

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 1 (40 points)

Enoncé

Lorsque le risque n'est pas précisé, vous prendrez un risque α de 5 %.

On effectue le dosage du principe actif dans la solution mère.

On réalise 10 mesures et on obtient les résultats suivants (en g/L) :

104 98 102 102 100 100 96 98 100 100

N.B. : toutes les questions sont indépendantes.

Questions**QUESTION N° 1 :**

Calculer dans cette série, la teneur moyenne en principe actif et son intervalle de confiance à 95 %.

A quelle(s) condition(s) la formule appliquée est-elle valide ?

QUESTION N° 2 :

La solution de référence a une teneur en principe actif de 101 g/L.

Comparer la teneur moyenne observée dans cet échantillon à cette valeur de référence.

QUESTION N° 3 :

A partir de la solution mère précédente, on prépare deux solutions filles par dilution au dixième.

On réalise 10 mesures de chaque solution fille et on obtient les résultats suivants (en g/L) :

Solution 1	10,5	10,1	9,8	9,9	10,2	10,7	9,9	9,9	9,9	10,0
Solution 2	9,8	9,9	9,8	9,7	9,9	10,0	10,4	9,9	9,9	10,0

Comparer les variances et les concentrations moyennes de ces 2 séries de mesures.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 1 (40 points)

QUESTION N° 4 :

Afin de faire une gamme d'étalonnage, la deuxième solution fille est diluée pour obtenir les concentrations théoriques rapportées dans le tableau ci-dessous.

La deuxième ligne de ce tableau contient les concentrations mesurées.

Concentration théorique (g/L)	5,0	2,0	1,0	0,5	0,2	0,1
Concentration mesurée (g/L)	4,8	2,1	0,8	0,4	0,2	0,1

- Etablir l'équation de la droite de régression représentant la concentration mesurée en fonction de la concentration théorique.
- Déterminer une estimation ponctuelle de la concentration théorique correspondant à la concentration mesurée de 1 g/L et à celle de 100 g/L. Commenter.
- Comparer l'ordonnée à l'origine à zéro. On donne l'écart-type de l'ordonnée à l'origine $s_{\beta 0} = 0,07$ g/L.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

Enoncé

Les questions 1, 2 et 3 sont indépendantes

Les solutions de pertechnétate de sodium ($^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$) injectables sont obtenues par élution d'un générateur $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$.

Afin d'analyser la pureté radionucléidique (PRN) de ces solutions, la pharmacopée européenne impose de déterminer le pourcentage de ^{99}Mo contenu dans l'éluat de ^{99m}Tc .

Pour effectuer cette analyse, trois techniques sont préconisées et l'activité maximale admise de ^{99}Mo ne doit pas dépasser 0,1 % de l'activité totale de l'élution.

Questions**QUESTION N° 1 :**

Technique n°1 - Essai préliminaire par atténuation

La couche de demi-atténuation (CDA) des rayonnements gamma du ^{99m}Tc dans le plomb est de 0,35 mm. Celle des rayonnements gamma du ^{99}Mo est de 6,93 mm. On place une source de ^{99m}Tc dans une chambre d'ionisation et on mesure une activité de 37 MBq. La source est alors placée dans un pot plombé de 6 mm d'épaisseur (tous cotés) et est mesurée dans le même appareil. La valeur mesurée est alors de 18 kBq (on néglige la décroissance entre ces 2 mesures).

On considère dans cet exercice que l'activité mesurée est directement proportionnelle au flux de rayonnement émis par la source.

- Quelle est la relation liant le flux de rayonnement, la CDA et l'épaisseur de plomb traversée ?
- Dans l'hypothèse où la pureté radionucléidique serait de 100 %, quelle serait l'activité totale mesurée avec la protection de plomb ?
- En négligeant la mesure de l'activité résiduelle due au rayonnement du ^{99m}Tc , quelle est l'activité en MBq de ^{99}Mo présente dans l'éluat ?
- Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat, mesurée par cette technique ?

QUESTION N° 2 :

Technique n°2 - Essai définitif par décroissance

Un aliquot de 258 MBq de ^{99m}Tc le 04/07/2019 à 10 h 00 est mis en décroissance et remesuré le 11/07/2019 à 10 h 00. L'activité mesurée en ^{99m}Tc est alors de 42 kBq.

Données : Pour le ^{99m}Tc , $T_{1/2} = 6$ heures ; Pour le ^{99}Mo , $T_{1/2} = 2,75$ jours.

$$A_{^{99m}\text{Tc}(t)} = \frac{\lambda_{^{99m}\text{Tc}}}{\lambda_{^{99m}\text{Tc}} - \lambda_{^{99}\text{Mo}}} \cdot A_{^{99}\text{Mo}(0)} \cdot \left(e^{-\lambda_{^{99}\text{Mo}} \cdot t} - e^{-\lambda_{^{99m}\text{Tc}} \cdot t} \right)$$

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

a) Calculer les constantes radioactives des radionucléides ^{99m}Tc et ^{99}Mo .

