

B.T.S. ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

E4 – U43

Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale

Hématologie, anatomopathologie et immunologie

SESSION 2023

Durée : 2 heures

Coefficient : 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 11 pages, numérotées de 1/11 à 11/11.

Compétences et capacités évaluées :

C1	C2	C3	C4	C5
Analyser des ressources documentaires en s'appuyant sur savoirs scientifiques et technologiques	Exercer un regard critique sur la faisabilité d'une analyse ou fiabilité d'un résultat	Analyser un résultat, une procédure dans une situation professionnelle	Établir une synthèse à partir d'un raisonnement rigoureux	S'exprimer à l'écrit avec clarté et rigueur
6 points	4 points	5 points	4 points	1 point

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2023
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (Hématologie, anatomopathologie, immunologie)	23ABE4HA11	Page : 1/11

DIAGNOSTIC DE PATHOLOGIES HÉMATOLOGIQUE HÉRÉDITAIRES

De nombreuses pathologies génétiques peuvent être peu symptomatiques et passer inaperçues durant les premières années de vie.

Elles peuvent être révélées lors d'évènements particuliers comme une infection ou une intervention chirurgicale.

1. Étude d'une anémie hémolytique lors d'une infection à parvovirus B19

Cindy K., 15 ans, présente des céphalées, un amaigrissement, des vomissements, des douleurs musculaires et de la fièvre.

Une semaine plus tard, son état s'est aggravé : elle présente des vertiges, une asthénie, une pâleur importante et une tachycardie.

Son médecin l'adresse à l'hôpital. Un hémogramme et des tests complémentaires sont pratiqués. Les résultats sont fournis dans les **documents 1 et 2 page 5/11**.

Q1. Analyser les résultats de l'hémogramme partiel. (C3)
Proposer une orientation diagnostique. (C4)

Parmi les tests complémentaires, un test à l'éosine 5' maléimide (EMA) est réalisé en vue de diagnostiquer une sphérocytose héréditaire. Le principe du test est présenté dans le **document 3 page 6/11**.

Q2. Proposer le nom de deux gènes dont la mutation pourrait entraîner une sphérocytose héréditaire.

Expliquer pourquoi le pourcentage de fluorescence EMA est diminué dans cette pathologie. (C1)

Q3. Interpréter, en les reliant éventuellement entre eux, les résultats des tests complémentaires présentés concernant :

- l'anémie ;
- l'infection dont souffre la patiente. (C3)

Conclure en proposant une orientation diagnostique. (C4)

Le **document 4 page 7/11** présente le mécanisme de l'infection par le parvovirus B19.

Q4. Expliquer comment l'infection à parvovirus B19 provoque une anémie hémolytique arégénérative. (C4)

Le **document 5 page 8/11** présente un extrait de la fiche technique du dosage des IgM anti-parvovirus.

Q5. Proposer un logigramme des étapes du dosage des IgM anti-parvovirus du sérum de la patiente.

Établir un schéma légendé de l'édifice final pour le puits contenant le contrôle positif. (C1)

Q6. Expliquer, en quoi les conditions imposées à l'étape de préparation des échantillons sont nécessaires pour l'obtention d'un résultat fiable. (C2)

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2023
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (Hématologie, anatomopathologie, immunologie)	23ABE4HA11	Page : 2/11

Cindy K. a reçu une transfusion sanguine en urgence permettant d'améliorer son état de santé. Son groupage sanguin a été réalisé sur un automate Qwalys, les résultats sont présentés dans le **document 6 page 9/11**.

Un contrôle interne de qualité (CIQ) est réalisé avant chaque série d'échantillons.

Le CIQ ABO/RH-KELL contient un panel d'hématies dont le phénotype est connu. Le **document 6** montre les résultats obtenus pour le CIQ A1 de phénotype : A / D⁺ C⁻ c⁺ E⁺ e⁻ K⁻

- Q7.** Analyser les résultats obtenus pour le contrôle CIQ A1. (C3)
Mener la démarche de validation technique. (C3)

La gestion des stocks de l'établissement français du sang indique qu'une poche de concentré érythrocytaire AB arrive bientôt à péremption.

- Q8.** Argumenter la possibilité de transfuser ou non cette poche à la patiente. (C1)

2. Diagnostic de la maladie de Willebrand à la suite d'une intervention chirurgicale

Axel H., 4 ans, subit une amygdalectomie en hospitalisation de jour. Dans la nuit, à la maison, il vomit une quantité importante de sang frais. Ses parents le conduisent aux urgences. L'interrogatoire révèle des antécédents familiaux de maladie de Willebrand.

Le **document 7 page 9/11** présente un parallèle entre l'hémostase *in vivo* et le test PFA-100 d'occlusion plaquettaire.

- Q9.** Décrire le mécanisme de l'adhésion plaquettaire en cas de lésion vasculaire. (C1)
- Q10.** Argumenter la présence d'ADP et de collagène sur la membrane dans le test PFA. (C1)
- Q11.** Expliquer pourquoi le temps d'occlusion obtenu avec le test PFA est augmenté dans le cas d'un patient souffrant d'un déficit de facteur de Willebrand. (C3)
- Q12.** Expliquer, pour ce patient, le résultat attendu pour un test TCA mélange. (C3)

Les examens nécessaires pour confirmer qu'Axel H. est atteint de la maladie de Willebrand sont réalisés et leurs résultats sont présentés dans le **document 8 page 10/11**.

