

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

Enoncé :

La société ABC a développé un nouveau kit enzymo-immunologique (Kit E) pour le dosage d'un médicament X. Elle souhaite valider ce kit par comparaison à une technique de référence. La technique de référence choisie est la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (LC/MS).

Questions :

- 1) Douze échantillons de plasma surchargés à des concentrations théoriques connues sont dosés par les 2 méthodes. Les résultats sont donnés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Concentrations de X (en mg/L) mesurées par LC/MS et Kit enzymo-immunologique dans des échantillons de plasma surchargés.

Ech n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
KIT	20,5	45,6	18,2	23,6	45,2	48,3	35,5	31,2	25,2	28,4	32,5	28,3
LC/MS	25,2	43,2	18,2	15,7	47,2	40,2	30,2	30,2	26,2	24,2	30,2	30,4

Les concentrations obtenues par ces 2 méthodes sont-elles significativement différentes au risque 5 % ?

- 2) La comparaison entre les 2 méthodes est ensuite réalisée à partir d'échantillons sanguins collectés chez 12 patients traités par le médicament X. Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2 : Concentrations de X (en mg/L) mesurées par LC/MS et Kit enzymo-immunologique dans des échantillons de plasma issus de patients traités par X.

Ech n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
KIT	28,0	61,0	68,4	25,7	52,8	43,2	64,5	73,5	59,8	62,7	29,6	48,6
LC/MS	20,1	26,5	44,8	28,0	37,5	29,2	26,1	41,9	50,7	45,1	13,7	20,8

2.1. La surestimation apparente observée avec le kit E est-elle significative au risque de 5 % ?

2.2. Afin d'étudier la répartition des différences en fonction des concentrations, représenter graphiquement, à partir des données du tableau 2, la différence d en fonction de la concentration mesurée par LC/MS.

$$d = (\text{concentration mesurée avec le kit E} - \text{concentration mesurée par LC/MS}).$$

2.3. Déterminer l'équation de la droite $d = f(\text{concentration par LC/MS})$. Existe-t-il une relation entre la surestimation apparente et la concentration de référence ?

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD**Enoncé :**

L'administration IV bolus d'une dose de 150 mg d'un médicament chez un patient A conduit, après dosage à partir du plasma, à une cinétique bicompartimentale d'équation :

$$C_t = 0,45 \times e^{-0,285t} + 0,62 \times e^{-0,018t} \text{ avec } C_t \text{ en mg/L et } t \text{ en heure.}$$

On sait par ailleurs que ce médicament présente une liposolubilité élevée, qu'il est éliminé à 5 % sous forme inchangée dans les urines, que son métabolisme est essentiellement hépatique, qu'il se fixe sur l'albumine.

Chez un patient B, toujours après IV bolus de 150 mg, on obtient l'équation suivante :

$$C_t = 0,42 \times e^{-0,26t} + 0,58 \times e^{-0,0085t}$$

Le sujet B présente une albuminémie diminuée et une baisse du taux du complexe prothrombinique, par rapport au patient A.

Questions :

- 1) Pour les deux patients déterminer la clairance plasmatique totale et la demi-vie plasmatique à la phase d'élimination. Calculer le volume de distribution du compartiment central (ou volume de distribution initial) et la constante d'élimination (kel) pour le patient A.
- 2) Comment peut-on expliquer la différence de demi-vie d'élimination entre les deux patients ?
- 3) Quelles modifications de dose s'imposent chez le patient B par rapport à celle du patient A ? Justifier votre réponse.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

Enoncé :**Question N° 1 :**

Le fluor $^{18}_{9}\text{F}$, est un isotope radioactif émetteur d'un rayonnement β^+ .

Ecrire la réaction de désintégration de cet isotope.

Quel rayonnement secondaire à cette émission β^+ sera utilisé pour la détection de cet isotope ?

Données : extrait de la classification périodique :

**Question N° 2 :**

L'activité d'une source de ^{18}F est mesurée au cours du temps ; les résultats sont les suivants :

Temps (minutes)	0	180
Activité (MBq)	80	25,7

Calculer la constante radioactive λ et la période T de ^{18}F .

Question N° 3 :

Le ^{18}F sert à la préparation de médicaments radiopharmaceutiques utilisés en médecine nucléaire.

