

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : STL
Spécialité biotechnologies

SESSION 2018

CBSV : sous épreuve coefficient 4
Biotechnologies : sous épreuve coefficient 4

JEUDI 21 JUIN 2018

Durée totale de l'épreuve: 4 heures

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités
sur des copies séparées.**

Dès que les sujets vous sont remis, assurez-vous qu'ils sont complets.

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

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialités :

- **Biotechnologies**
- **Sciences physiques et chimiques en laboratoire**

SESSION 2018

JEUDI 21 JUIN 2018

**Sous-épreuve écrite de
Chimie – biochimie – sciences du vivant**

Coefficient de cette sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de spécialité seront traités
sur des copies séparées.**

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

Ce sujet comporte **10** pages.

Partie 1 : pages 2 à 5

Partie 2 : pages 6 à 10

Les 2 parties sont indépendantes.

Importance du cholestérol dans l'organisme

Partie 1 : le cholestérol dans la membrane plasmique (8 points)

Le cholestérol est un lipide, constituant structural essentiel des membranes. Il sert aussi de précurseur à la formation de nombreuses molécules de l'organisme telles que les stéroïdes, les hormones sexuelles, les acides biliaires et la vitamine D.

L'objectif de cette partie est d'étudier la structure du cholestérol au sein de la membrane plasmique ainsi que sa voie de biosynthèse.

Structure du cholestérol

Le **document A** montre l'image de deux cellules adjacentes.

- 1.1. Indiquer la technique d'observation utilisée pour obtenir la photographie présentée dans le **document A**. Argumenter la réponse.
- 1.2. Citer une fonction exercée par la membrane plasmique.

Parmi les molécules constituant la membrane plasmique, on peut citer les phospholipides et le cholestérol.

Le **document B** présente la formule topologique de la molécule de cholestérol et la formule d'une espèce de phospholipides, la phosphatidylsérine, à pH = 7.

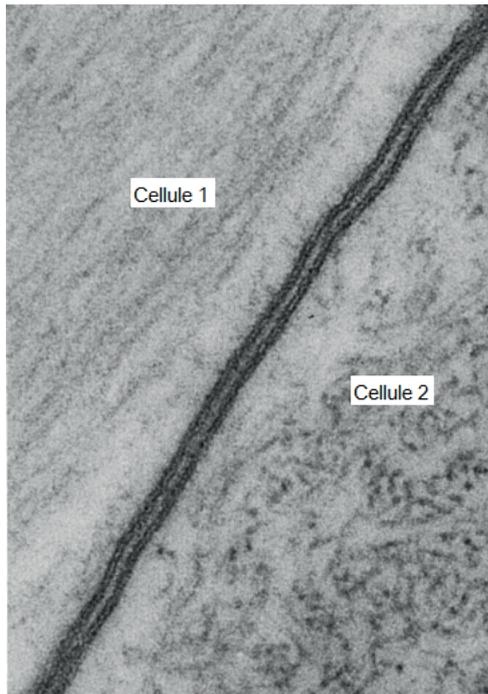
- 1.3. Nommer, sur la copie, les fonctions chimiques associées aux lettres a, b et c du **document B**.
- 1.4. Indiquer sur la copie, parmi les atomes de carbone numérotés 1, 2 et 3 du **document B**, lesquels sont asymétriques.
- 1.5. La représentation de la molécule de phosphatidylsérine présentée dans le **document B** fait apparaître deux parties notées P1 et P2. Préciser, en utilisant un vocabulaire adapté, les propriétés de chacune de ces deux parties en termes d'interactions avec l'eau.
- 1.6. Expliquer pourquoi la phosphatidylsérine, et plus largement les phospholipides, sont qualifiés d'espèces chimiques amphiphiles.
- 1.7. Préciser, en l'explicitant, la disposition adoptée par les deux espèces chimiques, phosphatidylsérine et cholestérol, au sein d'une membrane plasmique en milieu aqueux.

Biosynthèse du cholestérol

Le **document C** représente les dernières étapes de la voie de biosynthèse du cholestérol. La dernière réaction, développée dans le **document D**, est catalysée par l'enzyme 7-déshydrocholestérol réductase notée 7-DHCR.

- 1.8. Préciser, sur la copie, le nombre d'atomes d'hydrogène portés par les atomes de carbone 5 et 6 des molécules de 7-déshydrocholestérol d'une part et de cholestérol d'autre part.
- 1.9. À l'aide du **document E**, écrire les demi-équations d'oxydoréduction relatives aux couples mis en jeu dans la réaction décrite dans le **document D**.
- 1.10. À l'aide des données du **document E**, donner la condition que doit respecter le potentiel standard apparent d'oxydo-réduction du couple (7-DHC/cholestérol) noté E_1° pour que la réaction décrite dans le **document D** soit favorisée.

