

LEGTA Sainte Livrade sur Lot

Promotion: 2023-2025 Classe: BTSA 1 ANABIOTEC

ECCF 4.1 Modalité : pratique et écrit

coefficient : 1 Sujet B

Date: lundi 24 juin 2024 Durée : 3 heures

| CAPACITÉ | Critères | Indicateurs | Questions | Barème |
|---|---|---|---|---------------|
| C4-1 Réaliser des analyses ou des essais dans le domaine de la santé | <i>Mise en œuvre d'un protocole relatif au(x) domaine(s) concerné(s)</i> | -Réalisation des analyses -Respect du protocole -Dextérité dans la conduite des opérations -Organisation du poste de travail -Respect des règles d'hygiène et de sécurité -Gestion des déchets -Gestion des aléas | <u>1ère partie :</u> 1.1., 1.3., 2., 5. <u>2ème partie :</u> 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.4, 2.6.1 à 2.6.3 | /14 |
| | <i>Formulation/ Présentation des résultats selon les pratiques du domaine</i> | -Validation des résultats -Cohérence des résultats -Présentation sous forme de compte rendu d'analyse -Communication des résultats | <u>1ère partie :</u> 1.2. ,1.4. , 1.5. , 1.6., 3., 4., 6., 7., 8. <u>2ème partie :</u> 1.4, 2.3, 2.5, 2.6.4, 3. | /6 |

Durée indicative de chacune des parties :

1ère partie : 1h30

2ème partie : 1h30

Portable et montre connectée sont interdits.

L'usage de la calculatrice est autorisé.

Du papier millimétré est mis à disposition.

1ère partie du sujet B

Technicien dans un laboratoire d'une industrie pharmaceutique, vous êtes chargé de contrôler la masse d'acide ascorbique contenu dans un sachet de vitamine C à l'aide de l'analyse décrite dans l'**annexe n°1**.

Le sachet de vitamine C est produit de telle sorte qu'il contienne 500 mg de vitamine C répartie ainsi :

*250 mg d'acide ascorbique

*250 mg d'ascorbate de sodium

Avant de réaliser le dosage pH-métrique de l'acide ascorbique contenu dans le sachet de vitamine C, vous étalonnerez la solution d'hydroxyde de sodium à $0,050 \text{ mol.L}^{-1}$.

1. Lors de l'étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium, vous devez peser 0,12 g d'hydrogénéphthalate de potassium.

1.1. Réaliser la préparation de la solution d'hydrogénéphthalate de potassium (§2.2.1 de l'annexe n°1)

Relever la valeur de la masse accompagnée de sa tolérance (*tolérance que l'on assimilera en première approximation à son incertitude-type : $u(m)$*).

1.2. Estimer le volume versé à l'équivalence lors de l'étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium.

Appeler l'examineur avant de réaliser la question suivante

1.3. Réaliser l'étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium (§2.2.2 de l'annexe n°1)

Relever la valeur du volume V mesuré accompagnée de sa tolérance (*tolérance que l'on assimilera en première approximation à son incertitude-type $u(V)$*).

1.4. Calculer la valeur de la concentration C de la solution d'hydroxyde de sodium ainsi que l'**incertitude** associée ; puis, noter le résultat de l'étalonnage de la solution d'hydroxyde de sodium.

Donnée : $u(M)=0,01 \text{ g.mol}^{-1}$.

1.5. D'autres étalonnages ont conduit aux résultats suivants exprimés en mol.L⁻¹ :
0,048 ; 0,049 ; 0,047 ; 0,046 ; 0,050 ; 0,045 ; 0,051 ; 0,052 ; 0,048

A partir des résultats précédents et de l'**annexe n°2**, déterminer la valeur moyenne C_{ref} de la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium accompagnée de son incertitude pour un niveau de confiance de 95 %.

1.6. Conclure quant à la validité de votre résultat.

2. Réaliser la préparation de l'échantillon (§3.1 de l'annexe n°1)

3. Relever les valeurs des volumes V_1 et V_2 accompagnées de leurs tolérances (tolérances que l'on assimilera en première approximation à leurs incertitude-types : $u(V_1)$ et $u(V_2)$).

