

IUFM de l'académie de MONTPELLIER
Biochimie Génie Biologique
Lycée Mermoz MONTPELLIER
Terminale STL Biochimie

RAPPORT DES STAGES EN ENTREPRISES

MEMOIRE PROFESSIONNEL

**Aide à la lecture et à la mise en œuvre de protocole
en Travaux pratiques de Biochimie**

SEYVE Delphine
Année 1999-2000

Tuteur : Marie Laure REYNE
Assesseur : Hugue BRUNET

RESUME

Les travaux pratiques de Biochimie en Terminale STL (Sciences et Techniques de Laboratoire) représentent une partie importante du baccalauréat. La bonne réalisation des manipulations nécessite une lecture approfondie des protocoles. L'observation des séances de TP révèle de nombreuses erreurs et un manque d'organisation de la part des élèves. Ces problèmes sont dus principalement à un manque de lecture et d'analyse des protocoles.

Las pruebas practicas de Bioquímica en clase Terminal C.T.L (Ciencias y Tecnicas de Laboratorio) representan una parte importante del bachillerato. La buena realizacion de las manipulaciones exige una lectura detallada de los protocolos. La observacion de las clases de practicas pone en evidencia numerosos errores asi como una falta de organizacion por parte de los alumnos. Estos problemas se deben esencialmente a una insuficiencia en la lectura y el analisis de los protocolos de las practicas.

Mots clés : protocole, lecture, analyse, organisation, Travaux pratiques



TABLE DES MATIERES

RESUME	2
TABLE DES MATIERES	4
LISTE DES ABREVIATIONS	6
AVANT PROPOS	7
RAPPORT DE STAGE EN ENTREPRISES	9
1. - INTRODUCTION	9
2. - LE CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE (CTS) DE LYON	10
2.1. Présentation du CTS de Lyon	10
2.2. Les Laboratoires et leurs activités	11
3. LE LABORATOIRE D'ANALYSES DE LA GRANDE MOTTE	15
3.1. Présentation du laboratoire	15
3.2. Gestion des échantillons sanguins : du prélèvement à l'analyse	16
4. UTILISATIONS PEDAGOGIQUES POSSIBLES	18
5. CONCLUSION	18

MEMOIRE PROFESSIONNEL	19
1. INTRODUCTION	19
2. PROBLEMES RENCONTRES EN TP DE BIOCHIMIE	19
2.1. Organisation des séances de travaux pratiques	19
2.2. Les problèmes observés au cours des séances de travaux pratiques.	20
2.2.1. La lecture du protocole	20
2.2.2. Conséquences de la mauvaise lecture du protocole	21
2.2.3. Attitude attendue	22
3. LA LECTURE D'ENONCE UN PROBLEME REPANDU	23
3.1. Constat	23
3.2. Différents types de textes	23
3.3. La lecture des consignes	24
3.4. L'acte de lecture	25
4. MISE EN PLACE D'UNE EXPERIMENTATION	28
4.1. Présentation de l'expérimentation	28
4.2. Suivi de l'expérimentation	28
4.3. Problèmes rencontrés	28
4.4. Les expériences proposées	29
5. ANALYSE DES RESULTATS ET AUTRES SOLUTIONS PROPOSEES	31
5.1. Résultats de l'expérimentation	31
5.1.1. Dosage du fructose	31
5.1.2. Hydrolyse du saccharose	32
5.1.3. Détermination de l'activité LDH	33
5.1.4. Etalonnage d'une solution de permanganate	34
5.2. Analyse des résultats	34
5.2.1. Analyse des résultats de l'expérience	34
5.2.2. Analyse du comportement des élèves testés	35
5.2.3. Conclusion	35
5.3. Autres solutions proposées:	35
6. CONCLUSION	37
BIBLIOGRAPHIE	38
ANNEXES	39

LISTE DES ABREVIATIONS

BTS: Brevet de Technicien Supérieur

CTS : Centre de Transfusions Sanguines

DEUG B : Diplôme d'Etudes Universitaires Générales en Biologie

IUFM : Institut Universitaire de Formation des Maîtres

PSL : Produits Sanguins Labiles

STL : Sciences et Techniques de Laboratoire

TL : Techniques de Laboratoire

TP : Travaux Pratiques

AVANT PROPOS

Après une année de préparation « Bio Math Sup » et deux ans de DEUG B à l'université de Montpellier, j'ai intégré une école d'ingénieur en Sciences et Technologies des Industries Alimentaires. Dès mes premiers stages en entreprise, je me suis rendu compte que le milieu industriel ne me correspondait pas du tout. Comme j'éprouvais un réel intérêt pour tout ce que j'étudiais, j'ai pensé que cela serait enrichissant de transmettre ma passion pour les biotechnologies. Je me suis donc dirigé vers l'IUFM dès ma sortie d'école d'ingénieur afin de préparer le CAPET et l'agrégation de biotechnologies.

Face à la difficulté des concours, j'ai consacré plusieurs années à les préparer. Au cours de l'une d'elles, j'ai effectué un remplacement de six mois en BTS Diététique où j'ai enseigné la biochimie et la biologie humaine. Ce premier contact avec le métier d'enseignant m'a conforté dans mon choix professionnel. Ce qui me plaît dans ce métier c'est tout d'abord un grand intérêt pour les matières que nous sommes amenés à enseigner. Ce sont des matières en évolution permanente qui permettent d'expliquer le fonctionnement de l'organisme humain ainsi que de nombreuses pathologies qui peuvent le toucher. J'ai envie de faire partager cette passion pour les sciences. D'autre part le contact avec les jeunes est enrichissant.

La préparation des concours permet d'acquérir les connaissances techniques de base nécessaires pour enseigner, mais nous n'avons aucun contact avec les élèves pendant cette période et la réflexion pédagogique se limite au dossier professionnel présenté au CAPET. La deuxième année d'IUFM doit nous permettre de commencer le métier dans de bonnes conditions : nous avons peu d'heures en présence d'élèves et les cours de didactique nous donnent les éléments nécessaires pour la préparation des cours, leur déroulement et la gestion de la classe. La formation générale favorise les contacts avec les enseignants d'autres disciplines . Elle permet également de réfléchir sur les problèmes rencontrés durant nos heures de cours.

Les disciplines que nous sommes amenés à enseigner sont des sciences techniques. La préparation des concours nous apporte de nombreuses notions qui souvent restent très théoriques. C'est pourquoi les stages en entreprise me semblent une nécessité pour compléter ces connaissances et pour avoir des exemples concrets à apporter aux élèves.

D'autre part, les biotechnologies sont en constante évolution et il est nécessaire de garder un contact avec le milieu professionnel, pour que notre enseignement soit le plus adapté possible à la fois au programme et au monde professionnel.

Le mémoire professionnel, quant à lui , nous permet de réfléchir sur notre manière d'enseigner . Cette réflexion fait ressortir certains problèmes observés au cours des séances d'enseignement. Il faut ensuite adapter de nouvelles méthodes afin de tenter de les résoudre. La littérature pédagogique est un outil important pour trouver des solutions variées, et diversifier les manières de présenter les connaissances. Cette littérature nous permet de prendre conscience de la diversité des élèves et des méthodes, et nous apporte donc des informations que seule l'expérience nous aurait données.

Le présent dossier est composé de deux grandes parties. Dans un premier temps les deux stages en entreprises sont présentés. L'objectif de ces stages pour ma part étant la découverte du milieu de l'analyse médicale, il s'agit d'une présentation descriptive des différents laboratoires que j'ai pu visiter et des analyses effectuées. L'importance de ces stages étant soulignée par les multiples utilisations possibles des informations recueillies. La seconde partie est consacrée à la présentation du mémoire professionnel . Celui ci traite de la lecture et de la mise en œuvre de protocoles en TP de Biochimie. Il s'agit de réaliser une expérimentation visant à inciter les élèves à lire en détail et à analyser leur protocole avant de commencer les manipulations. L'objectif est de leur donner une méthode de travail qui leur servira pour le baccalauréat mais également pour leur poursuite d'étude et leur vie professionnelle.

RAPPORT DE STAGE EN ENTREPRISES

1. - INTRODUCTION

De part mon cursus universitaire - j'ai un diplôme d'ingénieur en Sciences et Technologie des Industries Alimentaires - je connais plus particulièrement ce domaine. En effet, j'ai réalisé plusieurs stages au sein d'entreprises et de laboratoires alimentaires..

Hors le programme des premières et terminales STL, SMS ou des différents BTS dans lesquels nous sommes amenés à enseigner, comporte une partie analyse alimentaire et une partie analyse médicale. Il m'a donc paru indispensable de compléter mes connaissances qui n'étaient jusqu'alors que théoriques (programmes des concours).

J'ai donc choisi de réaliser mon stage dans deux sites différents afin d'étendre au maximum mes connaissances dans le domaine médical :

- Le Centre de Transfusion Sanguine (CTS) de Lyon.
- un laboratoire d'analyses médical à La Grande Motte.

L'objectif de ces stages, pour moi, était de découvrir le fonctionnement de des laboratoires, d'observer l'ensemble des analyses effectuées par les techniciens et de les mettre en relation avec une pathologie ou un acte médical (transfusion sanguine par exemple).

Ces deux types de laboratoires proposent des activités différentes, ce qui m'a paru intéressant pour découvrir un grand nombre d'analyses différentes.

- Le Centre de Transfusion Sanguine réalise des analyses uniquement sur le sang et ses différents constituants, mais en plus des analyses courantes que l'on peut retrouver en laboratoire privé, il pratique des tests moins répandus mais pourtant très important pour la transfusion et la santé publique.
- Un laboratoire d'analyses médicales effectue des analyses à partir de plusieurs milieux comme le sang, les urines, les selles ou autres prélèvements humains. On réalise sur ces échantillons des études biochimiques, microbiologiques, ou immuno-hématologiques.

Ces deux stages m'ont donc paru complémentaires afin de maîtriser au maximum le domaine médical et le domaine de la biologie humaine, notamment en immunologie et en hématologie.

En effet les élèves de terminale STL ont des Travaux pratiques de microbiologie, d'hématologie, d'immunologie et de biochimie. La majorité des expériences qu'ils effectuent sont des analyses pratiquées couramment dans les laboratoires. Il est donc nécessaire de les connaître précisément afin de les enseigner correctement. Il est important également de faire le lien entre ce qui est réellement fait au laboratoire et ce qu'on enseigne à nos élèves.

