

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 1

ÉNONCÉ

Une équipe développe un nouveau test de laboratoire dosant l'activité d'une enzyme.

Son dosage a été effectué par les biologistes sur une série consécutive de 120 patients hospitalisés dans un service d'hépto-gastro-entérologie.

Une ponction biopsie hépatique (PBH) a permis par ailleurs de classer ces patients en 40 sujets atteints de stéatose (S+) et 80 sujets indemnes de stéatose (S-).

Il s'agit de fixer une valeur seuil de l'activité de l'enzyme au-dessus de laquelle le patient sera considéré comme atteint de stéatose : le test T est dit positif si l'activité est supérieure à ce seuil et négatif dans le cas contraire.

Les résultats de ces dosages sont donnés dans le tableau suivant :

S+ (n = 40)		S- (n = 80)			
137	400	57	116	135	168
146	400	60	117	136	168
165	410	69	118	137	169
200	440	86	118	140	170
210	447	97	120	140	171
215	460	100	120	144	172
222	460	100	120	145	176
230	465	102	120	147	180
239	470	103	120	150	182
240	480	103	121	151	188
251	510	104	122	151	188
280	520	105	122	156	195
280	540	107	125	156	210
314	585	109	126	157	211
331	600	109	127	158	220
360	630	110	128	159	223
370	650	112	133	160	227
380	660	112	134	160	240
390	730	113	134	161	243
400	860	113	135	165	246

QUESTION N° 1 : Sur cet échantillon, quel seuil (Ls) faut-il choisir pour que la valeur prédictive positive du test T soit égale à 1 ?

Quelles sont la sensibilité et la valeur prédictive négative du test T pour ce seuil ?

QUESTION N° 2 : Quel seuil (Li) faut-il choisir pour que la valeur prédictive négative du test T soit égale à 1 ?

Quelles sont la spécificité et la valeur prédictive positive du test T pour ce seuil ?

QUESTION N° 3 : Si on considère comme égaux :

(i) le préjudice moyen subi par un sujet indemne de stéatose suivi à tort et (ii) le préjudice moyen d'un sujet stéatosique non suivi, laquelle des deux valeurs seuil (définies précédemment) est la meilleure dans l'échantillon étudié ?

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 2

ÉNONCÉ

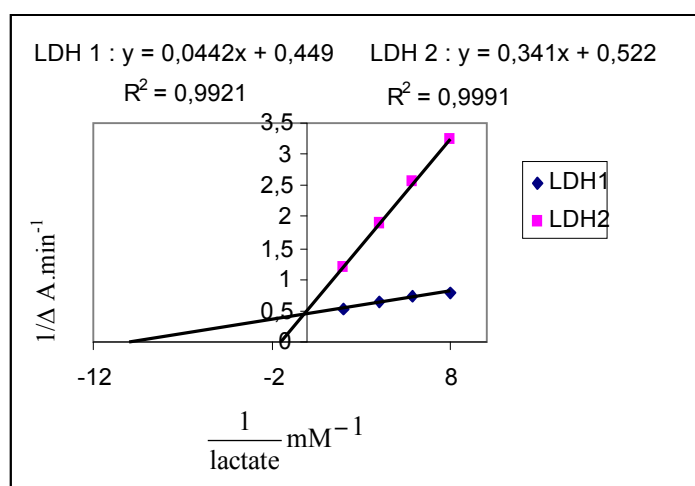
L'analyse de la LDH, par électrophorèse à pH alcalin sur agarose à partir de 10 μL de sérum et révélation spécifique par son activité enzymatique, révèle la présence de 5 isoenzymes dénommées LDH 1, 2, 3, 4, 5, en fonction de leur mobilité de l'anode vers la cathode.

- On élue séparément les protéines correspondant aux deux bandes les plus anodiques (LDH 1 et 2) par 300 μL de NaCl 0,15 M. On évalue la vitesse initiale v_0 de chaque fraction en ajoutant dans une cuve réactionnelle de 1 cm de trajet optique, 5 μL d'éluat et 150 μL d'une solution de substrat contenant des concentrations croissantes de lactate et une concentration saturante en coenzyme. L'expression permettant de calculer la vitesse initiale (en $\text{mM} \cdot \text{min}^{-1}$) dans le milieu réactionnel est : $v_0 = K \cdot \Delta A \cdot \text{min}^{-1}$.

