

Annales du BTS

Analyses de biologie

médicale (ABM)

Nous avons rassemblé dans ces annales les sujets de la session 2012 et 2013 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 gratuitement sur ce site.

Vous pourrez transmettre vos commentaires par courriel à :

jpaubrunet@wanadoo.fr ou jnjoffin@wanadoo.fr

Sommaire

Annales du BTS Analyses de biologie médicale (ABM)	1
Définition de la nature des épreuves	3
SESSION 2012	9
E2-U21 Mathématiques 2012.....	9
E3 Sciences physiques et chimiques 2012.....	12
E41 Biochimie 2012.....	19
E 42 Microbiologie 2012.....	21
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2012	28
E5 Analyses de Biologie Médicale 2012	31
E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2012.....	31
E5-U52 Analyses de microbiologie médicale	36
2012	36
E53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales 2012.....	39
SESSION 2013	43
E2-U21 Mathématiques 2013.....	43
E3 Sciences physiques et chimiques 2013.....	46
E41 Biochimie 2013.....	51
E42 Microbiologie 2013.....	57
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2013	62
E5 Analyses de Biologie Médicale 2013	67
E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2013.....	67
E5-U52 Analyses de Microbiologie médicale 2013	73
E53 Analyses d'hématologie et d'anatomopathologie médicales 2013.....	78
Éléments de corrigés.....	81
SESSION 2012	82
E2 Mathématiques 2012 corrigé	82
E3 Sciences physiques et chimiques 2012 corrigé	86
E41 Biochimie 2012 corrigé	90
E42 Microbiologie 2012 corrigé.....	96
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2012 corrigé	102
SESSION 2013	105
E2 Mathématiques 2013 corrigé	105
E3 Sciences physiques et chimiques 2013 corrigé	109
E41 Biochimie 2013 corrigé	112
E42 Microbiologie 2013 corrigé.....	118
E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2013 corrigé	122

Définition de la nature des épreuves

RÈGLEMENT D'EXAMEN

Le tableau indique les différentes épreuves théoriques ou pratiques.

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

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

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

Aucune absence n'est admise.

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

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

Définition des épreuves

E1 Langue Vivante Étrangère

Objectifs

L'épreuve a pour but d'évaluer

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

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

L'usage du dictionnaire bilingue est autorisé.

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

Formes de l'évaluation

- Contrôle en cours de formation

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

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

Durée 1h, coefficient 1

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

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

Deuxième situation d'évaluation : expression en langue étrangère écrite

Durée 1h, coefficient 1

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

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

E2 Mathématiques

Finalités et objectifs de l'épreuve de mathématiques

Cette épreuve a pour objectifs :

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

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

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

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

- posséder les connaissances figurant au programme ;

- utiliser des sources d'information ;

- trouver une stratégie adaptée à un problème donné ;

- mettre en oeuvre une stratégie :

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

* argumenter,

* analyser la pertinence d'un résultat ;

- communiquer par écrit, voire oralement.

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

En tête des sujets doivent figurer les deux rappels suivants :

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

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

- Contrôle en cours de formation

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

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

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

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

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

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

E3 Sciences physiques et chimiques

Objectifs

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

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

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

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

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

- Contrôle en cours de formation

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

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

E4 Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale

Objectifs et finalités

L'épreuve a pour but de vérifier :

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

Unité 41 : Biochimie

Programme

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité 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 U42 : Microbiologie

Programme

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

À l'issue de chaque situation d'évaluation, dont le degré d'exigence est équivalent à celui requis pour l'épreuve ponctuelle correspondante, l'équipe pédagogique adresse au jury les sujets, les barèmes de correction et les fiches d'évaluation du travail réalisé par les candidats. Elle propose une note. Le jury pourra demander à avoir communication de tout autre document relatif à l'évaluation (copies...). Ces documents seront tenus à la disposition du jury et de l'autorité 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 U43 : Hématologie, anatomopathologie et immunologie

Programme

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

Formes de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

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

E5 Analyses de biologie médicale

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

Unité U51 : Analyses de biochimie médicale

Programme

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

Objectifs

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

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

L'évaluation porte sur :

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

l'organisation du travail ;

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

la précision et l'efficacité dans l'exécution ;

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

Forme de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

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

Unité U52 : Analyses de microbiologie médicale

Programme

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

Objectifs

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

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

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

L'évaluation porte sur :

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

- l'organisation du travail ;

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

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

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

Forme de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

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

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

Programme

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

Objectifs

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

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

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

L'évaluation porte sur :

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

Forme de l'évaluation

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

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

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

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

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

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

La première situation d'évaluation affectée du coefficient 2 porte sur le programme des activités technologiques des modules 1 et 4 d'hématologie.

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

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

E6 Soutenance de rapport de stages

Contenu de l'épreuve

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

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

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

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

Évaluation

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

L'évaluation porte essentiellement sur :

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

Forme du rapport

Le rapport comporte 30 pages au maximum, hors annexes.

Formes de l'évaluation

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

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

La répartition des points sera la suivante :

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

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

- Contrôle en cours de formation

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

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

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

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

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

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

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

Remarque générale :

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

Épreuve facultative : Langue étrangère 2

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

Modalités

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

Définition de l'épreuve

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

TABLEAU DE CORRESPONDANCES

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

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

SESSION 2012

E2-U21 Mathématiques

2012

Durée : 2 heures Coefficient 1

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

EXERCICE 1 (11 points)

Cet exercice propose l'étude de la contamination accidentelle d'un cours d'eau par un polluant.

La partie B est consacrée à l'étude d'une fonction qui permet d'exprimer, dans la partie C, la concentration de polluant dans l'eau en fonction du temps.

Les deux premières parties de l'exercice peuvent être traitées de façon indépendante.

A. Résolution d'une équation différentielle

On considère l'équation différentielle (E) : $y' + 0,25y = 3e^{-t}$, où y est une fonction de la variable réelle, définie et dérivable sur l'intervalle $[0; +\infty[$, et y' la fonction dérivée de la fonction y .

- Déterminer les solutions sur l'intervalle $[0; +\infty[$ de l'équation différentielle (E_0) : $y' + 0,25y = 0$
- Soit h la fonction définie sur l'intervalle $[0; +\infty[$ par : $h(t) = -4e^{-t}$.
Démontrer que h est une solution particulière de l'équation différentielle (E).
- En déduire l'ensemble des solutions de l'équation différentielle (E).
- Déterminer la solution f de l'équation différentielle (E) qui vérifie la condition initiale : $f(0) = 75$

B. Étude d'une fonction et calcul intégral

Soit f la fonction définie sur l'intervalle $[0; +\infty[$ par : $f(t) = 79e^{-0,25t} - 4e^{-t}$

On désigne par C la courbe représentative de la fonction f dans un repère orthogonal $(O; \vec{i}; \vec{j})$.

Sur l'axe des X l'unité est : 0,5 cm. Sur l'axe des y l'unité est : 0,25 cm.

- Déterminer la limite de la fonction f en $+\infty$. Que peut-on en déduire pour la courbe C ?
- a) Démontrer que pour tout t appartenant à l'intervalle $[0; +\infty[$:

$$f'(t) = e^{-0,25t}(-19,75 + 4e^{0,75t})$$

- Justifier que pour tout t appartenant à l'intervalle $[0; +\infty[$: $-19,75 + 4e^{0,75t} < 0$
 - En déduire le signe de $f'(t)$ et le sens de variation de la fonction f sur l'intervalle $[0; +\infty[$.
- a) Compléter, après l'avoir reproduit sur la copie, le tableau de valeurs suivant dans lequel

les valeurs de $f(t)$ seront arrondies au dixième.

t	0	5	10	15	20	25
$f(t)$		22,6		1,9	0,5	

- Construire la courbe C sur une feuille de papier millimétré.

4.

a) Démontrer que la valeur moyenne de la fonction f sur l'intervalle $[0, 20]$ est :

$$V_m = \frac{1}{20}(-316e^{-5} + 4e^{-20} + 312)$$

b) Donner la valeur approchée de V_m arrondie au dixième.

C. Exploitation des résultats de la partie B

On admet que, t semaines après la contamination, la concentration de polluant dans l'eau, exprimée en milligramme par litre, est $\frac{1}{3}f(t)$, où f est la fonction étudiée dans la partie B.

1. La baignade est sans danger lorsque la concentration de polluant dans l'eau est inférieure ou égale à 2,5 milligrammes par litre. En utilisant la courbe C construite au 3° b) de la partie B, déterminer au bout de combien de semaines la baignade peut être autorisée.

Laisser apparents les traits utiles sur le graphique.

2. Quelle est la valeur moyenne, au cours des 20 semaines suivant la contamination, de la concentration de polluant dans l'eau ?

EXERCICE 2 (9 points)

Toutes les parties de cet exercice peuvent être traitées de façon indépendante.

A. Probabilités conditionnelles

On rappelle que la probabilité qu'un événement E se réalise sachant qu'un événement F (de probabilité non nulle) est réalisé se note $P_F(E)$ et vérifie : $P_F(E) = \frac{P(E \cap F)}{P(F)}$

À la suite d'une campagne de vaccination lancée par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour lutter contre une pandémie, on estime que, dans une population donnée, il ne reste plus que 1% de personnes non vaccinées.

D'après une étude, on estime également que 95% des personnes vaccinées sont immunisées contre le virus de la pandémie et que 20% des personnes non vaccinées sont naturellement immunisées contre ce virus.

On choisit au hasard une personne dans la population concernée.

On note A l'événement : « la personne choisie est vaccinée »,

et B l'événement : « la personne choisie est immunisée contre le virus ».

1. Montrer que la probabilité que la personne choisie soit immunisée contre le virus est égale à 0,9425.

2. Calculer la probabilité que la personne choisie ait été vaccinée sachant qu'elle est immunisée contre le virus. Arrondir au millième.

B. Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

On admet que 1 % des personnes d'une population donnée n'a pas été vacciné.

On prélève au hasard 400 personnes de cette population. L'effectif de la population est assez important pour que l'on puisse assimiler ce prélèvement à un tirage avec remise de 400 personnes.

On considère la variable aléatoire X qui, à tout prélèvement de 400 personnes, associe le nombre de personnes de ce prélèvement n'ayant pas été vaccinées.

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

2. Calculer la probabilité qu'un prélèvement de 400 personnes contienne au plus une personne non vaccinée. Arrondir au millième.

3. On admet que la loi de X peut être approchée par une loi de Poisson.

a) Déterminer le paramètre λ de cette loi de Poisson.

b) On désigne par X_1 une variable aléatoire suivant la loi de Poisson de paramètre λ , où λ a la valeur obtenue au a).

Calculer une valeur approchée de $P(X_1 > 5)$ arrondie au millième.

Interpréter le résultat obtenu dans le contexte de l'exercice.

C. Approximation d'une loi binomiale par une loi normale

On estime que 20% des personnes non vaccinées sont naturellement immunisées contre le virus.

Parmi les personnes non vaccinées, on prélève au hasard 200 personnes.

On considère la variable aléatoire Y qui, à tout prélèvement de 200 personnes parmi les personnes non vaccinées, associe le nombre de personnes de ce prélèvement qui ne sont pas immunisées contre le virus.

On admet que Y suit la loi binomiale de paramètres 200 et 0,8.

1. On considère que la loi suivie par Y peut être approchée par une loi normale.

Montrer que les paramètres de cette loi normale sont :

$m=160$ et $S \approx 5,66$ (valeur de S arrondie au centième).

2. On désigne par Y_1 une variable aléatoire suivant la loi normale de paramètres $m=160$ et $S \approx 5,66$.

On souhaite calculer la probabilité qu'il y ait, dans un prélèvement de 200 personnes, entre 155 et 165 personnes non immunisées contre le virus en utilisant la loi de Y_1 et en tenant compte de la correction de continuité.

Pour cela, calculer une valeur approchée de $P(154,5 \leq Y_1 \leq 165,5)$ arrondie au centième.

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Cirulaire n°99-186, 16/11/1999).

Tout autre matériel est interdit.

Document à rendre avec la copie :

- Annexe 3 et annexe 4

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

Le sujet est composé de trois exercices indépendants.

Les trois exercices comportent plusieurs parties qui peuvent être traitées séparément.

L'iode et la thyroïde

Les hormones produites par la glande thyroïde sont la tétraiodothyronine, aussi appelée thyroxine, et la triiodothyronine. Elles sont indispensables en particulier pour le développement du système nerveux central et pour la croissance du squelette. Elles augmentent notamment la thermogénèse, sont hyperglycémiantes et ont un effet hypocholestérolémiant. Une affection de la glande thyroïde induit ainsi des dérèglements qui peuvent être importants.

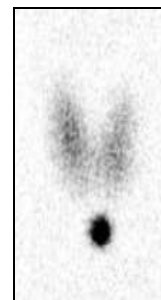
Dans ce sujet, on s'intéresse à deux modes de dépistage de dysfonctionnement (exercice 1), on se penche sur la synthèse chimique de la L-thyroxine, principe actif d'un médicament substitutif de la thyroxine naturelle (exercice 2) puis on étudie la composition d'un comprimé d'iodure de potassium destiné à saturer la thyroïde en iode non radioactif en cas d'accident nucléaire (exercice 3).

Exercice 1 : dépistage d'une affection thyroïdienne (6,5 points)

Partie 1 : scintigraphie de la thyroïde

Historiquement, la scintigraphie a été la première méthode d'imagerie thyroïdienne. Elle nécessite l'injection d'un isotope radioactif de l'iode (^{123}I ou ^{131}I) ou du technétium (^{99}Tc).

L'iode 123 est devenu l'isotope de référence mais l'iode 131 permet le suivi des cancers thyroïdiens. L'iode 131 est radioactif β^- et a un temps de demi-vie $t_{1/2}$ de 8 jours. Il s'accumule dans la thyroïde de la même façon que tous les autres isotopes de l'iode.



Exemple de scintigraphie d'une thyroïde présentant un nodule



Exemple de scintigraphie d'une thyroïde sans pathologie

1.1. Un nucléide peut être représenté par la notation ${}^A_Z\text{X}$. Donner la signification des différents termes.

1.2. Parmi les 37 isotopes que compte l'iode, un seul, l'iode 127, est stable.

1.2.a. Définir l'expression « isotopes d'un élément ».

1.2.b. Donner la composition du noyau d'un atome d'iode 127 sachant que son numéro atomique est $Z = 53$.

1.3.

1.3.a. Que signifie l'expression « l'iode 131 est radioactif β^- » ?

1.3.b. Écrire l'équation de la désintégration d'un noyau $^{131}_{53}\text{I}$ en explicitant les lois permettant l'écriture de cette équation de désintégration. Identifier le noyau fils obtenu, à l'aide du tableau périodique donné en annexe 1.

1.3.c. Donner la définition du temps de demi-vie (ou période radioactive) $t_{1/2}$ de l'iode 131.

Pour passer un examen de contrôle de la thyroïde par scintigraphie, un malade ingère une dose d'iode 131 de masse égale à $3,0 \cdot 10^{-8}$ g, sous forme d'une gélule d'iodure de sodium ou de potassium. La dose injectée est en général comprise entre 111 et 185 MBq.

1.4.

1.4.a. Vérifier que $1,4 \cdot 10^{14}$ noyaux d'iode 131 sont présents dans l'échantillon injecté. On rappelle que le nombre d'Avogadro vaut $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ et que la masse molaire de l'iode 131 vaut $131 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

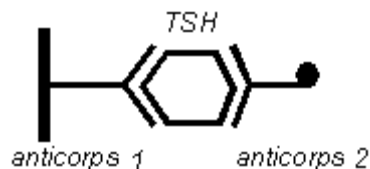
1.4.b. En déduire l'activité A_0 de cette gélule. Cette activité est-elle conforme à la norme ? On rappelle que $1 \text{ MBq} = 10^6 \text{ Bq}$. La constante de désintégration radioactive de l'iode 131 vaut : $\lambda = 1,0 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$.

1.4.c. Montrer que l'activité de la gélule sera égale à 1% de son activité initiale au bout de 53 jours. On rappelle que l'activité évolue selon la loi $A = A_0 e^{-\lambda t}$.

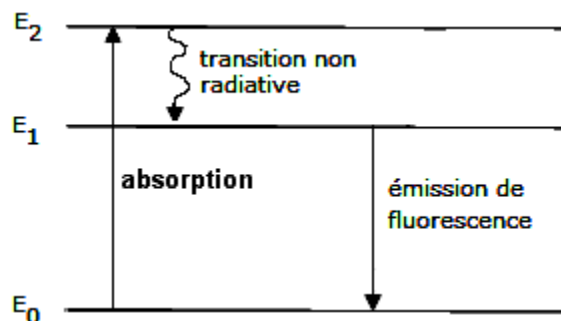
1.4.d. Le temps de demi-vie de l'iode 131 est de 8 jours, celui de l'iode 123 est de 13,2 h. Justifier sans calcul, le fait que, depuis quelques années, on utilise cet isotope de l'iode, plutôt que l'iode 131, en imagerie médicale.

Partie 2 : détermination indirecte du taux de thyroxine libre

La régulation de la production des hormones thyroïdiennes se fait par une hormone sécrétée par l'antéhypophyse, la thyrostimuline ou TSH. En dosant la TSH, il est possible de déterminer de manière indirecte le taux de thyroxine libre. La technique utilisée est celle de la spectrofluorimétrie. Pour réaliser ce type de mesure, on forme un complexe en intégrant la TSH entre deux anticorps dont l'un est fluorescent.



Le phénomène de fluorescence s'explique à partir du diagramme énergétique du complexe anticorps 1-<TSH>-anticorps 2, ci-dessus. Pour simplifier, on supposera que le complexe anticorps 1-<TSH>-anticorps 2 présente un diagramme énergétique identique à celui d'un atome.



On envoie une radiation dont la longueur d'onde fait passer le complexe de l'état de plus basse énergie E_0 à l'état excité d'énergie E_2 . La fluorescence s'explique par le fait qu'une transition non radiative (c'est-à-dire n'émettant pas de photon) le ramène dans un état intermédiaire d'énergie E_1 . La fluorescence s'observe ensuite lorsque le complexe passe du niveau E_1 au niveau E_0 .

1.5.a. Comment s'appelle le niveau d'énergie E_0 ?

1.5.b. Donner, en fonction des énergies E_0 et E_2 , l'expression de la fréquence de la radiation d'excitation absorbée lors du passage du niveau E_0 au niveau E_2 .

1.5.c. Donner, en fonction des énergies E_0 et E_1 , l'expression de la fréquence de la radiation émise lors du passage du niveau E_1 au niveau E_0 .

1.5.d. Que penser de l'affirmation « le spectre de fluorescence est décalé vers les grandes longueurs d'onde par rapport à celui de l'absorption » ?

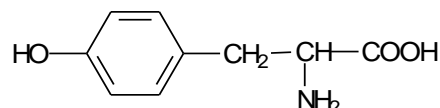
Exercice 2 : traitement substitutif (6,5 points)

La thyroxine, hormone sécrétée par la glande thyroïde, a été découverte en 1920 par Kendall. En 1930, Harington et Salter ont identifié la thyroxine naturelle à l'isomère L.

La synthèse de la L-thyroxine, constituant principal du lévothyrox® utilisé comme traitement substitutif pour remplacer la thyroxine naturelle lorsque celle-ci n'est plus sécrétée en quantité suffisante par la thyroïde, a été réalisée à partir de la L-tyrosine en 1949.

Partie 1 : étude spatiale de la molécule de tyrosine

2.1. La formule semi-développée plane de la tyrosine est représentée ci-contre :



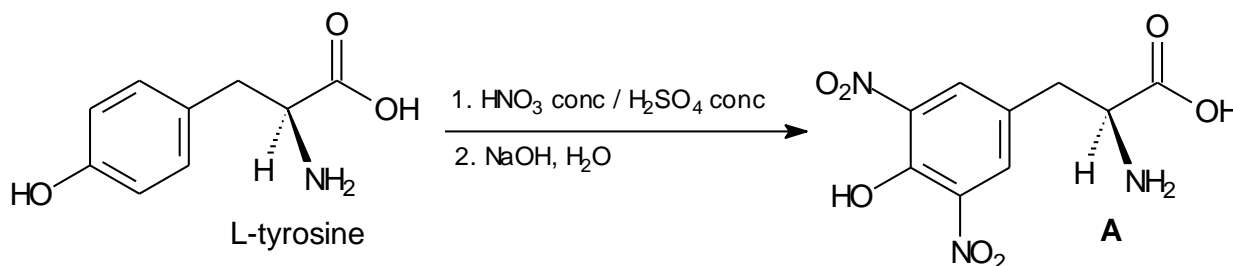
2.1.a. Combien de stéréoisomères la tyrosine possède-t-elle ?

2.1.b. Indiquer la relation de stéréoisomérisie existant entre les différents stéréoisomères.

2.1.c. Faire une représentation de Fischer de la L-tyrosine.

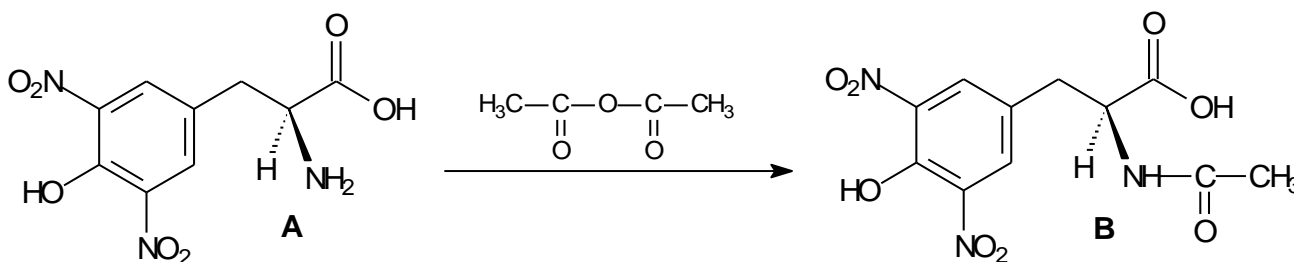
Partie 2 : étude de quelques étapes de la synthèse chimique de la L-tyrosine

2.2. La première étape de la synthèse consiste à faire réagir la L-tyrosine avec un mélange sulfonitrique (mélange acide sulfurique concentré – acide nitrique concentré) à 0 °C puis à traiter le milieu réactionnel par de la soude (hydroxyde de sodium) jusqu'à un pH neutre. Après purification, on obtient un solide **A**. Lors de cette réaction, l'entité réactive est l'ion nitronium NO_2^+ .



Préciser la nature de cette réaction (addition, substitution, élimination,..., électrophile, nucléophile, radicalaire).

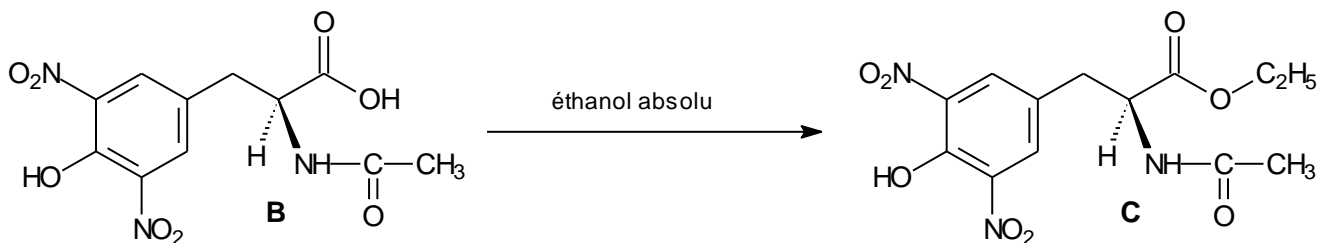
2.3. La deuxième étape de la synthèse consiste en l'action de l'anhydride acétique sur **A**. Après divers traitements, on obtient le composé **B**.



2.3.a. Indiquer le nom de la nouvelle fonction créée.

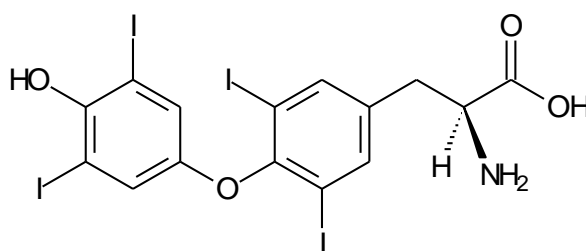
2.3.b. Donner le nom de la liaison C—N formée.

2.4. Lors de la troisième étape, on réalise l'estérification de **B** avec de l'éthanol absolu (éthanol de pureté 100 %), en présence d'un acide fort. Après extraction et purification, on obtient le composé **C**.



- 2.4.a. Écrire l'équation de la réaction en écrivant **B** sous la forme R—COOH.
 2.4.b. Indiquer les propriétés d'une réaction d'estérification.
 2.4.c. Préciser le rôle de l'acide fort.
 2.4.d. Lors de cette réaction, l'éthanol est introduit en très gros excès. Pourquoi ?
 2.4.e. Pourquoi est-il indispensable d'utiliser de l'éthanol absolu ?

2.5. Après six autres étapes, on obtient la L-thyroxine dont la formule est représentée ci-dessous ainsi qu'en annexe 2 :



- 2.5.a. Indiquer sur l'annexe 2 à rendre avec la copie la position de l'unique carbone asymétrique de cette molécule.
 2.5.b. Montrer que ce carbone asymétrique est de configuration absolue S.

Exercice 3 : saturation de la thyroïde par l'iodure de potassium (7 points)

L'iode est toujours administré sous forme d'iodure de sodium ou de potassium.

Dans le cas d'un accident nucléaire, de nombreux radionucléides volatils, produits de fission, peuvent être relâchés. L'un des plus communs est l'iode 131, dont on a étudié la désintégration dans l'exercice 1 et qui a la particularité d'être fortement assimilé par la thyroïde, pouvant mener à des cancers de la thyroïde. En saturant celle-ci, avant exposition, avec un autre isotope de l'iode non radioactif, l'iode 127 (¹²⁷I), par ingestion de comprimés d'iodure de potassium KI, on observe une diminution de l'absorption d'iode radioactif d'un facteur supérieur ou égal à 90.

En pratique, les comprimés d'iodure de potassium KI sont préparés par la Pharmacie Centrale des Armées sous la forme de plaquettes de 10 comprimés sécables dont la durée de conservation est de 5 ans.

Chaque comprimé contient 130 mg d'iodure de potassium.



On se propose de doser, par précipitation, les ions iodures contenus dans un comprimé d'iodure de potassium de façon à vérifier la validité des comprimés, la solution titrante étant une solution étalonnée de nitrate d'argent ($\text{Ag}^+_{(\text{aq})} + \text{NO}_3^-_{(\text{aq})}$).

L'iodure d'argent $\text{AgI}_{(\text{s})}$ est un solide ionique jaune peu soluble dans l'eau dont le pK_S vaut 16,2 à 25 °C.

3.1. Ecrire l'équation de la réaction de dosage et justifier que c'est une réaction quantitative.

Par dissolution d'un comprimé d'iodure de potassium préparé par la Pharmacie Centrale des Armées dans $V_0 = 100 \text{ mL}$ d'eau, on obtient la solution S.

Dosage par conductimétrie

On dose les ions iodures contenus dans le volume $V_0 = 100$ mL de solution S à l'aide d'une solution de nitrate d'argent de concentration $C_{Ag^+} = 0,130 \text{ mol.L}^{-1}$ placée dans une semi-microburette. On effectue un suivi de la conductivité du milieu et on obtient la courbe représentée en annexe 3 page 9 à rendre avec la copie.

3.2. À l'aide des valeurs des conductivités molaires ioniques à 25 °C des ions présents dans le milieu et en supposant que l'on peut négliger la variation du volume lors du dosage, justifier qualitativement l'allure de la courbe.

ion	$Ag^+_{(aq)}$	$NO_3^-_{(aq)}$	$I^-_{(aq)}$	$K^+_{(aq)}$
$\lambda_i^0 / \text{mS.m}^2.\text{mol}^{-1}$	6,19	7,14	7,68	7,35

3.3. Déterminer graphiquement le volume équivalent V_E .

3.4. Définir l'équivalence et en déduire la relation existant entre la quantité n_0 d'ions iodures contenus dans un comprimé, V_E et C_{Ag^+} .

3.5. En déduire la masse m d'iodure de potassium contenue dans le comprimé utilisé. Le comprimé est-il conforme à ce qui est inscrit sur la boîte ?

3.6. Calculer la concentration en ions iodures C_{I^-} de la solution S.

3.7. Sachant qu'une goutte a un volume de 0,05 mL, montrer qu'il y a précipitation de $AgI_{(s)}$ dès la 1^{ère} goutte de nitrate d'argent versée.

Dosage par potentiométrie

Il est aussi possible de faire le dosage des ions iodures contenus dans $V_0 = 100$ mL de solution S à l'aide de la même solution de nitrate d'argent de concentration $C_{Ag^+} = 0,130 \text{ mol.L}^{-1}$ par potentiométrie. On mesure alors la différence de potentiel ΔE entre une électrode d'argent et une électrode de référence en fonction du volume de la solution de nitrate d'argent versé. On obtient la courbe représentée en annexe 4 à rendre avec la copie.

3.8. Déterminer graphiquement le volume équivalent V_E .

3.9. Les deux dosages donnent-ils des résultats concordants ?

Annexe 1

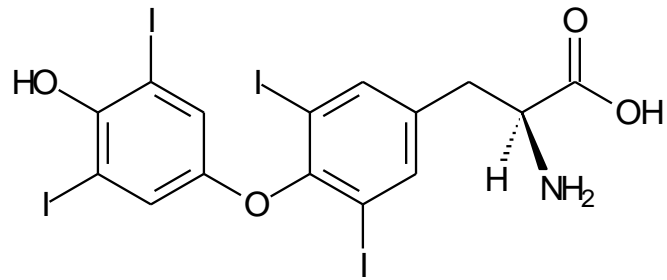
M : masse molaire atomique (g.mol^{-1})

X : symbole de l'élément

Z : numéro atomique

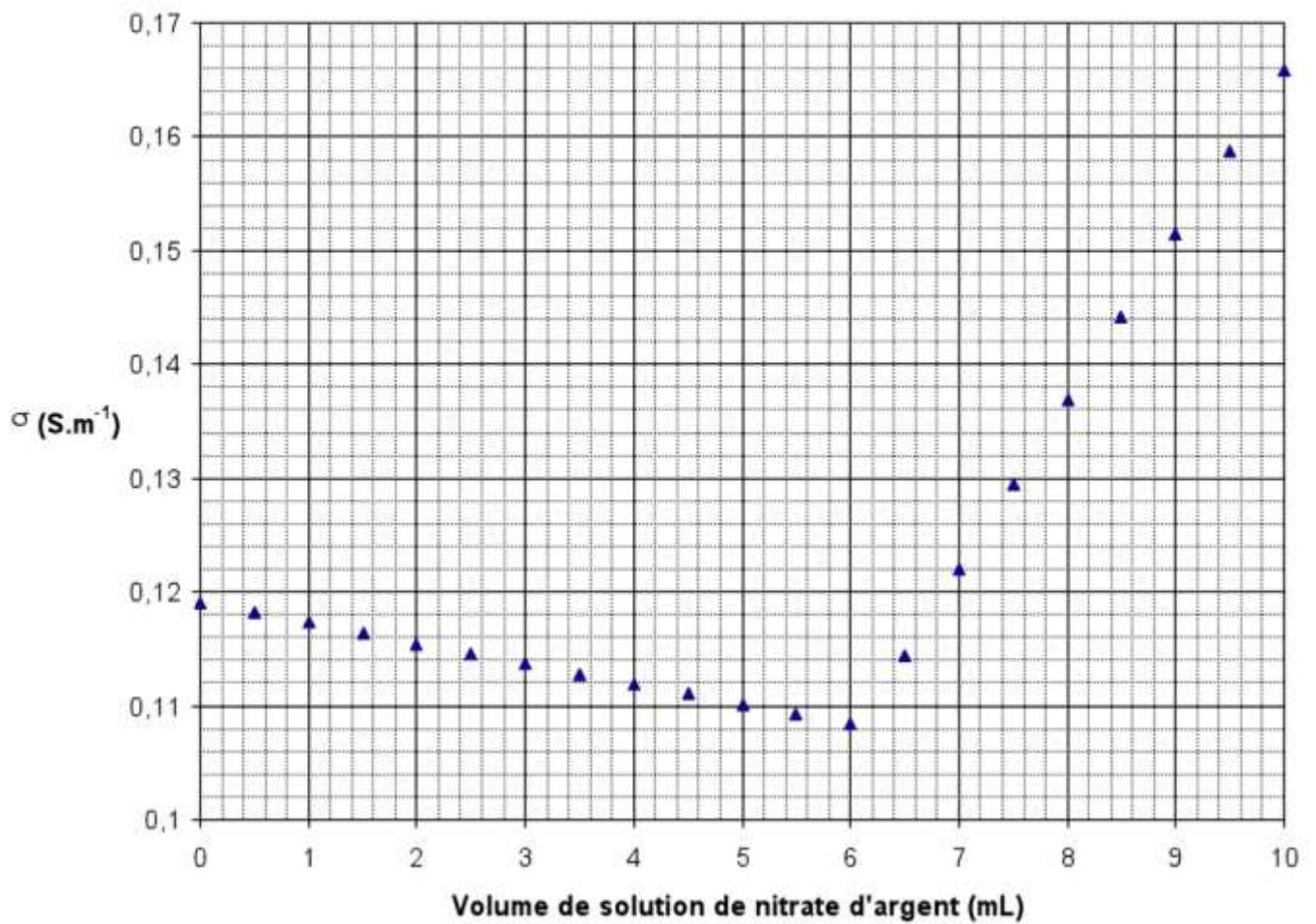
1 1,0 ₁ H	2 9,0 ₃ Li 24,3 ₄ Be	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13 10,8 ₅ B 27,0 ₁₃ Al	14 12,0 ₆ C 28,1 ₁₄ Si	15 14,0 ₇ N 31,0 ₁₅ P	16 16,0 ₈ O 32,1 ₁₆ S	17 19,0 ₉ F 35,5 ₁₇ Cl	18 4,0 ₂ He 20,2 ₁₀ Ne 39,9 ₁₈ Ar
23,0 ₁₁ Na	40,1 ₁₂ Mg	45,0 ₂₁ Sc	47,9 ₂₂ Ti	50,9 ₂₃ V	52,0 ₂₄ Cr	54,9 ₂₅ Mn	55,8 ₂₆ Fe	58,9 ₂₇ Co	58,7 ₂₈ Ni	63,5 ₂₉ Cu	65,4 ₃₀ Zn	69,7 ₃₁ Ga	72,6 ₃₂ Ge	74,9 ₃₃ As	79,0 ₃₄ Se	79,9 ₃₅ Br	83,8 ₃₆ Kr
85,5 ₃₇ Rb	87,6 ₃₈ Sr	88,9 ₃₉ Y	91,2 ₄₀ Zr	92,9 ₄₁ Nb	95,9 ₄₂ Mo	98 ₄₃ Tc	101,1 ₄₄ Ru	102,9 ₄₅ Rh	106,4 ₄₆ Pd	107,9 ₄₇ Ag	112,4 ₄₈ Cd	114,8 ₄₉ In	118,7 ₅₀ Sn	121,8 ₅₁ Sb	127,6 ₅₂ Te	126,9 ₅₃ I	130,3 ₅₄ Xe

Annexe 2

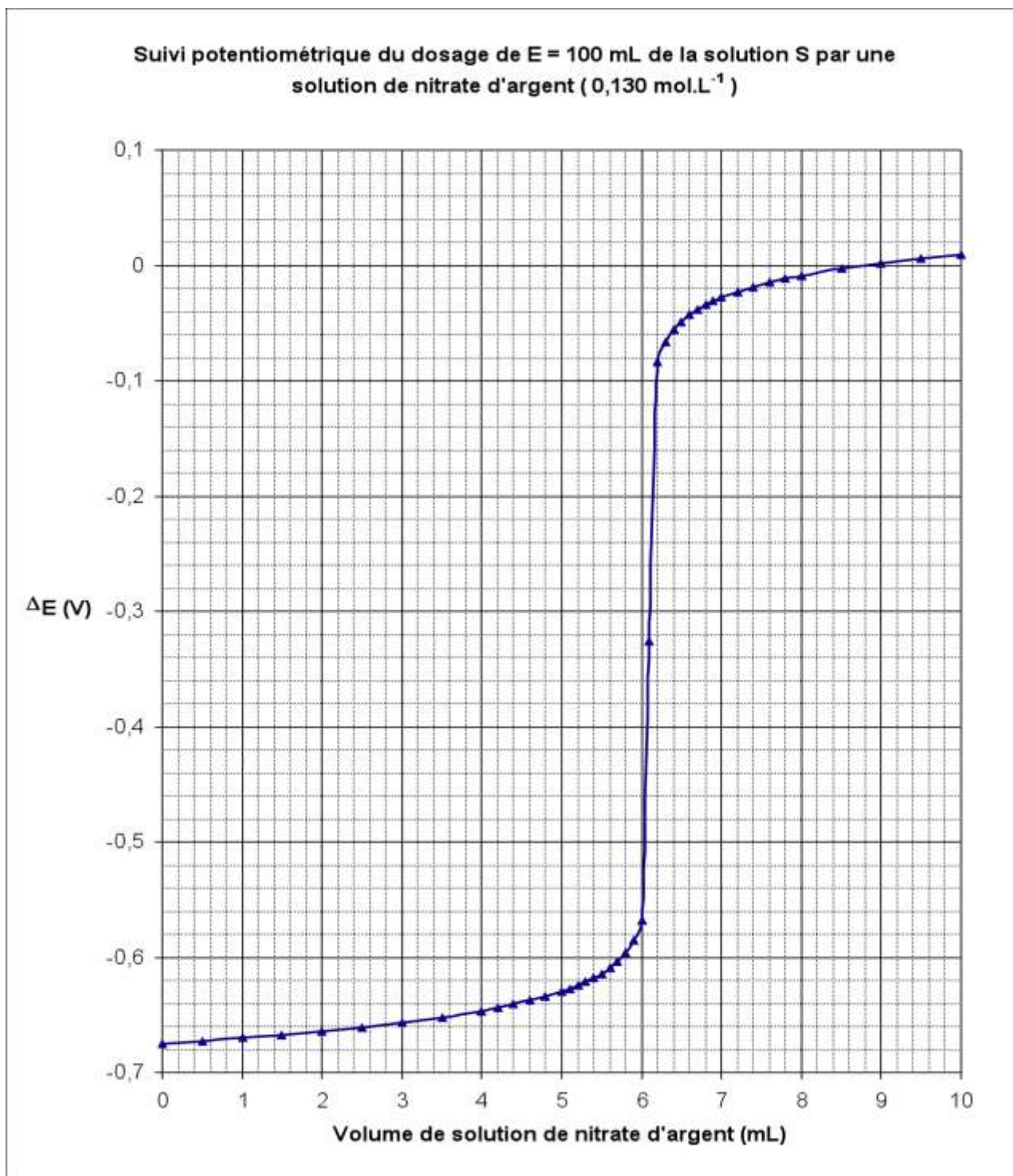


Annexe 3 : à rendre avec la copie

Suivi conductimétrique du dosage de E = 100 mL de la solution S par une solution de nitrate d'argent (0,130 mol.L⁻¹)



Annexe 4 : à rendre avec la copie



Aucun document autorisé.

Calculatrice interdite.

L'HYPOTHYROÏDIE LIÉE À UN DEFICIT EN IODE

L'iode est un élément minéral indispensable à l'organisme car essentiel à la synthèse des hormones thyroïdiennes. Les apports quotidiens d'iode doivent compenser les pertes physiologiques.

L'organisation mondiale de la santé a fixé à 100 µg l'apport minimal journalier souhaitable pour un adulte. Un apport iodé inférieur à 25 µg par jour entraîne à terme une hypothyroïdie. En cas d'apport alimentaire insuffisant, une supplémentation est nécessaire.

1. Les hormones thyroïdiennes (21 points)

1.1. Les hormones T3 (tri-iodothyronine) et T4 (tétra-iodothyronine ou thyroxine) produites par la glande thyroïde résultent de l'iodation de composés dérivés d'un acide aminé, la L-tyrosine.

1.1.1. Donner la définition d'une hormone.

1.1.2. Écrire la formule générale d'un acide aminé.

1.1.3. Justifier l'inefficacité de la D-tyrosine comme substrat de la synthèse de ces hormones.

1.1.4. Indiquer la caractéristique structurale de la chaîne latérale de la tyrosine. En déduire la propriété spectrale caractéristique de cet acide aminé.

1.2. La synthèse de ces hormones nécessite une entrée d'ions iodure (I^-) dans les cellules des follicules thyroïdiens. Elle s'effectue grâce à un symport Na^+/I^- selon un transport actif secondaire.

1.2.1. Donner les caractéristiques des transports actifs.

1.2.2. Présenter sous la forme d'un schéma annoté, les différents éléments mis en jeu dans le transport actif secondaire des ions iodures.

1.3. La synthèse des hormones T3 et T4 se poursuit avec la fixation d'iode sur des résidus de tyrosine d'une protéine synthétisée dans les cellules des follicules thyroïdiens : la thyroglobuline.

Cette protéine est le produit d'un gène de plus de 200 kpb localisé sur le chromosome 8.

Elle contient 1749 acides aminés auxquels s'ajoute un peptide signal de 19 acides aminés.

Sa structure primaire a été déduite de la séquence de l'ADNc (ou cDNA) correspondant.

1.3.1. Indiquer la signification du terme « ADNc ».

1.3.2. Indiquer les étapes nécessaires à l'obtention in vitro d'un ADNc à partir d'ARN messenger purifié.

1.3.3. A partir des données du 1.3, déduire la taille de l'ADNc correspondant à la thyroglobuline.

1.3.4. A l'aide d'un schéma légendé, présenter les différentes étapes allant du gène à la synthèse d'une chaîne polypeptidique en précisant leur localisation cellulaire.

1.3.5. Préciser l'information indiquant le caractère sécrétoire de la thyroglobuline.

1.4. Les hormones T3 et T4 sont véhiculées dans le plasma liées à des protéines dont une protéine spécifique : la TBG (Thyroxin Binding Globulin).

1.4.1. Justifier l'utilité de protéines plasmatiques pour le transport des hormones thyroïdiennes.

1.4.2. Citer une protéine plasmatique non spécifique susceptible de transporter les hormones thyroïdiennes.

1.4.3. L'association entre les hormones thyroïdiennes et la TBG suit un modèle michaélien.

Donner l'allure de la courbe représentant la vitesse de liaison de l'hormone à la TBG en fonction de la concentration en hormone libre. Préciser et donner la signification des deux paramètres pouvant être déterminés à l'aide de cette courbe.

1.5. Présenter le mode d'action des hormones thyroïdiennes. Citer une autre famille d'hormones agissant de la même manière.

1.6. La régulation de la sécrétion des hormones T3 et T4 est notamment sous la dépendance de la TSH (*Thyroid Stimulating Hormon*) et de la TSH-RH (*TSH-Releasing Hormon*) désignée aussi par TRH (*Thyreotropin Releasing Hormon*).

1.6.1. Pour les hormones TRH et TSH, présenter dans un tableau :

- les cellules sécrétrices
- le tissu cible
- le rôle.

1.6.2. Indiquer l'action de T3 et T4 sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. Justifier le sens de variation du taux de TSH en cas d'hypothyroïdie.

2. Mise en évidence et étude au laboratoire d'analyses médicales d'une hypothyroïdie par carence en iode (12,5 points)

Lors d'une suspicion d'hypothyroïdie par carence en iode, le dosage urinaire des iodures doit être réalisé.

2.1. Dosage des iodures urinaires

La carence en iode peut être mise en évidence par une diminution de l'élimination urinaire des ions iodures. Ce dosage des iodures peut être réalisé par plusieurs méthodes. Le laboratoire teste deux d'entre elles sur un échantillon de contrôle à $0,400 \mu\text{mol.L}^{-1}$ d'ions iodures et obtient les paramètres suivants à partir de 40 essais :

	Première méthode	Deuxième méthode
Moyenne (en $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	0,358	0,392
Écart-type (en $\mu\text{mol.L}^{-1}$)	0,027	0,021
Coefficient de variation (%)	7,54	5,35

2.1.1. Les essais ont été réalisés en condition de répétabilité. Définir le terme « répétabilité ».

2.1.2. Donner les formules permettant de calculer le biais et le coefficient de variation.

2.1.3. Indiquer un paramètre qui évalue la fidélité. Justifier la réponse.

2.1.4. Comparer les caractéristiques métrologiques des deux méthodes et conclure.

2.2. Pour préciser le diagnostic, parallèlement à l'iodurie, il convient de s'assurer du bon fonctionnement des reins du patient en déterminant la clairance de la créatinine.