L'ensemble des analyses observées et des connaissances acquises peut trouver une application :

- au niveau des travaux pratiques
- comme illustrations de nombreux cours de biologie humaine notamment dans le domaine de l'immunologie.

2. - LE CENTRE DE TRANSFUSION SANGUINE (CTS) DE LYON

2.1. Présentation du CTS de Lyon

Le CTS de Lyon fait partie des 43 établissements de transfusion sanguine en France. Ils exercent tous une mission de santé publique dans le cadre de la transfusion sanguine. Le CTS de Lyon assure des activités principales et des activités annexes.

- Les activités principales sont :
 - *la collecte de sang*
 - *la qualification biologique du don*
 - *la préparation de PSL (Produits sanguins labiles : concentrés de plaquettes, de globules rouges...)*
 - *la distribution de PSL*
- Les activités annexes sont :
 - *l'immuno-hématologie des receveurs* assurée de façon permanente et complémentaire de l'activité de distribution du sang
 - *le laboratoire d'histocompatibilité et de biologie moléculaire* qui effectue le groupage HLA des patients en attente d'une greffe et des donneurs
 - *le laboratoire d'immunologie cellulaire* qui explore les sous populations lymphocytaires et effectue des techniques de biologie moléculaire pour identifier les gènes impliqués dans les groupes sanguins érythrocytaires et plaquettaires.
 - *le laboratoire de cryobiologie et greffes de moelle osseuse* qui traite, contrôle et conserve des tissus prélevés destinés à la greffe.
 - *le centre de santé* qui effectue des actes thérapeutiques chez des patients (transfusions exsanguino-transfusion...)
 - *le département réactif* qui fabrique et distribue les réactifs pour le groupage ABO et qui fabrique également des anticorps monoclonaux

Le centre de transfusion de Lyon a plusieurs localisations:

- Lyon Gerland où j'ai effectué mon stage
- Beynost (commune près de Lyon)
- Des antennes hospitalières de biologie transfusionnelle dans plusieurs hôpitaux de Lyon
- Des cabines de collecte

Le centre de transfusion sanguine de Lyon emploie environ 360 personnes dont l'activité s'exerce dans des domaines très variés . On y trouve des personnels médicaux pharmaceutiques, infirmiers, techniciens et administratifs.

L'antenne de Lyon Gerland comporte :

- Le siège et la direction
- Le site fixe de collecte
- Les laboratoires de :
 - . qualification biologique du don
 - . d'Immuno-Hématologie des receveurs
 - . de biologie moléculaire
 - . d'histocompatibilité

Lors de mon stage au centre de transfusion sanguine, j'ai observé le travail dans les deux premiers laboratoire

2.2. Les Laboratoires et leurs activités

2 - 2 - 1 Le laboratoire Immuno-Hémato receveur

- **Activités**

Ce laboratoire réalise des examens nécessaires à la transfusion de produits sanguins et au suivi des patients transfusés.

- **Analyses effectuées**

Afin d'éviter les accidents transfusionnels un certain nombre d'analyses sont effectuées sur le sang du receveur :

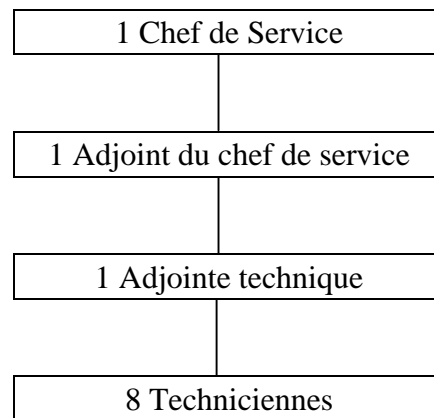
- ◆ Groupage sanguin ABO
- ◆ Phénotypage
- ◆ Recherche d'Anticorps Irréguliers (RAI)
- ◆ Numération des formules sanguines

D'autres examens spécifiques, plus rares et particulièrement intéressants, sont confiés à ce laboratoire :

- ◆ Suivi de la femme enceinte
 - dosage pondéral des anticorps anti-D lors des conflits hémolytiques foeto-maternel
 - Etude du taux de bilirubine dans le liquide amniotique
- ◆ Surveillance de l'ictère (jaunisse) du nouveau né
- ◆ Immunologie anti-plaquettaire (recherche d'anticorps anti-plaquettes)
- ◆ Bilan d'hémolyse

- **Personnel**

Ce laboratoire emploie 11 personnes avec la hiérarchisation suivante :



- ◆ L'encadrement en biologie est assuré par le chef de service ou de son adjoint. Ils ont pour mission de valider les résultats d'analyses, d'intervenir et de décider en cas de problèmes.
- ◆ L'adjoint technique est responsable de l'encadrement et du planning des techniciennes.
- ◆ Ce service comprend 8 techniciennes. Elles possèdent un BTS Biochimiste ou Analyses Biologiques ou un DELAM (Diplôme d'Etat de Laborantin en Analyse Médicales). Ce diplôme préparé en milieu hospitalier n'existe plus aujourd'hui. Il n'y a pas de technicienne ayant un niveau bac(F7).

- **Organisation et activité du personnel**

Il y a plusieurs postes de travail qui correspondent aux différentes analyses effectuées dans ce service. Les techniciennes ne sont pas spécialisées pour un type d'analyse. En effet elles changent de poste toutes les semaines. Ce système de roulement a plusieurs avantages :

- cela permet d'éviter la routine ce qui est apprécié par les techniciennes.
- cela évite des problèmes d'organisation en période de congés ou en cas d'absence ; chaque technicienne est capable de réaliser l'ensemble des analyses.

Il n'y a pas de secrétaire médicale dans ce laboratoire. Ce sont les techniciennes elles mêmes qui s'occupent de la réception des échantillons et de la saisie des résultats sur ordinateur.

La détermination des différents groupes sanguins (ABO Rhésus Kell Duffy....) et la recherche d'anticorps irréguliers se fait uniquement chez les receveurs de transfusion. Le nombre d'échantillons est donc réduit, sachant que ces tests sont aussi réalisés dans les nombreuses antennes hospitalières.

Le bilan d'hémolyse est une analyse qui se pratique seulement dans quelques centres en France, mais qui est assez peu prescrite par les médecins.

Dans le cadre du suivi de la femme enceinte, le CTS de Lyon est le seul à effectuer le dosage pondéral des anticorps anti-D. Il reçoit des échantillons de toute la France mais dans un nombre assez réduit.

Les différentes analyses possibles dans ce service sont variées mais dans un nombre restreint ce qui n'implique pas une automatisation (contrairement au laboratoire de qualification biologique du don).

Les techniciennes de ce laboratoire réalisent donc de nombreuses expériences manuelles. Elles utilisent quelques automates, mais elles gardent une bonne partie de pratique. Elles s'occupent également de la saisie qui est une étape très importante Celle-ci est effectuée par deux personnes différentes dans le cas des groupes sanguins. En effet des erreurs de saisie pourraient entraîner des erreurs transfusionnelles.

2 - 2 -2 Le laboratoire de qualification biologique du don

• Activités

La qualification biologique du don correspond à l'ensemble des analyses biologiques et des tests de dépistage obligatoires effectués suite à un don de sang. Les produits non conformes sont détruits de manière à distribuer des produits sanguins sains .

L'objectif de la qualification biologique du don est double:

- assurer la **sécurité du receveur** en déterminant les caractéristiques immuno-hématologiques du sang et en éliminant les produits susceptibles de transmettre des maladies infectieuses.
- **informer les donneurs** des anomalies ou particularités observées sur les analyses effectuées.

• Analyses effectuées

Sur chaque don de sang on réalise systématiquement des tests immuno-hématologiques et des tests sérologiques pour rechercher les maladies infectieuses transmissibles par transfusion.

Parmi ces analyses et tests certains sont obligatoires

◆ **Analyses immuno-hématologiques:**

- Détermination des groupes sanguins ABO.
- Détermination du groupe sanguin rhésus.
- Recherche d'anticorps anti-A et Anti-B immuns.
- Détermination de l'hématocrite.

◆ **Examens pour la détection de maladies transmissibles par transfusion**

Ces tests sont réalisés en vue de la détection de maladies d'origine virale, bactérienne ou parasitaires. On recherche des marqueurs caractéristiques de chaque agent infectieux.

◇ *Maladies virales*

- recherche de l'antigène HBs
- recherche d'anticorps anti-HBc
- recherche d'anticorps anti-VHC pour l'hépatite C
- recherche d'anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2 pour le SIDA
- recherche d'anticorps anti-HTLV 1 et anti-HTLV 2 pour le HTLV
- recherche d'anticorps anti-CMV (Test non obligatoire)

pour l'hépatite B

◇ *Maladie bactérienne*

- Dépistage de la syphilis

◇ *Maladie parasitaire*

- recherche des anticorps antipaludéens pour le paludisme.
Ce test n'est réalisé que si le donneur a séjourné dans une zone à risque (définie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)).

• **Personnel**

Ce service animé par un médecin est composé de 13 technicien(nes), 1 agent de maîtrise et 1 secrétaire.

• **Organisation et travail du personnel**

Ce service reçoit 300 à 500 échantillons de sang à analyser par jour. Face à la quantité d'analyses à effectuer, l'automatisation de ce service s'est révélée nécessaire.

