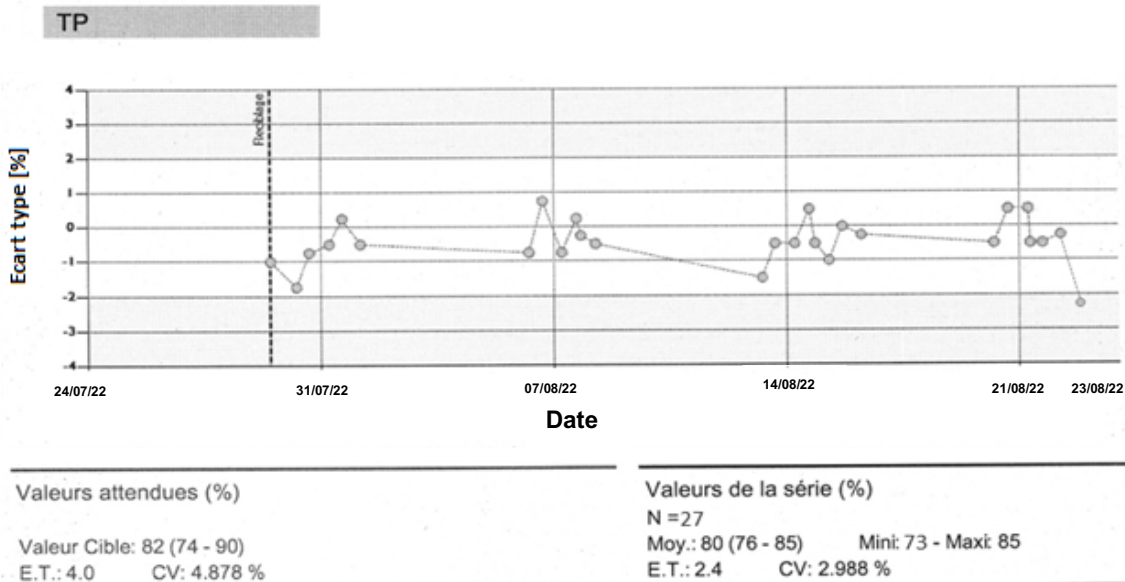
ID prélèvement : 012308220508 Date prélèvement : **23/08/2022 15:42** Service : Hemato-Greffe
 ID patient : 137931459 Date de naissance : 15/06/1967

Analyse	Résultats	Unité	Valeurs de référence
PFA-100 Test d'occlusion plaquettaire	208	sec	< 170
TP	85	%	>70
TCA Témoin TCA Patient	35 32	sec sec	
Ratio P/T	0,91	-	Ratio <1,2
Fibrinogène	2,8	g.L ⁻¹	2 - 4

DOCUMENT 2 – CONTRÔLE DE QUALITÉ POUR LE TAUX DE PROTHROMBINE

DOC. 2A – Carte de contrôle du CIQ du taux de prothrombine (TP)

CONTROLE DE QUALITÉ



Source : d'après résultats fournis par un laboratoire privé.

DOC. 2B – Règles d'interprétation des cartes de contrôle

9.2.1 Règles d'interprétations

Les cartes de contrôles seront exploitées en utilisant des règles permettant d'identifier et d'anticiper des variations aléatoires ou systématiques : c'est le cas des règles de Westgard qui peuvent être utilisées en association sous forme de multi-règles.

Les rejets et alarmes sont gérés par exemple à l'aide des règles de Westgard (Westgard et al., 1981) :

Règles de rejet :

- 1_{3s} : 1 valeur éloignée de plus de 3 écart-types de la moyenne,
- 2_{2s} : 2 valeurs consécutives éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne,
- R_{4s} : 2 valeurs consécutives éloignées l'une de l'autre de plus de 4 écart-types.

Règles d'alarmes :

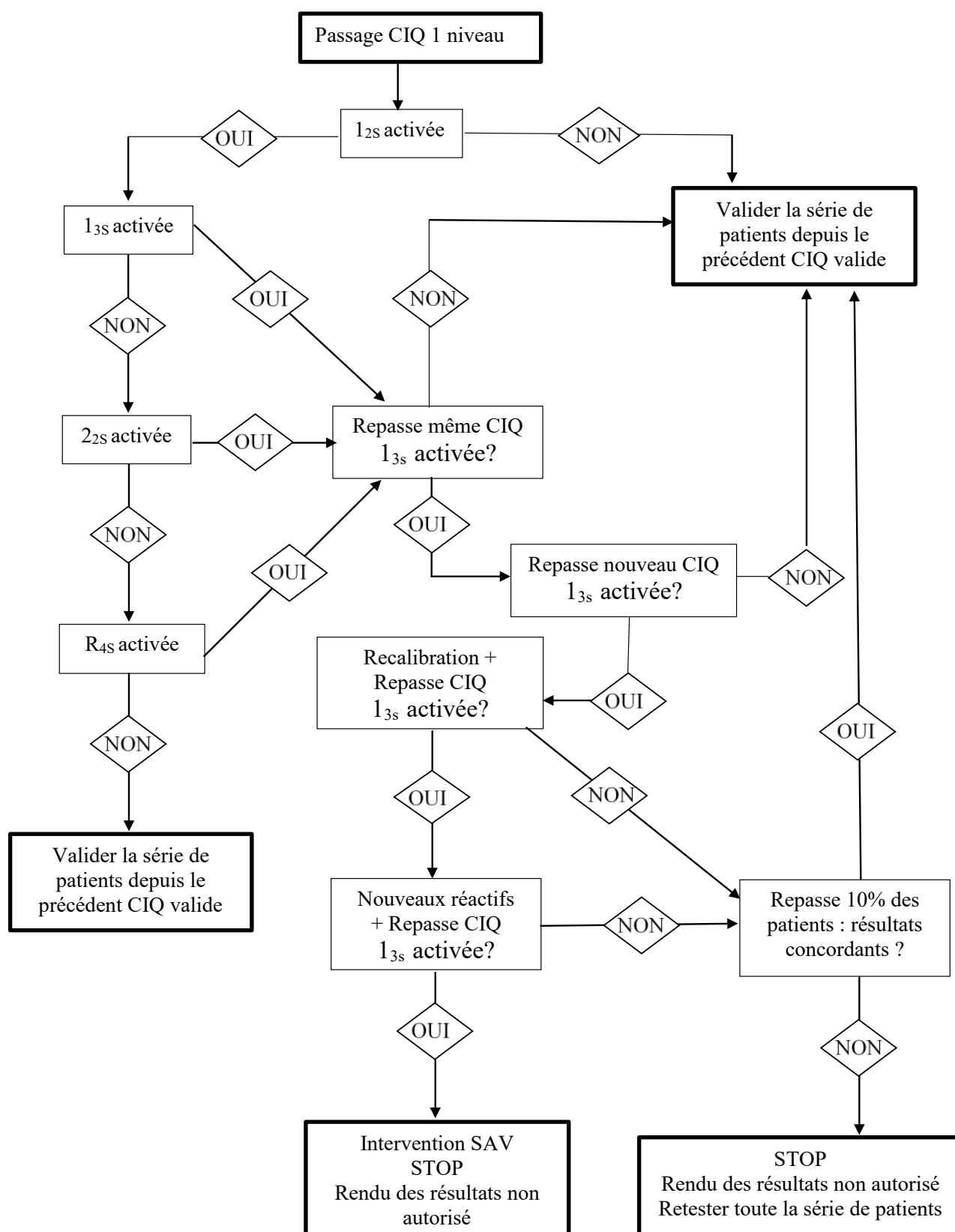
- 1_{2s} : 1 valeur éloignée de plus de 2 écart-types de la moyenne,
- 4_{1s} : 4 valeurs consécutives éloignées de plus de 1 écart-type du même côté de la moyenne,
- 10_x : 10 valeurs consécutives situées du même côté de la moyenne.

Ces règles d'alarmes sont particulièrement intéressantes dans le cas d'intervalles d'acceptation utilisant la moyenne cumulée.

En dehors de ces cas, les résultats sont considérés comme conformes.

Source : extrait SH-GTA-06 du COFRAC.

DOC. 2C – Logigramme décisionnel - Interprétation CIQ



Source : d'après la revue francophone des laboratoires, volume 2019, issue 510, Mars 2019.

DOCUMENT 3 – EXTRAIT DE LA NOTICE

« PLAQUES DE TYPAGE DE TISSUS HLA TERASAKI »

IVD Pour le diagnostic *in vitro*.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les plaques de typage HLA de Classe I et de Classe II contiennent des antisérums ou des anticorps monoclonaux connus, utilisés pour la détermination de la présence des antigènes HLA de Classe I ou de Classe II présents à la surface des lymphocytes T ou B. Tous les puits contiennent chacun 1 µl d'un antisérum spécifique et 5 µl d'huile minérale lourde. Les plaques contiennent chacune un témoin positif et un témoin négatif. Les plaques de typage de Classe II contiennent également des anticorps monoclonaux anti-lymphocyte B et anti-lymphocyte T.

PRINCIPE(S)

Des lymphocytes viables sont incubés avec un anticorps fixant le complément. Si les antigènes reconnus par des anticorps spécifiques sont présents sur les lymphocytes, la portion Fab de l'anticorps se fixe à l'antigène, formant un complexe antigènes-anticorps. Après la formation de ces complexes, le complément de lapin est ajouté. Les C1q et Ca⁺⁺ du complément se fixent à la partie Fc de l'anticorps. Un anticorps IgM ou deux anticorps IgG sont nécessaires à la liaison d'une molécule de C1q. La fixation de C1q avec les complexes antigène-anticorps active la cascade du complément et conduit à la lyse cellulaire. Dans une réaction négative, les lymphocytes sont vivants. Dans une réaction positive, les lymphocytes sont lysés.

RÉACTIFS

A. Identification

Les plaques de typage Terasaki HLA de Classe I et de Classe II contiennent des alloantisérums ou des anticorps monoclonaux de classe I ou de classe II. Les puits contiennent chacun 1 µl d'anticorps ainsi que 5 µl d'huile minérale lourde. Les anticorps monoclonaux proviennent de la souris.

B. Avertissement ou précaution

1. Désignation FDA : IVD
2. Avertissement : Tous les produits à base de sang doivent être manipulés comme des produits potentiellement infectieux. Le matériel source dont est dérivé ce produit s'est révélé négatif aux tests actuels requis par la FDA. Aucune méthode d'analyse actuelle ne garantit contre le risque de transmission d'agents infectieux par les produits dérivés du sang humain.
3. Se reporter à la fiche de sécurité pour de plus amples informations. [...]

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET PRÉPARATION

Dans la mesure où des lymphocytes vivants sont requis pour le typage sérologique, le sang doit en principe être reçu et traité immédiatement après le prélèvement. Le rendement des lymphocytes diminue avec le temps et en cas d'exposition à des températures extrêmes. Le sang doit être recolté dans de l'acide-citratedextrose (ACD) ou de l'héparine de sodium, conservé horizontalement à une température ambiante (entre 20 et 25°C), et traité pendant 48 heures pour optimiser le rendement des lymphocytes T et B.

PROCÉDURE

A. Matériel fourni

1. Plaques de typage HLA de classe I ou de classe II, 72 puits
2. Fiches identifiant la spécificité de chacun des anticorps monoclonaux
3. Complément prêt à l'emploi, composé de sérum de lapin non dilué provenant d'un large pool d'au moins 15 lapins. Le complément fourni ne doit pas être dilué.

B. Matériel nécessaire non fourni

1. Microseringues permettant de répartir de 1 à 5 µl
2. Lamelles couvre-objet ou lamelles de verre Insta-Seal[®] (OLI réf. cat. TIS250U)
3. Réactifs de coloration et fixation :
Pour le test d'exclusion de colorant : Éosine Y (base sodium) et Formaldéhyde [...]

C. Mode d'emploi [...]

- a. Décongeler les plaques entre 20 et 25°C pendant 15 minutes et utiliser dans les 30 minutes de décongélation.
- b. Ajouter 1 µl de suspension de 2 X 10⁶ cellules/ml de lymphocytes T ou B à la plaque de Classe I ou de lymphocytes B à la plaque de Classe II.
- c. Mélanger avec un mélangeur électrostatique ou un fil.
- d. Laisser incubé les plaques à la température ambiante (entre 20 et 25 °C) pendant 30 minutes.
- e. Verser 5 µl de complément de lapin correspondant HLA-ABC ou DR (fourni) dans chacun des puits de la plaque de test. Mélanger avec un mélangeur électrostatique ou une tige d'agitation.
- f. Laisser incubé les plaques à une température ambiante (entre 20 et 25 °C) pendant 1 heure.
- g. Après incubation, colorer et fixer les cellules : 5 µl de colorant éosine, puis deux minutes plus tard 5 µl de formaldéhyde

DOCUMENT 3 – SUITE

- h. Mélanger avec un mélangeur électrostatique ou une baguette d'agitation.
- i. Recouvrir les plaques d'une feuille Terasaki Insta-Seal[®] (OLI réf. cat. TIS250U) ou d'une lamelle de verre. Laisser reposer à une température ambiante (entre 20 et 25°C) pendant 15 minutes pour permettre aux lymphocytes de se déposer. Les plaques d'exclusion de colorant peuvent être conservées entre 2 et 5°C pendant 2 semaines maximum. [...]

RÉSULTATS

A. Saisie des données [...]

B. Analyse des résultats

1. Feuille de schéma de réactivité spécifique au produit, feuille d'analyse spécifique au produit
2. La cellule meurt si, dans un puits testé, un antigène HLA à la surface d'une cellule est reconnu par l'anticorps anti-HLA correspondant.
3. Avec la méthode d'exclusion de colorant, les lymphocytes négatifs (vivants) apparaissent petits, brillants et réfringents. Avec le colorant d'éosine, les lymphocytes positifs (morts) apparaissent foncés et non réfringents. [...]

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Des difficultés d'isolement cellulaire et la contamination de la préparation lymphocytaire par des globules rouges, des levures, des monocytes, des plaquettes ou des granulocytes peuvent entraîner des résultats erronés. Ces derniers peuvent également se produire lorsque les concentrations cellulaires sont supérieures ou inférieures aux niveaux tolérés. [...]

VALEURS ATTENDUES

Évaluation des tests sous microscope

Les réactions sont évaluées en estimant le pourcentage de mort cellulaire. Si le témoin négatif contient des lymphocytes morts, le pourcentage de cellules mortes dans les puits restants doit être ajusté en conséquence. La norme de lecture ASHI est indiquée dans le tableau suivant.

Score	Mort cellulaire	Interprétation
1	0-10 %	Négatif
2	11-20 %	Douteux négatif
4	21-50 %	Légèrement positif
6	51-80 %	Positif
8	81-100 %	Fortement positif
0		Aucune lecture n'est possible

Les fréquences de chaque phénotype pour HLA Classe I et Classe II varient en fonction de la population.[...]

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

A. Réactivité et spécificité

Les réactifs de test ont été caractérisés avec précision par des dépistages sérologiques séquentiels distincts.

B. Contrôle négatif

Le témoin négatif provient d'un homme sain de type sanguin AB et n'a aucune réactivité cytotoxique dans les tests avec des donneurs de lymphocytes choisis au hasard. Ce témoin est utilisé pour déterminer la viabilité des lymphocytes.

C. Contrôle positif

Le contrôle positif est un anticorps monoclonal fortement cytotoxique pour les lymphocytes humains. Ce témoin sert à déterminer la réactivité du complément.

D. Contrôle anti-lymphocytes B

Le témoin anti-lymphocytes B est un anticorps monoclonal fortement cytotoxique aux lymphocytes B et non réactif avec les granulocytes, les lymphocytes T, les plaquettes, les monocytes et les globules rouges. Ce contrôle sert à déterminer la pureté des lymphocytes B.

E. Contrôle anti-lymphocytes T

Le contrôle de lymphocytes anti-T est un anticorps monoclonal fortement cytotoxique aux lymphocytes T et non réactif avec les granulocytes, les lymphocytes B, les plaquettes, les monocytes et les globules rouges. Ce contrôle sert à déterminer la contamination des lymphocytes B en suspension par des lymphocytes T.

Source : TDX-OLI-DMR-PS-0345, Rev 03 - ONE LAMBDA

**DOCUMENT 4 – RÉSULTATS DU TYPAGE HLA
(CNQ, RECEVEUR, DONNEURS POTENTIELS)**

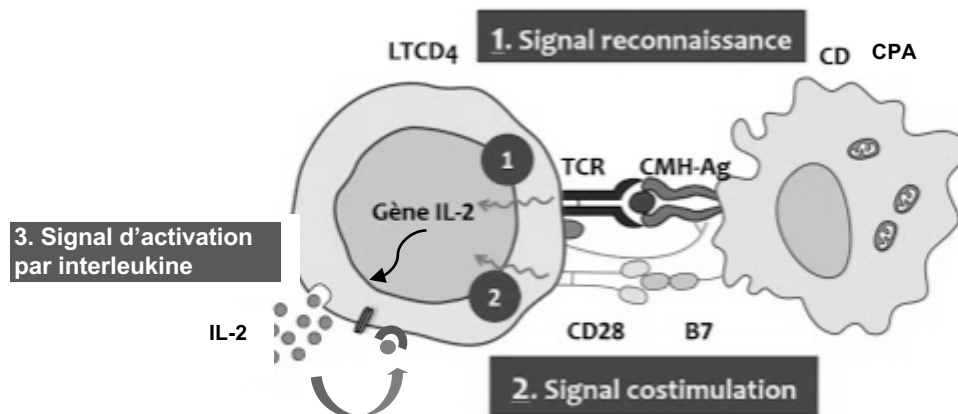
Le pourcentage (%) de cellules lysées est indiqué dans chaque case des plaques de typage. Les cases grisées correspondent aux résultats positifs ou très positifs.