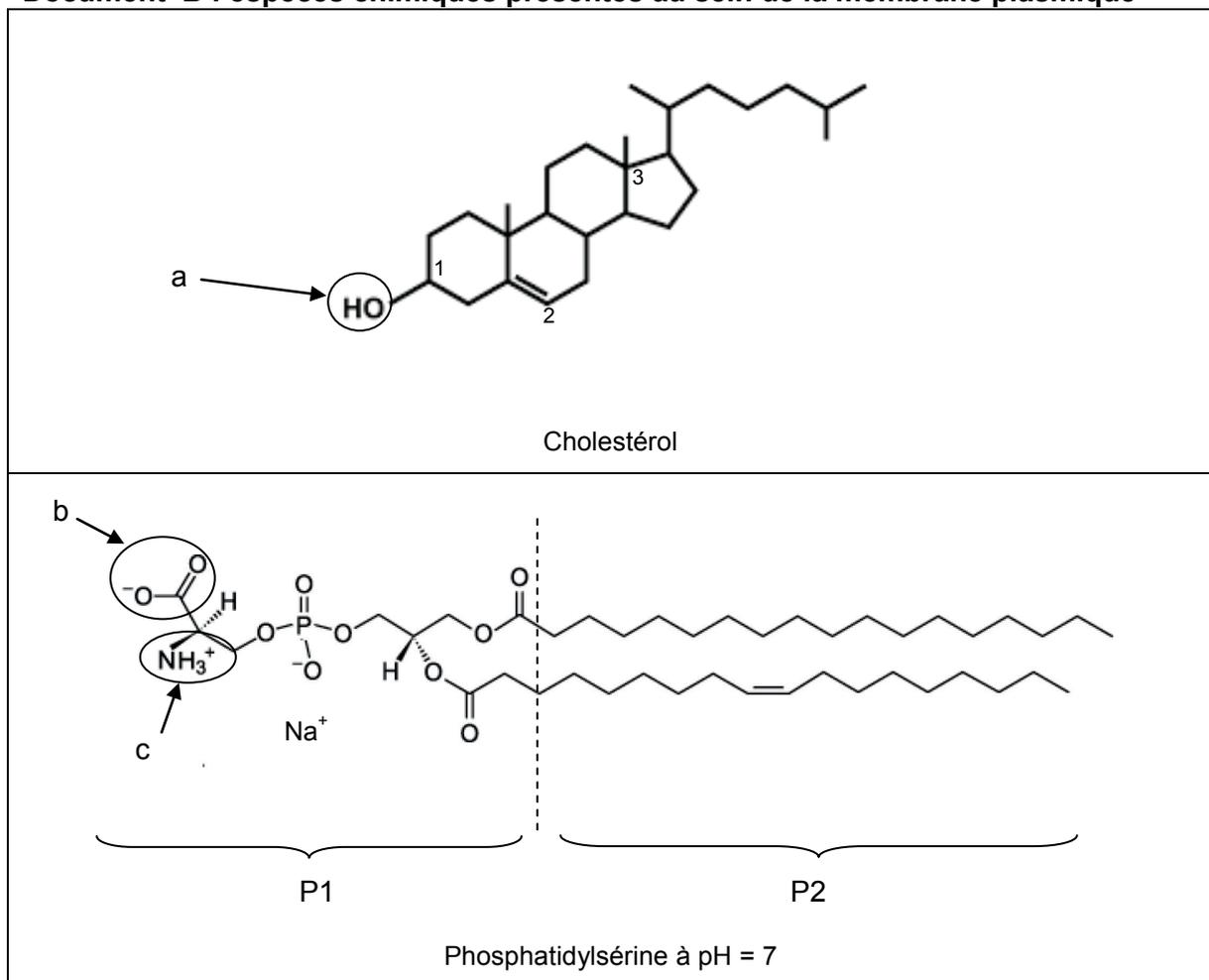
Document A : image de deux cellules adjacentes