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau ci-dessous :

lactate (mM)	LDH 1 $\Delta A \cdot \text{min}^{-1}$	LDH 2 $\Delta A \cdot \text{min}^{-1}$
0,50	1,89	0,84
0,25	1,58	0,53
0,17	1,39	0,39
0,125	1,26	0,31

La représentation des résultats selon l'équation de Michaelis-Menten est la suivante :



A = absorbance

QUESTION N° 1 :

Définir une iso-enzyme et préciser la structure macromoléculaire de chacune des bandes.

QUESTION N° 2 :

Quels sont les paramètres de la LDH que l'on souhaite déterminer dans cette expérience ?

Pourquoi faut-il une concentration saturante en coenzyme ?

Calculer le facteur K (Données : coefficient d'absorbance molaire du coenzyme à la longueur d'onde de lecture = $6300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

QUESTION N° 3 :

Calculer les K_M et $V_{\max}$ des 2 isoenzymes (on suppose que l'erreur sur les mesures expérimentales est nulle). Quelle est celle qui présente la plus forte affinité pour le lactate ?

En déduire les concentrations catalytiques en LDH 1 et 2 dans la cuve réactionnelle, sachant que dans les conditions conventionnelles la réaction est d'ordre zéro par rapport au coenzyme et que la concentration en lactate est égale à 10 fois son K_M .

QUESTION N° 4 :

En supposant un rendement de 100 % en activité LDH pour l'électrophorèse et l'élution, calculer les concentrations catalytiques sériques de LDH 1 et LDH 2 dans les conditions conventionnelles de la question N° 3 (lactate = $10 K_M$).

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 3

ÉNONCÉ

On dissout 15 mg d'un composé A dans 100 mL d'eau distillée.

50 mL de cette solution sont mis en présence de 20 mL d'heptane. On agite jusqu'à obtention de l'équilibre entre les deux phases. On mesure alors les absorbances en cuve de 1 cm à 250 nm pour la phase aqueuse, à 245 nm pour la phase heptanique.

L'absorbance de la phase supérieure à 245 nm est 0,386 ; l'absorbance de la phase inférieure à 250 nm est de 0,278.

Sachant que les coefficients d'absorption molaire de A

- à 250 nm en solution aqueuse est $760 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$
- à 245 nm dans l'heptane est de $940 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$

QUESTION N° 1 : Quel est le coefficient de partage heptane / eau du composé A ?

QUESTION N° 2 : Quelle est la masse molaire de A ?

QUESTION N° 3 : Quelle quantité de A exprimée en mg reste dans la phase aqueuse si on extrait 50 mL de la solution initiale de composé A par 2 x 10 mL d'heptane (soit deux extractions successives à l'aide 10 mL d'heptane chacune) ?

EXERCICE 4

ÉNONCÉ

Un médicament a été administré à un patient selon deux voies : intraveineuse et intramusculaire à une semaine d'intervalle.

Après administration intraveineuse de 300 mg, l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps (exprimé en heure) correspond à la fonction :

$$C(\text{mg.L}^{-1}) = 2,4 e^{-0,032.t}$$

Après administration intramusculaire de 600 mg, la fonction qui représente l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps (exprimé en heure) est la suivante :

$$C(\text{mg.L}^{-1}) = 3,9 e^{-0,028.t} - 3,9 e^{-0,89.t}$$

QUESTION n°: 1

Calculer la clairance d'élimination plasmatique de ce médicament chez ce patient.

QUESTION n°: 2

Calculer le volume apparent de distribution plasmatique.

QUESTION n°: 3

Calculer le coefficient de biodisponibilité par voie intramusculaire.

QUESTION n°: 4

Calculer la demi-vie apparente d'absorption après injection intramusculaire.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 5

ÉNONCÉ

Le tritium (${}^3_1\text{H}$) est un isotope radioactif de l'hydrogène, émetteur β^- , de période $T = 12,3$ ans.