PLAQUE HLA de classe I		Témoin		HLA-A				HLA-B			HLA-C		
		négatif	positif	A1	A2	A24	A80	B13	B27	B54	CW3	CW4	CW6
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CNQ	A	5	88	5	82	90	2	91	7	87	96	87	7
Receveur ID patient: 137931459	B	1	92	92	6	83	9	97	86	6	96	1	86
Donneur 1	C	8	89	84	95	4	2	8	93	85	4	89	92
Donneur 2	D	3	91	8	1	85	99	98	3	95	94	9	82
Donneur 3	E	4	97	84	6	94	2	89	93	4	97	3	99
Donneur 4	F	5	89	90	1	88	5	98	83	5	91	7	88

PLAQUE HLA de classe II		Témoin			HLA-DR			HLA-DQ			HLA-DP		
		négatif	positif	Anti-LB	DR12	DR15	DR52	DQ3	DQ6	DQ9	DP1	DP4	DP11
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CNQ	A	2	91	62	87	90	4	92	8	83	96	3	84
Receveur ID patient: 137931459	B	5	85	88	3	82	95	91	86	1	86	7	90
Donneur 1	C	6	94	95	91	85	6	2	97	89	2	82	85
Donneur 2	D	3	88	74	87	6	84	98	8	89	7	99	87
Donneur 3	E	3	90	80	1	98	85	83	88	5	93	5	84
Donneur 4	F	7	95	79	88	6	99	83	94	7	86	82	9

DOCUMENT 5 – RÉPONSE IMMUNITAIRE ET IMMUNOSUPPRESSION

DOC. 5A – Les trois signaux d'activation de la réponse immunitaire adaptative



Légendes :

CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène
Receptor

LTCD4 : Lymphocyte T CD4

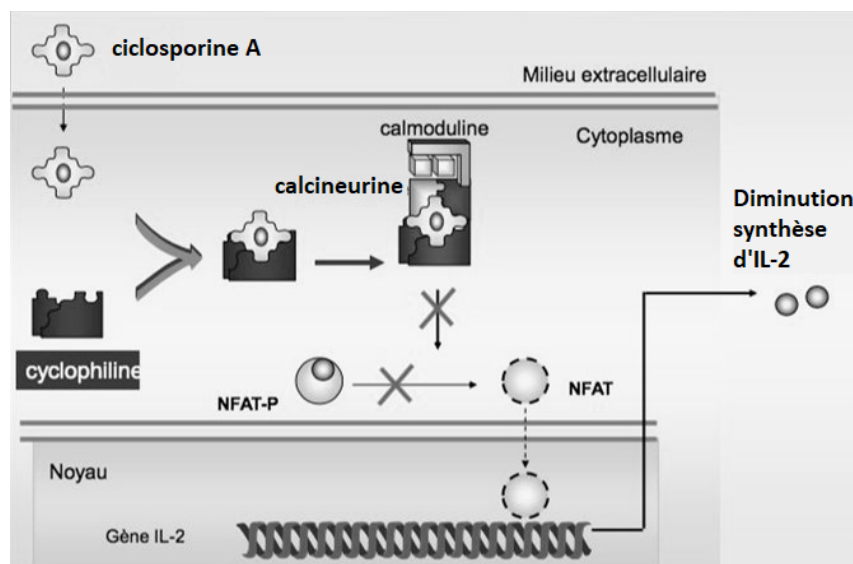
TCR : T-Cell

IL : Interleukine

CMH-Ag : Complexe Majeur d'Histocompatibilité-Antigène

Source (modifiée) : d'après le cours d'immunologie, Dr Yasmine MELLAL, 2018.

DOC. 5B – Mode d'action de la ciclosporine A



Légendes :

NFAT : Nuclear Factor of Activated T-Cells
cells

NFAT-P : Phosphorylated Nuclear Factor of Activated T-

IL : Interleukine

Source : d'après le cours d'immunologie, Pr FERMAND, 2019.

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, par contre, internet nous offre un moyen simple d'obtenir des rectificatifs. Nous vous proposons :

- de signaler les erreurs rencontrées par courriel à : christine.gaufichon-charrier@ac-poitiers.fr
christel.chatelais@ac-toulouse.fr
- de lire les éventuels erratums sur le site UPBM : <http://www.upbm.org>

SESSION 2024

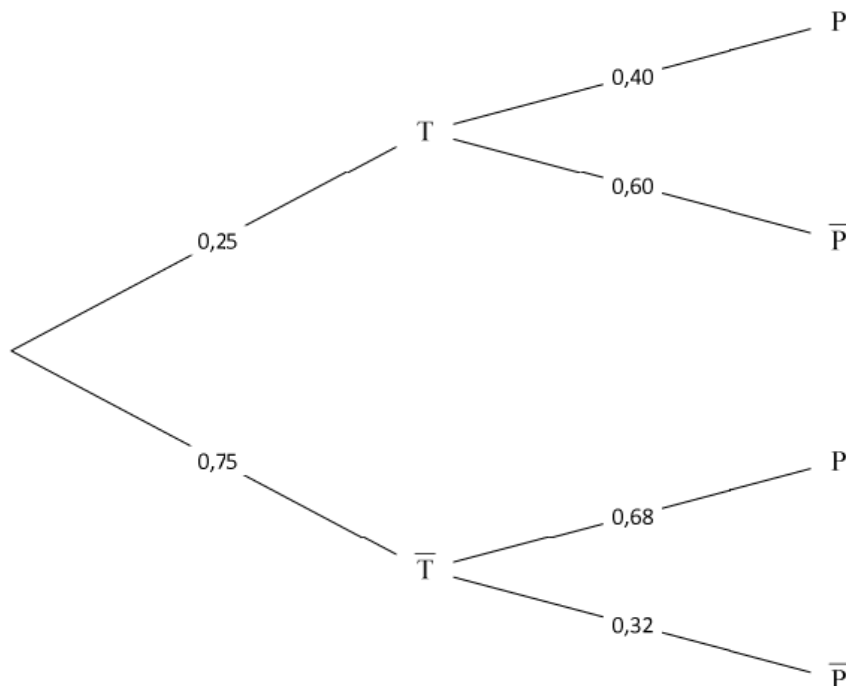
E2 Mathématiques

2024 corrigé

Exercice 1 :

1. Dans une forêt d'Europe, on prélève au hasard une coccinelle.

a. L'arbre modélisant la situation est



b. A : « la coccinelle prélevée a une taille inférieure ou égale à 5 mm et n'a pas un pronotum de type P » Donc $p(A) = p(T \cap \bar{P}) = p(T) \times p_T(\bar{P}) = 0,25 \times 0,60 = 0,15$.

c. B : « la coccinelle prélevée dans la forêt n'a pas un pronotum de type P ».

Donc $p(B) = p(\bar{P})$.

P et $\bar{P}$ forment une partition de l'ensemble des issues. D'après la formule des probabilités totales :

$$p(\bar{P}) = p(T \cap \bar{P}) + p(\bar{T} \cap \bar{P}) = 0,15 + 0,75 \times 0,32 = 0,39.$$

d. La probabilité que la coccinelle prélevée soit de taille inférieure ou égale à 5 mm sachant qu'elle n'a pas un pronotum de type P est $p_{\bar{P}}(T) = \frac{p(T \cap \bar{P})}{p(\bar{P})} = \frac{0,15}{0,39} \approx 0,385$.

2. X est la variable aléatoire qui, à tout échantillon de 10 coccinelles prélevées au hasard dans cette forêt, associe le nombre de coccinelles à deux points dans l'échantillon.

- a. X suit la **loi binomiale** de paramètres $n = 10$ et $p = 0,15$.
- b. La probabilité d'avoir au moins une coccinelle à deux points dans le prélèvement est égale à $p(X \geq 1) = 1 - p(X = 0) = 1 - \binom{10}{0} \times 0,15^0 \times 0,85^{10} \approx 0,803$.
3. La variable aléatoire L qui, à chaque coccinelle de l'élevage associe sa taille en mm suit la loi uniforme sur l'intervalle $[3 ; 6]$.
- a. La probabilité que sa taille soit comprise entre 4 mm et 5 mm est $p(4 \leq L \leq 5) = \frac{5-4}{6-3} = \frac{1}{3}$.
- b. La taille moyenne des coccinelles dans cet élevage est égale à $\frac{3+6}{2} = 4,5$ mm.
4. La variable aléatoire U suit la loi normale d'espérance égale à 35 et d'écart-type égal à 6.
- a. Le nombre moyen d'œufs par ponte d'une coccinelle à deux points est égale à $\mu = 35$ mm.
- b. À l'aide la calculatrice, on obtient $p(31 \leq U \leq 39) \approx 0,495$
- c. On sait que $p(\mu - 2\sigma \leq U \leq \mu + 2\sigma) \approx 0,95$ si U suit la loi normale d'espérance μ et d'écart-type σ .
- Comme $\mu = 35$ et $\sigma = 6$, alors $p(35 - 2 \times 6 \leq U \leq 35 + 2 \times 6) \approx 0,95$.
Si $p(35 - h \leq U \leq 35 + h) \approx 0,95$, alors le nombre entier h cherché est $h = 2 \times 6 = 12$.
- Cela signifie qu'il y a **environ 95% de chances que le nombre d'œufs par ponte d'une coccinelle à deux points soit compris entre $35 - 12 = 23$ et $35 + 12 = 47$** .

5. Michel commande un lot de 80 larves de pucerons.
La durée de vie de ces larves, en jours, suit la loi normale d'espérance $m = 20$ et d'écart-type $\sigma = 3$.

L'intervalle de confiance de la moyenne au seuil de 95% est

$$I_{95} = \left[m - 1,96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; m + 1,96 \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \right] = \left[20 - 1,96 \frac{3}{\sqrt{80}} ; 20 + 1,96 \frac{3}{\sqrt{80}} \right] = [19,34 ; 20,66].$$

On définit le test bilatéral suivant :

- Hypothèse nulle H_0 : « $\mu = 20$ »
- Hypothèse alternative H_1 : « $\mu \neq 20$ »

On énonce alors la règle de décision :

Si la moyenne des durées de vie des larves de l'échantillon appartient à I_{95} alors on accepte H_0 ;

Sinon on rejette H_0 et on accepte H_1 au risque de 5%.

Michel constate que la durée de vie moyenne des larves de son lot n'est que de 18 jours.

Or $18 \notin I_{95} = [19,34 ; 20 ; 66]$.

On rejette H_0 et **on peut remettre en question l'annonce du vendeur au seuil de confiance de 95 %.**

Exercice 2 :

Partie A

1. Les points $(t_i ; y_i)$ du nuage n'étant pas proches d'une même droite, **un ajustement linéaire ne semble pas approprié.**

2. On pose $z_i = \ln(0,152 - y_i)$.

Le tableau ci-dessous donne certaines valeurs de z_i arrondies à 10^{-3} :

a.

$$z_1 = \ln(0,152 - y_1) = \ln(0,152 - 0,108) = \ln(0,044) \approx -3,124$$

$$z_2 = \ln(0,152 - y_2) = \ln(0,152 - 0,121) = \ln(0,031) \approx -3,474$$

- b. À l'aide de la calculatrice, on obtient par la méthode des moindres carrés une équation de la droite d'ajustement du nuage de points $(t_i ; z_i)$:

$$z = -0,435t - 2,656.$$

- c. On sait que $z = -0,44t - 2,7$ et que $z = \ln(0,152 - y)$.

$$\text{Ainsi } \ln(0,152 - y) = -0,44t - 2,7 \Rightarrow 0,152 - y = e^{-0,44t - 2,7}$$

$$\Rightarrow y = 0,152 - e^{-0,44t - 2,7}$$

Remarque : On peut également écrire cette expression sous la forme suivante :

$$y = 0,152 - e^{-0,44t - 2,7} = 0,152 - e^{-0,44t} \times e^{-2,7} \approx 0,152 - 0,067e^{-0,44t}$$

$$\text{car } e^{-2,7} \approx 0,067$$

Partie B

1. La fonction C est définie sur $[0 ; 10]$ par $C(t) = 0,152 - 0,067e^{-0,44t}$.

a.

$$C(2) = 0,152 - 0,067e^{-0,44 \times 2} \approx 0,124.$$

Au bout de deux minutes, la teneur en matières grasses du produit est d'environ 0,124 **soit 12,4%**.

- b. $C'(t)$ en déduire le sens de variation de la fonction C sur $[0 ; 10]$. Ce résultat est-il cohérent avec la situation étudiée ?

$$C'(t) = -0,067 \times (-0,44)e^{-0,44t} = 0,02948e^{-0,44t}.$$

Comme $0,02948 > 0$ et $e^{-0,44t} > 0$ pour tout réel t appartenant à $[0 ; 10]$.

On peut en déduire que $C'(t) > 0$.

Par conséquent, **la fonction C est strictement croissante sur $[0 ; 10]$.**

Ce résultat est cohérent avec la situation étudiée. Comme on injecte en continu de la matière grasse dans le produit pendant sa fabrication, la teneur en matière grasse de ce produit augmente au fil du temps.

2. L'algorithme permet de déterminer le temps à partir duquel la teneur en matière grasse dépasse 0,149.

M	0	1	2	3	4	5	6	7	8
D	0,085	0,109	0,124	0,134	0,140	0,145	0,147	0,149	0,150

L'algorithme affiche la valeur **M = 8**.

3.

- a. On peut résoudre $C(t) = 0,149$ à l'aide de la calculatrice.

On détermine la valeur de T par balayage :

- $C(7) \approx 0,14892$ et $C(8) \approx 0,15002 \Rightarrow 7 < T < 8$
- $C(7) \approx 0,14892$ et $C(7,1) \approx 0,14905 \Rightarrow 7,0 < T < 7,1$
- $C(7,05) \approx 0,14899$ et $C(7,06) \approx 0,149001 \Rightarrow 7,05 < T < 7,06$

Donc **7,06 est une valeur approchée de T au centième.**

- b. La variété M2 est considérée commercialisable par le service qualité dès que sa teneur en matière grasse dépasse 14,9 %, soit 0,149 soit $C(t) > 0,149$. On sait que $t > 7,06$ d'après la question précédente. Afin d'obtenir une variété M2 commercialisable, il faut attendre environ 7,06 minutes soit **7 minutes** et $0,06 \times 60 = 3,6 \approx$ **4 secondes** après le démarrage de la phase de transition.

Partie C

1. $F'(t) = 0,152 + 0,124 \times (-0,5)e^{-0,5t} = 0,152 - 0,062e^{-0,5t} = f(t)$

F est bien une primitive de la fonction f sur l'intervalle $[0 ; 10]$.

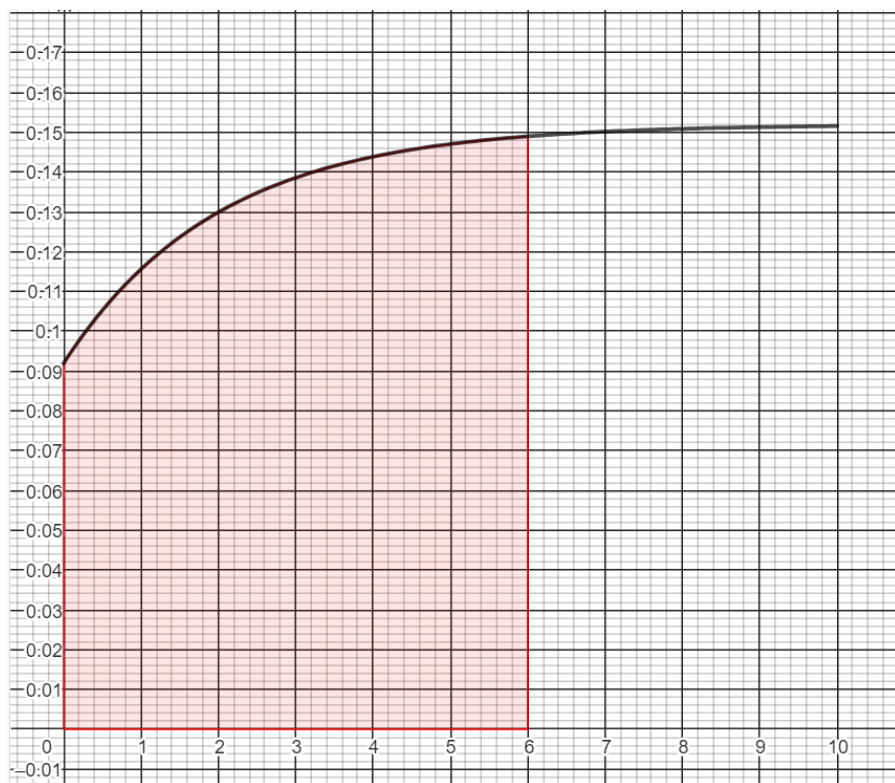
2.

- a. $\int_0^6 f(t)dt = [F(t)]_0^6 = F(6) - F(0) = (0,912 + 0,124e^{-3}) - (0,124) = 0,788 + 0,124e^{-3} \approx$
0,7942.

