

B.T.S. Analyses de Biologie Médicale

E3 – U3

Sciences physiques et chimiques

SESSION 2018

Durée : 2 heures

Coefficient : 2

Matériel autorisé :

- L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

Tout autre matériel est interdit.

La clarté des raisonnements et la qualité de la rédaction interviendront pour une part dans l'appréciation des copies.

Document à rendre avec la copie :

- Document réponse page 9/9.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 9 pages, numérotées de 1/9 à 9/9.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2018
E3 – U3 : Sciences physiques et chimiques	Code : 18ABE3SPC1	Page 1/9

Ce sujet s'articule autour du problème du fer. Il est composé de trois exercices indépendants.

Exercice I : le fer dans le plasma

Données sur l'hydroxyde de fer III

$K_s (\text{Fe}(\text{OH})_3) = 4,0 \cdot 10^{-38}$ à 20°C

Produit ionique de l'eau : $K_e = 10^{-14}$ à 20°C

Formule de l'ion fer(III) ou ion ferrique : Fe^{3+}

On réalise à 20°C, une solution aqueuse tamponnée à $\text{pH} = 7$ de concentration en soluté apporté en ion fer (III) égale à $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. On observe la formation d'un précipité d'hydroxyde de fer (III).

Q1. Écrire la réaction de précipitation de l'hydroxyde de fer (III).

Q2. Donner l'expression du produit de solubilité de l'hydroxyde de fer (III) en fonction des concentrations mises en jeu.

Q3. Montrer quantitativement qu'il était possible de prévoir la formation de l'hydroxyde de fer(III).

La concentration en ion fer (III) dans le plasma est d'environ $2,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Le plasma sanguin contient aussi une protéine appelée transferrine, notée Tr. Cette protéine est capable de complexer les ions ferriques selon la réaction:



La constante de formation du complexe à 20°C $[\text{FeTr}]^{3+}$ vaut $K_f = 10^{24}$

Q4. La transferrine, si elle est en quantité suffisante, permet d'éviter la formation d'hydroxyde de fer (III). Justifier cette affirmation. Aucun calcul n'est demandé. On négligera l'influence éventuelle de la température.

Exercice II : dosage du fer sérique par colorimétrie

Données :

pKa CH₃COOH/CH₃COO⁻ : 4,8 à 20°C

pKa NH₄⁺/NH₃ : 9,2 à 20 °C

M_{Fe} = 55,8 g/mol

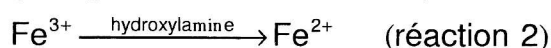
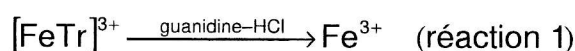
Formule de l'ion fer(III) ou ion ferrique : Fe³⁺

Le fer sérique correspond à l'élément fer en circulation libre dans le **plasma sanguin** et non fixé à l'hémoglobine des globules rouges. Sa concentration normale est comprise entre 10 μmol.L⁻¹ et 30 μmol.L⁻¹. À l'état normal, le fer sérique est, pour sa quasi-totalité, sous forme d'ions ferriques Fe³⁺ liés à la transferrine, protéine capable de complexer les ions Fe³⁺ selon la réaction : Tr + Fe³⁺ → [FeTr]³⁺.

« Ferrimat-kit » (**ANNEXE page 8/9**), proposé par les laboratoires bioMérieux, permet le dosage colorimétrique du fer sérique dans le plasma humain, sans déprotéinisation, en présence de guanidine et en milieu acide, avec l'hydroxylamine comme réducteur et la ferroZine comme indicateur.

Le principe est le suivant :

À pH = 5 et en présence de guanidine les ions Fe³⁺ sont libérés de la transferrine. Sous l'action de l'hydroxylamine, ils sont réduits en fer (II) qui forme alors un complexe coloré avec la ferrozine.



On considèrera que la totalité des ions Fe³⁺ présents dans le plasma contribue à la formation du complexe coloré à l'issue de la réaction 3 (les trois réactions sont considérées comme totales).

Première partie : choix de la solution tampon

Ce kit nécessite de travailler en milieu tampon pH = 5

Q5. Donner les propriétés d'une solution tampon.

On dispose au laboratoire d'une solution d'ammoniaque (NH₃) à 0,10 mol.L⁻¹, d'une solution d'acide éthanöique (CH₃COOH) à 0,10 mol.L⁻¹, d'une solution d'acide chlorhydrique (H₃O⁺, Cl⁻) à 0,20 mol.L⁻¹ et d'une solution d'hydroxyde de sodium (Na⁺, HO⁻) à 0,20 mol.L⁻¹ ainsi que d'un pH mètre.

Q6. Parmi les quatre solutions aqueuses dont on dispose, citer, en justifiant, les deux qui sont nécessaires à la réalisation d'une solution tampon de pH = 5 et proposer sans aucun calcul un protocole expérimental pour la réalisation de ce tampon.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2018
E3 – U3 : Sciences physiques et chimiques	Code : 18ABE3SPC1	Page 3/9

Deuxième partie : détermination de la concentration en fer sérique d'un patient

La ferrozine est un ligand noté L^{2-} à $pH = 5$. Il faut trois ligands ferrozine pour complexer un ion Fe^{2+} .