En négligeant la mesure de l'activité résiduelle due à la décroissance du ^{99m}Tc , quelle est l'activité en MBq de ^{99}Mo présente dans l'éluat le 04/07/2019 à 10 h 00 ?

b) Dans l'hypothèse où la pureté radionucléidique de l'éluat serait de 100 %, quelle serait l'activité totale mesurée le 11/07/2019 à 10 h 00 ?

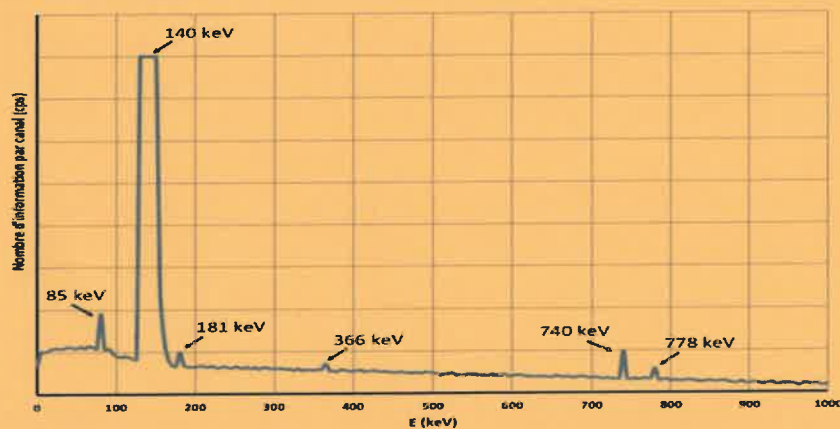
c) Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat mesurée par cette technique ?

QUESTION N° 3 :

Technique n°3 - Essai définitif par spectrométrie gamma

Un échantillon de 37 MBq d'éluat est analysé à l'aide d'un spectromètre à scintillation blindé avec du plomb.

Le spectre obtenu est le suivant :



Les aires sous courbe ont donné les valeurs suivantes (1 cps = 1,25 Bq) :

85 keV : 7300 cps ; 140 keV : 200000 cps (signal saturé) ; 181 keV : 1500 cps ; 366 keV : 250 cps ;

740 keV : 3000 cps ; 778 keV : 1075 cps.

Sachant que les propriétés d'émission du ^{99}Mo et du ^{99m}Tc sont les suivantes :

Isotope	Energie (keV)	Intensité d'émission (%)
^{99m}Tc	140	100
^{99}Mo	181	6
	366	1
	740	12
	778	4,3

a) Quelle est l'origine des photons de 85 keV détectés par le scintillateur ?

b) Quelle est l'activité de ^{99}Mo présente dans l'éluat ?

c) Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat mesuré par cette technique ?

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 3 (40 points)****Enoncé**

La glutamate déshydrogénase (GLDH, EC 1.4.1.3) catalyse la réaction suivante :



On utilise la GLDH pour doser la concentration en ion ammonium dans le plasma.

On se place dans des conditions de vitesse initiale (v_0) telles que la réaction soit d'ordre 1 par rapport au substrat S à doser (ici l'ion ammonium) : $v_0 = k \times [\text{S}]$.

Donnée : K_m de l'ion ammonium pour la GLDH = 6,5 mM.

Le protocole du dosage est le suivant :

20 μL de plasma sont ajoutés à 180 μL de diluant contenant de l' α -cétoglutarate et du NADPH,H^+ .

La réaction est initialisée ($t = 0$) par l'addition de GLDH lyophilisée.

La consommation en substrat est suivie par la mesure dans la cuve réactionnelle (trajet optique = 1 cm) de l'absorbance à 340 nm, aux temps 30 secondes (t_1) et 60 secondes (t_2) après addition de la GLDH.

Les concentrations au temps $t = 0$ dans la cuve réactionnelle sont les suivantes :

$[\alpha\text{-cétoglutarate}] = 9,2 \text{ mM}$; $[\text{NADPH},\text{H}^+] = 240 \mu\text{M}$; $[\text{GLDH}] = 4000 \text{ U.L}^{-1}$.

N.B. : toutes les questions sont indépendantes.

Questions**QUESTION N° 1 :**

En considérant l'équation de Michaelis-Menten, préciser les conditions (théorique et pratique) à respecter pour que la vitesse soit d'ordre 1 par rapport à la concentration en substrat S.

QUESTION N° 2 :

Quelle est l'absorbance théorique au temps $t = 0$ (après addition de la GLDH), sachant que le coefficient d'extinction molaire (coefficient d'absorbance linéique molaire) du NADPH,H^+ à 340 nm est de $6300 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et qu'aucun autre composant du milieu réactionnel n'absorbe à cette longueur d'onde ?