- b. Domaine dont l'aire est égale à la valeur de cette intégrale

3. $m = \frac{1}{6} \int_0^6 f(t)dt = \frac{1}{6} (0,788 + 0,124e^{-3}) \approx$ **0,132 .**

La teneur **moyenne** en matière grasse du produit est d'environ 0,132 soit **13,2% sur les 6 premières minutes.**



E3 Sciences physiques et chimiques

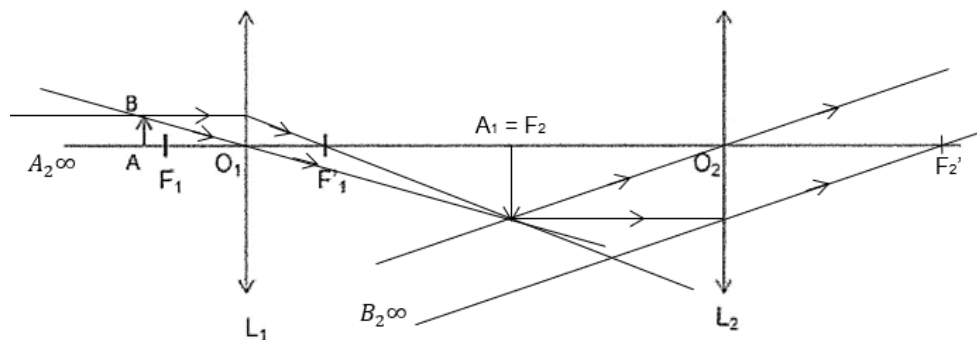
2024 corrigé

Exercice I : Diagnostiquer la maladie

A. Diagnostic direct par microscopie

Q1. L'image définitive A_2B_2 se situe à l'infini.

Q2.



Q3. D'après la relation de conjugaison :

$$\frac{1}{\overline{O_1A_1}} - \frac{1}{\overline{O_1A}} = \frac{1}{\overline{O_1F_1'}} \Leftrightarrow \frac{1}{\overline{O_1A_1}} = \frac{1}{\overline{O_1A}} + \frac{1}{\overline{O_1F_1'}} \Leftrightarrow \frac{1}{\overline{O_1A_1}} = \frac{\overline{O_1F_1'} + \overline{O_1A}}{\overline{O_1A} \times \overline{O_1F_1'}} \Leftrightarrow \overline{O_1A_1} = \frac{\overline{O_1A} \times \overline{O_1F_1'}}{\overline{O_1F_1'} + \overline{O_1A}}$$

$$\overline{O_1A_1} = \frac{-0,41 \times 0,4}{0,4 + (-0,41)} = 16,4 \text{ cm}$$

On sait également que :

$$\Delta = \overline{F_1'F_2} = \overline{F_1'A_1} = \overline{O_1A_1} - \overline{O_1F_1'} = 16,4 - 0,4 = 16,0 \text{ cm}$$

La valeur de l'intervalle optique est de 16,0 cm.

Q4. Le pouvoir de résolution d'un microscope est la distance minimale entre deux points A et B de l'objet dont le microscope donne deux images A_2 et B_2 que l'œil peut séparer.

Q5. Afin de pouvoir observer les *Borrelia*, il faut que le pouvoir de résolution du microscope soit inférieur au diamètre des bactéries, soit $\varepsilon < 0,40 \mu\text{m}$

$$\text{Pour } N = 0,95, \text{ on a } \varepsilon = \frac{0,61 \times 600 \times 10^{-9}}{0,95} = 3,85 \times 10^{-7} \text{ m} = 0,385 \mu\text{m} < 0,40 \mu\text{m}.$$

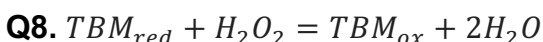
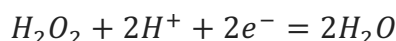
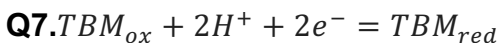
Cet objectif convient donc pour l'observation des *Borrelia*.

$$\text{Pour } N = 0,70, \text{ on a } \varepsilon = \frac{0,61 \times 600 \times 10^{-9}}{0,70} = 5,23 \times 10^{-7} \text{ m} = 0,523 \mu\text{m} > 0,40 \mu\text{m}.$$

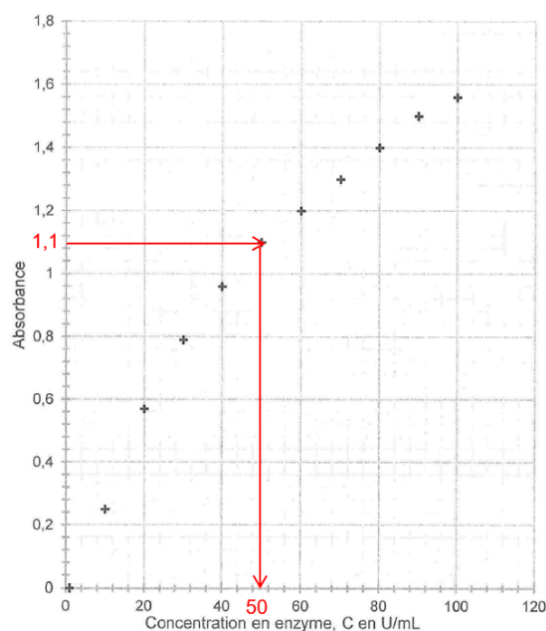
Cet objectif ne convient donc pas pour l'observation des *Borrelia* et les autres non plus.

B. Diagnostic indirect par la méthode ELISA

Q6. Un catalyseur est une espèce qui accélère une transformation chimique et que l'on retrouve non transformée chimiquement en fin de réaction.



Q9. La solution est jaune orangé. Les mesures se font avec la longueur d'onde correspondant à la couleur complémentaire de la solution, soit le bleu-violet, donc aux alentours de 450 nm.



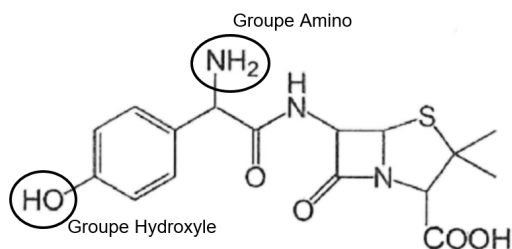
Q10. Par lecture graphique, une absorbance de 1,1 correspond à une concentration en enzyme de 50 U/mL.

Au-delà de 11 U/mL, le test est positif, donc la suspicion de la maladie est fondée.

Exercice II : Soulager la maladie

A. Les antibiotiques

Q11.

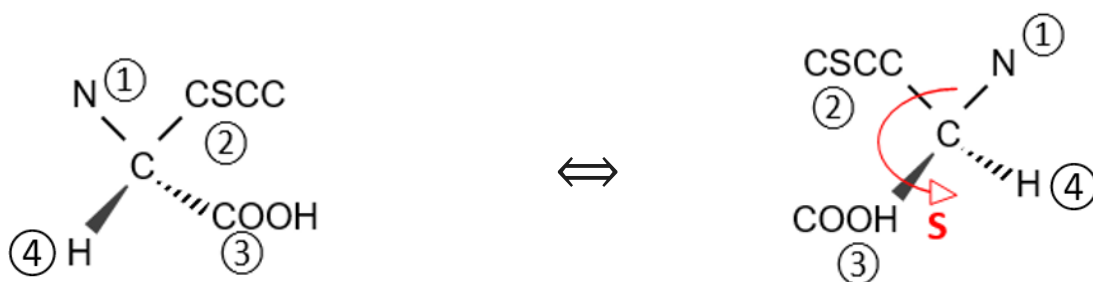


Q12. Les fonctions alcool et amine sont des fonctions polaires et elles possèdent également un doublet non liant et des hydrogènes.

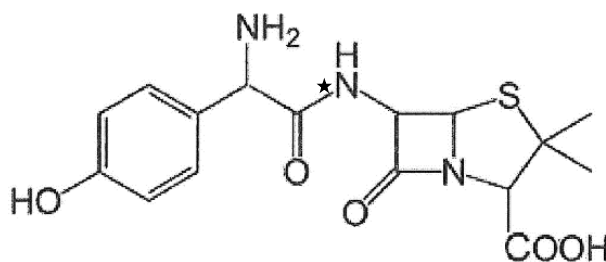
Elles vont donc pouvoir former des liaisons hydrogènes et des liaisons de Van der Waals de type Keesom plus nombreuses.

L'hydrophilie de l'amoxicilline est donc plus forte que celle de la Pénicilline G.

Q13. Les règles de Cahn, Ingold et Prélog permettent de classer les priorités des atomes liés au carbone numéroté 2 sur la figure 6

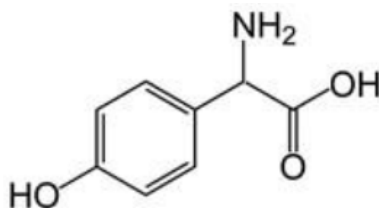


Q14. C'est la présence du groupement amino qui confère à l'amoxicilline un carbone asymétrique supplémentaire. En effet le carbone qui porte ce groupe est relié à quatre substituants différents.

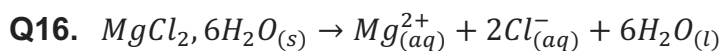


Q15. La liaison peptidique pourra se former entre le groupe amino de la molécule du pharmacophore et le groupe carboxyle d'une autre molécule.

Comme tenu de la formule de l'amoxicilline et de celle de l'acide 6-aminopenicillanique on peut proposer la molécule suivante :



B. Le chlorure de magnésium



Q17.1 $K_R = \frac{1}{[Mg^{2+}]_{eq} \times [HO^-]_{eq}^2} = \frac{1}{K_S}$

Q17.2 $K_R = \frac{1}{K_S} = \frac{1}{5,6 \times 10^{-12}} = 1,8 \times 10^{11}$

$K_R \gg 10^4$ La réaction peut être considéré comme totale.

Q17.3 En plus d'être totale, une réaction support du titrage doit être rapide (et unique).

Q18.

Avant l'équivalence

Ions Présents	Évolution des quantités de matière	Évolution de la conductivité
Mg^{2+}	baissent	Tout se passe comme si l'on remplaçait les ions Mg^{2+} par des ions sodium Na^+ la conductivité molaire de ces derniers étant plus faible que ceux des ions magnésium, la conductivité va diminuer.
Cl^-	restent constants	
HO^-	ne sont pas présents	
Na^+	augmentent	

Après l'équivalence

Ions Présents	Évolution des quantités de matière	Évolution de la conductivité
Mg^{2+}	Ne sont plus présents	Tous les ions magnésium Mg^{2+} ont disparu et l'on continue à apporter des ions hydroxyde HO^- et sodium Na^+ . La conductivité va donc augmenter.
Cl^-	Restent constants	
HO^-	augmentent	
Na^+	augmentent	

Q19.1 $V_{eq} = 18,3 \text{ mL}$

Q19.2 A l'équivalence, les réactifs ont été introduits dans les proportions stœchiométriques, on a donc :

$$n(Mg^{2+}) = \frac{n(HO^-)}{2} = \frac{C \times V_{eq}}{2}$$

$$n(Mg^{2+}) = \frac{1,0 \times 10^{-2} \times 18,3 \times 10^{-3}}{2}$$

$$n(Mg^{2+}) = 9,2 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$[Mg^{2+}]_1 = \frac{n(Mg^{2+})}{V_1} = \frac{9,2 \times 10^{-5}}{100 \times 10^{-3}}$$

$$[Mg^{2+}]_1 = 9,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$$

La solution S_1 est obtenue en diluant 10 fois la solution S_0 donc

$$[Mg^{2+}]_0 = 10 \times [Mg^{2+}]_1$$

$$[Mg^{2+}]_0 = 10 \times 9,2 \times 10^{-4}$$

$$[Mg^{2+}]_0 = 9,2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$$

Q19.3 $n_0(Mg^{2+}) = [Mg^{2+}]_0 \times V_0 = 9,2 \times 10^{-3} \times 100,0 \times 10^{-3} = 9,2 \times 10^{-4} \text{ mol}$

$$n(MgCl_2) = n(Mg^{2+}) = 9,2 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

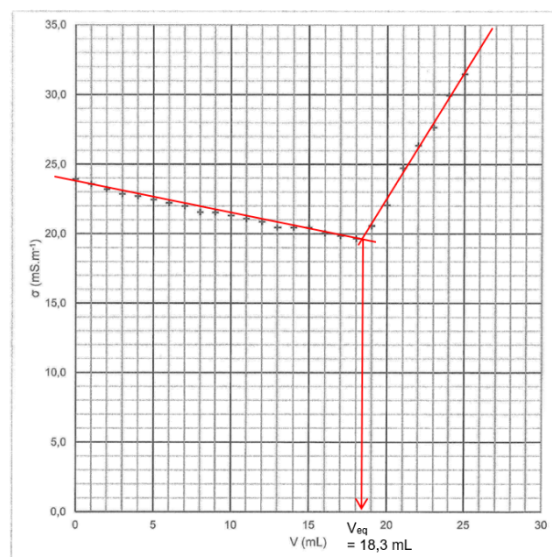
$$m(MgCl_2) = n(MgCl_2) \times M(MgCl_2) = 9,2 \times 10^{-4} \times 203,3$$

$$m(MgCl_2) = 0,186 \text{ g}$$

$$m(sel) = 0,20 \text{ g}$$

$$\% : \frac{m(MgCl_2)}{m(sel)} \times 100 = \frac{0,186}{0,20} \times 100 = 93 \%$$

Le pourcentage de chlorure de magnésium hexahydraté dans la poudre de sel de Nigari est de 93 %, ce qui est bien supérieur aux 90 % annoncé sur l'étiquette.



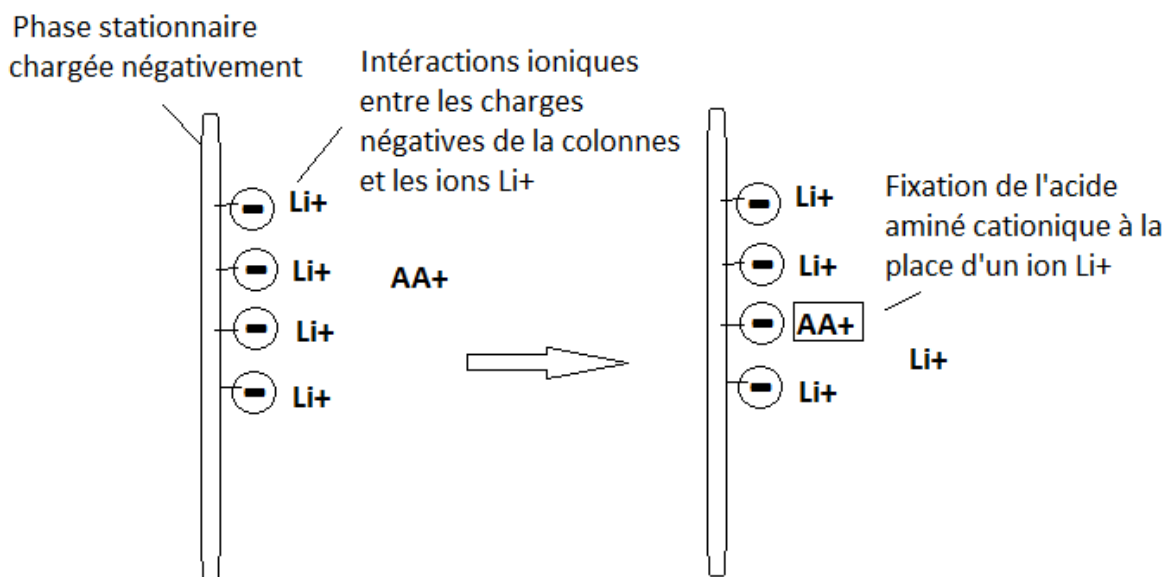
LE DÉPISTAGE NÉONATAL**1. Dépistage néonatal de la leucinose**

Q1 (C3) : En 1 : imprégnation complète, mais plusieurs tâches superposées : non conforme
En 2 : imprégnation incomplète visible au dos du buvard : non conforme
En 3 : imprégnation complète : prélèvement conforme.

Q2 (2) : Si le prélèvement n'est pas conforme :

- Déclarer la non-conformité (NC) et remplir une fiche de non-conformité,
- Analyse non réalisable : il faut renouveler le prélèvement,
- Ou analyse réalisable si le prélèvement est considéré comme précieux selon les procédures du laboratoire ou après consultation du biologiste.

Q3 (C1) : Chromatographie échangeuse de cations



Q4 (C1) : L'augmentation de pH modifie la charge globale des acides aminés (AA) (de moins en moins positive) et l'augmentation de la force ionique entraîne une compétition entre les charges positives : cela entraîne le détachement des AA de la phase stationnaire (élution)

Q5 (C2) Les différentes AA Leucine, Isoleucine, allo-isoleucine et hydroxyproline ont la même masse molaire (131.2 g.mol^{-1}). Le critère de séparation de la spectrométrie de masse étant m/z c'est-à-dire la masse molaire sur la charge et étant donné les structures très proches de ces 4 AA, ceux-ci auront aussi des charges identiques et vont apparaître en un seul pic.

Q6 (C4) : Arguments en faveur des techniques de chromatographie couplées à la spectrométrie de masse : plus spécifique, plus rapide, dérivation non obligatoire, montage maison possible ou encore le fait qu'il n'y ait pas d'analyseur dédié.

Q7 (C2) : Aucune règle n'est transgressée : les contrôles sont conformes et la série est validée.

Q8 (C3) : Analyse des résultats du cas clinique : XLE 286,7 > 250 µmol/L. Selon l'arbre décisionnel, un « retest » est nécessaire.

Q9 (C3) : au second passage, XLE = 272,1 µmol/L donc un résultat inférieur à 300 µmol/L qui selon l'arbre décisionnel conduit à l'arrêt de l'analyse, sans signalement. . Le patient n'est donc pas malade.

2. Dépistage néonatal de la mucoviscidose.

Q10 (C1) : La protéine CFTR est une protéine transmembranaire canal qui expulse des ions chlorure à l'extérieur de la cellule.

Q11 (C1) : les deux mutations les plus courantes sont :

- Mutation F508Δ : la protéine est synthétisée normalement mais elle n'est pas adressée à la membrane plasmique.
- Mutation G542X : absence de synthèse de la protéine fonctionnelle.