Q7. Écrire l'équation de formation du complexe fer-ferrozine.

Dans la notice du « ferrimat kit », la longueur d'onde utilisée pour le dosage est fixée à 562 nm, longueur d'onde pour laquelle l'absorbance du complexe est maximale.

Q8. Énoncer une raison qui justifie de choisir comme longueur d'onde de travail, celle pour laquelle l'absorbance est maximale.

On réalise le dosage sérique d'un patient selon le mode opératoire manuel donné en **ANNEXE page 8/9 (cette annexe n'est pas à rendre avec la copie)**.

Dans la rubrique performance de la méthode, il est indiqué « La méthode analytique est linéaire pour des concentrations en fer comprises dans l'intervalle $4 \mu\text{mol.L}^{-1}$ - $180 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ». Dans ces conditions, le kit précise que la relation qui permet d'accéder à la concentration en fer sérique du patient C_{patient} est donnée par :

$$C_{\text{patient}} = \frac{A_{\text{éch}} - A_{\text{blanc éch}}}{A_{\text{étal}}} \times C_{\text{étal}}$$

On rappelle que $C_{\text{étal}}$ est la concentration en fer dans l'étalon.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Absorbance de la solution « blanc échantillon » : $A_{\text{blanc éch}} = 0,008$

Absorbance de la solution « échantillon » : $A_{\text{éch}} = 0,115$

Absorbance de la solution « étalon » : $A_{\text{étal}} = 0,164$

Q9. En utilisant la loi de Beer-Lambert, établir la relation encadrée ci-dessus.

Q10. La concentration en fer sérique du patient est-elle située dans la gamme des concentrations normales ? Justifier.

Exercice III : détection de la drépanocytose

Notations utilisées dans l'exercice :

Objectif et oculaire sont modélisés par deux lentilles minces, respectivement L_1 et L_2 , de centre optique O_1 et O_2 et de foyers objets et images respectifs F_1 , F_1' , F_2 et F_2' .

Les distances focales de l'objectif et de l'oculaire sont respectivement $f_1' = \overline{O_1F_1'}$ et $f_2' = \overline{O_2F_2'}$.

L'intervalle optique entre les deux lentilles, noté Δ , est la distance qui sépare le foyer image F_1' de l'objectif du foyer F_2 de l'oculaire : $\Delta = \overline{F_1'F_2}$.

Données :

- On rappelle la formule de conjugaison des lentilles minces :

$$\frac{1}{\overline{OA_1}} - \frac{1}{\overline{OA}} = \frac{1}{f_1'}$$

Où O est le centre optique

A désigne un point objet

A_1 est l'image du point objet A donné par la lentille de distance focale f_1'

A et A_1 sont sur l'axe optique

- Le grossissement commercial d'un microscope est donné par la relation :

$$G_c = \frac{\Delta}{f_1' f_2'} \times l$$

avec $l = 0,25$ m

- Dans des conditions expérimentales données, la limite de résolution d'un microscope noté AB_{\min} (imposé par le phénomène de diffraction) est la plus petite distance séparant deux points reconnus comme des objets distincts. Elle est donnée par la relation :

$$AB_{\min} = \frac{1,22 \lambda}{2 \text{ON}}$$

où λ est la longueur d'onde et **ON** l'ouverture numérique de l'objectif.

- Masse d'un électron: $m_e = 9,109 \cdot 10^{-31}$ kg
- Constante de Planck: $h = 6,63 \cdot 10^{-34}$ J·s
- Pouvoir séparateur angulaire de l'œil : $\varepsilon = 3 \cdot 10^{-4}$ rad.

La drépanocytose est une maladie génétique caractérisée par une anomalie de l'hémoglobine contenue dans les globules rouges. La maladie peut être à l'origine d'une anémie parfois importante, nécessitant des transfusions sanguines. Ces transfusions, si elles sont nombreuses, sont elles-mêmes responsables à long terme d'une accumulation de fer dans le foie et la rate.

Chez les personnes atteintes de drépanocytose, l'hémoglobine est anormale. Quand la concentration en dioxygène du sang diminue, elle déforme les globules rouges (ou hématie) qui prennent alors la forme de faucilles, au lieu d'être biconcaves (figure 1). La taille d'une hématie « biconcave » est d'environ $8\ \mu\text{m}$, celle d'une « faucille » est d'environ $12\ \mu\text{m}$. La détection de cette maladie peut se faire par observation de cellules sanguines au microscope (figure 1).