2.2.1. Définir la clairance rénale d'une substance.

2.2.2. Préciser l'intérêt de la détermination de la clairance de la créatinine. Justifier la réponse.

2.2.3. Indiquer le comportement du rein vis-à-vis des ions iodures. Justifier la réponse.

Données : Clairance rénale des iodures d'un adulte : $30 \text{ à } 40 \text{ mL.min}^{-1}$
Clairance de la créatinine : $110 \text{ à } 130 \text{ mL.min}^{-1}$

2.3. Dans un laboratoire d'analyses médicales, le dosage de la créatinine est réalisé à l'aide d'un automate selon le mode opératoire décrit en annexe.

2.3.1. En utilisant l'annexe jointe, préciser le principe de cette méthode. Argumenter.

2.3.2. Justifier l'utilisation d'une cuve thermostatée.

2.3.3. L'étalonnage de l'automate est réalisé avec le réactif 1.

Donner les formules de calcul permettant de déterminer la créatininémie et la créatininurie d'un patient. Pour chacun des termes employés, préciser sa signification, son unité et sa valeur numérique lorsqu'elle est disponible.

2.3.4. Calculer la clairance de la créatinine de ce patient. Conclure.

Données : Créatininurie = 11 mmol.L^{-1}
Créatininémie = $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$
Diurèse = $1,0 \text{ mL.min}^{-1}$

3. Conséquence d'une hypothyroïdie (6,5 points)

Une hypothyroïdie peut avoir des conséquences métaboliques.

3.1. Le métabolisme lipidique peut être modifié. On observe par exemple une augmentation de la concentration sérique des LDL.

3.1.1. Réaliser un schéma annoté d'une lipoprotéine.

3.1.2. Préciser la signification du sigle « LDL » et le rôle de ces lipoprotéines dans le métabolisme lipidique.

3.1.3. Citer deux techniques permettant d'explorer le métabolisme des LDL.

3.1.4. En déduire l'influence possible d'une hypothyroïdie sur la cholestérolémie.

3.2. Le métabolisme glucidique peut aussi être affecté. On note par exemple une diminution de la néoglucogenèse.

3.2.1. Définir la néoglucogenèse et indiquer sa localisation tissulaire prépondérante.

3.2.2. Citer deux substrats de cette voie métabolique.

ANNEXE : Extrait de la notice du dosage de la créatinine

E 42 Microbiologie

2012

Durée : 3 heures Coefficient : 2

Calculatrice interdite Aucun document autorisé

LE PERIL FECAL

(Barème sur 80 points)

Les diarrhées constituent un motif fréquent de consultation, surtout dans les pays où l'hygiène est précaire. Si certains épisodes diarrhéiques sont sans lendemain, d'autres sont en revanche à l'origine d'épidémies redoutables.

Ces épidémies explosives sont en rapport avec de nombreux facteurs, parmi lesquels :

- la démographie galopante dans certains pays,
- la récession économique,
- les catastrophes naturelles telles que les tsunamis et les séismes, ainsi que celles provoquées par l'Homme telles que les guerres et la famine.

1. CHOLÉRA (49 points)

Le choléra est **endémique** dans certaines zones du monde, comme l'Inde, le Bangladesh, l'Amérique latine et l'Afrique. En 2008, le nombre de cas de choléra déclarés à l'OMS a été de 190130 avec 5143 décès, donc un taux de létalité de 2,7%.

Une **épidémie** de choléra est survenue en Haïti à la suite du séisme de janvier 2010.

L'étude épidémiologique donne les résultats suivants (d'après le bulletin OMS du 25 juillet 2011) :

Date	Nombre de cas cumulés de choléra
11 avril 2011	120 000
11 mai 2011	130 000
11 juin 2011	160 000
11 juillet 2011	200 000

La population haïtienne est estimée en 2011 à environ 10 000 000 personnes.

1.1. Définir les termes « épidémie » et « endémie ».

1.2. Définir les notions de prévalence et d'incidence. Calculer la prévalence de la maladie au 11 juillet ainsi que les incidences mensuelles (d'avril à mai / de mai à juin / de juin à juillet). Interpréter ces résultats.

1.3. Décrire les principaux modes de transmission du choléra à l'Homme.

Des tests de diagnostic rapide sont maintenant disponibles et permettent de porter un diagnostic de choléra en quelques minutes à partir d'échantillons biologiques tels que les selles.

La fiche fournie en **annexe 1** reproduit la réalisation technique d'un test immunochromatographique d'identification de *Vibrio cholerae* sérotype O1.

1.4. Justifier l'appellation de test « immunochromatographique ».

1.5. À l'aide de schémas légendés, représenter l'enchaînement des réactions d'un test aboutissant à un résultat positif.

1.6. Préciser le rôle du contrôle.

Ce diagnostic n'exclut pas la nécessité d'isoler et d'identifier *Vibrio cholerae* par les techniques usuelles.

La technique d'enrichissement/isolement consiste en un enrichissement systématique des selles par une succession de cultures de 4 à 6 heures en eau peptonée hypersalée alcaline (EPSA) à 37°C suivies d'un isolement sur un milieu sélectif TCBS.

1.7. Préciser le rôle de l'étape d'enrichissement. Justifier l'utilisation du milieu EPSA en fonction des caractères culturels de *Vibrio cholerae*.

1.8. La composition de la gélose TCBS est donnée en **annexe 2**.

1.8.1. Indiquer le ou les agents sélectifs du milieu.

1.8.2. Sur milieu TCBS, les colonies suspectes apparaissent jaunes sans centre noir. Conclure sur les caractères biochimiques déterminés en citant les constituants du milieu permettant de mettre en évidence chacun de ces caractères.

L'étape suivante dans l'identification de *Vibrio cholerae* consiste à vérifier la morphologie microscopique et la recherche de l'oxydase.

1.9. Indiquer les caractéristiques microscopiques de *Vibrio cholerae* à l'état frais et après coloration de Gram.

1.10. Expliquer le principe de recherche de l'oxydase.

1.11. Préciser la localisation de l'oxydase dans la cellule bactérienne.

1.12. La galerie type pour identifier *Vibrio cholerae* est une minigalerie du type API 20 NE[®]. La deuxième partie de cette galerie miniaturisée correspond à un auxanogramme pour le carbone. Pour ensemercer l'auxanogramme, on remplit l'ensemble tube et cupule de chaque test en utilisant une suspension bactérienne dans un milieu spécial (API AUX Medium[®]) dont la composition qualitative est donnée en **annexe 3**.

1.12.1. Indiquer la caractéristique essentielle de ce milieu et justifier son utilisation pour l'auxanogramme.

1.12.2. Définir le terme « facteur de croissance ».

Après incubation de la galerieensemencée avec l'espèce *Vibrio cholerae* :

- la cupule GLU de l'auxanogramme donne un trouble

- le tube GLU incubé sous huile de vaseline vire au jaune.

1.13. Indiquer et justifier les caractères révélés respectivement dans les deux cupules.

La galerie API 20 NE permet d'identifier l'espèce *Vibrio cholerae*. L'étape suivante consiste à déterminer le sérovar et le biovar de la souche.

On commence par un test d'agglutination avec un antisérum anti O1 (ce test peut être effectué directement sur les colonies suspectes isolées sur TCBS).

L'antigène O1 correspond à une partie du lipopolysaccharide (LPS) présenté en **annexe 4**.

1.14. Identifier les parties 1, 2 et 3 et donner leur rôle respectif.

1.15. À l'aide d'un schéma légendé, indiquer la localisation précise du LPS dans la bactérie.

Un protocole de caractérisation d'une souche responsable du choléra implique la mise en évidence de la toxine. Cette étape est fondamentale car il existe des variants qui ne produisent pas de toxine.

La toxine cholérique est une toxine de type AB qui est le facteur pathogène principal du choléra.

1.16. Préciser le rôle de la sous-unité B.

1.17. Expliquer les conséquences de la pénétration de la sous-unité A dans un entérocyte.

La production de la toxine cholérique est dépendante de la présence du génome du bactériophage « CTX phi ». Sa présence résulte donc d'un phénomène de conversion lysogénique.

1.18. Expliquer le phénomène de conversion lysogénique

Un antibiogramme standard est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Les antibiotiques habituellement testés sont, entre autres :

Bêta-lactamines : Ampicilline, Céfotaxime.

Quinolones et Fluoroquinolones : Acide Nalidixique, Ofloxacin, Norfloxacin, Ciprofloxacin.

Tétracyclines : Tétracycline, Doxycycline, Minocycline.

1.19. Préciser le mode d'action des bêta-lactamines.

1.20. De nombreuses souches sont résistantes à l'amoxicilline, mais restent sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique.

1.20.1. Interpréter ces résultats.

1.20.2. À l'aide de l'**annexe 5**, représenter en grandeur réelle le résultat obtenu autour du disque d'amoxicilline + acide clavulanique et représenter sur le schéma la région de la gélose où la concentration en antibiotique correspond à la CMI.

1.21. Citer le support génétique le plus fréquent de ce type de résistance acquise à l'amoxicilline chez les bacilles à Gram négatif et donner ses principales caractéristiques. Décrire succinctement le principal mécanisme d'acquisition de cette résistance.

2. POLIOMYÉLITE (14 points)

De nombreux virus ont une transmission féco-orale : *Poliovirus*, *Virus de l'hépatite A*, *Rotavirus* entre autres.

« *La poliomyélite fait sa réapparition en Chine pour la première fois depuis 1999, a annoncé, mardi 20 septembre 2011, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : neuf cas ont été signalés depuis 2 mois dans la province occidentale du Xinjiang...*

La souche de Poliovirus en cause dans les infections détectées en Chine est de type 1, considérée comme plus « mauvaise » que celle de type 3. Elle provoque un taux élevé de paralysies et laisse beaucoup d'enfants avec des séquelles ... »

(Source : *Le Monde*, édition du 1/10/2011)

Le *Poliovirus* est un virus nu à symétrie icosaédrique et à ARN.

2.1. Réaliser un schéma légendé du *Poliovirus*.

2.2. Expliquer la caractéristique structurale de ce virus permettant sa transmission par l'intermédiaire d'aliments ou d'eau de boisson contaminés par des excréments.

2.3. Les trois types de *Poliovirus* sont caractérisés par des antigènes différents ; préciser la localisation de ces antigènes.

2.4. Les *Poliovirus* sont des virus à ARN de polarité positive. Donner la signification de l'expression « ARN à polarité positive ».

2.5. Le cycle de réplication du *Poliovirus* est présenté en **annexe 6**. Citer les différentes étapes du cycle de multiplication du *Poliovirus* en reportant les numéros correspondants sur la copie.

Au laboratoire, ce virus est cultivé sur certaines lignées cellulaires HeLa ou Vero par exemple.

2.6. La multiplication virale peut être détectée par un effet cytopathogène caractéristique. Expliquer ce qu'est un effet cytopathogène et en donner un exemple.

2.7. Le sérotype du *Poliovirus* est déterminé grâce à la technique de culture des cellules après séroneutralisation éventuelle du virus à l'aide d'anticorps spécifiques connus. Expliquer le principe de cette technique.

2.8. Il existe deux types de vaccins en France contre les *Poliovirus* : un vaccin atténué administré par voie orale et un vaccin inactivé administré par injection. Ces vaccins confèrent une protection contre les trois sérotypes.

Préciser la différence essentielle de composition entre ces deux vaccins.

3. AMIBIASE ET ASCARIDIOSE (17 points)

De nombreuses parasitoses sont liées au péril fécal, parmi elles : l'amibiase intestinale et l'ascaridiose.

- 3.1. Indiquer sous quelle forme infestante ces deux parasites pénètrent chez l'Homme.
- 3.2. Réaliser un schéma légendé à la même échelle de ces deux formes infestantes.
- 3.3. Proposer deux moyens à mettre en œuvre pour lutter contre le péril fécal.
- 3.4. La forme végétative d'*Entamoeba histolytica* se multiplie activement dans l'organisme.
 - 3.4.1. Donner les caractéristiques morphologiques de la forme végétative virulente.
 - 3.4.2. Justifier la gravité des symptômes provoqués par *Entamoeba histolytica* ainsi que le taux élevé de mortalité observé en absence de traitement.
- 3.5. Indiquer le(s) but(s) d'une technique de concentration de selles pour faire le diagnostic d'une parasitose digestive et donner le principe d'une technique diphasique.
- 3.6. Amoeba-Spot IF[®] est un test de sérodiagnostic de l'amibiase par immunofluorescence indirecte (IFI) dans le sérum.
 - 3.6.1. Donner une représentation schématique légendée des différentes étapes d'une réaction d'immunofluorescence indirecte.
 - 3.6.2. Préciser comment s'effectue la lecture.

ANNEXE 1 : Test permettant la détection qualitative des antigènes O1 de *Vibrio cholerae*

Ce test est un test immunochromatographique qualitatif et rapide pour la détection de l'antigène O1 de *Vibrio cholerae* dans les prélèvements de selles et d'eaux.

Ce test utilise une barrette comprenant :

- Une fenêtre de dépôt S contenant des anticorps libres monoclonaux de lapin anti *Vibrio cholerae* O1 marqués à l'or colloïdal,
- Une ligne T contenant des anticorps de lapin anti *Vibrio cholerae* O1 fixés,
- Une ligne C contenant des anticorps de chèvre anti-immunoglobulines de lapin.

RÉACTIFS

- barrettes d'immunochromatographie.
- tampon de migration : détergent, conservateur.

ÉCHANTILLONS

- selles, eaux.

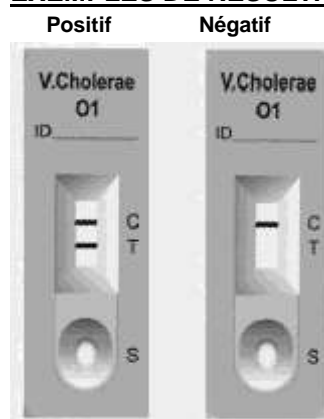
PROTOCOLE DU TEST

- Réaliser si nécessaire, une suspension de selles dans de l'eau physiologique stérile, afin d'obtenir un échantillon liquide.
- Sortir le dispositif de son emballage protecteur et enlever l'opercule de la fenêtre de dépôt.
- Déposer quatre gouttes d'échantillon dans la fenêtre S, attendre approximativement 3 minutes pour que l'échantillon soit correctement absorbé.
- Ajouter 2 gouttes de tampon, attendre 15 minutes avant de lire les résultats. Observer le développement de la couleur rouge dans la zone Contrôle C, et lire le résultat de la zone Test T.

RÉSULTATS :

Résultat positif	Présence d'une ligne rouge à la fois dans la zone Contrôle et la zone Test
Résultat négatif	Présence d'une ligne rouge uniquement dans la zone Contrôle
Résultat non valide	Présence d'une ligne rouge dans la zone Test et absence de ligne rouge dans la zone Contrôle
	Absence de ligne dans la zone Test et dans la zone Contrôle

EXEMPLES DE RÉSULTATS



Légende :

- Sfenêtre de dépôt
- C zone contrôle
- T zone test

ANNEXE n°2 : gélose TCBS

FORMULE - TYPE

(Pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptones 10,0 g
- Peptones de levure..... 5,0 g
- Saccharose..... 20,0 g
- Bile de bœuf bactériologique 5,0 g
- Cholate de sodium 3,0 g
- Citrate de sodium 10,0 g
- Thiosulfate de sodium 10,0 g
- Chlorure de sodium 10,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal 1,0 g
- Bleu de bromothymol 40,0 mg
- Bleu de thymol..... 40,0 mg
- Agar- agar..... 14,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 8,6 ± 0,2.

ANNEXE n°3 : Composition Api AUX médium®

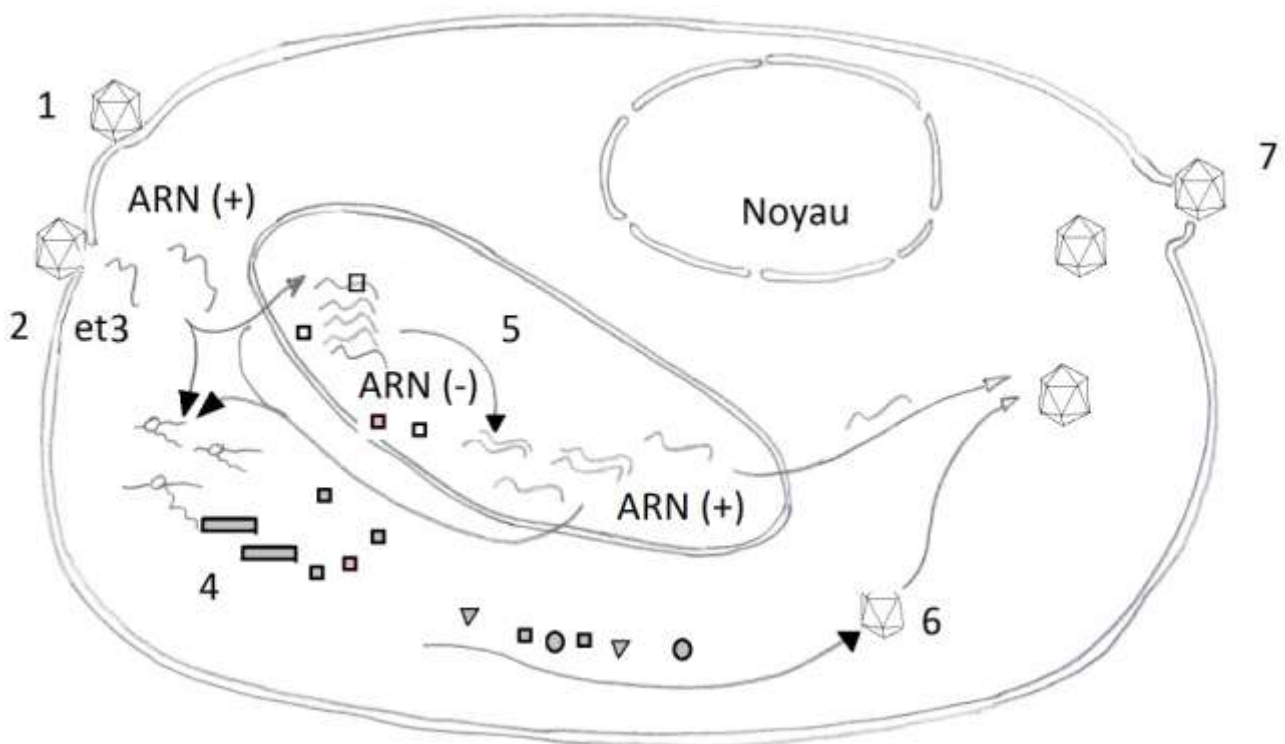
- Sulfate d'ammonium
- Agar-agar
- Solution de facteurs de croissance
- Solution d'oligoéléments
- Dihydrogénophosphate de sodium
- Chlorure de potassium
- Eau déminéralisée
- pH final : 7,0 – 7,2

ANNEXE n°4 : STRUCTURE D'UN LIPOPOLYSACCHARIDE D'UNE BACTÉRIE GRAM NÉGATIF

ANNEXE n°5 : Extrait des recommandations du CAFSM

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
PENICILLINES					
Amoxicilline	25 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Amoxicilline/acide clavulanique	20/10 µg	≤ 2/2	>8/2	≥ 23	< 16

ANNEXE n°6 : Cycle de multiplication du Poliovirus



Durée : 2 heures Coefficient : 2
Calculatrice interdite Aucun matériel autorisé

L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE (IRC) : MANIFESTATIONS HÉMATOLOGIQUES ET TRAITEMENT

À partir de plusieurs résultats d'analyses une IRC a été diagnostiquée chez un patient. Cette pathologie est caractérisée par l'altération progressive et irréversible de la fonction rénale. Dans l'attente d'une transplantation rénale, le patient est régulièrement dialysé.

1. Bilans hématologiques réalisés avant la transplantation (26 points)

L'hémogramme du patient est effectué le jour de son admission à l'hôpital. Ses résultats sont donnés en annexe 1.

1. (3 points) Interpréter les résultats de l'ensemble de l'hémogramme.
2. (2 points) Justifier le positionnement de chaque nuage de points sur le « scattergramme » (diagramme de répartition) fourni dans l'annexe 1.

On réalise une numération des réticulocytes

3. (0,5 point) Préciser l'objectif de cet examen. Justifier sa réalisation dans le cadre de ce patient.
4. (1 point) Expliquer sur quelle propriété des réticulocytes s'appuie le principe de la coloration au bleu de crésyl brillant utilisée pour le dénombrement des réticulocytes.
- 5 (0,5 point) Le résultat du dénombrement est de $33.10^9.L^{-1}$ (valeurs de référence : inférieur à $120.10^9.L^{-1}$). Conclure.

6. (2 points) Compte tenu de la conclusion ci-dessus, discuter l'utilité d'un dosage de la bilirubine.

Le dosage de l'EPO est réalisé chez ce patient par une technique ELISA sandwich.

7. (3 points) Présenter, sous forme de schéma(s) annoté(s), les différentes étapes de ce dosage.

On constate un déficit en EPO. Le patient est donc placé sous dialyse associée à une injection intraveineuse d'érythropoïétine (EPO) recombinante.

8. (1,5 point) Indiquer la lignée cellulaire stimulée par l'EPO et nommer les stades de maturation successifs de ces cellules dans l'ordre chronologique de maturation.

9. (1,5 point) Préciser les effets de l'EPO sur la lignée concernée.

10. (1 point) Indiquer le principal organe intervenant dans la synthèse de l'EPO et le stimulus physiologique qui induit cette synthèse.

11. (2 points) Expliquer pourquoi l'injection d'EPO est nécessaire à ce patient au regard de sa pathologie.

12. (2 points) Justifier l'inefficacité d'un traitement à l'EPO en cas de carence en fer.

13. (1 point) Citer un test permettant d'explorer la carence en fer en précisant les informations apportées par le test.

14. (2 points) Les apports alimentaires de fer sont de l'ordre de 10 mg par jour. Sachant que la synthèse d'hémoglobine mobilise des quantités journalières de fer de l'ordre du gramme, expliquer pourquoi l'organisme ne présente généralement pas de carence dans une situation physiologique.

Un bilan préopératoire est effectué avant la transplantation rénale. Les résultats d'analyse sont donnés dans l'annexe 2.

15. (2 points) A l'aide des résultats donnés dans les **annexes 1 et 2**, analyser et conclure sur le bilan d'hémostase du patient.

16. (1 point) Caractériser le trouble de l'hémostase mis en évidence.

2. Analyses et traitement après transplantation rénale (14 points)

Dans le cadre du suivi de la transplantation, les paramètres d'hémostase sont surveillés. Un dosage des D Dimères est réalisé pour dépister une éventuelle thrombose post opératoire. La fiche technique est fournie en **annexe 3**.

17. (1 point) Préciser l'origine des D-Dimères.

La technique du kit D-Di Test® repose sur le principe de l'agglutination passive.

18. (2 points) Définir chaque terme de l'expression « agglutination passive ».

19. (2 points) A l'aide de l'**annexe 3**, proposer un schéma annoté du principe de la technique D-Di test®.

20. (3 points) Préciser les rôles et les résultats attendus des contrôles réalisés selon le mode opératoire donné en **annexe 3**.

La transplantation d'un rein allogénique nécessite la vérification de la compatibilité HLA. Les antigènes HLA, codés par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), sont propres à chaque individu.

L'organisation génétique du système CMH est « multigénique » et « polyallélique ».

21. (3 points) Expliquer les termes « allogénique », « multigénique » et « polyallélique ».

La transplantation d'un rein est associée à un traitement immunosuppresseur.

22. (1 point) Justifier l'utilisation d'un traitement immunosuppresseur.

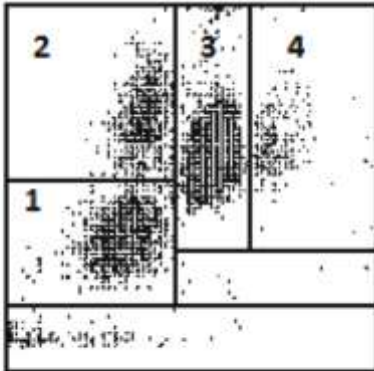
23. (2 points) Préciser deux modes d'action possibles d'immunosuppresseurs.

ANNEXE n°2 : Bilan d'hémostase

Test	Résultats du patient	Valeurs de référence
TS (méthode d'Ivy)	7 min	< 5 min
TQ	12 sec	12,5 +/- 2 sec
TCA patient	33 sec	Ratio <1.2
TCA témoin	34 sec	
Fibrinogène	3,2 g.L ⁻¹	2-4 g L ⁻¹

ANNEXE n°1 : Hémogramme

Leucocytes		
	Valeurs de référence	Résultats patient
Leucocytes	$4-10 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$7,3 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes neutrophiles	$1,5-7 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$3,8 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Lymphocytes	$1,5-4 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$3,0 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Monocytes	$< 1 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$0,3 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes éosinophiles	$< 0,7 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$0,1 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Granulocytes basophiles	$< 0,2 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$0,1 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$

Scattergramme :		
Lkc		<p>1: Lymphocytes 2: Monocytes 3: Granulocytes neutrophiles 4: Granulocytes éosinophiles</p>
V O L U M E	Diffraction grand angle	

Érythrocytes		
Érythrocytes	$4,5 \text{ à } 5,5 \cdot 10^{12} \cdot L^{-1}$	$2,8 \cdot 10^{12} \cdot L^{-1}$
Hb	120 à 160 g. L ⁻¹	84 g. L ⁻¹
Ht	0.36 à 0.44 L.L ⁻¹	0,30 L L ⁻¹
VGM	80 à 100 fL	95 fL
TCMH	27 à 32 pg	29 pg
CCMH	300 à 360 g. L ⁻¹	312 g. L ⁻¹

Thrombocytes		
Thrombocytes	$150-400 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$370 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$

ANNEXE n°3 : Dosage des D Dimères

Extraits de la fiche technique D-Di Test ® Stago :

COMPOSITION

- Réactif 1 : flacon de 1,3 mL de suspension de particules de latex sensibilisées par un anticorps monoclonal de souris anti-D-dimère humain.
- Réactif n°2 : flacon de 20 mL de tampon glycine.
- Réactif n°3 : plasma humain dépourvu de D-dimère (1 mL après reconstitution)
- Réactif n°4 : plasma humain contenant du D-dimère (1 mL après reconstitution)
- Plaque à usage unique
- Agitateurs à usage unique

TEST DE DÉPISTAGE

Mode opératoire

Le test de dépistage est effectué sur du plasma pur.

S'assurer que tous les réactifs sont à température du laboratoire.

Dans un anneau d'une plaque déposer 20 µL du plasma à tester et dans les anneaux voisins 20 µL des Réactifs 3 et 4. Ajouter 20 µL de Réactif 1 (homogénéisé au préalable) dans chacun des anneaux. Mélanger à l'aide d'agitateurs différents le contenu de chaque anneau. Agiter délicatement la plaque par rotation pendant 2 à 3 minutes.

Observer l'apparition éventuelle d'agglutinats macroscopiques dans le test du malade, comparer aux contrôles négatifs et positifs.

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

E5-U51 Analyses de biochimie médicale 2012

Durée : 4 heures Coefficient : 2,5

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.
- **Aucun document autorisé en dehors de la documentation fournie.**

Dans un service de diabétologie, on réalise les analyses suivantes :

- patient A : détermination de la glycémie à jeun et test d'hyperglycémie provoquée par voie orale.
- patient B : dosage plasmatique des ions hydrogencarbonate (HCO_3^-).

1. Détermination de la glycémie par méthode enzymatique à la glucose oxydase

1.1 Étalonnage du spectrophotomètre

Préparer par pesée de glucose pur et anhydre 100 mL d'une solution étalon mère de concentration molaire 20 mmol.L^{-1} .

La pesée sera réalisée en présence d'un examinateur.

À partir de cette solution, préparer une gamme de cinq solutions étalon sous un volume de 1 mL.

Réaliser les dosages des étalons selon le protocole fourni en **annexe 1**.

1.2 Dosage du glucose sérique

Réaliser le dosage du glucose sérique du patient A sur les échantillons fournis suivants :

- sérum du patient à jeun « SA » (1 essai)
- sérum du patient « SA1 », prélevé 1 heure après absorption de 75 g de glucose dissout dans 250 mL d'eau (1 essai)
- sérum du patient « SA2 », prélevé 2 heures après absorption de 75 g de glucose dissout dans 250 mL d'eau (1 essai)

Procéder comme pour les étalons, selon le protocole fourni en annexe.

1.3 Contrôle de qualité

Valider les résultats à l'aide d'une solution de contrôle C de concentration $1,80 \text{ g.L}^{-1}$.

1.4 Résultats

- Indiquer le calcul de la masse de glucose à peser.
- Expliquer la réalisation de la gamme d'étalonnage.
- Tracer la courbe d'étalonnage à l'aide d'un ordinateur fourni par le centre d'examen.
- Valider les résultats à l'aide de la solution de contrôle.
- Déterminer la glycémie à jeun, à 1h et 2h après absorption de 75 g de glucose.

1.5 Conclusion

Analyser les résultats obtenus.

Données

Intervalle de validation	[1,60 – 2,00] g.L ⁻¹	
sr et u _C utilisables pour l'expression des résultats (mmol.L ⁻¹)	Glycémie comprise dans l'intervalle	u _C
	4,0-8,0	0,3
	8,0-12,0	0,5
	12,0-16,0	0,7
	16,0-20,0	0,9
Masse molaire du glucose	180 g.mol ⁻¹	

	Glycémie à jeun (mmol.L ⁻¹)	Test d'hyperglycémie provoquée par voie orale	
		Glycémie après 1h (mmol.L ⁻¹)	Glycémie après 2h (mmol.L ⁻¹)
Sujet non diabétique	3,9 – 5,6	6,7 – 8,4	3,9 – 5,6
Sujet diabétique	≥ 7,8	≥ 11,1	≥ 11,1

2. Dosage des ions hydrogencarbonates par méthode cinétique

La qualité de l'exécution technique sera notée.

2.1 Protocole

Se reporter à l'annexe 2.

- Effectuer le dosage sur l'étalon et l'échantillon patient B fournis.

2.2 Résultats

- Présenter les résultats expérimentaux.
- Déterminer la concentration en ions hydrogencarbonate de l'échantillon patient B.
- Conclure.

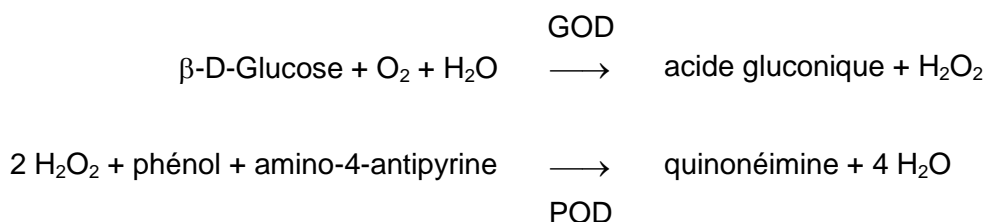
Données :

Incertitude composée : u_C = 2,8 mmol.L⁻¹

ANNEXE 1 : Détermination enzymatique du glucose (glucose RTU)

PRINCIPE :

Le glucose présent dans l'échantillon est dosé selon le schéma réactionnel suivant.



VALEURS USUELLES

4,1 - 6,1 mmol.L⁻¹

0,74 - 1,1 g.L⁻¹

RÉACTIF : prêt à l'emploi

tampon phosphate pH 6,5	225 mmol.L ⁻¹
amino-4-antipyrine	0,3 mmol.L ⁻¹
phénol	8,5 mmol.L ⁻¹
EDTA	5 mmol.L ⁻¹
peroxydase	≥ 300 U.L ⁻¹
glucose oxydase	≥ 10 000 U.L ⁻¹

Stabilité

Conservation à 2 - 8°C. Ne pas congeler. La date limite d'utilisation est indiquée sur chaque conditionnement.

Stabilité après ouverture

21 jours à 20-25°C

2 mois à 2-8°C

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma recueilli sur héparine ou EDTA.

Note :

La présence d'hémoglobine (< 200 µmol.L⁻¹), de bilirubine (< 370 µmol.L⁻¹) ou de triglycérides (< 6 µmol.L⁻¹) dans l'échantillon n'interfère pas de façon cliniquement significative dans le dosage.

PERFORMANCES :

Les performances analytiques sont déterminées sur automate.

Domaine de mesure : de 0,07 à 22,2 mmol.L⁻¹

MODE OPÉRATOIRE MANUEL

Cuve 1 cm de trajet optique
Longueur d'onde 505 nm (492-550)
Zéro de l'appareil blanc réactif

	Blanc réactif	Éta-lons	Échan-tillons
Étalon (µL)	-	10	-
Échantillon (µL)	-	-	10
Réactif (mL)	1	1	1

Mélanger.
Photométrer après une incubation de :
- 10 min à 37°C
- ou 20 à 30 min à 20-25°C.

Stabilité de la coloration : 30 min

AUTOMATISATION

Protocoles disponibles sur demande.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

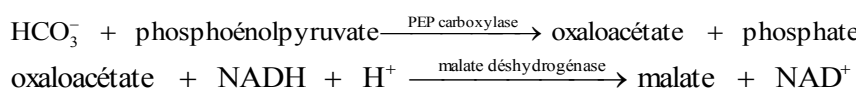
Exactitude et reproductibilité

Monotrol, Unitrol, Lyotrol N, Lyotrol P

ANNEXE 2 : Dosage des hydrogénocarbonates par méthode cinétique

PRINCIPE :

Les ions hydrogénocarbonates sont dosés selon les réactions enzymatiques suivantes :



Dans les conditions du dosage, la vitesse initiale de la réaction de disparition du NADH, H⁺, suivie à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en ions HCO₃⁻ dans le mélange réactionnel.

<u>Réactifs</u>	Réactif 1 tampon	Tampon HEPPS* pH 7,8..... 50 mmol.L ⁻¹ MgCl ₂ 6 mmol.L ⁻¹
	Réactif 2 enzymes	NADH ≥ 0,9 mmol.L ⁻¹ Phosphoénolpyruvate 7 mmol.L ⁻¹ PEPC* > 100 U.L ⁻¹ MDH > 500 U.L ⁻¹

* HEPPS : acide N-(2-Hydroxyéthyl)-Pipérazine-N-3-Propane Sulfonique

* PEPC : phosphoénolpyruvate carboxylase MDH : malate déshydrogénase

Solution de travail : transvaser le contenu d'un flacon de réactif 1 dans un flacon de réactif 2. Homogénéiser par retournements. Laisser reposer 10 min avant utilisation. Son absorbance doit être supérieure à 0,700.

Étalon : solution de HCO₃⁻ à 30 mmol.L⁻¹

Échantillon patient : sérum ou plasma recueilli sur héparine et conservé à l'abri de l'air. Dans ces conditions le taux de bicarbonates est stable 1 h à 2 - 8°C.

Zéro de l'appareil : réalisé contre l'air

Mode opératoire :

Dans une semi microcuve "UV" :

- Introduire 1 mL de la solution de travail préincubée à 30°C.
- Déclencher la réaction en introduisant 10 µL d'échantillon
- Homogénéiser.
- Attendre 45 secondes. Mesurer l'absorbance à 340 nm pendant 1 minute.

Limite de linéarité : 50 mmol.L⁻¹

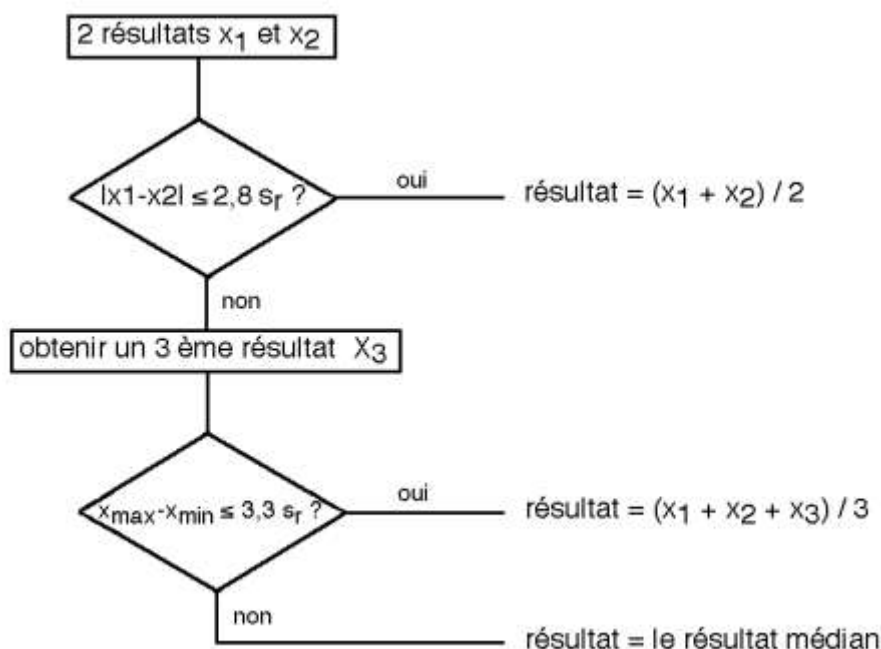
Valeurs de référence : hydrogénocarbonates plasmatiques = 23 à 29 mmol.L⁻¹.

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

Logigramme d'acceptabilité des résultats

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

La démarche à suivre est illustrée dans le logigramme suivant :



Utilisation du logigramme :

- Si trois essais sont possibles, l'ensemble du logigramme sera utilisé ;
- Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de réaliser un troisième essai alors qu'il est nécessaire, la moyenne ne sera pas effectuée et un résultat sera rendu pour l'un des essais.

Expression des résultats

Le résultat final est rendu à $\pm 2 u_c$

E5-U52 Analyses de microbiologie médicale

2012

Durée : 6 heures Coefficient : 3
Aucun document autorisé – Calculatrice interdite

BACTÉRIOLOGIE - MYCOLOGIE

Jour 1 : 4 heures

Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture et interprétation rédigées sur le compte-rendu.

Les demandes de milieux, matériels et réactifs seront à rendre sur l'annexe 1 dans les délais impartis par le centre. Ces demandes seront justifiées.

Première partie

Monsieur R est hospitalisé dans un service de neurochirurgie dans lequel il a subi une intervention chirurgicale. Après quelques jours il présente une fièvre de 40 °C.

Le médecin décide d'effectuer une ponction lombaire et une hémoculture.

1. Étude du LCR

1.1 Les résultats de l'examen macroscopique et cyto bactériologique sont les suivants :

- LCR d'aspect trouble
- Nombre de leucocytes > 220 /mm³
- Présence de microorganismes à l'examen direct

Interpréter ces résultats.

1.2 Les isolements méthodiques du LCR ont été effectués la veille. L'isolement sur gélose au sang notée « LCR », incubée 24h à 37 °C sous une atmosphère CO₂ à 5%, est fourni.

Réaliser les tests nécessaires et proposer une orientation justifiée du germe isolé.

Choisir les milieux et matériels utiles à l'identification du microorganisme isolé et à la réalisation de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé, compléter et rendre l'annexe 1.

Ensemencer les milieux fournis.

2. Étude des hémocultures

Plusieurs hémocultures ont été réalisées. Seul le flacon aérobie noté « hémoculture aérobie » de la deuxième série est fourni.

Les résultats observés sont consignés dans le tableau suivant :

Première série		Deuxième série	
Flacon aérobie	Flacon anaérobie	Flacon aérobie	Flacon anaérobie
Culture positive	Absence de culture	Échantillon fourni au candidat	Culture positive

Réaliser les examens microscopiques du flacon aérobie.
Interpréter l'ensemble des résultats.

Proposer quatre milieux d'isolement permettant la poursuite de l'analyse en justifiant ce choix. Compléter l'**annexe 1** (à rendre avec la copie).
Ensemencer les milieux fournis.

Deuxième partie

Un prélèvement a été réalisé au niveau du front d'attaque de l'ongle chez Monsieur P atteint de périonyxis. L'isolement sur gélose Sabouraud + chloramphénicol noté « Ongle » a été réalisé. Réaliser le test de blastèse selon le protocole présenté en **annexe 2**.

Conclure.

Troisième partie

Madame Z, de retour d'un séjour en Afrique, présente une forte fièvre.

Réaliser l'examen parasitologique du frottis sanguin coloré au May-Grünwald Giemsa de cette patiente.

Conclure.

Compétences évaluées au cours de l'épreuve (jour 1)

C.1.2.3 : Valider les résultats

C.3.4.2 : Réaliser les examens macroscopiques et microscopiques

C.3.4.4 : Réaliser des isolements

C.3.4.5 : Mettre en œuvre une démarche d'identification

C.3.4.6 : Mettre en œuvre des examens complémentaires d'identification

C.3.4.7 : Réaliser un antibiogramme

C.3.4.10 : Rechercher et identifier des parasites sur un frottis sanguin coloré

ANNEXE n°1 : Commande de milieux, matériel, réactifs

À rendre 2 heures après le début de l'épreuve

Jour 1

POSTE N°.....

- Étude du LCR.

- Étude de l'hémoculture.

ANNEXE n°2 : Réalisation et interprétation du test de blastèse

- Mettre en suspension une parcelle de colonie dans 0,5 mL de sérum ou de plasma humain ou de milieu pour test de blastèse afin d'obtenir une suspension légèrement opalescente.
- Incuber à 37°C pendant trois heures.
- Examiner à l'état frais la suspension. Rechercher les tubes germinatifs en « doigt de gant » caractéristiques, sans étranglement à la base ni membrane visible.

Parmi les levures du genre *Candida*, seules *Candida albicans* et *Candida dubliniensis* produisent des tubes germinatifs.

Jour 2 : 2 heures

BACTÉRIOLOGIE - MYCOLOGIE

Consignes à respecter :

Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture et interprétation rédigées sur le compte rendu.

Première partie

1. Étude du LCR

- Identifier la souche.
- Lire et interpréter l'antibiogramme à l'aide du document de la Société Française de Microbiologie fourni.

2. Étude des hémocultures

Analyser les isollements.
Réaliser les tests nécessaires à la poursuite de l'analyse.
Interpréter les résultats.

3. Conclusion

Faire une conclusion générale sur le cas étudié.

Compétences évaluées au cours de l'épreuve (jour 2)

C.1.2 : Analyser des résultats

C.1.2.3 : Valider les résultats

C.3.4.2 : Réaliser les examens macroscopiques et microscopiques

C.3.4.5 : Mettre en œuvre une démarche d'identification

C.3.4.7 : Réaliser un antibiogramme

C.3.6.3 : Mettre en œuvre des réactions immunologiques d'agglutination

E53 Analyses d'hématologie et d'anatomo-pathologie médicales

2012

Durée : 3 heures Coefficient : 1,5

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.
- Documents personnels interdits en dehors de la documentation fournie.

Première partie

Dans le cadre d'examens hématologiques effectués dans un laboratoire hospitalier, trois cas de patients sont présentés :

- Le nouveau-né A. présente un ictère néo-natal. Dans le cadre du diagnostic d'une éventuelle incompatibilité foëto-maternelle, en complément du groupage ABO-RH1, on réalise le phénotypage Rhésus-Kell (RH-KEL1) sur le sang du nouveau-né.
- Monsieur B. âgé de 41 ans est atteint de lupus érythémateux. Un bilan d'hémostase est réalisé dans le cadre de la surveillance de cette pathologie.
- Madame C. âgée de 57 ans consulte pour asthénie isolée.

Premier cas : Nouveau-né A

Détermination du phénotype Rhésus-Kell (RH-Kell1) suivant le protocole fourni en annexe 1 (à rendre avec la copie)

1.1 Matériel et réactifs

- Tube de sang centrifugé
- Eau physiologique
- Plaque alvéolée
- Tubes à hémolyse
- Compte-gouttes
- Réactifs prêts à l'emploi

1.2 Activité professionnelle

1.2.1 A partir du culot érythrocytaire du nouveau-né A., réaliser une suspension d'hématies à 50% en eau physiologique.

1.2.2 Déterminer le phénotype sanguin Rhésus-Kell.

À l'issue de la réalisation, montrer la plaque à l'examineur.

1.2.3 Compléter l'annexe 1 (à rendre avec la copie).

Deuxième cas : Monsieur B.

Recherche d'un anticoagulant circulant (ACC) suivant le protocole fourni en annexe 2

2.1 Matériel et réactifs

- Bain thermostaté à 37°C
- chronomètre
- tubes à hémolyse et crochets ou barreau aimanté.
- pipettes automatiques 100 µL et 1000 µL et cônes.
- plasma pauvre en plaquettes témoin en tube à hémolyse (300 µL)
- plasma pauvre en plaquettes patient en tube à hémolyse (300 µL)
- céphaline kaolin en tube à hémolyse (500 µL)
- chlorure de calcium M/40 en tube à hémolyse (500 µL)

2.2 Activité professionnelle

2.2.1 Réaliser la recherche d'un anticoagulant circulant (ACC) en suivant la technique présentée dans l'annexe 2 (deux essais).