Un des médicaments radiopharmaceutiques, parmi les plus utilisés, est le 2(^{18}F)Fluoro-2-deoxy-D-glucose (^{18}FDG). Il permet d'analyser le métabolisme du glucose dans les cancers, en cardiologie et dans diverses pathologies du cerveau.

Pour rechercher un cancer pulmonaire, on injecte 185 MBq de ^{18}FDG à un malade. Il faut prévoir un délai de deux heures et demie entre la préparation industrielle du médicament radiopharmaceutique et son utilisation au centre hospitalier.

- A quelle activité, exprimée en MBq, cette injection correspond-elle au moment de sa préparation industrielle ?
- Quelle masse de ^{18}FDG sera injectée au malade, sachant que la masse molaire du ^{18}FDG est de 181 g.mol^{-1} ?

Donnée : nombre d'Avogadro $N_A = 6,02.10^{23} \text{ mol}^{-1}$

Question N° 4 :

Lors de la fabrication du ^{18}FDG , on utilise des écrans de plomb pour se protéger du rayonnement électromagnétique mono-énergétique produit.

On admet que la loi de transmission du flux énergétique Φ en fonction de l'épaisseur x d'écran traversé est exponentielle.

- Sachant qu'une épaisseur de plomb de 1 cm laisse passer 24 pour 100 du flux énergétique incident, calculer le coefficient d'atténuation linéaire μ du plomb.
- Pour protéger le préparateur, on veut que 95 pour 100 du flux énergétique soit absorbé par l'écran. Quelle épaisseur de plomb faudra-t-il utiliser ?

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD**Enoncé :**

L'acétylcholinestérase (EC 3.1.1.7) est purifiée à partir d'un homogénat de torpille électrique. A chaque étape de la purification, on dose la concentration catalytique (U/mL) et la concentration en protéines totales. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Etape de purification	Volume (mL)	protéines (mg/mL)	concentration catalytique (U/mL)
Homogénat	150	600	12
précipitation par $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10	300	150
Affinité (éluat)	20	6	51

Questions

1 - Calculer l'activité spécifique de chaque fraction, ainsi que les rendements et degrés de purification pour l'ensemble de la purification.

Le K_m de l'enzyme pour son substrat est de 0,30 mM. Pour mesurer les concentrations catalytiques du tableau ci-dessus, chaque fraction est préalablement diluée au 1/1000^{ème}, le temps de mesure est de 1 min et les conditions du dosage (dans les conditions conventionnelles retenues pour la définition de l'unité d'activité enzymatique) sont telles que

90 % des sites actifs de l'enzyme $\left[\frac{(ES)}{(E)_t} = 0,9 \right]$ sont occupés par le substrat acétylcholine.

2 – Quelle doit être la concentration en acétylcholine (en mM et en unités K_m) dans les conditions du dosage?

3 –

- Calculer pour la 2^{ème} étape de purification (précipitation par $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ la vitesse initiale (v_0) mesurée dans le milieu réactionnel. Quelle serait la $V_{\max}$?
- En déduire, après 1 min d'incubation, la concentration résiduelle en substrat (en mmol/L et en unités K_m).
- Calculer la vitesse (v) correspondant à cette concentration et l'exprimer en % de la vitesse initiale (v_0) mesurée. Commenter.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD**Enoncé :**

a) On désire préparer 100 mL d'une solution aqueuse tampon ammoniacale de $\text{pH} = 9,0$ en utilisant 10 mL de solution molaire de NH_3 , v_1 mL de solution molaire de NH_4Cl et de l'eau distillée. Soit T_1 cette solution tampon.

b) On désire préparer 100 mL d'une solution aqueuse tampon ammoniacale de $\text{pH} = 9,0$ en utilisant 10 mL de solution molaire de NH_3 , v_2 mL de solution molaire de HCl et de l'eau distillée soit T_2 cette solution tampon.

Question 1 :

Calculez v_1 et v_2 ; $\text{p}K_a \text{NH}_4^+/\text{NH}_3 = 9,25$.

Question 2 :

Quelles sont les molarités des solutions tampons ammoniacales T_1 et T_2 ?

Question 3 :

Quelle est l'osmolarité de chacune des solutions T_1 et T_2 ?