Q12 (C1) : Après traduction de la séquence du brin codant (c'est-à-dire le brin non transcrit),

- La séquence sauvage donne Glu-Asn-Ile-Ile-**Phe**-Gly-Val...
- La séquence mutée donne : Glu-Asn-Ile-Ile-Gly-Val... : il y a délétion de 3 nucléotides (codon 508) ce qui entraîne la délétion d'un AA (Phe) en position 508.

Q13 (C1) : La PCR permet d'obtenir le produit d'amplification du gène *CFTR*.

Q14 (C3) : Légende du schéma du document 9 : 1- bande de nitrocellulose ; 2- sonde oligonucléotidique immobilisée ; 3- fragment d'ADN recherché amplifié et couplé à la biotine en 5' ; 4- enzyme (PAL) couplée à la streptavidine, 5- chromogène ; 6- produit coloré (chromophore).

Q15 (C2) : La spécificité stricte d'une réaction positive repose sur :

- La complémentarité stricte entre l'ADN cible et la sonde,
- et une longueur suffisante des séquences complémentaires de la sonde oligonucléotidique et de la séquence amplifiée.

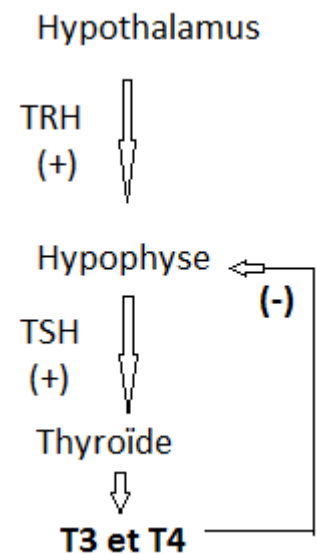
Q16 (C3) : Ligne « Conj control » : contrôle conjugué positif, donc conforme = résultats obtenus validés

On observe une bande colorée au niveau 24 ce qui correspond à une mutation M.G542X. Etant donné l'absence de bande correspondant à la séquence sauvage non mutée W.G542X, la mutation G542 X est homozygote (absence de la bande W et présence de la bande M).

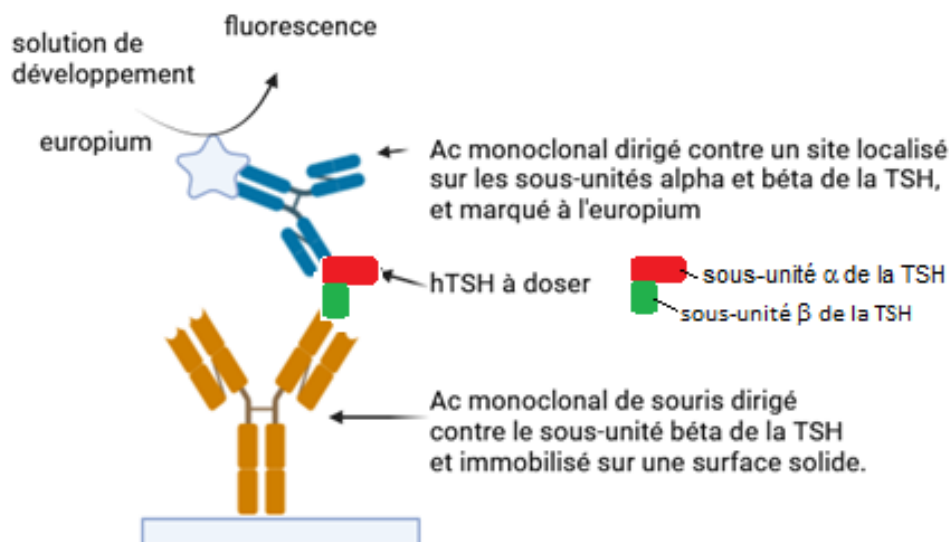
La mucoviscidose étant une maladie génétique récessive, le patient est atteint de la mucoviscidose.

3. Dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale.

Q17 (C4) : Boucle de régulation de la fonction thyroïdienne



Q18 (C3) : Méthode DELFIA pour dosage de la TSH



Avec BioRender

Q19 (C2) : L'emploi de deux contrôles de concentrations différentes permet de valider tout le domaine de mesure en lien avec les concentrations physiologiques et pathologiques

Cela correspond par ailleurs aux recommandations COFRAC avec 2 niveaux de CIQ voire plus. Cela assure la fiabilité des mesures sur toute la gamme de valeurs physiologiques et pathologiques de ce paramètre.

Q20 (C1) : Le laboratoire passe le contrôle plusieurs fois pour déterminer la valeur cible et l'écart-type pendant la période probatoire (CQI passés comme un échantillon patient pendant 10 à 30 jours).

Q21 (C2) : La TSH étant extracellulaire, sa concentration dans le sérum (ou plasma) est plus importante que dans le sang total qui contient le plasma (0.45 L/L) et des cellules (0.55 L/L)

➔ Concentration en TSH sérique = $(1/0.45) \times$ concentration sanguine
= 2.22 x concentration sanguine en $\mu\text{U/mL}$

Q22 (C3) : Les meilleurs CV (c'est-à-dire les plus petits) sont obtenus après une incubation d'une nuit. Avec cette procédure, les résultats seront donc plus fidèles.

Q23 (C3) : Une alarme peut indiquer un problème de fonctionnement de l'automate ou une valeur pathologique. Il faut donc s'assurer que la série est encadrée par des CQI conformes puis repasser l'échantillon pour déterminer s'il s'agissait d'une erreur aléatoire de mesure. Lorsque ces vérifications sont faites, cela peut signifier que le patient est malade et donc il faut prévenir le biologiste.

MALADIES CONTAGIEUSES NÉCESSITANT UNE ÉVICTION SCOLAIRE**1. Infections invasives à Méningocoques****1.1. Diagnostic des infections invasives à méningocoques**

Q.1. *Argumenter la nécessité de rechercher la présence de méningocoques sur un prélèvement de LCR plutôt que sur un prélèvement du rhinopharynx. (C1)*

Seule la présence de *N. meningitidis* dans le LCR permet de diagnostiquer une infection invasive à méningocoque **montrant le passage** d'une situation de portage pharyngé à une bactériémie **puis** passage dans le LCR. Le portage de *Neisseria* commensales dans le rhinopharynx est possible **sans nécessairement induire une méningite et donc ne suffit pas pour le diagnostic.**

Q.2. *Reporter, sur la copie, l'en-tête et le compléter pour permettre l'intégration du document qualité dans le système documentaire du laboratoire. (C1)*

Laboratoire d'analyses de biologie médicale	Processus : Analytique Secteur : Microbiologie	Identification alpha numérique : ANA/Micro/Proc/Méningocoque
	Titre : Procédure de diagnostic des infections invasives à Méningocoques dans le LCR	Version N°1 Date de rédaction :

Q.3. *Indiquer les informations manquantes. (C2)*

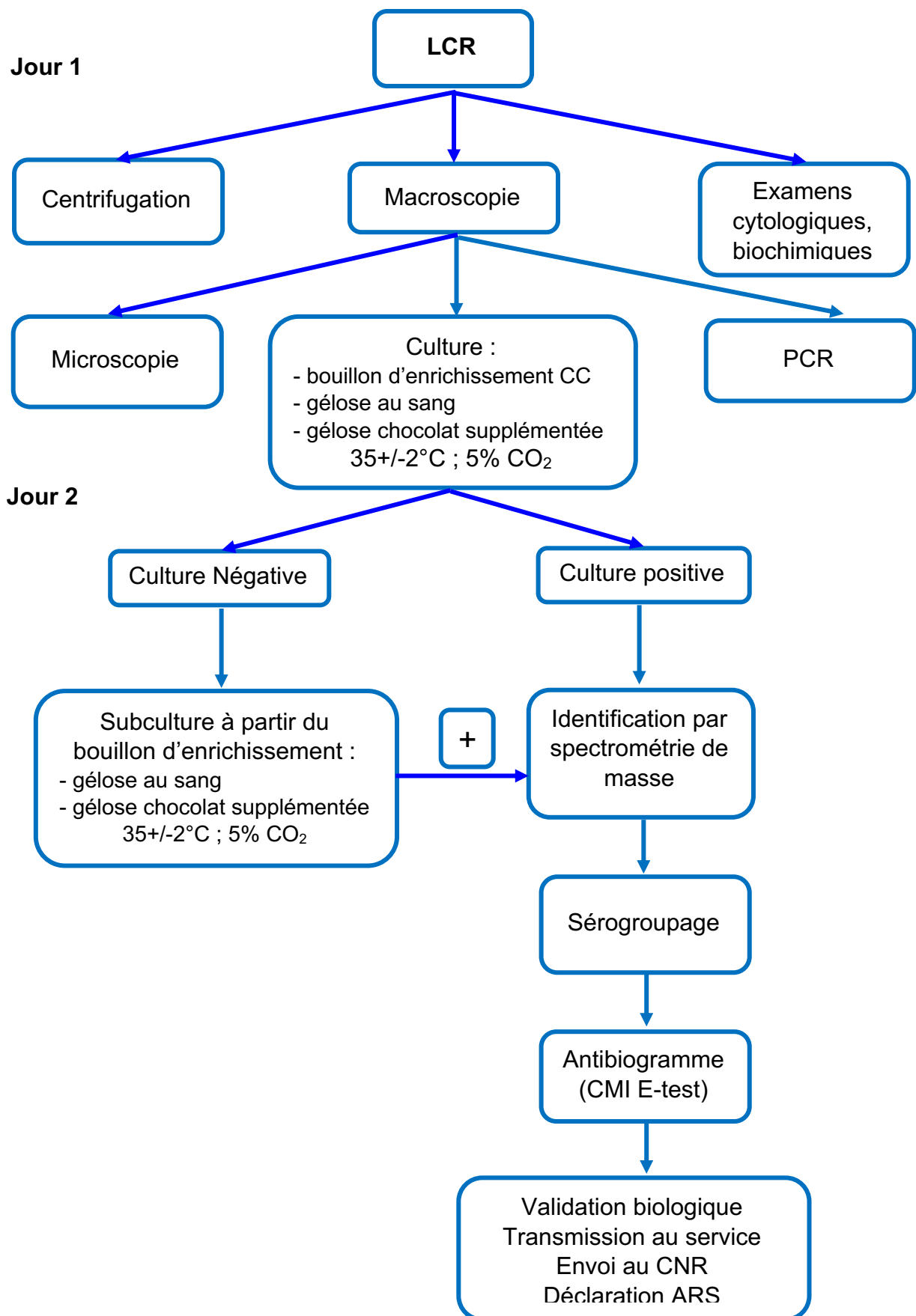
Pied de fiche avec nom du laboratoire ou logo, nom du rédacteur, nom du vérificateur, numéro et le nombre de page, la signature.

Q.4. *Établir, sur la copie, sous forme d'organigramme, la procédure décrivant la démarche de diagnostic des infections invasives à méningocoques. (C4)*

Q.5. *Expliquer l'intérêt d'utiliser trois milieux pour la mise en culture du prélèvement. (C1)*

Le bouillon d'enrichissement Cœur Cerveille permet d'augmenter le nombre de bactéries si prélèvement paucimicrobien et d'obtenir plus de colonies exploitables après subculture.

La gélose au sang et la gélose chocolat supplémentée sont des milieux riches **indispensables** à la culture de bactéries exigeantes comme *N.meningitidis*. La gélose au sang est intéressante pour déterminer le caractère hémolytique et orienter l'identification des *Streptococcus pneumoniae*.



Q.6. Analyser les résultats de concentration minimale inhibitrice (CMI).
Conclure sur la sensibilité aux antibiotiques testés. (C3)

Antibiotique	CMI mg/L	c	C	CMI /c, C	Catégorie
Amoxicilline	0,094	0,125	0,125	CMI<c	Sensible
Céftriaxone	0,094	0,125	0,125	CMI<c	Sensible
Rifampicine	0,19	0,25	0,25	CMI<c	Sensible

Q.7. Analyser les résultats obtenus pour chacun des antibiotiques testés. (C3)

Antibiotique	CMI cible mg/L	Limites acceptables	CMI lues en mg/L	Comparaison	Validation
Amoxicilline	0,06	0,03-0,125	0,023	CMI<limites	Non
Céfotaxime	0,06	0,03-0,125	0,094	CMI dans limites	Oui
Rifampicine	0,03	0,016-0,06	0,023	CMI dans limites	Oui

Proposer les suites immédiates à donner par le technicien. (C2)
Résultats non conformes à enregistrer dans le SIL et à signaler au biologiste.

Q.8. Causes possibles de non-conformité : (C2)

- Péremption ou mauvaise conservation des bandelettes E test, du milieu de culture : vérifier les lots et la métrologie,
- Qualité du dépôt de la bandelette sur la gélose : vérifier la formation du personnel,
- Suspension bactérienne avec une mauvaise densité (différente de 0,5MF) : vérifier la formation du personnel, la métrologie du densitomètre.

2. Teignes de la peau et du cuir chevelu : dermatophytoses

Q.9. Argumenter l'intérêt d'ensemencer en parallèle ces deux milieux. (C1)

Le milieu Sabouraud + chloramphénicol + gentamicine inhibe les espèces bactériennes.
On obtiendra des colonies de mycètes saprophytes ou commensales.

Le milieu Sabouraud + chloramphénicol + gentamicine + actidione inhibe en plus les champignons saprophytes et certaines espèces de levures et certains *Aspergillus* et *Fusarium*, mais favorise la croissance de *Candida albicans* et des dermatophytes (*Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporum*). On obtiendra des colonies uniquement de dermatophytes et *C.albicans*.

L'actidione sélectionne les dermatophytes.

La présence de colonies uniquement sur le milieu Sabouraud chloramphénicol-gentamicine orientera vers un champignon saprophyte ou commensal.

La présence de colonies sur les 2 milieux orientera vers un dermatophytes (ou *C. albicans*).

L'association de ces 2 milieux permet donc une pré-orientation de l'identification.

Q.10. Préciser la composition du contrôle interne. (C1)

Le contrôle interne contient de l'ADN du bactériophage M13.

Expliquer l'intérêt d'introduire le contrôle interne avant l'étape d'extraction de l'ADN. (C1)

Il permet de vérifier que l'ADN n'a pas été dégradé lors de l'extraction et que la polymérisation s'est bien déroulée.

Q.11. Expliquer l'intérêt de cette organisation au sein du laboratoire de biologie moléculaire d'analyses médicales. (C3)

« La marche en avant » qui permet la compartimentation des étapes pour éviter les contaminations des mix par les échantillons extraits.

Q.12. Analyser les résultats des différents contrôles. (C2)

Pour le Contrôle (NTC) : Ct > 40 validé (pas de contamination par un amplicon)

Pour le contrôle positif (PC) : Ct=27 compris entre 25 – 29 : validé (amplification réalisée)

Pour le contrôle interne (IC) : Ct=35 compris entre 30 – 38 : validé

Les contrôles sont conformes aux attentes, la série peut être validée.

Q.13. Exploiter les valeurs de Ct de l'échantillon patient pour chaque fluorochrome pour orienter l'identification. (C3)

Ct >40 pour les canaux vert et jaune correspondant à un résultat négatif : absence de *Candida albicans*, *Trichophyton interdigitale*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*

Ct=29 pour le canal orange (Ct<40) donc amplification : présence de *Trichophyton rubrum* ou *T. soudanense* ou *T. violaceum*.

Q.14. Préciser l'intérêt d'analyser les courbes de fusion après l'étude des résultats de l'amplification. (C3)

Les courbes de fusion permettent d'affiner l'identification.

Pour le PC, la Tm $\cong$ 68°C correspondant à celle de *T. violaceum* (Tm : 67,5 à 70,5°C)

Tm échantillon patient $\cong$ 58°C, entre 55-60°C correspondant au Tm de *T. rubrum/soudanense*

L'analyse des Tm permet donc d'exclure *T. violaceum*.

Q.15. Décrire le champ microscopique observé. (C1)

Observation d'un hyphe cloisonné en « fil de fer barbelé » sans macro et microconidie.

Q.16. Synthétiser l'ensemble des informations obtenues puis identifier l'espèce de dermatophyte responsable de la teigne du cuir chevelu. (C4)

- prélèvement cheveux

- apparition culture : 12 jours

- PCR amplification uniquement du canal orange correspondant à 3 espèces de *Trichophyton*

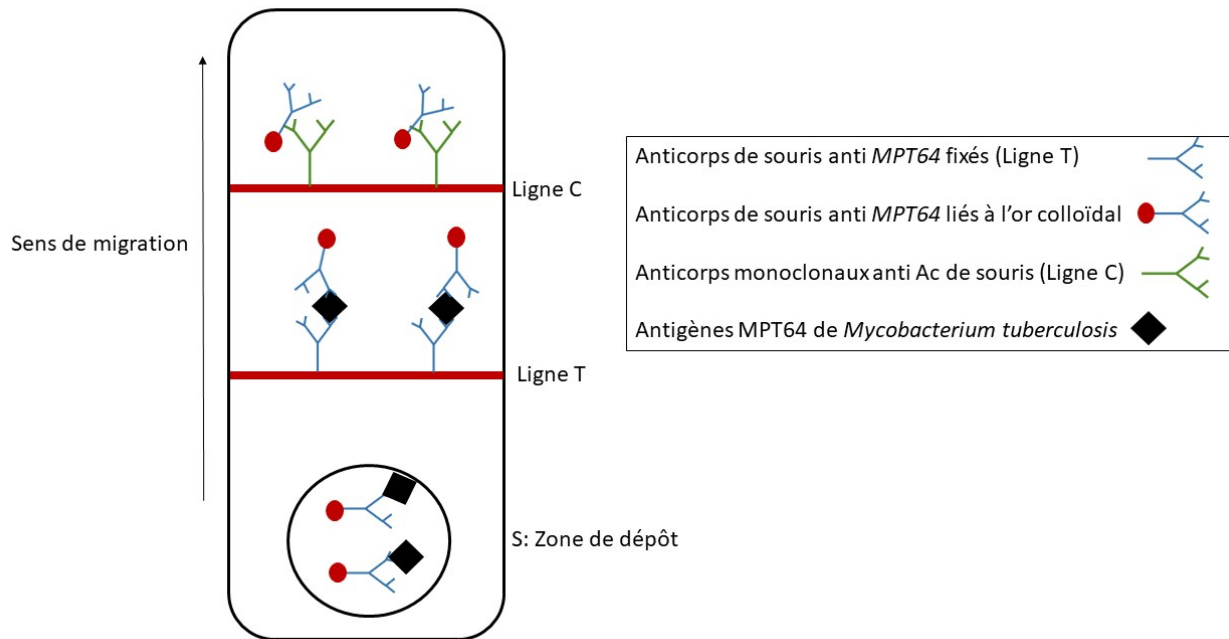
- Tm entre 55-60°C excluant 1 espèce

- examen microscopique : hyphes cloisonnés en fil barbelé, pas de micro ou macroconidie caractéristiques

→ Identification de *Trichophyton soudanense* très répandue.