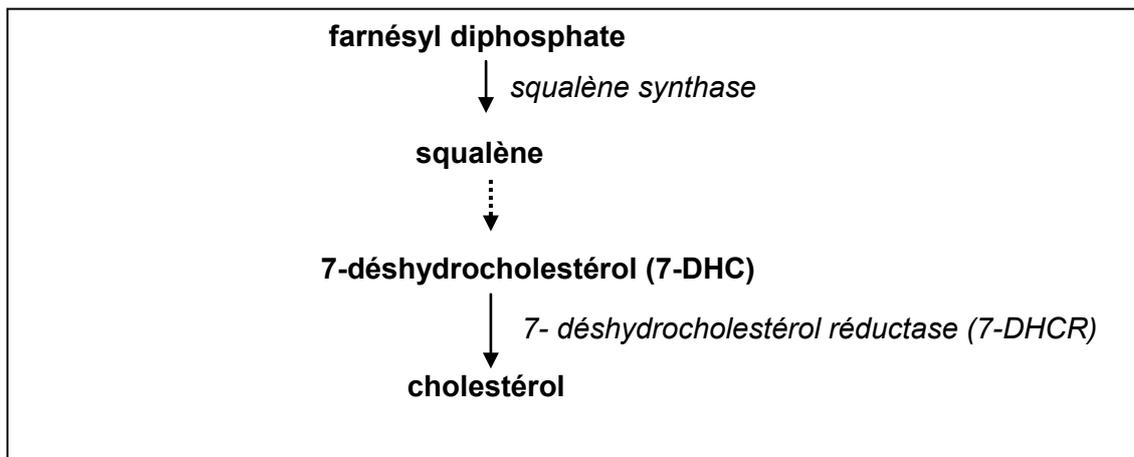
Remarque : la distance mesurée de l'espace situé entre les cellules est de 15 nm

Source : CIL 1088 (Cell Image Library accession number)

Document B : espèces chimiques présentes au sein de la membrane plasmique

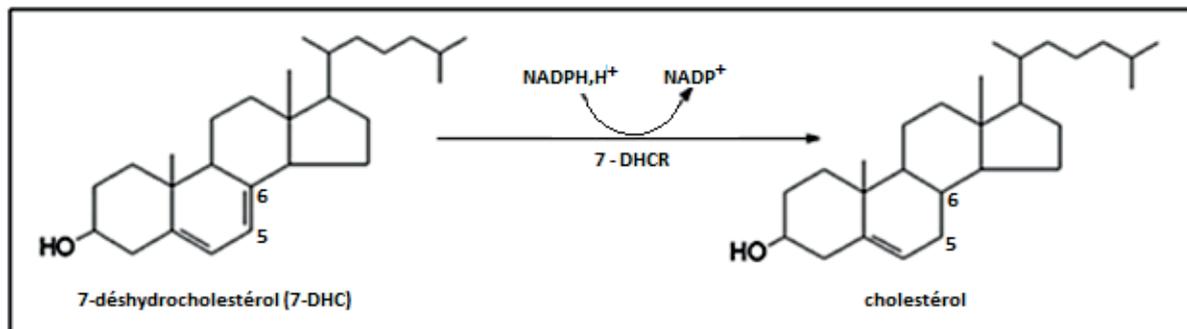


Document C : dernières étapes de la voie de biosynthèse du cholestérol



Source : document adapté de la revue « *Journal of Lipid Research*, mars 1998»

Document D : réaction catalysée par l'enzyme 7-déshydrocholestérol réductase (7-DHCR)



Document E : couples oxydant-réducteur

Lors de la réaction décrite dans le **document D**, deux couples oxydant-réducteur sont mis en jeu :

- couple 1 : 7-DHC/cholestérol ($E_1^{\circ'}$)
- couple 2 : NADP⁺/NADPH, H⁺ ($E_2^{\circ'} = - 0,32 \text{ V}$ à 37 °C et pH = 7)

Partie 2 : les dangers du déficit en cholestérol : le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (12 points)

Alors que l'excès de cholestérol dans l'organisme fait l'objet de nombreuses publications, son insuffisance est plus rarement mentionnée. Pourtant, en 1964 fut décrit le syndrome de Smith-Lemli-Opitz (syndrome SLO), une maladie génétique rare, liée à des mutations du gène DHCR7, codant l'enzyme 7-déshydrocholestérol réductase intervenant dans la synthèse du cholestérol à partir du 7-déshydrocholestérol.

Le syndrome SLO est caractérisé cliniquement par une microcéphalie (taille anormalement petite du crâne) accompagnée de diverses anomalies et d'un retard intellectuel sévère.

L'objectif de cette étude est de comprendre le lien entre une mutation possible du gène DHCR7 et le déficit en cholestérol observé chez les patients et d'étudier un modèle animal reproduisant le déficit en cholestérol du syndrome SLO en vue de tester différentes approches thérapeutiques.

Origine génétique du syndrome SLO

L'enzyme 7-déshydrocholestérol réductase (7-DHCR) est codée par le gène DHCR7. Parmi les nombreuses mutations pouvant affecter le gène DHCR7 et provoquer le syndrome SLO, figure la mutation W151X.

Le **document F** présente un extrait de la séquence nucléotidique de l'allèle de référence et d'un allèle muté du gène DHCR7. À l'aide des **documents de référence** :

- 2.1. Décrire la ou les différence(s) constatée(s) entre les séquences nucléotidiques et conclure sur le type de mutation.
- 2.2. Pour chacune des séquences de l'allèle du gène DHCR7, établir la séquence de l'ARN messager et en déduire la séquence correspondante d'acides aminés.
- 2.3. Comparer les séquences d'acides aminés obtenues.
- 2.4. Formuler une hypothèse sur une conséquence possible sur la structure et sur la fonction de l'enzyme 7-DHCR chez les patients homozygotes pour la mutation W151X.