Question 4 :

Peut-on utiliser une de ces 2 solutions T_1 ou T_2 pour tamponner à $\text{pH} = 6,00$ une solution d'ions métalliques de $\text{pH} = 1,00$? Expliciter clairement votre réponse.

Question 5 :

Quel volume de tampon T_1 doit-on utiliser pour amener 10 mL d'une solution chlorhydrique de $\text{pH} = 2,00$ à $\text{pH} = 8,75$?

Exercice 1

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

1) Comparaison de 2 moyennes appariées :

$$H_0 : \mu_{\text{diff}} = 0$$

$$H_1 : \mu_{\text{diff}} \neq 0$$

$$\bar{x}_{\text{diff}} = 1,78$$

$$s_d = 4,035$$

$$\text{ddl} = 11$$

$$t = 1,53 < 2,201$$

Les concentrations obtenues par les 2 méthodes ne diffèrent pas significativement.

2.1. Cas des ech. de patients

Comparaison de 2 moyennes appariées :

$$H_0 : \mu_{\text{diff}} = 0$$

$$H_1 : \text{surestimation moyenne du kit} > 0$$

$$\bar{x}_{\text{diff}} = 19,45$$

$$s_d = 12,05$$

$$\text{ddl} = 11$$

$$t = 5,592$$

$$t_{\text{seuil}} (\text{lu à } 10 \%) = 1,796$$

La surestimation du kit est significative

$$2.2. \text{pente} = - 0,0337$$

$$\text{ordonnée à l'origine} = 20,53$$

$$y = 20,53 - 0,0337 x$$

$$r = - 0,0327$$

$$\text{ddl} = 10$$

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$
$$= 0,103$$
$$t_{\text{seuil}} = 2,228$$

On ne met pas en évidence de relation entre la surestimation du kit et la concentration de référence.

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 2

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

$$1) CL = \frac{\text{Dose}}{SSC_{0 \rightarrow \infty}}$$

Patient A :

$$SSC_{0 \rightarrow \infty} = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} = \frac{0,45}{0,285} + \frac{0,62}{0,018} = 1,5789 + 34,44 = 36 \text{ mg.h/L}$$

$$CL = \frac{150}{36} = 4,16 \text{ L/h} \quad t_{1/2\beta} = \frac{0,693}{0,018} = 38,5 \text{ h}$$

Patient B :

$$SSC_{0 \rightarrow \infty} = \frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} = \frac{0,42}{0,26} + \frac{0,58}{0,0085} = 1,615 + 68,23 = 69,85 \text{ mg.h/L}$$

$$CL = \frac{150}{69,85} = 2,147 \text{ L/h} \quad t_{1/2\beta} = \frac{0,693}{0,0085} = 81,5 \text{ h}$$

Patient A : Volume du compartiment central :

$$V_1 = \frac{\text{Dose}}{A+B} = \frac{150}{0,45+0,62} = \frac{150}{1,07} = 140 \text{ L}$$

Constante d'élimination :

$$kel = \frac{CL}{V_1} = \frac{4,16}{140} = 0,0297 \text{ h}^{-1}$$

2) Le patient B présente une demi-vie de l'ordre de 2 fois plus longue que celle du patient A ce qui est lié à sa clairance 2 fois plus faible.

Or ce médicament (essentiellement éliminé par métabolisme hépatique) présente un coefficient d'extraction (E_H) faible ($CL \ll \text{débit sanguin hépatique} \approx 1,2 \text{ L/min}$). Donc CL dépend surtout de la fraction libre plasmatique (f_u) et la clairance intrinsèque (CL_{int} , correspondant à l'affinité du médicament pour les systèmes enzymatiques impliqués et à l'activité de ces enzymes) :

$$CL \approx f_u \times CL_{int}$$

Il est peu probable que f_u du patient B soit inférieur à f_u du patient A (au contraire une augmentation de sa f_u est attendue compte tenu des perturbations biologiques (albumine diminuée). En revanche, ces perturbations biologiques peuvent témoigner d'une insuffisance hépatique chez le patient B responsable d'une diminution du CL_{int} et donc de CL, insuffisance hépatique d'autant plus probable chez ce patient B qu'il a un taux de complexe prothrombinique diminué.

3) Diminution de dose chez le patient B (clairance d'élimination plus faible) et ce d'autant plus que la fraction libre plasmatique du médicament doit être supérieure chez le patient B.