4. Estimer le volume V_E de solution d'hydroxyde de sodium relevé à l'équivalence du titrage (§4.2. de l'annexe n°1).

Appeler l'examineur avant de réaliser la question suivante

5. Réaliser le titrage (§3.2. de l'annexe n°1).

6. Déterminer, à l'aide d'une méthode que l'on nommera, la valeur du volume V_E .

7. Calculer la masse d'acide ascorbique contenue dans un sachet de vitamine C ainsi que l'**incertitude** associée; puis, noter le résultat du dosage du sachet de vitamine C.

Donnée : $u(V_E)=0,1$ mL, $u(M_C)=0,01$ g.mol⁻¹

8. Conclure quant à la validité de votre résultat et sur la conformité ou non de l'échantillon analysé.

Annexe n°1 :

Protocole de détermination de la masse d'acide ascorbique contenue dans un sachet de vitamine C par pH-métrie

1. Appareillage

- 1.1. Verrerie d'usage courant
- 1.2. pH-mètre et électrode de verre
- 1.3. Agitateur magnétique

2. Réactifs

2.1. Phénolphtaléine

2.2. Solution d'hydroxyde de sodium à 0,050 mol.L⁻¹ à étalonner suivant le protocole ci-dessous :

2.2.1. Peser 0,12 g d'hydrogénophtalate de potassium et les introduire dans un erlen contenant environ 100 mL d'eau distillée. Bien dissoudre les cristaux d'hydrogénophtalate de potassium.

Ajouter 4 à 5 gouttes de phénolphtaléine dans l'erlen précédent.

2.2.2. Doser le contenu de l'erlen précédent par la solution d'hydroxyde de sodium à 0,050 mol.L⁻¹.

Lors du changement de couleur, relever le volume V en mL versé.

2.2.3. La concentration C en mol.L⁻¹ de la solution d'hydroxyde de sodium est donné par

l'expression suivante : $C = \frac{1000m}{MV}$

où m : masse en g d'hydrogénophtalate de potassium

M= 204,22 g.mol⁻¹ : masse molaire de l'hydrogénophtalate de potassium

V : volume en mL de solution d'hydroxyde de sodium versé lors du changement de couleur.

3. Mode opératoire

3.1. Préparation de l'échantillon

3.1.1. Introduire quantitativement le contenu du sachet de vitamine C dans une fiole jaugée de 25 mL et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. On obtient ainsi la solution S.

3.1.2. Prélever 5 mL de solution S et les introduire dans un bécher et compléter à environ 100 mL avec de l'eau distillée.

3.1.3. Étalonner la pH-mètre à l'aide des solutions tampons de pH 7 et 4 ; et, plonger l'électrode de verre dans le bécher précédent.

3.1.4. Introduire un barreau aimanté dans le bécher précédent et le placer au dessus de l'agitateur magnétique.

3.2. Titration

Doser le contenu du bécher précédent par ajout de solution d'hydroxyde de sodium à $C \text{ mol.L}^{-1}$ jusqu'à 15 mL.

Pour chaque ajout de solution d'hydroxyde de sodium, relever le pH affiché sur le pH-mètre.

4. Expression des résultats

4.1. Tracer le graphe du pH en fonction du volume de solution ajoutée.

4.2. Relever la valeur du volume « V_E » (en mL) versé à l'équivalence de solution d'hydroxyde de sodium à l'équivalence.

4.3. La masse m_C exprimée en « mg » d'acide ascorbique contenue dans un sachet de vitamine C est telle que :

$$m_C = C V_E M_C \frac{V_1}{V_2}$$

où

C : concentration de la solution d'hydroxyde de sodium en mol.L^{-1}

V_E : volume de solution d'hydroxyde de sodium versé à l'équivalence en mL

$M_C = 176,12 \text{ g.mol}^{-1}$

V_1 : volume de solution S préparée en mL

V_2 : volume de solution S dosée en mL

Annexe n°2 :

Extrait de la table de Student.