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 3 (40 points)****QUESTION N° 3 :**

Sachant que dans les conditions du dosage, les K_m de la GLDH pour l' α -cétoglutarate et le NADPH, H^+ sont respectivement de 0,5 mM et 0,012 mM, exprimer les concentrations de ces réactifs (en unités K_m) dans la cuve réactionnelle. Commenter les résultats.

QUESTION N° 4 :

En prenant comme limite supérieure de validité du dosage une concentration en ion ammonium dans la cuve réactionnelle inférieure à 0,1 K_m , quelle serait la valeur maximale de la concentration en ammonium plasmatique que l'on pourrait doser selon le protocole ci-dessus ?

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 4 (40 points)****Enoncé**

Un médicament est administré à un patient par perfusion intraveineuse continue (5 g perfusés sur 96 heures).

Les concentrations plasmatiques obtenues en fonction du temps sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Temps (h)	Concentration plasmatique (mg.L ⁻¹)
0	0,0
2	0,6
4	1,2
8	2,0
12	2,6
24	3,6
48	4,1
72	4,3
96	4,2

Questions**QUESTION N° 1 :**

Calculer la clairance d'élimination du médicament. Préciser la formule utilisée.

QUESTION N° 2 :

Quelle est l'équation qui décrit l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps pour ce mode d'administration ?

En déduire l'expression de $\ln [(C_{ss} - C) / C_{ss}]$ en fonction du temps, où C_{ss} correspond à la concentration plasmatique à l'état d'équilibre.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 4 (40 points)

QUESTION N° 3 :

Calculer puis reporter sur un graphe les valeurs de $\ln[(C_{ss} - C) / C_{ss}]$ en fonction du temps de 0 à 24 heures. A partir de ce graphe, calculer le temps de demi-vie plasmatique et le volume de distribution plasmatique du médicament.

QUESTION N° 4 :

N.B. : la question 4 peut être traitée indépendamment des questions 2 et 3.

Durant le dernier jour de traitement (temps 72 à 96 h), les urines ont été recueillies (850 mL). Leur concentration en médicament est de 253 mg.L^{-1} . Calculer la clairance rénale du médicament.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 5 (40 points)

Enoncé

On extrait un soluté Z à partir de 5 mL d'une solution aqueuse à 10 mg.L^{-1} par 2 fois 2,5 mL d'heptane. Les phases heptaniques sont réunies. Le coefficient de partage (λ) heptane / eau de Z est égal à 4,2.

Questions

QUESTION N° 1 :

Quel est le rendement de cette double extraction ?

QUESTION N° 2 :

Quelle est la quantité (en μg) de Z extraite ?

QUESTION N° 3 :

Cette extraction est suivie d'une analyse en chromatographie liquide. L'heptane est évaporé à sec et le résidu est repris par 500 μL d'acétonitrile (sans aucune perte de produit). Le chromatogramme obtenu montre la présence d'un seul pic.

a) La présence d'un seul pic chromatographique garantit-elle la pureté de l'extrait ? Expliquer.

b) 20 μL de 3 solutions témoins de Z dans l'acétonitrile respectivement à 50, 100 et 150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ sont injectés.

Les surfaces des pics sont respectivement de 125 UA, 250 UA et 360 UA.

On injecte le même volume de l'*extractum* redissout dans les 500 μL d'acétonitrile.

La surface du pic obtenu est de 223 UA.

Calculer la quantité extraite de Z (en μg) présente dans les 500 μL d'acétonitrile.

c) En comparant ce dernier résultat avec votre réponse à la question n°2, l'hypothèse de l'absence de perte de Z lors de l'évaporation est-elle vérifiée ?

Pour cela, on admet qu'une variation inférieure à 2 % est considérée comme non significative.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 1 (40 points)****Enoncé**

Lorsque le risque n'est pas précisé, vous prendrez un risque α de 5 %.

On effectue le dosage du principe actif dans la solution mère.

On réalise 10 mesures et on obtient les résultats suivants (en g/L) :

104 98 102 102 100 100 96 98 100 100

N.B. : toutes les questions sont indépendantes.

Questions**QUESTION N° 1 :**

Calculer dans cette série, la teneur moyenne en principe actif et son intervalle de confiance à 95 %.

A quelle(s) condition(s) la formule appliquée est-elle valide ?

Proposition de réponse

Les résultats sont exprimés en g/L :

Médiane = 100

$$\bar{x} = 100 \quad s = 2,309$$

$$ddl = 9 \quad t_{\alpha} = 2,262$$

$$IC =]98,3 ; 101,7[\approx]98 ; 102[$$

La formule appliquée est utilisable si les résultats de mesure sont distribués normalement.

QUESTION N° 2 :

La solution de référence a une teneur en principe actif de 101 g/L.

Comparer la teneur moyenne observée dans cet échantillon à cette valeur de référence.