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 3

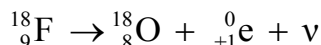
EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

Question N° 1 :

Dans le processus β^+ , un proton du noyau de fluor est transformé en neutron : il y a donc transformation de ${}^{18}_9\text{F}$ en ${}^{18}_8\text{O}$ avec émission d'un positon ${}^0_{+1}e$ (émission β^+) et d'une particule ν appelée neutrino, neutre de masse nulle et n'interagissant pratiquement pas avec la matière.

On écrit :



Lors d'une désintégration β^+ , le positon émis dans le milieu perd de son énergie cinétique lors des collisions multiples et peut ensuite s'annihiler sur un électron : la dématérialisation produit 2 photons γ d'énergie 511 Kev ; cette émission électromagnétique est utilisée dans les gamma caméra à positons (mesure du temps de vol).

Question N° 2 :

La loi de décroissance de l'activité $a = a_0 e^{-\lambda t}$ est exponentielle : $\ln a$ varie donc linéairement en

fonction du temps t , avec comme coefficient directeur $-\lambda$: $-\lambda = \frac{\ln a_1 / a_2}{t_1 - t_2}$ □

$$\lambda = 0,00631 \text{ min}^{-1}$$

La période du fluor 18 est $T = \ln 2 / \lambda$, soit **$T = 110 \text{ min}$** .

Question N° 3 :

a) Désignons par $t = 0$ l'instant de la préparation et a_0 l'activité à prévoir, sachant qu'au moment de l'utilisation $t = 2,5 \text{ h} = 150 \text{ min}$, l'activité du ${}^{18}\text{FDG}$ doit être $a_t = 185 \text{ MBq}$. On a

$$a_t = a_0 e^{-\ln 2 \frac{t}{T}} \text{ d'où l'activité à prévoir : } a_0 = 185 e^{\ln 2 \frac{150}{110}} = \mathbf{476 \text{ MBq}}$$

b) La masse de ${}^{18}\text{FDG}$ injectée se calcule par la relation : $m = \frac{M_A}{N_A} \frac{aT}{\ln 2}$ dans laquelle $M_A = 181$

g, $a = 185 \cdot 10^6 \text{ Bq}$, $T = 6600 \text{ s}$ et $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$

On obtient **$m = 5,3 \cdot 10^{-10} \text{ g}$**

Question N° 4 :

La loi d'atténuation du flux Φ du rayonnement en fonction de x l'épaisseur d'écran traversée s'écrit :

$$\Phi = \Phi_0 e^{-\mu x}$$

dans laquelle μ est le coefficient d'atténuation linéaire du plomb.

a) Si pour $x = 1 \text{ cm}$, on a $\Phi / \Phi_0 = 0,24$, on déduit la valeur de μ :

$$\mu = \frac{-\ln \Phi / \Phi_0}{x} = \mathbf{1,427 \text{ cm}^{-1}}$$

b) Il ne doit passer qu'une fraction de rayonnement $\Phi / \Phi_0 = 0,05$. L'épaisseur de plomb traversée doit être :

$$x = \frac{\ln \Phi_0 / \Phi}{\mu} = \mathbf{2,10 \text{ cm}}$$

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 4

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

1 - Les AS en U/mg sont de 0,02 pour l'homogénat; 0,5 pour le précipité redissous; et 8,5 pour l'éluat. Rendement de la purification = $(1020/1800) = 56,7 \%$. Facteur d'enrichissement = $8,5/0,02 = 425$.

2 - $V_o/V_{max} = 0,9 = a / (a + 1)$ avec a = concentration en substrat exprimée en unités Km ; soit $a = 9$ donc $S = 9Km = 2,7 \text{ mM}$

3 –

a) $V_o = 0,150 \text{ } \mu\text{mol/mL/min}$ soit $0,150 \text{ mmol/L/min}$ soit $0,5 \text{ Km/min}$ et $V_{max} = \frac{0,150}{0,9} = 0,166 \text{ mM/min}$

b) $(S) = 2,7 - 0,15 = 2,55 \text{ mM}$ ou $9 - 0,5 = 8,5 \text{ Km}$

c) $\frac{v}{v_o} = \frac{(8,5/9,5)}{(9/10)} = 0,9942$ soit v à 1 min = $99,42 \%$ de $v_o = 0,150 \times 0,9942 = 0,149 \text{ mM/min}$.