Étude d'un modèle animal reproduisant le déficit en cholestérol du syndrome SLO en vue de tester différentes approches thérapeutiques.

À la fin des années 1990, des scientifiques ont construit un modèle animal cherchant à reproduire chez le rat un déficit en cholestérol. L'objectif du modèle est de provoquer l'anomalie biochimique censée se produire dans le cas du syndrome SLO. Pour cela, ils ont procédé à l'expérience décrite dans le **document G**.

- 2.5. Comparer les résultats obtenus pour les deux lots de rats.
- 2.6. Conclure sur l'effet de la molécule BM 15.766 sur l'activité de l'enzyme 7-DHCR.

- 2.7. Exploiter ces résultats pour confirmer ou non l'intérêt de ce modèle animal dans l'étude du syndrome SLO.

Avec ce modèle animal, les scientifiques ont testé une possibilité de traitement thérapeutique du déficit en cholestérol. L'expérience et les résultats sont présentés dans le **document H**.

- 2.8. Analyser les résultats présentés dans le **document H**.
- 2.9. En déduire si un régime alimentaire adapté est une solution envisageable pour traiter un déficit en cholestérol chez le rat.

Synthèse

- 2.10. Rédiger une synthèse sur l'origine du syndrome SLO et proposer, d'après cette étude chez le rat, un traitement qui pourrait être envisagé chez les patients atteints de SLO.

Document F : séquences nucléotidiques des brins non transcrits de l'allèle de référence et de l'allèle muté du gène DHCR7 comportant 27 239 paires de bases

n° de nucléotides	...410	433...
Allèle de référence	5'...CTG CAA GCC TGG CTC CTC ACG CAC...3'	
Allèle muté W151X	5'...CTG CAA GCC TGA CTC CTC ACG CAC...3'	

Document G : étude des effets de la molécule BM 15.766 sur les stérols plasmatiques pour reproduire un déficit en cholestérol chez le rat

Les concentrations plasmatiques de cholestérol et de 7-déshydrocholestérol ont été mesurées :

- d'une part, chez des rats traités par une molécule, la BM 15.766, qui agit sur l'enzyme 7-déshydrocholestérol réductase,
- d'autre part, chez des rats non traités.

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Lots de rats	Lot de rats non traités	Lot de rats traités par BM 15.766
Concentration plasmatique moyenne de cholestérol (mg.dL ⁻¹)	48,1	15,7
Concentration plasmatique moyenne de 7-déshydrocholestérol (mg.dL ⁻¹)	Traces	17,0

On considère que la valeur physiologique de la cholestérolémie des rats est de 48 mg.dL⁻¹.

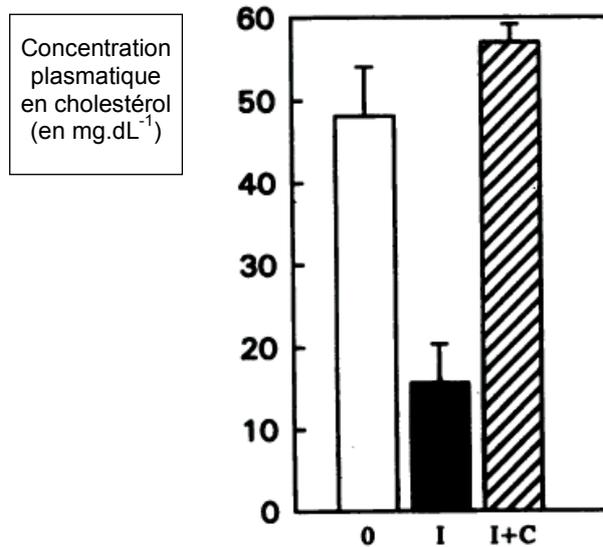
Source : article « Reproducing abnormal biosynthesis as seen in the Smith-Lemli-Opitz syndrome by inhibiting the conversion of 7-dehydrocholesterol to cholesterol in rats » par Xu et auteurs associés, J Clin Invest 1995

Document H : effets d'une alimentation enrichie en cholestérol sur la concentration plasmatique en cholestérol

Les concentrations massiques de cholestérol plasmatique ont été mesurées chez différents lots de rats ayant subi, pendant deux semaines, les traitements suivants :

- lot de rats non traités (**symbole 0**) ;
- lot de rats traités par la molécule BM 15.766 (**Symbole I**) ;
- lot de rats traités par la molécule BM 15.766 et recevant une alimentation enrichie en cholestérol (**Symbole I + C**).