Proposition de réponse

$$H_0 : \mu = \mu_0 / H_1 : \mu \neq \mu_0$$

$$ddl = 9 \quad t_{\alpha} = 2,262$$

$$t = \frac{|100 - 101|}{\left(\frac{2,309}{\sqrt{10}} \right)} = 1,369 < 2,262 \quad \text{différence non significative}$$

NB : cela est en accord avec l'IC calculé à la question 1.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 1 (40 points)****QUESTION N° 3 :**

A partir de la solution mère précédente, on prépare deux solutions filles par dilution au dixième.

On réalise 10 mesures de chaque solution fille et on obtient les résultats suivants (en g/L) :

Solution 1	10,5	10,1	9,8	9,9	10,2	10,7	9,9	9,9	9,9	10,0
Solution 2	9,8	9,9	9,8	9,7	9,9	10,0	10,4	9,9	9,9	10,0

Comparer les variances et les concentrations moyennes de ces 2 séries de mesures.

Proposition de réponse

$$H_0 : \sigma_1^2 = \sigma_2^2 / H_1 : \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

$$F_{\alpha} \left(\begin{matrix} 9 \\ 9 \end{matrix} \right) = 4,03$$

$$\overline{x}_1 = 10,09 \quad \overline{x}_2 = 9,93$$

$$s_1 = 0,296 \quad s_2 = 0,189$$

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = 2,46 < 4,03 \quad \text{l'égalité de ces 2 variances est admissible.}$$

$$- H_0 : \mu_1 = \mu_2 / H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

$$s^2 = \frac{0,189^2 + 0,296^2}{2} = 6,17 \cdot 10^{-2}$$

$$t = \frac{10,09 - 9,93}{\sqrt{6,17 \cdot 10^{-2} \times \frac{2}{10}}} = 1,44$$

$$ddl = 18 \quad t_{\alpha} = 2,101$$

$t < t_{\alpha}$ donc les concentrations moyennes de ces 2 séries de mesures ne diffèrent pas significativement.

QUESTION N° 4 :

Afin de faire une gamme d'étalonnage, la deuxième solution fille est diluée pour obtenir les concentrations théoriques rapportées dans le tableau ci-dessous.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 1 (40 points)

La deuxième ligne de ce tableau contient les concentrations mesurées.

Concentration théorique (g/L)	5,0	2,0	1,0	0,5	0,2	0,1
Concentration mesurée (g/L)	4,8	2,1	0,8	0,4	0,2	0,1

- a) Etablir l'équation de la droite de régression représentant la concentration mesurée en fonction de la concentration théorique.
- b) Déterminer une estimation ponctuelle de la concentration théorique correspondant à la concentration mesurée de 1 g/L et à celle de 100 g/L. Commenter.
- c) Comparer l'ordonnée à l'origine à zéro. On donne l'écart-type de l'ordonnée à l'origine $s_{\beta_0} = 0,07$ g/L.

Proposition de réponse

a)

y conc. mesurée et x = conc. théorique

$$y = -0,028 + 0,973x$$

b)

pour 1 g/L, avec l'équation précédente,

$$1 = -0,028 + 0,973x \rightarrow x = 1,056$$

soit 1,1 g/L

L'équation de la droite établie à la question a) ne peut pas être utilisée pour une concentration mesurée de 100 g/L car cette concentration est en dehors du domaine de concentration de la gamme d'étalonnage.

c)

$$H_0 : \beta_0 = 0 / H_1 : \beta_0 \neq 0$$

$$t = \frac{|-0,028 - 0|}{0,07} = 0,4$$

$$\text{ddl} = 4 \quad t_{\alpha} = 2,776$$

$t < t_{\alpha}$: l'ordonnée à l'origine ne diffère pas significativement de 0.

Enoncé

Les questions 1, 2 et 3 sont indépendantes

Les solutions de pertechnétate de sodium ($^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$) injectables sont obtenues par élution d'un générateur $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$.

Afin d'analyser la pureté radionucléidique (PRN) de ces solutions, la pharmacopée européenne impose de déterminer le pourcentage de ^{99}Mo contenu dans l'éluat de ^{99m}Tc .

Pour effectuer cette analyse, trois techniques sont préconisées et l'activité maximale admise de ^{99}Mo ne doit pas dépasser 0,1 % de l'activité totale de l'élution.

Questions

QUESTION N° 1 :

Technique n°1 - Essai préliminaire par atténuation

La couche de demi-atténuation (CDA) des rayonnements gamma du ^{99m}Tc dans le plomb est de 0,35 mm. Celle des rayonnements gamma du ^{99}Mo est de 6,93 mm. On place une source de ^{99m}Tc dans une chambre d'ionisation et on mesure une activité de 37 MBq. La source est alors placée dans un pot plombé de 6 mm d'épaisseur (tous cotés) et est mesurée dans le même appareil. La valeur mesurée est alors de 18 kBq (on néglige la décroissance entre ces 2 mesures).

On considère dans cet exercice que l'activité mesurée est directement proportionnelle au flux de rayonnement émis par la source.