Montrer la réalisation d'un essai à l'examineur.

2.2.2 Rédiger le compte-rendu et conclure.

Troisième cas : Madame C.

Formule leucocytaire sur le frottis sanguin coloré au May-Grünwald Giemsa

3.1 Matériel et réactifs

- Frottis sanguin de la patiente coloré au May-Grünwald Giemsa
- Microscope optique

3.2 Activité professionnelle

3.2.1 Établir la formule leucocytaire sur le frottis sanguin coloré au May-Grünwald Giemsa. Compléter l'annexe 3 (à rendre avec la copie).

3.2.2 Identifier, dans un champ microscopique de ce frottis, deux cellules habituellement absentes du sang et à des stades de maturation distincts. Schématiser le champ sur la copie en indiquant la position des deux cellules à identifier puis présenter à l'examineur le champ accompagné du schéma.

3.2.3 Analyser les résultats obtenus et proposer une orientation diagnostique ainsi qu'un éventuel test complémentaire à réaliser.

Liste des compétences intervenant dans l'évaluation de la performance des candidats

C3.5.1 Réaliser un hémogramme

C3.5.6 Explorer l'hémostase

C3.5.8 Détecter des anomalies cellulaires d'un frottis

C3.5.11 Réaliser un groupage sanguin

ANNEXE 1 (à rendre avec la copie) : phénotypage Rhésus-Kell (RH-KEL1)

Mode de préparation de la suspension d'hématies à 50% :

Protocole et résultats :

Cupules	Témoin	Anti-RH2 (C)	Anti-RH3 (E)	Anti-RH4 (c)	Anti-RH5 (e)	Anti-KEL1 (K)
Anticorps test	X	Ac anti-RH2 (C) 1 goutte	Ac anti-RH3 (E) 1 goutte	Ac anti-RH4 (c) 1 goutte	Ac anti-RH5 (e) 1 goutte	Ac anti-KEL (K) 1 goutte
Milieu réactionnel	1 goutte	X	X	X	X	X
Suspension d'hématies à 50% du nouveau-né A.	1 goutte	1 goutte	1 goutte	1 goutte	1 goutte	1 goutte
Mélanger chacune des cupules et basculer la plaque pendant 2 minutes.						
Résultats						

Légende :

Résultat attendu, rôle et interprétation du témoin :

Phénotype Rhésus-Kell du nouveau-né A. :

ANNEXE 2 : Recherche d'un anticoagulant circulant (ACC)

Temps de céphaline kaolin

Réactifs :
 - 0,3 mL de plasma témoin (T N°)
 - 0,3 mL de plasma du patient malade (B N°),
 - 0,5 mL céphaline kaolin
 - 0,5 mL chlorure de calcium M/40 préincubé à 37°C.

1 - Réaliser un mélange volume à volume de plasma témoin et de plasma du patient B.
 2 - Réaliser le temps de céphaline kaolin sur le mélange (deux essais) selon la technique suivante :

Dans un tube à hémolyse placé au bain thermostaté à 37°C introduire :

- 0,1 mL du mélange de plasmas précédemment réalisé
- 0,1 mL de réactif céphaline kaolin

Incuber exactement 3 minutes

- ajouter 0,1 mL de chlorure de calcium préincubé à 37°C en déclenchant le chronomètre.

Remarque : Les temps de céphaline kaolin des plasmas témoin et du patient B. seront communiqués par les examinateurs.

Données

$$\text{Indice de Rosner} : \frac{TCA \times (M+T) - TCA(T)}{TCA(M)} \times 100$$

M: Plasma du patient B

T : Plasma du témoin

< 12 % : Absence d'anticoagulant circulant

12 – 15 % : Zone d'incertitude

>15 % : Présence d'un anticoagulant circulant

* TCA = temps de céphaline activateur = TCK = Temps de céphaline kaolin

ANNEXE 3 (à rendre avec la copie) : Résultats de la formule leucocytaire de Madame C.

Paramètres	%	Valeurs absolues (10 ⁹ .L ⁻¹)	Valeurs physiologiques (10 ⁹ .L ⁻¹)	Conclusions
Granulocytes neutrophiles			1,5 à 7,5	
Granulocytes éosinophiles			< 0,5	
Granulocytes basophiles			< 0,3	
Lymphocytes			1 à 4	
Monocytes			<1	
Autres cellules (noms en entier)				
* Leucocytes			4,0 à 10,0	
Cytologie des hématies				
Cytologie des plaquettes				

SESSION 2013

E2-U21 Mathématiques

2013

Durée : 2 heures Coefficient 1

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part importante dans l'appréciation des copies.
L'usage des instruments de calcul et du formulaire officiel de mathématiques est autorisé. Le formulaire de mathématiques est joint au sujet. La calculatrice (conforme à la circulaire n°99-186 du 16-11-99) est autorisée.
Une feuille de papier millimétré est fournie avec le sujet

EXERCICE 1 (10 points)

Les bordures d'autoroute possèdent parfois des bassins de décantation dont le rôle est de recueillir les eaux pluviales ruisselant sur l'asphalte et les éléments polluants qu'elles peuvent drainer.

À la suite d'un accident de la circulation, un camion-citerne déverse une partie de son contenu sur la chaussée d'une autoroute. La réglementation en vigueur impose l'isolation, par fermeture de vannes, du bassin de décantation proche de l'accident, de façon à ce que la concentration en matières polluantes dans le bassin ne dépasse pas $15 \mu\text{g/L}$. Cette concentration est de $1,3 \mu\text{g/L}$ au moment où les matières polluantes provenant du camion-citerne commencent à se déverser dans le bassin.

Dans cet exercice, on cherche à prévoir au bout de combien de temps la concentration en matières polluantes dans le bassin atteindra $15 \mu\text{g/L}$ si on n'isole pas le bassin et à quel moment les capteurs installés dans le bassin déclencheront la fermeture des vannes.

On mesure en minute le temps t écoulé à partir de l'instant où les matières polluantes provenant du camion-citerne commencent à se déverser dans le bassin de décantation. On admet que, tant que le bassin n'est pas isolé par fermeture des vannes, la concentration à l'instant t en matières polluantes dans le bassin, exprimée en $\mu\text{g/L}$, peut être modélisée par $f(t)$, où f est solution de l'équation différentielle (E) : $y' + 0,03y = 0,75$. On a donc $f(0) = 1,3$.

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

A. Résolution sur l'intervalle $[0; +\infty[$ de l'équation différentielle (E) : $y' + 0,03y = 0,75$

1. On considère l'équation différentielle (E_0) : $y' + 0,03y = 0$, où y est une fonction de la variable t , définie et dérivable sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$, et y' la fonction dérivée de la fonction y . Déterminer les solutions de l'équation différentielle (E_0) sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$.

2. Soit g la fonction définie sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$ par $g(t) = a$, où a est une constante réelle. Déterminer a pour que la fonction g soit une solution particulière de l'équation différentielle (E).

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

4. Démontrer que la solution f de l'équation différentielle (E) qui vérifie la condition initiale $f(0) = 1,3$ est la fonction définie sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$ par : $f(t) = 25 - 23,7 e^{-0,03t}$.

B. Étude de la fonction f

f est définie sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$ par : $f(t) = 25 - 23,7 e^{-0,03t}$.

On note C sa courbe représentative dans le plan muni d'un repère orthogonal.

1. Déterminer la limite de la fonction f quand t tend vers $+\infty$
2. On désigne par f' la fonction dérivée de la fonction f .
 - a) Calculer $f'(t)$ pour tout t de l'intervalle $[0 ; +\infty [$.

b) Expliquer le signe de $f'(t)$ pour tout t de l'intervalle $[0 ; +\infty [$.

3. Dresser le tableau de variations complet de la fonction f .

4.

a) Recopier et compléter le tableau de valeurs ci-dessous. Arrondir les résultats au dixième.

t	0	10	20	30	40	50	60
$f(t)$	1,3						

b) Tracer la courbe C sur la feuille de papier millimétré jointe au sujet ou visualiser cette courbe sur l'écran de la calculatrice et indiquer sur la copie les caractéristiques de la fenêtre utilisée (valeurs de X min, X max, Y min et Y max et des « pas ») et l'allure de la courbe obtenue.

C. Traitement de la problématique

On rappelle que $f(t)$ modélise la concentration (exprimée en $\mu\text{g/L}$) en matières polluantes dans le bassin à l'instant t (exprimé en minute) tant que le bassin n'est pas isolé par fermeture des vannes.

1. Si le bassin n'était pas équipé d'un dispositif d'isolation par fermeture de vannes, quelle serait la valeur autour de laquelle se stabiliserait la concentration en matières polluantes ? Justifier.

2. À l'aide de la courbe C obtenue à la question B 4 b), sur papier millimétré ou sur écran de la calculatrice, déterminer graphiquement une valeur approchée à l'unité du temps t_0 (exprimé en minute) au bout duquel la concentration en matières polluantes dans le bassin atteindrait $15 \mu\text{g/L}$ si le bassin n'était pas isolé par fermeture de vannes. Expliquer la démarche.

3. La concentration en matières polluantes dans le bassin est relevée par un capteur dont les mesures sont légèrement instables.

Pour prendre en compte cette instabilité, on met en place un dispositif associant la fermeture des vannes à l'instant t ($t \geq 2$) à la valeur moyenne de la concentration en matières polluantes mesurée par le capteur entre les instants $t - 2$ et t . La fermeture des vannes est déclenchée lorsque cette valeur moyenne atteint $14 \mu\text{g/L}$.

La valeur moyenne de la concentration (exprimée en $\mu\text{g/L}$) en matières polluantes entre les instants $t - 2$ et t est modélisée par :

$$V(t) = \frac{1}{2} \int_{t-2}^t f(u) du = \frac{1}{2}(F(t) - F(t-2)), \text{ où } F \text{ est une primitive de la fonction } f.$$

a) Donner une primitive F de la fonction f sur l'intervalle $[0 ; +\infty [$.

b) Calculer $V(t)$ et vérifier que: $V(t) = 25 + Ae^{-0,03t}$ avec $A \approx -24,4$.

c) Résoudre l'équation: $25 - 24,4e^{-0,03t} \approx 14$. Donner une valeur approchée au dixième de la solution T de cette équation.

d) Que représente T dans le contexte de l'exercice ?

EXERCICE 2 (10 points)

Une coopérative est spécialisée dans la récolte de la fleur de sel. Elle utilise une machine automatique pour remplir des sachets de fleur de sel dont la masse théorique doit être de 250 grammes. Un sachet est dit conforme si sa masse m , exprimée en gramme, vérifie : $240 \leq m \leq 260$

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

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

A. Loi normale

L'étude statistique de la production permet d'admettre que la variable aléatoire M qui mesure, en gramme, la masse d'un sachet suit une loi normale de moyenne $\mu = 250$ et d'écart type $\sigma = 5,3$.

1. On choisit au hasard un sachet dans la production. Calculer la probabilité que le sachet soit conforme.
2.
 - a) Calculer $P(M \geq 245)$.
 - b) Un gros client exigeant souhaite qu'au moins trois quarts des sachets qu'il achète aient une masse supérieure à 245 grammes. Sera-t-il satisfait? Justifier.

B. Loi binomiale et loi de Poisson

On considère dans cette partie que la probabilité qu'un sachet ne soit pas conforme est: $p=0,06$

La coopérative constitue des lots de 50 sachets pour la vente et étudie le nombre de sachets non conformes contenus dans un lot.

La production de la coopérative est suffisamment importante pour que l'on puisse assimiler la constitution d'un lot à un tirage au hasard et avec remise de 50 sachets. On note X la variable aléatoire qui associe à chaque lot de 50 sachets le nombre de sachets non conformes de ce lot.

1. Justifier que la variable aléatoire X suit une loi binomiale et préciser ses paramètres.
2. Que représente la probabilité $P(X=1)$ dans le contexte de l'exercice? Calculer $P(X=1)$.
3. On approche la loi de probabilité de X par une loi de Poisson.
 - a) Justifier que cette loi de Poisson a pour paramètre $\lambda = 3$.
 - b) On note Y une variable aléatoire qui suit une loi de Poisson de paramètre $\lambda = 3$. En utilisant la variable aléatoire Y , estimer la probabilité qu'il y ait au plus cinq sachets non conformes dans un lot de 50 sachets.

C. Test d'hypothèse

Après la révision annuelle de la machine utilisée pour remplir les sachets de fleur de sel, le responsable qualité de la coopérative veut contrôler la valeur de la masse moyenne m (exprimée en gramme) d'un sachet de fleur de sel. TI construit pour cela un test d'hypothèse bilatéral au seuil de signification de 5%. L'hypothèse nulle H_0 est: $m = 250$. L'hypothèse alternative H_1 est: $m \neq 250$.

On note \bar{M} la variable aléatoire qui, à chaque échantillon aléatoire de 50 sachets prélevés dans la production de la coopérative, associe la masse moyenne (en gramme) d'un sachet de l'échantillon. La production est suffisamment importante pour qu'on puisse assimiler la constitution d'un échantillon à un tirage au hasard et avec remise de 50 sachets.

On suppose que la variable aléatoire \bar{M} suit une loi normale de moyenne m et d'écart type $\frac{5,3}{\sqrt{50}}$.

1. Sous l'hypothèse nulle H_0 , déterminer le nombre réel positif a tel que $P(250-a \leq \bar{M} \leq 250+a) = 0,95$.

Arrondir au centième.

2. Énoncer la règle de décision du test.
3. On prélève au hasard 50 sachets dans la production.

Les masses en gramme de ces sachets se répartissent de la façon suivante :

Masse en gramme	[236;240 [[240;244 [[244;248 [[248;252 [[252;256 [[256;260 [[260;264 [
Nombre de sachets	5	6	9	13	8	7	2

- a) En utilisant les centres des intervalles, calculer une valeur approchée de la masse moyenne d'un sachet de cet échantillon.
- b) Quelle va être la conclusion du responsable qualité ?

Durée : 2 heures Coefficient 2

Matériel autorisé :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Cirulaire n°99-186, 16/11/1999).

Tout autre matériel est interdit.

Document à rendre avec la copie :

- Annexe 3 et annexe 4

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

Le sujet est composé de deux exercices indépendants.

La banque de données fournie est relative à tout le sujet.

Les deux exercices comportent plusieurs parties qui peuvent être traitées séparément.

Banque de données relative à tout le sujet

- Analyse médicale support de l'étude :

LABORATOIRE D'ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Société Civile Professionnelle SCP X

335692 R.C.S.Pontoise av.JeanMoulin-95330 DOMONT

Autorisé 95 -06

N° 95.4.70006 1

Dossier W : 111409080 du 09/06/10

SOS MEDECINS

38 AVENUE EDITH CAWELL.....

95320 BAILLET EN FRANCE

Laboratoire national de détection du dopage (LNDO, Chatenay-Malabry)

Valeurs physiologiques :

Numération sanguine (NFS)

Hématies...6,6 millions/mm³

Hémoglobine..17,9 g/100 mL

Hématocrite.....63 %

4,2 – 5,7 millions/mm³

14 - 17 g/100 mL

40 – 52 %

Vitesse de sédimentation (VS)

- VS 1^{ère} heure : 0 mm

- VS 2^{ème} heure : 0 mm

< 7 mm

< 20 mm

Urée5,2 mmol/L

Acide pyruvique 50 µmol/L

Acide lactique

sang veineux : 6,9 mmol/L

sang artériel : 3,3 mmol/L

Créatinine...110 µmol/L

Glucose...5 mmol/L (à jeun)

3 – 7,5 mmol/L

40 - 60 µmol/L

0,55 – 2,3 mmol/L

0,33 – 1,1 mmol/L

65 – 120 µmol/L

4,5 – 7 mmol/L (à jeun)

Ionogramme

- Calcium.....2,4 mmol/L

- Phosphore1,15 mmol/L

- Magnésium....0,82 mmol/L

2,2 – 2,6 mmol/L

0,80 – 1,45 mmol/L

0,75 – 0,90 mmol/L

- **Numéros atomiques** : $Z(\text{H}) = 1$ $Z(\text{C}) = 6$ $Z(\text{O}) = 8$
- **pKa** ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}/\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$) = 3,86
- **Enthalpies molaires standard de formation à 298 K** :

	$\text{CO}_{2(\text{g})}$	$\text{H}_2\text{O}_{(\text{l})}$	$\text{O}_{2(\text{g})}$
$\Delta_f H^0$ (kJ.mol ⁻¹)	- 393	- 286	0

- **Masses volumiques** : d'un globule rouge: $\rho_G = 1,30 \cdot 10^3 \text{ kg.m}^{-3}$ du sang: $\rho_S = 1,06 \cdot 10^3 \text{ kg.m}^{-3}$
- **Viscosité du sang** : à la température de l'expérience d'environ 20 °C : $\eta = 1,00 \cdot 10^{-3} \text{ Pa.s}$
- **Volume d'une sphère de rayon r** : $V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$
- **Accélération de la pesanteur** : $g = 9,81 \text{ m.s}^{-2}$

Exercice 1 : L'acide lactique (13,5 points)

Afin de connaître l'état de forme physique des athlètes de haut niveau, une analyse médicale est réalisée très régulièrement et comporte notamment un dosage de l'acide lactique dans le sang. Une enzyme appelée lactase-déshydrogénase réduit l'acide pyruvique $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$ dans le muscle durant les exercices physiques en acide (S)-lactique $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$, principal responsable des crampes ; le processus est inversé lorsque le muscle est au repos.

1. Considérations structurales

- 1.1 Écrire la formule développée de l'acide lactique et celle de l'acide pyruvique. Donner leurs noms en nomenclature systématique.
- 1.2 Entourer les groupes fonctionnels dans ces formules et indiquer leurs noms.
- 1.3 Donner la définition d'un carbone asymétrique et indiquer par un astérisque, sur les formules développées précédentes, la présence du ou des carbone(s) asymétrique(s) dans les molécules d'acide lactique et d'acide pyruvique.
- 1.4 Représenter suivant la convention de CIP, l'acide (S)-lactique. Justifier cette représentation en donnant l'ordre de priorité des substituants.
- 1.5 Faire la représentation de Fischer de l'acide (L)-lactique.

2. Enthalpie de formation de l'acide lactique

La combustion complète de l'acide lactique à l'état liquide conduit à la formation d'eau et de dioxyde de carbone selon la réaction d'équation: $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3(\text{l}) + 3 \text{O}_2(\text{g}) = 3 \text{CO}_2(\text{g}) + 3 \text{H}_2\text{O}_{(\text{l})}$.
La variation d'enthalpie de cette réaction vaut $\Delta H^0_{\text{comb}} = -1364 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (à 298 K)

- 2.1. Exprimer ΔH^0_{comb} en fonction des enthalpies molaires standard de formation des espèces mises en jeu dans cette réaction.
- 2.2. En déduire, en kJ/mol, la valeur de l'enthalpie molaire standard de formation de l'acide lactique, à l'état liquide, à 298 K.

3. Réactions mettant en jeu l'acide lactique

L'acide lactique est mis en jeu dans des réactions acido-basiques.

- 3.1. Écrire l'équation de la réaction de l'acide lactique avec l'eau.
- 3.2. Une solution aqueuse d'acide lactique de concentration $8,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ possède un pH égal à 3,0. L'acide lactique est-il un acide fort ou faible? Justifier.

L'acide lactique est mis en jeu dans des réactions d'oxydoréduction.

- 3.3. Écrire la demi-équation du couple d'oxydoréduction qui intervient lors de la transformation de l'acide pyruvique en acide(S)-lactique.

L'acide lactique est aussi le composé majoritaire obtenu par hydratation du composé de formule: $\text{CH}_2=\text{CH-COOH}$.

3.4. Cette réaction est-elle une addition ou une substitution?

3.5. Justifier pourquoi l'acide lactique est le composé obtenu de façon majoritaire.

L'acide lactique est utilisé comme monomère pour la production du PLA (acide polylactique) qui est un polyester synthétique biodégradable. Ce polymère a de nombreuses applications médicales. Il est employé en particulier comme fil de suture résorbable, comme fibre pour la fabrication des couches biodégradables...

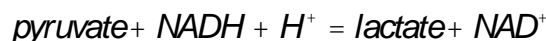
3.6. Une réaction d'estérification est possible entre les deux groupes fonctionnels présents dans l'acide lactique. Écrire l'équation de la réaction susceptible de se produire entre deux molécules d'acide lactique.

3.7. Indiquer deux caractéristiques de cette réaction.

3.8. Expliquer pourquoi la réaction peut se poursuivre et donner une molécule de grande masse molaire.

4. Détermination de la lactatémie

La détermination de la lactatémie, c'est-à-dire du taux d'acide lactique dans le sang, peut se faire en utilisant une technique enzymatique. Il s'agit d'utiliser la déshydrogénase de l'acide lactique (LDH) qui catalyse, au pH de l'organisme, l'équilibre :



Les molécules NADH et NAD⁺ sont des coenzymes d'oxydoréduction présents dans les cellules vivantes.

*Au pH physiologique, l'équilibre précédent est déplacé dans le sens de la formation du lactate. En augmentant le pH du milieu et en ajoutant une grande quantité de semicarbazide qui réagit avec le pyruvate, on peut déplacer l'équilibre dans le sens indirect et **former quantitativement la NADH à partir du lactate.***

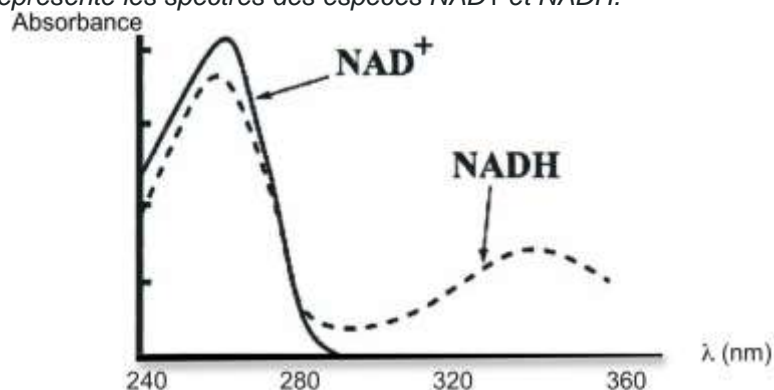
La mesure de l'absorbance du milieu permet de déterminer la concentration en NADH et d'accéder à la concentration en lactate.

4.1. Expliquer pourquoi l'augmentation du pH déplace l'équilibre précédent dans le sens indirect.

4.2. Le semicarbazide est un composé du type Z-NH₂. La réaction qui s'opère entre ce dernier et le pyruvate est équivalente à celle d'un dérivé Z-NH₂ et d'une cétone R-CO-R'. Écrire l'équation de la réaction correspondante.

4.3. Expliquer le sens d'évolution de l'équilibre, pyruvate + NADH + H⁺ = lactate + NAD⁺, par ajout de semicarbazide.

La figure ci-dessous représente les spectres des espèces NAD⁺ et NADH.



4.4 Si l'on suppose que, dans cette gamme de longueurs d'onde, seules les deux espèces précédentes peuvent avoir une incidence sur la valeur de l'absorbance du milieu. Quelle longueur d'onde de travail faudrait-il choisir pour déterminer facilement la concentration en NADH à partir de la mesure d'absorbance? Justifier la réponse.

4.5 Il est possible de déterminer la concentration en NADH à partir de la loi de Beer- Lambert. Énoncer cette loi en explicitant chacun de ses termes.

4.6 Expliquer pourquoi la connaissance de cette concentration permet d'accéder à celle du lactate.

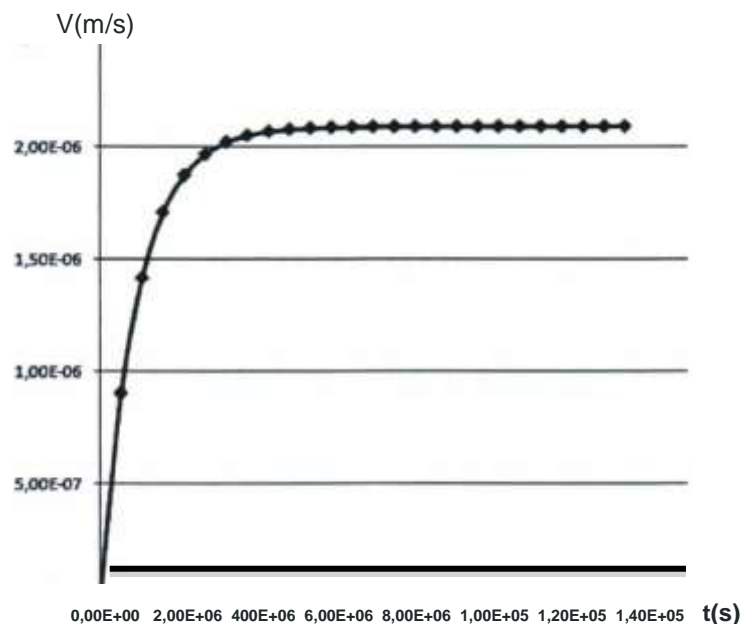
Exercice 2 : Dopage à l'EPO ? (6,5 points)

L'érythropoïétine (EPO) est une hormone de nature glycoprotéique (protéine portant un glucide). Cette hormone est un facteur de croissance des précurseurs des globules rouges dans la moelle osseuse. Elle entraîne ainsi une augmentation du nombre de globules rouges dans le sang. Il y a donc un risque d'hypertension artérielle et d'une augmentation de la viscosité sanguine (un plus grand travail du cœur est alors nécessaire). Extrait du site <http://fr.wikipedia.org>

Lors de la détermination de la vitesse de sédimentation, le sang est prélevé chez un patient. Lors de la détermination de la vitesse de sédimentation, le sang est prélevé chez un patient à jeun depuis au moins 24 heures. On utilise du sang veineux préalablement recueilli dans un tube contenant un anticoagulant. Le sang recueilli est placé dans un tube appelé tube de Westergreen. C'est un tube fin, gradué en mm, de 20 cm de longueur environ.

La première lecture du résultat se fait après une heure et la seconde après deux heures. Ces résultats sont désignés par VS à la première heure et VS à la deuxième heure. L'absence de sédimentation c'est-à-dire une vitesse de sédimentation nulle ou ralentie peut traduire certaines pathologies comme l'augmentation du nombre de globules rouges dans le sang (polyglobulies).

On étudie la sédimentation sous l'effet de la pesanteur, d'un globule rouge, que l'on assimile à une sphère dans le sang. L'étude mathématique équivaut alors à l'étude de la chute verticale d'une équivalent alors à l'étude de la chute verticale d'une sphère homogène dans un liquide. Une simulation prenant en compte les caractéristiques du globule rouge conduit au graphe reproduit ci-contre, qui représente les variations de la vitesse de chute en fonction du temps.



1. En utilisant le graphe ci-dessus, justifier que l'on peut considérer que le globule rouge suit un mouvement rectiligne uniforme, quasi instantanément après l'instant initial.

2. On peut montrer que lorsque le mouvement est rectiligne uniforme, la vitesse du globule rouge est donnée

par l'expression suivante:
$$V = \frac{2r^2 g(r_G - r_S)}{9\eta}$$

Calculer la valeur de cette vitesse à la température de 20°C. L'expression proposée pour ce calcul est-elle en accord avec le graphe présenté plus haut ?

3. Combien de temps met un globule rouge pour parcourir les 20 cm du tube si on considère que son mouvement est rectiligne uniforme dès l'instant initial ? Donner le résultat en secondes et en heures.

4. Les deux valeurs de VS de l'analyse biologique sont nulles. Est-ce en accord avec la question précédente ?

5. Cette valeur nulle peut laisser penser que l'athlète s'est dopé à l'EPO. Expliquer pourquoi.

On étudie maintenant la sédimentation par centrifugation d'un globule rouge dans le sang

6. Un globule rouge se trouvant à une distance $R = 10$ cm de l'axe de rotation de la centrifugeuse de vitesse angulaire $\omega = 1,0 \cdot 10^3$ tour.min⁻¹ est soumis à une accélération $a = \omega^2 R$. Montrer que cette accélération vaut $1,1 \cdot 10^3$ m. s⁻²

7. Par centrifugation, on suppose que la vitesse du globule rouge devient

$$V = \frac{2r^2 a (r_G - r_S)}{9h}$$

Expliquer pourquoi.

8. Comparer les vitesses sous l'effet de la pesanteur, v , et par centrifugation, v_c . En déduire l'intérêt de la centrifugation.

9. Sur un extrait de fiche technique de centrifugeuse, on peut lire les informations:

Temps de centrifugation nécessaire pour le sérum, le plasma et le sédiment urinaire

Pour obtenir un sérum : il faut d'abord attendre que le sang soit complètement coagulé. Après coagulation, centrifuger le tube entre 1 000 et 1 200 g pendant 10 à 15 minutes.

Pour obtenir un plasma : une centrifugation à 2500 g pendant 20 minutes est nécessaire.

Pour le sédiment urinaire : centrifuger l'échantillon à 400 g pendant 5 minutes. Ne pas dépasser ces recommandations, car les culots ont tendance à être trop compacts et les leucocytes à former des amas.

Calcul de la force centrifuge relative (RCF ou « nombre de g ») La force centrifuge relative en g est fonction de la vitesse en tours/min du rotor et de la distance entre l'axe du rotor et le point considéré (ou rayon de rotation) selon la formule: $RCF = 1,118 \times 10^{-5} \cdot R \cdot n^2$

avec R = distance en cm entre l'axe du rotor et le point considéré (rayon de rotation)
 n = vitesse de rotation en tours par minute

En utilisant la relation mathématique donnée pour le calcul de la force centrifuge relative ou « nombre de g », calculer la vitesse de rotation, en tour par minutes, qu'il faut choisir sur la machine pour obtenir un plasma (le rayon de rotation vaut $R = 10$ cm).

Durée : 3 heures Coefficient : 2

Aucun document autorisé. Calculatrice interdite.

VARIATIONS ET INTERFÉRENCES AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

Les résultats des analyses biochimiques peuvent varier sous l'action de différents facteurs ou d'interférences qui affectent leur qualité : conditions de prélèvement, interférences alimentaires, variation selon les laboratoires, interférences analytiques, état physiopathologique du sujet.

1. Variations au cours de la phase préanalytique (4,5 points)

Des tests statistiques ont montré qu'il existait des différences significatives des résultats de certaines analyses suivant qu'elles sont faites sur le plasma ou le sérum.

Les protocoles d'obtention du sérum et du plasma sont les suivants :

- Plasma : sang recueilli dans un tube en verre contenant de l'héparinate de lithium sec, centrifugé 10 min (2700 g). Le plasma est séparé immédiatement.
- Sérum : sang recueilli dans un tube en verre, laissé une heure et demie à $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, centrifugé 10 min (2700 g). Le sérum est séparé immédiatement.

1.1 Le dosage des protéines (méthode colorimétrique) et le dosage du glucose (méthode à la glucose oxydase) donnent des résultats plus élevés sur le plasma que sur ce sérum. Expliquer et justifier ces deux résultats.

1.2 Pour établir l'ionogramme d'un sujet, on détermine la concentration plasmatique des ions suivants : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} .

- 1.2.1 Indiquer pour chaque ion s'il existe une contre-indication à l'utilisation du sel disodique de l'EDTA. Justifier.
- 1.2.2 Indiquer la conséquence d'une hémolyse sur la kaliémie. Justifier la réponse.
- 1.2.3 Citer un autre ion ou une molécule du sang dont le dosage est modifié par une hémolyse. Justifier.

2. Variations selon les laboratoires : Contrôle National de Qualité (10 points)

Les triglycérides sont dosés par des méthodes enzymatiques dans la majorité des laboratoires d'après les données du dernier échange interlaboratoire du Contrôle National de Qualité.

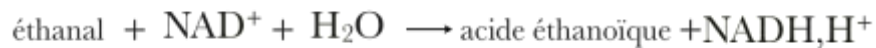
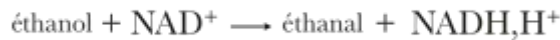
Le dosage des triglycérides est fait par 85 % des laboratoires selon la fiche technique du document 1.

- 2.1 Écrire de façon littérale les deux premières réactions du dosage des triglycérides.
- 2.2 Énoncer le principe de ce dosage.
- 2.3 Justifier le respect de la durée d'incubation et l'utilisation de la solution tampon.
- 2.4 Le document 2 représente la reproductibilité ou fidélité interlaboratoire des résultats du dosage des triglycérides pour des appareils donnés lors d'un contrôle.
 - 2.4.1 Définir le terme reproductibilité.
 - 2.4.2 Définir le coefficient de variation (CV) porté sur le document 2.
 - 2.4.3 Citer l'appareil qui donne le plus grand CV et celui qui donne le plus petit CV. Interpréter.
- 2.5 Le document 3 représente la justesse des mesures obtenues par ces appareils lors du même contrôle national.
 - 2.5.1 Définir le terme justesse.
 - 2.5.2 Citer les deux appareils les plus justes.
 - 2.5.3 À l'aide du document 2, évaluer qualitativement la reproductibilité des deux appareils cités. Indiquer un appareil que vous choisiriez pour obtenir les résultats à la fois reproductibles et justes.

2.6 Présenter les différences entre le Contrôle National de qualité (CNQ) et le contrôle interne de qualité (CIQ).

3. Variations Physiologiques d'origine alimentaire (15,5 points)

3.1 L'ingestion d'alcool provoque une augmentation de la triglycéridémie de façon variable selon les individus. L'éthanol est catabolisé dans les hépatocytes par les réactions suivantes :



Les triglycérides sont formés à partir d'acyl-CoA et de glycérol-1-phosphate.

3.1.1 Donner la formule semi développée d'un triglycéride.

3.1.2 Compléter le document 4 (oxydation d'un acide gras à nombre pair d'atomes de carbone) : reporter les numéros avec leur légende sur la copie.

3.1.3 Indiquer le bilan chimique de la transformation complète en acétyl-CoA du palmityl-CoA (rappel : l'acide palmitique est un acide gras saturé à 16 atomes de carbone)

3.1.4 Déduire la conséquence de la consommation d'alcool sur la β -oxydation des acides gras.

3.1.5 Donner la forme de transport plasmatique des triglycérides d'origine hépatique.

3.2 La séparation par électrophorèse des lipoprotéines sériques est réalisée pour un sujet après un repas riche en lipides (document 5).

L'électrophorèse est effectuée sur gel de polyacrylamide à pH 8,6 à 250V pendant une heure.

L'aspect des supports électrophorétiques 2 heures, 6 heures et 10 heures après la fin du repas est donné sur le document 5.

La séparation des lipoprotéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide se fait selon la charge et la taille des particules.

3.2.1 Recopier le schéma du support « 2 heures » sur la copie et identifier les fractions obtenues.

3.2.2 Justifier la position des lipoprotéines par rapport à la ligne de dépôt.

3.2.3 Donner le schéma de la structure d'une lipoprotéine avec ses constituants.

3.2.4 Comparer les résultats obtenus des supports « 2 heures » et « 6 heures ». Commenter les variations constatées.

3.2.5 Justifier l'aspect lactescent du sérum 2 heures après un repas.

3.2.6 Le dosage des triglycérides ne doit pas être effectué moins de 10 heures après un repas. Justifier.

Données :

pH_i des lipoprotéines : entre 5 et 7.

4. Variation physiopathologique (5 points)

Pour explorer une des composantes de la fonction rénale, on détermine la clairance de la créatinine endogène.

4.1 Définir la clairance d'une substance et donner sa formule de calcul.

4.2 Citer le mécanisme de la fonction rénale explorée par la clairance de la créatinine.

4.3 Calculer la clairance de la créatinine à partir des données et conclure.

4.4 Citer les autres mécanismes de la fonction rénale non explorés par ce test.

Données :

diurèse : 720 mL / 24h

Créatininémie : 500 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

Créatininurie : 50 mmol.L^{-1}

Valeurs de référence de la clairance de la créatinine : 80 à 120 mL.min^{-1}

5. Variation par interférence analytique (5 points)

Lors d'une suspicion de cholestase, on détermine la concentration catalytique sérique de la phosphatase alcaline (EC 3.1.3.1 ou PAL).

5.1 Définir la cholestase et indiquer deux autres analyses utiles au diagnostic d'une cholestase.

5.2 La PAL catalyse l'hydrolyse des esters monophosphoriques, écrire la réaction catalysée pour chacun des deux substrats : le glycérol-2-phosphate (ou β -glycérophosphate) et le para-nitrophényl-phosphate (PNPP) ou 4-nitrophényl-phosphate.

5.3 On mesure la vitesse initiale de la réaction catalysée par la PAL sérique en présence de diverses concentrations des substrats suivants : le glycérol-2-phosphate d'une part et le 4-nitrophényl-phosphate d'autre part. Les résultats obtenus sont représentés par les courbes de Lineweaver et Burk (document 6). Comparer l'affinité de la PAL pour ces deux substrats.

5.4 On mesure la vitesse initiale en fonction de la concentration en 4-nitrophényl-phosphate mais en ajoutant dans chaque tube une quantité identique de glycérol-2-phosphate, les autres conditions étant identiques (document 7). Déterminer l'effet du glycérol-2-phosphate sur la cinétique de la réaction de transformation du 4-nitrophényl-phosphate.

DOCUMENT 1 : fiche technique du dosage des triglycérides

Triglycérides Enzymatique PAP 1000 (TG PAP 1000)

PRINCIPE

Les triglycérides sont dosés en utilisant la séquence :

(1)

(2)

(3) Glycérol-3-phosphate + O₂ $\xrightarrow{\text{Glycérol-3 phosphate oxydase}}$ H₂O₂ + dihydroxyacétone phosphate

(4) H₂O₂ + parachlorophénol + amino-4-antipyrine $\xrightarrow{\text{peroxydase}}$ quinonéimine + 2 H₂O

PRÉSENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET (1000 tests)

Réactif 1 Tampon 10 x 100 mL (liquide)	R1	Tampon Tris pH 7,6 Parachlorophénol Magnésium	100 mmol/L 2,7 mmol/L 4 mmol/L
Réactif 2 (repris par R1) Enzymes	R2	Tampon base protéique (origine bovine) Amino-4-antipyrine Lipase Glycérokinase Glycérol 3 phosphate oxydase Peroxydase ATP	0,4 mmol/L > 1000 U/L > 200 U/L > 2000 U/L > 200 U/L 0,8 mmol/L

RÉALISATION DU TEST

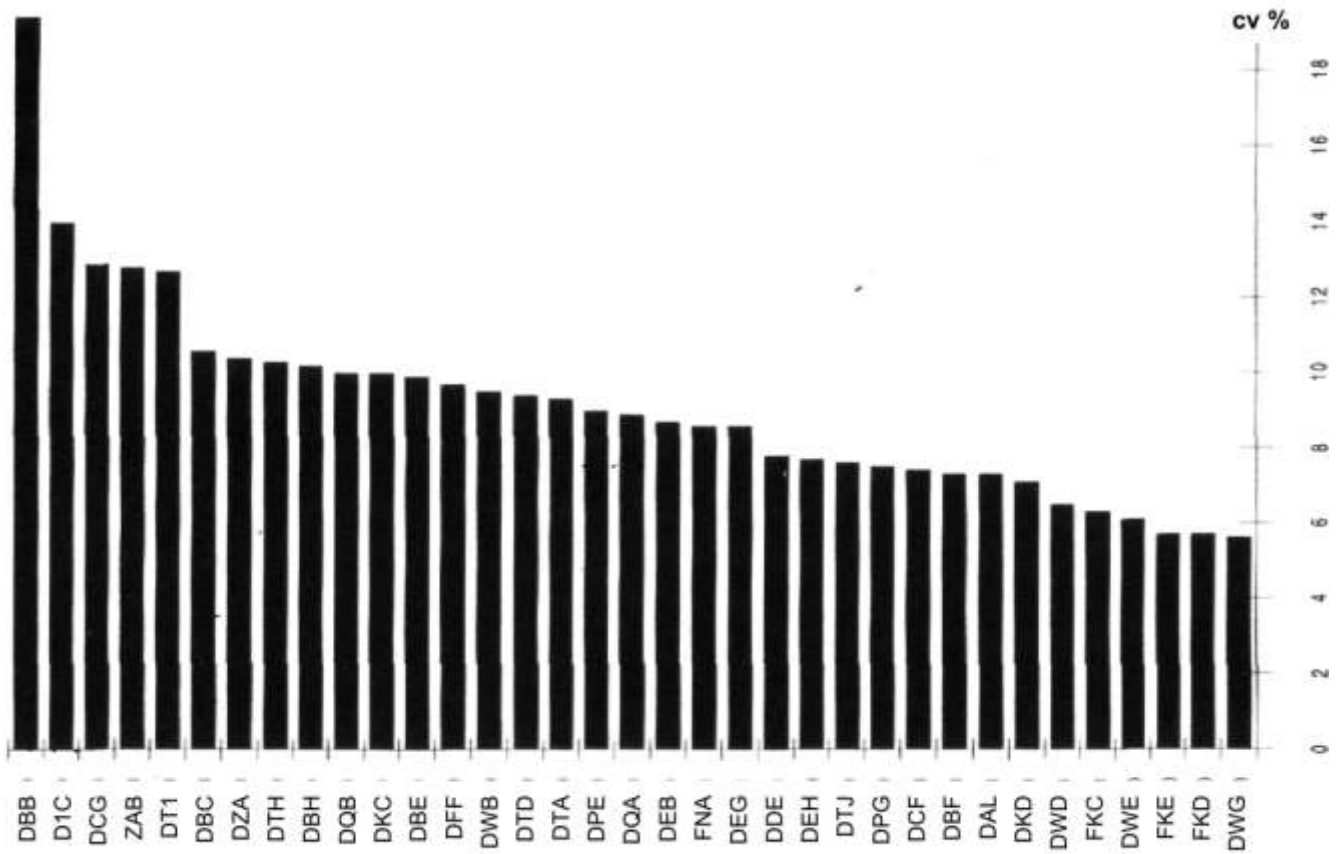
Longueur d'onde : 505 nm

Semi microcuve trajet optique de 1 cm

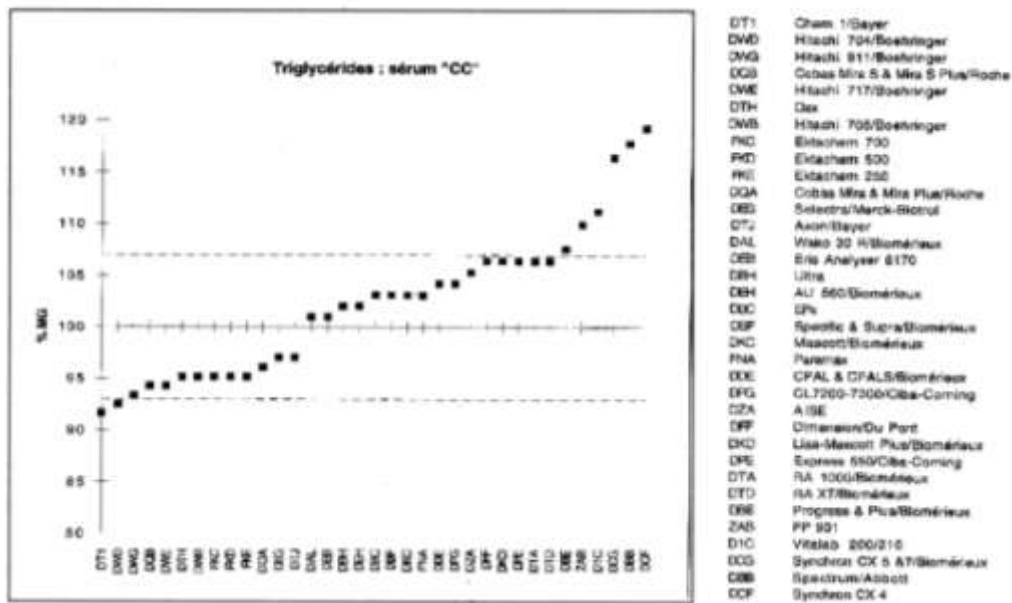
Zéro de l'appareil : blanc réactif

	Blanc réactif	Étalon	Dosage
Étalon	-	10 μ L	-
Échantillon	-	-	10 μ L
Réactif 2 repris	1 mL	1mL	1mL
Mélanger.			
Photométrer après une incubation de 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 20 - 25 °C			

