

B.T.S. ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

E4 – U43 **Bases scientifiques et technologiques** **de la biologie médicale**

Hématologie, Anatomopathologie, Immunologie

SESSION 2020

Durée : 2 heures

Coefficient : 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Document à rendre avec la copie :

- document 4page 9/14

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 14 pages, numérotées de 1/14 à 14/14.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2020
E4 – U43 : B.S.T.B.M. (H. A. I.)	20ABE4HAI1	Page : 1/14

SUIVI DES ANALYSES BIOLOGIQUES DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC DU LUPUS ÉRYTHÉMATEUX DISSÉMINÉ (LED) ET TRAITEMENT

Le lupus érythémateux disséminé (LED) est une maladie auto-immune systémique caractérisée par la présence d'auto-anticorps anti-ADN natif.

Dans le cadre de son diagnostic, différentes analyses sont réalisées au laboratoire d'analyses de biologie médicale.

1. Analyse immunologique permettant d'orienter le diagnostic : de la phase pré-analytique à la phase post-analytique (5,5 points)

1.1. Réception et tri de l'échantillon sanguin en phase pré-analytique

Après réception et enregistrement de l'échantillon sanguin sur le Système Informatique du Laboratoire (SIL), l'automate de pré-analytique COBAS® p512 de chez Roche Diagnostics scanne et photographie les tubes avant de les distribuer dans les différents secteurs.

Le tube sec avec gel séparateur, destiné au secteur immunologie, déclenche une alarme sur le SIL.

1.1.1. Analyser et justifier le déclenchement de l'alarme à l'aide des photos éditées par le SIL.

1.1.2. Expliquer la procédure à suivre dans cette situation. Proposer une remédiation au problème rencontré.

Les auto-anticorps anti-ADN natif impliqués dans le LED sont mis en évidence par le processus ImmunoCAP et EliA Well.

1.2. Phase analytique

1.2.1. Justifier la qualification de « maladie auto-immune systémique » pour le LED.

1.2.2. Réaliser un schéma soigneusement légendé de l'étape finale de la détection des anticorps anti-ADN natif. Préciser le rôle des lavages.

1.3. Validation technique de la recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well

Afin de valider techniquement la recherche des anticorps anti-ADN natif, des contrôles internes de qualité (CIQ) sont passés chaque jour sur l'automate. Le technicien responsable de l'automate, reporte les mesures obtenues sur le diagramme de Levey-Jennings.

1.3.1. Préciser la nature du CIQ utilisé pour cette validation.

1.3.2. Exploiter le diagramme de Levey-Jennings selon les règles de Westgard et conclure.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2020
E4 – U43 : B.S.T.B.M. (H. A. I.)	20ABE4HA11	Page : 2/14

2. Analyses complémentaires (9 points)

2.1. Analyses du bilan sanguin

- 2.1.1. Présenter les équations aux grandeurs et aux unités permettant de calculer la CCMH.
- 2.1.2. Interpréter l'ensemble du bilan sanguin (document 4 à rendre avec la copie) puis conclure.
- 2.1.3. Justifier la réalisation d'un test direct à l'antiglobuline (test de Coombs direct) afin d'orienter le diagnostic.
- 2.1.4. Analyser et interpréter les résultats du test et conclure.

2.2. Ponction-biopsie rénale

La présence d'auto-anticorps peut induire une néphropathie lupique.

Dans le cas d'une protéinurie supérieure à 0,5 g/24 h, une ponction-biopsie rénale (PBR) est indiquée et son analyse est réalisée au laboratoire d'anatomocytopathologie.

- 2.2.1. Expliquer le rôle du formol.
- 2.2.2. Proposer les précautions à prendre lors de l'utilisation du formol pour chacun des risques identifiés.
- 2.2.3. Expliquer l'intérêt de réaliser des bains successifs d'éthanol de concentrations croissantes et du passage dans des bains de xylène.
- 2.2.4. Nommer la coloration topographique trichromique la plus utilisée en anatomocytopathologie. Préciser le rôle de chaque composant.

3. Traitement anticoagulant (5.5 points)

Le LED s'associe parfois au syndrome des anticorps anti-phospholipides (SAPL).

La présence d'anticorps anti-phospholipides (ou anticoagulants circulants (ACC) de type lupique) induit l'activation des cellules endothéliales. Ils semblent également inhiber la fibrinolyse.