- a) Quelle est la relation liant le flux de rayonnement, la CDA et l'épaisseur de plomb traversée ?
- b) Dans l'hypothèse où la pureté radionucléidique serait de 100 %, quelle serait l'activité totale mesurée avec la protection de plomb ?
- c) En négligeant la mesure de l'activité résiduelle due au rayonnement du ^{99m}Tc , quelle est l'activité en MBq de ^{99}Mo présente dans l'éluat ?
- d) Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat, mesurée par cette technique ?

Proposition de réponse

a)

$$I = I_0 e^{(-\mu x)} \text{ ou } I = I_0 e^{(-\ln 2 \cdot x / \text{CDA})}$$

b)

$$I = I_0 e^{(-\ln 2 \cdot x / \text{CDA})} \text{ avec } I_0 = 37 \text{ MBq, } x = 6 \text{ mm et } \text{CDA} = 0,35 \text{ mm}$$

$$I = 255,7 \text{ Bq}$$

c)

$$I = I_0 e^{(-\ln 2 \cdot x / \text{CDA})} \text{ avec } I = 18 \text{ kBq, } x = 6 \text{ mm et } \text{CDA} = 6,93 \text{ mm}$$

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 2 (40 points)

$$I_0 = 32,8 \text{ kBq}$$

d)

$$\% \text{ d'impuretés: } A(\text{Mo})/A_{\text{totale}} = 32,8 \cdot 10^3 / 37 \cdot 10^6 = 0,09 \%$$

$$\text{PRN} = 99,91 \%$$

QUESTION N° 2 :

Technique n°2 - Essai définitif par décroissance

Un aliquot de 258 MBq de ^{99m}Tc le 04/07/2019 à 10 h 00 est mis en décroissance et remesuré le 11/07/2019 à 10 h 00. L'activité mesurée en ^{99m}Tc est alors de 42 kBq.

Données : Pour le ^{99m}Tc , $T_{1/2} = 6 \text{ heures}$; Pour le ^{99}Mo , $T_{1/2} = 2,75 \text{ jours}$.

$$A_{^{99m}\text{Tc}(t)} = \frac{\lambda_{^{99m}\text{Tc}}}{\lambda_{^{99m}\text{Tc}} - \lambda_{^{99}\text{Mo}}} \cdot A_{^{99}\text{Mo}(0)} \cdot \left(e^{-\lambda_{^{99}\text{Mo}} \cdot t} - e^{-\lambda_{^{99m}\text{Tc}} \cdot t} \right)$$

a) Calculer les constantes radioactives des radionucléides ^{99m}Tc et ^{99}Mo .

En négligeant la mesure de l'activité résiduelle due à la décroissance du ^{99m}Tc , quelle est l'activité en MBq de ^{99}Mo présente dans l'éluat le 04/07/2019 à 10 h 00 ?

b) Dans l'hypothèse où la pureté radionucléidique de l'éluat serait de 100 %, quelle serait l'activité totale mesurée le 11/07/2019 à 10 h 00 ?

c) Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat mesurée par cette technique ?

Proposition de réponse

a)

$$A_{^{99m}\text{Tc}(t)} = \frac{\lambda_{^{99m}\text{Tc}}}{\lambda_{^{99m}\text{Tc}} - \lambda_{^{99}\text{Mo}}} \cdot A_{^{99}\text{Mo}(0)} \cdot \left(e^{-\lambda_{^{99}\text{Mo}} \cdot t} - e^{-\lambda_{^{99m}\text{Tc}} \cdot t} \right)$$

$$\lambda_{^{99m}\text{Tc}} = \ln 2 / 6 = 0,1155 \text{ h}^{-1}; \lambda_{^{99}\text{Mo}} = \ln 2 / (2,75 \times 24) = 0,0105 \text{ h}^{-1}$$

$$A_{11/07/19} = 42 \text{ kBq (en } ^{99m}\text{Tc)}$$

$$A_{04/07/19} = 222,9 \text{ kBq (en } ^{99}\text{Mo)}$$

b)

$$A = A_0 e^{(-\ln 2 \cdot t / T)} \text{ avec } A_0 = 258 \text{ MBq, } T = 6 \text{ h et } t = 7 \times 24 = 168 \text{ h}$$

$$A = 0,96 \text{ Bq}$$

c)