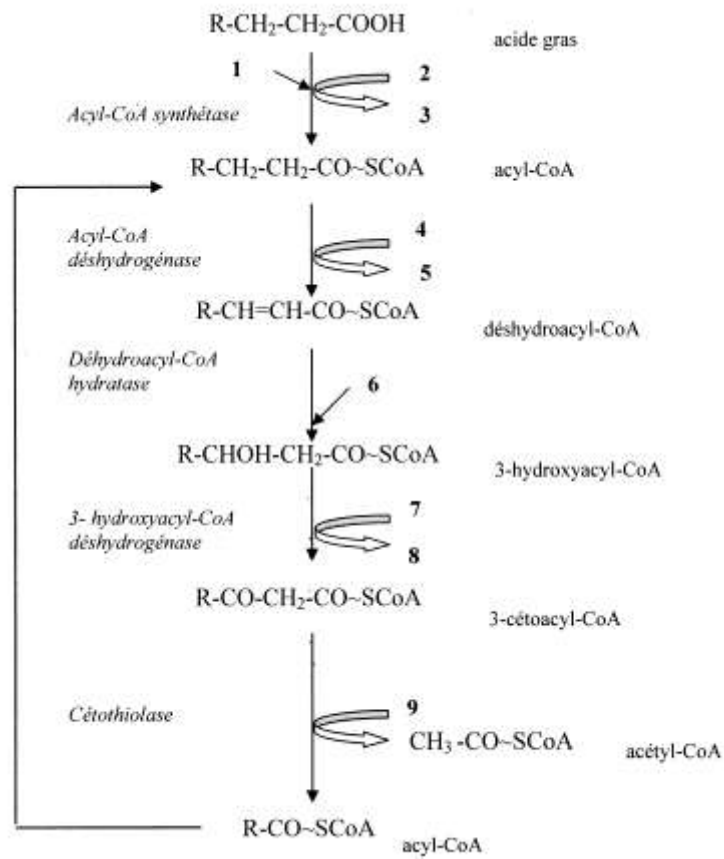
DOCUMENT 2 : reproductibilité des résultats de dosage de triglycérides obtenus avec chacun des appareils les plus utilisés



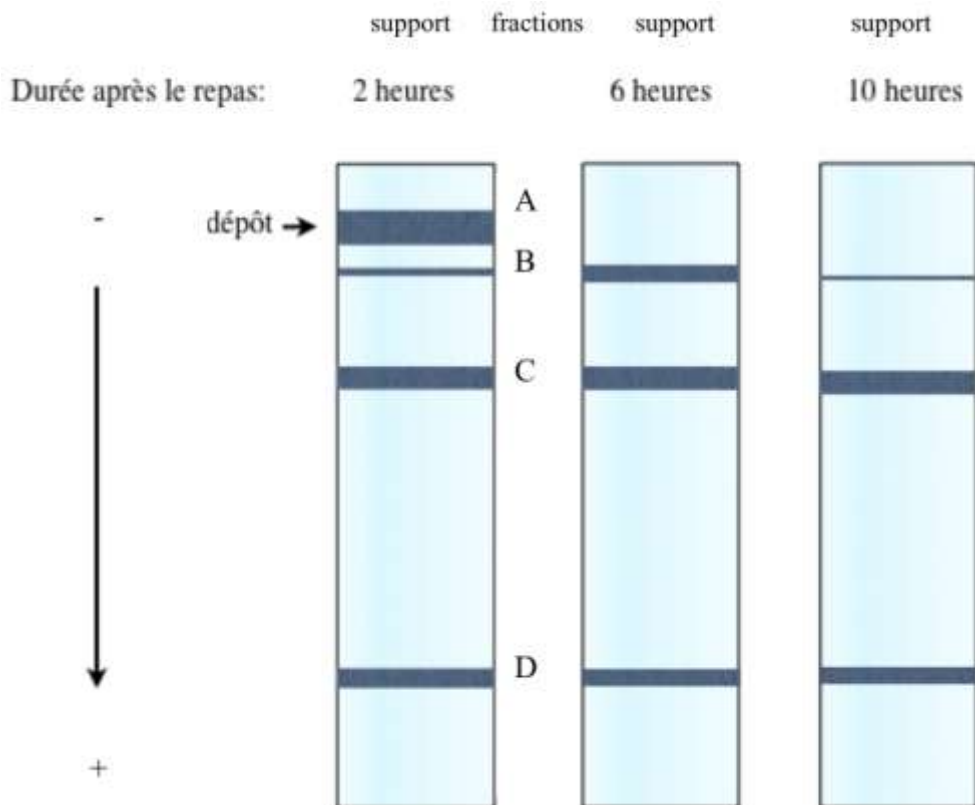
DOCUMENT 3 : Justesse des mesures obtenues par appareil de dosage des triglycérides Expression en % de la valeur moyenne



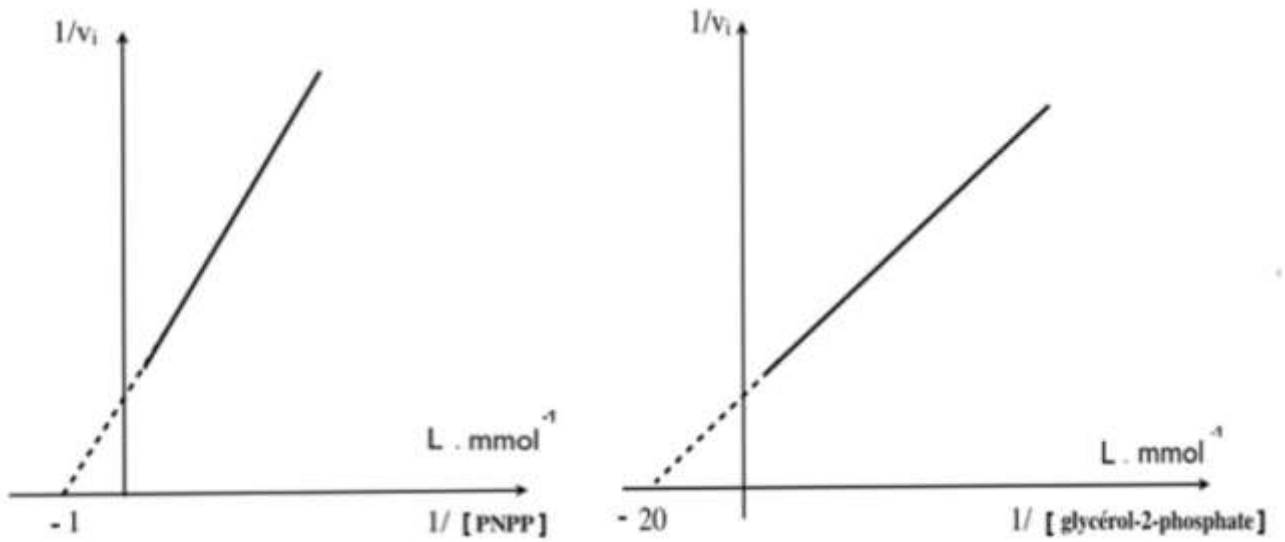
DOCUMENT 4 : Schéma récapitulatif de la β -oxydation d'un acide gras saturé



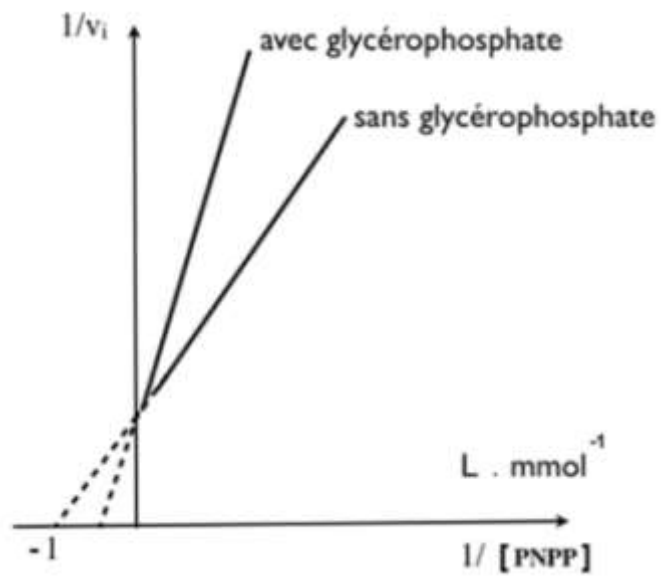
DOCUMENT 5 : Électrophorégramme des lipoprotéines sériques sur gel de polyacrylamide



DOCUMENT 6 : courbes de Lineweaver-Burk de la PAL



DOCUMENT 7 : courbes de Lineweaver-Burk de la PAL



Durée : 3 heures Coefficient : 2
Calculatrice interdite Aucun document autorisé

ANIMAUX DE COMPAGNIE ET ANTHROPOZOONOSES

(Barème sur 80 points)

Le monde animal est une source importante de maladies infectieuses chez l'homme. Le risque zoonotique lié aux animaux de compagnie classiques (chien, chat) est sous-estimé. L'apparition récente de certaines espèces dans les foyers (lapins, rongeurs...) s'accompagne de l'émergence de nouveaux risques infectieux.

1. LES ROTAVIROSES (14 points)

Plusieurs cas de transmission du rotavirus de l'animal à l'enfant ont été démontrés. Les rotavirus sont l'étiologie principale des gastro-entérites aiguës de l'enfant. Ils appartiennent à la famille des *Reoviridae* (virus de 70 nanomètres de diamètre, non enveloppés, à capsidie icosaédrique, génome constitué d'ARN bicaténaire segmenté en 11 fragments).

- 1.1. Citer les principaux critères de classification des virus.
- 1.2. Représenter schématiquement un rotavirus.
- 1.3. Expliquer la résistance des rotavirus dans l'environnement.
- 1.4. Décrire les étapes du cycle de multiplication de ce type de virus.
- 1.5. L'**annexe 1** est un extrait de la fiche technique d'un coffret de diagnostic des rotaviroses.
 - 1.5.1. Donner le principe de ce diagnostic.
 - 1.5.2. Justifier l'étape de centrifugation.
 - 1.5.3. Interpréter les résultats suivants :

	Surnageant + R2	Surnageant + R3
Résultat 1	Agglutination	Suspension homogène
Résultat 2	Suspension homogène	Suspension homogène
Résultat 3	Agglutination	Agglutination

- 1.5.4. Présenter la réalisation du contrôle qualité et les résultats attendus.

2. LES RISQUES D'INFECTION BACTÉRIENNE (38 points)

2.1. Le lapin, habituellement considéré comme peu dangereux, peut néanmoins transmettre certains agents pathogènes dont *Yersinia enterocolitica*. *Y. pseudotuberculosis* et *Y. pestis* sont deux espèces très proches : il existe entre-elles 90% d'homologie et leurs séquences d'ARN 16S sont identiques.

- 2.1.1. Nommer la famille d'appartenance au genre *Yersinia*. Citer trois autres genres d'intérêt médical appartenant à cette famille.
- 2.1.2. Expliquer la notion d'homologie entre deux bactéries.
- 2.1.3. Qu'est-ce que l'ARN 16S ?
- 2.1.4. *Y. pseudotuberculosis* possède l'enzyme ONPG hydrolase. Donner le principe de mise en évidence de cette enzyme au laboratoire. Préciser les conditions préalables à la réalisation de ce test. Justifier.
- 2.1.5. Il existe plusieurs sérovars de *Y. pseudotuberculosis*. La classification est basée sur les caractéristiques différentielles des antigènes O et H.
 - 2.1.5.1. Préciser la localisation de ces antigènes et leur nature chimique respective.
 - 2.1.5.2. Réaliser un schéma simplifié de la molécule portant l'antigène O.

2.1.6. La virulence de *Y. pseudotuberculosis* est liée à la capacité de la bactérie à envahir les cellules et à survivre de manière intracellulaire. Un plasmide de virulence code des protéines impliquées dans l'adhérence cellulaire, la résistance à la phagocytose, et la cytotoxicité due à une exotoxine.

2.1.6.1. Définir les plasmides et expliquer les conséquences de leurs propriétés dans le cas des bactéries d'intérêt médical.

2.1.6.2. Préciser le type d'interaction impliqué dans l'adhérence d'une bactérie sur une cellule cible.

2.1.6.3. Citer les principaux moyens de résistance des bactéries à la phagocytose.

2.2. Le furet peut inoculer par morsure des bactéries telles que *Pasteurella multocida*. Il apparaît alors une infection suppurative pouvant se compliquer par des atteintes ostéoarticulaires.

2.2.1. Citer les étapes de l'analyse classique d'un pus au laboratoire et préciser les milieux et conditions d'isolement.

2.2.2. Indiquer les principaux caractères bactériologiques de *Pasteurella multocida*.

2.2.3. L'évolution d'une telle infection peut être surveillée par la réalisation d'hémocultures. Ces dernières font l'objet de méthodes automatisées.

2.2.3.1. Préciser les modalités de réalisation des prélèvements sanguins destinés à l'hémoculture.

2.2.3.2. Expliquer une méthode automatisée de détection des hémocultures positives.

2.3. Les staphylococcies peuvent avoir pour origine un contact direct avec un chien. *Staphylococcus intermedius* (dont les caractères biochimiques et culturels sont similaires à ceux de *Staphylococcus aureus*) et les SARM ont notamment été mis en cause.

2.3.1. Citer et préciser le rôle des facteurs de virulence permettant la multiplication locale puis la dissémination hématogène des staphylocoques pathogènes.

2.3.2. Donner la signification de « SARM ».

2.3.3. Expliquer le mécanisme de résistance en cause chez ces bactéries et préciser son origine génétique.

2.3.4. À l'aide de l'**annexe 2**, proposer un protocole de détection des SARM par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

2.3.5. Cette détection peut également être réalisée sur milieu chromogène. Expliquer quelles caractéristiques ce milieu doit présenter pour permettre cette détection.

2.4. Le risque majeur lié aux oiseaux de compagnie est la psittacose, infection respiratoire due à *Chlamydia psittaci*, une bactérie appartenant à la famille des *Chlamydiae*.

2.4.1. Citer deux autres espèces appartenant à cette famille et préciser les pathologies dont elles sont respectivement responsables.

2.4.2. L'**annexe 3** représente le cycle infectieux des *Chlamydiae*. Indiquer la signification des légendes A, B, 1 à 5 sur la copie.

2.4.3. Le diagnostic direct de l'infection peut reposer sur des techniques de cultures cellulaires. Justifier la nécessité d'utiliser des cellules en culture pour permettre la multiplication de ces bactéries.

3. LES MYCOSES TRANSMISES PAR LES ANIMAUX (14 points)

3.1. Les dermatophytoses font partie des infections les plus courantes chez les animaux de compagnie. Ce sont des infections contagieuses pour l'Homme et l'animal.

3.1.2. Citer trois genres de champignons dermatophytes.

3.1.2. Indiquer les principales localisations des dermatophytoses. Quelle caractéristique de ces champignons permet d'expliquer ces localisations ?

3.1.3. À l'aide de sa composition (fournie en **annexe 4**), justifier le rôle de chaque constituant du milieu « BD Mycosel Agar » pour la culture des dermatophytes.

3.1.4. Identifier les éléments A, B et C de l'**annexe 5**.

3.2. Les oiseaux sont porteurs de champignons pathogènes opportunistes tels que *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*.

3.2.1. Définir l'expression « pathogène opportuniste ».

3.2.2. Indiquer la principale voie d'entrée de ces champignons dans l'organisme humain, ainsi que les pathologies dont ils sont respectivement responsables.

3.2.3. Quel est le principal facteur de virulence de *Cryptococcus neoformans* ? Présenter une méthode de mise en évidence de cet élément structural au laboratoire.

3.2.4. *Cryptococcus neoformans* possède une forte activité uréasique. Donner le principe du test permettant de détecter cette activité enzymatique et préciser le nom du milieu utilisé.

4. LES PARASIToses D'ORIGINE ANIMALE (14 points)

4.1. La leishmaniose viscérale infantile ou Kala-azar est causée par *Leishmania infantum*, dont le réservoir est le chien. C'est une maladie assez fréquente dans le Sud de la France. Le parasite est transmis par la piqûre d'un phlébotome (petit insecte) durant l'été. Les sujets à risque sont les nourrissons et les jeunes enfants.

4.1.2. Le cycle du parasite est-il monoxène ou hétéroxène ? Justifier la réponse.

4.1.2. Citer deux techniques de diagnostic de la leishmaniose au laboratoire.

4.2. La toxoplasmose est l'une des affections parasitaires les plus fréquentes. Si elle est généralement bénigne, sa survenue pendant la grossesse peut être grave en raison du risque de lésions du système nerveux central du fœtus.

4.2.1. Préciser le nom et la taxonomie du parasite responsable de cette parasitose.

4.2.2. Énoncer les voies de contamination possibles chez l'individu en précisant pour chacune la forme parasitaire impliquée.

4.2.3. Indiquer trois moyens de prophylaxie de la toxoplasmose.

4.2.4. Une technique d'amplification génique par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) a été développée. La cible est un fragment d'un gène répété plus d'une centaine de fois codant pour un ARN ribosomal du toxoplasme. Le produit d'amplification est caractérisé par fluorescence du bromure d'éthidium après électrophorèse sur gel d'acrylamide. L'identité du fragment amplifié est contrôlée par hybridation avec une sonde radio-marquée (*Southern-Blot*).

4.2.4.1. Donner les avantages de cette technique par rapport à la méthode de diagnostic classique.

4.2.4.2. Cette technique peut-elle être réalisée dans tous les laboratoires ? Justifier la réponse.

Annexes : pour des raisons de mise en page, les différentes annexes ne sont pas dans l'ordre...

ANNEXE 2 : Concentrations et diamètres critiques de l'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	≤ 0,12	> 0,12		
Oxacilline	5 µg	≤ 2	> 2	≥ 20	< 20
Céfoxitine	30 µg			≥ 27	< 25

Source : COMITÉ DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE
Recommandations 2010 (modifié)

ANNEXE 1 « PASTOREX® ROTAVIRUS » (document BioRad)

RÉACTIFS

R1	Diluent	Tampon Diluant + 0,015 M NaN ₃	1 flacon de 75 ml
R2	Latex	Latex Anti-Rotavirus + 0,015 M NaN ₃	1 flacon compte-gouttes de 1,5 ml (noir ou brun)
R3	Negative control	Latex de contrôle négatif + 0,015 M NaN ₃	1 flacon compte-gouttes de 1,5 ml (blanc)
R4	Antigen	Antigène de contrôle positif + 0,015 M NaN ₃	1 flacon compte-gouttes de 0,5 ml (jaune)
		Cartes d'agglutination jetables Agitateurs à usage unique	30 cartes

- Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.
- La date de péremption est indiquée sur chaque conditionnement.
- Conservation: à +2-8°C. - Ne pas congeler les réactifs.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Pipettes type "Pasteur" • Pipette de 50 µl
- Tubes à hémolyse • Centrifugeuse
- Agitateur type "Vortex" • Filtres Ø = 0,80 µ

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Tous les réactifs contiennent de l'azide de sodium.

L'Azide de sodium peut réagir avec le plomb ou le cuivre présents dans les tuyaux d'évacuation et produire ainsi des azides métalliques explosifs. Lors de leur élimination, rincer abondamment à grande eau, pour éviter la formation de dépôts d'azide.

MODE OPÉRATOIRE

1) Récolte et préparation des échantillons

- Recueillir les selles dans des pots stériles.
- Diluer un échantillon de selles au 1/10 dans les tampon de dilution - R1 (0,25 g de selles dans 2,5 ml de R1).
- Agiter au "Vortex" pendant 1 min.
- Centrifuger à 1,000 tours/min cette suspension.

La réaction d'agglutination s'effectue sur le surnageant.

Note: Dans le cas de selles très muqueuses, il est difficile, malgré la centrifugation, d'obtenir un surnageant clair. Dans ce cas, il est conseillé de filtrer la partie muqueuse de ce surnageant sur un filtre de diamètre égal à 0,80 µ.

2) Réaction d'agglutination

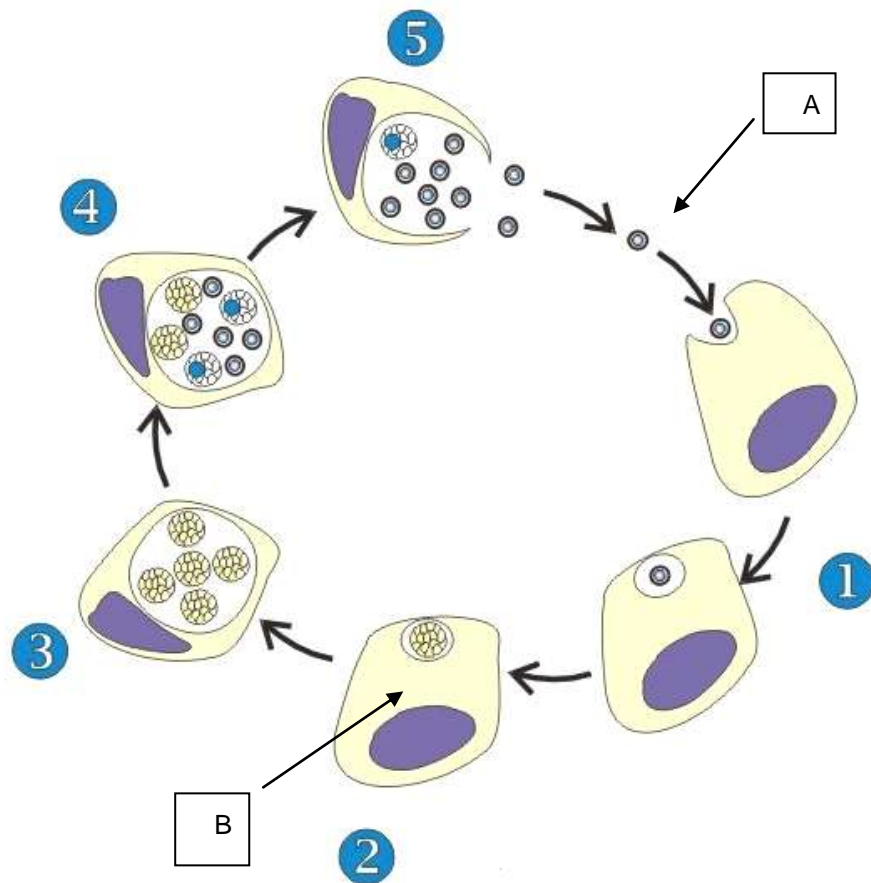
- Bien homogénéiser les deux flacons de latex R2 et R3 ("Vortex" par exemple).
- Déposer une goutte de R2 et une goutte de R3 sur deux puits distincts d'une carte d'agglutination.
- Ajouter 50 µl de surnageant dans chaque puits.
- Mélanger avec un agitateur à usage unique.
- Observer l'agglutination après 2 min de rotation de la carte.

ANNEXE 4 « BD Mycosel Agar » (formule en gramme par litre d'eau purifiée)

Digestion papaique de semoule de soja	10,0
Glucose	10,0
Cycloheximide (ou actidione)	0,4
Chloramphénicol	0,05
Agar	15,5
pH = 6,9 ± 0,2	

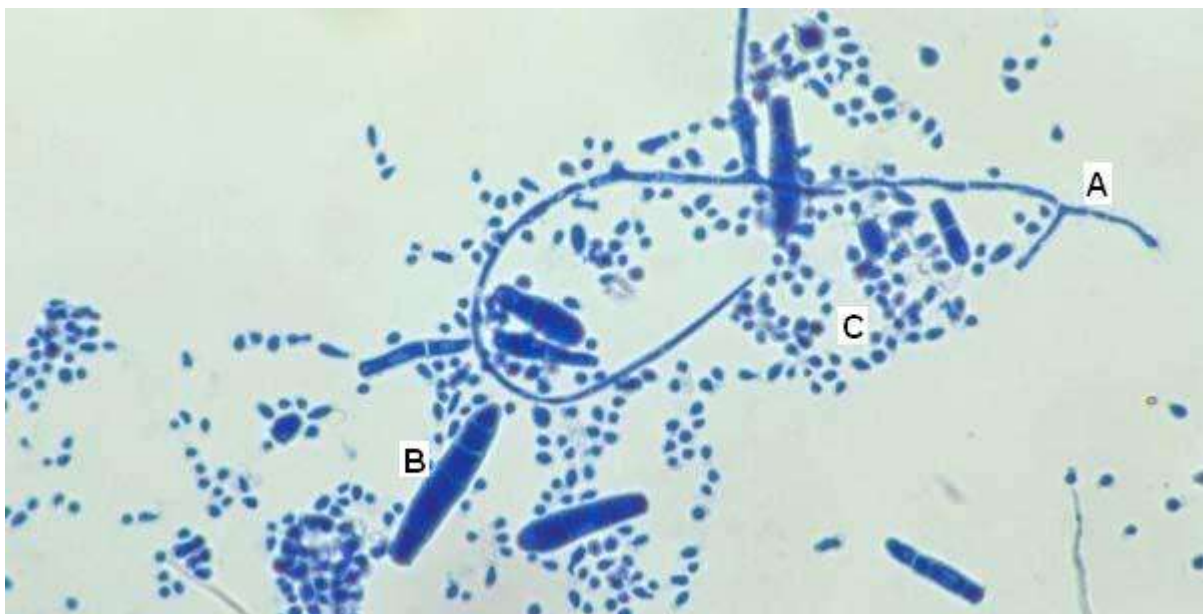
(Document BD Diagnostic)

ANNEXE 3 : Cycle infectieux des *Chlamydiae*



(Rémi Moreda- Lycée Docteur Lacroix- Narbonne- modifié)

ANNEXE 5 : Photographie d'un dermatophyte (coloration au bleu de lactophénol, x400) (Source : <http://www.doctorfungus.org>)



Durée : 2 heures Coefficient : 2
Calculatrice interdite Aucun matériel autorisé

LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN CAS D'UNE RECTOCOLITE HÉMORRAGIQUE

La rectocolite hémorragique est une maladie auto-immune qui se traduit principalement par l'inflammation chronique de l'extrémité distale du tube digestif (côlon et rectum). L'apparition des premiers troubles peut être consécutive au contact de la muqueuse digestive avec un antigène particulier d'origine virale, bactérienne, alimentaire... La maladie alterne ensuite les épisodes inflammatoires aigus et les périodes d'accalmie relative.

1. Immunité au niveau de la muqueuse intestinale (8,5 points)

1.1. Citer un mécanisme physique et un mécanisme chimique impliqués dans les fonctions non spécifiques de protection anti-infectieuse de l'appareil digestif.

L'immunité spécifique des muqueuses se caractérise par la production d'immunoglobulines A sécrétoires (IgA_s) dont la structure schématique est donnée dans le **document 1 (à rendre avec la copie)**.

1.2. Annoter précisément le schéma structural de l'IgA sécrétoire du **document 1** en précisant :

- les noms des chaînes polypeptidiques,
- la nature des liaisons intervenant entre ces sous-unités,
- le nom des différents domaines constituant les sous-unités,
- la localisation des paratopes.

1.3. Préciser le rôle du composant sécrétoire.

1.4. Indiquer le rôle des IgA sécrétées au niveau intestinal.

La synthèse des IgA est l'aboutissement d'une coopération cellulaire.

1.5. Citer les trois types de cellules impliquées dans cette coopération cellulaire et préciser succinctement le rôle de chacune d'entre elles.

2. Conséquences hématologiques de la rectocolite hémorragique (9 points)

Lors des poussées inflammatoires, les diarrhées sanglantes sont des symptômes classiques de la rectocolite hémorragique. Des examens biologiques sont réalisés chez un homme de 34 ans se plaignant de troubles digestifs et présentant des selles sanglantes depuis quelques jours.

2.1. Interpréter chacun des résultats présentés sur le **document 2a**, puis conclure.

En cas de réaction inflammatoire, le métabolisme du fer est perturbé. Des examens complémentaires sont présentés dans le **document 2b**.

2.2. Donner la signification biologique de chacun des cinq paramètres mesurés.

2.3. Conclure sur l'ensemble des résultats donnés dans les **documents 2a et 2b**. Proposer une orientation du diagnostic.

2.4. Pour chacun des trois paramètres explorant le métabolisme du fer, indiquer le résultat attendu dans le cas d'une carence martiale.

3. Traitement chirurgical de la rectocolite hémorragique (12,5 points)

Il est parfois nécessaire chez les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de retirer chirurgicalement une partie de l'intestin (résection intestinale).

Le bilan d'hémostase préopératoire a donné les résultats présentés dans le **document 2c**.

3.1. Indiquer l'intérêt de chacun des tests réalisés.

3.2. Interpréter les résultats obtenus.

Le dosage du fibrinogène a été réalisé par la méthode chromométrique de Clauss. La fiche technique du coffret FIBRI-PREST® STAGO ainsi que le tableau de lecture correspondant sont présentés respectivement aux **documents 3a** et **3b**.

Les conditions de réalisation de la manipulation ainsi que le résultat obtenu pour le patient sont les suivants :

- lecture au bain thermostaté électromagnétique,
- dilution du plasma : 1/20^e,
- temps de coagulation : 13,5 secondes.

3.3. Indiquer le rôle de chaque composant du **réactif 1**.

3.4. Déterminer la fibrinogénémie en g.L⁻¹ en précisant la démarche utilisée.

3.5. Interpréter le résultat obtenu. Préciser si ce résultat confirme ou contredit les résultats de VS et CRP présentés dans le **document 2b**. Justifier la réponse.

La pièce de résection intestinale est adressée au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique afin de vérifier que la zone lésée a été entièrement retirée. Une étude histologique est réalisée sur cette pièce.

Cette technique demande un grand nombre d'étapes de traitements de la pièce opératoire. L'ensemble des étapes est présenté dans le désordre dans le **document 4**.

3.6. Remettre les étapes dans l'ordre chronologique.

3.7. Expliquer la réalisation de l'étape « déshydratation et passage dans le solvant de la paraffine » ; justifier son utilité.

3.8. Citer une coloration trichrome utilisée en histologie puis préciser le nom et le rôle des colorants employés.

Les personnes possédant les antigènes HLA B27 semblent prédisposées aux maladies auto-immunes notamment intestinales.

4. Prédisposition à la rectocolite hémorragique (10 points)

4.1. Réaliser un schéma annoté d'un antigène majeur d'histocompatibilité de classe I en localisant le site de fixation de l'épitope.

4.2. Indiquer quelles cellules possèdent les antigènes majeurs d'histocompatibilité de classe I.

Le protocole décrit dans le **document 5** permet le typage des antigènes HLA B à partir de lymphocytes des sujets.

4.3. Indiquer le rôle de la première incubation (incubation de 30 minutes).

4.4. Justifier le rôle de la deuxième incubation (incubation de 45 minutes).

4.5. Interpréter le résultat d'un puits présentant une fluorescence rouge et celui d'un puits présentant une fluorescence verte.

Les anticorps anti HLA I utilisés dans le coffret sont des anticorps monoclonaux.

4.6. Définir l'expression « anticorps monoclonal ».

4.7. Présenter deux avantages à utiliser des anticorps monoclonaux plutôt que des anticorps polyclonaux.

DOCUMENT 2 : RÉSULTATS PARTIELS (Homme de 34 ans)

Document 2a - Résultats partiels de l'hémogramme :

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
Hématies	$3,8 \cdot 10^{12} \cdot L^{-1}$	$4,5 \cdot 10^{12}$ à $6,5 \cdot 10^{12} \cdot L^{-1}$
Hémoglobine	82 g.L ⁻¹	140 à 180 g.L ⁻¹
Hématocrite	0,27 L.L ⁻¹	0,42 à 0,54 L.L ⁻¹
VGM	71 fL	85 à 100 fL
IDR	20 %	< 15 %
CCMH	304 g.L ⁻¹	320 à 360 g.L ⁻¹
TCMH	22 pg	27 à 32 pg
Réticulocytes	$65 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	< $120 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$

Document 2b - Résultats partiels d'examens biologiques complémentaires :

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
VS (1 ^{ère} heure)	80 mm	< 10 mm
CRP	500 mg.L ⁻¹	< 10 mg.L ⁻¹
Sidérémie	9 μ mol.L ⁻¹	10 à 30 μ mol.L ⁻¹
Ferritine sérique	300 μ mol.L ⁻¹	80 à 250 μ mol.L ⁻¹
Transferrine	1,0 g.L ⁻¹	1,7 à 3,5 g.L ⁻¹

Document 2c - Résultats partiels du bilan préopératoire d'hémostase :

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
Thrombocytes	$258 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$150 \cdot 10^9$ - $400 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$
Taux de prothrombine	90 %	>70%
TCA (témoin 33 sec)	35 sec	Ecart $T_{\text{patient}} - T_{\text{témoin}} < 5$ sec

DOCUMENT 3 : Dosage du fibrinogène par la méthode de Clauss

Document 3a - Extrait d'après la fiche technique FIBRI-PREST® STAGO

1- INTÉRÊT DU COFFRET

Détermination manuelle ou semi-automatique du fibrinogène plasmatique selon la méthode chronométrique de Clauss.

2- PRINCIPE DU TEST

En présence d'un excès de thrombine, le temps de coagulation d'un plasma, dilué dans des proportions adéquates, est directement proportionnel à la concentration en fibrinogène plasmatique.

3- COMPOSITION

Réactif 1 : thrombine calcique titrée, contenant un inhibiteur spécifique de l'héparine permettant le dosage du fibrinogène sur le plasma des patients traités par cet anticoagulant.

Réactif 2 : Tampon Owren-Koller, prêt à l'emploi (pH 7,35 environ).

4- MODE OPÉRATOIRE

- Le dosage est effectué sur une dilution du plasma telle que le temps de coagulation observé soit compris entre 8 et 25 secondes. Ceci est habituellement obtenu avec une dilution du plasma au 1/10^e en réactif 2 (fibrinogénémie comprise entre 1,5 et 4 g.L⁻¹). Le résultat est lu directement sur le tableau joint à chaque coffret.
- **Si la fibrinogénémie est élevée**, le temps de coagulation sera inférieur à 8 secondes. Répéter l'examen sur une dilution au 1/20^e ou éventuellement au 1/30^e ; **multiplier les résultats lus sur le tableau par respectivement 2 ou 3.**
- **Si la fibrinogénémie est basse**, le temps de coagulation sera supérieur à 25 secondes. Répéter l'examen sur une dilution au 1/5^e ou éventuellement au 1/2 ; **diviser les résultats lus sur le tableau par respectivement 2 ou 5.**
- Au bain-marie électro-magnétique, procéder comme indiqué ci-dessous :

Dans un tube à hémolyse à 37°C :		
• Dilution du plasma.....		0,2 mL
• Incuber à 37°C pendant.....		2 min.
• En déclenchant un chronomètre, ajouter le réactif 1 pré-incubé à 37°C.....		0,2 mL
Noter le temps de coagulation (secondes).		

5- VALEURS USUELLES

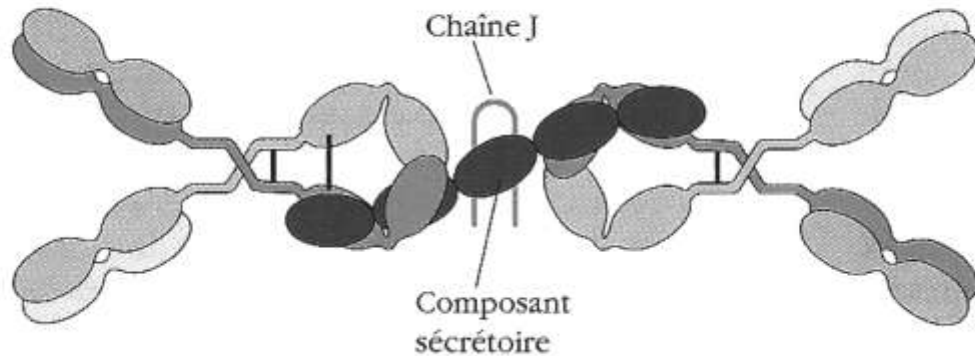
Le taux plasmatique de fibrinogène est généralement compris chez l'adulte entre 2 et 4 g.L⁻¹. Cependant, il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence. Le résultat doit être interprété en fonction de l'état clinique et biologique du patient.

Document 3b – Tableau de conversion des temps de coagulation en taux de fibrinogène

Lecture directe du taux de fibrinogène pour une **dilution du plasma au 1/10** ; pour une autre dilution appliquer le facteur indiqué dans la fiche.

Temps de coagulation Coagulation Time (sec.)	Taux de fibrinogène (g/l) Fibrinogen Level (g/l)	
	Crochet Hook	Bain-marie électromagnétique Electromagnetic Water-Bath
5.0	11.31	11.15
5.5	9.52	9.72
6.0	8.19	8.59
6.5	7.17	7.68
7.0	6.37	6.94
7.5	5.72	6.32
8.0	5.19	5.80
8.5	4.75	5.36
9.0	4.38	4.98
9.5	4.07	4.65
10.0	3.79	4.36
10.5	3.56	4.10
11.0	3.35	3.87
11.5	3.16	3.67
12.0	3.00	3.49
12.5	2.85	3.32
13.0	2.72	3.17
13.5	2.60	3.04
14.0	2.49	2.91
14.5	2.39	2.80
15.0	2.30	2.69
15.5	2.21	2.60
16.0	2.14	2.51
16.5	2.06	2.42
17.0	2.00	2.34
17.5	1.94	2.27
18.0	1.88	2.20
18.5	1.82	2.14
19.0	1.77	2.08
19.5	1.72	2.03
20.0	1.68	1.97
21.0	1.59	1.88
22.0	1.52	1.79
23.0	1.45	1.71
24.0	1.39	1.64
25.0	1.33	1.58
26.0	1.28	1.52
27.0	1.24	1.47
28.0	1.19	1.42
29.0	1.15	1.37
30.0	1.11	1.33
31.0	1.08	1.29
32.0	1.05	1.25
33.0	1.01	1.22
34.0	0.98	1.19
35.0	0.96	1.16

DOCUMENT 1 : Structure de l'immunoglobuline A sécrétoire



À compléter et à rendre avec la copie

DOCUMENT 4 : Étapes de traitement histologique d'une biopsie (désordre)

1	Imprégnation par la paraffine
2	Fixation de la pièce
3	Déparaffinage et réhydratation
4	Coupe au microtome
5	Déshydratation et passage dans le solvant de la résine de montage
6	Coloration
7	Inclusion dans la paraffine
8	Étalement et collage des coupes
9	Montage
10	Déshydratation et passage dans le solvant de la paraffine

DOCUMENT 5 : Procédure de typage cellulaire

D'après une fiche technique Invitrogen™.

- 1- Décongeler des microplaques « Terasaki » contenant différents anticorps anti HLA I de spécificités connues. Chaque puits contient des anticorps anti HLA I de même spécificité antigénique.
- 2- Répartir délicatement 1 μ L de la suspension de lymphocytes à typer dans chacun des puits.
- 3- Incuber 30 minutes à 22 °C.
- 4- Ajouter 5 μ L de complément à chaque puits.
- 5- Incuber 45 minutes à 22 °C.
- 6- Ajouter 1 μ L de solution de marquage contenant deux colorants fluorescents : l'acridine orange et le bromure d'éthidium. L'acridine orange pénètre dans les cellules mortes et donne une fluorescence rouge et le bromure d'éthidium révèle des cellules viables par sa fluorescence verte.
- 7- Incuber 15 minutes à 22°C à l'obscurité.
- 8- Lire au microscope à fluorescence dans l'heure qui suit.

Durée : 4 heures Coefficient : 2,5

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.
- **Aucun document autorisé en dehors de la documentation fournie.**

Dans le cadre du diagnostic d'une maladie de Paget, un bilan phosphocalcique comprenant le dosage des phosphates urinaires ainsi que la détermination de l'activité phosphatase alcaline sérique est réalisé chez un homme de 55 ans. La maladie de Paget est une pathologie osseuse caractérisée par une activité accrue des ostéoclastes se traduisant par une hypercalcémie, une hyperphosphaturèse et une augmentation de la concentration d'activité catalytique de la phosphatase alcaline sérique.

1. Détermination de la phosphaturie par la méthode de Misson

La méthode de Misson utilise le réactif nitrovanadomolybdique. En présence de cette solution acide de molybdate et de vanadate d'ammonium, les ions phosphate forment un complexe jaune, dosable par spectrophotométrie.

1.1. Dosage

Le dosage des phosphates urinaires est réalisé selon le protocole suivant (**2 essais**) :

Dans une microcuve, introduire :

Urine convenablement diluée ... 1mL

Réactif de coloration 1mL



Mélanger.

Incuber 20 minutes à l'obscurité avant lecture des absorbances.

Lire les absorbances à 470nm contre un témoin réactif.

1.2. Étalonnage

Préparer, par pesée de KH_2PO_4 , 50 mL d'une solution étalon à exactement $20,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ en phosphates.

La pesée sera réalisée en présence d'un examinateur.

À partir de cette solution étalon, réaliser une gamme de 5 étalons allant jusqu'à 1 mmol.L^{-1} en phosphates.

Traiter la gamme de manière identique aux essais.

1.3. Contrôle

Solution Contrôle à $0,40 \text{ mmol.L}^{-1}$ en phosphates.
Un seul essai est réalisé.

1.4. Compte rendu

- Indiquer le traitement de l'échantillon.
- Présenter un tableau complet du dosage.
- Tracer la courbe d'étalonnage à l'aide d'un ordinateur fourni par le centre.
- Valider les résultats à l'aide de la solution Contrôle.
- Déterminer la phosphaturie et la phosphaturèse du patient.
- Conclure.

Données :

Masse molaire de KH_2PO_4 : $136,09 \text{ g.mol}^{-1}$

Valeurs physiologiques de la phosphaturie : $15,0$ à $30,0 \text{ mmol.L}^{-1}$

Valeurs physiologiques de la phosphaturèse : $22,0$ à $42,0 \text{ mmol} / 24 \text{ h}$

Diurèse du patient : $1,2 \text{ L}$

Ecart type de répétabilité $s_r = 0,60 \text{ mmol.L}^{-1}$

Incertitude composée $u_{C \text{ phosphaturie}} = 0,65 \text{ mmol.L}^{-1}$

Intervalle de validation : $[0,35 ; 0,45] \text{ mmol.L}^{-1}$

2. Détermination de la concentration de l'activité catalytique de la phosphatase alcaline

Le dosage est réalisé à l'aide d'un kit dont la fiche technique est présentée dans le document joint.

2.1. Mode opératoire

Réaliser le test à 37°C sur le sérum du patient conformément à la fiche technique. (1 essai).

La manipulation sera réalisée en présence d'un examinateur.

2.2. Résultats

- Déterminer la concentration de l'activité catalytique de la phosphatase alcaline en U.L^{-1} et en nkat.L^{-1} .
- Conclure.

Donnée :

Coefficient d'absorbance linéique molaire du paranitrophénol à 405 nm : $1860 \text{ m}^2.\text{mol}^{-1}$: $u_C = 30 \text{ U.L}^{-1}$

3. Conclusion

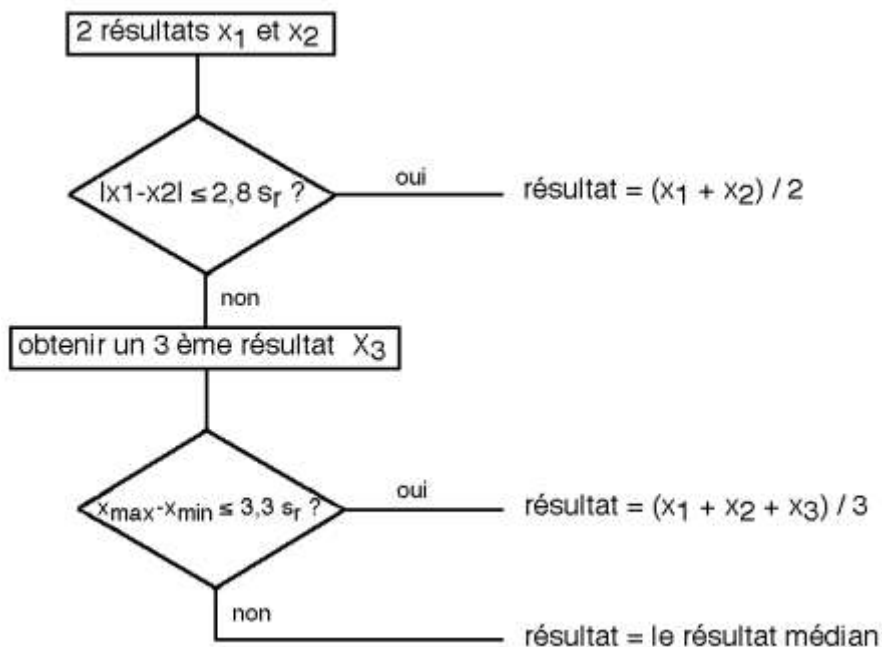
Analyser les résultats obtenus en fonction du contexte présenté.

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

Logigramme d'acceptabilité des résultats

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

La démarche à suivre est illustrée dans le logigramme suivant :



Utilisation du logigramme :

- Si trois essais sont possibles, l'ensemble du logigramme sera utilisé ;
- Si pour des raisons matérielles, il n'est pas possible de réaliser un troisième essai alors qu'il est nécessaire, la moyenne ne sera pas effectuée et un résultat sera rendu pour l'un des essais.

