SESSION 2022
Métropole

BACCALAURÉAT PROFESSIONNEL

E5 TECHNIQUES PROFESSIONNELLES

Option : Laboratoire contrôle qualité

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Aucun**

Le sujet comporte 10 pages

Les annexes A et B sont à rendre avec la copie après avoir été numérotées

---

SUJET

Les documents et le contexte ont été modifiés pour les besoins de l'épreuve

UNE MOLÉCULE ANTICOAGULANTE : L'HÉPARINE

L'héparine est un anticoagulant, c'est-à-dire une molécule qui empêche la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins. Il s'agit d'un médicament très couramment utilisé, en particulier en milieu hospitalier.

La société pharmaceutique SAFARMI produit de l'héparine purifiée extraite de mucus de porc. Pour les marchés européens, la réglementation impose que l'héparine soit uniquement obtenue à partir de muqueuse intestinale d'origine porcine.

La qualité de la purification de l'héparine est contrôlée dans le laboratoire interne de la société SAFARMI. Vous êtes technicien(ne) dans ce laboratoire et vous devez vous assurer de :

- l'origine exclusivement porcine du mucus ;
- l'absence de germes pathogènes dans l'héparine extraite ;
- la pureté de l'héparine extraite.

1 Contexte des activités des entreprises (4 points)

Le **document 1** présente le rôle des différents acteurs de la production de l'héparine.

1.1 Citer le secteur d'activité lié aux abattoirs.

À l'aide du **document 2,**

1.2 Préciser le secteur d'activité de l'entreprise SAFARMI.

1.3 Expliquer la nécessité de garantir, pour la santé du patient, l'origine exclusivement porcine du mucus.

1.4. Préciser en quoi l'origine de l'héparine brute, extraite du mucus d'origine intestinale, présente des risques microbiologiques.

2 Contrôle de l'origine porcine du mucus (6 points)

Pour répondre aux besoins mondiaux en héparine, près de 500 millions de porcs sont nécessaires. Pour contrôler l'absence de fraudes, l'entreprise SAFARMI doit s'assurer qu'il s'agit bien de mucus de porc. L'objectif est de déterminer la présence d'ADN d'origine porcine et de confirmer l'absence d'ADN de ruminants.

Dans le laboratoire interne, des analyses par PCR sont donc réalisées sur l'héparine brute. La PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique d'amplification de séquences d'ADN cibles présentes à l'état de traces. Leur multiplication répétée, grâce à des « amorces » et à un système enzymatique (Taq polymérase), augmente le nombre d'exemplaires jusqu'à ce qu'ils puissent être mis en évidence par migration électrophorétique.

L'annexe A montre que l'amplification de l'ADN est réalisée grâce à différentes étapes.

2.1 Compléter **l'annexe A** (à rendre avec la copie après avoir été numérotée) en nommant les étapes 1, 2 et 3 et en complétant les légendes au niveau des flèches.

2.2 Justifier la nécessité de chaque étape.

Pour réaliser cette PCR, l'utilisation d'un mélange réactionnel (mix) est nécessaire.

2.3 Justifier la nécessité de la présence de 4 des constituants de ce mélange réactionnel, indispensables à l'amplification.

Le laboratoire cherche à développer une autre méthode de détection de molécules d'origine bovine. Votre laboratoire envisage d'utiliser une technique ELISA développée par l'INRAE (**document 3**). Vous devez évaluer l'opportunité d'utiliser cette nouvelle méthode dans le laboratoire interne de la société SAFARMI.

En vous appuyant sur les **documents 3 et 4,**

2.4 Schématiser les différentes étapes de la méthode ELISA directe sandwich.

2.5 Conclure quant à l'opportunité de choisir la méthode ELISA, en justifiant à l'aide de trois arguments.

3 Risques microbiologiques (4 points)

L'héparine, qui est un médicament injectable, doit être stérile. Ainsi, le laboratoire interne réalise deux contrôles microbiologiques en cours de fabrication :

- dénombrement des Germes Aérobies Totaux (GAT) ;
- dénombrement des Moisissures et Levures (ML).

Ces dénombrements se font par filtration sur membrane (**document 5**).

