

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
Académie de Rennes

Centre Organisateur : Université de Bretagne Occidentale

TECHNICIEN EXTERNE de classe normale (Expérimentation animale)

EPREUVE PROFESSIONNELLE

Session 2012

Date : Mardi 5 juin 2012

Coefficient 4

Voir suite du sujet sur les autres pages

EPREUVE PROFESSIONNELLE

CONCOURS DE TECHNICIEN EN EXPERIMENTATION ANIMALE

La partie pratique se déroule en 3 phases

- Animalerie (10 minutes maximum) (*salle d'attente en salle 305*)
- Epreuve en laboratoire (1h30)
- Epreuve devant jury à l'issue de l'épreuve en laboratoire (15') en salle 408 (*salle d'attente en salle 305*)

NB : Ce document n'est pas une copie d'examen. Les indications des tâches à réaliser y sont inscrites. Il ne sera pas ramassé, ni corrigé. Il peut vous servir en tant que brouillon.

Les examinateurs viendront vous voir ou vous chercher pour exécuter des travaux particuliers et/ou corriger un exercice.

Les exercices ainsi nommés sont notés dans le texte avec les sigles suivants :

→ **un examinateur vous appellera** (il viendra vous chercher pour effectuer une tâche)

→ **un examinateur passera** (le travail sera à effectuer en sa présence, il passera vous voir)

→ **un examinateur corrigera** (le travail, une fois effectué sera corrigé en présence d'un examinateur → conseil à faire dans la première heure)

PARTIE TECHNIQUE DE LABORATOIRE

A) Préparation d'une solution de PBS.

Pour la préparation de travaux pratiques d'immunologie, vous devez préparer 250 mL de tampon PBS concentré 10 fois, noté [10 X].

Composition du PBS [1 X] :

KH_2PO_4 : 1 g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$: 13.4 g

KCl : 1 g

NaCl : 40 g

QSP 5 L eau distillée

Pour préparer cette solution de PBS [10 X] vous disposez dans votre laboratoire des produits solides suivants :

KH_2PO_4 M = 136.09 g/mol m =

$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{ H}_2\text{O}$ M = 358.14 g/mol m =

KCl M = 74.55 g/mol m =

NaCl M = 58.44 g/mol m =

1) Calculez les différentes masses de produits à peser.

Donnée : M H_2O = 18.01 g/mol

2) Réaliser les pesées (en présence du jury) et préparer 250 mL de PBS [10 X].

3) Préparer 100 mL de PBS [1 X] à partir de la solution précédente.

4) Mesurer le pH (en présence du jury) des deux solutions préparées.

B) Préparation de sérum physiologique hépariné à 50 UI/mL.

Pour la mise au point d'un protocole de physiologie sur un rat, vous devez préparer une solution de sérum physiologique à 50 UI/mL.

Préparer 10 mL de sérum physiologique à 50 UI/mL à partir de la solution d'héparine commerciale fournie.

Volume prélevé =

C) Vérification de la calibration de pipette automatique.

→ un examinateur vous appellera

Vous disposez de deux pipettes automatiques à vérifier.

Proposer au jury un protocole permettant de vérifier la calibration des deux pipettes.

D) Utilisation du microscope.

Réaliser l'observation au grossissement adéquat de la lame fournie (en présence du jury).

→ un examinateur passera

Localiser à l'aide d'un schéma deux figures caractéristiques du phénomène biologique observé en précisant la nature du tissu utilisé (justifier).