Ce service est séparé en deux grandes parties :

- Le laboratoire d'immuno-hématologie.
 - Le laboratoire de tests de dépistages des maladies transmissibles.
- ◆ Le laboratoire d'immuno-hématologie est entièrement automatisé. Il y a trois techniciens (des hommes) qui alimentent l'appareil avec les différents réactifs et qui analysent les résultats non conformes.
Cet appareil réalise le groupage ABO et Rhésus, l'hématocrite, la numération des formules sanguines
Le travail du technicien est donc ici réduit à programmer l'automate et à l'alimenter en réactifs en fonction des analyses effectuées.
- ◆ Le laboratoire réalisant les tests de dépistage des maladies transmissibles est lui aussi muni d'un automate qui effectue une grande partie du travail .
Les analyses de dépistages sont pour la plupart des tests immuno-enzymatiques qui sont réalisées en plaque de microtitration (96 puits). Les plaques sont prêtes à l'emploi
Chaque technicienne a la responsabilité d'une analyse. Elle prépare sa plaque, sensibilisée par un antigène ou un anticorps et la dépose dans l'automate. On dépose parallèlement les tubes de sang qui ont été préalablement centrifugés, et les différents réactifs à rajouter. L'appareil réalise ensuite les mélanges et les lavages. La lecture et l'interprétation sont réalisées par un autre automate.
Dans le cas où un résultat est positif notamment pour le HIV et le HCV une autre analyse est effectuée à l'aide d'une autre méthode, cette fois ci manuellement. Cependant ces cas sont assez rares en raison du questionnaire pré-don et du tri des donneurs.

Il n'y aucune saisie manuelle des résultats : chaque tube est étiqueté avec un code barre qui est lu par les automates. Cela permet d'éviter les erreurs de saisie.

Dans ce service très automatisé, le travail des techniciens est donc très différents. Ils manipulent très peu et jouent surtout un rôle dans la programmation et l'utilisation d'un appareil ainsi que dans la vérification des résultats anormaux.

3. LE LABORATOIRE D'ANALYSES DE LA GRANDE MOTTE

3.1. Présentation du laboratoire

Le laboratoire d'analyses médicales de La grande Motte est un petit laboratoire par comparaison au CTS de Lyon.

Le patron est un pharmacien biologiste qui emploie trois techniciens la plupart de l'année. Pendant la période estivale une quatrième personne est embauchée pendant quatre mois pour pallier les départs en congés du personnel et l'arrivée de nombreux vacanciers.

- **Analyses effectuées**

Le laboratoire effectue toutes les analyses les plus courantes :

- ◆ Sur le sang

- Numération formule sanguine
- Ionographie (Na, K)
- Biochimie
- Etude de l'hémostase
- Sérologie
- Groupage ABO

- ◆ Sur l'urine

- Bactériologie
- Biochimie

- ◆ Sur les selles

- Bactériologie
- Parasitologie

- ◆ Sur les prélèvements biologiques (pus, expectoration, prélèvements vaginaux, gorge, nez,)

- Bactériologie

Le laboratoire sous-traite avec d'autres laboratoires pour la réalisation de certaines analyses. En effet un petit laboratoire ne peut être équipé pour réaliser toutes les analyses. Celles qui nécessitent un appareillage coûteux et qui sont moins courantes ne peuvent être effectuées sur place.

- **Personnel**

Les trois techniciens possèdent soit un BTS Biochimiste soit un bac F7 qu'ils ont complété avec le DELAM.

Ils sont autonomes, et capables de réaliser toutes les analyses que proposent le laboratoire. Deux d'entre eux ont passé le diplôme de prélèvement, ils sont donc aptes à réaliser les prises de sang.

- **Organisation et travail du personnel**

Le laboratoire est ouvert au public tous les jours de la semaine de 8h00 à 12h00 et de 14h00 à 19h30 ; Le samedi de 8h00 à 12h00.

Chaque technicien a des jours et des horaires de travail différents de manière à ce qu'il y ait en permanence 1 à 2 personnes présentes. (en plus du patron).

Il n'y a pas de secrétaire médicale, ce sont donc les techniciens eux mêmes qui s'occupent de l'accueil des clients, de la saisie informatique des coordonnées et des analyses. Après avoir effectué les analyses, ils rentrent les résultats dans l'ordinateur, (pour ceux qui ne le sont pas automatiquement). Ils s'occupent ensuite de l'impression des feuilles de résultats pour chaque patient. Le biologiste les vérifie rapidement avant de les signer.

- **L'assurance qualité au laboratoire**

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance qualité basé sur des procédures écrites concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution.

Afin de contrôler la validité de leurs analyses, les laboratoires doivent participer au programme national d'évaluation de la qualité. Dans ce cadre, *l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé* envoient des analyses contrôles à effectuer. Le laboratoire reçoit tous les mois plusieurs contrôles:

- 2 analyses de parasitologie
- 2 analyses de bactériologie
- 4 analyses de chimie
- 4 analyses d'hématologie

Les résultats sont renvoyés au destinataire.

Une non conformité des résultats entraîne une réflexion sur les causes d'erreurs et permet une correction des anomalies mises en évidence.

3.2. Gestion des échantillons sanguins : du prélèvement à l'analyse

- **Prélèvements**

Les prélèvements qui arrivent au laboratoire ont deux origines :

- Une partie est apportée par les infirmières qui travaillent sur le secteur de la Grande Motte.
- L'autre partie des prélèvements est effectuée directement au laboratoire par les techniciens ou le biologiste.

Les techniciens réalisent l'accueil des clients, la saisie informatique des analyses. Selon les analyses à effectuer le sang est prélevé dans des tubes différents contenant ou non un anticoagulant.

Couleur du tube	Anticoagulant	Analyses
Violet	EDTA	Numération formule sanguine Vitesse de sédimentation
Vert	Héparine, lithium	Iono
Gris	iodo-acétate	Glycémie
Bleu	Citrate de sodium / Silicium	Coagulation
Marron	sans additif	Chimie, sérologie

- **Analyses**

Tous les tubes sont centrifugés sauf ceux qui servent au numération des cellules sanguines.

Les tubes sont ensuite répartis aux différents postes en fonction de l'analyse. Tout est géré par informatique. A partir de la saisie du nom du client et des analyses à effectuer, l'ordinateur indique pour chaque automate la position des tubes à adopter. Le technicien doit faire particulièrement attention à ce niveau à mettre le bon tube à la position adéquate, car cela conditionne le report des résultats.

Il y a deux gros automates, un pour les analyses biochimiques, l'autre pour les formules sanguines. Le reste est réalisé manuellement (à l'aide d'appareils de mesure) :

- Iono : photomètre de flamme
- Tests de coagulations
- Tests sérologiques (VIH, grossesse, toxoplasmose) confirmés par d'autres laboratoires
- Groupage ABO

Les autres analyses ne sont pas effectuées sur place, mais sont envoyées dans d'autres laboratoires.

- **Saisie des résultats**

Les automates transmettent directement les résultats d'analyses à l'ordinateur. Les autres doivent être saisis manuellement

Les feuilles de résultats sont sorties . Le biologiste les vérifie avant de les signer.

4. UTILISATIONS PEDAGOGIQUES POSSIBLES

L'ensemble des analyses observées au cours de ces deux stages m'a permis de consolider certaines connaissances et d'en acquérir de nouvelles. Les domaines concernés par les stages sont principalement l'immunologie, l'hématologie et la biochimie clinique.

Ces connaissances peuvent être utilisées à de nombreux niveaux, comme base de TP ou comme illustrations de cours.

• En terminale SMS

Dans le cadre du stage de pratique accompagnée, j'ai assuré des cours d'immunologie en terminale SMS. J'ai traité la partie concernant les applications médicales de l'immunologie.

- Dans le cours concernant les transfusions sanguines, je suis revenue sur le groupage ABO
- Dans le cours sur la mémoire immunitaire, j'ai pu illustrer le phénomène en parlant de l'incompatibilité foeto-maternelle.
- En ce qui concerne les anticorps monoclonaux et leur application j'ai utilisé comme exemple le test de grossesse dont j'ai découvert le principe au cours des stages.

• En terminale STL

Les informations recueillies peuvent être utilisées en biologie humaine, en microbiologie et en biochimie.

- Dans le cadre des cours elles peuvent servir d'illustrations pour faire le lien entre la théorie et la réalité.
- Les connaissances acquises sont essentielles au TP de biologie humaine qui comportent de l'hématologie et de l'immunologie. Il est difficile d'enseigner l'hématologie quand on n'a jamais vu de cellules sanguines ailleurs que dans les livres.(ce qui était le cas jusqu'au stage).
En TP de biochimie, les informations recueillies lors des stages permettent de faire la relation entre l'analyse effectuée et le problème clinique concerné.

• En BTS

Le BTS Analyses Médicales étant consacré à la formation de techniciens de laboratoires d'analyses médicales, toutes les connaissances acquises seront d'une grande utilité autant comme illustration de cours que comme base de travaux pratiques.

Parmi les autres BTS, celui de Biochimie et de Biotechnologies traitent également d'analyses médicales. Les observations faites durant les stages pourront aussi être utiles dans ces sections

5. CONCLUSION

Les stages en entreprises me paraissent indispensables pour enseigner en section technologique. L'étendue des programmes de première terminale et BTS nous oblige à avoir des compétences multiples et actualisées sans arrêt. Le contact avec les entreprises ne doit donc pas se limiter aux stages de la deuxième année d'IUFM mais doit se poursuivre tout au long de la carrière, afin de rester en phase avec le monde du travail.

MEMOIRE PROFESSIONNEL

1. INTRODUCTION

Les TP en section STL représentent une partie importante du programme qui est sanctionnée par une épreuve pratique lors du baccalauréat.

Cette épreuve comporte obligatoirement des travaux pratiques de Biochimie et de Microbiologie, et peut mettre en œuvre des TP de Biologie Humaine. Le coefficient est de 12 sur un total de 34 et la moitié peut revenir à la Biochimie. (Le tableau des épreuves est donné en annexe 5.) L'épreuve pratique comporte à la fois une évaluation des savoirs théoriques et techniques. Celle-ci porte en partie sur l'analyse et le respect du protocole, l'organisation du travail.

L'analyse du protocole et sa mise en œuvre représente donc une part importante des objectifs de l'épreuve du baccalauréat.

Dans le cadre du stage en responsabilité, j'enseigne cette année les TP de Biochimie en terminale STL. La bonne réalisation des manipulations demandées implique une lecture approfondie du protocole ce qui ne semble pas être fait correctement par la majorité des élèves. Pourtant la lecture est à la base de la réussite des TP et donc du baccalauréat.