3. La tuberculose

Q.17. Schématiser les différents édifices moléculaires sur les trois zones de la bandelette d'immunochromatographie dans le cas d'un résultat positif. (C1)



Q.18. Expliquer le rôle de la zone contrôle C. (C1)

La zone de contrôle C placée après la zone test permet de vérifier que la migration des réactifs et complexes immuns est complète.

Q.19. Analyser l'ensemble des résultats des deux patients. (C3)

Patient A : pas d'observation à l'examen microscopique et absence de culture sur milieu solide mais culture sur milieu liquide.

Sur le TDR, la ligne C est visible validant le test. Observation d'une ligne sur la zone T positive donc présence d'Ag MPT64 confirmant la présence de mycobactéries tuberculeuses. L'absence de BAAR à l'examen microscopique et l'absence de culture sur milieu solide s'explique probablement par une faible concentration en mycobactéries dans le prélèvement.

Patient B : examen microscopique et cultures positives. Absence de bande au niveau de la ligne C, le test n'est pas valide et donc la ligne T ininterprétable.

Proposer la démarche à suivre par le technicien de laboratoire après lecture des résultats. (C2)

Pour le Patient A : Identification de l'espèce de Mycobactérie présente et antibiogramme.

Pour le patient B : TDR ininterprétable à refaire.

Q.20. Préciser le paramètre de performance étudié. (C1)

Le paramètre est la limite de détection ou limite de sensibilité.

Proposer un intervalle de concentration pour lequel l'interprétation d'un résultat positif ne présente aucune incertitude. (C3)

Seuil de détection à l'œil nu est au niveau du test 7 pour une concentration égale à $1,3 \cdot 10^5$ UFC/mL

L'intervalle de concentration sans incertitude est de $1,3 \cdot 10^5$ UFC/mL à $2 \cdot 10^6$ UFC/mL

E43 Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie

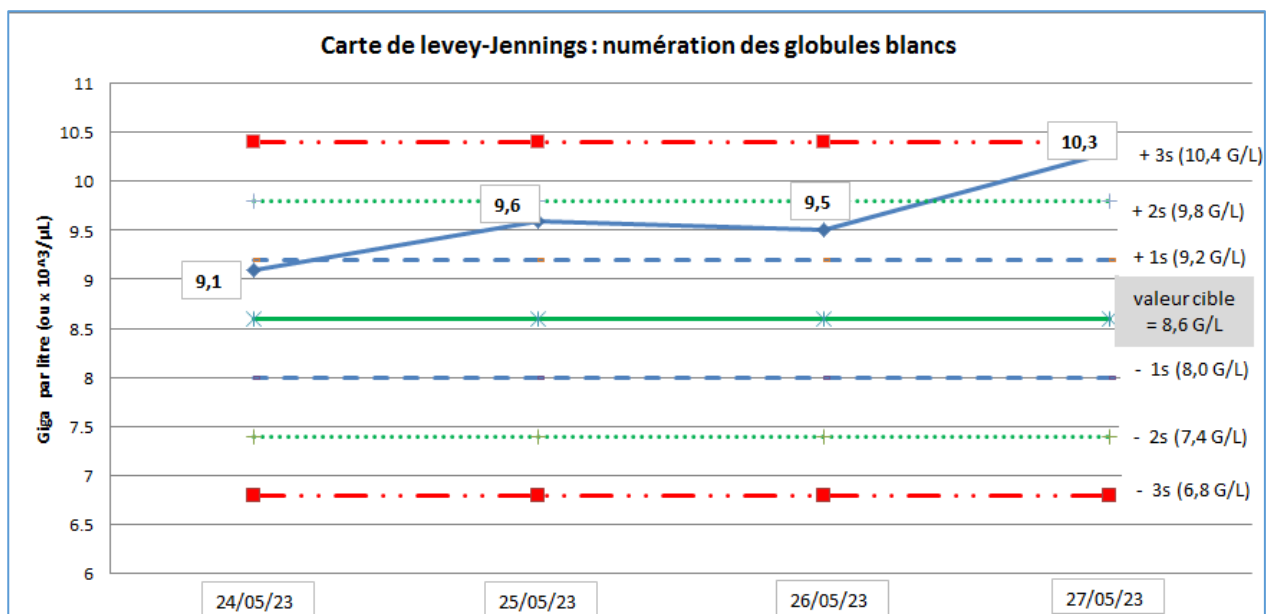
2024 corrigé

DIAGNOSTIC DE SYNDROMES LYMPHOPROLIFERATIFS CHRONIQUES

1- Contrôle Interne de Qualité (CIQ) de l'automate d'hématologie

Q1 : (C2) Carte de Levey-Jennings pour la numération des globules blancs avec la cible à 8.6 G/L, un écart-type à ± 0.6 G/L, 2 écarts-types à ± 1.2 G/L et 3 écarts-types à ± 1.8 G/L.

Unité = Giga par litre ou $10^3/\mu\text{L}$



Q2 : (C2). L'alarme au 27/05/23 indique 1:2s car le résultat du CIQ est entre la cible +2 et +3 écarts-types (2s) et une seule fois (1:2s) puisque la valeur précédente (9.5 G/L) est inférieure à +2 écarts-types (entre 7.4 et 9.8 G/L) de la valeur cible.

Q3 : (C2). Selon le logogramme décisionnel, 1 : 2s oui $\rightarrow$ 1 : 3s non (car 10.3 G/L est inférieur à 10.4 G/L c'est-à-dire qu'il n'est pas à plus de 3 écarts-types de la cible) $\rightarrow$ 2 mesures consécutives au-delà de la cible+2s (2 :2s) = non $\rightarrow$ 2 mesures consécutives de plus de 4 écarts-types (R4s) = non $\rightarrow$ Alerte : maintenance préventive mais rendu des résultats.

2- Diagnostic de la leucémie lymphoïde chronique

Q4 : (C3) Alarme due à une hyperleucocytose (numération des leucocytes supérieure aux normes) elle-même due à une hyperlymphocytose importante ($17.58 \cdot 10^9 \cdot \text{L}^{-1} > 4 \cdot 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)

Tous les autres paramètres sont normaux

Q5 : (C2) Le technicien doit faire un frottis de sang suivi d'une coloration au May Grünwald Giemsa puis vérifier la formule leucocytaire au microscope avec une étude rigoureuse de la cytologie des lymphocytes. Il devra aussi avertir le biologiste en fonction des observations

Q6 : (C3). Analyse cytologique du champ microscopique :

- Cytologie des hématies = normale
- Cytologie des plaquettes = pas de plaquettes visible sur ce champ → non concordant avec la numération normale des plaquettes d'après l'automate (mais difficile à apprécier sur un seul champ d'observation)
- **Cytologie des leucocytes** = observation d'une population homogène de petits lymphocytes (rond et régulier, 10 µm de diamètre, noyau bien rond au RNC très élevé, très peu de cytoplasme) + ombres nucléaires (ombres de Gümprécht)

Q7 : (C2) L'hyperlymphocytose monomorphe et les ombres de Gümprécht orientent vers un syndrome lymphoprolifératif de type LLC.

Une lymphocytose en réaction à une infection virale serait composée de lymphocytes de morphologie variée avec des grands lymphocytes activés, des lymphocytes granuleux...

Q8 : (C1) L'immunophénotypage est nécessaire pour identifier le type précis de cellules lymphoïdes tumorales et donc poser le diagnostic de LLC voire pour adapter un traitement.

Q9 : (C1) Des Ac monoclonaux couplés à des fluorochromes et spécifiques des antigènes membranaires des différentes populations de cellules, vont être ajoutés au prélèvement avant passage en CMF.

Q10 (C3) : Le premier scattergramme permet de confirmer que la population dominante est leucocytaire (marquage par un Ac qui révèle tous les leucocytes / CD45)

Le second scattergramme permet de repérer les lymphocytes = cellules petites et de structure plus simple que les autres (pas de granulation) : les lymphocytes représentent 74 % des leucocytes

Le troisième scattergramme montre l'expression de CD19 sur les lymphocytes = 75 % des leucocytes sont des lymphocytes B (CD19+)

Q11 (C4) Grâce à l'immunophénotypage et l'établissement du score de Matutes : Ig de surface faible (1 point) + CD5+ (1 point) et CD79b faible (1 point), CD23 + (1 point), FMC7 négatif (1 point) = score de 5 points → Le diagnostic est bien celui d'une LLC.

3- Traitement par immunothérapie

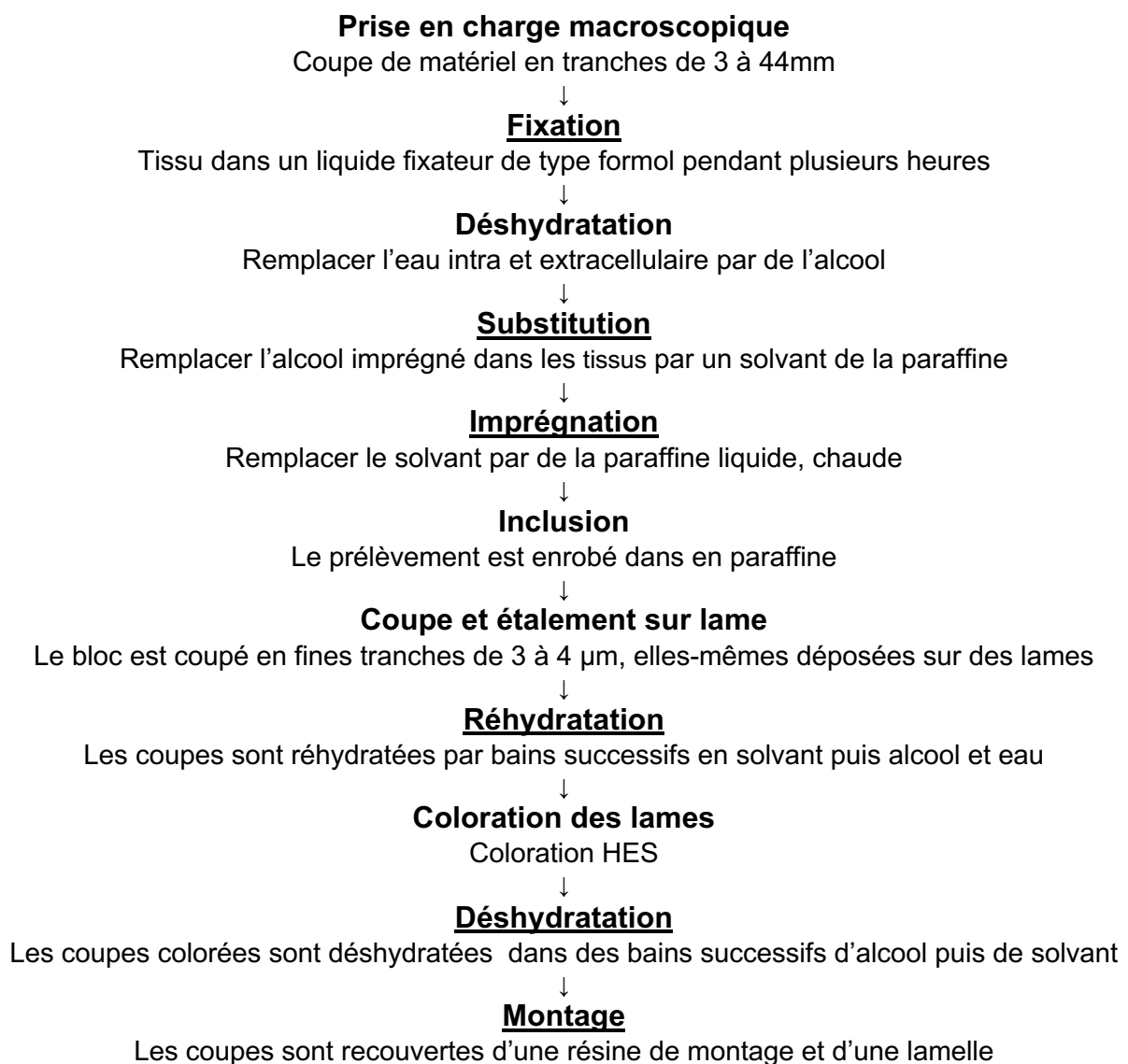
Q12 (C4). Tous les paramètres sont normaux sauf à nouveau un excès de leucocytes dû à une lymphocytose. La lymphocytose est cependant devenue beaucoup plus discrète. En consultant le dossier du patient (sur le Système Informatique du Laboratoire), le technicien comparera les résultats aux antécédents et constatera que la lymphocytose était déjà connue, liée à la LLC et que sa diminution est le signe d'une bonne réponse au traitement : il n'est donc pas nécessaire d'alerter le biologiste.

Q13 (C4). L'anticorps thérapeutique anti-CD20 peut se fixer sur la molécule CD20 en surface des LB dont une majorité sont les lymphocytes tumoraux de la LLC (voir scattergramme). La fixation de l'Ac va permettre la lyse des cellules CD20+ par activation du système du complément et / ou phagocytose par opsonisation.

4- Diagnostic des lymphomes

Q14 (C2). Les lymphomes correspondent à la prolifération de lymphocytes dans les organes lymphoïdes secondaires dont les ganglions, les cellules ne passant pas ou peu dans la circulation sanguine. La biopsie des ganglions va donc permettre de repérer la prolifération maligne de lymphocytes, à l'origine des adénopathies.

Q15 (C3) Fiche de poste de la technique d'analyse histologique en ACP : étapes successives



Q16 (C1) Schéma macromoléculaire du marquage par immunohistochimie

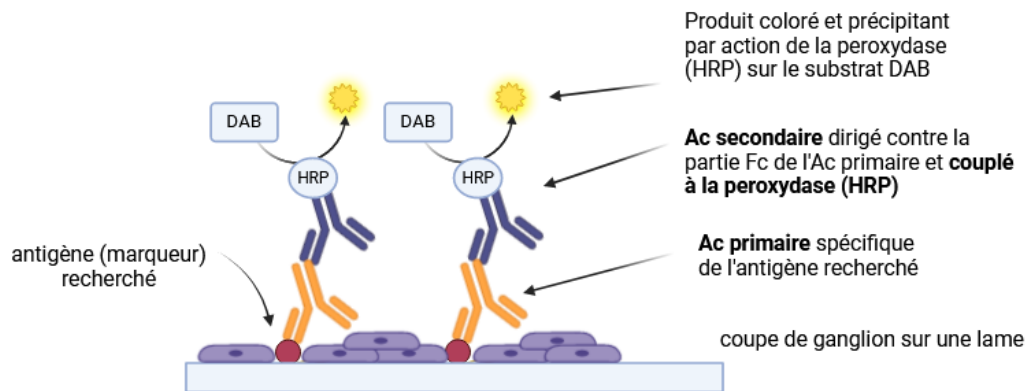


Schéma avec BioRender.com

Q17(C2) : Exemple de points critiques :

- blocage des peroxydases endogènes pour éviter de faux positifs,
- respects des étapes de lavages pour éliminer les anticorps réactifs non fixés,
- respect du pH du tampon pour assurer une fixation optimale et spécifique des Ac réactifs,
- respect de la dilution de l'anticorps primaire : une dilution trop forte pourrait induire un faux négatif.