3.1 Préciser l'intérêt de ces deux dénombrements.

3.2 Justifier la nécessité de la stérilité du produit fini.

3.3 Justifier le choix de la méthode de dénombrement par filtration.

3.4 Indiquer la nature des milieux utilisés.

4 Recherche de traces de méthanol et d'éthanol par chromatographie en phase gazeuse (CPG) dans l'héparine purifiée (6 points)

4.1 À l'aide du **document 1**, justifier cette recherche dans l'héparine purifiée.

Le laboratoire interne de la société SAFARMI possède un appareil de chromatographie en phase gazeuse (CPG) dédié à l'analyse de différents alcools.

4.2 Légender le **schéma de l'annexe B** (à rendre avec la copie après avoir été numérotée).

4.3 Justifier, à l'aide des données du **document 6**, l'utilisation de la CPG pour la recherche de l'éthanol et du méthanol.

Une solution étalon a été préparée. Elle contient trois alcools en solution dans l'eau : le méthanol, l'éthanol et le propanol. Injectée en CPG, cette solution a donné lieu au chromatogramme présenté dans le **document 6**.

4.4 Identifier les alcools correspondant aux pics 1, 2 et 3 sachant que plus un alcool a une température d'ébullition élevée, plus il a d'affinité avec la phase stationnaire.

La recherche de traces de méthanol et d'éthanol par CPG a lieu sur de l'héparine purifiée, qui se présente sous la forme d'une poudre.

4.5 Préciser, en les justifiant, 2 étapes pré-analytiques indispensables que vous devez mettre en œuvre avant de réaliser l'injection.

L'injection de la solution aqueuse obtenue après les 2 étapes pré-analytiques a permis d'obtenir un chromatogramme. En accord avec votre responsable, vous identifiez parfaitement la présence de méthanol dans l'échantillon d'héparine que vous analysez.

4.6 Indiquer comment vous avez pu effectuer cette identification.

4.7 Expliquer la démarche qui va permettre, à partir du chromatogramme du **document 6**, de réaliser l'analyse quantitative de cet alcool.

DOCUMENT 1

Rôles des différents acteurs intervenant dans la production d'héparine

Etapes	Acteurs	
Collecte des intestins de porcs (avec stabilisation optionnelle du mucus) ⇩	Abattoirs	1
Collecte du mucus à partir des intestins (avec stabilisation optionnelle du mucus) ⇩ Digestion du mucus purification par traitement sur résine pour obtenir le brut de l'héparine brute	Sites de fabrication du brut de l'héparine brute SAFARMI et usines chinoises	2
⇩ Traitement sur résine Précipitation avec méthanol et éthanol Filtration - Séchage pour obtenir l'héparine brute	Site de fabrication de l'héparine brute SAFARMI	
⇩ Purification/oxydation pour obtenir l'héparine purifiée	Site de fabrication de l'héparine purifiée SAFARMI	

Source modifiée d'après « État des lieux sur les héparines » - ansm.www.sante.fr

DOCUMENT 2

BON À SAVOIR

L'héparine ne doit provenir que du porc

L'héparine est un anti-coagulant utilisé depuis 1936. Elle a été découverte dans le foie, en 1916, par un jeune étudiant américain Jay McLean, de l'hôpital John-Hopkins, de Baltimore. On n'en comprendra le mécanisme qu'en 1970. Cette origine explique son nom : *hêpar* désigne le foie en grec. Mélange complexe de polysaccharides (sucres), l'héparine fut d'abord extraite du foie et du poumon de bovins dans les années 30, puis fabriquée



L'héparine est extraite de la muqueuse intestinale du porc (vue ici au microscope).

à partir d'intestins de bovins et de porcs. Depuis les débuts de la crise de la vache folle, seule l'héparine d'origine porcine est autorisée en Europe et aux États-Unis. On l'utilise pour lutter contre la formation de caillots, les thromboses, les phlébites, les complications circulatoires (chez les diabétiques), dans le traitement de l'infarctus et, de façon préventive, en chirurgie orthopédique. Les indications de l'héparine pourraient être étendues, car on lui a découvert des propriétés anti-inflammatoires, anti-cancéreuses et antivirales. La consommation d'héparine ne cesse d'augmenter.