L'ensemble de ces anomalies favorise la formation de thromboses.

- 3.1. Nommer l'anomalie érythrocytaire, visible sur le frottis coloré au MGG, en corrélation avec la présence de thromboses. Justifier.
- 3.2. Indiquer le résultat attendu pour le TCA.
- 3.3. Nommer le test permettant de mettre en évidence les ACC lupiques.
Expliquer sa réalisation et le résultat attendu dans le contexte pathologique.

Afin de traiter cette hypercoagulabilité, un traitement anticoagulant oral de type antivitamine K (AVK) : Warfarine est prescrit.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2020
E4 – U43 : B.S.T.B.M. (H. A. I.)	20ABE4HA11	Page : 3/14

La mise en place et le suivi du traitement se fait grâce à l'INR (International Normalized Ratio).

3.4. Nommer les facteurs vitamine-K-dépendants. Expliquer le mode d'action de l'antivitamine K.

3.5. Expliquer le rôle de l'ISI (Indice de Sensibilité Internationale du réactif) dans le calcul de l'INR.

3.6. Calculer l'INR et conclure quant à la surveillance du traitement.

Données :

TQ patient = 30 s

TQ témoin = 15 s

ISI = 2

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

- Document 1 :** Photographies de tubes prise par l'automate de pré-analytique COBAS[®] p512
- Document 2 :** Recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia[®] 250, ThermoSCIENTIFIC
- Document 3 :** Validation technique de la détection des anticorps anti-ADN natif
- Document 4 :** Résultats partiels du bilan sanguin de la patiente
- Document 5 :** Extrait adapté de la fiche technique du ScanGel[™]COOMBS Anti-IgG, -C3d, BioRad[®]
- Document 6 :** Résultats du ScanGel[™]COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad[®]
- Document 7 :** Étapes de la préparation d'une ponction-biopsie rénale en vue de son analyse au laboratoire d'anatomocytopathologie
- Document 8 :** Frottis sanguin coloré au MGG observable au cours d'un LED
- Document 9 :** Surveillance des patients traités par un anticoagulant oral de type AVK : Warfarine.

Photographies de tubes prises par l'automate de pré-analytique COBAS® p512

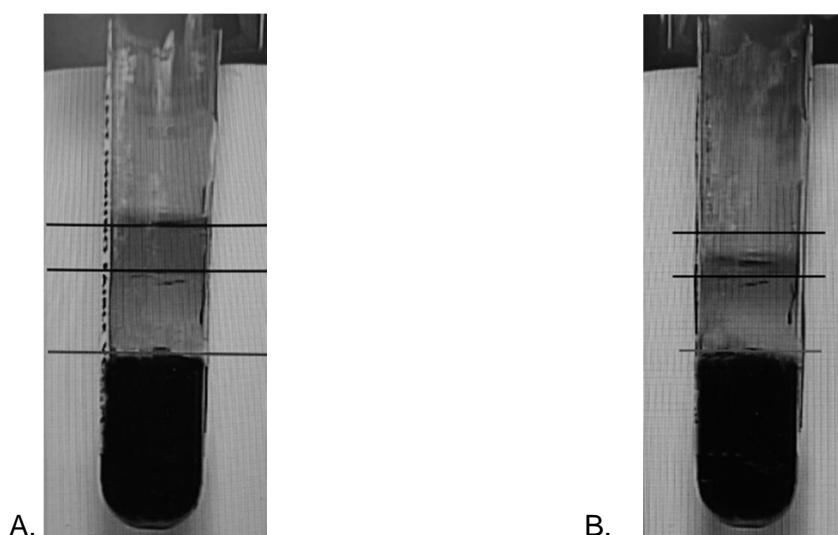
Source : Manuel Opérateur, v 2.0, 04-2016

Le système pré-analytique COBAS® p512 est un système automatisé, autonome et assisté par ordinateur. Il trie les tubes centrifugés portant un code barre.

Le COBAS® p512 comprend plusieurs modules :

- d'enregistrement
- d'ouverture de tubes
- de détection du niveau du liquide et de qualité de l'échantillon
- de scellage des échantillons.

Le système pré-analytique COBAS® p512 est conçu comme un accessoire à des fins de diagnostic.