Pourcentage de limite ou de niveau de confiance

| | 50 | 80 | 90 | 95 | 98 | 99 | 99,5 | 99,8 | 99,9 | 99,99 | |
|------------------|----|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Degré de liberté | 1 | 1.000 | 3.078 | 6.314 | 12.706 | 31.281 | 63.657 | 127.32 | 318.31 | 636.62 | 6366.2 |
| | 2 | 0.816 | 1.886 | 2.920 | 4.303 | 6.965 | 9.925 | 14.089 | 22.327 | 34.599 | 99.992 |
| | 3 | 0.765 | 1.638 | 2.353 | 3.182 | 4.541 | 5.841 | 7.453 | 10.215 | 12.924 | 28.000 |
| | 4 | 0.741 | 1.533 | 2.132 | 2.776 | 3.747 | 4.604 | 5.598 | 7.173 | 8.610 | 15.544 |
| | 5 | 0.727 | 1.476 | 2.015 | 2.571 | 3.365 | 4.032 | 4.773 | 5.893 | 6.869 | 11.178 |
| | 6 | 0.718 | 1.440 | 1.943 | 2.447 | 3.143 | 3.707 | 4.317 | 5.208 | 5.959 | 9.082 |
| | 7 | 0.711 | 1.415 | 1.895 | 2.365 | 2.998 | 3.499 | 4.029 | 4.785 | 5.408 | 7.885 |
| | 8 | 0.706 | 1.397 | 1.860 | 2.306 | 2.896 | 3.355 | 3.833 | 4.501 | 5.041 | 7.120 |
| | 9 | 0.703 | 1.383 | 1.833 | 2.262 | 2.821 | 3.250 | 3.690 | 4.297 | 4.781 | 6.594 |
| | 10 | 0.700 | 1.372 | 1.812 | 2.228 | 2.764 | 3.169 | 3.581 | 4.144 | 4.587 | 6.211 |
| | 11 | 0.697 | 1.363 | 1.796 | 2.201 | 2.718 | 3.106 | 3.497 | 4.025 | 4.437 | 5.921 |

2^{ème} partie du sujet B

L'ECBU est le plus souvent prescrit en cas de suspicion d'une infection urinaire, mais aussi pour déceler des maladies inflammatoires des voies urinaires (cystite, pyélonéphrite, urétrite, prostatite...), pour savoir s'il y a une grossesse, pour explorer le fonctionnement de certains organes ou encore pour identifier l'usage de stupéfiants.

Un ECBU sera généralement prescrit en cas de douleurs lors de la miction, de brûlures, d'hématurie (sang dans les urines), de pollakiurie (envie fréquente d'uriner), de fièvre... Ces symptômes pouvant cacher une infection urinaire, l'ECBU permettra de déterminer les germes en cause et de trouver, à l'aide d'un antibiogramme, l'antibiotique adapté.

Technicien dans un laboratoire CERBALLIANCE vous êtes en charge de l'ECBU d'un patient de 25 ans qui se plaint de brûlures en urinant.

Vous disposez de l'échantillon d'urine de ce patient sur votre poste.

1-Cytologie :

11- Réalisez une suspension au $\frac{1}{2}$ de l'échantillon d'urine en expliquant ci-dessous votre protocole :

12- Montez l'hématimètre de Thoma.

Appelez l'examinatrice pour montrer ce montage

13- Présentez votre observation microscopique à l'examinatrice sans faire de commentaire. Pour cela, présentez une unité de comptage représentative.

14- Consignez vos résultats dans la partie CYTOLOGIE de la fiche de résultats **Annexe n°3**.

(On rappelle que le volume d'une unité de comptage de l'hématimètre de Thoma est de $4 \cdot 10^{-6}$ mL)

2- Bactériologie :

21- Réalisez une gamme de dilution de votre échantillon d'urine jusqu'à 10^{-5}

22- Réalisez ensuite une numération de la FMA de 10^{-3} à 10^{-5} (1 boîte par dilution) en masse de PCA.

Vous devez appeler l'examinatrice après cette manipulation pour aller incuber vos boîtes

23- Lisez les 3 boîtes de PCA fournies et donnez le résultat de la numération en complétant la fiche de résultats **Annexe n°3** dans la partie BACTERIOLOGIE..

24- Réalisez un isolement sur le milieu gélosé CLED par la technique appropriée, à l'aide d'une öse calibrée de 10 µL.

Appelez l'examinatrice pour montrer la réalisation de cet isolement

25- A l'aide de l'**Annexe n°4**, lisez et interprétez le CLED pré-ensemencé fourni et complétez la fiche de résultats **annexe n°3**.