Source : 60 millions de consommateurs - 2005

DOCUMENT 3

Des travaux conduits à l'INRAE ont mis en évidence une protéine (aprotinine) qui n'existe que chez les bovins. De plus, cette protéine est synthétisée par les mêmes cellules que celles qui synthétisent l'héparine (mastocytes). Enfin, cette protéine de petite taille et résistante aux traitements thermiques, a une charge électrique très positive. De ce fait, elle est libérée de ces cellules étroitement associée à l'héparine (elle-même chargée très négativement), d'où les difficultés rencontrées par les chercheurs pour la caractériser. Ces qualités en font une cible parfaite pour dépister l'héparine bovine, et l'équipe INRAE a donc développé une technique ELISA* (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) pour son dosage (Levieux et al, 2001).

*ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

Source : document adapté à partir http://pharmacritique.20minutes-blogs.fr/archive/2011/02/20/heparines-production-commercialisation-securite-des-heparine1.html

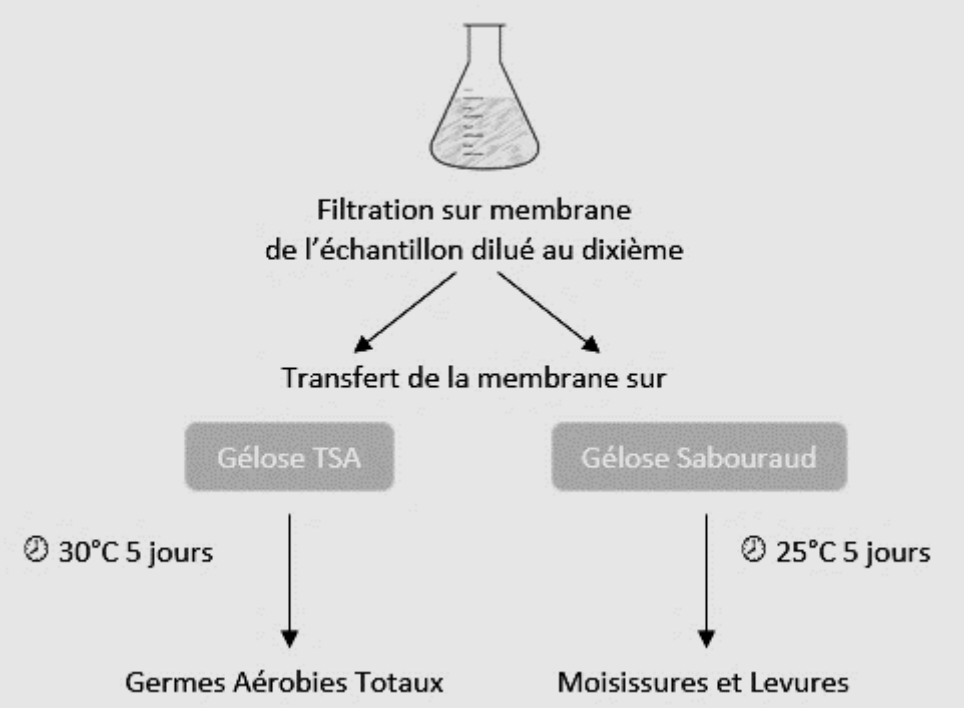
DOCUMENT 4

Les essais comparatifs effectués en 1999 lors de sa mise au point ont montré que cet ELISA était 30 à 300 fois plus sensible que la PCR (selon le type d'amorce utilisé pour la PCR). La technique est infiniment plus simple que la PCR et non sujette à des contaminations autres que par des cellules mastocytaires de bovins, cellules que l'on trouve majoritairement dans les tissus d'où on extrait l'héparine : intestin et poumon. Elle est donc plus fiable.

Source : document adapté à partir http://pharmacritique.20minutes-blogs.fr/archive/2011/02/20/heparines-production-commercialisation-securite-des-heparine1.html

DOCUMENT 5

Dénombrement par filtration sur membrane



Gélose Trypto-Caséine-Soja (TSA)

Hydrolysat pancréatique de caséine	15 g
Peptone de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