→ un examinateur passera

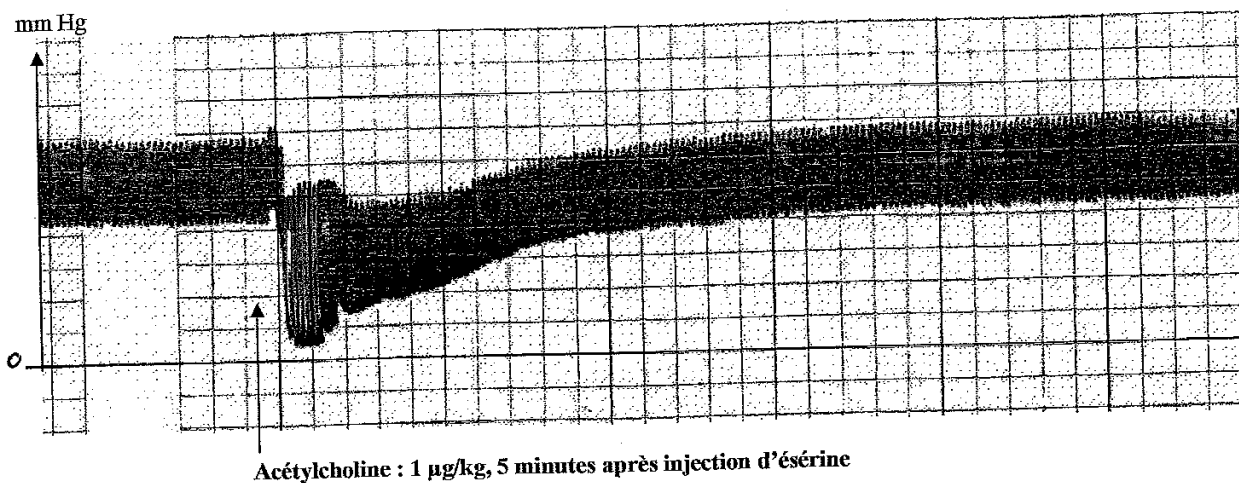
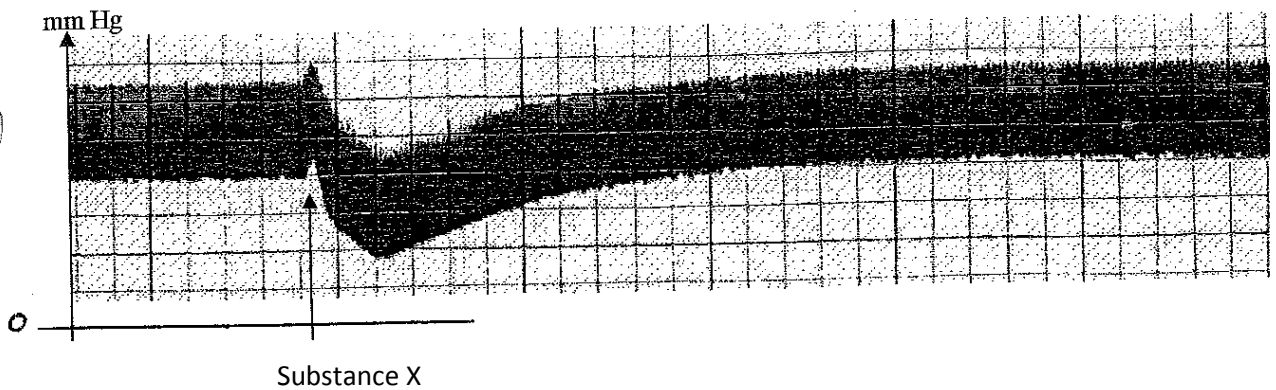
PARTIE EXPERIMENTATION ANIMALE

E) Pression Artérielle chez le rat → un examinateur corrigera

(étalonnage 1 carreau = 20 mmHg)

Les enregistrements ci-dessous ont été obtenus par un oscillographe. **Légendez correctement ces graphes et utilisez vos connaissances pour interpréter au maximum.**

Ex : Pression artérielle normale, variations de pressions, quelles substances ont pu être injectées au niveau de la flèche...



F) Détermination des volumes plasmatique et sanguin chez le rat

I- Principe :

- La détermination du volume plasmatique sera faite par la méthode de dilution.

On a injecté dans le système circulatoire de l'animal, une quantité connue d'une substance, le Bleu Evans, puis on mesure sa concentration dans le plasma.

Le Bleu Evans ne se dilue pas dans les éléments figurés du sang mais seulement dans le plasma.

- La détermination du volume sanguin sera faite, connaissant le volume plasmatique et la valeur de l'hématocrite

II- Manipulation :

a) Courbe d'étalonnage

A partir d'une solution de Bleu Evans à 5mg/mL, préparer les solutions de concentration suivante à partir du sérum physiologique dans des fioles de 50mL

- 2,5 µg/mL
- 5,0 µg/mL
- 7,5 µg/mL
- 10 µg/mL

Mesurer la densité optique (DO) à 600nm des solutions étalons (régler le 0 de l'appareil avec une solution de sérum physiologique). Faire un graphique sur un tableur.

III- Protocole Expérimental:

(partie déjà réalisée)

Anesthésie et pose des cathéters.

L'expérimentateur, sur un rat Wistar mâle de 400g anesthésié avec un mélange de Kétamine/Xylazine (80/20), a posé un cathéter sur la veine du pénis, un cathéter sur la carotide. Il a laissé le clamp en place, et il ne le retire qu'au moment des prélèvements

Injections et prélèvements.

L'expérimentateur opère de la sorte

- a) Il injecte en intraveineux du sérum physiologique hépariné à 250 UI/mL à raison de 0,1mL/100g.
- b) Il attend quelques minutes et prélève exactement 0,5mL de sang témoin par la carotide dans une seringue.
- c) Il dilue le sang témoin au $1/10^{\text{ème}}$ dans du sérum physiologique, en utilisant une fiole jaugée.
- d) Il effectue une injection intraveineuse de Bleu Evans à raison de 0,5mg/100g.
- e) Il attend 3 minutes et prélève le sang par la carotide dans un tube à hémolyse (environ 3mL)
- f) A partir de ce tube à hémolyse, il prélève du sang dans deux microtubes pour la détermination de l'hématocrite.
- g) Puis dans une fiole jaugée, il prépare un échantillon de sang diluée au $1/10^{\text{ème}}$ dans du sérum physiologique.
- h) Le sang témoin dilué et l'échantillon de sang dilué contenant le Bleu Evans sont centrifugés à 4000tr/min. Le surnagent doit être absolument limpide.
- i) L'expérimentateur lit la densité optique du Bleu Evans contenu dans le plasma dilué en prenant comme 0 l'échantillon de sang témoin dilué.

IV- Résultats:

L'expérimentateur obtient la DO suivante :

DO (sang dilué contenant le bleu evans) = 0,62

- a) Déterminez à l'aide de la DO obtenue la concentration de Bleu Evans dans le sang dilué.

[bleu evans] =

- b) Déterminez à l'aide du capillaire de sang total, l'hématocrite du rat.

Hématocrite =