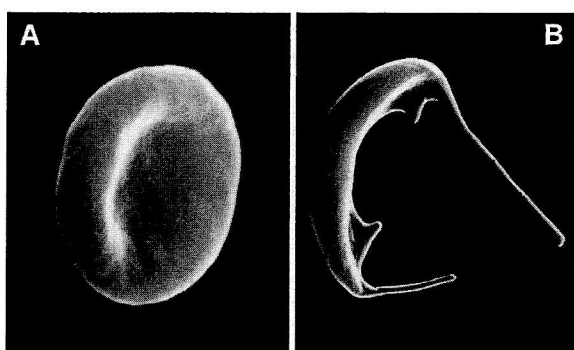


Figure 1 : image obtenue au microscope électronique

A : Globule rouge « biconcave »
B : Globule rouge « faucille »

Première partie : microscopie électronique

Le principe général de fonctionnement d'un microscope électronique est le même que celui d'un microscope optique : l'objet à analyser est éclairé et des lentilles permettent de grossir son image. Mais au lieu d'éclairer avec de la lumière, le microscope électronique utilise un faisceau d'électrons produit par un canon à électrons. Au lieu de grossir l'image à l'aide de lentilles en verre, il emploie des lentilles électromagnétiques.

La relation entre la longueur d'onde λ d'une particule de masse m , se déplaçant avec une vitesse, v , est donnée par l'équation de de Broglie :

$$\lambda = \frac{h}{m v}$$

Q11. Calculer la longueur d'onde des électrons, en nm, si leur vitesse est de $1,90 \cdot 10^8\ \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$.

Q12. L'ouverture numérique **ON** d'un microscope électronique est égale à 0,010. Justifier que la limite de résolution de l'instrument permet de voir les hématies et de détecter la drépanocytose comme illustré sur la **figure 1**.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2018
E3 – U3 : Sciences physiques et chimiques	Code : 18ABE3SPC1	Page 6/9

Deuxième partie : microscopie optique

On souhaite déterminer si la détection de la drépanocytose est possible avec un microscope optique.

Q13. Le schéma du document réponse page 9/9 à rendre avec la copie, indique le principe du microscope dans le cas de l'observation à l'infini (sans accommodation) d'un objet plan AB perpendiculaire à l'axe optique, A_1B_1 étant l'image intermédiaire de l'objet AB donné par l'objectif L_1 .

Compléter ce schéma en indiquant les positions des centres optiques O_1 et O_2 des deux lentilles L_1 et L_2 et les positions de leurs foyers objets et images F_1 , F_1' , F_2 et F_2' respectifs. On précise que ce schéma n'est pas à l'échelle.

L'oculaire utilisé noté L_2 a une distance focale $f_2 = 2,50$ cm. L'objectif utilisé a une distance focale $f_1 = 4,00$ mm. L'intervalle optique est de 16,0 cm.

Q14. Montrer que pour une observation à l'infini l'objet AB doit être placé à 0,410 cm devant l'objectif.

Q15. Calculer le grossissement commercial G_c de ce microscope.

Le grossissement commercial, G_c , du microscope est défini par $G_c = \frac{\theta'}{\theta}$ avec θ le diamètre apparent de l'objet observé à l'œil nu, à la distance 25 cm de cet objet et θ' le diamètre apparent de l'image définitive formée à l'infini.

Q16. Pourrait-on se contenter d'un microscope optique pour détecter la drépanocytose ?

Pour répondre à cette question, on tiendra compte du pouvoir séparateur angulaire de l'œil et du phénomène de diffraction. On supposera un microscope éclairé en lumière visible (400 - 800 nm) et dont l'ouverture numérique **ON** vaut 0,65. Tout raisonnement cohérent sera pris en compte.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2018
E3 – U3 : Sciences physiques et chimiques	Code : 18ABE3SPC1	Page 7/9

ANNEXE

« Ferrimat-kit » distribué par les laboratoires bioMérieux

Composition du coffret

Réactif 1 1 x 20 mL	R ₁	Fer. (Fe ³⁺) : C _{étal} = 2,00 mg.L ⁻¹
Réactif 2 : guanidine 2 x 80 mL	R ₂	chlorhydrate de guanidine 4,5 mol.L ⁻¹ hydroxylamine 230 mmol.L ⁻¹ tampon pH = 5
Réactif 3 : réactif de coloration 1 x 14 mL	R ₃	ferrozine : C ₃ = 44,4 mmol.L ⁻¹ tampon pH = 5

Mode opératoire manuel

1) Préparation de la solution de travail

À 40 mL de réactif 2, ajouter 1,5 mL de réactif 3.

2) Réalisation du test

Longueur d'onde : 562 nm

Zéro de l'appareil :

Lire le blanc échantillon contre le réactif 2

Lire l'échantillon et l'étalon contre le blanc réactif

Solutions à préparer	Blanc réactif	Étalon	Blanc échantillon	Échantillon
Eau distillée	200 µL			
Réactif 1		200 µL		
Plasma du patient			200 µL	200 µL
Réactif 2			1 mL	
Solution de travail	1 mL	1 mL		1 mL

Mélanger
Attendre 10 min à 20 – 25°C
Photométrer

3) Performance du test

La méthode analytique est linéaire pour des concentrations en fer comprises dans l'intervalle 4 µmol.L⁻¹ - 180 µmol.L⁻¹.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2018
E3 – U3 : Sciences physiques et chimiques	Code : 18ABE3SPC1	Page 8/9

Document réponse
À rendre avec la copie