Les résultats sont présentés dans la figure ci-dessous :



Source : article « Reproducing abnormal biosynthesis as seen in the Smith-Lemli-Opitz syndrome by inhibiting the conversion of 7-dehydrocholesterol to cholesterol in rats » par Xu et auteurs associés, J Clin Invest 1995

Documents de référence

Les différents types de mutation et leur conséquence

Type de mutation	Conséquence dans la séquence nucléotidique
Insertion	Ajout d'un nucléotide
Délétion	Suppression d'un nucléotide
Substitution	Remplacement d'un nucléotide

Tableau du code génétique

		DEUXIEME NUCLEOTIDE								
		U	C	A	G					
PREMIER NUCLEOTIDE	U	UUU	Phé	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC	Phé	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G
						TROISIEME NUCLEOTIDE				

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

Série : Sciences et Technologies de Laboratoire

Spécialité : Biotechnologies

SESSION 2018

JEUDI 21 JUIN 2018

Sous-épreuve écrite de Biotechnologies

Coefficient de la sous-épreuve : 4

Ce sujet est prévu pour être traité en deux heures.

**Les sujets de CBSV et de biotechnologies seront traités
sur des copies séparées.**

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

Ce sujet comporte **9** pages.

Compétences évaluées					
C1 Extraire une information	C2 Analyser un document	C3 Expliquer une démarche	C4 Argumenter une réponse	C5 Construire une synthèse	C6 S'exprimer à l'écrit
1 point	5 points	5 points	5 points	3 points	1 point

DIAGNOSTIC D'UNE GLOMÉRULONÉPHRITE AIGÜE D'ORIGINE INFECTIEUSE

Un garçon de 7 ans est hospitalisé pour un grand état de fatigue avec des œdèmes (gonflements) du visage et des membres inférieurs, des lombalgies (douleurs dans le bas du dos) et une hypertension artérielle.

L'ensemble de ces signes cliniques oriente le médecin vers le diagnostic d'une glomérulonéphrite aigüe (GNA), pathologie rénale conduisant à une insuffisance rénale qui se caractérise par :

- une diminution du volume d'urine émis en 24 heures,
- une augmentation de la concentration plasmatique en solutés, en particulier la créatinine.

La GNA chez l'enfant est, le plus souvent, une complication d'une angine à streptocoques non guérie. La principale espèce de streptocoque impliquée est *Streptococcus pyogenes* (streptocoque du groupe A).

Le médecin débute un traitement antibiotique à base de pénicilline car une infection à *Streptococcus pyogenes* est suspectée.

Il prescrit les analyses suivantes :

- un dosage de la créatinine plasmatique pour confirmer le diagnostic de GNA ;
- la recherche de *Streptococcus pyogenes* dans un prélèvement de gorge et le titrage des anticorps dirigés contre *Streptococcus pyogenes* dans le sérum, pour vérifier l'origine infectieuse de la GNA ;
- un antibiogramme, pour confirmer le choix du traitement prescrit.

1. RECHERCHE D'UNE INSUFFISANCE RENALE DUE A LA GLOMÉRULONÉPHRITE AIGÜE

La créatinine est un déchet métabolique produit par l'organisme et éliminé par les reins dans les urines. En cas d'insuffisance rénale, l'élimination urinaire de la créatinine est diminuée, ce qui entraîne une augmentation de la créatininémie (concentration plasmatique en créatinine).

Un laboratoire d'analyses effectue le dosage de la créatinine sur un échantillon de plasma de ce patient âgé de 7 ans.

Le **document 1** présente la fiche technique du dosage de la créatinine plasmatique ainsi que les indications de mesure obtenues pour ce patient.

Q1. A l'aide du principe, montrer que la réaction (1) est la « réaction principale » et que la réaction (4) est la « réaction indicatrice ».

Q2. Expliquer pourquoi le dosage de la créatinine est qualifié de méthode en point final.

Q3. Expliquer la notion de limite de linéarité d'une méthode de dosage. Montrer à l'aide des valeurs physiologiques, que la dilution du plasma n'est *a priori* pas nécessaire pour effectuer ce dosage.

Q4. Etablir les équations aux unités et aux valeurs numériques en vue du calcul de $\rho_{(\text{créatinine}; \text{plasma})}$, exprimées en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Effectuer le calcul de la créatininémie.

Q5. Interpréter le résultat obtenu pour le patient et conclure.

2. RECHERCHE DE L'ORIGINE INFECTIEUSE DE LA GLOMÉRULONÉPHRITE AIGÜE

Afin de vérifier l'origine infectieuse de la GNA, les analyses suivantes sont entreprises :

- recherche de *Streptococcus pyogenes* dans un prélèvement de gorge du patient ;
- titrage des anticorps dirigés contre *Streptococcus pyogenes*.