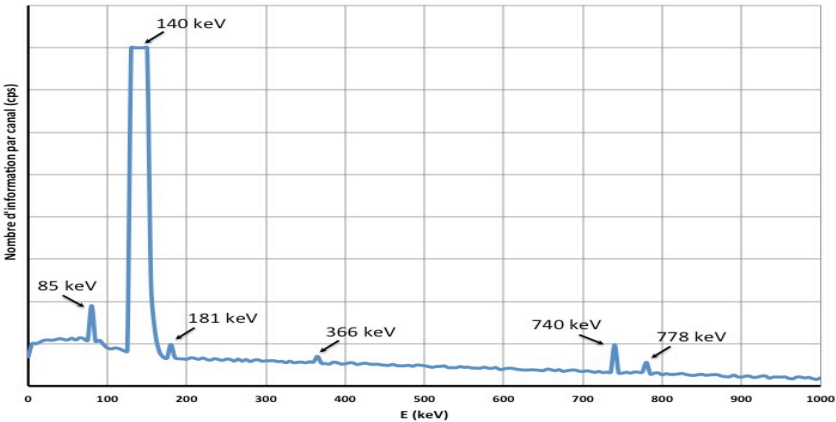
% d'impuretés : $A_{Mo}/A_{Totale} = 222,9.10^3 / 258.10^6 = 0,086 \%$

PRN = 99,91 %

QUESTION N° 3 :

Technique n°3 - Essai définitif par spectrométrie gamma

Un échantillon de 37 MBq d'éluat est analysé à l'aide d'un spectromètre à scintillation blindé avec du plomb. Le spectre obtenu est le suivant :



Les aires sous courbe ont donné les valeurs suivantes (1 cps = 1,25 Bq) :

85 keV : 7300 cps ; 140 keV : 200000 cps (signal saturé) ; 181 keV : 1500 cps ; 366 keV : 250 cps ; 740 keV : 3000 cps ; 778 keV : 1075 cps.

Sachant que les propriétés d'émission du ⁹⁹Mo et du ^{99m}Tc sont les suivantes :

Isotope	Energie (keV)	Intensité d'émission (%)
^{99m} Tc	140	100
⁹⁹ Mo	181	6
	366	1
	740	12
	778	4,3

- a) Quelle est l'origine des photons de 85 keV détectés par le scintillateur ?
- b) Quelle est l'activité de ⁹⁹Mo présente dans l'éluat ?
- c) Quelle est la pureté radionucléidique de l'éluat mesuré par cette technique ?

Proposition de réponse

a)

Les photons de 85 keV détectés correspondent à des rayons X de fluorescence issus de la raie K_α du plomb (composant du spectromètre)

b)

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N°2 (40 points)**

181 keV : 1500 cps = 1875 Bq (6%) = 31250 Bq

ou 366 keV : 250 cps = 312,5 Bq (1%) = 31250 Bq

ou 740 keV : 3000 cps = 3750 Bq (12%) = 31250 Bq

ou 778 keV : 1075 cps = 1343,75 Bq (4,3%) = 31250 Bq

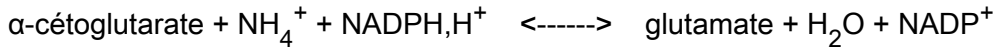
c)

% impuretés = $A_{\text{Mo}} / A_{\text{Totale}} = 31,25 \cdot 10^3 / 37 \cdot 10^6 = 0,084 \%$

PRN = 99,91 %

Enoncé

La glutamate déshydrogénase (GLDH, EC 1.4.1.3) catalyse la réaction suivante :



On utilise la GLDH pour doser la concentration en ion ammonium dans le plasma.

On se place dans des conditions de vitesse initiale (v_0) telles que la réaction soit d'ordre 1 par rapport au substrat S à doser (ici l'ion ammonium) : $v_0 = k \times [S]$.

Donnée : K_m de l'ion ammonium pour la GLDH = 6,5 mM.

Le protocole du dosage est le suivant :

20 μL de plasma sont ajoutés à 180 μL de diluant contenant de l' α -cétoglutarate et du NADPH, H^+ .

La réaction est initialisée ($t = 0$) par l'addition de GLDH lyophilisée.

La consommation en substrat est suivie par la mesure dans la cuve réactionnelle (trajet optique = 1 cm) de l'absorbance à 340 nm, aux temps 30 secondes (t_1) et 60 secondes (t_2) après addition de la GLDH.

Les concentrations au temps $t = 0$ dans la cuve réactionnelle sont les suivantes :

$[\alpha\text{-cétoglutarate}] = 9,2 \text{ mM}$; $[\text{NADPH}, \text{H}^+] = 240 \text{ } \mu\text{M}$; $[\text{GLDH}] = 4000 \text{ U.L}^{-1}$.

N.B. : toutes les questions sont indépendantes.

Questions**QUESTION N° 1 :**

En considérant l'équation de Michaelis-Menten, préciser les conditions (théorique et pratique) à respecter pour que la vitesse soit d'ordre 1 par rapport à la concentration en substrat S.

Proposition de réponse

Condition théorique : $[S] \ll K_m$.

Condition pratique : $[S] < 0,1 K_m$.

QUESTION N° 2 :

Quelle est l'absorbance théorique au temps $t = 0$ (après addition de la GLDH), sachant que le coefficient d'extinction molaire (coefficient d'absorbance linéique molaire) du NADPH, H^+ à 340 nm est de $6300 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et qu'aucun autre composant du milieu réactionnel n'absorbe à cette longueur d'onde ?