- Q13.** Analyser l'ensemble des résultats. (C3)
Conduire la démarche diagnostic proposée dans le **document 9 page 11/11**, pour conclure. (C4)

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2023
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (Hématologie, anatomopathologie, immunologie)	23ABE4HA11	Page : 3/11

LISTE DES DOCUMENTS

- Document 1 page 5/11 :** Hémogramme partiel de Cindy K.
- Document 2 page 5/11 :** Résultats des tests complémentaires de Cindy K.
- Document 3 page 6/11 :** Mise en évidence de la sphérisation des érythrocytes par le test à l'éosine 5' maleimide (EMA)
- Document 4 page 7/11:** Infection au parvovirus B19
- Document 5 page 8/11 :** Extrait fiche technique : parvovirus B19 recombinant IgM ELISA
- Document 6 page 9/11 :** Groupage sanguin de Cindy K. sur automate Qwalys
- Document 7 page 9/11 :** Mesure du temps d'occlusion plaquettaire avec le PFA-100
- Document 8 page 10/11 :** Résultats d'analyses d'Axel H.
- Document 9 page 11/11 :** Diagnostiquer la maladie de Willebrand

DOCUMENT 1 : HÉMOGRAMME PARTIEL DE CINDY K.

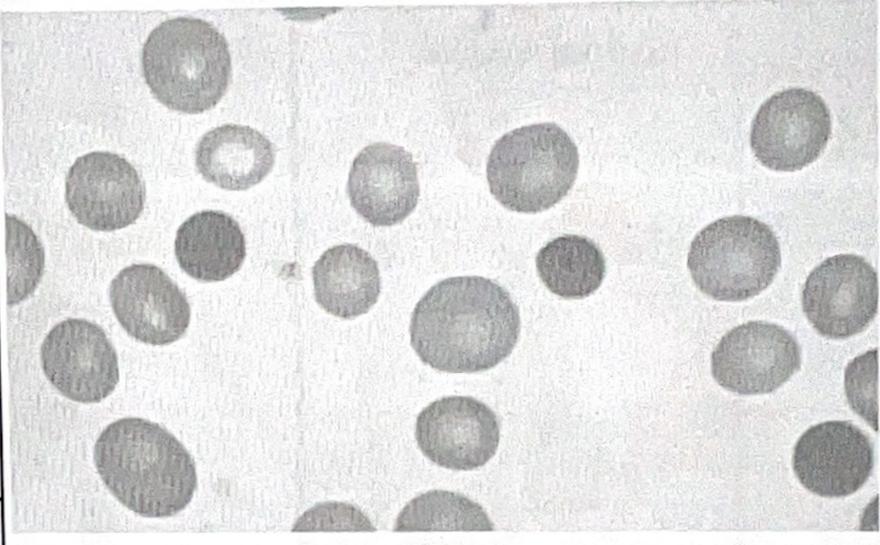
ID prélèvement : 012208241236

Date prélèvement : 07/03/2022 20:13

ID patient : 138190666

Nom : Cindy K.

Les CIQ sont validés

Paramètres	Valeurs patient	Valeurs de référence	Frottis sanguin MGG
Numération des hématies ($10^9.mL^{-1}$)	1,53	4,10 à 5,10	
Hémoglobine ($g.dL^{-1}$)	4,9	12 à 16	
Hématocrite ($L.L^{-1}$)	0,15	0,36 à 0,46	
VGM (fL)	86	80 à 100	
CCMH ($g.dL^{-1}$)	36	32 à 36	
Alarmes hématies	Anisocytose		

Source : d'après Pascal Danober. Sciences du Vivant [q-bio].2004. hal-01734212**DOCUMENT 2 : RÉSULTATS DES TESTS COMPLÉMENTAIRES DE CINDY K.**Résultats Cindy K. :

ID prélèvement : 012208241236

Date prélèvement : 07/01/2022 20:13

ID patient : 138190666

Nom : Cindy K.