2.1. Recherche de *Streptococcus pyogenes* au niveau d'un prélèvement de gorge

Le **document 2** présente les principaux caractères phénotypiques utilisés pour l'identification des streptocoques.

La démarche d'identification d'un streptocoque débute par une mise en culture sur gélose enrichie au sang et additionnée d'acide nalidixique et de colimycine (gélose ANC), dont les caractéristiques sont présentées dans le **document 3**.

Q6. Expliquer l'intérêt d'utiliser ce milieu pour sélectionner un streptocoque dans un prélèvement.

Q7. Présenter deux arguments justifiant la présence de sang dans ce milieu pour rechercher l'espèce *pyogenes* dans un prélèvement.

Q8. Préciser l'aspect des colonies suspectes.

L'analyse des colonies suspectes obtenues se poursuit par une coloration de Gram et un test enzymatique.

Q9. Présenter le résultat attendu à la coloration de Gram et indiquer le test enzymatique à réaliser.

Un test de sensibilité à la bacitracine et à l'optochine est réalisé à partir d'une suspension de colonie suspecte afin de confirmer l'identification bactérienne. Les résultats sont présentés dans le **document 4**.

Q10. Exposer les arguments en faveur de la confirmation d'identification de *Streptococcus pyogenes*.

2.2. Titrage des anticorps dirigés contre *Streptococcus pyogenes*

Les streptocoques produisent de nombreuses enzymes telles que la streptodornase ou la streptolysine. Ces enzymes sont des molécules immunogènes qui induisent chez l'hôte la synthèse d'anticorps spécifiques.

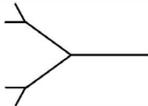
Le titrage des anticorps anti-streptodornase dans le sérum, permet de vérifier l'origine de l'infection. Cette méthode de titrage est présentée dans le **document 5**.

Q11. A l'aide du principe, identifier l'antigène dans la réaction anticorps-antigène mise en jeu dans ce dosage.

Q12. Réaliser un schéma de synthèse représentant les interactions moléculaires, en précisant la couleur obtenue, dans chacun des cas suivants :

- cas n°1 : neutralisation totale de l'activité streptodornase ;
- cas n° 2 : absence de neutralisation de l'activité streptodornase.

Pour cela, utiliser les éléments de représentation proposés dans le tableau ci-dessous :

Elément représenté	Symbole
Streptodornase	
Anticorps anti-streptodornase = ASD	
ADN	
Nucléotides	

Les résultats du titrage des anticorps anti-streptodornase dans le sérum du patient sont présentés dans le **document 6**.

Q13. Expliquer la couleur obtenue pour les témoins positif et négatif. Préciser le rôle de chacun de ces témoins.

Q14. Déterminer le titre en anticorps du sérum testé en expliquant la démarche. Conclure sur l'origine infectieuse de la pathologie.

3. VÉRIFICATION DU CHOIX DU TRAITEMENT

Un antibiogramme est demandé par le médecin afin de confirmer le choix de l'antibiotique prescrit. Les résultats obtenus sont présentés dans le **document 7**.

Q15. Analyser les résultats de l'antibiogramme et confirmer le choix de l'antibiothérapie prescrite par le médecin.

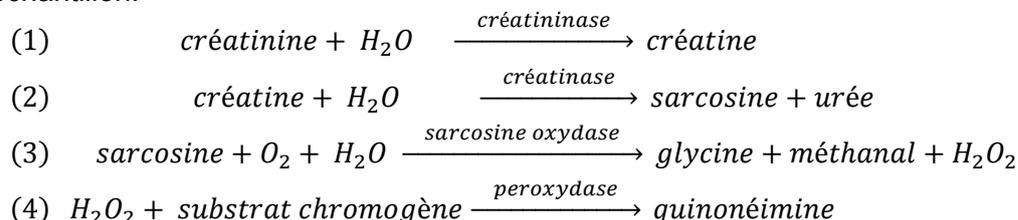
SYNTHÈSE

Q16. Rédiger une synthèse présentant les conclusions des différentes analyses effectuées permettant le diagnostic et la confirmation du choix de l'antibiothérapie.

DOCUMENT 1 : DOSAGE DE LA CRÉATININE PLASMATIQUE DU PATIENT

Principe

Cette méthode permet le dosage de la créatinine dans le sérum, le plasma ou l'urine. Elle est basée sur une succession de réactions enzymatiques totales aboutissant à la formation d'une molécule colorée, la quinonéimine. Cette molécule présente un maximum d'absorption à 545 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de créatinine initialement présente dans l'échantillon.