2. PROBLEMES RENCONTRES EN TP DE BIOCHIMIE

2.1. Organisation des séances de travaux pratiques

Les séances de travaux pratiques se déroulent toujours selon le même schéma. La séance comprend :

- une interrogation sur les techniques de laboratoire(TL) ou une correction.
- la correction du TP précédent qui permet de revoir les calculs et de revenir sur les points essentiels du principe et de la manipulation.
- la présentation du TP de la journée
- la manipulation des élèves
- le compte rendu

La présentation du TP permet l'explication du principe de la manipulation ainsi que la présentation du protocole. Celle-ci s'accompagne d'une présentation du matériel (quand il est particulier) et des réactifs ainsi que de leur place dans la salle. Elle permet également d'insister sur les consignes de sécurité. (Manipulation de sérum, montage avec le bec bunsen, bain marie bouillants, utilisation de produits potentiellement dangereux....).

Lors de cette présentation le protocole n'est pas lu entièrement. Seuls les points délicats ou nouveaux sont abordés, la lecture plus approfondie faisant partie du travail de l'élève. C'est justement cette lecture approfondie qui pose problème car elle n'est pas ou mal réalisée par les élèves.

2.2. Les problèmes observés au cours des séances de travaux pratiques.

Une fois que le TP a été présenté, les élèves commencent à travailler. Ils sont relativement autonomes et n'hésitent pas à se lancer dans la manipulation. Dans l'ensemble les élèves de terminale manipulent assez bien: les gestes communs tels que le pipetage, l'utilisation d'une burette, la préparation d'une solution en fiole jaugée ont été appris en première.

Le problème ne vient pas de la manière de manipuler mais de l'appropriation du protocole de TP par les élèves.

Comme ils sont autonomes et qu'ils aiment manipuler, ils ont tendance à commencer le TP tout de suite, sans prendre le temps de regarder le protocole dans son ensemble. Ils le lisent mot à mot (parfois en sautant des mots) et ont tendance à appliquer à la lettre (cependant avec des erreurs) ce qui est écrit sans prendre aucun recul et souvent sans comprendre ce qu'ils sont en train de faire. Ceci conduit à de nombreuses questions et erreurs.

Le problème se résume donc à la lecture du protocole et à la mise en œuvre qui en découle.

2.2.1. La lecture du protocole

La lecture du protocole par les élèves n'est pas satisfaisante et ceci se situe à deux niveaux:

- lecture de l'ensemble du protocole.
- lecture du protocole dans le détail.

• Lecture du protocole dans son ensemble.

Les élèves ne lisent pas l'ensemble du protocole avant de commencer à manipuler. Ils ont tendance à suivre les instructions partie par partie. Ils n'ont donc aucun recul sur ce qu'ils font. Hors il est nécessaire d'avoir une vue d'ensemble pour plusieurs raisons :

– Pour gérer les problèmes d'organisation .

Certaines expériences nécessitent des temps d'attente pour développer une coloration par exemple. Ils faut donc éviter de les réaliser au dernier moment et utiliser au mieux les périodes d'attente pour ne pas perdre de temps.

– Pour éviter les erreurs pratiques.

Les colorimétries sont souvent présentées de la même manière dans les protocoles de Bac et de BTS :

- . la première partie est consacrée à la réalisation de la gamme,
- . la deuxième à la réalisation des essais
- . la troisième ,éventuellement, à la réalisation et au dosage d'une solution de contrôle

Si on ne lit pas le protocole dans son ensemble, on a tendance à l'appliquer au fur et à mesure qu'on le découvre . Hors pour une colorimétrie la gamme d'étalonnage et les essais doivent être réalisés et lus en même temps, surtout s'il y a un temps d'attente ou de chauffage: tous les tubes doivent être traités dans les mêmes conditions.

– Pour une bonne compréhension du TP

Le fait de lire le protocole dans son ensemble permet de mieux le comprendre, de situer les différentes opérations effectuées notamment les dilutions et permet ensuite de mieux comprendre les calculs et d'éviter les erreurs ou les oublis. (réalisation de défécation sur un sérum entraîne une dilution à ne pas oublier pour les calculs, exemple du TP d'hydrolyse du saccharose (développé plus loin).

• Lecture du protocole dans le détail.

La lecture détaillée n'est pas satisfaisante non plus ce qui entraîne de nombreuses questions dont les réponses se trouvent dans le protocole ainsi que de nombreuses erreurs.

Les exemples montrant que le protocole a été mal lu ou mal interprété sont nombreux:

- Réalisation d'un seul essai alors qu'il est écrit d'en faire deux (souvent souligné ou en gras)
- Mauvaise interprétation par une lecture peu attentive: élève qui ajoute 20 mL d'eau distillée alors qu'il est écrit de compléter à 20 mL avec de l'eau distillée.
- Peser 1g alors qu'il est écrit de peser 0,1 g
- Oublier de réaliser une dilution avant une colorimétrie alors que c'est indiqué clairement dans le texte.
- Réaliser une gamme d'étalonnage avec une mauvaise solution

La lecture d'un protocole ainsi que son analyse représentent donc un problème majeur dans la réalisation de travaux pratiques. En effet, une mauvaise lecture tant dans son ensemble que dans le détail peut avoir des conséquences plus ou moins importantes.

2.2.2. Conséquences de la mauvaise lecture du protocole

- Dans le cas d'une mauvaise lecture de l'ensemble du protocole les conséquences sont:
 - une mauvaise gestion des expériences pouvant entraîner un manque de temps pour terminer correctement la manipulation et les calculs .
 - un manque de recul sur l'ensemble de la manipulation qui conduit à des difficultés de compréhension ainsi qu'à des erreurs dans les calculs (utilisation de mauvaises valeurs : par exemple utilisation pour un calcul d'une masse approximative donnée dans l'énoncé alors qu'il faut utiliser la valeur précisément pesée).
- Dans le cas d'une mauvaise lecture et analyse du détail du protocole, les conséquences sont souvent plus directes et plus importantes : les résultats de la manipulation sont absents ou très loin des valeurs attendues.

- La lecture du protocole est également très importante au point de vue de la sécurité. Certains protocoles peuvent contenir des consignes de sécurité à respecter rigoureusement.

Les implications de la mauvaise lecture sont importantes. En effet, l'objectif de la première et de la terminale est de préparer les élèves au baccalauréat, ainsi que de leur donner les atouts pour leurs poursuites d'études.

Les élèves sont notés sur de nombreux TP, et dans chaque cas la note repose en grande partie sur les résultats pratiques, le compte rendu et les calculs représentant une part moins grande. Les résultats expérimentaux des élèves sont donc très importants, et le fait même d'oublier un essai ou de mal le réaliser en raison d'une mauvaise lecture du protocole, entraîne une note nulle (pour l'essai). La note globale qui en découle est moyenne, voire médiocre. Une répétition d'erreurs au fil des TP peut avoir une influence sur la moyenne du trimestre et jouer pour l'orientation de l'élève dans une filière ou une autre, l'accès en BTS ou en IUT étant très sélectif.

Le jour du Baccalauréat une erreur de ce genre peut avoir des conséquences importantes. Les TP de Biochimie représentent un gros coefficient. Les élèves qui ont un esprit en général plus pratique que théorique comptent sur les TP pour relever leur moyenne générale. Hors une mauvaise lecture de protocole peut entraîner des résultats faux et une note médiocre qui peuvent influencer sur l'obtention du baccalauréat.

La différence cependant entre le jour du Bac et une séance de TP de l'année scolaire, c'est que le jour de l'examen les élèves découvrent un sujet qu'ils connaissent déjà pour l'avoir vu pendant l'année de première ou de terminale. Il n'y a pas d'exposé sur le TP, ils sont seuls face à leur protocole. Mais s'ils n'ont pas pris la bonne habitude de lire le protocole en entier ou avec attention, les erreurs mentionnées plus haut pourront être commises.

2.2.3. Attitude attendue

Lors des séances de travaux pratiques, les élèves doivent assimiler beaucoup d'informations en peu de temps. Il n'est pas forcément facile d'intégrer toutes les informations immédiatement et d'avoir une vue générale de la manipulation après l'explication de l'enseignant. C'est pourquoi une lecture personnelle détaillée pendant 5 à 10 minutes avant le début de la manipulation me semble indispensable pour reprendre les informations, les intégrer et les associer à l'expérience proposée.

Je souhaiterais de la part des élèves :

- Qu'ils lisent rapidement le protocole pour avoir une vue d'ensemble, pour repérer les grandes parties, les expériences à commencer tôt, ainsi que les calculs demandés.
- Qu'ils refassent ensuite une lecture plus détaillée de chaque partie en soulignant les temps d'attente, les valeurs données qui pourront être utiles pour les calculs, les volumes à prélever...

- Qu'ils fassent des schémas des manipulations, cela leur permettrait de réfléchir à ce qu'ils vont faire avant de le réaliser. De cette manière ils pourraient se poser les questions nécessaires et éviter de commettre des erreurs. (mettre la mauvaise solution dans la burette, faire une gamme d'étalonnage avec le produit à doser). Ceci est d'autant plus important le jour du baccalauréat car les réactifs et le matériel sont fournis en quantité limitée. De plus le stress peut entraîner de nombreuses erreurs .

Cette lecture et cette analyse du protocole me semble indispensable pour éviter les erreurs et maîtriser la manipulation dans son ensemble. Elle doit sembler être une perte de temps pour les élèves , mais il faudrait qu'ils se rendent compte que cela peut leur en faire gagner. Je pense qu'ils mettent plus de temps à recommencer une gamme d'étalonnage quand ils se sont trompés qu'à bien lire et analyser le protocole.

L'expérimentation va donc reposer sur la lecture de consignes, un problème qui semble exister dans toutes les disciplines et à tous les niveaux scolaires.

3. LA LECTURE D'ENONCE UN PROBLEME REPANDU

3.1. Constat

Après plusieurs mois de travail avec les élèves de terminale STL en TP de Biochimie, j'ai constaté que les élèves n'adoptent pas un comportement différents des élèves de sixième étudiés dans « les savants en herbe ». Face à des expériences à réaliser par ces élèves, une des principales observations faites est « une obsession pour l'activité manipulative en laissant au second plan la planification qui devrait orienter la manipulation ».

C'est en effet l'un des problèmes observé en terminale. L'autre problème repose sur la lecture et la compréhension d'un protocole.