Commentaires : v_o n'est pratiquement pas modifiée donc la cinétique est linéaire et la mesure est correcte.

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 5**EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD****PROPOSITIONS DE REPONSES****Question 1 :**Calcul de v_1 :

10 mL de solution M apporte 10 mmol.

 V_1 mL de solution M apporte V_1 mmol.

Volume total = 100 mL.

$$|NH_3| = \frac{10}{100}$$

$$|NH_4^+| = \frac{v_1}{100}, \text{ le recul d'équilibre est total.}$$

$$[NH_3]_{eq} = [NH_3]_{total} \quad [NH_4^+]_{eq} = [NH_4^+]_{total}$$

$$pH = pKa + \log \frac{|NH_3|}{|NH_4^+|}$$

$$pH = pKa + \log \frac{|NH_3|}{|NH_4^+|}$$

$$pH = pKa + \log \frac{10}{v_1}, \quad \log \frac{10}{v_1} = -0,25, \quad \frac{10}{v_1} = 0,562$$

$$\underline{v_1 = 17,78 \text{ mL}}$$

Calcul de v_2 N_2 mL de solution M apporte N_2 mmol.

Volume total 100 mL

$$|NH_3| = \frac{10 - v_2}{100}$$

$$|NH_4^+| = \frac{v_2}{100}$$

$$pH = pKa + \log \frac{10 - v_2}{v_2}, \quad \log \frac{10 - v_2}{v_2} = -0,25, \quad \frac{10 - v_2}{v_2} = 0,562$$

$$\underline{v_2 = 6,4 \text{ mL}}$$

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 5 (suite)

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

Question 2 :

- Pour le tampon T₁

Les formes ammoniacales apportées sont 10 mmol de NH₃ et 17,78 mmol de NH₄⁺Cl⁻. Le volume est de 100 mL.

$$\text{Molarité du tampon T}_1 = |\text{NH}_3| + |\text{NH}_4^+| = \frac{10}{100} + \frac{17,8}{100} = 0,278 \text{ M}$$

- Pour le tampon T₂ :

Tout ce qui est ammoniacal est apporté par les 10 mmol de NH₃

$$\text{Molarité du tampon T}_1 = \frac{10}{100} = 0,10 \text{ M}$$

Question 3 :

- Tampon T₁ :

Formes en solution NH₃, NH₄⁺ et Cl⁻

$$\begin{aligned} [\text{NH}_3] + [\text{NH}_4^+] + [\text{Cl}^-] &= 0,10 + 2 \times 0,178 \\ &= 0,456 \text{ Osmol.L}^{-1} \end{aligned}$$

$$= 456 \text{ mOsmol.L}^{-1}$$

- Tampon T₂ :

$$[\text{Cl}^-] = \frac{6,4}{100} = 0,064 \text{ M}$$

$$\begin{aligned} [\text{NH}_3] + [\text{NH}_4^+] + [\text{Cl}^-] &= 0,10 + 0,064 = 0,164 \text{ Osmol.L}^{-1} \\ &= 164 \text{ mOsmol.L}^{-1} \end{aligned}$$

$$\text{ou } |\text{NH}_3| + |\text{NH}_4^+| = 0,359 + 2(0,0641) = 0,164 \text{ Osmol.L}^{-1}$$

Question 4 :

Ces tampons T₁ et T₂ de pH = 9,00 sont inutilisables à pH = 6,00.

Le domaine tampon d'un tampon ammoniacal est compris entre 8,25 et 10,25.

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.

Exercice 5 (suite)

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2008-2009 ZONE NORD

PROPOSITIONS DE REPONSES

Question 5 :

Le tampon T_1 contient :
0,1 mmol de NH_3 par mL
et 0,178 mmol de NH_4^+ par mL.

La solution chlorhydrique de $\text{pH} = 2,00$ contient 0,1 mmol de H_3O^+ dans les 10 mL.

On veut $\text{pH} = 8,75$ soit x mL le volume de T_1 utilisé

$$\text{pH} = 8,75 = 9,25 + \log \frac{0,1x - 0,1}{0,178x + 0,1}$$

$$x = 3,0 \text{ mL}$$

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.