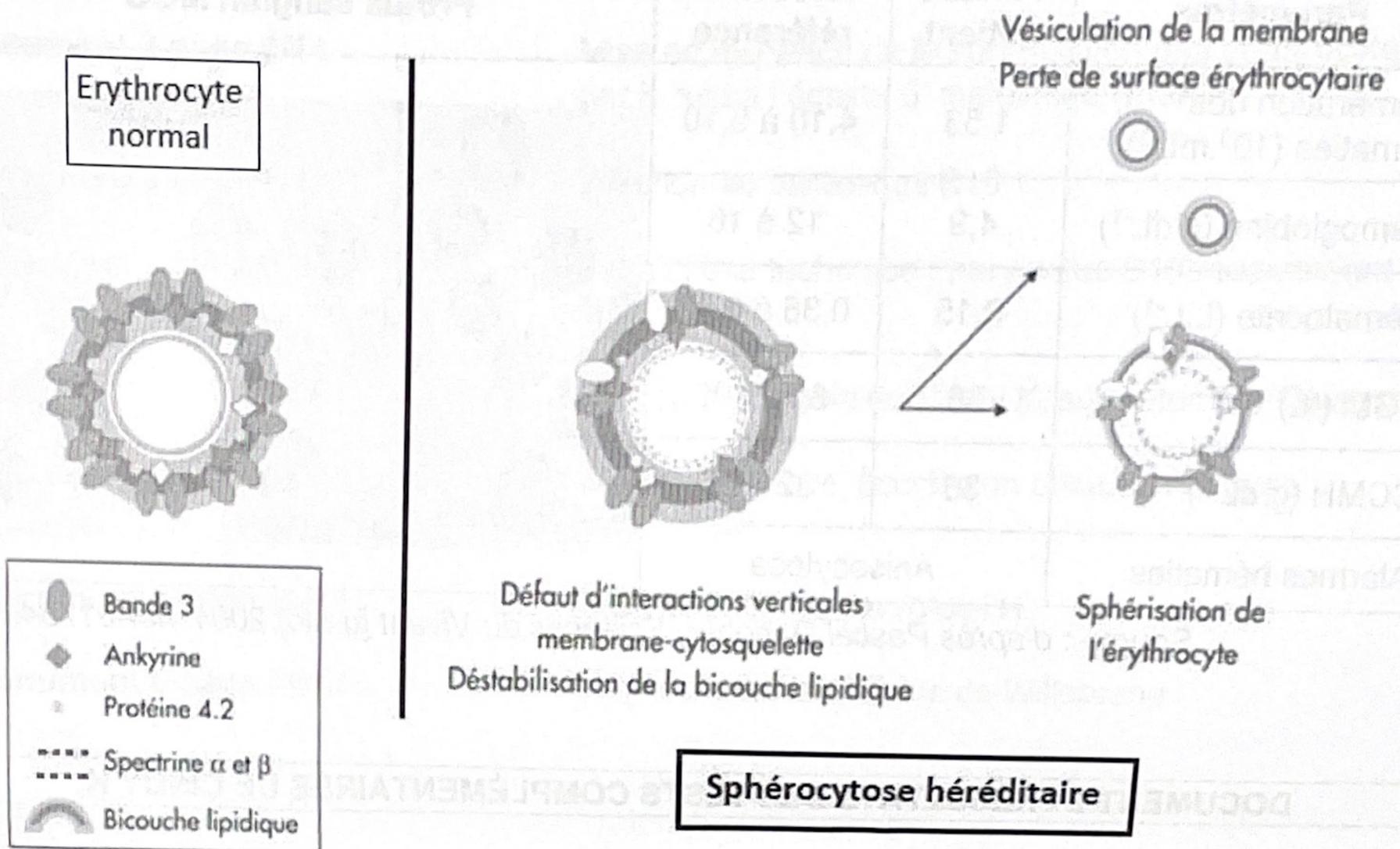
Les CIQ sont validés

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence
Réticulocytes ($10^6.mL^{-1}$)	4,6	20 à 100
Fer sérique ($\mu mol.L^{-1}$)	30	13 à 30
Test de Coombs direct	Pas d'hémagglutination	Pas d'hémagglutination
Bilirubine totale ($mg.L^{-1}$)	13	< 12
Haptoglobine ($g.L^{-1}$)	0,13	0,3 à 2
Test EMA (% de perte de fluorescence)	24	< 10
PCR parvovirus B19	+	-
Sérologie parvovirus B19 : IgM (U)	38	< 9
PCR cytomegalovirus	-	-
PCR entérovirus	-	-

Source : d'après Pascal Danober. Sciences du Vivant [q-bio].2004. hal-01734212

DOCUMENT 3 : MISE EN ÉVIDENCE DE LA SPHÉRISATION DES ÉRYTHROCYTES PAR LE TEST À L'ÉOSINE 5' MALÉIMIDE (EMA)

Sphérisation de l'érythrocyte :



Source : d'après Zoé Van de Wyngaert et al., *Hématologie*, 2018.

Principe du test EMA :

L'EMA est une molécule fluorescente qui se lie aux protéines Bande 3 de la membrane des hématies.