Hors comme le dit Jean Michel ZAKHARTCHOUK « si on comprend mal ce qui est demandé on a très peu de chance « d'avoir bon » comme disent les élèves. Bien sûr, comprendre ce qui est demandé est une expression rapide qui renvoie à des processus nombreux, à des opérations diverses et se confond souvent avec « savoir faire le travail demandé ». Reste qu'il y a dans tout travail donné à ses élèves un problème de lecture de l'exercice , c'est à dire de l'énoncé, des données, de la consigne, de la tâche à effectuer »

3.2. Différents types de textes

Toute lecture obéit à un projet, et celui ci dépend de ce qui est lu, de sa signification pour le lecteur. On ne lit pas de la même manière un texte narratif et une brochure d'information, un mode d'emploi ou un compte rendu scientifique. Il existe une typologie des textes qui dépend de l'objectif du type d'écrit de l'orientation générale, de l'organisation de la mise en forme.

Les protocoles de TP sont des documents qui doivent être lus dans le détail. En s'appuyant sur la classification de Jean Michel ZAKHARTCHOUK, la typologie de protocoles de TP répond à l'orientation suivante :

Objectif	Type de texte	Exemple
Expliquer Faire comprendre	Type explicatif	Partie présentant les principes du protocole
Faire agir	Type injonctif	Consignes Mode d'emploi

Les protocoles de TP comprennent en général deux parties :

- Les données qui correspondent à la partie informative
- Les consignes

La distinction entre les deux est importante et peut aider l'élève dans sa pratique.

3.3. La lecture des consignes

La lecture des énoncés et consignes est un problème qui se rencontre partout. « Lire les consignes » est un des savoir-faire indispensables à la réussite des TP. Il s'agit d'une capacité méthodologique. L'objet ici étant l'aide méthodologique c'est à dire « l'aide au travail personnel de l'élève », dans la lecture de consigne.

De manière à proposer des démarches pédagogiques, il faut d'abord repérer les difficultés rencontrées par les élèves. Jean Michel ZAKHARTCHOUK propose le tableau suivant qui peut servir à cerner les principales difficultés.

Relevé de difficultés	Points à travailler	N°
– l'élève n'a pas compris le vocabulaire ou n'a pas saisi sa spécificité – il a été gêné par la présentation	FORMULATION DE LA CONSIGNE	1
– il n'a pas vu les mots essentiels, les petits mots	« DECORTIQUER LA CONSIGNE »	2
– il n'a pas su utiliser les informations, les « données »	LIAISON DONNEES/CONSIGNES	3
– il n'a pas relié l'exercice à une leçon, il n'a pas saisi le sens de cet exercice	LIAISON EXERCICE/LEÇON	4
– il n'a pas su représenter ce qu'il devait obtenir, il n'a pas géré mentalement l'exercice avant de le faire ou en le faisant	ANTICIPER SUR LE RESULTAT FINAL. PREVOIR, REFLECHIR	5
il a mal géré le temps pour faire l'exercice : trop peu de temps passé à lire ce qui était demandé, et pas de planification suffisante du travail.	PLANIFICATION DANS LE TEMPS	6

Dans le cadre des TP de biochimie les points à travailler sont les points 2, 3, 5, 6

- **La formulation de la consigne** a posé également quelques problèmes, mais lorsque j'ai utilisé des protocoles issus des annales. J'avais conscience que la formulation n'était pas très claire ou était inhabituelle et qu'elle pouvait poser problèmes aux élèves. Mais Ils ont posé les questions qu'il fallait pour éviter de faire de mauvaises manipulation.
- Tous les autres points posent effectivement des problèmes et sont à l'origine de nombreuses erreurs de manipulation commises par les élèves. Des exemples sont mentionnées dans la partie problématique.

Une grande partie du problème repose à mon avis dans la manière de lire les protocoles qui sont distribués en TP.

3.4. L'acte de lecture

La lecture dépend de deux phénomènes :

- l'acte de lecture
- les aspects spécifiques des écrits utilisés dans la discipline

D'après François RICHAUDEAU, il existe six modes de lecture et chacun résulte de deux comportements simultanés du lecteur :

- un comportement de nature qualitative (intérêt égal pour l'ensemble du texte ou un intérêt variable)
- un comportement de nature quantitative (lecture intégrale ou lecture partielle et donc sélective.

Comportement de nature quantitative		comportement de nature qualitative	
		intérêt égal	intérêt variable
Lecture intégrale		1 uniforme	2 hiérarchisée
Lecture partielle	sélective	3 ponctuée	4 modulé
	de recherche	5 rythmé	6 mosaïque

1 - Mode uniforme (lecture intégrale avec intérêt égal)

C'est la lecture traditionnelle dont le support est une page remplie de texte, sans titre ni sous titre : c'est l'exemple du roman

2 - Mode hiérarchisé (lecture intégrale avec intérêt variable)

Le lecteur doit tout lire mais des parties sont plus intéressantes que d'autres.

3 - Mode ponctuée (lecture sélective avec intérêt égal)

C'est au lecteur de repérer les parties qui l'intéressent, de repérer les mots et phrases clés qui peuvent être mis en valeur.

4 - Mode modulé (lecture sélective avec intérêt variable)

C'est le cas de l'utilisation de catalogues de vente par correspondance.

5 - Mode rythmé

Il s'agit d'une recherche d'information parmi d'autres présentant le même intérêt : lecture de sommaire, de lexiques,....

6 - Mode mosaïque

Il s'agit d'une lecture de recherche avec intérêt variable : lecture d'une affiche, d'un journal...

La manière de lire dépend donc fortement de l'écrit. Les protocoles de TP constituent un support particulier qui doit nécessiter, à mon sens deux lectures :

- Une lecture partielle sélective de mode ponctué qui doit permettre :
 - de repérer les grandes parties (correspondant au type de manipulation),
 - de repérer les temps d'attentes
 - de repérer les mots clés ou mots importants (exemple : faire deux essais),
 - d'avoir une vue d'ensemble du travail qui est à faire et de s'organiser en conséquence.
- Une lecture intégrale hiérarchisée .

Il s'agit ici de lire chaque partie en détail mais pas forcément dans l'ordre du protocole.

Le protocole doit être lu impérativement en entier avant de commencer la manipulation, sans oublier les questions du compte rendu qui peuvent parfois donner des indications importantes sur la manière de procéder .

Il faut donc trouver une ou des méthode pour aider l'élève à s'approprier le protocole de TP en fonction des problèmes repérés, mais la difficulté résulte du fait que chaque élève va réagir différemment en fonction des expériences tentées.

PROFIL DES ELEVES SUIVI AU COURS DE L'EXPERIMENTATION

ElèveS Comportement	A	B	C	D	E
Attitude pendant la présentation du TP	pose des questions pendant l'exposé(Quand il ne comprend pas)	pose peu de questions sauf quand il ne comprend pas	ne pose pas de question pendant la présentation	peu de questions	pas de question
Attitude pendant la manipulation	pose peu de questions	ne pose pas de question	pose beaucoup de questions (inutiles)	Questions nombreuses(parfois inutiles)	pas de question
Rapidité	rapide	rapide	pas très rapide	pas très rapide	moyennement rapide
Erreurs de manipulation	assez fréquentes	erreurs rares	assez fréquentes	rares	fréquentes
Résultats expérimentaux	irréguliers	bons et réguliers	irréguliers	bons et réguliers	irréguliers

4. MISE EN PLACE D'UNE EXPERIMENTATION

4.1.Présentation de l'expérimentation

Face à ce problème de lecture d'énoncé de TP, j'ai essayé de changer le déroulement des séances de TP de manière à imposer une lecture du protocole, par l'intermédiaire de diverses activités. J'ai donc testé plusieurs solutions:

- distribution du protocole le jour même (ce que je faisais jusqu'alors)
- distribution du protocole le jour même accompagné d'exercices visant à faire lire et à analyser le protocole par les élèves avant de commencer la manipulation
- distribution du protocole une semaine à l'avance accompagné d'exercices.

4.2.Suivi de l'expérimentation

De manière à suivre les résultats de l'expérimentation j'ai suivi 5 élèves à leur insu en notant pour chaque séance test, leur comportement général à savoir:

- leur comportement pendant la présentation du TP
- le comportement pendant la manipulation
- la rapidité de travail
- les erreurs ou oublis éventuels
- les résultats expérimentaux

Ces 5 élèves ont été choisis de manière à avoir des profils différents qui sont résumés dans le tableau ci-contre.

4.3.Problèmes rencontrés

La période d'expérimentation a commencé en même temps que la série de TP sur l'enzymologie qui représente une nouveauté pour les élèves. Ils l'ont abordée en cours, la progression des TP étant adaptée à la progression du cours, mais au niveau pratique ce sont de nouvelles manipulations qui apparaissent. Les expériences ne sont pas compliquées, mais la réflexion est nouvelle. Je ne pouvais donc commencer mon expérimentation sur quelque chose de totalement nouveau. Dans ces TP, le protocole et la théorie ont donc été expliqués dans le détail.

Quelques séances plus classiques ont été intercalées entre les TP d'enzymologie, ce qui m'a permis de réaliser une expérimentation sur quelques semaines. Les dernières séances d'enzymologie ont pu également être utilisées pour tenter de nouvelles approches en ce qui concerne l'aide à la lecture du protocole.

4.4. Les expériences proposées

Plusieurs séances de TP m'ont permis de tenter des approches différentes . Ce sont :

- Dosage du fructose par colorimétrie
- Hydrolyse du saccharose
- Détermination de l'activité de la LDH (Lactate Déshydrogénase)
- Etalonnage d'une solution de permanganate de potassium par volumétrie et colorimétrie.

Chaque TP étant différent, une approche spécifique a été réalisée.

◆ Dosage du fructose par colorimétrie

- *Description du protocole*

Il s'agit d'un dosage colorimétrique par préparation d'une gamme d'étalonnage. Les protocoles de colorimétrie sont souvent divisés en plusieurs parties :

- Présentation de la gamme d'étalonnage
- Dosage de la solution
- Vérification de la méthode par une solution de contrôle.

Le protocole proposé aux élèves est constitué de cette manière, il est issu des annales du Baccalauréat. Le protocole est donné en annexe 1.