26- On a isolé la culture obtenue sur CLED sur une GNO à disposition sur votre poste. Pour affiner son identification réalisez les tests suivants :

261- Une coloration de Gram

Appelez l'examinatrice pour montrer votre observation sans faire de commentaire

262- La recherche de l'enzyme respiratoire adaptée

263- La lecture du Viande-foie et des deux Hugh et Leifson pré-ensemencés

264- Consignez vos résultats dans la fiche de résultats **annexe n°3** puis proposez une identification à l'aide de l'**annexe n°5**.

3- Proposez un bilan de l'ECBU en utilisant l'**annexe n°6** et en complétant la fiche de résultats **annexe n°3** dans la partie « BILAN DE L'ECBU ».

ANNEXE n°3 : Fiche de résultats de l'ECBU

(2ème partie du sujet B)

| | | | |
|--|--|------------------------|------------------------|
| NOM du technicien : | Prénom du technicien : | | |
| Laboratoire CERBALLIANCE | Fiche de résultats de l'ECBU | | |
| Nom, prénom du manipulateur : Date de l'analyse : | URINE : Informations sur le patient : | | |
| CYTOLOGIE | | | |
| Type de cellules eucaryotes observées | | | |
| Comptage des cellules eucaryotes sur 3 unités de comptage | Unité 1 | Unité 2 | Unité 3 |
| | | | |
| Nombre de cellules eucaryotes/mL d'urine <u>Détaillez votre calcul</u> | | | |
| Observation d'autres cellules à préciser | | | |
| BACTERIOLOGIE | | | |
| Lecture des PCA | 10⁻³ | 10⁻⁴ | 10⁻⁵ |
| | | | |
| Nombre d'ufc de FMA/mL d'urine <u>Détaillez votre calcul</u> | | | |
| Lecture et interprétation du CLED | | | |

| | |
|--|--|
| Identification de la culture | |
| Lecture et résultat coloration de Gram | |
| Lecture et résultat enzyme respiratoire adaptée | |
| Lecture et résultat Viande-Foie | |
| Lecture et résultat Hugh et Leifson | |
| Proposition d'orientation de la culture | |
| Bilan de l'ECBU | |

Annexe n°4 : Fiche technique de CLED (2ème partie du sujet B)

GÉLOSE CYSTINE LACTOSE ÉLECTROLYTE DÉFICIENT / ISOLEMENT ET DIFFÉRENCIATION DES GERMES URINAIRES

APPLICATION

La gélose Cystine Lactose Electrolyte Deficient (C.L.E.D.) est un milieu permettant l'isolement, la numération et la différenciation des germes urinaires.

1-PRINCIPE

La différenciation des bactéries est basée sur leur capacité à fermenter ou non le lactose. S'il y a fermentation cela induit une acidification qui provoque une coloration **jaune** des colonies en présence de bleu de bromothymol (indicateur de pH).

La faible teneur en électrolytes permet d'éviter les phénomènes d'envahissement par les *Proteus*.

2-COMPOSITION THÉORIQUE (en g/l d'eau distillée)

Le milieu C.L.E.D. est préparé selon la formule décrite par Sandys G.H. (1) et modifiée par Mackey J.P. *et al.* (2).

| | |
|----------------------------|-----------|
| Peptone | 4 |
| Extrait de viande | 3 |
| Peptone pepsique de viande | 4 |
| L. cystine | 0,128 |
| Lactose | 10 |
| Bleu de bromothymol | 0,02 |
| Agar | 13 |
| pH final | 7,3 ± 0,2 |

3-Ensemencement :

Ensemencer en stries à partir de l'échantillon à étudier (urines).

4-Incubation :