Proposition de réponse

Loi de Beer-Lambert

Absorbance $A = \epsilon \cdot l \cdot c$

ϵ = coefficient d'extinction molaire

l = largeur de la cuve en cm

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 3 (40 points)**

c = concentration

$$A = 6300 \times l \times 240 \cdot 10^{-6} = 1,512$$

QUESTION N° 3 :

Sachant que dans les conditions du dosage, les K_m de la GLDH pour l' α -cétoglutarate et le NADPH, H^+ sont respectivement de 0,5 mM et 0,012 mM, exprimer les concentrations de ces réactifs (en unités K_m) dans la cuve réactionnelle. Commenter les résultats.

Proposition de réponse

Concentration en α -cétoglutarate = $9,2 / 0,5 = 18,4 K_m$

Concentration en NADPH, H^+ = $240 / 12 = 20 K_m$

On admet en pratique que l'enzyme est saturée lorsque la concentration en substrat est supérieure à 10 K_m .

Dans ces conditions, la GLDH est saturée par ces deux substrats.

L'ordre de la réaction tend vers 0 pour ces deux réactifs.

v_0 ne dépend en pratique que de la concentration en ion ammonium.

QUESTION N° 4 :

En prenant comme limite supérieure de validité du dosage une concentration en ion ammonium dans la cuve réactionnelle inférieure à 0,1 K_m , quelle serait la valeur maximale de la concentration en ammonium plasmatique que l'on pourrait doser selon le protocole ci-dessus ?

Proposition de réponse

K_m de l'ammonium pour la GLDH = 6,5 mM.

La concentration dans la cuve ne doit pas être supérieure à 0,1 K_m .

Elle doit donc être inférieure à 650 μM ,

soit compte tenu de la dilution au 1/10 dans le protocole : [ammoniémie] < 6500 μM .

Enoncé

Un médicament est administré à un patient par perfusion intraveineuse continue (5 g perfusés sur 96 heures).

Les concentrations plasmatiques obtenues en fonction du temps sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Temps (h)	Concentration plasmatique (mg.L ⁻¹)
0	0,0
2	0,6
4	1,2
8	2,0
12	2,6
24	3,6
48	4,1
72	4,3
96	4,2

Questions**QUESTION N° 1 :**

Calculer la clairance d'élimination du médicament. Préciser la formule utilisée.

Proposition de réponse

Cl (clairance d'élimination) = R0 (vitesse de perfusion) / C_{ss} (concentration à l'état d'équilibre) = (5 g / 96 h) / 4,2 mg = 12,4 L.h⁻¹.

avec 4,2 mg.L⁻¹ = moyenne des concentrations à l'équilibre.

QUESTION N° 2 :

Quelle est l'équation qui décrit l'évolution des concentrations plasmatiques en fonction du temps pour ce mode d'administration ?

En déduire l'expression de $\ln [(C_{ss} - C) / C_{ss}]$ en fonction du temps, où C_{ss} correspond à la concentration plasmatique à l'état d'équilibre.

Proposition de réponse

Pour une perfusion continue :

$$C = C_{ss} \times (1 - e^{-kt}) \Leftrightarrow C - C_{ss} = -C_{ss} \times e^{-kt}$$

Donc

$$\Leftrightarrow \ln[(C_{ss} - C) / C_{ss}] = -kt$$

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 4 (40 points)

QUESTION N° 3 :

Calculer puis reporter sur un graphe les valeurs de $\text{Ln}[(C_{ss}-C) / C_{ss}]$ en fonction du temps de 0 à 24 heures. A partir de ce graphe, calculer le temps de demi-vie plasmatique et le volume de distribution plasmatique du médicament.

Proposition de réponse

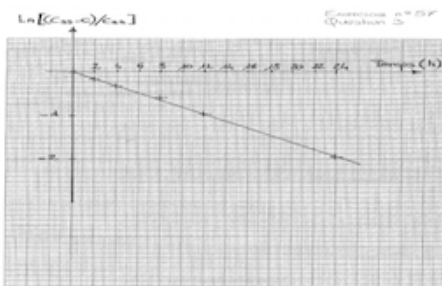
Temps (h)	$\text{Ln}[(C_{ss}-C) / C_{ss}]$
0	0,00
2	- 0,15
4	- 0,34
8	- 0,65
12	- 0,97
24	- 1,95

Selon le graphe établi à partir des calculs, les points s'alignent sur une droite de pente $-k = - 1,95 / 24 = - 0,081 \text{ h}^{-1}$

Comme $k = \text{Ln}2 / t_{1/2}$

$$t_{1/2} = 0,7 / 0,081 = 8,6 \text{ h}$$

$$V = \text{Cl} / k = 12,4 \text{ L.h}^{-1} / 0,081 \text{ h}^{-1} = 153 \text{ L}$$



EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N°4 (40 points)****Recommandation**

Cf. droite sur feuille papier millimétré en document joint

QUESTION N° 4 :

N.B. : la question 4 peut être traitée indépendamment des questions 2 et 3.