- *Problème posé*

Pour réaliser correctement un dosage colorimétrique, il faut réaliser tous les tubes (gamme et essais) en même temps et les traiter de la même manière. Ceci est d'autant plus important dans ce dosage que la couleur se développe avec la chaleur, Il faut donc respecter rigoureusement le temps et la température du chauffage. Si les tubes de gamme et les essais ne sont pas réalisés en même temps, il peut il y avoir des inexactitudes dues à des temps de chauffage inégaux.

La présentation du protocole est telle, que si on le lit et qu'on l'applique au fur et à mesure sans bien comprendre ce que l'on réalise, on commet une erreur qui pourra avoir des conséquences dans les résultats finaux du dosage.

- *Solution proposée*

De manière à obliger les élèves à lire le protocole en entier, j'ai distribué un tableau partiellement vierge qu'ils ont rempli avant de commencer la manipulation (tableau en annexe 1 bis). Pour cela, il ont du lire le protocole dans son ensemble.

Ce genre de tableau complet n'est en général pas demandé dans le compte rendu. Seuls les résultats doivent être donnés. Pourtant si les élèves le réalisaient systématiquement, ils auraient une fiche de travail claire sur laquelle s'appuyer.

Le fait de faire ce tableau permet d'avoir une vue d'ensemble, de repérer les différents produits à analyser de manière à ne pas les mélanger.

Ce genre de tableau peut être demandé en BTS, car à ce niveau on demande aux élèves d'être beaucoup plus autonomes et organisés. Le fait de le donner à des élèves de terminale peut permettre de les familiariser et ainsi de les préparer au BTS.

◆ Hydrolyse du saccharose

- Description du protocole (annexe 2)

Il s'agit de réaliser l'hydrolyse du saccharose en milieu acide et à chaud et de déterminer le pourcentage d'hydrolyse après une minute et quatre minutes de chauffage. Le produit d'hydrolyse du saccharose est le sucre inverti que l'on dose par colorimétrie. Il faut donc réaliser une gamme d'étalonnage à partir d'une solution étalon de sucre inverti.

- Problème posé

Le TP correspond ici à une colorimétrie particulière dans le sens où il faut préparer les essais (hydrolyse du saccharose) avant de réaliser les tubes pour la colorimétrie. Hors les deux étapes demande un chauffage au bain marie.

J'ai pu observer ce TP avec un autre enseignant et un groupe d'élèves qui n'étaient pas les miens. L'enseignant a présenté le principe du TP, les réactions entrant en jeu, puis il a insisté sur la nécessité de traiter les essais en même temps que la gamme.

Les élèves dès qu'ils ont eu l'autorisation de manipuler ont commencé à préparer la gamme et les tubes pour l'hydrolyse de manière à les faire chauffer ensemble. Ils n'avaient pas pris le temps de lire le protocole, et de comprendre réellement ce qui était demandé. Ils ont mélangé l'hydrolyse et la gamme.

Le protocole présente la gamme en premier point, il n'aborde l'hydrolyse qu'ensuite.

Il est donc nécessaire de lire l'ensemble du protocole de manière à s'organiser correctement.

- Solution proposée

Face à la réaction de ce groupe d'élève, j'ai essayé une autre approche. J'ai donc expliqué le principe de la manipulation, les réactions intervenant et j'ai imposé 10 minutes de lecture et de réflexion sur le protocole. Puis j'ai demandé à chaque élève de m'expliquer l'organisation choisie pour la réalisation de la manipulation.

La majorité a compris qu'il fallait commencer par l'hydrolyse et ensuite effectuer la gamme et les essais.

◆ Détermination de l'activité de la LDH

- Description du protocole

Le protocole dans ce cas correspond à la fiche technique d'un kit enzymatique de dosage de la LDH. Les élèves doivent en effet apprendre à utiliser ces fiches qui ont une présentation particulière mais toujours identique. Cette fiche technique est donnée en annexe 3.

- Problème posé

C'était le deuxième TP proposé s'appuyant sur l'utilisation d'une fiche technique. La description et l'utilisation avait déjà été faite au cours d'un TP précédent.

De plus il s'agissait d'un TP d'enzymologie qui arrivait après une longue série. Les élèves avaient donc tous les pré-requis nécessaires pour réaliser cette manipulation.

- Solution proposée

Il n'y a pas eu d'exposé préalable. Les élèves étaient donc obligés de lire la fiche technique entièrement et de la comprendre avant de commencer la manipulation.

Pour les aider un questionnaire a été distribué. (annexe 3 bis). Une correction a été effectuée avant le début de la manipulation.

◆ **Etalonnage d'une solution de permanganate de potassium par volumétrie et colorimétrie**

• *Description du protocole*

Il s'agit de déterminer la concentration d'une solution de permanganate de potassium, par deux méthodes : la colorimétrie et la volumétrie. Il s'agit d'un TP classique qui n'implique aucune connaissance particulière. Des dosages équivalents ont été réalisés de nombreuses fois dans l'année. Il s'agit ici de comparer les deux méthodes.

• *Solution proposée*

Ces manipulations sont classiques mais entraînent souvent des erreurs notamment au moment des calculs. De manière à ce que les élèves lisent le protocole dans le détail, j'ai distribué le protocole une semaine à l'avance, avec des questions préliminaires concernant la manipulation. (Protocole et questions en annexe 4).

Ces questions portaient sur l'établissement de la réaction d'oxydoréduction du dosage, sur la schématisation des expériences....

Ces quatre séances ont été réalisées sans avertir les élèves du travail réalisé, de manière à ne pas les influencer dans leur comportement.

5. ANALYSE DES RESULTATS ET AUTRES SOLUTIONS PROPOSEES

5.1. Résultats de l'expérimentation

Les résultats sont donnés TP par TP. Les erreurs de manipulation relevées ainsi que les notes obtenues en pratique sont données dans des tableaux pour chaque élève suivi. Les erreurs commises sont ensuite analysées afin d'en déterminer les causes.

5.1.1. Dosage du fructose

élève	A	B	C	D	E
Observations	Absent	Pas d'observation particulière, mise à part une coupure de gaz pendant la manipulation			Absent
Notes de manipulation	Absent	16/20	16,5/20	15/20	Absent

Les résultats sur cette séance de TP sont concluants. Les élèves ont lu le protocole entièrement et on rempli le tableau sans difficulté. Il leur a servi de fiche de travail pour la réalisation de la manipulation. Il n'y a pas eu de question sur le protocole, ni d'erreur importante. Les essais et la gamme ont été réalisés en même temps. Il a seulement fallu insister sur le fait que les conditions de chauffage étaient importantes, qu'il fallait donc respecter le temps et la température mentionnés.

5.1.2. Hydrolyse du saccharose

élève	A	B	C	D	E
Observations	- les essais sont nuls (valeur d'absorbance de 0) <i>origine de l'erreur non déterminée</i>		Absent	- a jeté le bain marie alors qu'il en avait encore besoin - n'a pas vu qsp 2 mL (a rajouté 2 mL) a donc recommencé la gamme	- a réalisé la gamme avec la solution de saccharose au lieu de la solution de sucre inverti
Notes de manipulation	5/20	15/20	Absent	16/20	5/20

Après la présentation du TP les élèves semblaient avoir compris l'objectif de la manipulation et l'organisation à adopter. En comparaison avec le groupe témoin (groupe d'un autre enseignant), les élèves ont su s'organiser rapidement et ont commencé leur manipulation comme il le fallait. Cependant des erreurs ont été observées :

- Le fait de rajouter 2 mL alors qu'il est écrit « qsp 2 mL (quantité suffisante pour) » vient d'une mauvaise lecture dans le détail. L'élève a vu 2 mL a analysé qu'il fallait rajouter 2 mL. Cette formule souvent utilisée en Biochimie a déjà été rencontrée plusieurs fois dans l'année. Cela n'est donc pas une nouveauté pour les élèves. Cette erreur a été remarquée tout de suite par l'élève qui a pu recommencer sa gamme d'étalonnage. Il n'y a donc pas eu de conséquence sur les résultats expérimentaux finaux.
- La réalisation de la gamme d'étalonnage avec la solution de saccharose au lieu de la solution de sucre inverti correspond à une erreur importante résultant à mon avis d'un manque de compréhension ainsi qu'un manque de concentration. L'erreur a été découverte au moment de la lecture des tubes. Il n'a donc pas été possible de refaire la manipulation. La mauvaise lecture du protocole est évidente dans ce cas. (ou mauvaise lecture de l'étiquette sur le flacon).

- Le fait d'obtenir des valeurs d'absorbance de 0 pour les essais résultants de l'hydrolyse du saccharose peut avoir plusieurs causes :
 - tubes non chauffés (hydrolyse non réalisée)
 - Oubli de HCl
 - Absence de saccharose

L'origine de l'erreur n'a pas été déterminée, car l'élève a eu l'impression de réaliser la manipulation correctement. Une mauvaise lecture du protocole semble donc être à l'origine de cette erreur.

5.1.3. Détermination de l'activité LDH

élève	A	B	C	D	E
Observations	Pas d'observation particulière				- a prélevé 200 μ L de sérum au lieu de 20 μ L.
Notes de manipulation	10/10	10/10	7/10	10/10	0/10

Ce TP implique l'utilisation de sérum ce qui nécessite des précautions qui ont été rappelées juste avant la manipulation. Les élèves venant prélever le sérum les uns après les autres, le bon respect des règles de sécurité a pu être surveillé.

Dans ce TP il n'y a qu'une manipulation (effectuée deux fois). Il n'y a pas de problème d'organisation de la séance. Il faut cependant anticiper sur la manipulation de manière à avoir tout le matériel nécessaire au moment du déclenchement de la réaction enzymatique (chronomètre, parafilm, réactif déclenchant, bac de javel pour jeter la cuve contaminée) Ces précautions ont été rappelées avant le début de la manipulation . Il n'y a donc pas eu de problèmes sur ce point là.

Les erreurs remarquées sur cette séance correspondent à une mauvaise utilisation des pipettes automatiques entraînant des confusions dans les volumes prélevés. Il est difficile de savoir s'il s'agit d'une erreur de lecture du protocole ou d'une erreur due à l'utilisation de la pipette automatique, mais le manque d'analyse et de concentration conduit à un résultat faux et une note nulle.