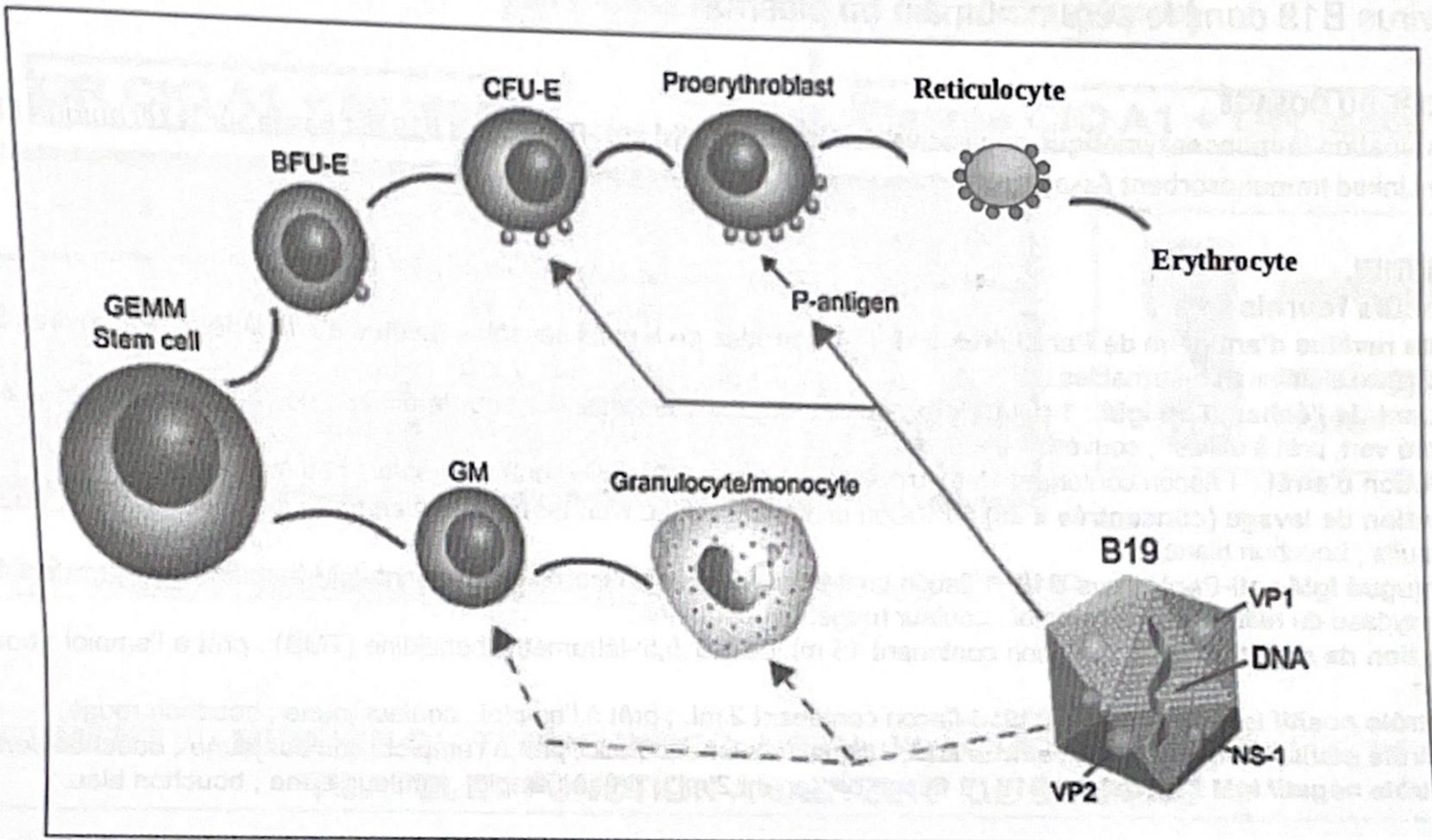
Les molécules d'EMA liées à l'hématie sont excitées par le LASER du cytomètre et réémettent une fluorescence verte dont l'intensité détectée est proportionnelle à la quantité de molécules fixées.

Les intensités de fluorescence émises par les hématies du patient sont comparées à celles émises par les hématies de plusieurs témoins.

Le résultat est rendu sous forme d'un pourcentage de perte de fluorescence par rapport à ces témoins. Une perte de plus de 10% de fluorescence permet de poser le diagnostic de sphérocytose héréditaire si elle est associée à une anémie hémolytique avec présence de sphérocytes.