Réactifs et échantillons

- Solution étalon de créatinine à 20 mg·L⁻¹
- Solution réactionnelle (tampon pH 8,1, substrat chromogène, enzymes)
- Sérum ou plasma hépariné

Mode opératoire

	Témoin réactif	Étalon	Essai
Eau distillée (µL)	20	–	–
Solution étalon de créatinine (µL)	–	20	–
Échantillon (µL)	–	–	20
Solution réactionnelle (mL)	1,0	1,0	1,0

Homogénéiser, attendre un temps minimum de 20 minutes.

Lire les absorbances à 545 nm contre le témoin réactif.

Equation aux grandeurs et domaine de linéarité

$$\rho_{(\text{créatinine}; \text{échantillon})} = \frac{A_{\text{essai}}}{A_{\text{étalon}}} \times \rho_{(\text{créatinine}; \text{étalon})}$$

Le domaine de linéarité est de 0,3 à 300,0 mg·L⁻¹.

Valeurs physiologiques

	Nouveau-né	Enfant			Adulte	
		< 5 ans	5 à 13 ans	14 à 18 ans	Homme	Femme
Créatininémie (mg·L ⁻¹)	3 – 8	2 – 5	3 – 7	5 – 10	7 – 13	6 – 11

Donnée : En situation pathologique, la créatininémie ne dépasse pas un taux 10 fois supérieur aux valeurs physiologiques.

Indications de mesure obtenues pour le patient

	Étalon	Essai
Absorbance à 545 nm	0,480	0,288

DOCUMENT 2 : CARACTÈRES PHÉNOTYPIQUES DES STREPTOCOQUES

	Streptocoques groupables			Streptocoques non groupables	
	Streptocoque du groupe A <i>Streptococcus pyogenes</i>	Streptocoque du groupe B <i>Streptococcus agalactiae</i>	Streptocoques du groupe D Entérocoques et non entérocoques	Streptocoques oraux	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Culture sur milieu ordinaire	–	Possible	+	–	–
Aspect microscopique	Coques ovalaires, longues chaînettes	Coques ovalaires, longues chaînettes	Coques ovalaires, courtes chaînettes	Coques ovalaires, courtes chaînettes	Diplocoques en flamme de bougie
Coloration de Gram	+	+	+	+	+
Catalase	–	–	–	–	–
Hémolyse	β	β ou NH	α ou β ou NH	α ou NH	α
Sensibilité à la bacitracine	+	–	–	–	–
Sensibilité à l'optochine	–	–	–	–	+
Sensibilité à l'ANC	–	–	–	–	–

Données :

Hémolyse signifie lyse des globules rouges

Hémolyse α : halo verdâtre autour de la colonie

Hémolyse β : halo de décoloration autour de la colonie

NH : non hémolytique (absence de halo)

DOCUMENT 3 : CARACTÉRISTIQUES DE LA GÉLOSE ANC

COMPOSITION	Peptones d'origine bovine et porcine Amidon de maïs Chlorure de sodium Sang de mouton Acide nalidixique (AN) Colimycine (C) Agar Eau distillée, quantité suffisante pour	23 g 1 g 5 g 50 mL 0,15 g 0,010 g 13,5 g 1 L
LECTURE	Après incubation, observer la culture bactérienne. Noter la présence éventuelle d'hémolyses caractéristiques.	

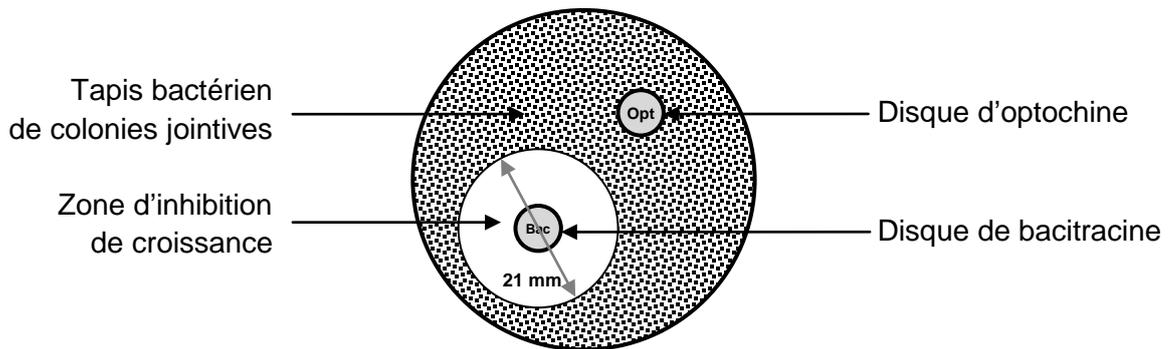
Donnée : *L'association de deux antibiotiques, l'acide nalidixique et la colimycine inhibe la croissance des bactéries Gram négatif et des bacilles Gram positif.*

DOCUMENT 4 : RÉSULTATS DU TEST DE SENSIBILITÉ À LA BACITRACINE ET À L'OPTOCHINE

Un test de sensibilité à la bacitracine et à l'optochine est réalisé sur la souche suspecte de *Streptococcus pyogenes* isolée à partir du prélèvement de gorge du patient.