Photographies des tubes éditées par SIL – A. Tube normal, B. Tube patient

Recherche des anticorps anti-ADN natif par le processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia® 250, ThermoSCIENTIFIC
Extrait adapté du manuel technique

1. Présentation générale

Le Phadia® 250 est un instrument entièrement automatisé qui permet d'effectuer des tests *in vitro* dans les domaines cliniques tels que l'allergie, l'asthme et les affections auto-immunes.

Le Phadia® 250 est un système en chargement continu et permet de réaliser 60 tests par heure. L'opérateur charge les réactifs, les échantillons et les stylos d'ImmunoCAP/EliA Well dans l'instrument qui va réaliser toutes les étapes, du pipetage des échantillons à la lecture.

2. Réactifs ImmunoCAP et EliA Well

Support : les antigènes sont couplés de façon covalente à une matrice cellulosique tridimensionnelle activée au bromure de cyanogène.

Conjugué : couplé à une enzyme, il est capable de se lier de manière spécifique à la molécule d'analyte recherchée.

Substrat : un substrat non fluorescent est utilisé. Au cours de la réaction enzymatique, le substrat est converti en produit fluorescent. La fluorescence est directement proportionnelle à la concentration d'analyte.

3. Déroulement de la réaction

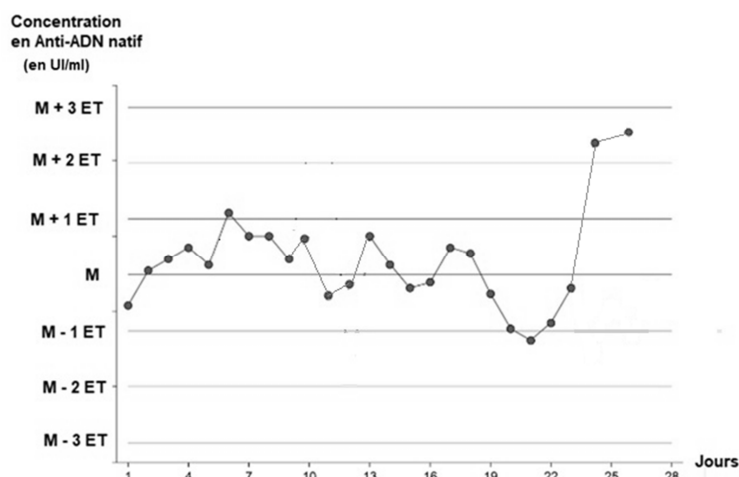
1	Prélèvement de l'échantillon	90 µL
2	Incubation	30 min à 37°C
3	Lavage 1	~1000 µL
4	Prélèvement du conjugué	90 µL
5	Incubation	28 min à 37°C
6	Lavage 2	~1000 µL
7	Prélèvement du substrat	90 µL
8	Incubation	39 min à 37°C
9	Prélèvement de la solution d'arrêt	200 µL
10	Lecture	