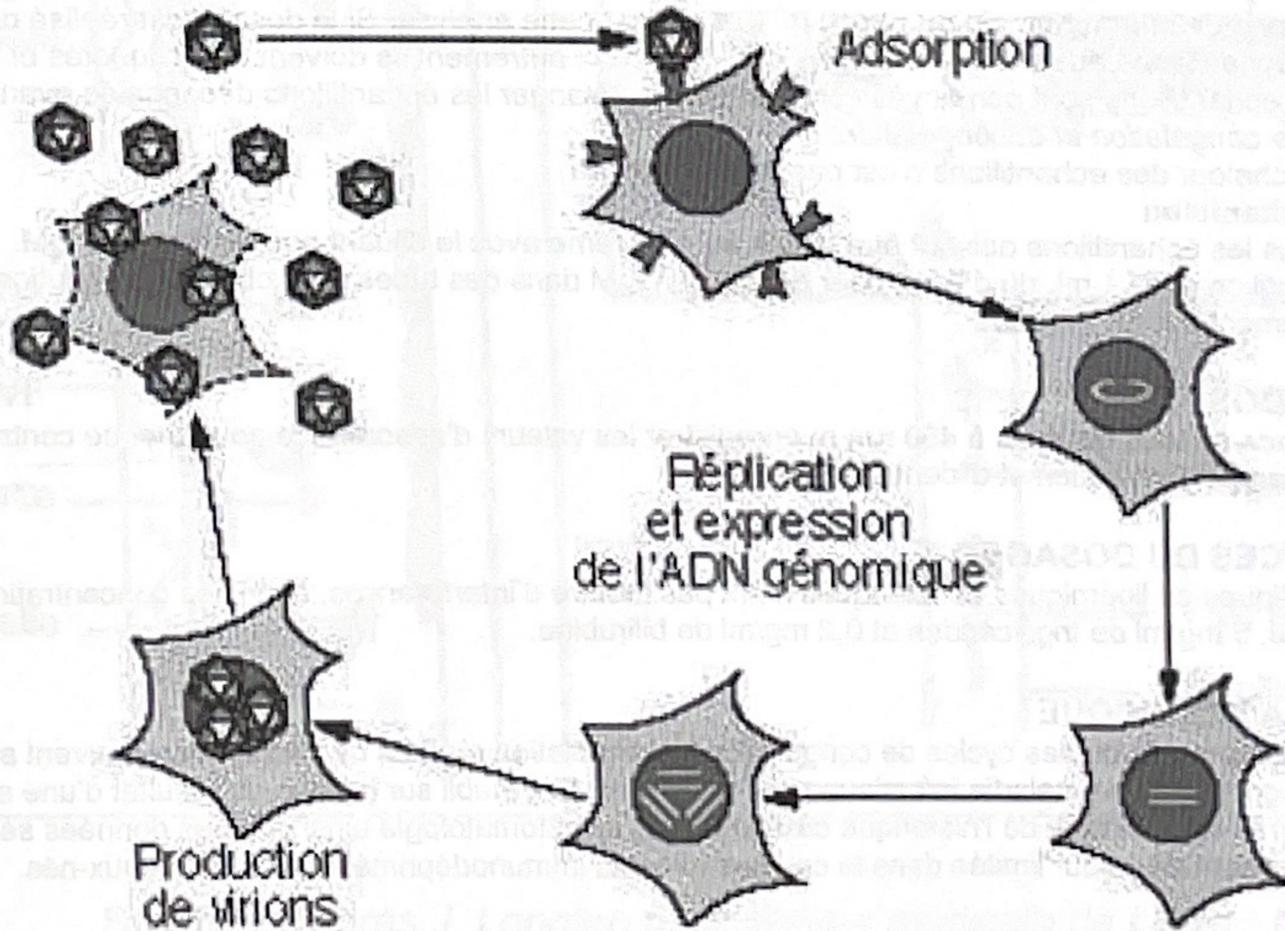
Source : d'après document interne d'un CHRU.

4A : Cellules cibles du Parvovirus B19



Source : d'après doi.org/10.1016/j.lpm.2015.04.013

4B : Cycle du parvovirus B19



Source : L. Deleu et al., *Virologie*. 2002;6(1):29-40.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2023
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (Hématologie, anatomopathologie, immunologie)	23ABE4HA11	Page : 7/11

DOCUMENT 5 : EXTRAIT FICHE TECHNIQUE PARVOVIRUS B19 RECOMBINANT IGM ELISA (IBL INTERNATIONAL)

Dosage immunoenzymatique pour la détermination qualitative des anticorps IgM dirigés contre Parvovirus B19 dans le sérum humain ou plasma

3. PRINCIPE DU DOSAGE

La détermination immunoenzymatique qualitative des anticorps IgM anti-Parvovirus B19 est basée sur la technique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

4. MATERIEL

4.1. Réactifs fournis

- **Puits revêtus d'antigène de Parvovirus B19** : 12 barrettes de 8 puits sécables revêtus d'antigène de Parvovirus B19; en sachets d'aluminium refermables.
- **Diluant de l'échantillon IgM** : 1 bouteille contenant 100 mL d'amortisseur pour la dilution de l'échantillon ; pH 7.2 ± 0.2 ; coloré vert; prêt à utiliser ; couvercle blanc.
- **Solution d'arrêt** : 1 flacon contenant 15 ml d'acide sulfurique, 0.2 mol/L ; prêt à l'emploi ; couvercle rouge.
- **Solution de lavage (concentrée x 20)** : 1 flacon contenant 50 mL d'un tampon concentré 20 fois (pH 7.2 ± 0.2) pour laver les puits ; bouchon blanc.
- **Conjugué IgM anti-Parvovirus B19**: 1 flacon contenant 20 mL d'anticorps de lapin anti-IgM humaines conjuguées à de la peroxydase du raifort ; prêt à l'emploi ; couleur rouge, bouchon noir.
- **Solution de substrat TMB** : 1 flacon contenant 15 mL de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi ; bouchon jaune.
- **Contrôle positif IgM Parvovirus B19**: 1 flacon contenant 2 mL ; prêt à l'emploi ; couleur jaune ; bouchon rouge.
- **Contrôle seuil (cut-off) IgM Parvovirus B19**: 1 flacon contenant 3 mL ; prêt à l'emploi ; couleur jaune ; bouchon vert.
- **Contrôle négatif IgM Parvovirus B19** : 1 flacon contenant 2 mL ; prêt à l'emploi ; couleur jaune ; bouchon bleu.

5. STABILITE ET CONSERVATION

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, s'ils sont conservés entre 2 et 8°C.

6. PREPARATION DES REACTIFS

Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient portés à température ambiante (20 - 25°C) avant de commencer le dosage !

7. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser des échantillons de sérum humain ou plasma (citrate) pour cette analyse. Si le dosage est réalisé dans les 5 jours après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés à +2...+8°C ; autrement ils doivent être aliquotés et conservés surgelés (-20 à -70°C). Si les échantillons sont conservés congelés, bien mélanger les échantillons décongelés avant le dosage. *Éviter les cycles répétés de congélation et décongélation.*

L'inactivation par la chaleur des échantillons n'est pas recommandée.

7.1. Dilution de l'échantillon

Avant le dosage, tous les échantillons doivent être dilués au 1/101ème avec le diluant pour échantillon IgM.

Diluer 10 µL d'échantillon avec 1 mL du diluant pour échantillon IgM dans des tubes pour obtenir une dilution au 1/101ème et mélanger soigneusement sur un Vortex.

8. PROCEDE DE DOSAGE

Mesurer l'absorbance de tous les puits à 450 nm et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque contrôle et échantillon de patient dans le plan de distribution et d'identification.

10. PERFORMANCES DU DOSAGE

Des sérums hémolytiques ou lipémiques ou ictériques n'ont pas montré d'interférences, avec des concentrations jusqu'à 10 mg/ml d'hémoglobine, 5 mg/ml de triglycérides et 0,2 mg/ml de bilirubine.

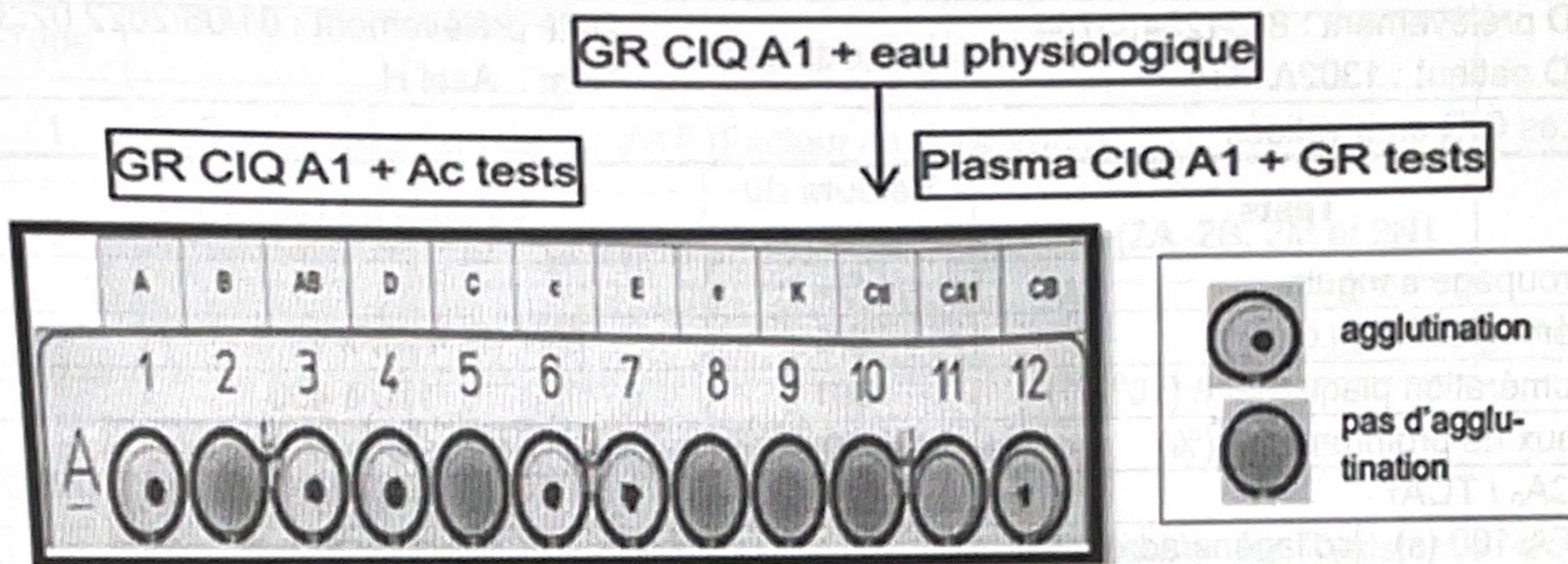
11. LIMITES DE LA TECHNIQUE

Une contamination bactérienne ou des cycles de congélation-décongélation répétés de l'échantillon peuvent affecter les valeurs d'absorbance. Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne devrait pas être établi sur la base du résultat d'une seule analyse. Un diagnostic précis devrait tenir compte de l'historique clinique, de la symptomatologie ainsi que des données sérologiques. Les données sérologiques sont de valeur limitée dans le cas des patients immunodéprimés et des nouveaux-nés.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2023
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (Hématologie, anatomopathologie, immunologie)	23ABE4HA11	Page : 8/11