Données :

- constante d'Avogadro : $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
- équivalent énergétique de l'unité de masse atomique : $1 \text{ u} = 931,5 \text{ MeV}/c^2$
- $1 \text{ an} = 365,25 \text{ jours}$

QUESTION N° 1 : Ecrire l'équation de désintégration radioactive du tritium en précisant les caractéristiques (nombre de masse, numéro atomique et nom) du noyau obtenu (${}^A_Z\text{Y}$) et les particules émises. Le noyau ${}^A_Z\text{Y}$ se trouve à l'état fondamental.

QUESTION N° 2 : Calculer, en keV, l'énergie cinétique maximale $E_{\beta_{\max}}$ emportée par le rayonnement β^- . On donne les masses des atomes $\mathcal{M}({}^3_1\text{H}) = 3,01605 \text{ u}$ et $\mathcal{M}({}^A_Z\text{Y}) = 3,01603 \text{ u}$.

QUESTION N° 3 : On dispose d'une solution mère de testostérone tritiée d'activité volumique $A_{\text{vol}} = 10 \text{ MBq/mL}$. Quelle dilution doit-on effectuer à partir de la solution mère pour obtenir 1 mL de solution fille dont le comptage, effectué dans un compteur β , fournit une valeur égale à $1,2 \cdot 10^5$ impulsions par minute (ipm) ? Le rendement du compteur β (rapport du nombre d'ipm sur le nombre de désintégrations par minute) est $R = 60 \%$.

QUESTION N° 4 : Sachant que l'activité molaire de la testostérone tritiée est $A_{\text{mol}} = 4,3 \text{ GBq}/\mu\text{mol}$ et que la masse molaire de la testostérone tritiée est $M_A = 288,5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, quelle masse (en pg) de testostérone tritiée y a-t-il dans 1 mL de solution fille ?

QUESTION N° 5 : Combien y a-t-il d'atomes de tritium par molécule de testostérone ?

QUESTION N° 6 : Le technicien qui réalise la dilution ingère accidentellement un volume $V = 5 \mu\text{L}$ de solution mère de testostérone tritiée ($A_{\text{vol}} = 10 \text{ MBq/mL}$). Calculer, en μSv , la dose efficace engagée reçue par le technicien.

On donne l'activité en tritium (dans un composé organique) ingérée conduisant à une dose efficace engagée de 20 mSv : $AI_{20} = 4,8 \cdot 10^8 \text{ Bq}$.

Par définition, la dose engagée à la suite de l'absorption unique d'un radionucléide donné est la dose totale reçue par un individu pendant toute sa vie.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 1

PROPOSITIONS DE REPONSES *

***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. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.

- 1) $VPP = VP / (VP + FP) = 1$ implique que $FP = 0$
PBH négative (S^-) = 80 donc $VN = 80$
Donc la valeur seuil à fixer est : $Ls = 246$ pour avoir 80 VN

En regardant le tableau précédent et en ayant fixé ce seuil à 246, parmi les 40 (S^+) :
on détermine 10 FN et 30 VP

En complétant le tableau, on calcule :

$$Se = VP / (VP + FN) = 30 / (30 + 10) = 0,75$$

$$VPN = VN / (VN + FN) = 80 / (80 + 10) = 0,89$$

	PBH+	PBH-	Total
TEST +	VP = 30	FP = 0	30
TEST -	FN = 10	VN = 80	90
Total	40	80	120

- 2) $VPN = VN / (VN + FN) = 1$ implique que $FN = 0$
PHH positive (S^+) = 40 donc $VP = 40$
Donc la valeur seuil à fixer est : $Li < 137$ (soit 136) pour avoir 40 VN

En regardant le tableau précédent et en ayant fixé ce seuil à 136, parmi les 80 (S^-) :
on détermine 42 VN et 38 FP

En complétant le tableau, on calcule :

$$Sp = VN / (VN + FP) = 42 / (42 + 38) = 0,53$$

$$VPP = VP / (VP + FP) = 40 / (40 + 38) = 0,51$$

	PBH+	PBH-	Total
TEST +	VP = 40	FP = 38	78
TEST -	FN = 0	VN = 42	42
Total	40	80	120

3) Le préjudice moyen subi par un sujet indemne de stéatose suivi à tort est lié au fait d'être classé comme faux positif (FP).