DOCUMENT 3

Validation technique de la détection des anticorps anti-ADN natif

Processus ImmunoCAP et EliA Well sur le Phadia® 250, ThermoSCIENTIFIC

• Diagramme de Levey-Jennings

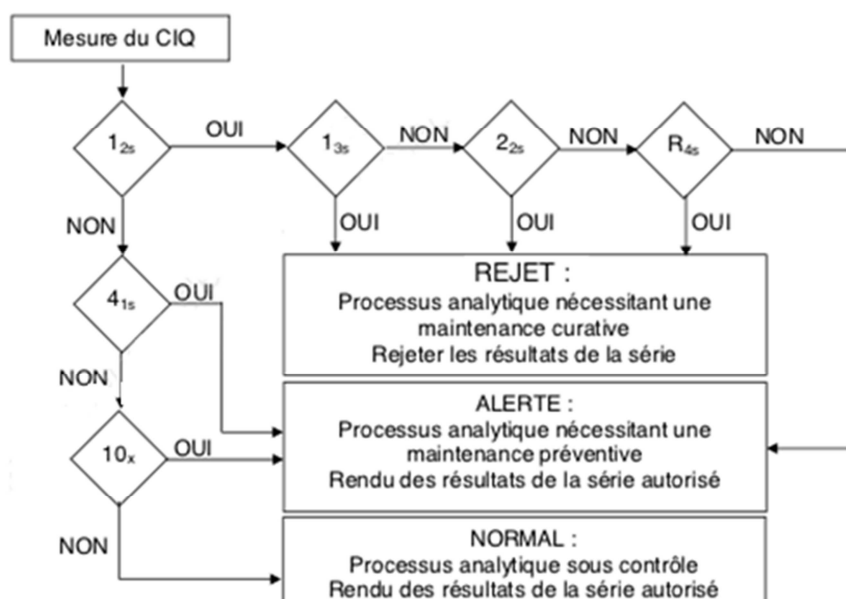


• Signification des règles de Westgard

Règles	Signification
1 _{2s}	1 mesure est au-delà de +2 ET ou de -2 ET.
1 _{3s}	1 mesure est au-delà de +3 ET ou de -3 ET.
2 _{2s}	2 mesures consécutives du même côté de la moyenne au-delà de +2 ET ou de -2 ET.
R _{4s}	2 mesures consécutives sont éloignées de plus de 4 ET.
4 _{1s}	4 mesures consécutives sont au-delà de +1 ET ou de -1 ET, du même côté de la moyenne.
10 _x	10 mesures consécutives sont du même côté de la moyenne

ET : Ecart-Type

• Logigramme décisionnel



DOCUMENT 4
À RENDRE AVEC LA COPIE

Résultats partiels du bilan sanguin de la patiente

Paramètres	Valeurs du patient	Valeurs de référence	Interprétations
HEMOGRAMME (SIEMENS ADVIA 2120i cytométrie de flux, cytochimie)			
<u>HEMATIES</u>	3,09 T.L ⁻¹	3,80 – 5,80
Hémoglobine	8 g.dL ⁻¹	12,0 - 15,5
Hématocrite	25 %	37,0 - 47,0
VGM	81 fL	80,0 – 100,0
TCMH	26 pg	26,0 – 35,0
CCMH	32 g.dL ⁻¹	32,0 – 36,0
<u>LEUCOCYTES</u>	3.26 G.L ⁻¹	4,00 – 10,00
Poly.Neutrophile	0.80 G.L ⁻¹	1,80 – 7,50
Poly.Eosinophile	0.42 G.L ⁻¹	0,10 – 0,80
Poly.Basophile	0.10 G.L ⁻¹	0,00 – 0,20
Lymphocyte	1.20 G.L ⁻¹	2,00 – 4,00
Monocyte	0.74 G.L ⁻¹	0,20 – 0,80
<u>PLAQUETTES</u>	88 G.L ⁻¹	150 – 400
BIOCHIMIE			
Bilirubine totale (méthode colorimétrique)	20 mg.L ⁻¹	< 12
Bilirubine libre (indirect)	16 mg.L ⁻¹	< 10
Bilirubine conjuguée (direct)	4 mg.L ⁻¹	< 5
LDH-1	512 UI.L ⁻¹	190 – 430
Haptoglobuline	0.33 g.L ⁻¹	0,50 – 2,50

Extrait adapté de la fiche technique du ScanGel™COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad®

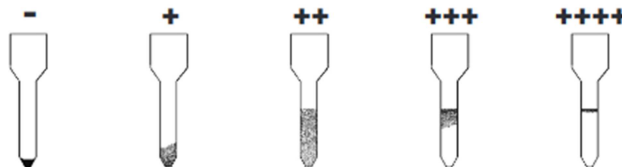
GEL FORMULE AVEC UNE ANTIGLOBULINE POLYSPECIFIQUE (FRACTIONS POLYCLONALE ET MONOCLONALE MURINE)

I - UTILISATION ET PRINCIPE DU TEST

Cette carte est strictement réservée à des usages professionnels et diagnostiques *in vitro*.

Destiné à la recherche (dépistage et identification) des anticorps irréguliers anti-érythrocytaires, à l'épreuve de compatibilité, au test direct à l'antiglobuline (Coombs direct) et au phénotypage érythrocytaire, le test associe les principes d'agglutination et de filtration sur gel.