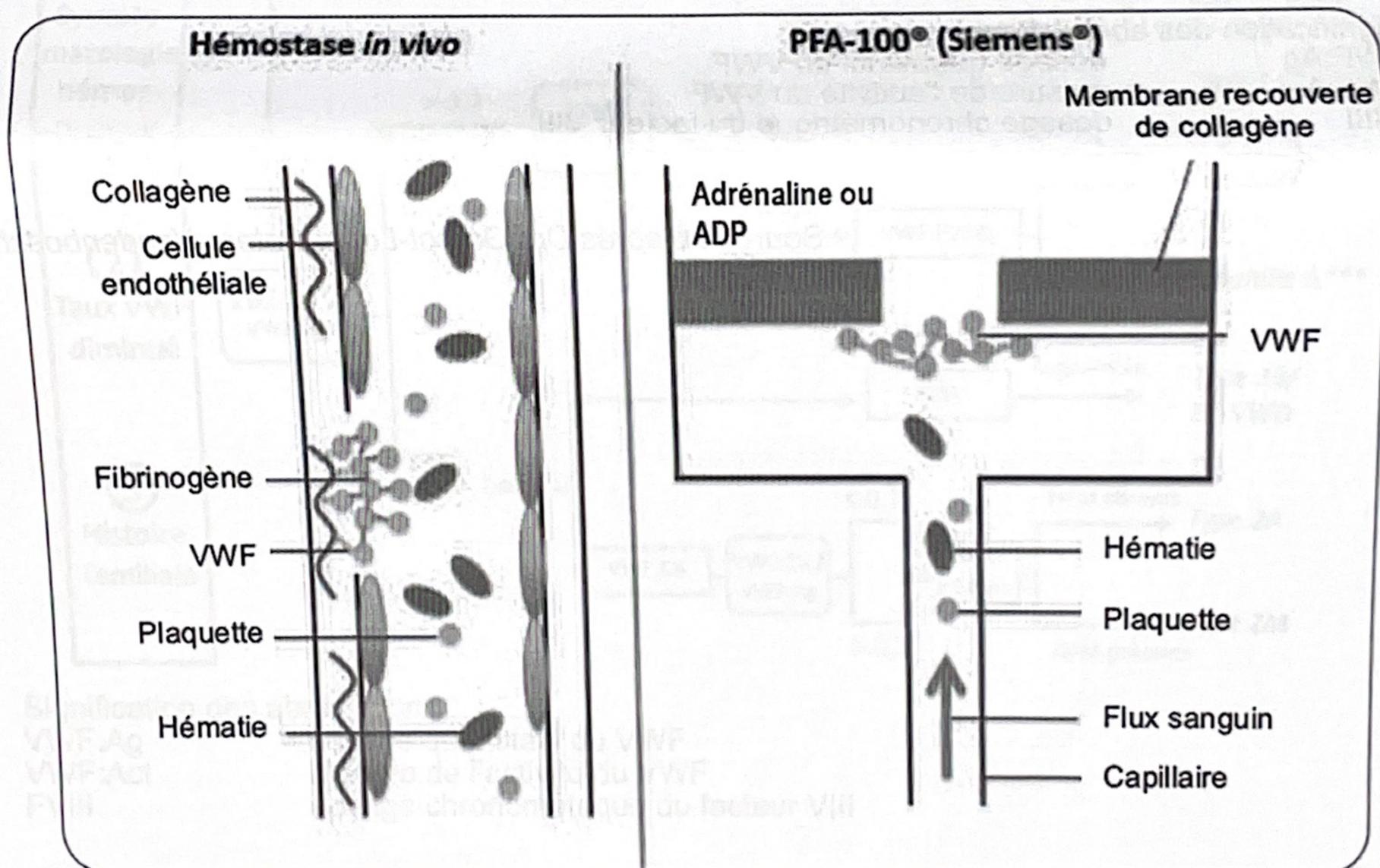
DOCUMENT 6 : GROUPE SANGUIN DE CINDY K. SUR AUTOMATE QWALYS

6A - Résultat du CIQ A1 ABO/Rh-Kell :



6B - Résultats de groupage sanguin pour Cindy K. : A/D⁺ C⁺ c⁺ E⁻ e⁺ K⁻

DOCUMENT 7 : MESURE DU TEMPS D'OCCLUSION PLAQUETTAIRE AVEC LE PFA-100 : "PLATELET FUNCTION ANALYZER" DE SIEMENS



Source : d'après J. Longton et al. Revue médicale de Liège · November 2021

DOCUMENT 8 : RÉSULTATS D'ANALYSES D'AXEL H.

ID prélèvement : 865425455744

Date prélèvement : 01/08/2022 02:32

ID patient : 1302A1414

Nom : Axel H.

Les CIQ sont validés

Tests		Valeurs du patient	Valeurs de référence	
Groupage sanguin		O+	-	
Hémoglobine (g.dL ⁻¹)		6,5	11,5 à 13,0	
Numération plaquettaire (10 ⁹ .L ⁻¹)		391	150 à 400	
Taux de prothrombine (%)		90	70 à 120	
TCA _p / TCA _T		2,15	< 1,2	
PFA-100 (s)	collagène/adrénaline	214	< 170	
	collagène/ADP	160	< 114	
VWF:Ag (%)		26	Groupe O : 35 à 150	Non O : 50 à 150
VWF:Act (%)		28	Groupe O : 35 à 150	Non O : 50 à 150
FVIII (%)		36	50 à 200	
VWF:Act / VWF:Ag		1,1	-	
FVIII / VWF:Ag		1,4	-	

Signification des abréviations :

VWF:Ag dosage quantitatif du VWF
VWF:Act mesure de l'activité du VWF
FVIII dosage chromométrique du facteur VIII

Source : d'après Drs Gothot-Lecut-Peters-Vandenbosch.