Une gélose Mueller-Hinton au sang de cheval à 5 % est ensemencée par écouvillonnage à partir d'une suspension de *Streptococcus pyogenes*. Les disques d'optochine et de bacitracine sont déposés à la surface de la gélose.

L'aspect de la gélose après incubation pendant 24 h à 37 °C sous atmosphère enrichie en CO₂ est schématisé, à l'échelle 1/1, ci-dessous :



Donnée : La limite de sensibilité correspond à un diamètre de 15 mm.

DOCUMENT 5 : MÉTHODE DE TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-STREPTODORNASE

(D'après la fiche technique du coffret de dosage DOR-BAR ELITech group®.)

Principe

La streptodornase est une enzyme produite par les streptocoques du groupe A, qui catalyse l'hydrolyse de l'ADN en nucléotides, lorsqu'elle est libre en solution.

Le principe du titrage est basé sur la neutralisation de l'activité enzymatique de la streptodornase par les anticorps anti-streptodornase (ASD), éventuellement présents dans le sérum à tester, qui se fixent sur l'enzyme.

L'activité streptodornase est visualisée grâce au bleu de toluidine qui est bleu en présence d'ADN et vire au rose en présence de nucléotides.

Matériel et réactifs

- Barrette de 10 puits :
 - puits 1 à 8 contenant des quantités croissantes de streptodornase déshydratée (correspondant à 100 à 1200 U·mL⁻¹)
 - puits 9 « T- » : présence de streptodornase à 100 U·mL⁻¹
 - puits 10 « T+ » : absence de streptodornase
- Flacon de diluant « D » : 1 mL
- Flacon contenant de l'ADN et du bleu de toluidine « ADN + BT » : 1 mL

Mode opératoire

- Diluer le sérum à tester au 1/80 à l'aide du flacon de diluant « D ».
- Distribuer 50 µL de sérum dilué « S » dans tous les puits 1 à 8 de la barrette contenant la streptodornase et dans le puits « T+ ».
- Distribuer 50 µL de diluant « D » dans le puits « T- ».
- Distribuer 50 µL de « ADN + BT » dans les 10 puits.
- Agiter manuellement 1 minute.
- Incuber 4 heures à 37 °C puis observer la couleur de chacun des puits.

Interprétation

- **Absence de virage** (milieu bleu ou bleu violet)

Une absence de virage de couleur du milieu dans le puits correspond à la présence d'anticorps anti-streptodornase B (présent dans le sérum à tester) en quantité suffisante pour neutraliser la streptodornase B présente dans le puits de la galerie.

- **Présence de virage** (milieu rose ou rose violet)

Une présence de virage, au rose ou au rose violet, du milieu dans le puits, correspond à une absence d'anticorps anti-streptodornase B ou à une présence en quantité insuffisante pour neutraliser la streptodornase B présente dans le puits de la galerie.

DOCUMENT 6 : RÉSULTATS DU TITRAGE DES ANTICORPS ANTI-STREPTODORNASE

(D'après la fiche technique du coffret de dosage DOR-BAR ELITech group®)

N° puits	1	2	3	4	5	6	7	8	T-	T+
Concentration en streptodornase (U·mL ⁻¹)	100	150	200	300	400	600	800	1200	100	0
Couleur des puits	bleu	bleu	bleu	bleu	bleu	rose	rose	rose	rose	bleu

Les témoins « T- » et « T+ » donnent des résultats conformes et l'analyse est validée dans les conditions opératoires du jour.

Données :

- Le titre du sérum à tester en U·mL⁻¹ correspond à la concentration du dernier puits ne changeant pas de couleur (dernier puits resté bleu ou bleu violet)
- Un titre supérieur à 200 U·mL⁻¹ chez l'adulte et à 300 U·mL⁻¹ chez l'enfant est considéré comme pathologique et constitue un sérodiagnostic positif pour *Streptococcus pyogenes*.

DOCUMENT 7 : RÉSULTATS DE L'ANTIBIOGRAMME

Cinq antibiotiques sont testés à partir d'une colonie de *S. pyogenes*.

Nom de l'antibiotique	Diamètres (mm)		
	Mesurés	Diamètre mesuré < d	Diamètre mesuré ≥ D
		Résistant	Sensible
Pénicilline G	40	18	
Gentamicine	15	17	
Érythromycine	23	18	21
Lincomycine	22	17	21
Tétracycline	27	20	23

Données

d : diamètre critique inférieur

D : diamètre critique supérieur

Source : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2016.