La réaction est obtenue et lue après centrifugation de microtubes spécialement conçus, remplis de gel imprégné du réactif antiglobuline. La suspension de globules rouges et, si nécessaire, le sérum ou le plasma sont déposés dans la cupule des microtubes et centrifugés après ou non (suivant le test) une période d'incubation. Les globules rouges non agglutinés sont collectés au fond du microtube, tandis que les agglutinats sont retenus dans la hauteur de gel en fonction de leur taille. Leur position dans le gel détermine l'intensité de la réaction.



La capacité du gel à séparer les globules rouges du sérum ou du plasma supprime la phase de lavage obligatoire des techniques conventionnelles.

II - CARACTÉRISTIQUES DES RÉACTIFS

Les microtubes de la carte ScanGel COOMBS Anti-IgG,-C3d contiennent un gel imprégné du réactif antiglobuline polyspécifique (AHG). La fraction anti-IgG est préparée à partir de sérums de chèvres hyperimmunisées. La fraction anti-complément est préparée à partir d'un mélange de sérums de chèvres hyperimmunisées et d'un anticorps monoclonal murin de spécificité anti-C3d produit à partir du clone 053A714.

Ce réactif contient de l'azide de sodium (< 0,1 %) comme conservateur.

Le code produit et le nombre de cartes par boîte sont mentionnés sur l'étiquette de la boîte.

III - TECHNIQUE

Test direct à l'antiglobuline (Coombs direct)

Contrôles

- Témoins positif (globules rouges sensibilisés par un anticorps de nature IgG connu et/ou par la fraction C3d du complément) et négatif (globules rouges non sensibilisés).

Mode opératoire

Le mode opératoire doit être strictement suivi.

Tous les réactifs doivent être remis à température ambiante avant utilisation. Par centrifugation séparer le sérum ou le plasma et les globules rouges de l'échantillon.

a) Préparation de la suspension des globules rouges

Pour chaque échantillon :

- Distribuer 1 ml de ScanLiss dans un tube à usage unique, identifié.
- Ajouter 10 µl du culot globulaire de l'échantillon.
- Mélanger.
- La suspension de globules rouges est prête à être utilisée.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2020
E4 – U43 : B.S.T.B.M. (H. A. I.)	20ABE4HA11	Page : 10/14

b) Technique

1. Identifier chaque microtube par le nom ou le numéro d'échantillon correspondant.
Retirer la totalité de la languette aluminium des cartes.
Remettre en suspension les globules rouges.
2. Déposer 50 µl de chaque suspension de globules rouges à tester dans la cupule des microtubes appropriés.
3. Centrifuger **immédiatement** 10 minutes dans la ScanGel Centrifuge. En aucun cas le délai entre le dépôt de la suspension de globules rouges et le début de la centrifugation ne doit dépasser 10 minutes.
4. Lire les réactions.

IV – RESULTATS ET INTERPRETATION

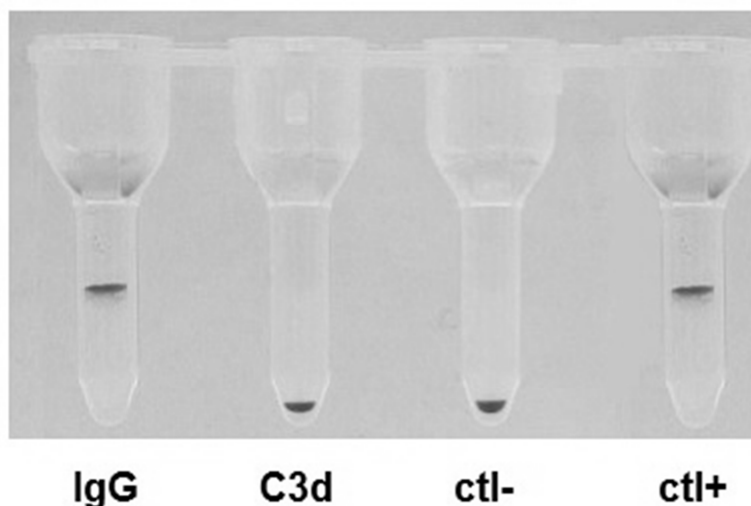
- La présence d'agglutinats (en surface ou dispersés dans le gel) ou d'une hémolyse dans un microtube correspond à un résultat positif.
- Un culot de globules rouges collectés au fond du microtube et l'absence d'hémolyse correspond à un résultat négatif.
- **Les résultats sont valides uniquement si les contrôles positif et négatif donnent les résultats attendus.**

Un résultat négatif indique l'absence d'IgG et de complément sur les globules rouges testés.