DOCUMENT 9 : DÉMARCHE DE DIAGNOSTIC DE LA MALADIE DE WILLEBRAND

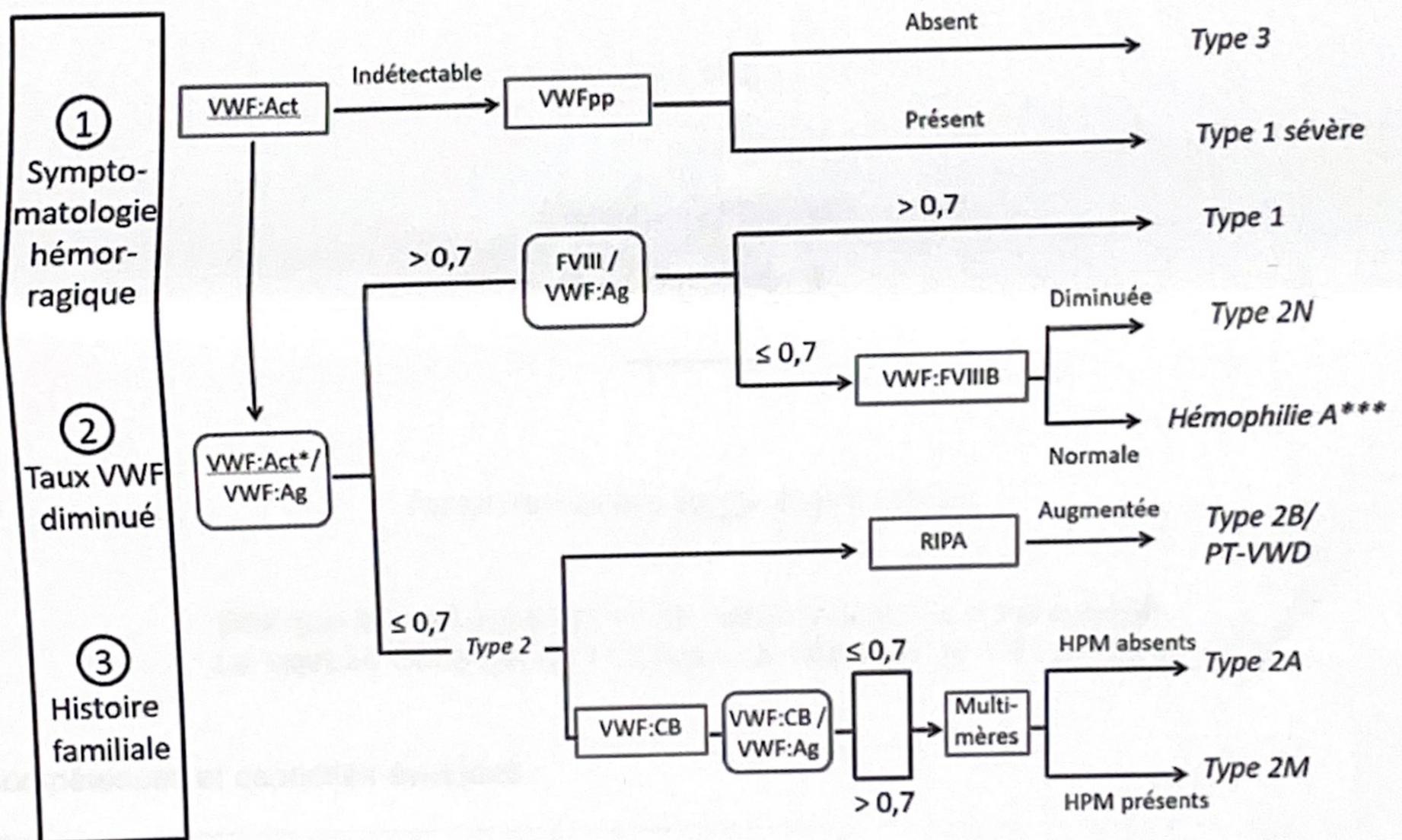
Classification :

Type	Description
1	Déficit quantitatif partiel en VWF (Facteur de Willebrand)
2	Déficit qualitatif en VWF : différents sous-types existants (2A, 2B, 2M et 2N)
3	Déficit quasi-total en VWF

Démarche diagnostique :

L'hypothèse d'une maladie de Willebrand constitutionnelle repose sur l'existence d'une symptomatologie hémorragique, de taux de VWF diminués et d'antécédents familiaux.

Le diagnostic de première ligne repose sur les dosages des FVIII, VWF:Act et du VWF:Ag.



Signification des abréviations :

VWF:Ag
VWF:Act
FVIII

dosage quantitatif du VWF
mesure de l'activité du VWF
dosage chromométrique du facteur VIII

Source : d'après De Jong A, J. Thromb Haemost 2016; 14:449-460