Le préjudice moyen subi par un sujet stéatosique non suivi est lié au fait d'être classé comme faux négatif (FN).

On veut donc FP proche de FN.

Seuil à 246 : VPP = 1 Se = 0,75 VPN = 0,879
FP = 0
FN = 10

Seuil à 136 : VPN = 1 Se = 0,525 VPP = 0,513
FP = 38
FN = 0

On choisit plutôt le seuil à 246.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 2

PROPOSITIONS DE REPONSES *

**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. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.*

1 - Les iso-enzymes sont des enzymes qui catalysent la même réaction mais diffèrent par leurs propriétés physico-chimiques (notamment constantes cinétiques, pHi...), leurs séquences primaires. Elles sont codées par des gènes présents sur des loci différents. (Les LDH 1 à 5 correspondent aux tétramères : H4 ; H3M ; H2M2 ; HM3 et M4).

2 – Le principe est de déterminer pour les 2 iso-enzymes, le K_m pour le lactate et la V_{max} . Pour ce faire v_o doit être mesurée en fonction de concentrations croissantes de lactate et d'une seule concentration en NAD^+ (en pratique saturante, pour que la réaction soit d'ordre 0 par rapport au NAD^+). v_o est mesurée par la vitesse de production du NADH qui absorbe spécifiquement à 340 nm.

v_o en $mM.min^{-1} = \Delta(NADH).min^{-1} = (\Delta A.min^{-1}) \times 10^{+3}/\epsilon.l = K.\Delta A.min^{-1}$; $K = 1000/\epsilon.l = 0,159 \text{ mM}$

3 – LDH 1 : $-1/K_{M1} = -10,158$ et $K_{M1} = 0,098 \text{ mM}$. $V_{max1} = (1/0,449) \times 0,159 = 0,354 \text{ mM.min}^{-1}$

LDH 2 : $K_{M2} = 0,653 \text{ mM}$ et $V_{max2} = 0,305 \text{ mM.min}^{-1}$.

L'iso-enzyme 1 possède la plus forte affinité.

Les concentrations catalytiques dans la cuve réactionnelle correspondent à 10/11^{ème} de V_{max} , soit 322 U/L pour la LDH 1 et 277 U/L pour la LDH 2.

4 – Dilution au 31^{ème} de l'éluat, 300 μL d'éluat correspondant à 10 μL de sérum: les concentrations catalytiques dans le sérum correspondent à celles de la cuve multipliées par $(31 \times 30) = 930$ soit 299460 U/L pour la LDH 1 et 257610 U/L pour la LDH 2.

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 3

PROPOSITIONS DE REPONSES *

**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. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.*

1) eau (250 nm) $\varepsilon = 760$
 $A = 0,278$ $C_e = 0,278 / 760 = 3,658 \cdot 10^{-4} M$

Heptane (245 nm) $\varepsilon = 940$
 $A = 0,386$ $C_e = 0,386 / 940 = 4,106 \cdot 10^{-4} M$

$$P = \frac{C_{\text{heptane}}}{C_{\text{eau}}} = \frac{4,106 \cdot 10^{-4} M}{3,658 \cdot 10^{-4} M} = 1,12$$

2) masse = 7,5 mg
Quantité totale :
 $50 \times 3,658 \cdot 10^{-4} M + 20 \times 4,106 \cdot 10^{-4} M = 265,02 \cdot 10^{-4} \text{ mmol}$ qui correspondent à 7,5 mg.

$$\text{masse molaire} = \frac{7,5 \cdot 10^4}{265,02} = 283 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