pH (25°C) final = 7,3 ± 0,2

Gélose Sabouraud

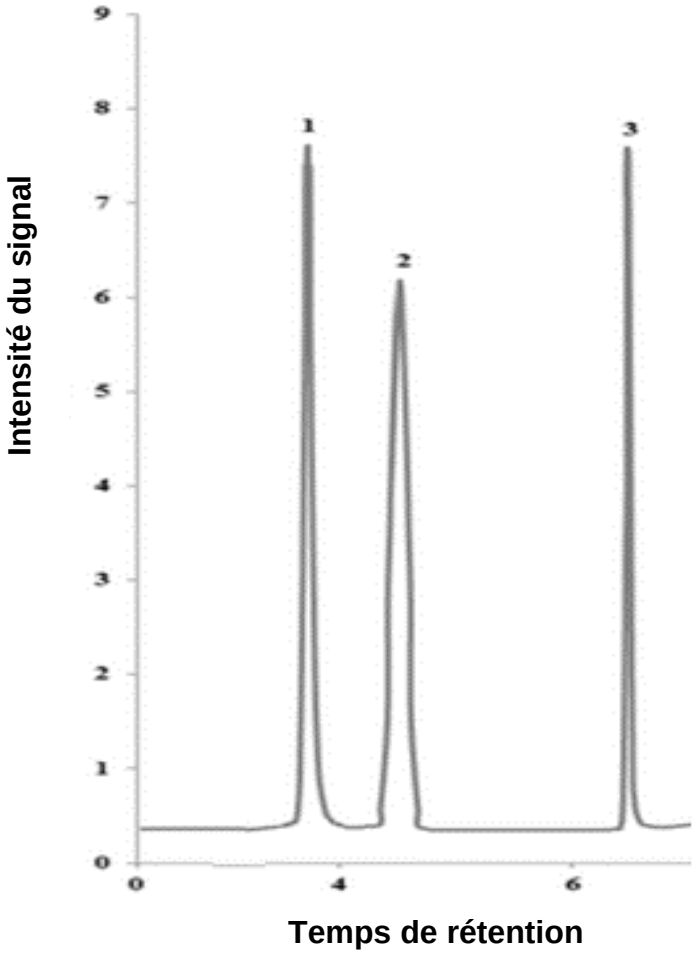
Peptone	10 g
Glucose	20 g
Chloramphénicol	0,5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 mL

pH (25°C) final = 5,8 ± 0,2

Document créé pour les besoins de l'épreuve

DOCUMENT 6

Chromatogramme d'un mélange de méthanol, éthanol et propanol



Alcool	Température d'ébullition en °C à la pression normale
Méthanol	64,7
Éthanol	78,4
Propanol	97,5

d'après https://www.researchgate.net/figure/The-gas-chromatogram-for-the-alcohols-mixture-involves-1-methanol-2-ethanol-3_fig2_305867018

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)

Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

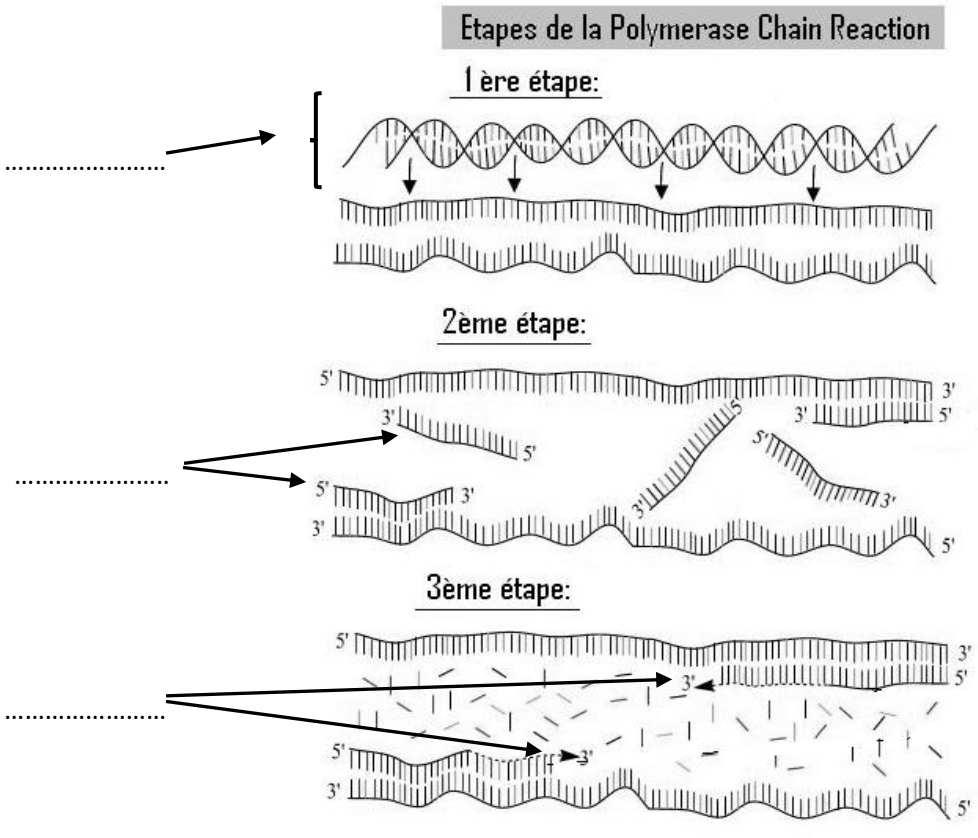
Centre d'épreuve :