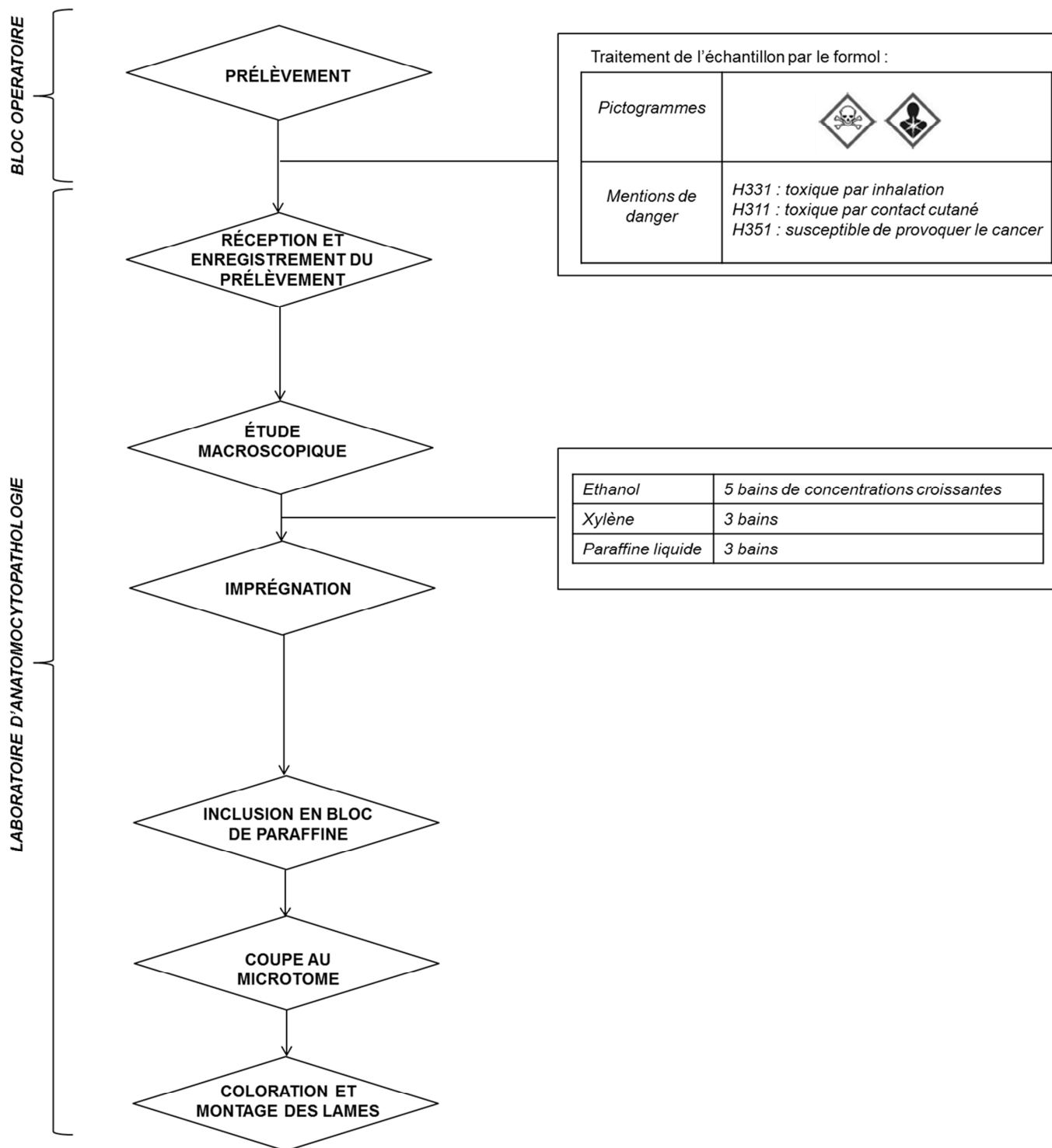
Un résultat positif indique la présence d'IgG, de complément ou des deux sur les globules rouges testés.