3) A la fin de la première extraction quantité restant dans l'eau :

$$P = 1,12 \quad V_{\text{eau}} = 50 \text{ mL} \quad V_{\text{heptane}} = 10 \text{ mL}$$

$$\frac{\text{qté heptane}}{\text{qté eau}} = 1,12 \times \frac{10}{50} = 0,224$$

$$\text{quantité totale} = 7,5 \text{ mg}$$

$$7,5 \text{ mg} = \text{qté hept.} + \text{qté eau} = \text{qté eau} (1,224)$$

$$\text{qté eau 1} = 6,127 \text{ mg}$$

Lors de la 2^{ème} extraction :
Les volumes mis en jeu sont les mêmes.

$$6,127 \text{ mg} = \text{qté eau 2} (1,224)$$

$$\text{Quantité restant dans l'eau à la fin de la deuxième extraction} = 5,006 \text{ mg.}$$

EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 4

PROPOSITIONS DE REPONSES *

**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. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.*

$$1 - AUC_{iv} = C_{initiale}/k = 2,4/0,032 = 75 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}$$

$$CL = \text{Dose}_{iv}/AUC_{iv} = 300/75 = 4,0 \text{ L.h}^{-1}$$

$$\text{NB : } C = C_{initiale} . e^{-k.t}$$

$$2 - V_d = \text{Dose}/C_{initiale} = 300/2,4 = 125 \text{ L}$$

On peut aussi calculer : $V_d = CL/k$

$$3 - AUC_{im} = B/\beta - A/\alpha = 3,9/0,028 - 3,9/0,89 = 135 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}$$

$$\text{NB : } C = B.e^{-\beta.t} - A.e^{-\alpha.t}$$

$$4 - \text{Après injection im : } T_{1/2 \text{ absorption}} = \ln 2/\alpha = 0,7/0,89 = 0,78 \text{ h}$$

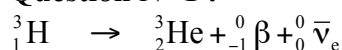
EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

EXERCICE N° 5

PROPOSITIONS DE REPONSES *

**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. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.*

Question N° 1 :



Question N° 2 :

$$E_{\beta_{\max}} = [\mathcal{M}({}^3_1\text{H}) - \mathcal{M}({}^3_2\text{He})] \cdot c^2$$

$$E_{\beta_{\max}} = [3,01605 - 3,01603] \cdot 931,5 = 0,0186 \text{ MeV} = 18,6 \text{ keV}$$

Question N° 3 :

Facteur de dilution $D = \frac{A_{\text{vol}}}{A_f}$ avec A_f = activité volumique en Bq/mL de la solution fille

$$D = \frac{10^7}{1,2 \cdot 10^5 / (60 \times 0,6)} = 3000$$

Question N° 4 :

Masse de testostérone tritiée dans 1 mL de solution fille :

$$m = \frac{A_f}{A_{\text{mol}}} \cdot M_A$$

$$m = \frac{1,2 \cdot 10^5 / (60 \times 0,6)}{4,3 \cdot 10^{15}} \times 288,5 \times 10^{12} = 224 \text{ pg}$$

Question N° 5 :

Activité molaire de la testostérone tritiée pour un atome ${}^3\text{H}$:

$$A_H = \lambda N_A = \frac{\ell n 2}{T} \cdot N_A = \frac{\ell n 2}{12,3 \times 365,25 \times 24 \times 3600} \cdot 6,02 \cdot 10^{23} = 1,075 \cdot 10^{15} \text{ Bq.mol}^{-1}$$

Nombre d'atomes ${}^3\text{H}$ par molécule de testostérone :

$$n = \frac{A_{\text{mol}}}{A_H} = \frac{4,3 \cdot 10^{15}}{1,075 \cdot 10^{15}} = 4$$

Question N° 6 :

Activité ingérée par le technicien :

$$AI = A_{\text{vol}} \cdot V = 10^7 \times 5 \cdot 10^{-3} = 5 \cdot 10^4 \text{ Bq}$$

Dose efficace engagée reçue par le technicien :

$$E = \frac{AI}{AI_{20}} \times 20 \cdot 10^3 = \frac{5 \cdot 10^4}{4,8 \cdot 10^8} \times 20 \cdot 10^3 = 2,1 \text{ } \mu\text{Sv}$$