Durant le dernier jour de traitement (temps 72 à 96 h), les urines ont été recueillies (850 mL).
Leur concentration en médicament est de 253 mg.L^{-1} .

Calculer la clairance rénale du médicament.

Proposition de réponse

Quantité éliminée dans les urines durant l'intervalle (72 – 96 h) = $0,850 \text{ L} \times 253 \text{ mg.L}^{-1} = 215 \text{ mg}$

Durant cette période, l'équilibre des concentrations était atteint donc
quantité totale éliminée = quantité administrée sur la même période
soit $5 \text{ g} / 4$ (1 journée correspond à $\frac{1}{4}$ de la dose totale administrée) = $1,25 \text{ g}$

f_e (fraction éliminée sous forme inchangée dans les urines) = $0,215 / 1,25 = 0,172$

Cl_R (clairance rénale) = $f_e \times Cl = 0,172 \times 12,4 \text{ L.h}^{-1} = 2,13 \text{ L.h}^{-1}$

(autre méthode : vitesse d'élimination urinaire = $215 \text{ mg} / 24 \text{ h} = Cl_R \times C_{ss}$

où $C_{ss} = 4,2 \text{ mg.L}^{-1}$

$Cl_R = 9,0 / 4,2 = 2,13 \text{ L.h}^{-1}$

Enoncé

On extrait un soluté Z à partir de 5 mL d'une solution aqueuse à 10 mg.L^{-1} par 2 fois 2,5 mL d'heptane. Les phases heptaniques sont réunies.

Le coefficient de partage (λ) heptane / eau de Z est égal à 4,2.

Questions

QUESTION N° 1 :

Quel est le rendement de cette double extraction ?

Proposition de réponse

rendement (ρ) = quantité extraite / quantité présente dans la solution initiale

Volume de solution aqueuse $V_A = 5 \text{ mL}$

Volume d'heptane $V_B = 2,5 \text{ mL}$

Coefficient de partage $\lambda = \text{conc. de Z dans l'heptane} / \text{conc. de Z dans la solution aqueuse initiale} = 4,2$

Calcul du rendement :

$$\rho = 1 - 1 / [1 + \lambda (V_B / V_A)]^2 = 1 - 1 / [1 + 4,2 (2,5 / 5)]^2 = 89,6 \%$$

QUESTION N° 2 :

Quelle est la quantité (en μg) de Z extraite ?

Proposition de réponse

$$C_0 : 10 \text{ mg/L} = 10 \mu\text{g/mL}$$

$$V_A = 5 \text{ mL}$$

$$Q_0 = C_0 \times V_A = 10 \times 5 = 50 \mu\text{g}$$

$$\rho = \Sigma Q_B / Q_0 \text{ donc } \Sigma Q_B = \rho \times Q_0 = 0,896 \times 50 = 44,8 \mu\text{g}.$$

QUESTION N° 3 :

Cette extraction est suivie d'une analyse en chromatographie liquide.

L'heptane est évaporé à sec et le résidu est repris par 500 μL d'acétonitrile (sans aucune perte de produit).

Le chromatogramme obtenu montre la présence d'un seul pic.

a) La présence d'un seul pic chromatographique garantit-elle la pureté de l'extrait ? Expliquer.

b) 20 μL de 3 solutions témoins de Z dans l'acétonitrile respectivement à 50, 100 et 150 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ sont injectés.

Les surfaces des pics sont respectivement de 125 UA, 250 UA et 360 UA.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 5 (40 points)**

On injecte le même volume de l'*extractum* redissout dans les 500 µL d'acétonitrile.

La surface du pic obtenu est de 223 UA.

Calculer la quantité extraite de Z (en µg) présente dans les 500 µL d'acétonitrile.

c) En comparant ce dernier résultat avec votre réponse à la question n°2, l'hypothèse de l'absence de perte de Z lors de l'évaporation est-elle vérifiée ?

Pour cela, on admet qu'une variation inférieure à 2 % est considérée comme non significative.

Proposition de réponse

a) Non car un seul pic ne signifie pas l'absence de co-élution.

b) La surface d'un pic chromatographique est proportionnelle à la quantité injectée.

La relation est linéaire jusqu'à 250 UA.

En conséquence pour un signal de 223 UA, cela correspondant à une concentration de $(223/250) \times 100 \text{ µg/mL} = 89,2 \text{ µg/mL}$.

Soit 44,6 µg extraits de Z pour 500 µL.

c) Pour le calcul de la variation, on prend en compte les valeurs absolues

$(|44,6 - 44,8|) \times 100 / 44,8 = 0,45 \text{ \%}$ soit $< 2 \text{ \%}$ de variation.

On peut donc considérer que l'évaporation ne produit pas de perte de Z.