Expression des résultats

Le résultat final est rendu à $\pm 2 u_c$

Enzyline® PAL optimisé

IVD

Mesure cinétique de l'activité phosphatase alcaline dans sérum et plasma humains selon les recommandations de la Société de Chimie Clinique Allemande (DGKC).

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST (1, 2, 3)

L'activité phosphatase alcaline (PAL) est présente dans de nombreux tissus (foie, os, reins, muqueuse intestinale, placenta, rate, leucocytes...). Ces différentes isoenzymes, métallo-glycoprotéines à zinc, sont liées aux membranes cellulaires et impliquées dans le transport de métabolites à travers ces membranes. Les PAL catalysent l'hydrolyse d'esters monophosphates pour donner l'ion phosphate d'une part, et un alcool, un phénol ou un ose d'autre part. Le magnésium participe à l'activité catalytique.

Le sérum d'un sujet sain à jeun contient principalement la PAL d'origine hépatique. L'enzyme d'origine intestinale est présente dans le sérum en quantité variable selon le groupe sanguin : les groupes O et B dits sécréteurs sont plus riches en PAL intestinale.

La PAL d'origine intestinale augmente à l'état post-prandial.

La PAL d'origine osseuse est présente dans le sérum de l'enfant en phase prépubertaire et celle d'origine placentaire chez la femme enceinte (surtout 2^{ème} et 3^{ème} trimestre de la grossesse).

Dans le sérum, on peut trouver des macroenzymes, qui résultent de l'association de PAL avec des immunoglobulines (G, A, quelquefois M), des glycoprotéines, des lipoprotéines, des constituants membranaires pour former des complexes multienzymatiques.

- Une diminution de l'activité sérique des PAL est observée en cas de :
 - hypothyroïdie,
 - insuffisance hépatique sévère,
 - anémies sévères,
 - scorbut,
 - hypophosphatasémie congénitale (rare).

- Une augmentation de l'activité sérique des PAL est observée en cas de :

- maladies osseuses (tumeurs et métastases osseuses, maladie de Paget), les consolidations de fractures, ostéomalacie et rachitisme, ostéodystrophie rénale,
- hyperparathyroïdie,
- cholestases, obstructions biliaires (lithiases, tumeurs, kystes, hémobilie), hépatomes, métastases hépatiques (surtout dans cancers colo-rectaux), cirrhoses, hépatites et infiltrations hépatiques,
- cancers du pancréas, du sein, de l'ovaire, de l'utérus, des testicules, de la prostate,
- sarcoïdose,
- septicémies.

PRINCIPE (4, 5)

Enzyline® PAL optimisé permet la détermination cinétique de l'activité phosphatase alcaline en utilisant comme substrat le paranitrophénylphosphate (PNPP), en tampon diéthanolamine, en présence d'ion Mg²⁺ comme activateur, selon les recommandations de la Société allemande de chimie clinique (DGKC).



La vitesse d'apparition du paranitrophénol libéré est proportionnelle à l'activité PAL dans l'échantillon.

PAL = phosphatases alcalines.

Code SFBC : BA

PRESENTATION ET COMPOSITION DU COFFRET (165 tests)

Réactif 1 Tampon 2 x 75 ml (liquide)	R1	Tampon diéthanolamine (DEA) * pH 9,8 Sulfate de magnésium NaN ₃	1,1 mol/l 0,56 mmol/l 1 g/l
Réactif 2 (repris par R3) Substrat 2 x 10 ml (poudre)	R2	PNPP	112 mmol/l
Réactif 3 Solvant de reprise 2 x 12 ml (liquide)	R3	NaN ₃	0,9 g/l
1 notice			

* Réactif NOCIF :

- R 48/22 : nocif : risques d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion.
- R 41 : risque de lésions oculaires graves.
- S 26 : en cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- S 46 : en cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Pour plus d'informations, consulter la fiche de données sécurité disponible sur demande.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI**Matériel**

Equipement général de laboratoire.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption indiquée sur l'étiquette étui.
- Le réactif contient un conservateur (azoture de sodium), susceptible de réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et de former des azotures métalliques explosifs. Il est recommandé de rincer à l'eau tout rejet.
- L'utilisation de matériel à usage unique est conseillée.
- Lors de l'utilisation de matériel en verre, il est nécessaire de le soumettre à une décontamination avec de l'acide chlorhydrique 1 N suivi de rinçages soigneux à l'eau déminéralisée.

CONDITIONS DE STOCKAGE

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

ECHANTILLONS**Nature des échantillons (6)**

Sérum ou plasma recueilli sur héparinate de lithium.

Stabilité (6)

- 5 jours à 2-8°C.
- 6 heures à 20-25°C.
- 6 semaines à -25 ± 6°C.

Interférences

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

- de la lipémie, après surcharge d'échantillons en lipides, jusqu'à 5 mmol/l d'équivalent triglycérides,
- de la bilirubinémie, après surcharge d'échantillons en bilirubine, jusqu'à 436 µmol/l.

Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés en raison de l'inhibition de la PAL par l'hémoglobine (3, 6, 7).

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

MODE OPERATOIRE MANUEL**Préparation des réactifs****Réactif 1**

Prêt à l'emploi

Réactif 2

Reprendre le contenu d'un flacon de Réactif 2 par 10 ml de Réactif 3.

Stabilité dans le flacon d'origine

- 2 mois à 2-8°C.
- 2 semaines à 20-25°C.

Préparation de la solution de travail

L'utilisation de matériel à usage unique est conseillé.

Réactif 1 : _____ 10 ml
Réactif 2 repris : _____ 1 ml

Stabilité

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

Réalisation du test

Longueur d'onde : _____ 405 nm (410 nm)
Température : _____ 30°C ou 37°C
Cuve : _____ trajet optique 1 cm
Zéro de l'appareil : _____ air ou eau déminéralisée

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

Solution de travail portée à 30 ou 37°C	1 ml
Echantillon	20 µl

Mélanger. Attendre 1 minute.
Mesurer l'augmentation moyenne de DO par min (n) pendant 1 à 3 minutes.

Pour une variation moyenne de DO par min $\geq 0,24$ à 405 nm, refaire la détermination en diluant l'échantillon au 1/5 ou 1/10 dans une solution de NaCl à 9 g/l.

RESULTATS ET INTERPRETATION

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

Calcul

405 nm _____ UI/l = $n \times 2\,750$

410 nm _____ UI/l = $n \times 2\,910$

CONTROLE DE QUALITE

- Lyotrol® P (Réf. 62 383)
- Unitrol® (Réf. 62 453)
- Zymotrol® (Réf. 62 952)

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

Remarque

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

VALEURS ATTENDUES (3, 8, 9)

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

Les variations de l'activité PAL sont à interpréter en fonction des valeurs usuelles correspondant à la tranche d'âge.

	30°C (U/l) *	37°C (U/l) *
Enfants	140 - 970	190 - 1300
Adultes	80 - 220	100 - 290

* valeurs recalculées. Pour obtenir les valeurs attendues à 30°C et à 37°C à partir des valeurs attendues à 25°C, les facteurs utilisés sont respectivement de 1,28 et 1,73.

PERFORMANCES (10)

Les études du réactif Enzyline® PAL optimisé ont donné les résultats suivants à 37°C.

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

Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

Les performances sont données à titre indicatif.

Limite de détection analytique

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

La limite de détection est inférieure ou égale à 4 U/l.

Linéarité

Le réactif est linéaire jusqu'à 650 U/l.

Précision**Précision intra-série**

Trois échantillons ont été dosés dans la même série.

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	20	42	4,49
Niveau 2	20	100	3,32
Niveau 3	20	601	2,83

Précision inter-séries (11)

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

	n	Moyenne (U/l)	C.V (%)
Niveau 1	45	50	5,15
Niveau 2	45	113	3,96
Niveau 3	45	654	3,48

Corrélation

58 échantillons de patients ont été dosés comparativement au réactif bioMérieux Enzyline® PAL standardisé 50 (Réf. 63 657) selon la méthode SFBC.

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

$y = 2,04 x - 14,11$ (en U/l) avec un coefficient de corrélation de 0,99.

APPLICATIONS DISPONIBLES SUR DEMANDE

- Applications spectrophotomètres (12453A)
- HITACHI 704 (12454A)
- HITACHI 717 (12455A)
- HITACHI 911 (12456A)
- MASCOTT PLUS / LISA (12457A)
- MIRA S / MIRA PLUS (12458A)
- RA 1000 / XT (12459A)
- SELECTRA 2 (12460A)

ELIMINATION DES DECHETS

- Le réactif « R1 » non utilisé doit être éliminé en suivant les procédures relatives aux déchets chimiques dangereux.
- Les autres réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.
- Eliminer tous les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. EPSTEIN E., KIECHLE FL., ARTISS JD. et al. - The clinical use of alkaline phosphatase enzymes. - *Clin. Lab. Med.*, 1986, vol. 6, n° 3, p. 491-505.
2. MOSS DW. - Diagnostic aspects of alkaline phosphatase and its isoenzymes. - *Clin. Biochem*, 1987, vol. 20, n° 4, p. 225-230.
3. DUFOUR D.R., LOTT J.A., NOLTE F.S., et al. - Diagnosis and monitoring of hepatic injury. Part I : Performance characteristics of laboratory tests - *Clinical Chemistry* - 2000, vol. 46, n°12, p. 2027-2049.
4. BERGMAYER H.U., et al - Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. - *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.* - 1972, vol. 10, p. 182-192.
5. MATHIEU M. - Les travaux et documents de "l'expert panel on enzyme (EPE)" de la Fédération Internationale de Chimie Clinique, de 1971 à 1982.- *I.S.B.* - 1984, vol. 10, n°1, p. 31-35.
6. MATHIEU M., BRETAUDIÈRE J.P., GALTEAU M.M., et al. - Société française de Biologie Clinique. Commission enzymologie - Recommandations pour la mesure de la concentration catalytique des phosphatases alcalines dans le sérum humain à + 30°C.- *Ann. Biol. Clin.* - 1982, vol. 40, p. 111-116.
7. BALLANTYNE F.C., BORLAND W., BIRRELL R.C. et al. - Haemolysis and plasma alkaline phosphatase activity. - *Ann. Clin. Biochem.* - 1988 ; vol. 25, p. 192-193.
8. THEFELD W., HOFFMEISTER H., BUSCH E.-W. et al. - Referenzwerte für die Bestimmungen der Transaminasen GOT und GPT sowie der alkalischen Phosphatase im Serum mit optimierten Standardmethoden - *Dtsch. med. Wschr.* - 1974, vol. 99, 343-351.
9. WEISSHAAR D., GOSSRAU E., FADERL B. - Nombereiche von α -HBDH, LDH, AP und LAP bei Messung mit substratoptimierten Testansätzen. - *Med. Welt.* - 1975, vol. 26, n°9, p. 387-390.
10. VASSAULT A., GRAFMEYER D., NAUDIN C. et al. - Protocole de validation de techniques (document B) - *Ann. Biol. Clin. (Paris)* - 1986, vol. 44, p. 686-745.
11. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices - Kennedy J.W. et al. - 2nd ed - vol. 12, n° 4, EP5-T2 - ISBN 1-56238-145-8.

E5-U52 Analyses de Microbiologie médicale 2013

Durée : 6 heures Coefficient : 3

SUJET JOUR 1 Session 2013

Durée 3h30

Aucun document personnel autorisé.

Document à rendre avec la copie :

- Annexe 1 (à rendre 1h45 après le début de l'épreuve).....

Suivi de patients d'un service de maternité, gynécologie, obstétrique

Consignes à respecter

Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture rédigée.

Les demandes justifiées de milieu(x), matériel(s) et réactif(s) portées sur l'annexe 1 sont à rendre 1h45 après le début de l'épreuve.

1. Un nouveau-né **A** présente une forte fièvre quelques heures après sa naissance. Une bactériémie est suspectée. Une hémoculture est réalisée.

Un échantillon du flacon d'hémoculture aérobie incubé 24h à 37°C étiqueté « HA » est fourni.

- 1.1. Procéder à l'examen macroscopique et microscopique et interpréter les résultats.
- 1.2. Choisir un milieu d'isolement utile à la poursuite de l'étude de ce cas : renseigner l'annexe 1.

Ensemencer le milieu fourni par le centre.

2. Un nouveau-né **B**, âgé d'une semaine, présente une fièvre élevée. Sa diurèse est anormalement faible. Le pédiatre refuse sa sortie de la maternité et demande un examen cytot bactériologique des urines. Le collecteur pédiatrique placé est retiré au bout d'une heure.

Les premiers résultats obtenus sur l'urine entière sont les suivants :

- Urine jaune trouble,
- Leucocyturie : $7 \cdot 10^4$ leucocytes.mL⁻¹,
- Hématurie négative,
- Absence de cristaux et de cylindres,
- Bactériurie : 10^6 UFC.mL⁻¹.

- 2.1. Interpréter ces premiers résultats.

Un isolement de l'urine sur milieu CLED étiqueté « UB » incubé 24h à 37°C est fourni.

- 2.2. Choisir le matériel nécessaire à l'identification de la bactérie isolée et à la réalisation de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en milieu gélosé (choix limité à 6 disques d'antibiotiques) : renseigner l'annexe 1.

Documents fournis par le centre :

- *fiche technique CL*
- *document du CA-SFM*

Ensemencer le matériel fourni par le centre.

3. Une personne C, de retour d'un séjour en zone tropicale, présente un accès fébrile intense. Une analyse sanguine est prescrite.

Un frottis sanguin coloré au May-Grünwald Giemsa étiqueté « C » est fourni.
Rechercher la présence d'éléments parasitaires sur ce frottis.

- 3.1. Montrer à l'examineur le ou les éléments repérés.
- 3.2. Rédiger l'identification justifiée du (ou des) parasite(s) observé(s).

Documents fournis par le centre : parasites sanguins vus au microscope

Pour information : les compétences évaluées au cours de l'épreuve (jour 1) sont :

- C1.4. : Analyser les risques liés à son activité
- C3.4.2 : Réaliser les examens macroscopiques et microscopiques sur l'échantillon biologique
- C3.4.3 : Interpréter les résultats de l'estimation quantitative la population bactérienne
- C3.4.4 : Réaliser un isolement
- C3.4.5 : Mettre en œuvre une démarche d'identification
- C3.4.7 : Réaliser un antibiogramme
- C3.4.10 : Rechercher et identifier des parasites sur un frottis coloré

ANNEXE 1

Demande justifiée de milieu(x), matériel(s), réactif(s)

Jour 1

À rendre 1h45 après le début de l'épreuve

POSTE N° : _____

Question 1.2. HÉMOCULTURE NOUVEAU-NÉ A

SUJET JOUR 2 Session 2013

Durée 3h30

Aucun document personnel autorisé.

Documents à rendre avec la copie :

- Annexe 2 (à rendre 1h après le début de l'épreuve).....
- Annexe 3

Suivi de patients d'un service de maternité, gynécologie, obstétrique

Consignes à respecter :

Tous les tests et examens microscopiques seront montrés à l'examineur accompagnés de leur lecture rédigée.

Les demandes justifiées de milieu(x), matériel(s) et réactif(s) portées sur **l'annexe 2** sont à rendre 1h00 après le début de l'épreuve.

1- Hémoculture du nouveau-né **A** :

- 1.1 - Réaliser la lecture de l'isolement sur gélose au sang frais.
- 1.2 - Compléter **l'annexe 2** en vue de l'identification.
- 1.3 - Réaliser l'identification et conclure.

2- Examen cyto bactériologique des urines du nouveau-né **B** :

- 2.1 - Lire la galerie d'identification ensemencée et identifier la souche.
- 2.2 - Lire l'antibiogramme.
- 2.3 - Compléter le tableau de **l'annexe 3**.
- 2.4 - Relever les résistances acquises éventuelles.

Document fourni par le centre: document du CASFM

3- Une femme enceinte **D** se présente pour son premier examen pré-natal obligatoire qui inclut une détermination de son statut sérologique vis-à-vis de la rubéole.

3.1 – Réaliser cette détermination à partir du sérum noté « SD » et des sérums témoins notés « contrôle moins » et « contrôle plus » à l'aide de **l'annexe 4**.

3.2 - Interpréter les résultats et conclure.

Pour information : compétences évaluées au cours de l'épreuve (jour 2) sont :

- C1.4 : Analyser les risques liés à son activité
- C3.4.5 : Mettre en œuvre une démarche d'identification
- C3.4.6 : Mettre en œuvre des examens complémentaires d'identification phénotypique et/ou génotypique
- C3.4.7 : Réaliser un antibiogramme
- C3.6.3 : Mettre en œuvre des réactions immunologiques d'agglutination

ANNEXE 2 – JOUR 2

Demande justifiée de milieu(x), matériel(s), réactifs

À rendre 1h00 après le début de l'épreuve

POSTE N° : _____

Question 1.2. HÉMOCULTURE NOUVEAU-NÉ A

ANNEXE 3

Tableau de lecture de l'antibiogramme
(À rendre avec la copie)

POSTE N° : _____

Sigle	Nom de l'antibiotique	Diamètre lu (mm)	CMI estimée (mg/L)	Catégorie clinique (R S I)

ANNEXE 4

Fiche technique du kit BICHROMATEST® RUBÉOLE (Fumouze)



BUT DU TEST :

BICHROMATEST® RUBÉOLE est un test d'agglutination sur carte, simple et rapide, permettant la mise en évidence des anticorps (IgG et/ou IgM) dirigés contre le virus de la rubéole dans le sérum.

PRINCIPE :

Le réactif **BICHROMATEST® RUBÉOLE**, de couleur marron, est constitué de particules de latex rouge, sensibilisées avec un antigène rubéoleux, qui sont en suspension dans un contre-colorant vert. En présence d'anticorps anti-virus de la rubéole, on observe l'apparition d'agglutinats rouge-brun, visibles à l'œil nu, sur un fond vert et la formation d'un liseré rouge. En l'absence d'anticorps (réaction négative) on n'observe aucune agglutination, la suspension reste homogène et de couleur marron.

La manipulation est simple et rapide. Les résultats sont obtenus en 8 minutes.

COMPOSITION DU COFFRET :

- Réactif Latex
- Contrôle positif (sérum contenant des anticorps rubéoleux humains)
- Contrôle négatif (sérum animal dépourvu d'anticorps rubéoleux)
- Cartes à usage unique
- Notice d'utilisation

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI :

- Micropipette de 10 µL ou autre système permettant de distribuer 10 µL
- Conteneur pour déchets contaminés
- Tubes à hémolyse
- Tampon PBS (tampon phosphate salin 0,15M - pH 7,2)

STOCKAGE DES REACTIFS :

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Ils doivent être stockés à +2°...+8°C. Après ouverture, ils sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

Ne pas congeler, ni laisser le réactif latex sous une lumière intense.

RECUEIL, PREPARATION ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS :

Le test peut être effectué :

- soit sur sérum "frais",
- soit sur sérum conservé à -20°C.

Ne pas utiliser de sérum hémolysé, trouble ou contaminé.

PRECAUTIONS D'UTILISATION :

- Pour usage in vitro.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Ne pas utiliser de réactif latex ni de contrôles provenant de lots différents.
- Respecter les instructions de la notice d'utilisation.
- Les cartes fournies dans le coffret sont à usage unique.
- Ne pas toucher les surfaces des cartes destinées aux réactions.
- En cas de versement accidentel de réactif latex ou de sérums de contrôle, nettoyer le plan de travail à l'aide d'eau de Javel, de papier absorbant et rincer avec de l'eau.

- Eviter tout contact de réactif avec la peau, les yeux et les muqueuses. Ne pas ingérer.
- Le réactif ainsi que le matériel et les produits contaminés doivent être éliminés dans un conteneur pour déchets contaminés, selon les recommandations et la réglementation en vigueur.

- Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium (concentration < 0,10 %). L'azoture de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations pour former des composés explosifs. Il est donc recommandé de ne pas jeter le réactif dans un évier sans rincer abondamment.

- Le dispositif contient du matériel d'origine animale et doit être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec précaution.

- Le sérum de contrôle positif contient du matériel d'origine humaine. Il a été testé comme étant négatif en anticorps anti-VIH 1 et 2, en anticorps anti-VHC et en antigène HBs. Il doit cependant être considéré comme potentiellement infectieux et manipulé avec précaution.

MODE OPERATOIRE :

Laisser le réactif et les sérums à analyser revenir à température ambiante avant utilisation.

a. **Homogénéiser soigneusement** le réactif latex.

b. Déposer pour chaque sérum à tester, 10 µL de réactif latex dans une cupule de la carte.

c. Déposer dans la cupule 10 µL de sérum à tester ou de sérum de contrôle positif ou négatif.

d. **Bien mélanger le sérum et le réactif latex** en inclinant la carte d'environ 45°, tout en lui imprimant un **lent mouvement oscillant circulaire**, de telle sorte que la goutte du mélange sérum-latex suive le bord de la cupule et effectuer la lecture dans les 8 minutes.

INTERPRETATION DES RESULTATS :

REACTION POSITIVE :

Eclaircissement total du milieu réactionnel avec :

- présence dans la cupule d'agglutinats rouge-brun au sein d'un liquide vert,
- présence d'un liseré rouge entourant tout ou partie de la cupule.

➤ Le sérum est identifié comme contenant des anticorps dirigés contre le virus de la rubéole à un titre supérieur ou égal à la valeur de la sensibilité indiquée sur le coffret (exemple : 10 UI/mL).

REACTION DOUTEUSE :

Coloration vert-marron du contenu de la cupule avec présence de fins agglutinats et d'un fin liseré rouge entourant tout ou partie de la cupule.

➤ Le sérum contient des anticorps dont le titre est compris entre 3 UI/mL et la valeur de la sensibilité indiquée sur le coffret (exemple : entre 3 et 10 UI/mL). Il est recommandé de tester le sérum avec une autre technique. En cas de résultats dissociés, cette recherche d'anticorps anti-rubéole sera renouvelée après 2 à 4 semaines.

REACTION NEGATIVE :

Pas d'éclaircissement du milieu réactionnel. Absence d'agglutination et de couleur verte. La suspension reste homogène et marron et on peut noter la présence d'un fin liseré marron entourant tout ou partie de la cupule.

➤ Le sérum est considéré comme ne contenant pas d'anticorps anti-rubéole ou contenant des anticorps à un titre inférieur à 3 UI/mL.

Remarques :

1. Certains sérums peuvent contenir une quantité importante d'anticorps anti-rubéole et donner une réaction négative ou douteuse, par phénomène de zone ou de prozone. En l'absence de résultat obtenu à l'aide d'une autre technique ou en cas de résultat différent, il est recommandé de réaliser un second test sur sérum dilué au 1/8 avec du tampon PBS.

E53 Analyses d'hématologie et d'anatomo-pathologie médicales 2013

Durée : 3 heures Coefficient : 1,5

Matériel autorisé :

- Calculatrice autorisée.
- Documents personnels interdits en dehors de la documentation fournie.

Documents à rendre avec la copie :

- Annexe 1
- Annexe 2
- Annexe 3

Les deux parties sont indépendantes

Première partie

Liste des compétences intervenant dans l'évaluation de la performance des candidats

- C3-5-1 Réaliser un hémogramme
- C3-5-6 Explorer l'hémostase
- C3-5-8 Détecter des anomalies cellulaires d'un frottis
- C3-5-11 Réaliser un groupage sanguin

A. Cas clinique 1 :

Mme T., d'origine martiniquaise, a été hospitalisée suite à un malaise. Un bilan sanguin a été réalisé. L'automate affichant plusieurs alarmes concernant les résultats de l'hémogramme, un frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grünwald Giemsa est réalisé.

Matériel :

- un frottis sanguin coloré par la méthode de May-Grünwald Giemsa.
1. Établir la formule leucocytaire.
 2. Réaliser l'analyse cytologique des hématies et des plaquettes.
 3. Compléter l'**annexe 1** (à rendre avec la copie) et conclure.

B. Cas clinique 2 :

Dans le cadre d'un bilan pré-opératoire demandé par le chirurgien pour Mr P., la détermination du groupe ABO-RH1 et un bilan d'hémostase sont demandés.

B.1. Groupage ABO-RH1

Matériel et réactifs :

- un tube de sang prélevé sur EDTA et centrifugé,
 - anticorps tests : anti-A, anti-B, anti-A+B et anti-D (RH1),
 - suspensions d'hématies-tests à 10 % : A1, B, O.
 - eau physiologique et tubes à hémolyse,
 - plaque pour groupage (et agitateurs si nécessaires).
1. Préparer une suspension d'hématies à 10% à partir du culot globulaire du patient.
 2. Réaliser la détermination du groupe ABO –RH1 (le contrôle qualité a été réalisé et validé).
 3. Compléter l'**annexe 2** (à rendre avec la copie). Conclure.
 4. Montrer la plaque et l'**annexe 2** à l'examineur.

B.2. Bilan d'hémostase

Documents et réactifs :

- plasma de Mr P.
- thromboplastine calcique
- bain thermostaté à 37°C
- chronomètre
- crochets ou barreau aimanté
- tubes à hémolyse

→ fiche technique de détermination du temps de Quick
 → droite de Thivolle validée par contrôle de qualité interne

1. Réaliser la mesure du temps de Quick (deux essais) sur le plasma à tester. Un essai doit être réalisé en présence d'un examinateur.
2. Compléter l'**annexe 3** (à rendre avec la copie).
3. Analyser l'ensemble des résultats et conclure.

ANNEXE 1: (à rendre avec la copie) : Résultats de l'hémogramme

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

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

ANNEXE 2 : (à rendre avec la copie) : Groupage ABO-RH1

	Groupage ABO				
	Épreuve de Beth-Vincent			Épreuve de Simonin	
	Anticorps anti-A	Anticorps anti-B	Anticorps anti-A + B	Hématies tests A1	Hématies tests B
Résultats					
Interprétation					
Conclusion					

ANNEXE 3: (à rendre avec la copie) : Bilan standard de l'hémostase de Mr P.

Paramètres	Valeurs trouvées	Valeurs physiologiques	Conclusions
Thrombocytes	$332 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	$200-400 \cdot 10^9 \cdot L^{-1}$	
Temps de saignement	6 min	< 8 min	
Taux de prothrombine (%)			
Temps de céphaline activée (TCA)	Témoin = 35 sec. Patient = 36,5 sec.	différence < 5 sec. rapport < 1,2	

Éléments de corrigés

Les corrigés figurant dans les pages suivantes ont été rédigés à partir des corrigés « officiels » par des professeurs volontaires et bénévoles. Point n'est besoin de faire beaucoup de probabilités pour deviner que des erreurs se sont fort probablement glissées dans leur rédaction. De plus, des interprétations divergentes des questions sont possibles. Les contraintes de l'imprimerie ne permettent pas de corriger des erreurs ou oublis après l'impression... mais, par contre, internet nous offre un moyen simple d'obtenir des rectificatifs. Nous vous proposons :

- de signaler les erreurs rencontrées par courriel à :
jpaubrunet@wanadoo.fr et/ou jnjoffin@wanadoo.fr
- de lire les éventuels erratums sur le site UPBM : <http://www.upbm.org>

SESSION 2012

E2 Mathématiques

2012 corrigé

EXERCICE 1

A. Résolution d'une équation différentielle

1. $a(t) = 1$ $b(t) = 0,25$ donc $\frac{b(t)}{a(t)} = 0,25$ de primitive $F(t) = 0,25t$.

Les solutions de (E_0) sont de la forme : $y_0(t) = Ce^{-0,25t}$ où C est une constante.

2. Pour tout $t \in [0; +\infty[$: $h(t) = -4e^{-t}$ donc $h'(t) = -4(-e^{-t}) = 4e^{-t}$.

$$h'(t) + 0,25h(t) = 4e^{-t} + 0,25 \times (-4e^{-t}) = (4-1)e^{-t} = 3e^{-t}$$

Donc h est solution de l'équation (E).

3. Les solutions de (E) sont de la forme : $y(t) = y_0(t) + h(t) = Ce^{-0,25t} - 4e^{-t}$ où $C \in \mathbb{R}$.

4. f est solution de (E), donc : $f(t) = Ce^{-0,25t} - 4e^{-t}$.

$$f(0) = 75 \Leftrightarrow Ce^{-0,25 \times 0} - 4e^0 = 75 \Leftrightarrow C - 4 = 75 \Leftrightarrow C = 79$$

D'où $f(t) = 79e^{-0,25t} - 4e^{-t}$ pour tout $t \in [0; +\infty[$.

B. Étude d'une fonction et calcul intégral

1.

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} -0,25t = -\infty \quad \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \quad \text{donc : } \lim_{t \rightarrow +\infty} 79e^{-0,25t} = 0$$

$$\lim_{t \rightarrow +\infty} -t = -\infty \quad \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \quad \text{donc : } \lim_{t \rightarrow +\infty} -4e^{-t} = 0$$

D'où $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 0$.

La courbe C admet une **asymptote horizontale d'équation $y = 0$** (l'axe des abscisses) en $+\infty$.

2.

a) Pour tout $t \in [0; +\infty[$: $f'(t) = 79(-0,25e^{-0,25t}) - 4(-e^{-t}) = -19,75e^{-0,25t} + 4e^{-t}$

$$\text{Or } e^{-0,25t}(-19,75 + 4e^{-0,75t}) = -19,75e^{-0,25t} + 4e^{-0,25t-0,75t} = -19,75e^{-0,25t} + 4e^{-t}$$

Donc : $f'(t) = e^{-0,25t}(-19,75 + 4e^{-0,75t})$.

b) Pour tout $t \in [0; +\infty[$: $e^{-0,75t} < 1$ car $-0,75t < 0$

$$\text{Donc } 4e^{-0,75t} < 4 \quad \text{et} \quad -19,75 + 4e^{-0,75t} < -15,75 < 0$$

c) Pour tout $t \in [0; +\infty[$: $e^{-0,25t} > 0$ et $-19,75 + 4e^{-0,75t} < 0$ donc $f'(x) < 0$.

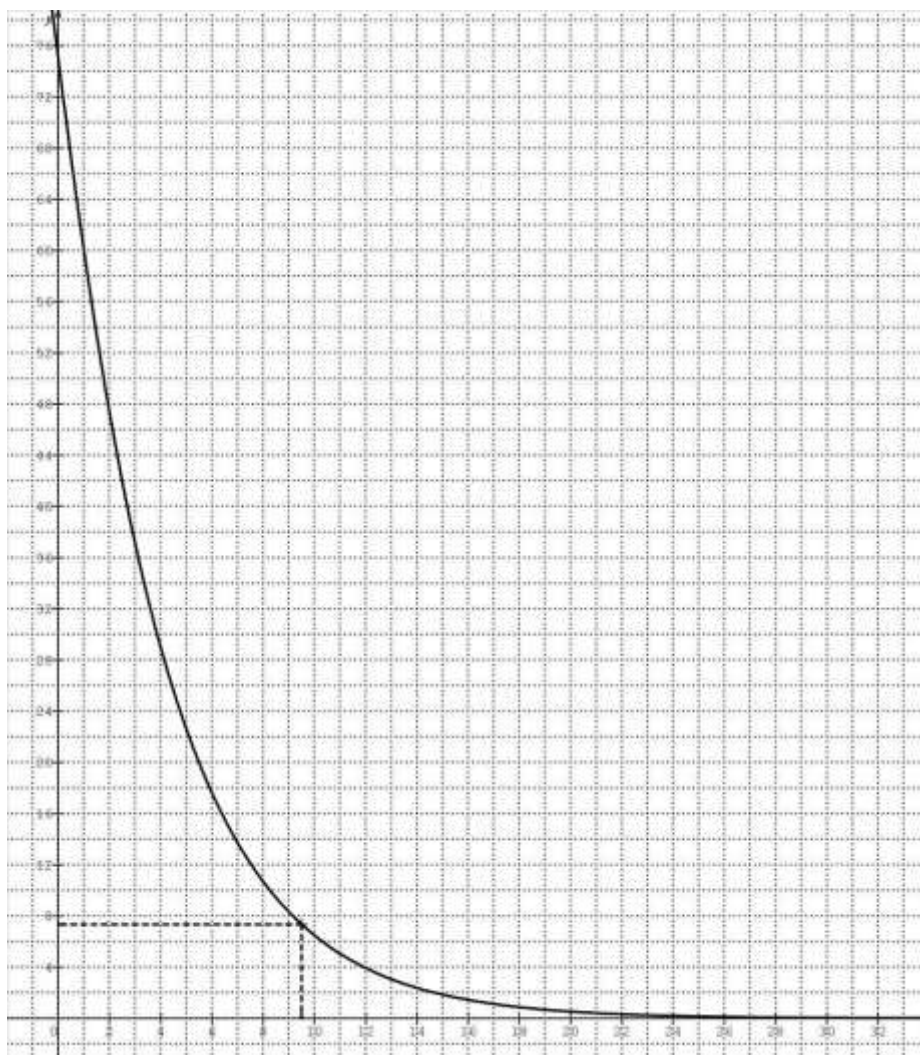
f est donc strictement **décroissante** sur $[0; +\infty[$.

3.

a)

t	0	5	10	15	20	25
$f(t)$	75	22,6	6,5	1,9	0,5	0,2

b) graphe



4.

a)

$$V_m = \frac{1}{20} \int_0^{20} f(t) dt = \frac{1}{20} \left[-\frac{79}{0,25} e^{-0,25t} + 4e^{-t} \right]_0^{20}$$

$$V_m = \frac{1}{20} (-316e^5 + 4e^{-20} + 316 - 4) = \frac{1}{20} (-316e^5 + 4e^{-20} + 312)$$

b) $V_m \approx 15,5$.

C. Exploitation des résultats de la partie B

1. $\frac{1}{3} f(t) \leq 2,5 \Leftrightarrow f(t) \leq 7,5$

On peut donc autoriser la baignade après 9 semaines et demi.

$$2. V = \frac{1}{3} V_m \square \frac{15,5}{3} \square 5,2.$$

La valeur moyenne de la concentration du polluant est environ 5,2 milligrammes par litre.

EXERCICE 2

A. Probabilités conditionnelles

A est l'évènement : « la personne choisie est vaccinée » avec $p(A) = 0,99$.

B est l'évènement : « la personne choisie est immunisée contre le virus ».

1. Les évènements A et \bar{A} forment une partition de l'univers, d'où, d'après la formule des probabilités totales :

$$B = (B \cap A) \cup (B \cap \bar{A})$$

$$p(B) = p(B \cap A) + p(B \cap \bar{A})$$

$$p(B) = p_A(B) \times p(A) + p_{\bar{A}}(B) \times p(\bar{A})$$

$$p(B) = 0,95 \times 0,99 + 0,20 \times 0,01$$

$$p(B) = 0,9405 + 0,002 = \mathbf{0,9425}$$

$$2. p_B(A) = \frac{p(A \cap B)}{p(B)} = \frac{0,9405}{0,9425} = \mathbf{0,998} \text{ au millième près.}$$

La probabilité que la personne choisie ait été vaccinée sachant qu'elle est immunisée contre le virus est de **0,998** au millième près

B. Loi binomiale et approximation d'une loi binomiale par une loi de Poisson

1.

- Chaque prélèvement est constitué par **400** épreuves élémentaires indépendantes puisque le prélèvement est assimilé à un tirage avec remise.
- Chaque épreuve élémentaire a deux issues possibles:
Soit la personne n'a pas été vaccinée et on admet que $p = \mathbf{0,01}$.
Soit la personne a été vaccinée et on pose $q = 1 - p = 0,99$.
- La variable aléatoire X qui à tout prélèvement de 400 personnes associe le nombre de personnes n'ayant pas été vaccinées suit la loi binomiale **$B(400; 0,01)$** .

2. On demande : $p(X \leq 1)$

$$p(X \leq 1) = p(X = 0) + p(X = 1) \text{ et on sait que } p(X = k) = \binom{n}{k} \times p^k \times q^{n-k}, \text{ d'où :}$$

$$p(X \leq 1) = 1 \times (0,01)^0 \times (0,99)^{400} + 400 \times 0,01 \times (0,99)^{399} = \mathbf{0,090} \text{ au millième près.}$$

La probabilité qu'un prélèvement de 400 personnes contienne au plus une personne non vaccinée est de **0,090** au millième près.

3. On admet que X peut être approchée par une loi de Poisson.

a) Le paramètre λ de cette loi de Poisson est $\lambda = np$, ce qui donne $\lambda = 400 \times 0,01 = 4$

$$b) p(X_1 > 5) = 1 - p(X_1 \leq 5)$$

$$p(X_1 > 5) = 1 - (p(X_1 = 0) + p(X_1 = 1) + p(X_1 = 2) + p(X_1 = 3) + p(X_1 = 4) + p(X_1 = 5))$$

$$p(X_1 > 5) = 1 - (0,784) \quad \text{d'après le tableau de la loi de Poisson de paramètre 4}$$

$$p(X_1 > 5) = \mathbf{0,216} \quad \text{au millième près.}$$

La probabilité qu'un prélèvement de 400 personnes contienne plus de 5 personnes non vaccinées est de **0,216** au millième près.

C. Approximation d'une loi binomiale par une loi normale

1. On admet que Y suit la loi binomiale de paramètres 200 et 0,8 et on considère que la loi suivie par Y peut être approchée par une loi normale.

$$m = n \times p = 200 \times 0,8 = 160 \quad \text{et} \quad \sigma = \sqrt{npq} = \sqrt{200 \times 0,8 \times 0,2} = \sqrt{32} \approx 5,66.$$

2. On désigne par Y_1 une variable aléatoire suivant la loi normale $N(160; 5,66)$.

Soit $T = \frac{Y_1 - 160}{5,66}$, alors T suit la loi normale $N(0; 1)$.

$$p(154,5 \leq Y_1 \leq 165,5) = p\left(\frac{-5,5}{5,66} \leq T \leq \frac{5,5}{5,66}\right) = 2\Pi\left(\frac{5,5}{5,66}\right) - 1 \approx 2\Pi(0,97) - 1$$

On lit $\Pi(0,97) = 0,8340$, ce qui nous donne $p(154,5 \leq Y_1 \leq 165,5) = 0,67$ au centième près.

En tenant compte de la correction de continuité, la probabilité qu'il y ait, dans un prélèvement de 200 personnes, entre 155 et 165 personnes non immunisées contre le virus est de **0,67** au centième près..

E3 Sciences physiques et chimiques 2012 corrigé**L'iode et la thyroïde****Exercice 1 : dépistage d'une affection thyroïdienne (6,5 points)****Partie 1 : scintigraphie de la thyroïde**

- 1.1. Notation A_ZX : X correspond au symbole de l'élément auquel appartient ce nucléide.
 Z correspond au nombre de protons dans le noyau, on l'appelle aussi nombre de charge ou numéro atomique
 A correspond au nombre de nucléons c'est-à-dire au nombre de particules neutrons et protons présentes dans le noyau, on l'appelle aussi nombre de masse.

1.2.

1.2.a. On appelle « isotopes d'un même élément » des nucléides ayant le même nombre de protons mais des nombres différents de neutrons.

1.2.b. Le noyau de ${}^{127}_{53}\text{I}$ contient 53 protons et $127-53 = 74$ neutrons.

1.3.

1.3.a. L'iode 131 est radioactif β^- signifie que le noyau se désintègre spontanément en émettant un électron ${}^0_{-1}e$.

1.3.b. La désintégration peut s'écrire : ${}^{131}_{53}\text{I} \rightarrow {}^0_{-1}e + {}^A_ZX + \bar{\nu} + g$ (ou C) ; il y a émission d'un antineutrino $\bar{\nu}$ et éventuellement d'un rayonnement g (ou C).

Lors de la désintégration, deux lois sont vérifiées :

- conservation du nombre de charge, donc $53 = 1+Z$ d'où $Z=54$, le noyau fils est un noyau de xénon Xe.
- conservation du nombre de masse, donc $131 = 0+A$ d'où $A=131$, le noyau fils est l'isotope 131 du xénon.

L'équation de la désintégration est donc : ${}^{131}_{53}\text{I} \rightarrow {}^0_{-1}e + {}^{131}_{54}\text{Xe} + \bar{\nu} + g$ (ou C)

1.3.c. La période d'un nucléide radioactif, ou demi-vie, est la durée nécessaire à la diminution de moitié du nombre de noyaux de ce nucléide présents dans un échantillon radioactif.

1.4.

$$1.4.a. N = \frac{m \cdot N_A}{M_{131I}} = \frac{3,0 \cdot 10^{-8} \cdot 6,02 \cdot 10^{23}}{131} = 1,4 \cdot 10^{14} \text{ noyaux de } {}^{131}\text{I}.$$

1.4.b. $\dot{A} = \lambda \times N$ soit $A = 1,4 \cdot 10^8 \text{ Bq} = 1,4 \cdot 10^2 \text{ MBq}$ donc la dose est conforme à la norme.

$$1.4.c. \text{ À l'instant } t \text{ cherché l'activité vaut } A = \frac{A_0}{100} = A_0 e^{-\lambda t} \text{ d'où } t = \frac{\text{Ln}(100)}{\lambda} = 53,2 \text{ jours}$$

1.4.d. Depuis quelques années, on utilise plutôt l'iode 123. Sa durée de demi-vie est de 13,2 h c'est-à-dire près de 15 fois plus courte que celui de l'iode 131, il disparaît donc beaucoup plus rapidement.

Partie 2 : détermination indirecte d'une affection thyroïdienne

1.5.

1.5.a. Le niveau d'énergie E_0 est appelé niveau fondamental.

1.5.b. La radiation d'excitation permettant le passage du niveau E_0 au niveau E_2 a une énergie $E = h\nu = E_2 - E_0$. Sa fréquence vaut donc $\nu = \frac{E_2 - E_0}{h}$

1.5.c. La radiation d'émission correspondant au passage du niveau E_1 au niveau E_0 a une énergie $E = h\nu = E_1 - E_0$. Sa fréquence vaut donc $\nu = \frac{E_1 - E_0}{h}$

1.5.d. D'après le diagramme, lors de l'émission de la fluorescence, la molécule passe du niveau intermédiaire E_1 ($E_1 < E_2$) au niveau fondamental E_0 . L'énergie libérée est donc inférieure à l'énergie d'excitation $E = E_2 - E_0$ donc la fréquence émise est inférieure à celle qui peut être absorbée. La longueur d'onde variant en sens inverse de la fréquence est donc supérieure à celle qui peut être absorbée, ce qui justifie l'expression donnée.

Exercice 2 : traitement substitutif (6,5 points)

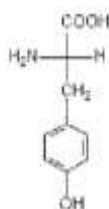
Partie 1 : étude spatiale de la molécule de tyrosine

2.1.

2.1.a. La tyrosine possède un atome de carbone asymétrique donc deux stéréoisomères.

2.1.b. Ces deux stéréoisomères sont énantiomères.

2.1.c.



Partie 2 : étude de quelques étapes de la synthèse chimique de la L-thyroxine

2.2. Substitution électrophile (aromatique).

2.3.

2.3.a. On a créé une fonction amide.

2.3.b. La liaison C-N formée est une liaison peptidique.

2.4.

2.4.a. $R\text{-COOH} + C_2H_5\text{-OH} = R\text{-COOC}_2H_5 + H_2O$

2.4.b. Une réaction d'estérification est lente, athermique, réversible (menant à un équilibre chimique), catalysée soit par H^+ soit par HO^- .

2.4.c. L'acide fort a un rôle de catalyseur, il augmente la vitesse de la réaction sans changer l'équilibre.

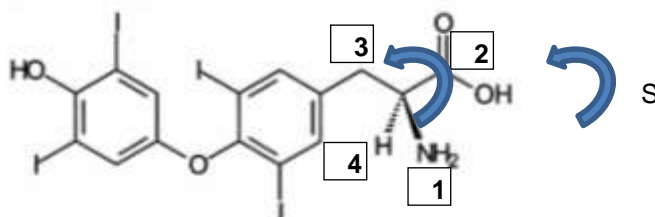
2.4.d. On introduit l'éthanol en très gros excès pour déplacer l'équilibre dans le sens de la formation de l'ester.

2.4.e. On utilise de l'éthanol sans la moindre trace d'eau afin de ne pas introduire dans le milieu réactionnel un des produits de la réaction, ce qui déplacerait l'équilibre dans le sens indirect.

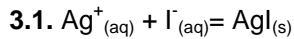
2.5.

2.5.a.

2.5.b.