Q18 (C2). Les deux témoins, traités comme l'échantillon patient :

- Témoin négatif avec une coupe sans l'Ag recherché = pour vérifier la spécificité des réactifs anticorps
- Témoin positif avec une coupe qui exprime l'antigène recherché = pour vérifier la réactivité des Ac primaire et secondaire

SESSION 2025

E2 Mathématiques

2025 corrigé

Exercice 1 :

Partie A

1. Les points du nuage ne semblent pas proches d'une même droite donc un ajustement linéaire du nuage ne paraît pas approprié.
2. $u = \ln(10,54 - 7,063) \approx 1,246$ $v = \ln(10,54 - 9,215) \approx 0,241$
3. $y = -0,136t + 2,356$ est une équation de la droite d'ajustement du nuage par la méthode des moindres carrés.
4. On sait que $y = \ln(10,54 - C(t))$ et que $y = -0,14t + 2,35$.

$$\text{Ainsi } \ln(10,54 - C(t)) = -0,14t + 2,35 \Rightarrow 10,54 - C(t) = e^{-0,14t+2,35}$$

$$\Rightarrow C(t) = 10,54 - e^{-0,14t+2,35} \Rightarrow C(t) = 10,54 - e^{-0,14t} \times e^{2,35}.$$

$$\text{Alors } C(t) = 10,54 - Ae^{-0,14t} \text{ où } A = e^{2,35} \approx 10,49.$$

Partie B

2. a. $(E_0) : y' + ry = 0 \Rightarrow y' = -ry$

Les solutions de (E_0) sont les fonctions qui, à tout réel t appartenant à $[0; +\infty[$, associe Ke^{-rt} où K est une constante réelle.

b. g est une solution particulière de l'équation différentielle (E) si

$$g'(t) + rg(t) = 10,54r.$$

$$g(t) = 10,54 \text{ soit } g'(t) = 0. \text{ Ainsi } g'(t) + rg(t) = 0 + r \times 10,54 = 10,54r$$

c. Les solutions de l'équation différentielle (E) sont les fonctions qui, à tout réel t appartenant à $[0; +\infty[$, associe $Ke^{-rt} + 10,54$ où K est une constante réelle.

d. $f(t) = Ke^{-rt} + 10,54$. On sait que $f(0) = 0$ dont $Ke^0 + 10,54 = 0$ soit $K = -10,54$.

$$\text{Par conséquent, } f(t) = -10,54e^{-rt} + 10,54 = 10,54(1 - e^{-rt}).$$

2. a. $AHs = r \times Cs \times V \Rightarrow 1000 = r \times 0,01054 \times 700\,000 \Rightarrow r \approx 0,14$

b. On obtient $f(t) = 10,54 - 10,54e^{-0,14t}$.

On sait que $C(t) = 10,54 - Ae^{-0,14t}$ où $A = e^{2,35} \approx 10,49$.

La modélisation par la fonction f et la valeur du réel r obtenue apparaissent donc cohérentes avec la fonction C .

Partie C

1. a. $\lim_{t \rightarrow +\infty} g(t) = 4,77$

En effet, $\lim_{t \rightarrow +\infty} -0,09t = -\infty$ et $\lim_{X \rightarrow -\infty} e^X = 0$

Donc par composée, $\lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,09t} = 0$ soit $\lim_{t \rightarrow +\infty} 1 - e^{-0,09t} = 1$.

La concentration en dioxygène dans le bassin d'aération se stabilisera autour de 4,77 mg L⁻¹ après un temps suffisamment long.

b. On résout $4,77(1 - e^{-0,09t}) = 4,293 \Rightarrow 1 - e^{-0,09t} = \frac{4,293}{4,77}$

$$\Rightarrow e^{-0,09t} = 1 - \frac{4,293}{4,77} \Rightarrow e^{-0,09t} = 0,1 \Rightarrow -0,09t = \ln(0,1)$$

$$\Rightarrow t = \frac{\ln(0,1)}{-0,09} \approx 25,6.$$

La concentration en dioxygène atteindra la valeur 4,293 mg L⁻¹ au bout de **25,6 minutes environ**.

2. a. $G(t) = 4,77t + 53e^{-0,09t} \Rightarrow G'(t) = 4,77 + 53 \times (-0,09)e^{-0,09t}$

$$\Rightarrow G'(t) = 4,77 - 4,77e^{-0,09t} = 4,77(1 - e^{-0,09t}) = g(t).$$

La fonction G est bien une primitive de la fonction g sur l'intervalle $[0 ; +\infty[$.

b. $Cm = \frac{1}{25} \int_0^{25} g(t) dt = \frac{1}{25} [4,77t + 53e^{-0,09t}]_0^{25} = \frac{1}{25} (119,25 + 53e^{-2,25} - 53)$

$$Cm = 2,65 + 2,12e^{-2,25} \approx 2,9.$$

La concentration moyenne en dioxygène pendant les vingt-cinq premières minutes d'aération est **d'environ 2,9 mg.L⁻¹**.

Exercice 2 :

Partie A

1. Parmi les trois courbes I, II et III, celle qui est la représentation graphique de la variable aléatoire D est la **courbe III**. En effet, la courbe d'une loi normale étant centrée sur la moyenne soit 7,1 seules les courbes II et III sont compatibles.

Sachant qu'environ 95% des observations sont comprises dans un intervalle de ± 2 fois l'écart-type autour de la moyenne soit $[6,62; 7,58]$, la courbe III est la plus pertinente.

2. a. $P(6,48 \leq D \leq 7,72) \approx 0,990$

b. $P(100,6 \leq H \leq 104,1) \approx 0,976$

3. La probabilité qu'une ampoule prise au hasard en début de ligne de finition soit correctement calibrée se traduit par :

$$P(\{6,48 \leq D \leq 7,72\} \cap \{100,6 \leq H \leq 104,1\}) \\ = P(6,48 \leq D \leq 7,72) \times P(100,6 \leq H \leq 104,1) \text{ car les variables } D \text{ et } H \text{ sont indépendantes.}$$

Ainsi $P(\{6,48 \leq D \leq 7,72\} \cap \{100,6 \leq H \leq 104,1\}) \approx 0,990 \times 0,976 \approx 0,966$.

Partie B

1. La variable aléatoire X suit la **loi binomiale de paramètres 50 et 0,97**.

2. $E(X) = 50 \times 0,97 = 48,5$ ce qui signifie que l'on peut espérer en moyenne 48,5 ampoules bouteille correctement calibrées par lot, si on répète un grand nombre de fois l'expérience.

3. S'il y a au moins quatre ampoules qui ne soient pas correctement calibrées, cela signifie qu'il y a au maximum 46 ampoules correctement calibrées soit :

$$P(X \leq 46) \approx 0,063$$

Partie C

1. $h \approx 2\sigma \approx 0,06$.

2. On peut énoncer la règle de décision :

- si la moyenne des volumes de l'échantillon n'appartient pas à l'intervalle de fluctuation $[10 - 0,06; 10 + 0,06] = [9,94; 10,06]$ alors on rejette l'hypothèse nulle, au risque de 5 %;
- sinon, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle.

3. Le volume moyen de l'échantillon prélevé par le technicien étant de 9,67 ml, on peut en conclure que $9,67 \notin [10 - 0,06; 10 + 0,06] = [9,94; 10,06]$. Donc on peut rejeter (H_0) et remettre en question l'hypothèse « le volume de solution contenue dans une ampoule est égal à 10 mL » au seuil de confiance de 95 %.

4. $D = [9,92; 10,08] \approx [10 - 3\sigma; 10 + 3\sigma]$

E3 Sciences physiques et chimiques

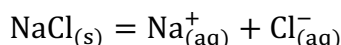
2025 corrigés

Exercice I - Dosage de l'élément sodium dans le sang

Partie A - Solubilité du chlorure de sodium et hypernatrémie

Q1. Un cristal ionique est un assemblage régulier d'anions et de cations. Il est électriquement neutre et est formé de mailles identiques mises bout à bout.

Q2.1 Equation de dissolution du chlorure de sodium solide dans l'eau :



Q2.2 Enthalpie standard de dissolution $\Delta_r H^\circ_{diss}$ du chlorure de sodium solide à 298 K :

$$\Delta_r H^\circ_{diss} = [\Delta_f H^\circ(\text{produits})] - [\Delta_f H^\circ(\text{réactifs})]$$

$$\Delta_r H^\circ_{diss} = [\Delta_f H^\circ(\text{Na}_{(aq)}^{+}) + \Delta_f H^\circ(\text{Cl}_{(aq)}^{-})] - [\Delta_f H^\circ(\text{NaCl}_{(s)})]$$

$$\Delta_r H^\circ_{diss} = [-240,3 + -167,1] - [-411,2]$$

$$\Delta_r H^\circ_{diss} = 3,8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} > 0$$

Cette enthalpie standard est positive, cette dissolution est donc une transformation endothermique.

Q2.3 On voit sur la figure 1 que la solubilité du chlorure de sodium augmente avec la température. Passant de 355 g.L⁻¹ à 10°C à environ 380 g.L⁻¹ à 80°C

Q2.4 D'après la loi de Le Chatelier, si l'on augmente la température d'un système à l'équilibre, alors ce dernier va évoluer de façon à s'opposer à cette modification, c'est-à-dire en abaissant la température. L'équilibre va donc se déplacer dans le sens de la réaction endothermique.

La dissolution du chlorure de sodium étant une transformation endothermique, une augmentation de la température favorise cette dissolution.

Q3.1 Par lecture graphique sur la figure 1, on trouve une valeur de la solubilité du chlorure de sodium dans l'eau, à la température de 37 °C, de 365 g.L⁻¹.

Conversion en mmol.L⁻¹ :

$$M(\text{NaCl}) = M(\text{Na}) + M(\text{Cl}) = 23,0 + 35,5 = 58,5 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$C(\text{NaCl}) = \frac{C_m(\text{NaCl})}{M(\text{NaCl})} = \frac{365}{58,5} = 6,24 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} = 6,24 \times 10^3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$$

Cette solubilité est donc de $6,24 \times 10^3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Q3.2 On cherche :
$$\frac{\text{la quantité de matière de sodium dissous dans 1 L de plasma}}{\text{d'une personne ayant un taux de natrémie normale}} \times 100$$

$$\frac{\text{la quantité de matière maximale de sodium}}{\text{que l'on pourrait dissoudre dans 1 L de plasma}}$$

Concentration en NaCl pour une natrémie normale :

$$C(\text{NaCl})_N = 140 \text{ mmol.L}^{-1}, \text{ soit } 140 \text{ mmol dans 1L.}$$

Concentration en NaCl maximale :

$$C(\text{NaCl})_{\text{Max}} = 6,24 \times 10^3 \text{ mmol.L}^{-1}, \text{ soit } 6,24 \times 10^3 \text{ mmol dans 1L.}$$

$$\frac{140}{6,24 \times 10^3} \times 100 = 2,2 \% < 3\%$$

En pourcentage, ce rapport est donc bien inférieur à 3%.

Q3.3 La concentration en NaCl dans le plasma sanguin est très inférieure à la solubilité du NaCl.

Donc si l'on consomme une alimentation trop riche en sel NaCl, ce dernier peut se dissoudre dans le plasma sanguin, la concentration en ions sodium Na^+ et chlorure Cl^- va augmenter dans le sang, ce qui peut provoquer une hypernatrémie.

Partie B - Principe de la photométrie d'émission de flamme

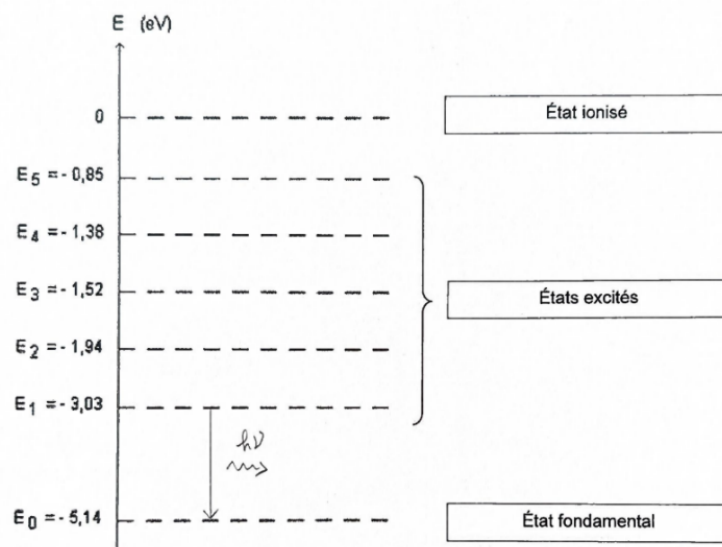
Q4.1 $E_{589} = \frac{h \times c}{\lambda} = \frac{6,62 \times 10^{-34} \times 3,00 \times 10^8}{589 \times 10^{-9}} = 3,37 \times 10^{-19} \text{ J}$

Conversion en électronvolts :

$$E_{589} = \frac{3,37 \times 10^{-19}}{1,6 \times 10^{-19}} = 2,11 \text{ eV}$$

L'énergie E_{589} transportée par un photon de longueur d'onde $\lambda = 589 \text{ nm}$ émis lors du retour à l'état fondamental de l'atome de sodium excité est de $3,37 \times 10^{-19} \text{ J}$, soit 2,11 eV.

Q4.2 Annexe 1

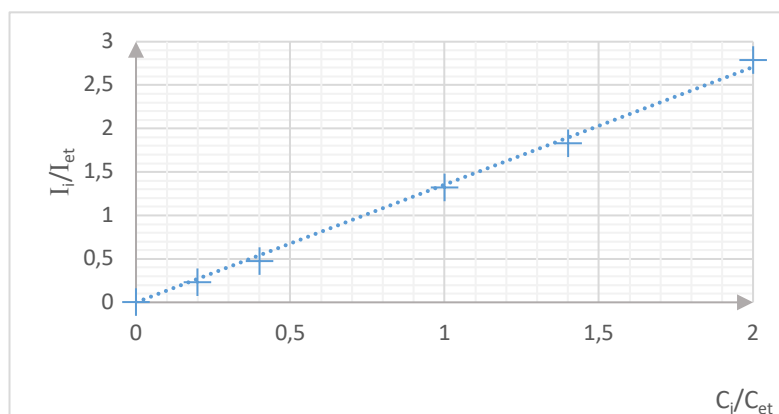


- Q5.** Le prisme et le réseau sont des dispositifs optiques pouvant jouer le rôle de monochromateur.

Partie C - Dosage du sodium dans le sang par photométrie d'émission de flamme

- Q6.** Protocole à mettre en œuvre lors de la préparation de la solution S_3
- Prélever 5 mL d'une solution de NaCl à 10 mmol.L⁻¹ à l'aide d'une pipette jaugée de 5,0 mL
 - Les verser dans une fiole jaugée de 100 mL
 - Prélever 10 mL d'une solution de NLiCl à 5 mmol.L⁻¹ à l'aide d'une pipette jaugée de 10,0 mL
 - Les verser dans la fiole jaugée de 100 mL
 - Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge en faisant attention au ménisque
 - Homogénéiser par retournement.

Q7. Annexe 2 :



- Q8.** On effectue ici une dilution, on a donc la relation :

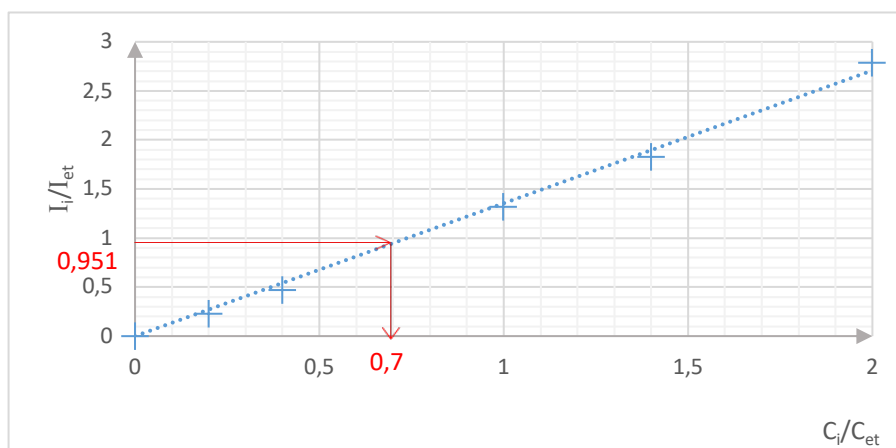
$$C_{mère} \times V_{mère} = C_{fille} \times V_{fille}$$

On cherche C_{fille} qui correspond à C_{et} et on a $C_{mère} = 5,00 \text{ mmol.L}^{-1}$, $V_{mère} = 10 \text{ mL}$ et $V_{fille} = 100 \text{ mL}$

$$C_{et} = \frac{C_{mère} \times V_{mère}}{V_{fille}} = \frac{5,00 \times 10}{100} = 5,00 \times 10^{-1} \text{ mmol.L}^{-1}$$

La concentration molaire en ions Li^+ dans la solution S analysée vaut donc bien $5,00 \times 10^{-1} \text{ mmol.L}^{-1}$.

Q9. Par lecture graphique, pour $\frac{I_i}{I_{et}} = 0,951$ on a $\frac{C_i}{C_{et}} = 0,700$



Soit $C_i = 0,700 \times C_{et} = 0,700 \times 5,00 \times 10^{-1} = 0,35 \text{ mmol.L}^{-1}$

La fabrication de la solution analysée entraîne une dilution :

$$C_{\text{échantillon diluée}} = \frac{0,35 \times 100}{90} = 0,39$$

L'échantillon sanguin est dilué au 400^{ème}, on a donc

$$C(\text{NaCl}) = 400 \times C_i = 400 \times 0,39 = 156 \text{ mmol.L}^{-1}$$

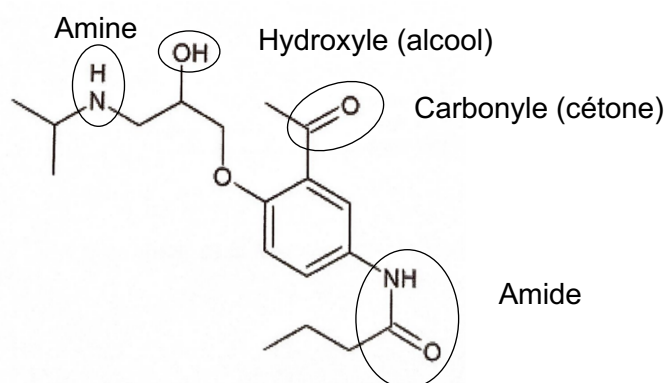
La concentration en ions sodium dans l'échantillon à doser est donc de 156 mmol.L^{-1} .