5.1.4. Etalonnage d'une solution de permanganate

élève	A	B	C	D	E
Observations	- a vidé sa burette alors qu'il en avait encore besoin pour la manipulation suivante.	- a réalisé sa solution dans un bécher au lieu d'une fiole jaugée	- a réalisé deux pesées alors qu'il fallait faire deux prélèvements à partir de la solution préparée		- n'a pas mis la bonne solution de permanganate dans sa burette
Notes de manipulation	18/20	15,5/20	18,5/20	19/20	6,5/20

Pour cette séance, le protocole a été distribué à l'avance, et la manipulation n'apporte aucune connaissance nouvelle. Je m'attendais donc à ce qu'il y ait peu d'erreurs. Le travail demandé a été réalisé par la majorité du groupe (une personne ne l'a pas fait). Les élèves ont donc lu le protocole, fait les calculs préliminaires ainsi que les schémas du dosage. Malgré une lecture approfondie il y a eu de nombreuses erreurs commises pendant la manipulation. Ces erreurs pour la plupart sans conséquence montrent que les élèves ne réfléchissent pas avant d'effectuer un geste.

La lecture a été effectuée en général, mais il n'y a pas eu d'analyse de ce qui a été lu. Les élèves n'arrivent pas à avoir une vue d'ensemble ni à anticiper ce qu'ils doivent faire à partir de ce qu'ils ont lu. Il y a lecture mais pas analyse.

5.2. Analyse des résultats

5.2.1. Analyse des résultats de l'expérience

- La réalisation d'un tableau pour une colorimétrie semble un bon moyen pour inciter les élèves à lire le protocole dans son ensemble. Dans le TP testé ce tableau a été réalisé par l'enseignant. L'idéal serait que cela soit les élèves qui le fassent systématiquement suite à l'analyse de leur protocole. Ce travail pouvant leur être demandé en BTS, il serait intéressant que les élèves s'habituent à le réaliser dès la terminale.
- Le fait d'imposer un temps de lecture et un mode d'organisation a permis une meilleure compréhension de la manipulation et a limité le nombre d'erreurs. (par rapport au groupe témoin).
- La manipulation concernant la LDH s'est bien déroulée dans l'ensemble, mais la réalisation du protocole est simple (mise à part la manipulation du sérum), et a déjà été réalisée à plusieurs reprises sur des enzymes différentes. Il me semble donc normal qu'il y ait eu peu d'erreurs au cours de cette séance

- La distribution du protocole à l'avance n'a pas été très concluante. Peut être que le sujet du TP était mal choisi pour cette expérience. En effet il s'agissait d'un TP comprenant des manipulations classiques. Les élèves ont du considérer que cette manipulation était « facile » ce qui peut expliquer une concentration moins importante, et de nombreuses erreurs.

5.2.2. Analyse du comportement des élèves testés

La présentation des TP a été raccourcie . Cela a permis de laisser plus de temps aux élèves pour lire et pour s'appropriier le protocole. Ils ont donc posé moins de questions pendant la manipulation.

La rapidité des élèves n'a pas évolué et ce sont souvent les mêmes élèves qui font des erreurs dues à un manque d'analyse et de concentration.

Les résultats expérimentaux sont semblables à ceux observés en début d'année. Ils sont souvent irréguliers chez les élèves qui commettent les erreurs.

5.2.3. Conclusion

Les observations faites au cours des séances de TP de l'année, ainsi que lors des TP d'expérimentation révèlent qu'il y a bien un problème de lecture du protocole. Le fait d'imposer la lecture en donnant un travail à faire, oblige les élèves à lire le protocole en entier. Mais la lecture est plus ou moins efficace et dans la plupart des cas elle ne permet pas de faire ressortir l'essentiel ou de donner un recul nécessaire sur la manipulation.

La lecture doit être active, c'est à dire accompagnée d'une réflexion. Il ne s'agit pas de lire un protocole de TP comme on lit un roman. Les mots, les expressions doivent être analysés et mis en relation avec la manipulation. Quand un produit est mentionné, il faut repérer où il se trouve dans la salle, ce que l'on va en faire. Quand une manipulation est décrite il faut se demander quel matériel utiliser. Il est nécessaire de relier ce qui est écrit à la manipulation à réaliser. Ensuite il faut prendre du recul et revenir à l'objectif de chaque partie. C'est dans ce sens que la lecture doit être détaillée et active. Les élèves, dans l'ensemble, ne réalisent pas cette démarche complexe.

Au cours des séances d'expérimentation ils ont lu le protocole car ils ont été incités à le faire. Mais si l'expérience s'arrête, vont il faire l'effort de le lire en détail et en entier avant de commencer la manipulation ? Ont ils saisi l'importance de cette lecture et de cette analyse ?

5.3. Autres solutions proposées:

D'autres expériences pourraient être tentées afin de donner aux élèves une méthode de travail pour la lecture et l'analyse des protocoles de TP..

- Il pourrait être intéressant d'imposer un temps de lecture avant de commencer la manipulation et de voir comment chacun des élèves s'approprié le protocole : réalisation de schéma, surlignage de mots ou données importantes...
- Une autre approche serait de distribuer le protocole au cours d'une interrogation préliminaire et de poser des questions sur l'organisation , le principe, les calculs préliminaires, les solutions à utiliser, le matériel à utiliser. De cette manière chacun serait obligé de faire une analyse détaillée du protocole
- On pourrait réessayer de distribuer le protocole une semaine à l'avance mais cette fois ci pour une manipulation nouvelle, de manière à ce que les élèves aient le temps d'assimiler le principe avant de commencer la manipulation.
- Afin de faire prendre conscience aux élèves de l'importance de la lecture du protocole, la lecture collective partie par partie avec mise en évidence des données importantes pourrait être une solution intéressante. Si cette expérience était réalisée dès le début de l'année et régulièrement cela permettrait peut être de donner une méthode de travail aux élèves.
- Enfin il faudrait peut être organiser différemment les séances de TP. En séparant la séance en deux fois deux heures. Une partie de TD dans une salle de cours, l'autre partie, un autre jour serait composée de la manipulation. De cette manière, les élèves auraient le temps à chaque séance de relire le protocole et d'assimiler les nouveautés.
 La séance de TD serait composée de la correction du TP précédent et de la présentation de la manipulation.
 La séance de TP serait consacrée entièrement à la manipulation.
 Les inconvénients de ce système est qu'il ne sera pas possible de réaliser des manipulations trop longues, ni d'épreuves dans les conditions du baccalauréat.

A terme il serait intéressant que les élèves acquièrent une méthode de lecture, et qu'ils l'utilisent face à n'importe quel protocole de TP, autant en Biochimie, Microbiologie qu'en Biologie humaine.

6. CONCLUSION

La lecture et la mise en œuvre de protocoles est un problème important rencontré en travaux pratiques de Biochimie. D'après la littérature, cette insuffisance de lecture et d'analyse se rencontre à tous les niveaux scolaires et dans toutes les disciplines.

En TP de biochimie, la lecture des protocoles est nécessaire pour réaliser les manipulations correctement. Le manque d'analyse conduit à un manque de recul, de compréhension et à de nombreuses erreurs.

Le travail réalisé au cours des séances d'expérimentation a permis de trouver quelques solutions, mais le problème n'est pas résolu. Si l'on n'impose pas cette lecture aux élèves, la majorité d'entre eux ne fait pas l'effort de la réaliser correctement. L'expérience a pu montrer qu'une lecture approfondie permettait dans certains cas une meilleure réalisation des manipulations demandées. Mais le problème majeur reste d'inciter les élèves à analyser le protocole. Pour cela il faut leur donner une méthode de travail, une attitude à adopter systématiquement face à un protocole de TP. Mais chaque élève est caractérisé par un style pédagogique différent. Chacun va s'appropriier le protocole à sa manière : en soulignant, en dessinant, en écrivant ou sans rien noter. L'important c'est de leur monter les questions à se poser face à un protocole.

Il faut trouver pour chaque élève la meilleure manière de s'approprier les consignes de TP. C'est à l'enseignant de l'aider dans cette démarche.

BIBLIOGRAPHIE

CASTELLANI Gérard A : *Bien lire dans toutes les disciplines au collège*, Bibliothèque
RICHAUDEAU ALBIN MICHEL

RICHAUDEAU François : *Manuel d typographie et de mise en page* , Editions RETZ

ZAKHARTCHOUK Jean Michel : *Lecture d'énoncé et de consignes*, CRDP Amiens

ZAKHARTCHOUK Jean Michel : *Comprendre les énoncés et les consignes*, CRDP
Amiens

ANNEXES

TABLEAU DES EPREUVES DU BACCALAUREAT
Sciences et Techniques de Laboratoire

Désignation	Coefficient	Nature de l'épreuve	Durée
<i>Epreuves anticipées</i>			
1- Français	2	écrite	4 h
2- Français	1	orale	
3- Histoire - Géographie	1	orale	
<i>Epreuves terminales</i>			
4- Sciences physiques	4	écrite	3 h
5- Biochimie - Biologie	6	écrite	4 h
6- Technologies biochimiques et biologiques	12	écrit préliminaire + pratique	10 h
7- Langue vivante 1	2	écrite	2 h
8- Mathématiques	2	écrite	2 h
9- Philosophie	2	écrite	4 h
10- Education physique et sportive	2		
TOTAL	34		

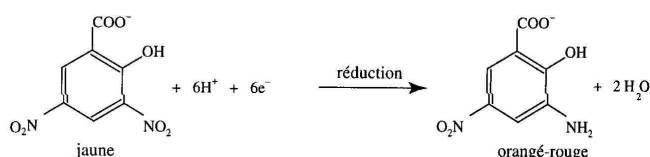
DOSAGE DU FRUCTOSE PAR COLORIMETRIE Méthode au 3,5- dinitrosalicylate (3,5 DNS)

Principe de la manipulation

Le fructose est un ose réducteur.

Les glucides réducteurs peuvent être dosés grâce à leur propriétés réductrices en milieu alcalin et à chaud.

Ils peuvent réduire le 3,5 dinitrosalicylate (3,5- DNS) qui donne un composé rouge orangé que l'on peut doser par colorimétrie à 530 nm.



La réaction est non stoechiométrique, donc dépendante des conditions opératoires.