Exercice 3 : saturation de la thyroïde par l'iodure de potassium (7 points)



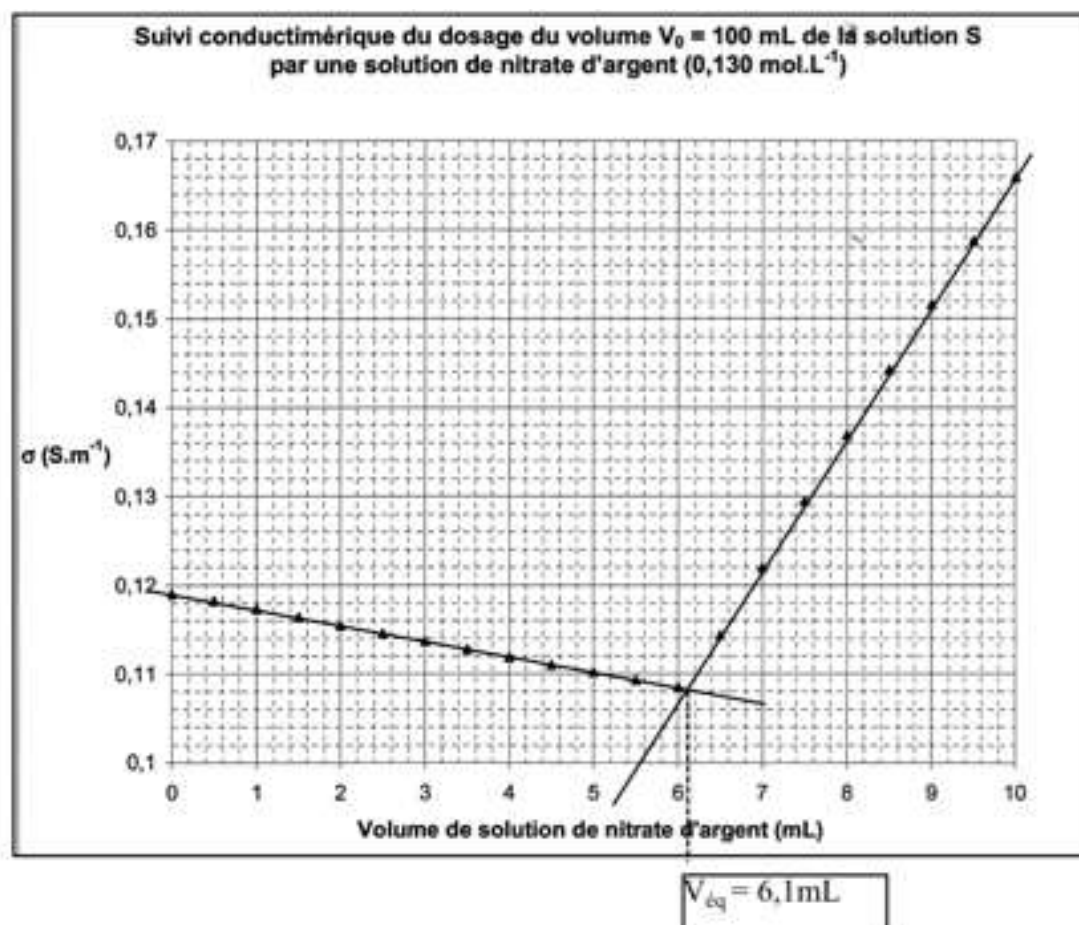
$$K = \frac{1}{[\text{Ag}^+][\text{I}^-]} = \frac{1}{K_s} = \frac{1}{10^{-16,2}} = 1,6 \cdot 10^{16}, K \text{ est très grand } (>> 10^3) \text{ la réaction est donc quantitative.}$$

Dosage par conductimétrie

3.2.

Concentration des différents ions	Avant l'équivalence	Après l'équivalence
$[\text{Ag}^+]$	0	augmente
$[\text{NO}_3^-]$	augmente	augmente
$[\text{I}^-]$	diminue	0
$[\text{K}^+]$	constante	constante
Évolution de la conductivité	Diminue faiblement car un ion NO_3^- remplace un ion I^- et que $\lambda(\text{I}^-) > \lambda(\text{NO}_3^-)$	Augmente fortement

3.3. $V_E = 6,1 \text{ mL}$ (l'intersection des deux portions de droite correspondant aux deux domaines)



3.3. On a atteint l'équivalence quand les réactifs ont été introduits en quantités stœchiométriques, d'où :

3.4. On a atteint l'équivalence quand les réactifs ont été introduits en quantités n_i dans le comprimé = $n_0 = V_E \cdot C_{\text{Ag}^+}$

3.5. m_{KI} dans un comprimé = $V_E \cdot C_{Ag^+} \cdot M_{KI} = 1,3 \cdot 10^2 \text{ mg}$, donc le comprimé est conforme à ce qui est inscrit sur la boîte.

3.6. D'où $C_{I^-} = \frac{V_E \cdot C_{Ag^+}}{V_0} = 7,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$

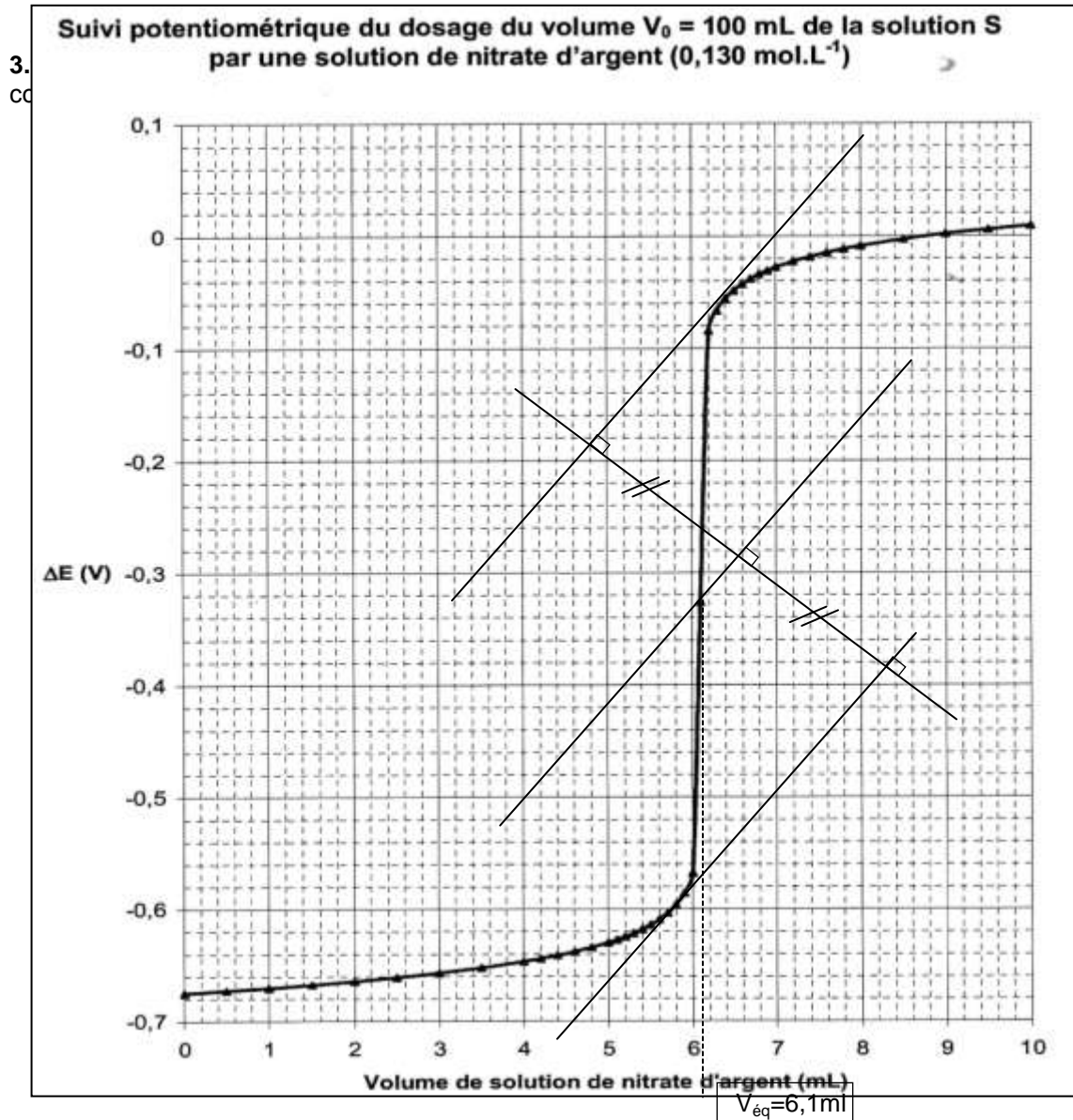
3.7. Dans le mélange obtenu, quand on introduit 1 goutte de nitrate d'argent,

$$C_{Ag^+} = \frac{V_{goutte} \cdot C_{Ag^+}}{V_0} = 6,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol. L}^{-1} \text{ et } C'_{I^-} = 7,9 \cdot 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$$

donc $P_i = C'_{Ag^+} \cdot C'_{I^-} = 5,1 \cdot 10^{-7}$ or $K_s = 6,31 \cdot 10^{-16}$, $P_i > K_s$ il y a donc bien précipitation de $AgI_{(s)}$

Dosage par potentiométrie

3.8. $V_E = 6,1 \text{ ml}$



L'HYPOTHYROÏDIE LIÉE À UN DEFICIT EN IODE**1. Les hormones thyroïdiennes (21 points)****1.1**

1.1.1 Une hormone est un messenger chimique, sécrétée par une cellule spécialisée endocrine, circulant dans le sang et ayant une action sur des cellules éloignées appelées cellules cibles.

1.1.2 Un acide aminé a pour formule générale : $H_2N-CHR-COOH$

1.1.3 La synthèse des hormones thyroïdiennes est réalisée à partir des résidus tyrosyls de la thyroglobuline des follicules thyroïdiens. Ces tyrosines sont de la série L comme tous les acides aminés naturels. Les enzymes intervenant dans la synthèse des hormones T3 et T4 ne reconnaissent que les résidus tyrosyls de la série L.

1.1.4 La tyrosine possède dans sa chaîne latérale un groupement aromatique (groupement phénol) ; Elle absorbe donc la lumière dans les UV proches (λ_{max} autour de 280 nm).

1.2

1.2.1 Un transport actif d'une substance à travers une membrane fait intervenir un transporteur protéique spécifique, s'effectue contre le gradient électrochimique de la substance (ou gradient de concentration pour une substance non chargée), avec consommation d'énergie (ATP ou un gradient électrochimique généralement d'un ion).

1.2.2 Schéma montrant :

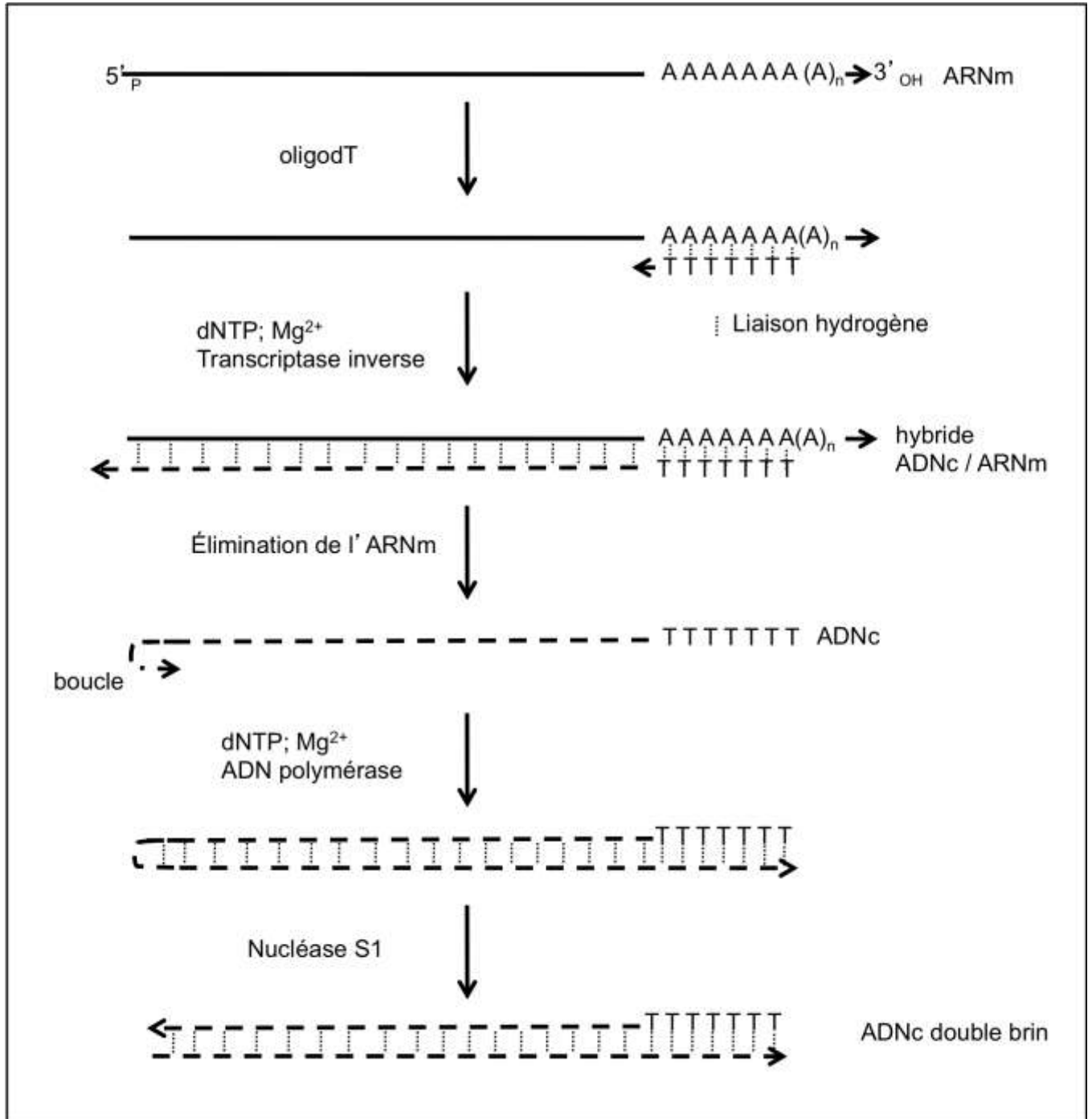
- une cellule des follicules thyroïdiens orientée (CIC ou cytoplasme et CEC)
- les gradients de concentration de part et d'autre de la membrane cytoplasmique des différents ions mis en jeu (Na^+ , I^- , K^+) ;
- le symport Na^+/I^- faisant rentrer dans la cellule les ions I^- contre leur gradient de concentration grâce à l'énergie fournie par le gradient électrochimique des ions Na^+ (transport actif II) ;
- la pompe Na^+/K^+ ATPasique permettant la sortie des ions Na^+ couplée à l'entrée des ions K^+ , transport s'effectuant contre les gradients électrochimiques de chacun de ces ions et nécessitant donc de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP.

1.3

1.3.1 ADNc : ADN complémentaire

1.3.2 Pour fabriquer un ADNc à partir d'un ARNm in vitro il faut :

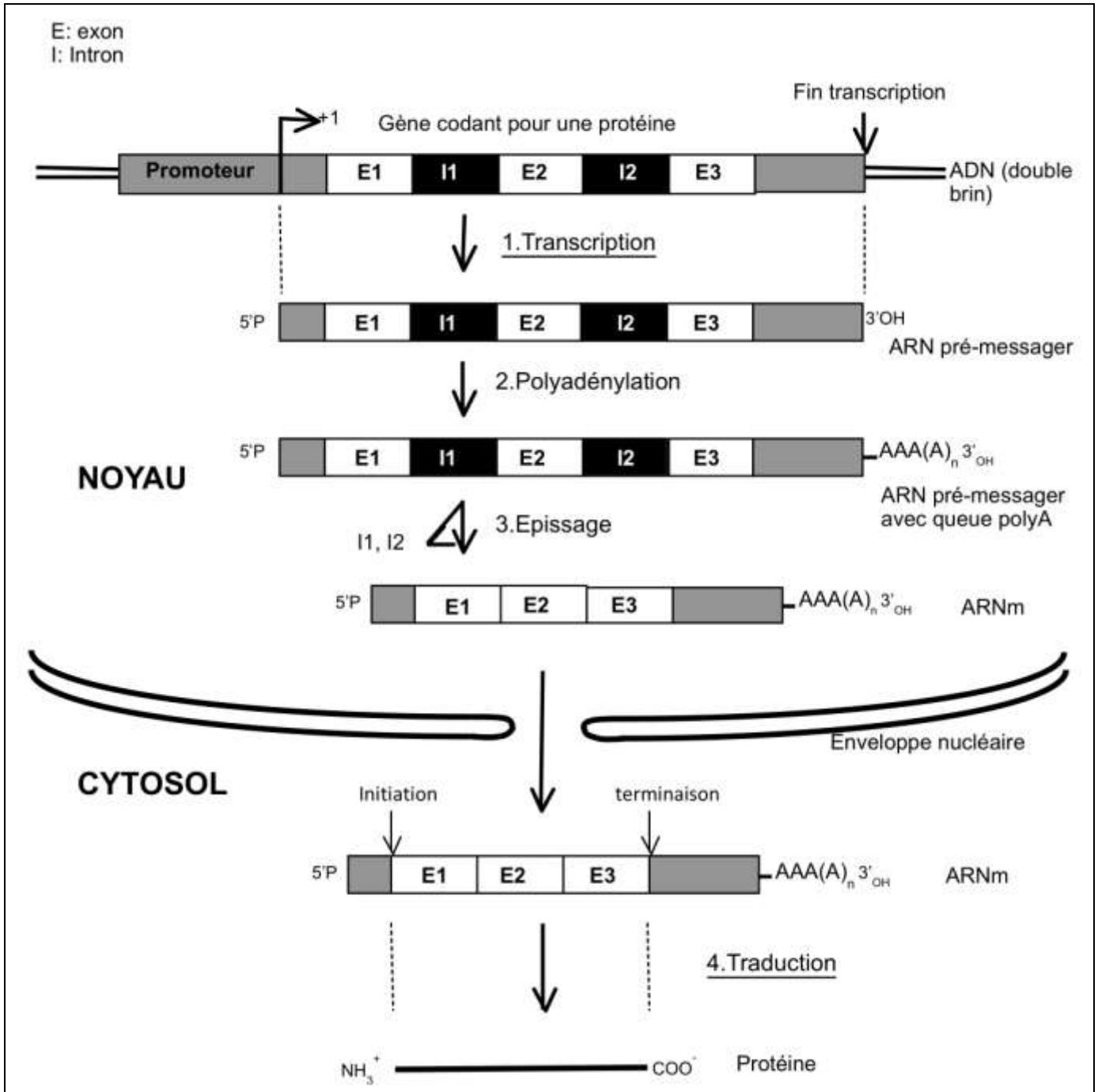
- hybrider un oligodT avec la queue polyA de l'ARNm ;
- synthétiser à partir de cette amorce oligodT (extrémité 3'OH libre) un brin d'ADN de séquence complémentaire de l'ARNm à l'aide d'une transcriptase inverse ;
- éliminer l'ARNm de la molécule hybride obtenue grâce à une RNase ;
- synthétiser le deuxième brin d'ADN à l'aide d'une ADN polymérase (qui utilise l'extrémité 3'OH recourbée comme d'amorce) ;
(les deux brins sont séparés grâce à l'action d'une nucléase S1 qui hydrolyse les ADN non appariés).



Remarque : la molécule d'ADN appelée ADNc peut être une molécule simple brin ou double brin ; on pouvait donc pour répondre à la question décrire uniquement les étapes conduisant à la synthèse d'un ADNc simple brin ou rajouter celles permettant d'obtenir un ADNc double brin.

1.3.3 La thyroglobuline mature contient 1749 aa auquel il faut rajouter 19 aa correspondant au peptide signal éliminé après la synthèse de la protéine, soit au total 1768 aa. Un aa étant codé par 3 nucléotides, l'ADNc contient donc $1768 \times 3 = 5\,304$ pb (pour un ADNc double brin) ou 5 304 nt (pour un ADNc simple brin).

1.3.4 Schéma légendé présentant les différentes étapes allant du gène à la synthèse d'une chaîne polypeptidique :



1.3.5 La présence d'un peptide signal dans la séquence protéique indique que cette protéine est transloquée dans le réticulum endoplasmique granuleux au cours de sa synthèse. Ce transfert des protéines dans le REG est un passage obligatoire pour leur sécrétion dans le milieu extracellulaire.

1.4

1.4.1 Les hormones thyroïdiennes sont hydrophobes et par conséquent, insolubles dans l'eau. Dans le plasma (solvant aqueux), elles seront donc associées à des protéines de transport amphiphiles comme la TBG.

1.4.2 L'albumine peut également transporter les hormones thyroïdiennes dans le plasma.

1.4.3 Allure de la courbe : vitesse de liaison de l'hormone à la TBG en fonction de la concentration en hormone libre.

V_{max} : vitesse maximale de liaison de l'hormone à son transporteur ; elle est obtenue lorsque les transporteurs sont saturés par l'hormone.

K_m : concentration en hormone pour laquelle la vitesse de fixation de l'hormone atteint la moitié de sa valeur maximale. Elle traduit donc l'inverse de l'affinité apparente de l'hormone pour son transporteur.

1.5 Après dissociation de la TBG, les hormones thyroïdiennes hydrophobes vont diffuser à travers la membrane cytoplasmique et pénétrer dans le noyau où elles se fixent à des récepteurs nucléaires. Le complexe hormone/récepteur interagit avec l'ADN et régule la transcription de gènes.

Les hormones stéroïdes également hydrophobes ont un mode d'action similaire.

1.6

1.6.1 Tableau présentant les cellules sécrétrices, le tissu cible et le rôle des hormones TRH et TSH :

	TRH (TSH-RH)	TSH
Cellules sécrétrices	hypothalamus	Adénohypophyse (ou antéhypophyse)
Tissu cible	Adénohypophyse ou antéhypophyse	Thyroïde
Rôle	Stimulation de la sécrétion de TSH	Stimulation de la sécrétion de T3 et T4 et du développement des follicules thyroïdiens

1.6.2 Les hormones thyroïdiennes exercent un rétrocontrôle négatif sur les sécrétions de TRH et TSH : en effet, T3 et T4 agissent sur l'hypophyse en diminuant la sécrétion de TSH, et sur l'hypothalamus en diminuant la sécrétion de TRH.

En cas d'hypothyroïdie, la synthèse de T3 et T4 par la thyroïde diminue ce qui entraîne la levée du rétrocontrôle négatif et par conséquent l'augmentation de la concentration plasmatique de TSH.

2. Mise en évidence et étude au laboratoire d'analyses médicales d'une hypothyroïdie par carence en iode (12,5 points)

2.1 Dosage des iodures urinaires

2.1.1 La répétabilité est une expression de la fidélité dans des conditions particulières :

- elle mesure l'étroitesse de l'accord qui existe entre les différents résultats obtenus (ici 40) pour un même échantillon,
- dans des conditions opératoires identiques : dans le même laboratoire, par le même opérateur, avec le même matériel et la même méthode et pendant un court intervalle de temps.

$$2.1.2 \text{ biais} = C_m - C_0 \quad CV = \frac{s}{C_m} \times 100$$

avec C_m = concentration moyenne obtenue pour l'ensemble des résultats

C_0 = concentration-cible (valeur attendue)

s = écart-type des résultats

2.1.3 L'écart type (s) ou le coefficient de variation (CV) évalue la fidélité. Ces deux paramètres reflètent la dispersion des résultats obtenus (40 essais ici) autour de la valeur moyenne.

2.1.4

Première méthode	Deuxième méthode
CV=7,54%	CV=5,35%
Biais = 0,358-0,400=0,042 $\mu\text{mol.L}^{-1}$	Biais= 0,392-0,400=0,008 $\mu\text{mol.L}^{-1}$

Le CV obtenu avec la deuxième méthode est plus petit que celui obtenu avec la première méthode. La deuxième méthode est donc plus fidèle (ou plus répétable) que la première.

Le biais obtenu avec la deuxième méthode est plus petit que celui obtenu avec la première méthode. La deuxième méthode est donc plus juste que la première.

La deuxième méthode est plus fidèle et plus juste que la première méthode : elle est donc plus exacte.

2.2 Détermination de la clairance de la créatinine

2.2.1 La clairance rénale d'une substance correspond au volume virtuel de plasma totalement épuré de cette substance par les reins par unité de temps.

2.2.2 La clairance de la créatinine peut être assimilée au débit de filtration glomérulaire (DFG) car la créatinine est filtrée par les néphrons mais n'est ni réabsorbée, ni sécrétée.

2.2.3 La clairance des ions iodures ($30-40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) est inférieure à celle de la créatinine.

($110-130 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Les ions iodures sont donc réabsorbés dans les tubules rénaux après filtration glomérulaire.

2.3.1 La méthode de dosage des ions iodures fait appel à une mesure de vitesse d'apparition d'un produit coloré (variation d'absorbance à 492nm entre 20 et 80 secondes). Il s'agit donc d'une méthode cinétique.

2.3.2 On mesure la vitesse de la réaction de coloration, vitesse dont la valeur varie avec la température. La température doit être la même lors de la mesure de la vitesse de coloration obtenue avec la solution étalon et avec la solution à doser.

2.3.3

$$\text{créatininémie} = \frac{\frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \text{ plasma}}{\frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \text{ étalon}} \cdot C_{\text{étalon}} \quad \text{créatininurie} = \frac{\frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \text{ urine}}{\frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1} \text{ étalon}} \cdot C_{\text{étalon}} \cdot f$$

NDLR : les symboles « DO » de la fiche technique de l'énoncé ont été remplacés par « A ».

A_2 : absorbance mesurée à 492nm et à 80 sec.

$t_2 - t_1 = 80 - 20 = 60$ sec ou 1 min

A_1 : absorbance mesurée à 492nm et à 20 sec.

$C_{\text{étalon}} = C_{\text{créatinine dans R1}} = 132,6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (ou $15 \text{ mg}\cdot\text{L}$)

$f = 100$ (Urine à diluer au $1/100$ dans l'eau distillée)

créatininémie et créatininurie ont la même unité que la concentration de l'étalon soit $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (ou $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

2.3.4

$$\text{clairance} = \frac{\text{débit urinaire} \cdot \text{concentration urinaire}}{\text{concentration plasmatique}}$$

Débit urinaire ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)

Concentrations ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)

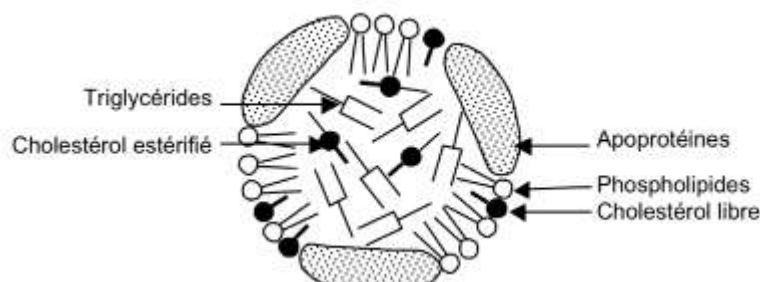
$$\text{Soit : } \text{clairance de la créatinine} = \frac{1,0 \cdot 11}{0,100} = 110 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$$

Le patient présente une clairance de la créatinine ($110 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) comprise dans les valeurs de référence ($110-130 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$). Le DFG est normal. Le patient ne présente pas de signes d'insuffisance rénale.

3. Conséquences d'une hypothyroïdie (6,5 points)

3.1 Sur le métabolisme lipidique

3.1.1 Schéma d'une lipoprotéine :



3.1.2 LDL signifie « *Low density lipoproteins* » ou lipoprotéines de faible densité. Ces lipoprotéines permettent de transporter le cholestérol du foie vers les tissus.

3.1.3 On peut explorer le métabolisme des LDL en :

- Réalisant une électrophorèse des lipoprotéines plasmatiques (coloration puis quantification des différentes lipoprotéines)
- Dosant les ApoB100 par une technique immunologique (immunoturbidimétrie, néphélométrie ou électroimmunodiffusion par exemples)

3.1.4 Lors d'une hypothyroïdie, on observe une augmentation de la concentration sérique des LDL. Or les LDL représentent la forme majoritaire de transport du cholestérol plasmatique. Par conséquent, une hypothyroïdie entraînera une augmentation de la cholestérolémie.

3.2 Sur le métabolisme glucidique

3.2.1 La néoglucogenèse est une voie métabolique qui permet la synthèse de glucose à partir de substrats non glucidiques. (Elle assure la production de glucose aux tissus gluco-dépendants pendant la période de jeûne après épuisement du glycogène hépatique).

La néoglucogenèse est effectuée majoritairement par les cellules hépatiques.

3.2.2 Les substrats de la néoglucogenèse sont par exemples le lactate, certains acides aminés comme l'alanine, et le glycérol.

LE PÉRIL FÉCAL

(Barème sur 80 points)

1. CHOLÉRA (49 points)

1.1. « épidémie » = maladie infectieuse atteignant un grand nombre de personnes dans un même lieu.

« endémie » = maladie infectieuse toujours présente à bas bruit chez un certain nombre d'individus dans un lieu (ex : endémie de choléra dans la péninsule indienne). À ne pas confondre avec pandémie (épidémie mondiale).

1.2. La prévalence mesure, à une date donnée, le nombre de cas actuel ou passés d'une maladie donnée. (Cette définition est d'application parfois difficile selon les types de maladie...)

L'incidence mesure le nombre de cas actuels d'une maladie donnée durant une période donnée (semaine, mois, années...).

Ces deux paramètres peuvent s'exprimer en % ou en nombre pour 100 000 habitants...

Date	Nombre de cas cumulés de choléra	Prévalence en cas pour 100 000 habitants à la date donnée	Incidence en cas pour 100 000 habitants par mois
11 avril 2011	120 000	1200	
11 mai 2011	130 000	1300	100
11 juin 2011	160 000	1600	300
11 juillet 2011	200 000	2000	400

Interprétation : l'augmentation de l'incidence signe une progression de l'infection.

1.3. Le choléra se transmet par voie féco-orale avec :

- Les objets contaminés par un malade (poignées de porte...), les aliments contaminés par lavage.
- L'eau contaminée.

1.4. L'appellation de test « immunochromatographique » signifie l'utilisation d'immunoglobuline avec une phase de migration.

1.5. À l'aide de schémas légendés, représenter l'enchaînement des réactions d'un test aboutissant à un résultat positif.

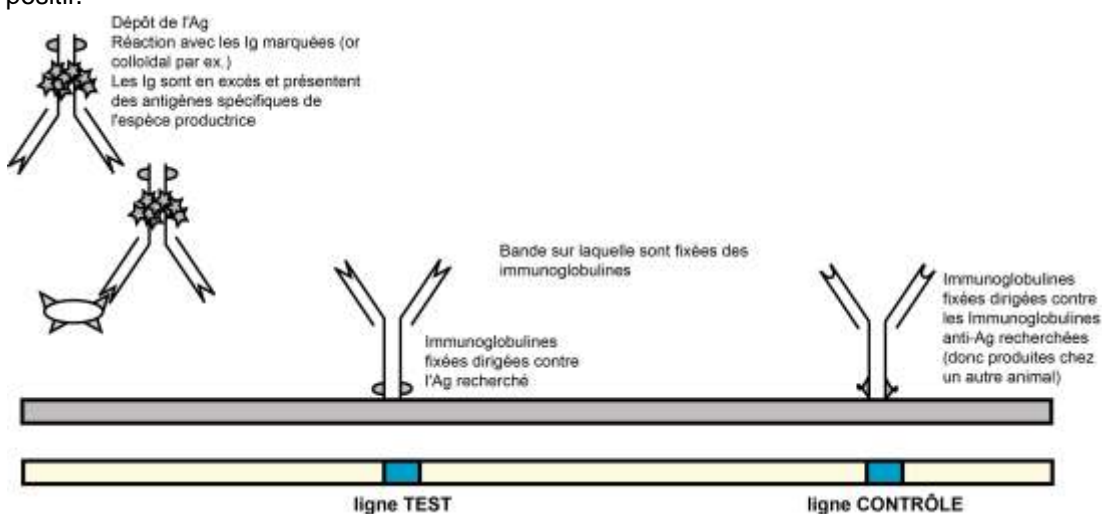


Figure 1 – La bandelette et ses différents éléments

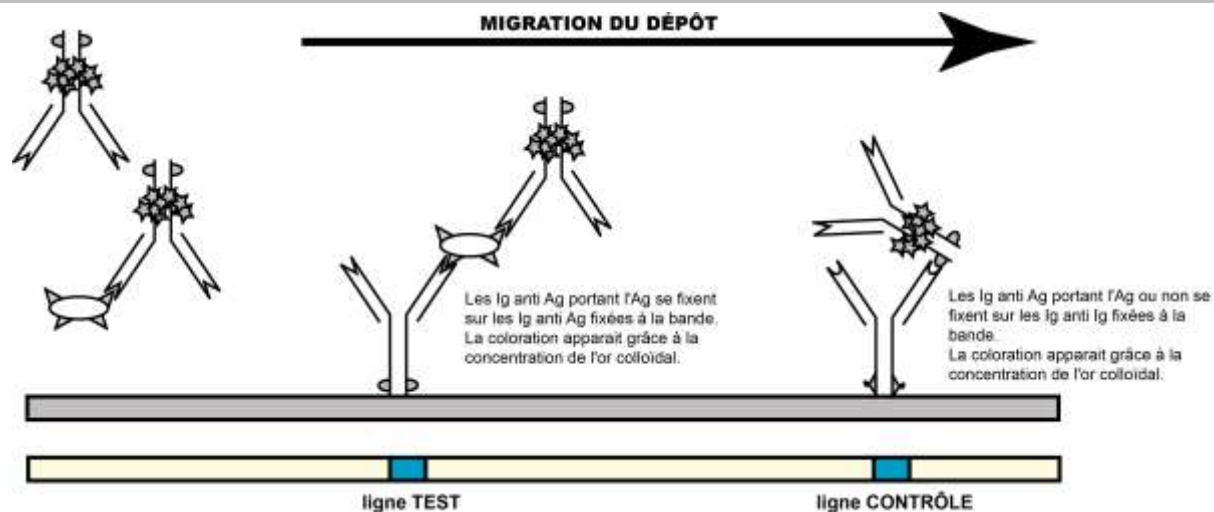


Figure 2 – Cas d'une réaction positive

1.6. Le contrôle permet

- d'affirmer la migration de l'immunoglobuline marquée,
- d'affirmer que la réaction fonctionne bien (que la coloration apparaît bien)

1.7. L'étape d'enrichissement permet d'augmenter la proportion relative de *Vibrio cholerae* dans le mélange, donc d'inhiber, totalement ou partiellement, les autres microorganismes. Les deux agents permettant de réaliser cette action sont le NaCl concentré et les ions OH^- . *Vibrio cholerae* cultive dans ces conditions.

1.8. La composition de la gélose TCBS est donnée en **annexe 2**.

1.8.1. Les agents sélectifs du milieu TCBS sont

- la bile et le cholate soit les sels biliaires (inhibition des Gram + sauf Enterococcus),
- le pH alcalin.

(le chlorure de sodium est à concentration physiologique)

1.8.2. Sur milieu TCBS, les colonies suspectes apparaissent jaunes sans centre noir :

elles sont acides (BBT) et le seul glucide présent est le saccharose : les colonies sont saccharose +,
 Sans centre noir : le thiosulfate n'a pas été réduit en sulfure réagissant avec le fer III du milieu : H_2S^- .

1.9. Les caractéristiques microscopiques de *Vibrio cholerae* sont

- à l'état frais : *Vibrio* présente une ciliature polaire et un mouvement caractéristique
- au Gram : *Vibrio* est généralement en forme de virgule et rose donc Gram -

1.10. La recherche de l'oxydase utilise un substrat artificiel incolore et une souche prélevée en milieu aérobie. Le substrat est alors transformé en produit coloré.

1.11. L'oxydase est une enzyme (cytochrome c) de la chaîne respiratoire qui est associée à la membrane plasmique bactérienne.

1.12.

1.12.1. Le milieu de base pour auxanogramme ne contient pas de source de carbone permettant la croissance. Il contient par contre des acides aminés, des coenzymes... utiles pour les souches qui seraient auxotrophes et des ions minéraux. La source de carbone est dans les cupules et sera solubilisée lors de l'ensemencement. (NDLR : *Du fait de la présence d'acides aminés et de coenzymes, on ne peut pas dire que ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone, contrairement à Citrate de Simmons*)

1.12.2. Un « facteur de croissance » est une molécule essentielle à la croissance (métabolite essentiel), qui n'est pas une source de carbone ou d'énergie et que le microorganisme n'est pas capable de fabriquer. Il doit donc trouver le facteur de croissance dans le milieu de culture. (*Dans un milieu donné, on ne devrait qualifier ces molécules facteurs de croissance que si la souche est auxotrophe...*)

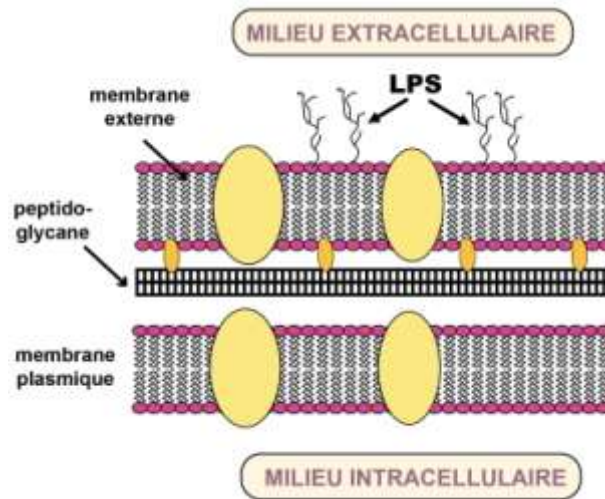
1.13. Les deux cupules GLU.

- La cupule GLU vaselinée virant au jaune montre l'utilisation anaérobie (donc fermentative en absence de nitrates ou d'autre oxydant minéral). La souche est donc fermentative du glucose et a fortiori aéroanaérobie.
- La cupule GLU de l'auxanogramme montre, par le trouble, la culture, donc la capacité de la bactérie, en présence de facteurs de croissance, d'utiliser le glucose comme source de carbone, d'énergie et d'électrons.

1.14. LPS

- 1. Polyoside externe porteur des antigènes O, ayant peut être un rôle dans la fixation aux cellules
- 2. Polyoside liant les deux parties 1 et 2 et présent chez la plupart des Gram -
- 3. Lipide A inclus dans la membrane externe et porteur de la toxicité.

1.15. À l'aide d'un schéma légendé, indiquer la localisation précise du LPS dans la bactérie.



1.16. La sous-unité B permet la fixation spécifique de la toxine sur les cellules cibles au niveau de phospholipides membranaires particuliers (récepteurs spécifiques).

1.17. La pénétration de la sous-unité A dans un entérocyte provoque, par l'intermédiaire de protéines G, l'activation continue de l'adénylate cyclase : l'AMPC augmente fortement et agit sur le canal chlorure déclenchant la sortie de chlorures, accompagnés d'ions sodium et d'eau.

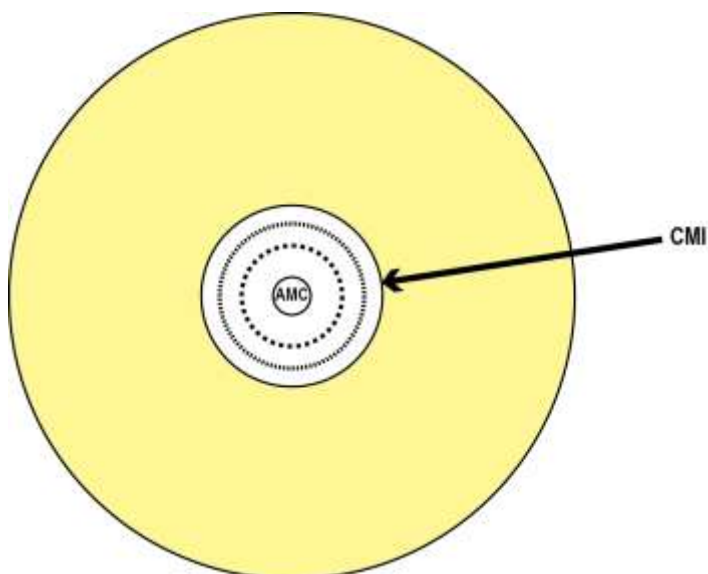
1.18. Le phénomène de conversion lysogénique est lié à un bactériophage. Au lieu de se multiplier dans la bactérie et de la lyser, son DNA s'intègre dans celui de la bactérie et s'y maintient. Ce DNA peut apporter des caractères supplémentaires et en particulier des toxines protéiques. L'intégration du DNA est appelée lysogénie.

1.19. Les bêta-lactamines inhibent la synthèse du peptidoglycane en agissant comme inhibiteur sur les enzymes de synthèse (PLP ou protéines liant la pénicilline) et plus particulièrement les transpeptidases.

1.20. De nombreuses souches sont résistantes à l'amoxicilline, mais restent sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique.

1.20.1. L'acide clavulanique est un inhibiteur des bêta-lactamases, enzymes qui hydrolysent les bêta-lactamines. Certaines souches résistent aux bêta-lactamines comme l'amoxicilline par ces enzymes. Les inhiber permet d'éviter la destruction de l'amoxicilline et donc d'en rétablir l'action..

1.20.2.



Attention : pour des raisons d'impression, le dessin n'est pas à l'échelle 1 mais à calculer sachant que la boîte fait 9 cm de diamètre....

D'autre part, les cercles en pointillés représentent les **concentrations critiques inférieure et supérieure** (le plus petit pour la supérieure...).

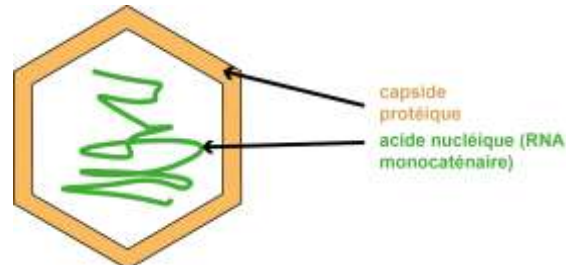
Le cercle CMI correspond au lieu où la concentration est égale à la CMI. Les autres cercles correspondant à la cci et la ccs ne sont pas demandés. La culture est autour du disque CMI...)

1.21. Le gène de la bêta-lactamase est très généralement apporté par un plasmide, DNA extrachromosomique qui se multiplie lors de la multiplication bactérienne. Ce type de DNA est transmissible très facilement par conjugaison (plus facilement que le chromosome), phénomène où une bactérie développant un pili sexuel peut établir un pont avec une bactérie réceptrice par lequel va migrer une molécule de DNA, et en particulier le plasmide.

2. POLIOMYÉLITE (14 points)

Le *Poliovirus* est un virus nu à symétrie icosaédrique et à ARN.

2.1. Réaliser un schéma légendé du *Poliovirus*.



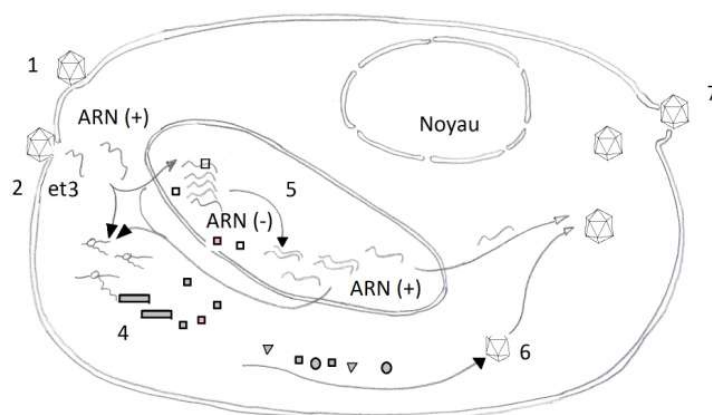
2.2.

Ce virus n'est pas enveloppé : il résiste donc aux détergents comme la bile et peut donc, s'il n'est pas détruit par l'HCl gastrique ou les protéases gastrique et intestinales, survivre dans l'intestin et infecter les entérocytes. Survivant dans les selles, la transmission fécale est alors possible.

2.3. Les antigènes des poliovirus sont des protéines (ou des glycoprotéines) de la capsidite.

2.4. Les virus à ARN de polarité positive sont des virus à RNA monocaténaire messager : une fois entré dans la cellule, le RNA sera directement traduit en protéine donc permet directement la synthèse d'enzymes virales, et tout particulièrement de la RNA polymérase RNA dépendante, enzyme spécifiquement virale, qu'il n'a donc pas à apporter.

2.5.