Date :

N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

ANNEXE A ***(à compléter, numéroter et à rendre avec la copie)***



1ère étape : .....

2ème étape : .....

3ème étape : .....

Source modifiée d'après http://toutsurladn-policescientifique.e-monsite.com/pages/amplification-multiplication-de-l-adn-pcr.html

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

NOM :

(EN MAJUSCULES)

Prénoms :

Date de naissance :

EXAMEN :

Spécialité ou Option :

EPREUVE :

Centre d'épreuve :

Date :

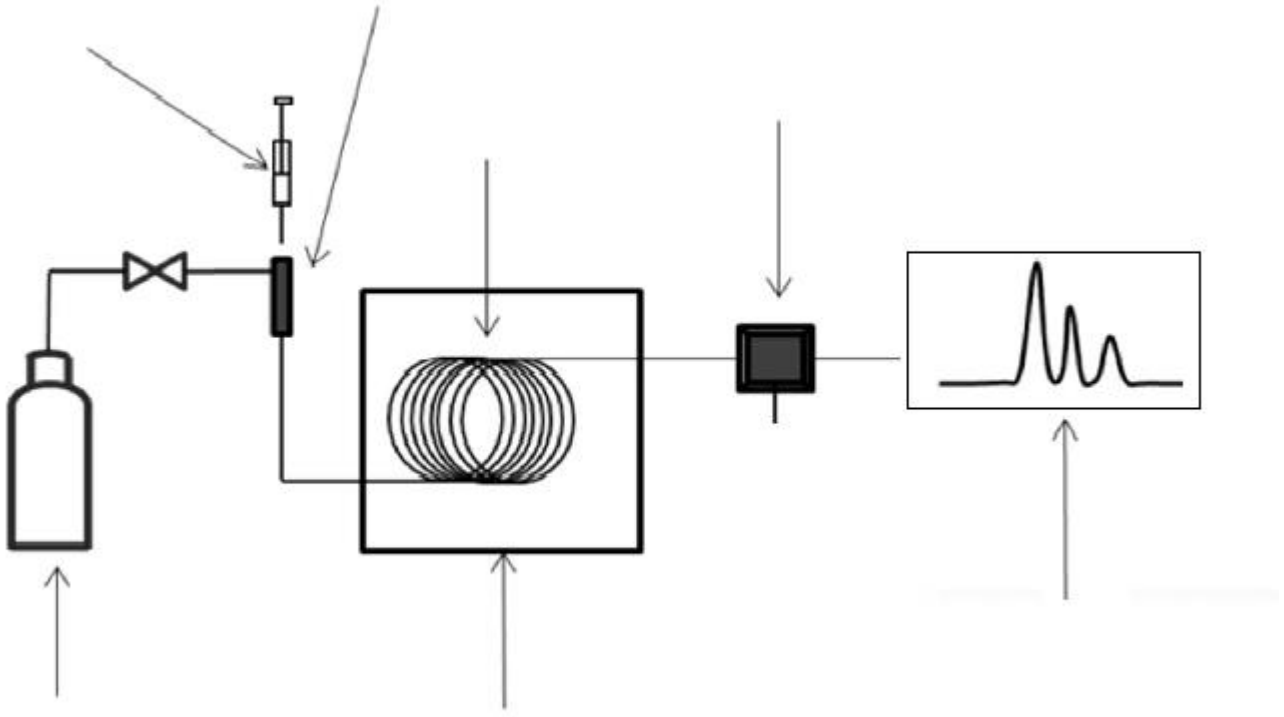
N° ne rien inscrire

N° ne rien inscrire

<u>ANNEXE B</u> ***(à compléter, numéroter et à rendre avec la copie)***

Représentation schématique d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse

Légender le schéma ci-dessous (7 légendes sont attendues).



D'après : https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-dun-systeme-CPG