Cette valeur permet de diagnostiquer une hypernatrémie ($>145 \text{ mmol.L}^{-1}$).

Exercice II – L'acébutolol contre l'hypertension artérielle

Q10. Un carbone asymétrique est un atome de carbone dont les quatre substituants sont différents.

Q11. Annexe 3 : Groupements caractéristiques de l'acébutolol :



Q12. Configuration absolue du carbone asymétrique dans la molécule (A).

Il faut établir un ordre de priorité des groupements autour du carbone grâce aux règles de Cahn, Ingold et Prelog.

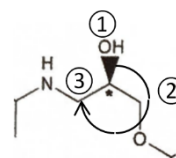
C	O Z=8		1
	C Z=6	O Z=8	2
		H Z=1	
	C Z=6	H Z=1	3
		N Z=7	
		H Z=1	
	H Z=1		4

L'atome O à la priorité 1 car il a le Z le plus grand (Z=8).

Les deux atomes de carbone ne peuvent pas être différenciés à ce rang, il faut donc regarder un rang plus loin. Le carbone portant l'atome O à la priorité 2 car il a le Z le plus grand (Z=8) et celui portant le N à la priorité 3.

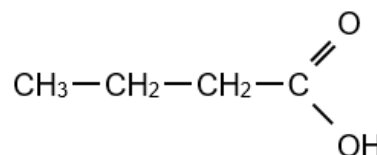
L'atome H à la priorité 4 car il a le Z le plus petit (Z=1).

Le OH étant en avant et l'atome d'hydrogène en arrière, selon l'ordre de priorité 1 > 2 > 3 le sens de lecture est horaire donc de configuration R.



Q13. Dans la molécule A, le OH est en avant alors qu'il est en arrière dans la molécule B. Le carbone asymétrique a donc une configuration opposée. Les deux molécules sont donc des énantiomères.

Q14. Formule semi-développée de l'acide butanoïque :



Q15. La transformation chimique mise en jeu dans l'étape 1 de la voie 2 est une réaction acide-base.

Q16. Le second produit formé dans l'étape 1 est de l'eau H₂O.

LA MYOPATHIE DE DUCHENNE**1. Bilan biochimique****1.1. Détermination de l'activité catalytique de la créatine kinase**

Q1- (C3) L'échantillon de sang est recueilli sur tube sec (bouchon rouge ou jaune) car le dosage se fait sur le sérum.

Q2- (C2). L'interférence de l'hémoglobine libérée par hémolyse n'est significative qu'au-delà de $257 \mu\text{mol.L}^{-1}$. L'indice d'hémolyse +++ correspondant à $47 \mu\text{mol.L}^{-1}$, le prélèvement peut donc est considéré conforme.

Q3- (C3) Le réactif 1 contient : de la créatine phosphate, du D-glucose, de l'ADP et NADP, de l'hexokinase et de la G6PDH.

Q4- (C1). Les concentrations en substrat doivent être en conditions saturantes pour assurer une linéarité en fonction de la créatine Kinase à doser.

Q5- (C3). La réaction catalysée par la créatine kinase ne libère pas de produit absorbant. Il faut donc la coupler à une réaction intermédiaire pour aboutir à une réaction indicatrice. Pour le dosage de la CK, la réaction catalysée par l'hexokinase ne libérant pas non plus de produit absorbant, c'est finalement celle catalysée par la G6PDH qui est indicatrice avec libération de NADPH, H^+ qui absorbe à 340 nm.

Q6- (C3) Facteur théorique = $(1050 \times 1000)/(6.22 \times 50 \times 1)$

1.2. Dosage de la créatinine

Q7-(C2) Pour assurer la qualité du résultat, il faut s'assurer du respect de la température (37°C), du temps de réaction (120 secondes), avoir vérifié les pipettes, réaliser correctement le pipetage l'homogénéisation...

Q8- (C2) La créatininémie variant notamment en fonction de l'âge, du sexe, de la masse musculaire...il est nécessaire de fixer les valeurs de référence en fonction du profil des patients de ce laboratoire.

Q9- (C2) Le domaine de mesure de 2.5 à 150 mg/L est l'intervalle de concentration de la créatinine (analyte) qui est proportionnelle à l'absorbance (paramètre mesuré). C'est le domaine de linéarité.

Q10- (C1) Le CV mesure la fidélité intermédiaire (dispersion des valeurs autour de la moyenne) de la méthode en avril 2025 dans le laboratoire (reproductibilité intralaboratoire). Le biais (%) mesure la justesse de la méthode (écart entre la moyenne des résultats du mois et la cible).

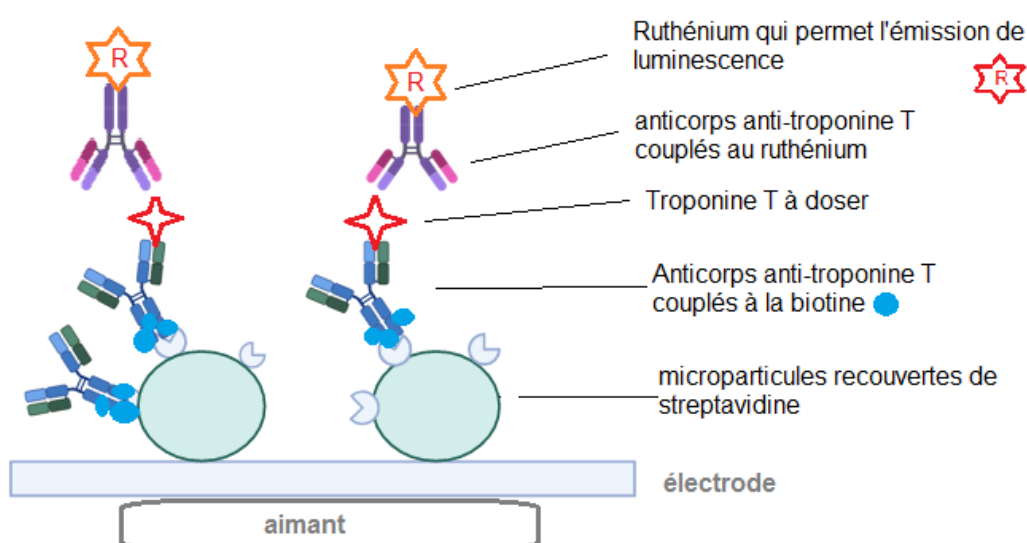
Q11- (C4) Pour les trois niveaux de concentration en créatinine, les CV obtenus sont inférieurs aux CV limites acceptables : la fidélité intermédiaire est donc conforme pour les trois niveaux de concentrations. Il n'y a pas d'erreur aléatoire.

En revanche, le % de biais pour le CQ haut et le CQ normal est supérieur au biais limite : il y a un défaut de justesse (erreur systématique) pour ces domaines de mesure.

Les actions correctives envisageables : refaire un étalonnage (calibration), reconstituer les échantillons contrôle (même lot), vérifier les réactifs (conservation, date...).

1.3. Dosage de la troponine T sérique

Q12- (C4) Edifice macromoléculaire de l'immunodosage de la troponine T par électrochimiluminescence.



Avec l'aide de BioRender

Q13- (C2) Le réactif Procell permet d'éliminer les anticorps couplés au ruthénium en excès, les protéines sériques non liées aux anticorps voire les anticorps anti-troponine couplés à la biotine en excès et non liés aux microparticules.

Q14- (C2) Une calibration est nécessaire si le CQI n'est pas conforme (hors limites), en cas de changement de lot de réactifs ou de calibrants, après 12 semaines pour un même lot de réactif (ou 7 semaines si les réactifs sont restés dans l'analyseur).

Q15- (C2) Le suivi métrologique des congélateurs permet de s'assurer du respect des conditions de conservation (-20 °C) des réactifs et calibrants.

Q16- (C4) Gestion du calibrant troponine

Reconstitution

- Ajouter à un seul flacon lyophilisé de chaque calibrant (CAL 1 et CAL 2), 1 mL d'eau distillée neuve
- Agiter 30 min

Stockage

- Marquer d'une croix la boîte d'origine si neuve
- Aliquoter 2 x 500 µL de chaque calibrant dans des *calsets vials*.
- Identifier le portoir (nom du calibrant, numéro de lot, date de reconstitution et durée de stabilité)
- Ranger par ordre alphabétique
- Congeler à -20 °C

Utilisation

- Décongeler un flacon de 500 µL
- Faire la calibration avec le calibrant décongelé
- Jeter le flacon : celui-ci est à usage unique.

2. Analyse par Western Blot d'une biopsie musculaire

Q17- (C2) des causes de non-conformité : identité incomplète, absence de référence de l'échantillon, erreur de date, non-respect du délai de transport ou de température, non-conformité du liquide de transport...

Q18- (C1). En présence de SDS, les protéines sont dénaturées et toutes chargées négativement avec une densité de charge constante : elles migrent toutes vers l'anode (pôle +). La migration au sein du gel d'acrylamide se fait alors en fonction de la masse moléculaire : une protéine de faible masse moléculaire migre plus vite (plus loin) qu'une protéine de plus forte masse moléculaire (moins de migration).

Q19- (C1) Le transfert sur la membrane de nitrocellulose permet de réaliser les étapes de révélation : fixation des anticorps sur les antigènes liés à la membrane, action de l'enzyme liée aux anticorps, révélation du complexe immun... L'image obtenue est plus nette. Les réactifs n'ont pas imprégnés le support de manière non spécifique.

Q20- (C3) Le western blot obtenu avec l'échantillon normal révèle bien 4 protéines comme attendu : la dystrophine de MM de 427 kDa, les deux isoformes de calpaïne (94 kDa et 30 kDa) et l'alphasarcoglycane de 50 kDa.

Pour l'enfant Y, on n'observe que trois bandes correspondant aux isoformes de calpaïne et l'alphasarcoglycane mais une absente totale de dystrophine. L'enfant Y est donc atteint de la myopathie de Duchenne.

3. Diagnostic génétique de la myopathie de Duchenne

Q21-(C1) La PCR multiplex permet de rechercher plusieurs cibles (différentes mutations ou différents fragments d'ADN) en une seule réaction après amplification de l'ADN en une seule fois.

Q22- (C2) Afin de ne pas contaminer les échantillons à amplifier par des produits d'amplification qui conduiraient à de faux positifs, il est nécessaire de prévoir :

- Une organisation spatiale de type « marche en avant »
- La stérilité du matériel
- Un équipement empêchant la contamination (ex : cônes à filtre)
- Le respect des bonnes pratiques de laboratoire.

Q23- (C1) A partir du nucléotide 356 :

- La séquence peptique du gène sauvage est : Val-Glu-Thr-Gly-Leu
- La séquence du gène muté (exon 3 TTA muté par substitution T → G en un exon TGA qui est un codon STOP) est : Val-Glu-Thr-Gly-STOP

Q24- (C3) La mutation non-sens explique la production d'une protéine beaucoup plus courte (122 acides aminés au lieu de 3685 acides aminés) : la dystrophine de 427 kDa complète n'apparaît pas sur le western blot de l'enfant Y.

4. Bilan des examens réalisés

Q25-(C4) Bilan de biochimie pour l'enfant Y :

- Créatininémie < valeurs normales de référence → atteinte musculaire
- Concentration en cystatine C dans les valeurs physiologiques = reins fonctionnels
- Activité des CPK totales très supérieure aux valeurs normales de référence = atteintes musculaires (dont du muscle cardiaque)
- Concentration en troponine T très supérieure à la valeur physiologique → atteinte cardiaque
 - ⇒ Les atteintes musculaires dont l'atteinte du muscle cardiaque sont liées à la myopathie
 - (On note de plus une atteinte hépatique puisque l'activité des transaminases est élevée)

MALADIES INFECTIEUSES ÉMERGENTES**1. Infections invasives à streptocoque du groupe A****1.1. Test rapide d'orientation diagnostique et mise en culture****Q1. Préciser la signification de « spécifique à 94,7 % » et « sensible à 96,8 % »**

La signification de spécifique à 94,7% : sur 100 souches testées qui ne sont pas des Streptocoques A, le test a donné 94,7 réponses négatives : Vrais Négatifs. Donc le test donne 5,3% de Faux Positifs.

La signification de sensible à 96,8% : sur 100 souches testées qui sont des Streptocoques A, le test a donné 96,8 réponses positives : Vrais Positifs. Donc le test donne 3,2% de Faux Négatifs

Q2. Proposer une démarche mise en œuvre par le fournisseur du test pour vérifier la conformité d'un lot.

Il faut réaliser :

un contrôle positif avec une souche de référence (ATCC) de Streptocoque A pour vérifier la réactivité du test (efficacité, fonctionnalité).

Et un contrôle négatif avec une souche référencée autre que Streptocoque A (un autre Streptocoque) pour vérifier la spécificité du test.

Les deux contrôles permettent de vérifier les réactifs du test.

Q3. Dans le contexte clinique du patient Z, démontrer l'intérêt d'utiliser les deux milieux de la boîte à double compartiment.

Les deux géloses sont des milieux enrichis (sang de mouton, facteurs de croissance) permettant la croissance de bactéries exigeantes comme le Streptocoque A. Grâce à la présence de sang de mouton, on peut observer l'hémolyse.

La gélose ssA contient des agents sélectifs qui vont inhiber certaines bactéries commensales du prélèvement et ainsi favoriser la croissance du Streptocoque A.

La gélose TSAII, non sélective, permet la croissance de toutes les bactéries de l'échantillon.

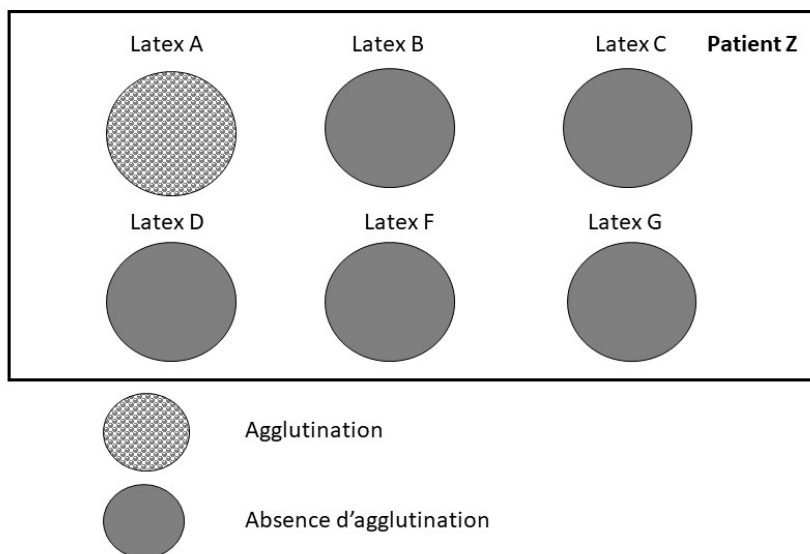
Q4. Interpréter l'ensemble des résultats obtenus.

Sur la gélose TSAII non sélective, on observe des colonies différentes indiquant un prélèvement pharyngé polymicrobien. On constate la présence en majorité de colonies β hémolytiques orientant vers Streptocoque A.

Sur la gélose ssA, un seul type de colonie avec une hémolyse β et sensibilité à la bacitracine, ces colonies sont fortement susceptibles d'être un Streptocoque A.

1.2. Identification de la souche suspecte

Q5. Schématiser les résultats obtenus sur la carte dans le cas où un streptocoque de groupe A est identifié.



1.3. Réalisation d'un antibiogramme

Q6. Lister les opérations non automatisées réalisées par le technicien au cours de la procédure.

- Choisir la colonie isolée et réaliser la suspension à 0,5 Mac Farland avec l'aide du système de prélèvement Inoclic[®],
- Introduire l'inoculum dans l'automate PreLUD,
- Programmer l'automate en fonction de la souche pour le choix du milieu àensemencer et celui des disques d'antibiotique à déposer,
- Transférer la boîte antibiogramme de l'automate PreLUD à l'automate Sirscan 2000, étuve intelligente,
- Programmer l'automate Sirscan 2000 avec l'identification du patient et de la souche,
- Ajuster les diamètres d'inhibition proposés par l'automate si nécessaire,

Q7. Indiquer cinq intérêts de l'automatisation de la procédure de réalisation de l'antibiogramme.

- Standardisation des ensemencements des géloses et du dépôt des antibiotiques,
- Conditions d'incubation identiques,
- Uniformisation et lecture plus rapide des diamètres d'inhibition,
- Meilleure répétabilité, reproductibilité,
- Meilleure traçabilité,
- Moins de manipulations humaines,

Q8. Identifier un point critique pour les trois entrées suivantes représentées dans le diagramme d'Ishikawa : matériel, matière, main d'œuvre.

- Matériel : ensementeur défectueux, incubateur à une mauvaise température ou variable,

- Matière : inoculum contaminé, souche non adaptée à un prélèvement par Unoclic, milieu ou disques d'antibiotique périmés
- Main d'œuvre : mauvaise préparation de la suspension par le technicien, erreur de programmation des automates, pas de vérification des diamètres donnés par l'automate.