DOCUMENT 6

Résultats du ScanGel™COOMBS Anti-IgG,-C3d, BioRad®



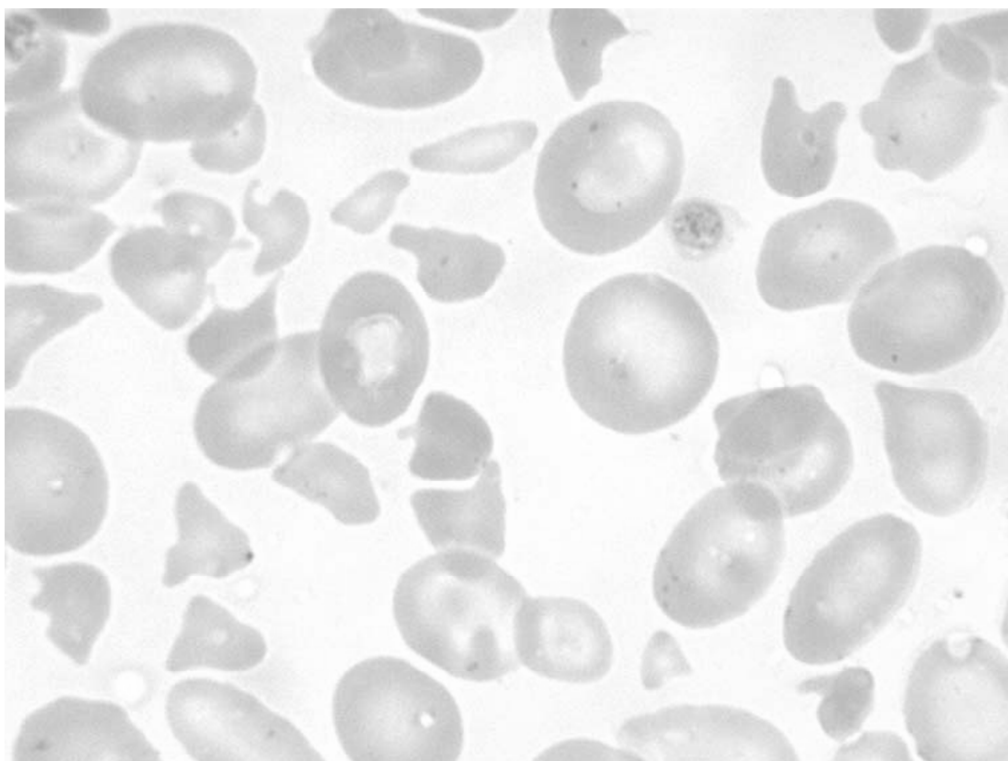
Étapes de la préparation d'une ponction-biopsie rénale en vue de son analyse au laboratoire d'anatomocytopathologie



DOCUMENT 8

Frottis sanguin coloré au MGG observable au cours d'un LED

<http://www.cytologie-sanguine.com>



Surveillance des patients traités par un anticoagulant oral de type AVK : Warfarine**- Calcul de l'INR**

$$\text{INR} = \frac{\text{TQ patient}}{\text{TQ témoin}}^{\text{ISI}}$$

TQ : Temps de Quick

- Ajustement posologique de la Warfarine*(<http://www.thromboclic.fr>)*

INR cible 2,3	
INR < 1,5	Augmenté la dose hebdomadaire de 15%. Contrôle INR à J7. Discuter la mise en route d'un traitement héparinique.
1,5 ≤ INR < 2	Ne rien changer ou augmenter le dose hebdomadaire de 10%. Contrôle INR à J7.
2 ≤ INR ≤ 3	Ne rien changer.
INR < 4	Ne rien changer ou diminuer le dose hebdomadaire de 10%. Contrôle INR à J7.
4 ≤ INR < 6	Saut d'une prise. Suivi INR quotidien. Reprise AVK quand INR est dans la cible thérapeutique. Diminuer la dose hebdomadaire de 15%. Monitoring de l'INR.
6 ≤ INR < 10	Arrêt AVK. 2 mg de vitamine K par voie orale. Suivi INR quotidien. Reprise AVK quand INR est dans la cible thérapeutique. Diminuer la dose hebdomadaire de 15 à 20%. Monitoring de l'INR.
INR ≥ 10	Arrêt AVK. 5 mg de vitamine K par voie orale. Monitoring de l'INR.