1 = fixation sur des récepteurs membranaires spécifiques

2 et 3 = pénétration du virion et décapsidation

4 = synthèse protéines virales de capsidite

5 = synthèse de la RNA polymérase RNA dépendante puis copie du génome viral RNA+ en RNA-. Ce dernier sert de matrice pour la production de nombreux RNA+ génomiques

6 = assemblage génome (RNA+) et capsidite (encapsidation)

7 = libération

NDLR : LE SCHÉMA proposé semble un peu trop succinct et certaines étapes sont difficiles à légendé en l'état.

Au laboratoire, ce virus est cultivé sur certaines lignées cellulaires HeLa ou Vero par exemple.

2.6. Un effet cytopathogène est représenté par les modifications cellulaires déclenchées par le virus : ce peut être des vacuoles particulières dans le cytoplasme, une modification du cytosquelette (arrondissement cellulaires), la présence d'inclusions nucléaires avec gonflement du noyau etc...

2.7. La technique de séroneutralisation virale est réalisée par culture du virus en présence d'anticorps dirigés contre un sérovar donné. On réalise donc ici quatre tests, un témoin sans anticorps pour vérifier l'action du virus isolé (ou du produit pathologique traité), et trois tests avec le produit et à chaque fois une solution d'anticorps connu (contre sérovar 1, 2 ou 3). Une fois la culture faite, l'observation des effets cytopathologiques permet de conclure : le sérovar sera celui où les cellules ne présentent pas les effets cytopathogènes à condition de les voir dans le témoin et que la quantité d'anticorps ait été suffisante.

2.8. Le vaccin vivant contre la poliomyélite contient des virus des trois sérovirus mutants. Une fois ingéré, ce virus va se multiplier de façon très limitée dans l'intestin pour déclencher la réaction immunitaire.

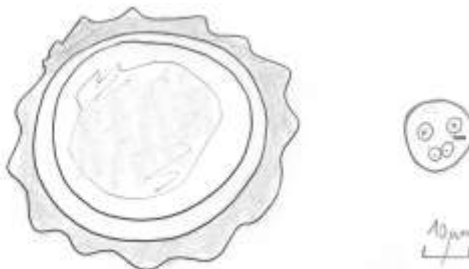
Le vaccin tué (moléculaire) ne contient pas de virus mais un lysat viral : injecté, il provoque une réaction immunitaire contre les composants et en particulier les protéines capsidaires.

3. AMIBIASE ET ASCARIDIOSE (17 points)

De nombreuses parasitoses sont liées au péril fécal, parmi elles : l'amibiase intestinale et l'ascaridiose.

3.1. L'ascaris pénètre chez l'homme sous forme d'œuf **embryonné**, les amibes dysentériques de kyste.

3.2. Schéma légendé à la même échelle de ces deux formes infestantes.



à gauche œuf d'*Ascaris* – à droite kyste d'*Entamoeba histolytica*

3.3. Pour lutter contre le péril fécal, il faut installer des toilettes, réaliser un réseau d'assainissement avec des stations d'épuration, éviter la contamination fécale des aliments (lavage des mains), ne pas utiliser de selles humaines comme engrais...

3.4. La forme végétative d'*Entamoeba histolytica* se multiplie activement dans l'organisme.

3.4.1. Les caractéristiques morphologiques de la forme végétative virulente sont l'absence de paroi kystique, la formation de pseudopodes, la phagocytose des hématies.

3.4.2. *Entamoeba histolytica* déclenche une diarrhée sanglante (une dysentérie) qui provoque une déshydratation et une perte de sang. Le protozoaire attaque la paroi intestinale et la détruit en se multipliant tout en provoquant une importante réaction inflammatoire (leucocytes fécaux). Un abcès se forme. Une invasion est ensuite possible (mais RARE) avec implantation hépatique surtout du parasite : les kystes amibiens sont très dangereux pour la malade qui risque de décéder.

3.5. La concentration des selles est utile pour augmenter la probabilité de découverte de parasites souvent rares dans les selles : en observant un volume où la concentration de parasites a été fortement augmentée, on a plus de chances de les voir.

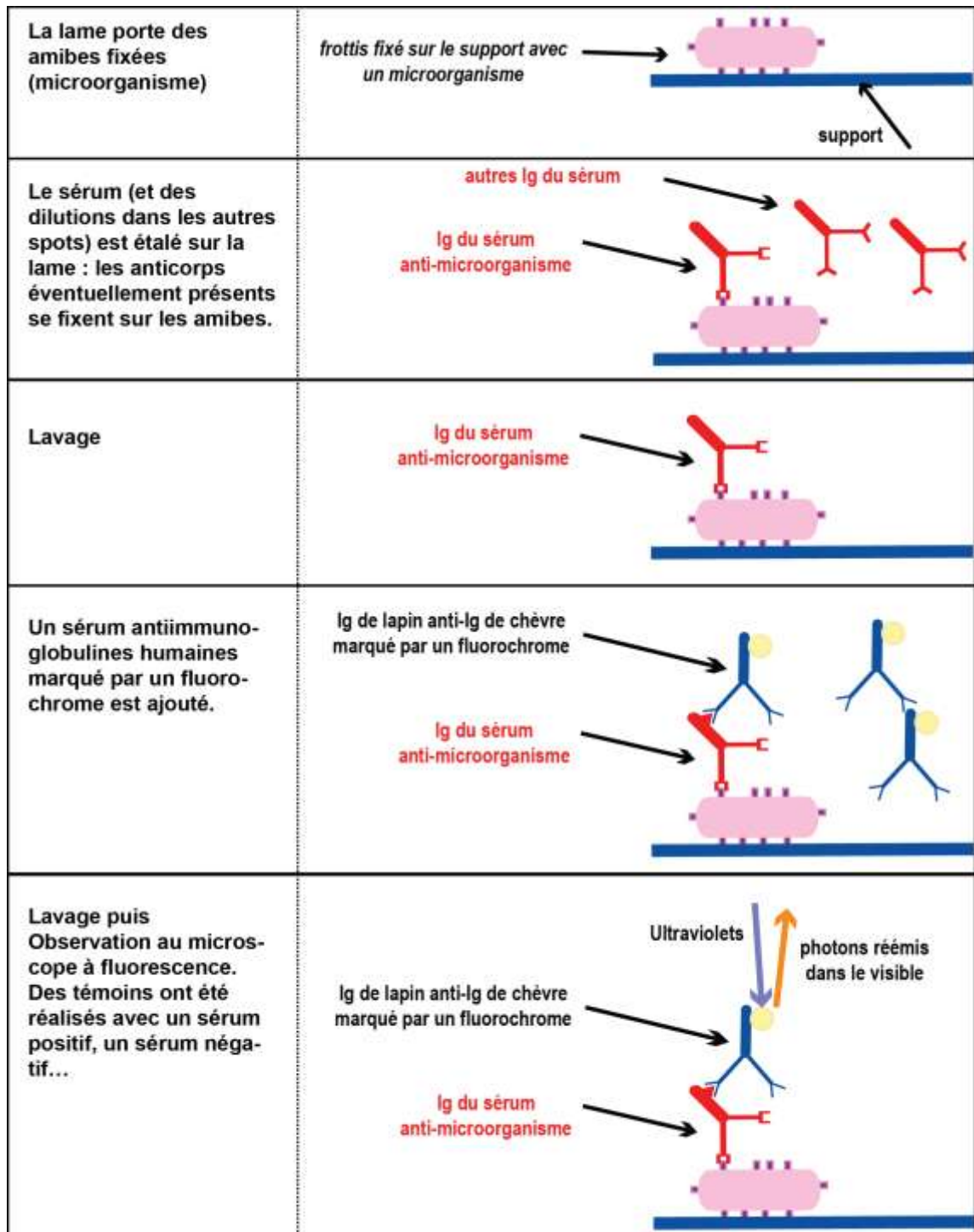
Les techniques diphasiques consistent avant tout à mettre en suspension la selle par action mécanique, à éliminer les gros débris, puis les graisses par un solvant organique, le dioxyde d'éthyle (éther), puis à concentrer par centrifugation dans un culot du tube l'ensemble des parasites.

Les techniques diphasiques utilisent deux phases non miscibles entre elles : une phase organique et une phase aqueuse.

- Mais la première étape consiste avant tout à mettre en suspension la selle par action mécanique pour éliminer les gros débris par filtration grossière.
- La phase organique qui utilise un solvant organique, le dioxyde d'éthyle (éther), permettra une solubilisation des parties lipidiques des selles, la libération des parasites inclus, et leur élimination ultérieure.
- La phase aqueuse permettra une concentration des parasites, généralement hydrophiles, par centrifugation dans un culot du tube.

3.6. Amoeba-Spot IF[®] est un test de sérodiagnostic de l'amibiase par immunofluorescence indirecte (IFI) dans le sérum.

3.6.1. Représentation schématique légendée des différentes étapes d'une réaction d'immunofluorescence indirecte.



3.6.2. Le microscope à fluorescence permet de détecter les amibes fluorescentes qui ont donc fixé les anticorps du patient. Les différentes dilutions permettent de déterminer la dilution limite à partir de laquelle la fluorescence disparaît : le titre est ainsi obtenu.

E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie

2012 corrigé

Question 1

- Formule leucocytaire normale
- Plaquettes normales
- Lignée des rouges : Anémie normocytaire normochrome arégénérative avec érythropénie

Question 2

Justification : Dans un nuage, chaque point correspond à une cellule repérée par deux paramètres : son volume et l'hétérogénéité de son contenu (diffraction grand angle) :

- plus une cellule est volumineuse, plus son ordonnée est élevée
- plus son contenu est hétérogène, plus son abscisse est élevée

Question 3

Cet examen permet d'évaluer l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse :

- S'il y a régénération des cellules, alors l'anémie est due à un mécanisme périphérique,
- dans le cas contraire, le mécanisme est central.

Question 4

Les réticulocytes sont des cellules « jeunes » possédant encore des ARNm intra cytoplasmiques, ces derniers fixant le bleu de crésyl brillant.

Question 5

Le résultat est inférieur à 120G/L, l'anémie est donc d'origine centrale ou arégénérative.

Question 6

La bilirubine est un marqueur d'hémolyse qui est augmenté lors des anémies périphériques hémolytiques (régénératives). Ici le processus est central (car le nombre de réticulocyte est inférieur à 120 G/L) et est dû à un dysfonctionnement de la différenciation des hématies. Cet examen est donc inutile.

Question 7

Étape 1 : Ac spécifique anti EPO fixé sur support (support sensibilisé) + sérum patient (contenant EPO à doser)

→ Liaison des Ac à un épitope de l'EPO : formation de complexes immuns retenus par le support

Étape 2 : Lavage

→ Élimination des composants sériques non fixés

Étape 3 : Addition du conjugué (Ac spécifique anti EPO couplé à l'enzyme)

→ Fixation du conjugué à un épitope libre de l'EPO : l'EPO est prise en « sandwich » entre les 2 Ac

Étape 4 : Lavage

→ Élimination du conjugué non fixé, en excès

Étape 5 : révélation de l'activité enzymatique liée par ajout du substrat de l'enzyme et transformation en produit

Étape 6 + 7 : Arrêt de la réaction et lecture de l'absorbance

Question 8

La lignée stimulée par l'EPO est la lignée érythrocytaire.

Les différents stades rencontrés lors de l'érythropoïèse sont : proérythroblaste/ érythroblaste basophile/ érythroblaste polychromatophile/érythroblaste acidophile (puis réticulocyte).

Question 9

L'EPO augmente l'engagement des cellules dans la lignée érythrocytaire et stimule la synthèse d'hémoglobine.

Question 10

L'organe intervenant dans la synthèse de l'EPO est le rein, le stimulus physiologique étant l'hypoxie tissulaire (diminution de la pression partielle en dioxygène).

Question 11

Le patient présente une insuffisance rénale chronique. Le rein n'étant plus fonctionnel, la sécrétion d'EPO s'en trouve perturbée. L'injection d'EPO permet de stimuler l'érythropoïèse afin de corriger l'érythropénie et donc l'anémie.

Question 12

Une carence en fer est à l'origine d'un défaut de la synthèse de l'hémoglobine par manque de fer. Or la sortie des érythrocytes de la moelle est conditionnée par la saturation en Hb. Une injection d'EPO n'augmentera pas l'efficacité de l'érythropoïèse.

Question 13

Il faut évaluer les réserves en fer par un dosage de la ferritine.

Question 14

Le fer nécessaire à l'érythropoïèse provient du recyclage interne du fer provenant de l'hémolyse physiologique des globules rouges. Celui-ci est stocké dans les macrophages puis réincorporé dans des molécules d'hémoglobine néosynthétisées.

Question 15

Hémostase primaire :

Num plaquettaire normale

TS allongé

Il n'y a donc pas d'anomalie de l'hémostase primaire

Hémostase secondaire :

TQ, TCA et fibrinogène normaux

Il n'y a donc pas d'anomalie de l'hémostase secondaire

Question 16

On s'oriente vers une thrombopathie car le TS est allongé et la numération des plaquettes est normale.

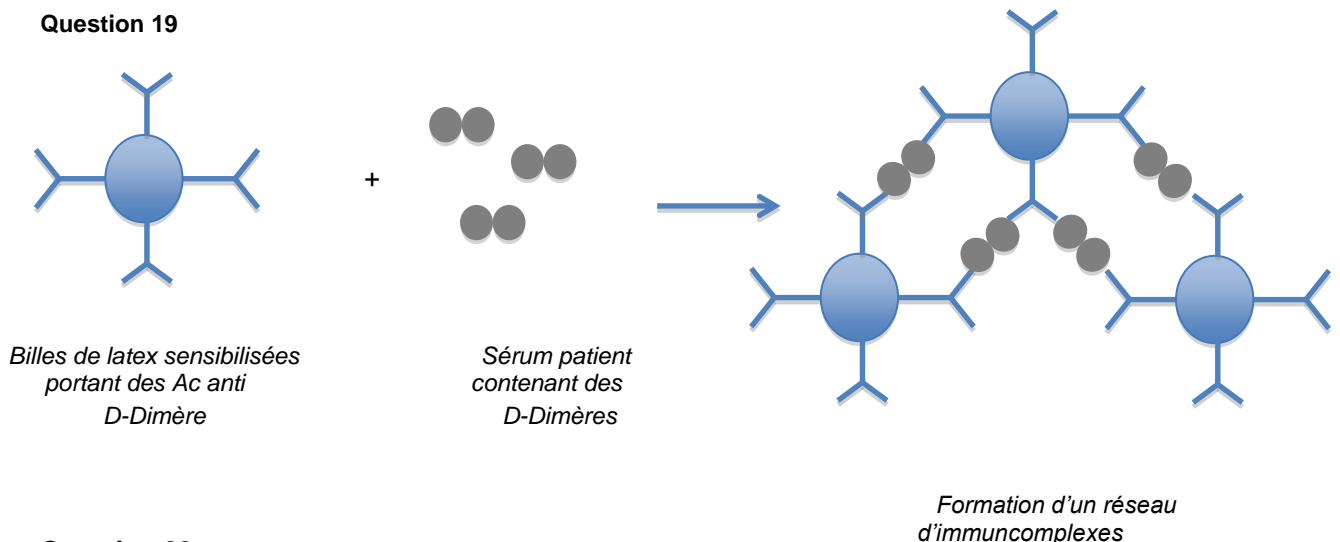
Question 17

Les D-Dimères sont des produits de dégradation de la fibrine insoluble.

Question 18

Agglutination : réaction antigène - anticorps où l'Ag est particulaire, conduisant à la formation d'un réseau d'immunocomplexes visible à l'œil nu sous forme d'agglutinats.

L'agglutination est passive : L'Ag est rendu particulaire par fixation sur bille de latex par exemple.

Question 19**Question 20**

Contrôles internes de qualité : validation technique

Contrôle avec le réactif 3 :

- résultat attendu : négatif (pas d'agglutination),
- rôle : test de la spécificité.

Contrôle avec le réactif 4 :

- résultat attendu : positif (agglutination)
- rôle : test de la réactivité

Question 21

Allogénique : provient d'un individu de la même espèce mais génétiquement différent.

Multigénique : plusieurs gènes codent les molécules de classe I et plusieurs gènes codent pour les molécules de classe II

Polyalléliques : Il existe de nombreuses versions d'un même gène (allèles)

Question 22

Le traitement immunosuppresseur permet de limiter le risque de rejet de greffe.

Question 23

Modes d'action des immunosuppresseurs : exemples :

- Inhibition de la prolifération des lymphocytes (exemple : l'azathioprine)
- Inhibition de la sécrétion de cytokines par les Th (exemple la ciclosporine qui freine la production de l'IL2 par les lymphocytes Th)
- Blocage de l'interaction TCR-CMH-peptide (Ac monoclonaux anti CD3 ...)

SESSION 2013

E2 Mathématiques

2013 corrigé

EXERCICE 1

A. Résolution d'une équation différentielle

1. Les solutions de (E_0) sont de la forme : $y_0(t) = Ce^{-0,03t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

2. $\forall t \in [0; +\infty[\quad g(t) = a$, donc $g'(t) = 0$.

g est solution de (E) $\Leftrightarrow g'(t) + 0,03g(t) = 0,75$

$$\Leftrightarrow 0,03a = 0,75$$

$$\Leftrightarrow a = \frac{0,75}{0,03} = 25$$

D'où, $\forall t \in [0; +\infty[\quad g(t) = 25$.

3. Les solutions de (E) sont de la forme : $y(t) = y_0(t) + g(t) = Ce^{-0,03t} + 25 \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

4. f est solution de l'équation (E), donc $f(t) = Ce^{-0,03t} + 25 \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

$$f(0) = 1,3 \Leftrightarrow C + 25 = 1,3 \Leftrightarrow C = -23,7$$

D'où, $f(t) = 25 - 23,7e^{-0,03t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

B. Étude de la fonction f

1.

$$\left. \begin{array}{l} \lim_{t \rightarrow +\infty} -0,03t = -\infty \\ \lim_{T \rightarrow -\infty} e^T = 0 \end{array} \right\} \text{ donc } \lim_{t \rightarrow +\infty} e^{-0,03t} = 0$$

D'où : $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 25$.

2.

a) $f'(t) = -23,7(-0,03e^{-0,03t}) = 0,711e^{-0,03t} \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

b) $\forall t \in [0; +\infty[\quad e^{-0,03t} > 0$, donc : $f'(t) > 0 \quad \forall t \in [0; +\infty[$.

3.

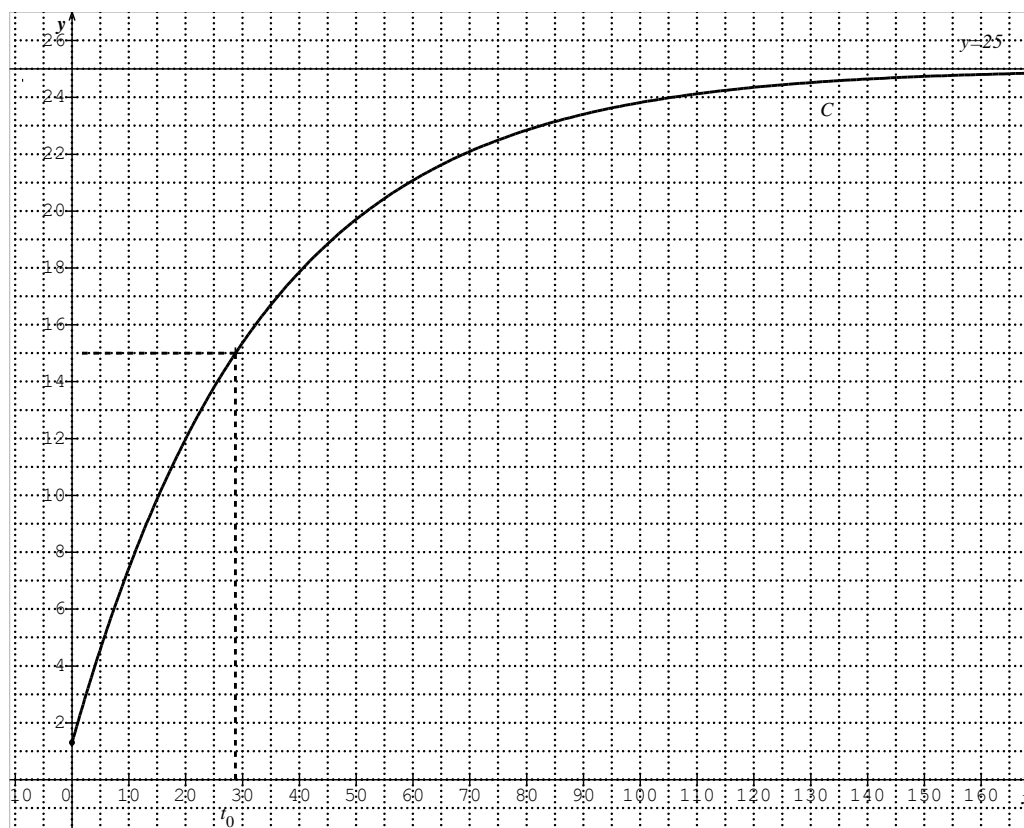
t	0	$+\infty$
$f'(t)$	+	
$f(t)$	1,3	25

4.

a)

t	0	10	20	30	40	50	60
$f(t)$	1,3	7,4	12	15,4	17,9	19,7	21,1

b) Courbe :



C. Traitement de la problématique

1. On a vu que : $\lim_{t \rightarrow +\infty} f(t) = 25$, donc la concentration en matières polluantes, devrait se stabiliser autour de 25 $\mu\text{g/L}$.

2. Pour résoudre graphiquement l'équation $f(t) = 15$, on cherche l'abscisse du point de la courbe C d'ordonnée 15. On lit : $t_0 \approx 29$.

La concentration en matières polluantes atteindrait 15 $\mu\text{g/L}$ au bout d'environ 29 minutes.

3.

$$a) F(t) = 25t + \frac{23,7}{0,03} e^{-0,03t} = 25t + 790e^{-0,03t} \quad \forall t \in [0, +\infty[.$$

b)

$$V(t) = \frac{1}{2} \left(25t + 790e^{-0,03t} - 25(t-2) - 790e^{-0,03(t-2)} \right)$$

$$V(t) = \frac{1}{2} \left(25t + 790e^{-0,03t} - 25t + 50 - 790e^{-0,03t+0,06} \right)$$

$$V(t) = \frac{1}{2} \left(+790e^{-0,03t} + 50 - 790e^{-0,03t} e^{0,06} \right)$$

$$V(t) = 25 + \frac{790 - 790e^{0,06}}{2} e^{-0,03t}$$

$$V(t) \squareq 25 - 24,4e^{-0,03t}$$

$$c) \quad 25 - 24,4e^{-0,03t} = 14 \Leftrightarrow -24,4e^{-0,03t} = -11 \Leftrightarrow e^{-0,03t} = \frac{11}{24,4}$$

$$\Leftrightarrow -0,03t = \ln\left(\frac{11}{24,4}\right) \Leftrightarrow t = -\frac{\ln\left(\frac{11}{24,4}\right)}{0,03}$$

Donc : $T \squareq 26,6$.d) T représente le temps au bout duquel la fermeture des vannes est déclenchée.

EXERCICE 2

A. Loi normale

M suit la loi normale de moyenne $\mu = 250$ et d'écart-type $\sigma = 5,3$.

On pose $T = \frac{M - 250}{5,3}$, T suit la loi centrée réduite.

$$1. P(240 \leq M \leq 260) = P(-1,89 \leq T \leq 1,89) = 2P(T \leq 1,89) - 1 \squareq 2 \times 0,9706 - 1 \squareq 0,941.$$

2.

$$a) P(M \geq 245) = P(T \geq -0,94) = P(T \leq 0,94) \squareq 0,825.$$

b) La probabilité que la masse d'un sachet soit supérieure à 245g est égale à environ 0,825, valeur supérieure à trois quart, donc le client sera satisfait.

Valeurs obtenues en utilisant directement la calculatrice :

$$P(240 \leq M \leq 260) \squareq 0,941 \quad \text{et} \quad P(M \geq 245) \squareq 0,827$$

B. Loi binomiale et loi de Poisson

1. On répète 50 fois de manière indépendante (constitution du lot assimilée à un tirage avec remise) une épreuve de Bernoulli dont le succès est l'événement « le sachet n'est pas conforme », et sa probabilité $p = 0,06$. La variable aléatoire X égale au nombre de sachets non conformes dans un lot de 50 sachets, suit donc la loi binomiale de paramètres $n = 50$ et $p = 0,06$.

2. $P(X = 1)$ est la probabilité d'avoir un sachet non conforme dans un lot.

$$P(X = 1) = \binom{50}{1} \times 0,06^1 \times 0,94^{49} \approx 0,145.$$

3.

a) $\lambda = n \times p = 50 \times 0,06 = 3.$

b) Y suit la loi de Poisson de paramètre $\lambda = 3.$

$$P(Y \leq 5) = P(Y = 0) + P(Y = 1) + P(Y = 2) + P(Y = 3) + P(Y = 4) + P(Y = 5) \approx 0,916.$$

C. Test d'hypothèse

1. \bar{M} suit la loi normale de moyenne $m = 250$ (sous l'hypothèse nulle H_0) et d'écart-type $\sigma = \frac{5,3}{\sqrt{50}}$.

On pose $\bar{T} = \frac{\bar{M} - 250}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}}$, \bar{T} suit la loi centrée réduite.

$$P\left(250 - a \leq \bar{M} \leq 250 + a\right) = 0,95 \Leftrightarrow P\left(-\frac{a}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}} \leq \bar{T} \leq \frac{a}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}}\right) = 0,95$$

$$\Leftrightarrow 2P\left(\bar{T} \leq \frac{a}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}}\right) - 1 = 0,95 \Leftrightarrow P\left(\bar{T} \leq \frac{a}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}}\right) = 0,975$$

D'après la table : $\frac{a}{\frac{5,3}{\sqrt{50}}} = 1,96$, donc $a \approx 2,61$.

2. D'après la question précédente, on sait que la probabilité d'avoir une masse moyenne comprise dans l'intervalle $I = [247,39 ; 252,61]$ est égale à 0,95.

On donne alors la règle de décision suivante :

Si $m \in I$, alors on accepte l'hypothèse H_0 , au risque de 5%.

Si $m \notin I$, alors on rejette l'hypothèse H_0 , au risque de 5%.

3.

a) $m = \frac{238 \times 5 + 242 \times 6 + 246 \times 9 + 250 \times 13 + 254 \times 8 + 258 \times 7 + 262 \times 2}{50} \approx 249,36.$

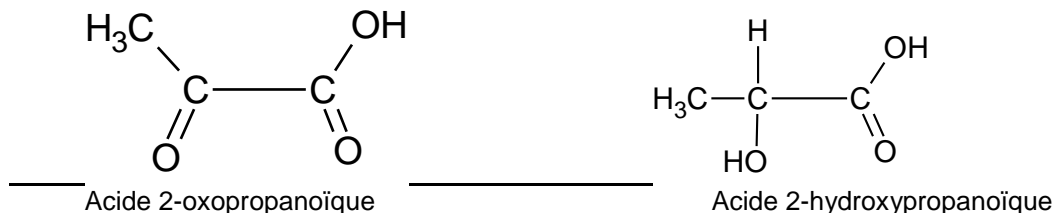
b) $m \in I$, alors on accepte l'hypothèse H_0 , au risque de 5%. Le responsable qualité peut estimer, au seuil de 5%, que la machine est correctement réglée.

E3 Sciences physiques et chimiques 2013 corrigé

Exercice 1 : L'acide lactique (13,5 points)

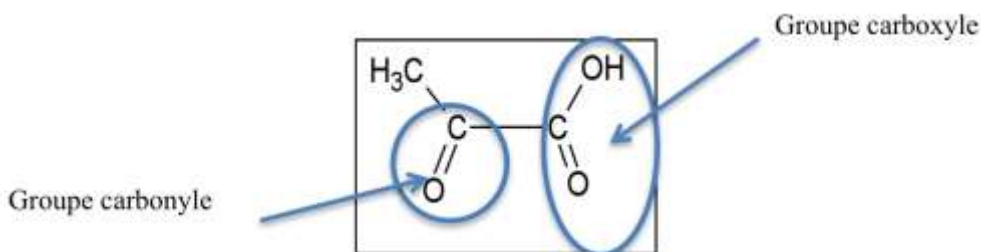
1. Considérations structurales

1.1

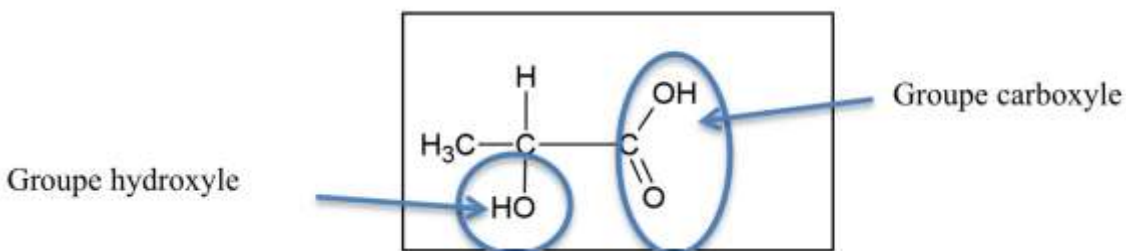


1.2

Acide pyruvique : groupe carbonyle et groupe carboxyle



Acide lactique : groupe carboxyle et groupe hydroxyle



1.3.

Un carbone est asymétrique s'il est lié à quatre groupements différents.

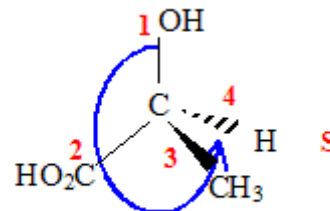
L'acide lactique possède un carbone asymétrique noté C*.

L'acide pyruvique n'en a pas.

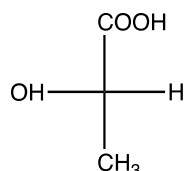
1.4.

D'après la règle de Cahn-Ingold et Prelog, les groupements sont classés par numéro atomique croissant.

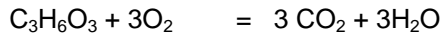
On passe du groupe 1 au groupe 2 avec le groupe 4 en arrière dans le sens inverse horaire pour avoir l'énantiomère S.



1.5.



2. Enthalpie de formation



2.1

$$\Delta H_{\text{comb}}^{\circ} = 3\Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) + 3\Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) - \Delta H_f^{\circ}(\text{O}_2) - \Delta H_f^{\circ}(\text{acide})$$

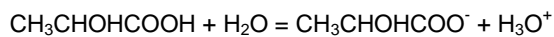
2.2

$$\Delta H_f^{\circ}(\text{acide}) = 3\Delta H_f^{\circ}(\text{H}_2\text{O}) + 3\Delta H_f^{\circ}(\text{CO}_2) - \Delta H_{\text{comb}}^{\circ} \text{ car } \Delta H_f^{\circ}(\text{O}_2) = 0 \text{ kJ/mol}$$

$$\text{AN : } \Delta H_f^{\circ}(\text{acide}) = -673 \text{ kJ/mol}$$

3. Réactions mettant en jeu l'acide lactique

3.1

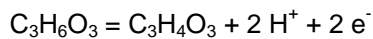


3.2

Si l'acide était fort, la réaction serait totale et alors $[\text{H}_3\text{O}^+] = 8.10^{-3} \text{ mol/L}$.

Or $\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$ donc le pH serait égal à 2,1. Le pH est plus grand ($\text{pH} = 3$) donc l'acide est faible.

3.3



3.4

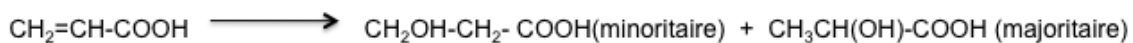
L'hydratation est une addition.

3.5

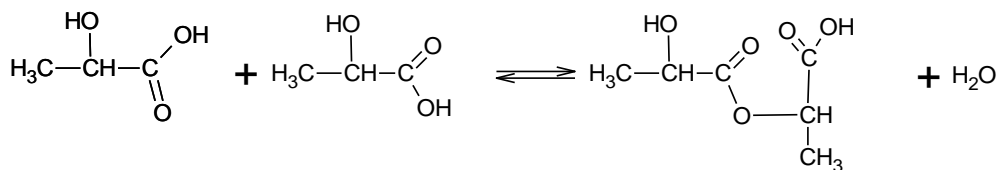
Lors de l'hydratation d'un alcène, la règle de Markovnikov précise que l'on forme l'alcool de classe la plus élevée.

Le groupe hydroxyle vient se fixer majoritairement sur le carbone n°2 et on forme l'acide lactique majoritairement.

La réaction est régiosélective.



3.6



3.7 L'estérification est une réaction lente, limitée et athermique.

3.8

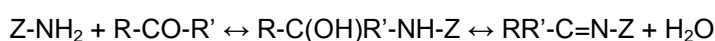
Sur le nouvel ester, il reste une fonction acide carboxylique disponible. Une nouvelle estérification peut se produire et ainsi de suite. On effectue une polymérisation et on obtient une macromolécule de grande masse molaire.

4. Détermination de la lactatémie

4.1

La règle générale de déplacement d'équilibre précise que l'équilibre est déplacé dans le sens qui s'oppose à la variation qui est imposée. Ici, on augmente le pH, l'équilibre va se déplacer dans le sens de formation des ions hydrogène responsables de l'acidité soit dans le sens indirect.

4.2



4.3

Si on ajoute l'amine, le pyruvate va être consommé, l'équilibre sera déplacé dans le sens de sa formation soit le sens indirect.

4.4

Il faut choisir une longueur d'onde pour laquelle NAD^+ n'absorbe pas : $\lambda = 340 \text{ nm}$.

4.5

Soit une radiation monochromatique de longueur d'onde fixe traversant un échantillon d'épaisseur l , l'absorbance vérifie la loi de Beer-Lambert soit : $A = \epsilon \cdot l \cdot c$

Avec :

- A : absorbance
- ϵ : le coefficient d'absorption molaire en $\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$
- l : la largeur de cuve en cm
- c : la concentration de la solution en mol/L

4.6 Si la réaction est rendue totale par déplacement d'équilibre, alors la quantité de matière de NADH dosée est égale à la quantité de lactate dans l'échantillon sanguin.

Exercice 2 : Dopage à l'EPO (6,5 points)

1. D'après le graphe, à $t = 3 \cdot 10^{-6} \text{ s}$, la vitesse atteint une valeur qui restera constante. La trajectoire est de plus rectiligne : le mouvement est donc rectiligne uniforme quasi instantanément.

2.

$$v = \frac{2 \times (2 \cdot 10^{-6})^2 \times 9,81 \times (1,3 \cdot 10^3 - 1,06 \cdot 10^3)}{9 \times 1 \cdot 10^{-3}} = 2,1 \cdot 10^{-6} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$$

La valeur calculée correspond à la valeur du graphique.

3.

$$v = \frac{d}{\Delta t} \quad \Delta t = \frac{d}{v} \quad \text{AN : } \Delta t = \frac{0,2}{2,1 \cdot 10^{-6}} = 9,5 \cdot 10^4 \text{ s} = 26,5 \text{ h}$$

4. Par le calcul, on trouve $VS1 = 7,5 \text{ mm}$ et $VS2 = 15 \text{ mm}$ soient des valeurs très faibles ce qui est normal compte tenu du temps total de sédimentation.

5.

Lors de la prise d'EPO, le nombre de globules rouges augmente ce qui rend le sang plus visqueux. Des VS très faibles peuvent être un indice de prise d'EPO.

6.

$$a = \omega^2 \times R \quad \text{AN : } a = \left(\frac{1,0 \cdot 10^3 \times 2 \times \pi}{60} \right)^2 \times 0,1 = 1,1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-2}$$

7.

La centrifugation revient à faire une sédimentation mais avec une accélération plus grande que l'accélération de la pesanteur $a \gg g$.

8.

$$v_c = \frac{2 \times (2 \cdot 10^{-6})^2 \times 1,1 \cdot 10^3 \times (1,3 \cdot 10^3 - 1,06 \cdot 10^3)}{9 \times 1 \cdot 10^{-3}} = 2,35 \cdot 10^{-4} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$$

La vitesse avec centrifugation est 112 plus grande que sous sédimentation, le temps sera donc aussi beaucoup plus court.

9.

Pour un plasma, il faut une accélération de 2500 g.

Soit d'après la formule : $2500g = 1,118 \cdot 10^{-5} \cdot R \cdot n^2$

$$\text{soit } n = \sqrt{\frac{2500g}{1,118 \cdot 10^{-5} \times R}} = \sqrt{\frac{2500 \times 9,81}{1,118 \cdot 10^{-5} \times 0,1}} = 1,5 \cdot 10^4 \text{ tours / min}$$

E41 Biochimie

2013 corrigé

VARIATIONS ET INTERFÉRENCES AU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

1. Variations au cours de la phase préanalytique (4,5 points)

1.1 Le dosage des protéines (méthode colorimétrique) et le dosage du glucose (méthode à la glucose oxydase) donnent des résultats plus élevés sur le plasma que sur le sérum dans le cas envisagé :

- le plasma contient les mêmes protéines que le sérum mais il contient en plus les protéines de la coagulation, dont le fibrinogène (absent du sérum car converti en fibrine présente dans le caillot) : c'est pourquoi la protéinémie est plus élevée pour le plasma que pour le sérum.

- le plasma, dans le cas envisagé a été immédiatement séparé du culot globulaire par centrifugation alors que le sérum n'a été séparé du caillot qu'une heure et demi après le prélèvement. La glycémie déterminée sur le plasma est la valeur la plus exacte car les cellules du sang n'ont pas eu le temps d'utiliser le glucose de l'échantillon ; la glycémie déterminée sur le sérum est inférieure à la valeur vraie car les cellules sanguines ont utilisé du glucose entre le prélèvement et la séparation du sérum.

NDLR : la mesure de la glycémie se fait de préférence sur un échantillon recueilli en présence d'un antiglycolytique (fluorure...) en plus de l'anticoagulant ce qui permet de différer la séparation du plasma.

1.2 Pour établir l'ionogramme d'un sujet, on détermine la concentration plasmatique des ions suivants : Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} .

1.2.1 Le dosage du Ca^{2+} et du Mg^{2+} ne doit pas être réalisé sur un échantillon recueilli en présence d'EDTA car il complexe les cations divalents. La valeur de ces concentrations serait alors sous estimée.

On ne peut doser Na^+ en présence de sel disodique de l'EDTA car celui-ci apporte du Na^+ provoquant une erreur par excès.

Il n'y a pas de contre-indication pour le dosage de K^+ .

NDLR : l'ionogramme est habituellement réalisé sur un échantillon recueilli dans un tube hépariné (héparinate de lithium).

1.2.2 Conséquence d'une hémolyse sur la kaliémie : une hémolyse provoque une augmentation artificielle de la kaliémie : la concentrations en ions K^+ est 30 fois plus élevée dans les hématies que dans le plasma, donc une hémolyse même légère augmente la kaliémie de manière significative.

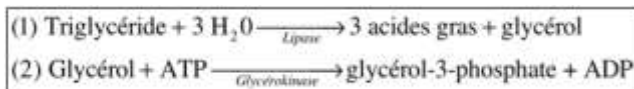
NDLR : Tout prélèvement hémolysé doit être refusé par le laboratoire.

1.2.3 Le dosage du fer, par exemple, sera faussé par excès en cas d'hémolyse du prélèvement : la concentration en ions Fe^{2+} est beaucoup plus élevée dans les hématies (hémoglobine) que dans le plasma. De la même façon, l'hémolyse du prélèvement libère de la LDH dont la détermination d'activité catalytique sera faussée par excès.

Le dosage de la bilirubine ou celui du glucose par méthode à la *glucose oxydase* et à la *peroxydase* seront faussés à cause de l'interférence de l'hémoglobine qui absorbe aux longueurs d'onde utilisées pour ces dosages.

2. Variations selon les laboratoires : Contrôle National de Qualité (10 points)

2.1 Écriture des deux premières réactions du dosage des triglycérides (triacylglycérol):



2.2

Principe du dosage : il s'agit d'un **dosage « de substrat par méthode enzymatique en point final »**. La réaction (1) est la réaction principale du dosage, les réactions (2) et (3) sont des réactions auxiliaires. La réaction (4) est la réaction indicatrice.

Les quatre réactions doivent être totales et terminées (deux notions différentes).

- Pour rendre les réactions **totales**, il faut des conditions permettant de déplacer totalement chaque état d'équilibre vers la droite ; en général le substrat chromogène (ici 4-chlorophénol et 4-amino-antipyrine) est mis en très large excès pour déplacer le dernier équilibre totalement, ce qui déplace en conséquence les équilibres précédents ; il faut mettre également l'ATP en excès, en quantité non limitante pour être sûr que la totalité du glycérol soit bien transformé.
- Pour être sûr que les réactions soient bien **terminées**, on ajoute les enzymes à une concentration d'activité catalytique suffisante pour avoir des vitesses de réactions grandes et on attend un temps suffisamment long.

Les triglycérides à doser sont le seul facteur limitant de la réaction : l'ATP et le substrat chromogène (l'parachlorophénol et amino4-antipyrine) sont présents en excès. La quantité de chromophore (quinoneimine) ainsi libéré par la réaction indicatrice sera proportionnelle à la quantité de triglycérides initiale.

Les triglycérides à doser sont le seul facteur limitant de la réaction : l'ATP et le substrat chromogène (l'parachlorophénol et amino4-antipyrine) sont présents en excès. La quantité de matière de chromophore (quinonéimine) ainsi libéré par la réaction indicatrice sera proportionnelle à la quantité de matière de triglycérides initiale. L'absorbance du mélange réactionnel mesurée à 505 nm contre un blanc réactif sera proportionnelle à la concentration en quantité de matière des triglycérides dans l'échantillon (loi de Beer Lambert, stœchiométrie des réactions, dilution de l'échantillon dans le mélange réactionnel).

NDLR : l'équation de la réaction de Trinder donnée dans l'énoncé et dans la fiche technique BioMérieux est fausse.

https://techlib.biomerieux.com/wcm/techlib/techlib/documents/docLink/Package_Insert/12690001-12691000/Package_Insert_-_00144_-_H_-_61238.pdf

L'équation de la réaction de type Trinder s'écrit en réalité:



L'absorbance du chromophore mesurée à 505 nm sera proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

2.3 La durée d'incubation doit être suffisante pour que les réactions enzymatiques soient terminées: elle est choisie en fonction de la température d'incubation : 5 minutes à 37°C et 10 minutes à 20-25°C, car la réaction enzymatique est plus lente et donc terminée plus tard à 20-25°C qu'à 37°C.

La solution tampon permet de stabiliser le pH du milieu réactionnel à une valeur convenable pour les enzymes ce qui rend les réactions suffisamment rapides.

NDLR : Ici il est important de stabiliser le pH car l'hydrolyse des triglycérides libère des acides. En l'absence de solution tampon, l'acidité augmenterait de façon différente selon les échantillons, les réactions seraient ralenties et le dosage non terminé au temps proposé.

2.4

2.4.1 Définition du terme reproductibilité :

Étroitesse de l'accord entre des valeurs mesurées indépendantes, obtenues pour un même échantillon (fidélité) sous des conditions de reproductibilité c'est à dire en faisant varier les conditions de mesure: mesures dans différents laboratoires, avec différents opérateurs utilisant des équipements différents, jours différents, méthodes différentes.

2.4.2 $CV = \frac{s}{m} \times 100$ avec s = écart-type des valeurs mesurées, m = valeur moyenne obtenue.

2.4.3 D'après le document 2 l'appareil qui donne le plus grand CV est le « DBB » *Spectrum/Abott* et celui qui donne le plus petit CV est le « DWG » *Hitachi 911/Boehringer*.

Le CV, comme l'écart-type, traduit la dispersion des résultats. Plus le CV est élevé moins les résultats sont fidèles. Les résultats donnés par le « DWG » *Hitachi 611/Boehringer* sont les plus fidèles (reproductibles).

2.5

2.5.1 Définition du terme justesse :

Étroitesse de l'accord entre la valeur MOYENNE obtenue à partir d'un nombre très grand de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence.

2.5.2 D'après le document 3, les deux appareils les plus justes sont ceux qui donnent la valeur la plus proche de la valeur de référence : « DAL » *Wako 30R/Biomérieux* et « DEB » *Eris Analyser 6170*.

2.5.3 D'après le document 2, l'appareil « DAL » *Wako 30R/Biomérieux* conduit à un CV de 7%, plus faible que celui du « DEB » *Eris Analyser 6170* (8%). Il permet donc d'obtenir des résultats plus reproductibles.

L'appareil « DAL » *Wako 30R/Biomérieux* permet d'obtenir des résultats à la fois reproductibles et justes : il pourra être choisi.