Incuber pendant 24 heures à 37°C

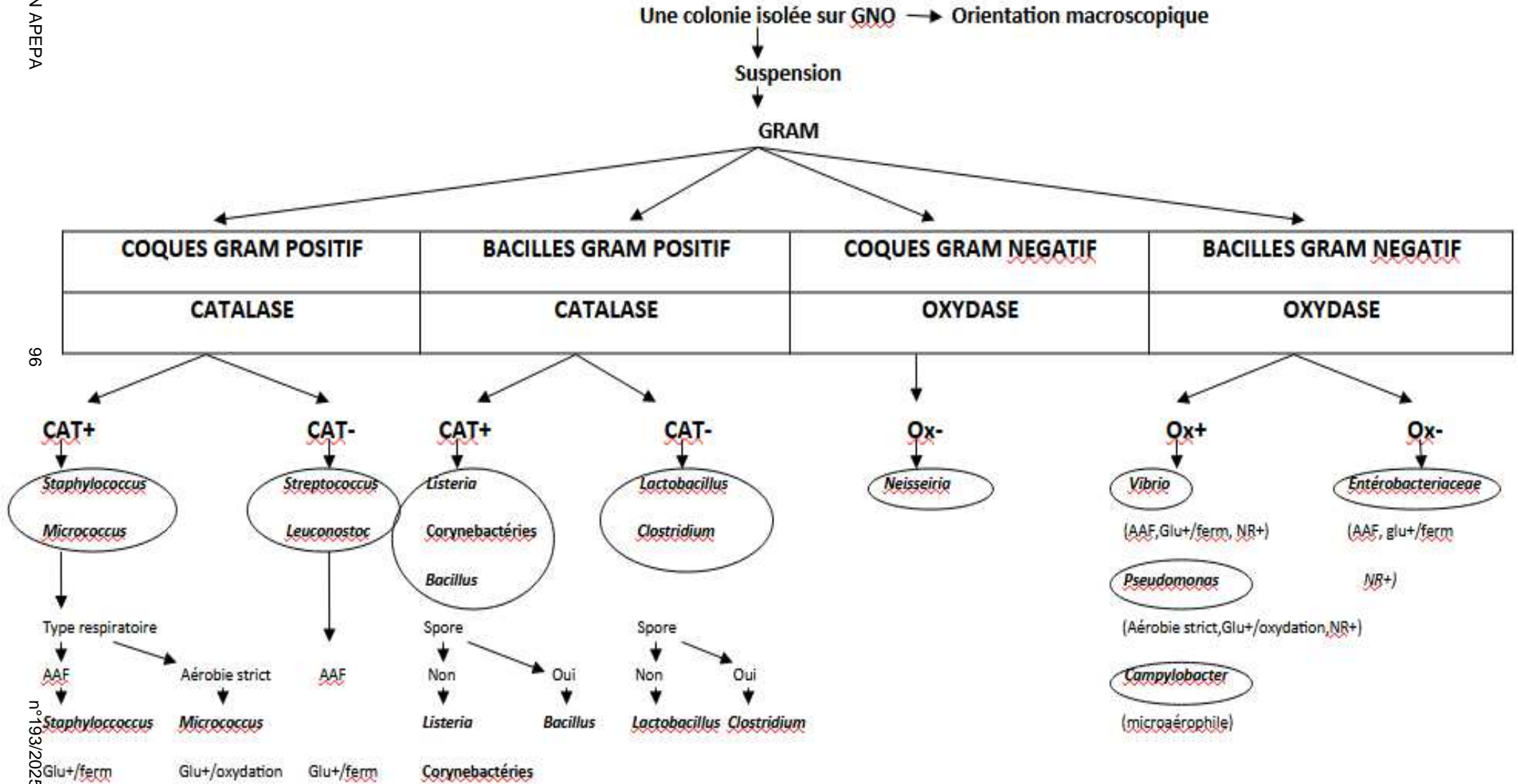
5-Lecture :

- Lactose (+) : colonies jaunes.
- Lactose (-) : colonies vertes, bleues.

6- L'aspect des colonies attendues est le suivant :

- E. coli : colonies jaunes, opaque, à centre légèrement plus foncé.
- Klebsiella : colonies jaunes, très muqueuses.
- Proteus : colonies bleues, translucides, généralement plus petites qu'E. coli.
- Pseudomonas aeruginosa : colonies vertes, avec surface mate et contours irréguliers.
- Streptococcus faecalis : colonies jaunes (0,5 mm).
- Staphylococcus aureus : colonies jaune foncé.
- Staphylocoques à coagulase négative : colonies jaune pâle presque blanches.
- Lactobacilles : colonies grises très petites avec une surface rugueuse.

Annexe n°5 : Clef d'orientation des principaux genres bactériens
(2ème partie du sujet B)



Annexe n°6 : Interprétation de l'ECBU

(2ème partie du sujet B)