M

Mode opératoire

Réactifs :

- Solution étalon de fructose à 5,00 mmol L⁻¹
- Solution S à doser.
- Fructose en poudre.(poudrier)
- Réactif au 3,5-dinitrosalicylate (distributeur)

1-Gamme d'étalonnage.

- Dans une série de 6 tubes:
 - on introduit 0 0,2 0,4 0,6 0,8 1 mL de solution étalon.
 - on complète à 1 mL avec de l'eau distillée
 - on ajoute 2 mL de réactif au 3,5 DNS
 - Tous les tubes sont bouchés, portés au bain-marie bouillant en même temps exactement 5 minutes. Ils sont ensuite refroidis dans un bain d'eau glacée.
 - On complète chaque tube à 10 mL avec de l'eau distillée. On homogénéise et on laisse reposer 15 minute à température ambiante.
- Les lectures sont réalisées à 530 nm contre le blanc réactif.

2 - Dosage de la solution inconnue. (solution S) (2 essais S₁ et S₂)

Le dosage est réalisé sur 0,5 mL de la solution S à doser. Ces tubes S₁ et S₂ sont traités dans les mêmes conditions et en même temps que la gamme d'étalonnage.

3 - Vérification de la méthode.

- Peser exactement une masse de fructose de l'ordre de 0,12 g. Dissoudre dans une fiole jaugée de 200 mL: c'est la solution C.
- La colorimétrie est réalisée sur 0,5 mL de solution C (2 essais C₁ et C₂).

Les tubes C₁ et C₂ sont traités dans les mêmes conditions et en même temps que la gamme d'étalonnage.

4 - Résultats et calculs.

- Compléter la feuille de résultats.
- Tracer la courbe $A = f(\text{quantité de fructose en } \mu\text{mol / tube})$

Remarque : la courbe d'étalonnage ne passe pas obligatoirement par l'origine.

- Déterminer les valeurs de concentration molaire et de concentration massique de la solution S.
- Déterminer graphiquement la masse de fructose présente dans les tubes C₁ et C₂. En déduire la concentration massique ρ de la solution C.
- Comparer à la valeur attendue ρ' d'après la masse pesée : calculer le pourcentage d'inexactitude

Données : $M(\text{fructose}) 180 \text{ g mol}^{-1}$.

HYDROLYSE DU SACCHAROSE

1 - But de la manipulation

Il s'agit de déterminer le pourcentage d'hydrolyse du saccharose en milieu acide et à chaud. Ce pourcentage d'hydrolyse sera déterminé dans deux cas : après une minute de chauffage et après quatre minutes de chauffage.

2 - Principe de la manipulation

2-1 *Hydrolyse du saccharose*

2-2 *Dosage du sucre inverti*

3- Manipulation

3-1 *Réactif et matériel*

- Solution S de saccharose de concentration exacte $10,0 \text{ g.L}^{-1}$
- Solution de sucre inverti à $5 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$
- Réactif au 3,5 DNS (distributeur)
- Tampon en flacon

3-2 *Gamme d'étalonnage.*

Préparer 10 mL d'une solution fille de « sucre inverti » à $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ à partir de la solution de « sucre inverti » donnée.

Tubes	0	1	2	3	4	5
Solution fille de « sucre inverti » (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillée qsp 2 mL (mL)						
Tampon pH 4.5 (mL)	←————— 1 —————→					
Réactif au 3,5 DNS (mL)	←————— 2 —————→					
	Boucher les tubes au papier alu ; les placer 5 min au bain marie Refroidir dans la glace					
Eau distillée (mL)	←————— 15 —————→					

Laisser reposer 5 minutes à température ambiante.

Lire l'absorbance à 530 nm contre le tube 0.

Remarque : pour la colorimétrie au 3,5 DNS, la droite d'étalonnage ne passe pas par 0 en général.

3-3 *Hydrolyse du saccharose et coloration.*

* Hydrolyse

- Dans deux tubes à essais T1 et T4 introduire :
 - 10,00 mL de saccharose
 - 0,50 mL de HCl 1/2

- Placer les tubes au bain marie exactement **une minute pour T1 et 4 minutes pour T4**.
- Refroidir aussitôt dans la glace.
- Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 100 mL ; Compléter à 100 mL avec de l'eau distillée . Homogénéiser.
- Soient H1 et H4 les hydrolysats obtenus.

* **Coloration**

Tubes	H1	H4 (2 essais)
Hydrolysats H (mL)	1	1
Eau distillée qsp 2 mL (mL)		
Tampon pH 4.5 (mL)	←———— 1 —————→	←———— 1 —————→
Réactif au 3,5 DNS (mL)	←———— 2 —————→	←———— 2 —————→
	Boucher les tubes au papier alu ; les placer 5 min au bain marie Refroidir dans la glace	
Eau distillée (mL)	←———— 15 —————→	←———— 15 —————→

Laisser reposer 5 minutes à température ambiante
Lire l'absorbance à 530 nm contre le 0 de la gamme.

4- **Compte rendu**

4-1 Présenter un tableau complet de colorimétrie (gamme et essais dans le même tableau). Donner les valeurs d'absorbance et le nombre de μmol de « sucre inverti » par tube (pour la gamme). Présenter le détail d'un calcul.

4-2 Tracer la courbe $A = f$ (nombre de μmol de « sucre inverti » par tube).

4-3 En déduire la quantité de « sucre inverti » dans 1 mL de H1 et H4.

4-4 Calculer la concentration en « sucre inverti » de H1 et H4 en mol L^{-1}

4-5 Sachant qu' une mole de « sucre inverti » vient d'une mole de saccharose et que S a été dilué (déterminer cette dilution) pour la préparation de H1 et H4, calculer la concentration en saccharose hydrolysé (en mol L^{-1}) au bout de 1 et 4 min.

4-6 Calculer la concentration en saccharose initiale de S en mol L^{-1} . ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)

4-7 Déduire des résultats précédents le pourcentage de saccharose hydrolysé au bout de 1 et 4 minutes.

DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE LA LACTATE DESHYDROGENASE (LDH)

1 - Comment détermine-t-on l'activité d'une enzyme ?(ou Concentration en Activité Catalytique CAC)

2 - Quelles sont les conditions du dosage ?

3 - Réaction :

- Y-a-t-il besoin d'une réaction indicatrice ? Pourquoi ?

- Pourquoi suit-on l'absorbance à 340 nm

- Que suit-on à 340 nm ?

4 - Redémontrer les coefficients donnés par le fabricant sachant que $\epsilon = 6300 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$

5 - Calculer l'activité de la LDH dans le sérum (faire deux essais)

ETALONNAGE D'UNE SOLUTION DE PERMANGANATE DE POTASSIUM PAR VOLUMETRIE ET PAR COLORIMETRIE

I - ETALONNAGE DE LA SOLUTION DE PERMANGANATE DE POTASSIUM (KMnO₄) PAR L'OXALATE DE POTASSIUM (COOK-COOK)

1 - Par pesée directe d'oxalate de potassium .

1-1 Questions préalables

- Etablir l'équation de la réaction et la relation à l'équivalence.
- Calculer la masse d'oxalate de potassium à peser pour avoir une chute de burette de permanganate d'environ 20 mL.
- Faire le schéma du dosage après avoir lu le protocole.
- Prévoir la teinte de fin de réaction.

1-2 Manipulation (2 essais)

- Peser exactement une masse d'oxalate de potassium d'environ la valeur calculée (Faire 2 essais).
- Transvaser quantitativement dans un erlen et ajouter environ 50 mL d'eau distillée et 10 mL d'acide sulfurique au 1/10 (distributeurs sous la hotte)
- Doser par le permanganate de potassium

1-3 Compte rendu

- Calculer la concentration de la solution de permanganate de potassium en mol.L⁻¹
mmol.L⁻¹ et g.L⁻¹

2 - Par préparation d'une solution d'oxalate de potassium.

1-1 Questions préalables

- Faire le schéma du dosage après avoir lu le protocole.
- Quel volume de chute de burette va-t-on avoir approximativement ?

1-2 Manipulation (2 essais)

- Peser exactement une masse d'oxalate de potassium d'environ 0,6 g.
- Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 50 mL et compléter avec de l'eau distillée
- Dans un erlen introduire :
 - 10 mL de solution d'oxalate de potassium
 - 10 mL d'acide sulfurique au 1/10 (distributeurs sous la hotte)
 - environ 40 mL d'eau distillée
- Doser par le permanganate de potassium

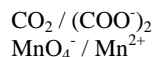
1-3 Compte rendu

- Calculer la concentration de la solution de permanganate de potassium en mol.L⁻¹
mmol.L⁻¹ et g.L⁻¹

Données

— La concentration de la solution de permanganate à doser est d'environ 3 g L⁻¹.

— Couples mis en jeu :



— M(KMnO₄) = 158 g mol⁻¹
C=12 g O = 16 g mol⁻¹ K = 39 g mol⁻¹

II - ETALONNAGE DE LA SOLUTION DE PERMANGANATE PAR COLORIMETRIE

On dispose d'une solution étalon de permanganate à 40 mmol . L⁻¹ .

1 - Manipulation

- Diluer la solution étalon au 1/100

- Préparer la gamme selon le protocole suivant :

Tubes	0	1	2	3	4	E1	E2
Solution étalon de KMnO ₄ diluée (mL)	0	1	2	3	4		
Eau distillée qsp 4 mL (mL)						4-x	4-x
Concentration en KMnO ₄ mmol . L ⁻¹							

- Diluer la solution à doser si nécessaire.
- Pour les essais opérer sur x mL de solution à doser. (**2 essais**)
- Lire les tubes de la gamme et de la solution à doser à 540 nm.

2 - Compte rendu

- Connaissant approximativement la concentration de la solution à doser , faut-il la diluer avant de réaliser les essais?
- Sur quel volume de solution à doser opère-t-on ? (x = ?)
- Préparer un tableau complet comprenant la gamme(préparation), les essais, les valeurs d'absorbance et les concentrations.
- Tracer le graphe $A_{540nm} = f([KMnO_4])$.
- Déterminer graphiquement la concentration de la solution à doser. La donner en mmol.L⁻¹ , mol.L⁻¹ et g.L⁻¹ .
- Comparer avec les résultats du dosage volumétrique. (Faire un tableau)