2.6 Différences entre le Contrôle National de qualité (CNQ) et le contrôle interne de qualité (CIQ).

Le contrôle interne de qualité (CIQ) est habituellement réalisé quotidiennement sur un échantillon de contrôle dont la valeur de référence analytique est connue par le laboratoire. Cet échantillon de contrôle est traité dans les mêmes conditions que la série d'échantillons à étudier. La valeur mesurée obtenue immédiatement permet de vérifier l'exactitude de cette mesure et d'accepter, ou non, la série de mesures. Il permet également de mettre en évidence des erreurs analytiques et d'y remédier.

NDLR : on ne peut utiliser ce type de vérification ponctuelle à l'aide d'un étalon de contrôle que si l'on a bien préalablement montré que la procédure de mesure utilisée avait une bonne justesse et fidélité (la procédure de mesure a été validée).

Le contrôle national de qualité (CNQ) est organisé par un organisme extérieur, la SFBC (Société Française de Biologie Clinique). C'est un contrôle obligatoire auquel sont soumis tous les LBM. Chaque laboratoire reçoit le même échantillon à analyser dont la valeur de référence analytique n'est pas donnée. Les résultats obtenus par tous les laboratoires sont ensuite rendus puis exploités ensemble afin que chaque laboratoire puisse se situer par rapport aux autres : chaque laboratoire reçoit ultérieurement un compte rendu avec l'écart de son propre résultat par rapport à la moyenne.

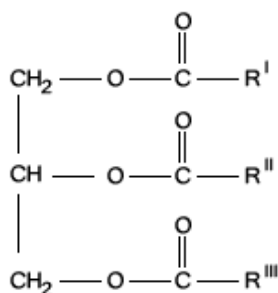
NDLR : Le Cofrac recommande d'utiliser le sigle « CIQ » plutôt que « CQI »...pour montrer que c'est le contrôle qui est « interne » et pas la qualité. Le « contrôle interne de qualité » peut aussi être appelé « EIQ » : « évaluation interne de la qualité ».

Source : Document Cofrac LAB GTA 06 « LES CONTRÔLES DE LA QUALITÉ ANALYTIQUE EN BIOLOGIE MÉDICALE », Page 7

3. Variations Physiologiques d'origine alimentaire (15,5 points)

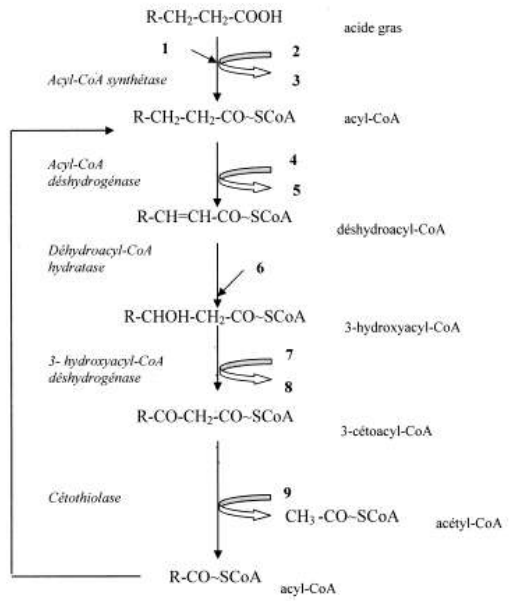
3.1

3.1.1 Formule semi développée d'un triglycéride :



avec, pour des acides gras estérifiés à n atomes de C : $\text{R} = (\text{CH}_2)_{n-2} - \text{CH}_3$

3.1.2

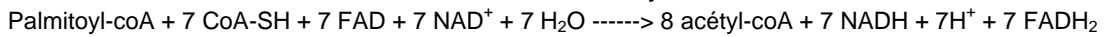


numéros avec leur légende :

- 1 : CoA-SH
- 2 : ATP
- 3 : AMP + PPi (2 Pi)
- 4 : FAD
- 5 : FADH₂
- 6 : H₂O
- 7 : NAD⁺
- 8 : NADH, H⁺
- 9 : CoA-SH

3.1.3 Bilan chimique de la transformation complète en acétyl-coA (ou éthanoyl-coA) du palmitoyl-coA à 16 atomes de carbone :

Cette transformation donne lieu à 7 tours d'hélice de Lynen :



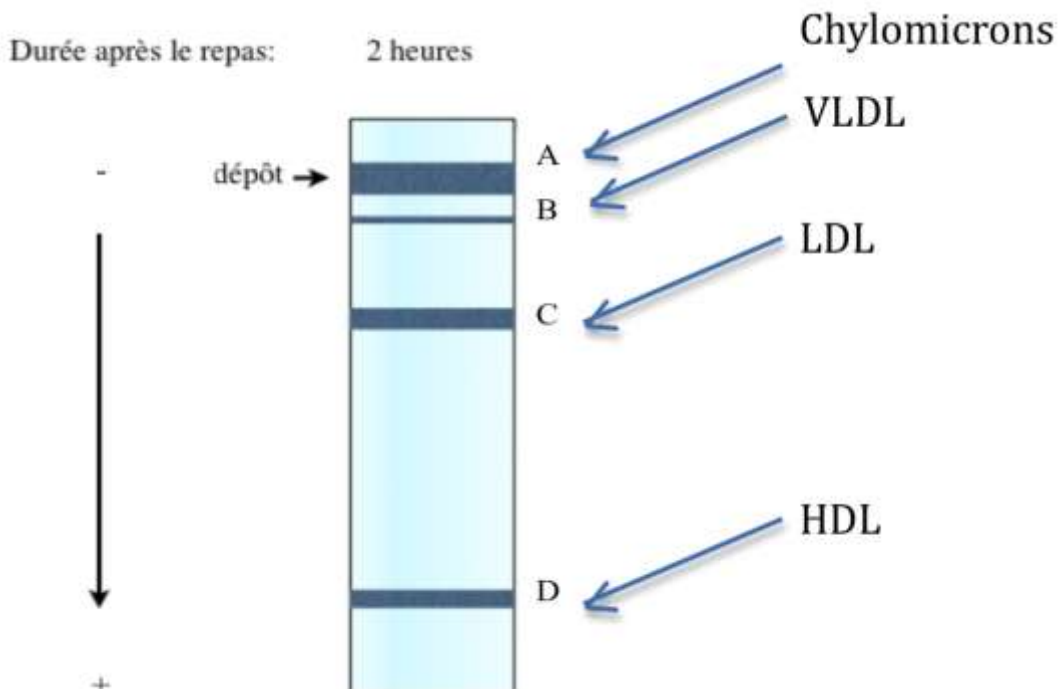
3.1.4 Conséquence de la consommation d'alcool sur la β-oxydation des acides gras :

L'éthanol, puis l'éthanal issu de sa transformation, entrent en compétition avec les acides gras pour l'utilisation du NAD⁺ : il y aura moins de NAD oxydé disponible pour la β-oxydation des acides gras qui sera donc réduite.

3.1.5 Le transport plasmatique des triglycérides d'origine hépatique est assuré par les VLDL « very light density lipoproteins »

3.2

3.2.1 Schéma de l'électrophorégramme « 2 heures » : identification des fractions obtenues

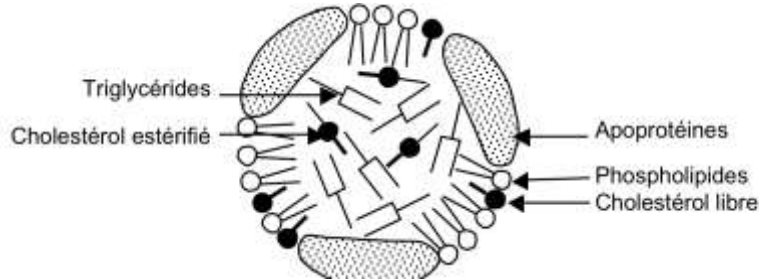


3.2.2 Les lipoprotéines migrent vers le pôle + car elles sont chargées négativement à pH alcalin (tampon pH=8,6) : les lipoprotéines ont un pHi inférieur (entre 5 et 7).

Le gel de polyacrylamide exerce un effet de tamisage moléculaire en freinant d'autant plus les protéines que leur taille est importante, d'où une migration d'autant plus rapide que la lipoprotéine est petite.

NDLR : les chylomicrons trop volumineux ne pénètrent pas dans le gel de polyacrylamide ou sont rapidement arrêtés dans leur migration.

3.2.3 Schéma de la structure d'une lipoprotéine avec ses constituants.



NDLR : Les constituants hydrophobes (cholestérol estérifié, triglycérides) sont à l'intérieur de la lipoprotéine et les constituants amphiphiles sont en surface (apoprotéines, phospholipides, cholestérol non estérifié).

3.2.4 Comparaison des résultats obtenus des supports « 2 heures » et « 6 heures » :

Les chylomicrons présents dans le sérum deux heures après le repas ont disparu au bout de 6 heures : les triglycérides qu'ils transportent, provenant de la digestion, ont été dégradés dans les capillaires des tissus par la lipoprotéine lipase (*LPL*) de l'endothélium des capillaires.

Entre 2 et 6 heures, la bande des VLDL augmente en raison d'une sécrétion par le foie.

3.2.5 L'aspect lactescent du sérum 2 heures après le repas est due à la présence d'une quantité importante de chylomicrons issus de la digestion. Ce sont des lipoprotéines très volumineuses et très peu denses.

3.2.6 Le dosage des triglycérides doit être effectué plus de 10 heures après un repas afin que les résultats ne soient pas dépendants des triglycérides d'origine alimentaire présents dans les chylomicrons et variables selon les repas. Passé ce délai, le sérum ne contient plus de chylomicrons. (*NDLR* : la clarification du sérum intervient dans les 30 min qui suivent un repas du fait de l'action de la *LPL* ; en réalité, c'est même un jeûne de 12 heures qu'il faut respecter pour un bilan lipidique).

Par ailleurs, la présence des chylomicrons, responsable de la lactescence du sérum, donc de son aspect trouble, gêne la mesure de l'absorbance pour ce dosage spectrophotométrique.

Enfin, après 10 heures, les VLDL, également riches en triglycérides, sont revenues à leur niveau de base (à jeun), car les TG transportés ont été hydrolysés par la *LPL*.

4. Variation physiopathologique (5 points)

4.1 Définition de la clairance (rénale) d'une substance : c'est le volume de plasma totalement épuré (débarrassé) de cette substance par unité de temps.

Formule de calcul de la clairance:

$$C_{\text{créatinine}} = \frac{C_{(\text{créatinine ; urine})} \cdot q_{V \text{ urine}}}{C_{(\text{créatinine ; plasma})}}$$

$$\frac{\text{mL} \times \text{min}^{-1}}{\text{mmol} \times \text{L}^{-1}} = \frac{\text{mL} \times \text{min}^{-1} \cdot \text{mmol} \times \text{L}^{-1}}{\text{mmol} \times \text{L}^{-1}}$$

avec :

$C_{(\text{créatinine ; urine})}$ = concentration urinaire de la substance,

$C_{(\text{créatinine ; plasma})}$ = concentration plasmatique de la substance

$q_{V \text{ urine}}$ = débit urinaire

NDLR : les symboles « U », « P » et « V » sont encore les plus couramment utilisés pour désigner respectivement : la concentration urinaire de la substance, la concentration plasmatique de la substance et le débit urinaire.

4.2 Le mécanisme de la fonction rénale explorée par la clairance de la créatinine est la filtration glomérulaire car la clairance de la créatinine est égale au débit de filtration glomérulaire.

4.3 Calcul de la clairance de la créatinine :

$$C_{\text{créatinine}} = \frac{50}{0,5} \times \frac{720}{24 \times 60} = 50 \text{ mL/min}$$

(mmol/L) (ml/24h)
(mmol/L) (h) (min)

La valeur obtenue est très inférieure aux valeurs de référence ce qui met en évidence un débit de filtration glomérulaire trop faible. Il y a une insuffisance rénale.

4.4 Autres mécanismes de la fonction rénale non explorés par ce test :

- sécrétion tubulaire,
- réabsorption tubulaire.

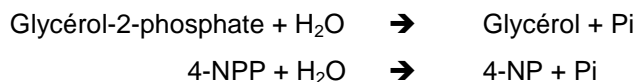
5. Variation par interférence analytique (5 points)

5.1 Définition de la cholestase : c'est un arrêt ou une diminution de l'écoulement de la bile dans l'intestin. (Les constituants de la bile peuvent alors éventuellement refluer dans le sang).

Autres analyses utiles au diagnostic d'une cholestase :

- dosage de la bilirubine totale et de la bilirubine conjuguée plasmatiques (augmentation de la bilirubine conjuguée et donc de la bilirubine totale par défaut d'élimination par voie biliaire),
- dosage des sels biliaires plasmatiques pour la même raison,
- dosage plasmatique de la gammaglutamyl transférase ou de la 5' nucléotidase, enzymes membranaires des hépatocytes, libérées sous l'action détergente des sels biliaires en cas de défaut d'élimination biliaire.

5.2 Réactions catalysées par la PAL pour chacun des deux substrats :



5.3 Comparaison de l'affinité de la PAL pour les deux substrats :

L'intersection avec l'axe des abscisses des droites correspondant aux graphes de Lineweaver et Burk $\frac{1}{V_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ donne la valeur de $\frac{1}{K_M} = -20 \text{ L.mmol}^{-1}$ - 20 L.mmol^{-1} dans le cas du β -glycérophosphate et -1 L.mmol^{-1} dans le cas du PNPP.

On en déduit que K_M est plus élevé pour le PNPP (1 mmol/L) que pour le β -glycérophosphate (0,05 mmol/L) et donc que l'affinité de l'enzyme PAL est plus grande pour le β -glycérophosphate que pour le PNPP.

5.4 Effet du glycérol-2-phosphate sur la cinétique de la réaction de transformation du 4-nitrophényl-phosphate.

En présence de glycérol-2-phosphate, on observe :

- une augmentation de $1/v_i$ quelle que soit la concentration en PNPP donc une diminution des v_i : le glycérol-2-phosphate est donc un inhibiteur de l'enzyme PAL,
- une diminution de $1/K_M$ sans modification de $1/V_{\text{max}}$ (pas de modification de l'intersection avec l'axe des

ordonnées de la droite $\frac{1}{V_i} = f\left(\frac{1}{[S]}\right)$ soit une augmentation du K_M de la PAL pour le PNPP. On en déduit que l'affinité de la PAL pour le PNPP diminue en présence de glycérol-2-phosphate : c'est un inhibiteur compétitif.

E42 Microbiologie

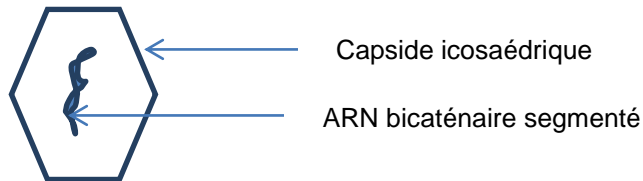
2013 corrigé

1. Les rotavirus

1.1. Les critères de classification des virus sont :

- le type d'acide nucléique (et sa description : le nombre de brin et la polarité).
- la présence d'une enveloppe ou non.
- la symétrie de la capsid (on peut ajouter le nombre de capsomères).
- **(Ndlr non attendu : taille, site d'assemblage, propriété antigénique, stabilité au pH, % GC, coefficient de sédimentation...)**

1.2



(mettre une échelle)

1.3. La plupart des virus non enveloppés sont moins fragiles... Ce virus à une structure simple, compacte... donc stable

1.4. Description des étapes du cycle de ce type de virus nu à ARN double brin (un brin + et un brin -)

- Adsorption, adhésion virus / cellule hôte (cellule intestinales)
- Pénétration génome dans la cellule, décapsidation non spécifique dans le cytoplasme.
- Le génome le brin ARN codant sera traduit en protéines de capsid, le brin non codant servira de matrice pour une enzyme d'origine virale ARN polymérase ARN dépendante qui permet la création de copie du génome.
- Morphogénèse. Formation des capsides, puis encapsidation des génomes dans les capsides.
- Libération des virions par lyse ou exocytose.

1.5.1 Réaction d'agglutination entre des particules de latex sensibilisées avec des anticorps anti rotavirus et des particules de virus (Ag). C'est une agglutination passive.

1.5.2 L'étape de centrifugation est nécessaire pour éliminer les gros débris (macroparticules) des selles, les virions restent dans le surnageant.

1.5.3 Le résultat 1 montre une absence de réaction avec le contrôle négatif : le contrôle est conforme et le test validé et une agglutination avec le test donc on en conclut que l'échantillon 1 contient des rotavirus.

Le résultat 2 montre une absence d'agglutination avec le contrôle et le test donc l'échantillon ne contient pas de rotavirus.

Le résultat 3 montre la présence d'une agglutination dans les deux (contrôle et test) le résultat n'est pas interprétable.

1.5.4 Les contrôles permettent de vérifier la bonne mise en œuvre du test.

Le contrôle positif R4 (Antigène) + R2 (latex sensibilisé) permet de vérifier qu'il y a agglutination entre les billes de latex sensibilisées et l'Ag. C'est un témoin de réactivité. Le contrôle positif doit présenter une agglutination uniquement dans le test, absence d'agglutination entre R4+R3.

2. Les risques d'infection bactérienne

2.1.1 Famille des Enterobacteriaceae / exemples de genres d'intérêt médical : *Salmonella* - *Shigella* – *Escherichia* – *Klebsiella*...

2.1.2 L'homologie de séquence signifie que dans le cas présenté les deux espèces présentent 90 % de similitude dans les séquences nucléotidiques comparées.

Ndlr : la question posée peut porter à confusion car on parle d'homologie entre bactéries et non homologie de séquences nucléotidiques...

2.1.3 Un ARN 16S est un constituant des ribosomes.

L'ARN ribosomique 16S (ou ARN ribosomal de 16S) est le constituant ARN de la petite sous-unité ribosomique 30S. (Ndlr : S (abréviation de Svedberg) est l'unité de vitesse de sédimentation de particules)

2.1.4 L'enzyme ONPG hydrolase est aussi nommée bêta galactosidase ; c'est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de la liaison β 1-4 entre le glucose et le galactose de la molécule de lactose.

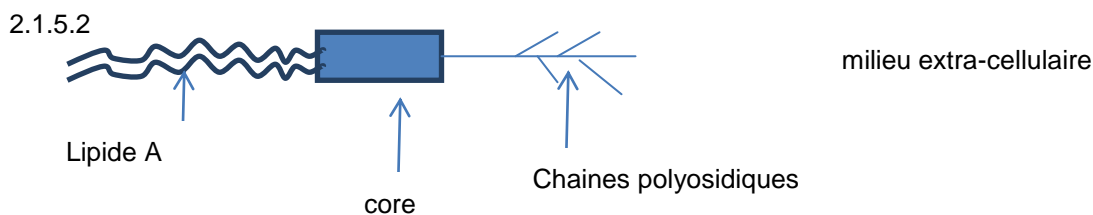
Le principe du test repose sur l'observation de l'activité de cette enzyme sur un analogue structural l'ONPG qui donnera de l'ONP (2-nitrophénol) molécule colorée en jaune.

Le prélèvement sur milieu lactosé est nécessaire car l'expression de l'enzyme est généralement induite par le lactose.

2.1.5.1 L'antigène O de paroi, de nature osidique, est porté par les chaînes osidiques de la molécule LPS lipopolysaccharide (lipopolyoside). Cette molécule est localisée sur la face externe de la membrane externe de la paroi de ces cellules.

L'antigène H de flagelle, de nature protéique est porté par les molécules constituant le flagelle à savoir les protéines globulaires de flagellines.

(Ndlr : On notera que pour les *Yersinia pseudotuberculosis* les différents sérovars sont identifiés par les antigènes O de paroi)



2.1.6.1 Les plasmides sont des molécules d'ADN double brin circulaire, extrachromosomique doués de répllication autonome.

Les plasmides apportent de nouveaux caractères (facteurs de pathogénicité (attachement, toxines...), enzymes du métabolisme comme des osidases..., nouveaux antigènes...)

Les plasmides se transmettent soit par transfert horizontal soit par transfert vertical.

2.1.6.2 Les interactions impliquées dans l'adhérence d'une bactérie sont des liaisons faibles. L'adsorption est d'abord réversible, puis irréversible (par la somme des liaisons mises en jeu) Elles s'exercent entre un ligand bactérien et un récepteur cellulaire de la cellule cible.

2.1.6.3

- **Inhibition du chimiotactisme** : action directe sur les phagocytes (par leucocydine, streptolysine O... ou inhibition de l'activation du complément.
- **Inhibition de l'attachement aux phagocytes : Capsule**
- Résistance à la destruction intra-cellulaire: En empêchant la fusion phagosome – lysosome (comme *M. tuberculosis*) ou en sécrétant des enzymes neutralisant les agents actifs ou en détruisant le phagosome avant la fusion (*Listeria monocytogenes*).

2.2.1 Étapes de l'analyse d'un pus : Un pus ouvert est en général polymicrobien...

- Macroscopie (odeur, couleur, aspect granuleux)
- Coloration au bleu de Méthylène/ Gram / Ziehl : examens permettant de mettre en évidence les leucocytes et les bactéries.
- Isolement sur au moins deux milieux enrichis non sélectifs / incubation en atmosphère aérobie ou enrichie en 5% CO₂ et une en anaérobiose.

Les milieux utilisés peuvent être des géloses au sang ou des géloses Chocolat enrichies. L'examen direct peut permettre d'ajouter d'autres milieux comme une gélose « ordinaire » (par exemple gélose lactosée au BCP). Un enrichissement en bouillon de Rosenow par exemple peut être réalisé.

- Travail ultérieur : Identification des espèces majoritaires et réalisation antibiogramme.

2.2.2 *Pasteurella multocida* : petits bacilles Gram négatifs, coloration bipolaire, plus ou moins exigeants, immobile, oxydase +, type respiratoire aéroanaérobie facultatif.

2.2.3

La zone du prélèvement doit être désinfectée. Plusieurs prélèvements sont faits au moment des pics de fièvre, répétés dans un intervalle de temps réduit à jeun en dehors d'une antibiothérapie.

Prélever un grand volume (bactéries fragiles et en faible concentration !)

2.2.3.2. La méthode de détection : les bactéries en se multipliant libèrent du CO₂ qui acidifie le milieu. La modification de pH peut :

- Modifier la couleur d'une pastille sensible (*sensor*) au pH au fond du flacon, couleur analysée par réflectométrie (système Biomérieux). Le CO₂ traverse une membrane semi-perméable et agit sur la pastille.
- Rendre des chromophores indicateurs de pH fluorescents. Dans ce système, le même procédé de *sensor* permet l'action du pH (ou la réduction du milieu...) sur l'indicateur à base de ruthénium qui devient fluorescent.
- Modifier l'absorption d'infrarouge détectant le CO₂ dans l'atmosphère du flacon (système abandonné).

L'analyse est souvent réalisée par une analyse informatique qui tient compte de la vitesse de modification du paramètre mesuré grâce à des mesures répétées à intervalles de temps déterminés (10 min par exemple).

2.3.1. Multiplication locale par la création d'un caillot par les équipements suivants : récepteur fibrinogène, libération de la coagulase. Qui permet aux bactéries de se multiplier en échappant à la phagocytose.

Le caillot ensuite est transporté par voie sanguine et grâce à la libération de fibrinolysine le caillot est dissout et les bactéries sont libérées ce qui explique la dissémination.

2.3.2. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

2.3.3. Mécanisme de modification de cible acquisition d'une PLP2a, de basse affinité pour les bêta-lactamines.

2.3.4. Détection SARM

Recherche de résistance hétérogène au sein d'une population :

- Disque d'Oxacilline (5 µg) / MH, 30°C ou MH hypersalé, 35°C / Inoculum dense / incubation 24-48 h. Diamètre de culture < 20 mm : résistance
- Disque de Céfoxitine ou Moxalactam (30 µg), en conditions standard de l'antibiogramme ! La Céfoxitine ou Moxalactam sont des meilleurs substrats pour l'expression de la résistance à l'oxacilline. Diamètres critiques dans les documentations : résistance

2.3.5 Utilisation d'un milieu contenant un substrat chromogène spécifique de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline + un antibiotique céfoxitine ou oxacilline. Les colonies de couleur seront alors des SARM.

2.4.1. *Chlamydia trachomatis* infection génitale (trachome, maladie de Nicolas Favre, MST) - Chlamydiae pneumoniae (pneumonie, bronchites, sinusites)

2.4.2. **A** bactérie (ou corps élémentaire) / **B** Corps réticulé / **1** entrée des *Chlamydiae* par formation d'un phagosome (vésicule d'endocytose) / **2** transformation (maturation) en corps réticulés / **3** multiplication / **4** retour forme élémentaire / **5** libération corps élémentaires.

2.4.3. Ces bactéries ont un développement intracellulaire obligatoire donc il est nécessaire d'utiliser des cellules en culture.

3. Les mycoses transmises par les animaux

3.1.1 *Epidermophyton* / *Trichophyton* / *Microsporium*.

3.1.2 Localisation peau cheveux poils ongles, riches en kératine. Ces organismes sont kératinophiles.

3.1.3

Digestion papainique de soja :source d'azote et de carbone et d'énergie, d'ions, de facteurs de croissance

Glucosesource de carbone et d'énergie

Actidione (=cycloheximide)inhibiteur des champignons à croissance rapide (en particulier des moisissures les plus communes, *Aspergillus* et *Penicillium* et certaines levures)

Chloramphénicolantibiotique antibactérien à large spectre spectre.

Agarsolidifiant

3.1.4 **A** : Hyphes ou filaments (mycélium), **B** : Macroconidies, **C** : Microconidies.

3.2.1 Un pathogène opportuniste est un organisme pouvant être commensal ou saprophyte et qui sera à l'origine de trouble si l'état de l'hôte est affaibli ou en cas de terrain favorable à sa multiplication par un changement d'environnement.

3.2.2 La voie d'entrée est la voie respiratoire, les pathologies sont pour *Cryptococcus neoformans* une cryptococcose + septicémie possible pouvant être observée par une méningite et pour *Aspergillus fumigatus* une pneumopathie.

3.2.3 Ces organismes possèdent une capsule qui est mise en évidence par un état frais avec un marquage à l'encre de chine. (ou une recherche antigénique / sérogroupage possible)

3.2.4 L'uréase est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac et dioxyde de carbone. Cette réaction entraîne une augmentation du pH car deux molécules basiques d'ammoniac sont produites contre une de dioxyde de carbone acide. Aussi l'usage d'un indicateur de pH adapté, le rouge de phénol, permet de mettre en évidence ce changement.

On utilisera alors le milieu urée indole ou urée tryptophane.

4. Parasitoses d'origine animale

4.1.1 Comme il y a au moins le moustique et l'homme comme hôtes on en déduit que le cycle est hétéroxène.

4.1.2 Une leishmaniose viscérale se met en évidence par l'observation de frottis de prélèvements (moelle, sang) coloré au MGG et la recherche des formes flagellées des parasites ou une recherche des anticorps anti leishmanies.

Culture sur milieu spécifique NNN(Novy-McNeal-Nicolle), test par PCR quantitative.

4.2.1 *Toxoplasma gondii* c'est un protozoaire (sporozoaire intracellulaire)

4.2.2

- Contamination digestive indirecte par consommation de végétaux contaminés par des oocystes libérées par les selles d'un chat contaminé, ou par contamination des aliments par des mains sales ayant touché des déjections de chats.
- Contamination digestive directe par consommation de viande mal cuite contenant des kystes de toxoplasme.
- Contamination foeto-maternelle par passage des trophozoïtes appelés parfois tachyzoïtes de toxoplasmes du sang de la mère vers le sang du fœtus par passage à travers le placenta.

4.2.3 Trois moyens de prophylaxie : par exemple :

- lavage des mains et lavage des végétaux minutieux avant consommation.
- cuisson à cœur des viandes
- éviter le contact avec des selles de chat sauvages ou vivant à l'extérieur

(Ndlr : *Etait attendu aussi le suivi de l'état sérologique de la femme enceinte, cela ne nous semble pas être de la prophylaxie pour la femme mais pour le fœtus*)

4.2.4.1 Dans la méthode classique on réalise une sérologie : recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum. La PCR permet d'obtenir une réponse même si le parasite est peu représenté puisque une séquence de l'ARN ribosomal du parasite est amplifiée (seuil de détection beaucoup plus faible), de plus par rapport à une détection sérologique le test PCR peut être fait dès le 1^{er} jour de contact avec le toxoplasme détection plus rapide, une sérologie positive ne peut être mise en évidence qu'après un délai de 15 jours après la contamination (fenêtre sérologique précédant l'apparition d'anticorps détectables dans le sérum).

La méthode de détection par PCR est plus spécifique que la méthode sérologique (qui peut conduire par réaction croisée à des faux positifs) , dans la technique particulière envisagée ici, l'utilisation de la sonde radiomarquée permet de s'assurer de la spécificité des amplicons obtenus.

4.2.4.2 Non cette technique ne peut être pratiquée dans tous les laboratoires il faut que celui-ci soit équipé d'une unité habilitée à la manipulation de radioéléments : moyens de radioprotection, gestion des déchets.

E43 Hématologie, anatomopathologie et immunologie 2013 corrigé

Durée : 2 heures Coefficient : 2
Calculatrice interdite Aucun matériel autorisé

LES MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN CAS D'UNE RECTOCOLITE HÉMORRAGIQUE

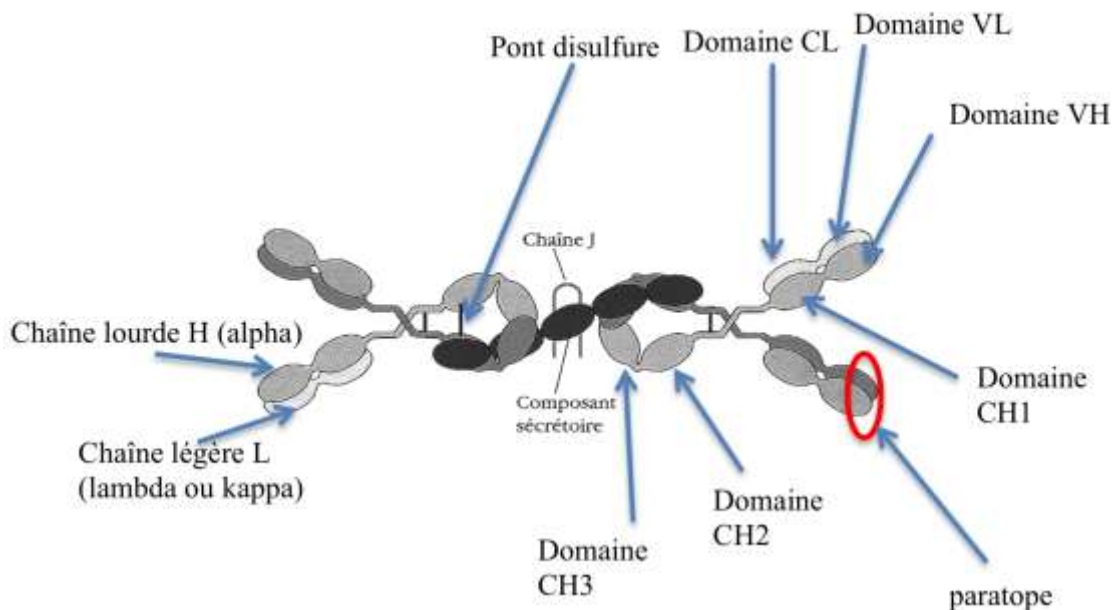
1. Immunité au niveau de la muqueuse intestinale (8,5 points)

1.1.

Mécanisme physique impliqué dans les fonctions non spécifiques de protection anti-infectieuse de l'appareil digestif : exemple : fonction d'exclusion permise par l'étanchéité de la peau : barrière physique d'exclusion des microorganismes...également jet urinaire qui « lave » l'urètre.

Mécanisme chimique : HCl du suc gastrique qui a une action bactéricide, lysozyme de la salive, mucus qui tapisse les muqueuses.

1.3. Schéma structural de l'IgA sécrétoire du document 1 :



1.3. Rôle du composant sécrétoire : il provient du récepteur membranaire situé sur la face basale des cellules épithéliales qui ont permis la transcytose de l'IgA dimérique vers la lumière à la face apicale de la cellule. Après exocytose de l'IgA, le composant sécrétoire protège l'Ac de l'action des protéases qui peuvent être présentes (exemple dans la lumière du tube digestif ..)

1.4. Rôle des IgA sécrétées au niveau intestinal : les IgA assurent une immunité locale spécifique en protégeant, après immunisation, la muqueuse intestinale contre l'action des agents infectieux (immunité spécifique associée aux muqueuses)

1.5. Cellules impliquées dans la coopération cellulaire (au niveau des organes lymphoïdes secondaires: ex : plaques de Peyer de l'intestin grêle) lors d'une réponse humorale thymo-dépendante.

- **Les CPA : macrophages** ou **cellules dendritiques** qui présentent l'antigène aux **lymphocytes T CD4+ naïfs** (vierges) spécifiques de l'antigène: les lymphocytes T CD4+ se différencient alors en **LTh « helper »**. Il s'agit de la première coopération cellulaire.
- **Les lymphocytes Th** spécifiques coopèrent ensuite avec **les lymphocytes B** spécifiques du même antigène (les lymphocytes B présentent l'antigène aux lymphocytes Th).

- **Les lymphocytes Th activés** secrètent des interleukines qui provoquent la prolifération et la différenciation des **lymphocytes B** en plasmocytes sécréteurs d'anticorps.

2. Conséquences hématologiques de la rectocolite hémorragique (9 points)

2.1.

Le patient présente une anémie sévère :

- Hb < 140 g/L
- microcytaire (VGM < 80 fL)
- hypochrome (CCMH < 320 g/L)
- non régénérative (réticulocytes < 120 G/L)
- avec érythropénie

2.2.

VS et CRP : marqueurs de l'inflammation.

Sidérémie : mesure du fer sérique.

Ferritine sérique : évaluation du fer de réserve.

Transferrine : transporteur du fer sérique. Permet l'évaluation du % de saturation de la transferrine (physiologiquement de 30%) qui est modifié dans certaines anémies microcytaires.

2.3. Le patient présente une anémie microcytaire hypochrome non régénérative avec un bilan inflammatoire positif (VS et CRP > normes) ce qui est en accord avec le contexte.

Le bilan martial montre une diminution du fer sérique (sidérémie < normes) avec augmentation des réserves (ferritine > normes) parallèlement à la diminution de la transferrine (transferrine et réserves en fer étant régulées de façon opposée).

On peut donc s'orienter vers une anémie inflammatoire.

2.4. Dans le cas d'une carence martiale on peut observer :

- Une diminution de du fer sérique : sidérémie < normes
- Une diminution du fer de réserve : ferritinémie < normes
- Et une augmentation de la transferrine (car diminution des réserves en fer)

3. Traitement chirurgical de la rectocolite hémorragique (12,5 points)

3.1.

La numération des thrombocytes fait partie de l'étude de l'hémostase primaire et permet en particulier de diagnostiquer les thrombopénies (thrombocytes < normes) pouvant constituer un risque hémorragique lors d'une intervention chirurgicale.

Le taux de prothrombine est un test global de première intention permettant l'étude de la voie exogène de la coagulation (facteurs IV, X, V, II, I).

Le TCA (Temps de Céphaline Activée) est un test global de première intention permettant l'étude de la voie endogène de la coagulation (phase contact et facteurs IX, VIII, X, V, II, I).

3.2.

Les thrombocytes sont dans la norme : pas de thrombopénie (mais n'exclut pas la thrombopathie) ; TP et TCA dans les normes : pas d'anomalie de la coagulation (voie exogène et endogène)

3.3.

Le réactif 1 contient

- l'enzyme (la thrombine) qui va catalyser la transformation du fibrinogène en fibrine.
- Un inhibiteur de l'héparine. L'héparine est un anticoagulant qui pourrait interférer avec le dosage

3.4.

Le résultat expérimental est de 13,5 secondes.

En se reportant au document 3b on peut convertir ce résultat en taux de fibrinogène et on obtient (méthode du bain marie électromagnétique) un taux de fibrinogène égal à 3,04 g/L.

Étant donné que l'on a travaillé sur une dilution au 1/20 du plasma patient, il faut donc multiplier par 2 ce résultat.

On obtient alors un taux de fibrinogène de 6,08 g/L

3.5. Le taux de fibrinogène du patient est supérieur à la norme. La fibrinogénémie étant augmentée lors des syndromes inflammatoires, cela confirme les résultats de VS et CRP.

Nous avons donc chez ce patient la triade inflammatoire VS, CRP et fibrinogène augmentés.

3.6.

1. Fixation de la pièce (2).
2. Déshydratation et passage dans le solvant de la paraffine (10).
3. Imprégnation par la paraffine (1).
4. Inclusion dans la paraffine (7)
5. Coupe au microtome (4).
6. Étalement et collage des coupes (8).
7. Déparaffinage et réhydratation (3)
8. Coloration (6).
9. Déshydratation et passage dans le solvant de la résine (5).
10. Montage (9).

3.7. Cette étape aussi appelée « circulation » a pour but de remplacer l'eau par un solvant miscible avec la paraffine (hydrophobe) ce qui permettra par la suite « d'infiltrer » le prélèvement par la paraffine.

Les différentes étapes sont :

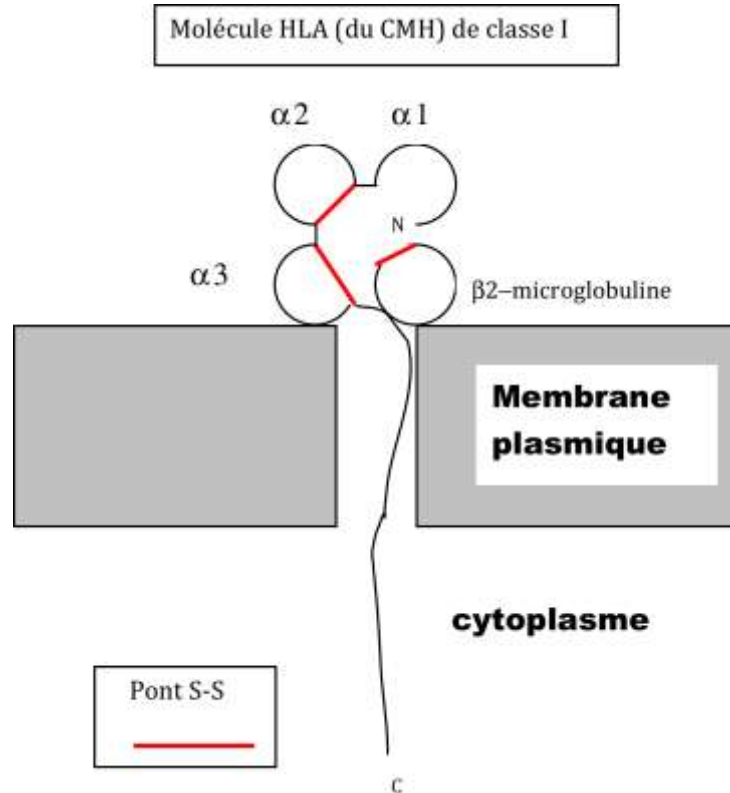
Élimination de l'eau et remplacement par de l'éthanol	Éthanol 70°
	Éthanol 90°
Élimination du fixateur	Éthanol absolu
Remplacement de l'éthanol (non miscible avec la paraffine) par un solvant miscible avec la paraffine.	Xylène ou toluène (3 bains)

3.8. La coloration HES pour Hématéine-Éosine-Safran est une coloration de routine

	colorant	Affinité pour
hématéine	basique	Acides nucléiques : coloration du noyau en violet
Eosine	acide	Protéines : coloration du cytoplasme en rose
Safran		Coloration des fibres de collagène en jaune

4. Prédisposition à la rectocolite hémorragique (10 points)

4.1. Schéma annoté d'un antigène majeur d'histocompatibilité de classe I : molécule HLA de classe I



Les domaines extracellulaires α et β de la chaîne α sont polymorphes (leur séquence varie d'une molécule HLA à l'autre : expression d'allèles différents d'un même gène). Ces deux domaines sont ceux qui se lient à un épitope : peptide antigénique présenté ensuite à un lymphocyte T CD8+.

4.2. toutes cellules nucléées possèdent les antigènes majeurs d'histocompatibilité de classe I, mais aussi les thrombocytes. Les hématies ne portent pas de molécules HLA I.

Typage des antigènes HLA B à partir de lymphocytes des sujets.

Il s'agit d'un test de microlymphocytotoxicité complément-dépendant

4.3. Rôle de la première incubation (incubation de 30 minutes) : incubation de la suspension de lymphocytes avec des anticorps anti-HLA I de spécificité connue : en présence de lymphocytes portant l'antigène HLA I formation d'immunocomplexes entre les anticorps et les cellules portant l'antigène.

4.4. Rôle de la deuxième incubation (incubation de 45 minutes) : en présence d'immunocomplexes, le complément est activé (voie classique d'activation du complément). L'activation du complément provoque la lyse et la mort des lymphocytes.

4.5. Un puits présentant une **fluorescence rouge** traduit la pénétration de l'acridine dans les cellules mortes (lysées par le complément) : elle met en évidence un **test positif** : les lymphocytes testés portent l'antigène HLA I spécifique de l'anticorps utilisé. Un puits présentant une **fluorescence verte** traduit une **réaction négative** : les lymphocytes viables (non lysés par le complément) sont colorés par le BET.

4.6. Définition de l'expression « anticorps monoclonal » : ce sont des immunoglobulines produites par les **plasmocytes d'un même clone** : les molécules d'anticorps sont toutes **identiques** : elles sont toutes **spécifiques d'un même épitope** d'un antigène. *In vitro*, un anticorps monoclonal est le plus souvent obtenu par la technique des hybridomes (anticorps monoclonaux murins).

4.7. Avantages à utiliser des anticorps monoclonaux plutôt que des anticorps polyclonaux :

Les anticorps monoclonaux sont spécifiques d'un seul épitope d'un antigène : ils sont **plus spécifiques** que les anticorps polyclonaux (mélange d'anticorps spécifiques de différents épitopes du même antigène). Il y a donc **moins de risque de réaction croisée** et de faux positif qu'avec un sérum polyclonal.

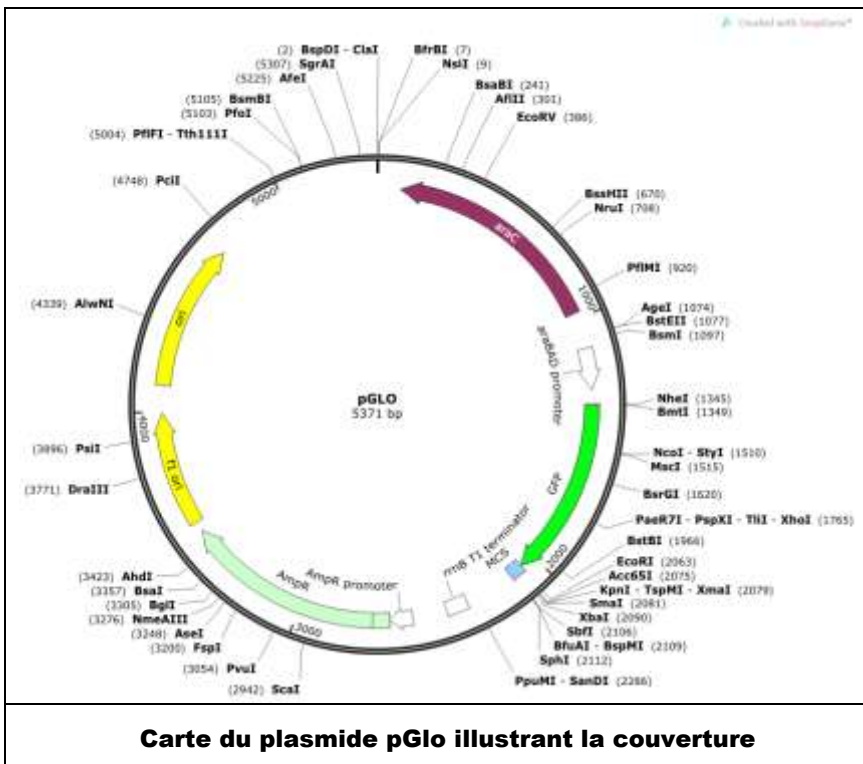
Les anticorps monoclonaux peuvent être **produits à l'identique de manière illimitée** par des hybridomes ce qui assure une **meilleure fidélité des résultats**.

CATALOGUE DE L'UPBM :



<http://www.upbm.org>

Vous trouverez sur notre site le catalogue avec possibilité d'édition des bons de commande. Dès que possible, des corrigés complémentaires ou des erratums seront en ligne. Encore faut-il que les erreurs soient signalées ! (jpaubrunet@wanadoo.fr ou/et jnoffin@wanadoo.fr) Les annales épuisées et des sujets d'ÉPS sont aussi disponibles en téléchargement.



ISBN 978-2-910069-69-8