2. Infections respiratoires à *Mycoplasma pneumoniae*

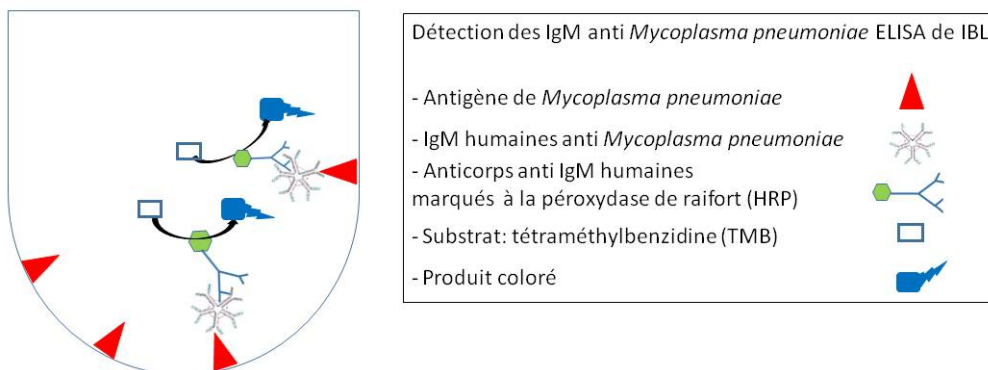
Q9. Préciser la composition et le rôle de chaque contrôle.

Contrôle positif : sérum contenant des IgM anti *Mycoplasma pneumoniae* permettant de vérifier la fonctionnalité, réactivité du test (antigènes fixés sur la plaque, conjugué et du substrat)

Contrôle négatif : sérum ne contenant pas des IgM anti *Mycoplasma pneumoniae* permettant de vérifier la spécificité du test.

Contrôle Cut-off : sérum contenant des IgM anti *Mycoplasma pneumoniae* avec un titre connu faible permettant de déterminer la valeur seuil de sensibilité de la détection.

Q10. Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans la cupule contrôle positif.



Q11. Analyser les résultats obtenus pour l'enfant Y.

- Blanc substrat : $A = 0 < 0,100 \Rightarrow$ conforme
- Contrôle négatif : $A = 0,173 < 0,200$ et $< A_{\text{cut-off}} \Rightarrow$ conforme
- Contrôle cut-off : $A = 0,400$; $0,150 < A < 1,300 \Rightarrow$ conforme
- Contrôle positif : $A = 0,865 > A_{\text{cut-off}} = 0,400 \Rightarrow$ conforme

L'ensemble des contrôles est conforme. La lecture de l'échantillon peut être faite.

(Valeur (moyenne) d'absorbance de l'échantillon $\times 10$) / Cut-off = [unités = U]

Résultat échantillon = $((0,399 + 0,401)/2 \times 10) / 0,400 = 4/0,400 = 10U$

Résultat échantillon compris entre 9 et 11U : zone grise ; les IgM ne peuvent pas être détectés de façon certaine.

Il est recommandé de répéter le test avec un échantillon frais dans 2 à 4 semaines.

Si le résultat est encore dans la zone grise, il est considéré comme négatif.

Q12. Elaborer une synthèse organisée dans un tableau, afin de comparer les différentes méthodes de diagnostic d'une infection à *Mycoplasma pneumoniae*: PCR, mise en culture, diagnostic sérologique.

	PCR	Culture	Sérodiagnostic
Prélèvement	Gorge, aspiration nasopharyngée	Gorge, aspiration nasopharyngée	Sanguin
Durée de réalisation	Quelques heures	2 à 3 semaines	Quelques heures
Sensibilité	Élevée Méthode alternative à la culture	Faible car culture difficile	Datation de la sérologie par distinction IgM, IgG Positivité rapide (1 ^{ère} semaine)
Automatisation	Oui	Non	Oui

3. Infections à virus Mpox

3.1. Du prélèvement à l'analyse

Q13. Rédiger une synthèse structurée de l'ensemble des mesures d'hygiène et de sécurité à prendre par le technicien A chargé de la préparation de l'échantillon en vue de son acheminement vers l'établissement de santé de référence (ESR).

Le technicien A prépare l'échantillon pour l'envoi mais ne réalise pas le prélèvement effectué par le biologiste dans un centre de prélèvement. Le virus Mpox est un agent viral de groupe 3, et le risque de transmission interhumaine étant élevé, il est nécessaire de mettre en place des mesure d'hygiène et de sécurité.

Équipement de protection individuel (EPI) pour le technicien : masque FFP2, gants, lunette, surblouse à manches longues.

Mesures d'hygiène : désinfection des surfaces avec un virucide à spectre limité,

Décontamination du tube de prélèvement,

Envoi inter-site : triple emballage cartonné catégorie B et transport habituel ; Bon de demande rempli et mis à l'extérieur du carton.

Élimination des déchets contaminés dans des poubelles DASRI,

Lavage des mains

Contacteur l'ARS pour leur signaler votre demande d'analyse.

Q14. Indiquer les tâches effectuées par le technicien B qui réceptionne l'échantillon jusqu'à la prise en charge de celui-ci par le laboratoire NSB3.

Le technicien B qui réceptionne l'échantillon doit vérifier la conformité de l'emballage de transport et son étiquetage ; enregistrer l'échantillon dans le SIL et l'apporter au laboratoire de virologie où il sera analysé dans la section NSB3.

3.2. Identification du virus à l'aide du kit qPCR Bio-Speedy® Monkeypox Virus

Q15. Expliquer la nécessité d'effectuer l'analyse sur un prélèvement riche en cellules épithéliales.

Le virus Mpox est intracellulaire, localisé dans les cellules épithéliales de la peau et des muqueuses. Pour garantir un résultat d'analyse, une meilleure sensibilité, il est indispensable d'avoir un prélèvement riche en cellules épithéliales.

Q16. Indiquer les molécules amplifiées détectées par les canaux HEX et FAM.

Les deux molécules amplifiées sont des fragments d'ADN constitutifs de 2 gènes :

- Une région du gène F3L spécifique du virus Mpox (canal FAM),
- Une région du gène de la RNase P humaine (canal HEX)

Q17. Argumenter l'intérêt de rechercher l'expression du gène codant la RNase P dans le contrôle positif PC et dans l'échantillon de la patiente.

- Dans le contrôle Positif (CP), l'amplification du gène RNase P sert à vérifier l'efficacité des réactifs d'amplification et de révélation (transcriptase inverse, les amorces, les sondes, de la Taq polymérase et du mélange Prime script Mix pour la réalisation de la qPCR).
- Dans l'échantillon, le gène de la RNase P est un contrôle Interne (CI) sert de contrôle de l'échantillonnage, de la qualité du prélèvement (présence de cellules épithéliales), de l'extraction des acides nucléiques et de l'absence d'inhibiteurs de la Taq polymérase

Q18. Exploiter les résultats présentés dans le document 8.

Contrôle négatif (NTC) pas de détection pour canal HEX et canal FAM : conforme aux résultats attendus $\Rightarrow$ contrôle validé

Contrôle Positif (PC), courbes sigmoïdes,

Canal HEX : Cq = 21, détection et Cq < 33 (résultat attendu)

Canal FAM : Cq = 23, détection et Cq < 33 (résultat attendu)

$\Rightarrow$ Résultats conformes à ceux attendus : contrôle validé

Contrôle Interne (IC), courbes sigmoïdes,

Canal HEX : Cq > 33 ; Si Cq > 33, lire le Cq de la cible sur le canal FAM.

Cq de la cible (canal FAM) = 30. Si Cq de la cible < 35, considérer que IC est conforme

$\Rightarrow$ Résultat validé

Echantillon patiente : Cq = 30 < 33 : résultat positif

L'ADN du virus est détecté chez la patiente.

4. Infections à <i>Candida auris</i>

4.1. Identification de *Candida auris*

Q19. Expliquer le rôle de chacun des milieux.

Milieu liquide Sabouraud Salt Dulcitol Broth (SSDB) Chloramphénicol et Gentamicine

Milieu liquide d'enrichissement favorisant la croissance des *Candida* en inhibant les bactéries par la présence d'antibiotique.

Milieu CHROMagar™ *Candida* Plus est un milieu sélectif et chromogène. Il contient des inhibiteurs de bactéries et des substrats incolores qui seront hydrolysés par des enzymes de *Candida* donnent des produits colorés. Ces substrats sont la cible d'enzymes spécifiques à des espèces de *Candida* donnant des produits de couleurs différentes. Ce milieu permet une pré-identification de la *Candida* facilitant la sélection de colonies en vue de la réalisation d'un antifongogramme.

Q20. Préciser ce que représentent les scores donnés par l'automate.

Le score reflète le degré de similitude entre le spectre obtenu pour la souche étudiée et ceux enregistrés dans la base de données de l'automate. Un score >2 indique un degré suffisant pour valider l'identification.

Q21. Analyser les résultats présentés dans le document 10.

Contrôle *Candida auris* : scores : 2,6 et 2,4 > 2 : contrôle conforme

Contrôle *Candida parapsilosis* : scores : 2,2 et 2,3 > 2 : contrôle conforme

Le résultat de l'échantillon peut être lu.

Scores : 1,9 et 2,2.

Au moins un des doublons de chaque souche de contrôle doit générer un résultat ≥ 2 avec une identification correcte.

L'échantillon contient *Candida auris*

4.2. Test de sensibilité aux antifongiques

Q22. Analyser les résultats en se référant au document 11.

Pour Fluconazole (FC) : absence de zone d'inhibition de croissance autour de la bandelette : CMI $> 32\text{mg/L}$, la levure est résistante.

Pour l'amphotéricine B (AP) : CMI = $0,50\text{mg/L}$ $<$ concentration critique = 2mg/L : la levure est sensible.

Q23. Récapituler l'ensemble de la procédure et des résultats du dépistage de *C. auris*.

- 1- Prélèvement par écouvillonnage nasal,
- 2- Pré-culture d'enrichissement sur milieu liquide SSDB pendant 48h,
- 3- Isolement, à partir de la pré-culture, sur milieu chromogène CHROMagar™ Candida Plus incubé en aérobiose à $30-37^\circ\text{C}$ pendant 24 à 48h,
- 4- Repérage des colonies bleues claires avec un halo bleu orientant vers *C. auris*,
- 5- Identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF,
- 6- Antifongigramme :
 - FC : résistant
 - AP : sensible

E43 Hématologie Anatomopathologie et Immunologie

2025 corrigé

GREFFE DE CELLULES SOUCHES HEMATOPOÏÉTIQUES

1. Bilan pré-greffe du receveur

Q1. (C3) Le patient présente :

- une anémie (concentration en hémoglobine $< 13\text{g/dL}$) macrocytaire (VGM $> 98\text{ fL}$) normochrome (CCMH normale) avec anisocytose (IDR $> 15\%$) arégénérative (numération normale des réticulocytes) avec de rares érythroblastes circulants
- une thrombopénie sévère (numération des plaquettes $<$ valeur physiologique de référence) confirmée sur frottis (absence d'agrégats)
- une hyperleucocytose (numération des GB $> 11 \cdot 10^3/\mu\text{L}$) due à une forte blastose sanguine, une légère myélémie (quelques myélocytes et métamyélocytes circulants) mais une discrète lymphopénie.

Q2. (C1) La photo 1B représente un blaste myéloïde (1) avec :

- (2) un cytoplasme (habituellement basophile)
- (3) un corps d'Auer
- Un noyau à chromatine lâche (5) et deux nucléoles (4).

Q3. (C4) La présence de nombreux blastes circulants oriente vers une leucémie aiguë et la présence de bâtonnet d'Auer confirme le caractère myéloïde de cette leucémie aiguë. L'envahissement de la moelle par les blastes explique par ailleurs l'anémie de cause centrale et la thrombopénie.

Q4- On observe un résultat entre -2 et -3 S (écart-types), qui selon le document 1B indique une alarme 1_{2S} activée $\rightarrow$ En suivant le logigramme, on ne note pas d'activation des alarmes 1_{3S} ni 2_{2S} ni R_{4S} $\rightarrow$ CIQ conforme ce qui valide la série de patients depuis le précédent CQI conforme. Il faudra cependant être vigilant lors du prochain passage de ce CQI.

Q5. Bilan d'hémostase :

- Le temps d'occlusion plaquettaire est très allongé : cela indique un déficit de l'hémostase primaire, ici très certainement liée au déficit en plaquettes
- Le taux de prothrombine (TP) est normal : pas de d'anomalie de la voie exogène de la coagulation
- Le TCA est normal : pas d'anomalie de la voie endogène de la coagulation
- Concentration normale en fibrinogène
 - $\Rightarrow$ Pas de déficit de la coagulation mais le patient est exposé à un risque hémorragique dû à un déficit sévère en plaquettes perturbant l'hémostase primaire

2. Recherche d'un donneur compatible.

Q6. Les molécules HLA étant très polymorphes et présentes en surface de la plupart des cellules, une incompatibilité HLA peut être responsable d'une activation des lymphocytes du receveur contre les molécules HLA des cellules du donneur (considérées comme du « non soi ») dans les cas de dons d'organe par exemple. La réaction immunitaire spécifique entraîne le rejet du greffon.

Dans le cas de la greffe de cellules souches, le receveur est rendu immuno-incompétent par destruction des cellules de la moelle et des lymphocytes : les lymphocytes issus de la greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) peuvent générer une réaction immunitaire contre les molécules HLA du receveur (= réaction de rejet du greffon contre l'hôte).

Q7- Schéma du mécanisme moléculaire conduisant à la lyse des lymphocytes par un anticorps anti-HLA A2 par exemple.

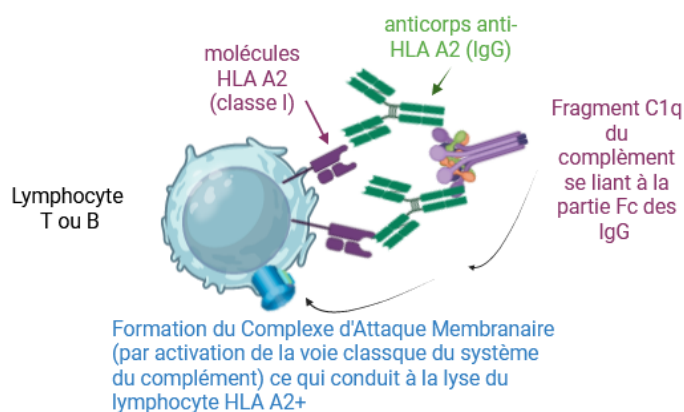


Schéma avec BioRender.com

Q8- Les conditions de prélèvement et de préparation de l'échantillon :

- Prélever le sang veineux dans un tube avec anti-coagulant (Citrate dextrose ACD ou héparine de sodium).
- Acheminer puis traiter le prélèvement au laboratoire dans les 48h, à température ambiante (20-25°C) et en maintenant le prélèvement horizontalement
- Trier les lymphocytes T et B (isolement des cellules mononucléées du sang total sur gradient de concentration et tri LT / LB)
- Ajuster la suspension à 2×10^6 cellules par mL

Q9- Le CNQ permet de s'assurer de la compétence du laboratoire pour le phénotypage HLA I et II (réception, traitement de l'échantillon, phénotypage et rendu des résultats). Cela permet de comparer les résultats d'une même analyse sur un même échantillon entre tous les LBM à l'échelle nationale (organisé par l'ANSM)

Q10- Phénotypage HLA du CNQ :

- Le témoin de viabilité est satisfaisant (T négatif < 10%) et bonne réactivité du complément (témoin positif > 81 %). Pour le phénotypage HLA II, la pureté des LB est satisfaisante (+ de 61 % de lyse) : les témoins donnent les résultats attendus ce qui permet d'exploiter l'ensemble des résultats.
- Les cases grisées (résultats positifs) indiquent que l'anticorps réactif s'est lié aux molécules HLA correspondantes en surface des lymphocytes testés et a permis

l'activation du complément et donc la lyse des lymphocytes. A l'inverse, un résultat négatif (cases blanches et pas ou très peu de lyse) indique l'absence de l'antigène HLA correspondant à l'anticorps réactif.

Le phénotype HLA du CNQ est donc :

- Phénotype de classe I du CNQ : HLA -A2, A24 ; HLA- B13, B54 ; HLA-CW3, CW4
- Phénotype de classe II du CNQ HLA DR12, DR15 ; HLA DQ3, DQ9 ; HLA DP1, DP11

Q11- L'avis de l'ANSM est conforme puisque le phénotype attendu est aussi celui rendu par le laboratoire.

Q12- Le phénotype HLA du receveur est le suivant :

HLA-A1, A24 ; HLA-B13, B27 / ; HLA –CW3, CW6

HLA-DR 15, DR52 ; HLA-DQ3, DQ 6 ; HLA DP1, DP11

Pour éviter une réaction de rejet du greffon contre l'hôte, il faut éviter la greffe de cellules lymphoïdes qui pourraient réagir contre une molécule HLA absente chez le donneur et favoriser la greffe de cellules totalement histocompatibles avec le même phénotype HLA I et II.

➔ Le donneur 3 est histocompatible (de même phénotype HLA que le receveur).

3- Conditionnement du patient avant transfusion des cellules souches hématopoïétiques.

Q13- Le paramètre principal attendu sera celui de la numération des leucocytes avec une disparition des blastes circulants et des autres leucocytes (dont les lymphocytes).

4- Suivi du post-greffe

Q14- La ciclosporine empêchant la synthèse d'IL2 par les lymphocytes activés (la ciclosporine se liant à la cyclophiline contribue à bloquer l'expression du gène de l'IL2 des lymphocytes), la réponse immunitaire adaptative des lymphocytes T spécifiques de molécules non compatibles est bloquée (pas de signal 3 d'activation). La réaction du rejet est limitée.

Q15- Pour vérifier le succès de la greffe, les paramètres de la NFS suivants sont analysés régulièrement :

- Concentration en hémoglobine : anémie de moins en moins forte
- Numération des plaquettes : reprise progressive de la production des plaquettes
- Numération des leucocytes et formule leucocytaire : une numération leucocytaire normale, sans réapparition de blastes ni de signes indiquant une activation des lymphocytes.

Ils permettent de vérifier la disparition de l'aplasie (causée par le traitement), la reprise des fonctions hématopoïétiques grâce à la greffe de cellules souches et l'absence de réapparition des blastes leucémiques.