| SVT | Thème 3C : Comportement et stress : vers une vision intégrée de l'organisme | Term Spé SVT |
|---|---|---|
| TP | **Chapitre 1 : Stress aiguë, l'adaptabilité de l'organisme** | ESTHER |

# TP 19 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage du cortisol

« Le **syndrome de Cushing** regroupe l'ensemble des manifestations cliniques induites par une exposition chronique à un excès endogène de glucocorticoïdes (comme le cortisol). Il comporte de nombreux symptômes non spécifiques comme l'obésité, l'hypertension artérielle, les troubles de la glycorégulation, les troubles de l'humeur. Non traité, il induit une surmortalité et une morbidité significative, notamment cardiovasculaire. Son diagnostic et son traitement restent délicats. »

*(Source : Protocole National de Diagnostic et de Soins – Syndrome de Cushing / www.has-sante.fr/)*

## Mise en situation et recherche à mener

M. Z présente une fatigue nerveuse, des troubles du sommeil mais aussi un visage gonflé et des accumulations de graisse au niveau du cou et du haut du dos. Son médecin suppose alors qu'il est atteint du syndrome de Cushing.

**On cherche à déterminer, par un test ELISA, si M. Z est atteint du syndrome de Cushing.**

## Ressources

**Ressource 1 - Deux méthodes de diagnostic du syndrome de Cushing :** *(Source : www.has-sante.fr/)*

Les examens conseillés en première intention, en ambulatoire si le patient est compliant, sont l'un et/ou l'autre des examens suivants :

- 2 à 3 mesures de la cortisolurie des 24 heures avec créatininurie.
- 2 à 3 mesures du cortisol salivaire nocturne (classiquement à 24 heures)

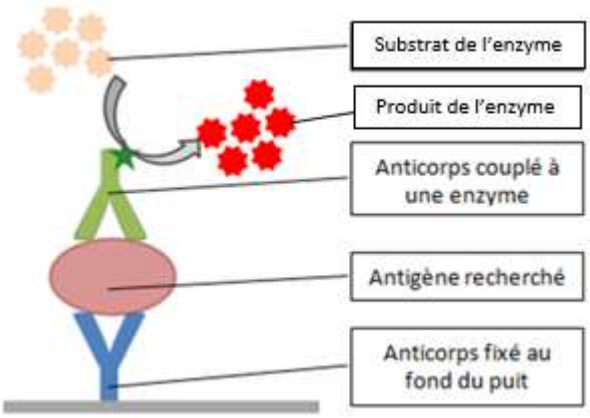
**Ressource 2 - Valeurs normales de concentration en cortisol dans le sérum ou la salive :**

| | Dans le sérum | Dans la salive |
|---|---|---|
| **Concentration en cortisol, le matin (en µg.dL$^{-1}$)** | 5,00 - 25,00 | 0,20 - 1,41 |

**Ressource 3 - Principe du test ELISA lors de la recherche d'un antigène :**

On utilise des puits tapissés avec des anticorps dirigés contre un antigène recherché. La solution à tester est ensuite déposée dans un puits et si l'antigène recherché est présent, il va se fixer aux anticorps présents au fond du puits. On rajoute alors dans le puits une solution d'anticorps spécifiques de l'antigène recherché couplés à une enzyme. Les puits sont alors rincés. Ainsi, les anticorps non fixés sont éliminés. Lorsqu'on rajoute dans le puits le substrat de l'enzyme, il se forme un produit coloré.

Par conséquent, plus la quantité d'antigène recherché est importante, plus la quantité de produit coloré obtenue après ajout du substrat est importante, plus la couleur du puits est intense.




## Matériel – *liste non exhaustive*

- Tube(s) de salive de patients dont Mr Z ;
- Barrettes de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti-cortisol ;
- Solution AC2 d'anticorps de détection anti-cortisol, couplés à une enzyme ;
- Solution S de substrat de l'enzyme ;
- Solutions de cortisol de différentes concentrations connues
- Fiche technique « Dosage d'antigènes par l'utilisation du test ELISA », ...

## Consignes (type ECE)

A. **Proposer une stratégie** de résolution réaliste, à partir des ressources, du matériel et du protocole d'utilisation proposés. **Préciser le matériel** dont vous aurez besoin pour mettre en œuvre votre stratégie. **Mettre en œuvre votre protocole (+ fiche d'aide)** pour obtenir des résultats exploitables.

B. **Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données brutes** pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème.
**Exploiter** les résultats pour résoudre la situation problème.

| SVT | Thème 3C : Comportement et stress : vers une vision intégrée de l'organisme | Term Spé SVT |
|---|---|---|
| TP | **Chapitre 1 : Stress aigu, l'adaptabilité de l'organisme** | ESTHER |

# TP 19 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage de la cortisol

## Matériel et protocole d'utilisation du matériel

**Matériel :**

- Tube(s) de salive du patient ;
- Barrettes de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti-cortisol ;
- Solution AC2 d'anticorps de détection anti-cortisol, couplés à une enzyme ;
- Solution S de substrat de l'enzyme ;
- Solution de lavage L ;
- Micropipette avec embouts ;
- Solutions de cortisol de différentes concentrations connues
  - C1 : 0,20 mg.dL$^{-1}$
  - C2 : 1,41 mg.dL$^{-1}$
  - C3 : 2,5 mg.dL$^{-1}$ ;
- Matériel laboratoire classique
- Fiche technique « Dosage d'antigènes par l'utilisation du test ELISA ».

**Afin de déterminer si M. Z est atteint du syndrome de Cushing :**

- **Réalisez** un test ELISA.

**Sécurité :** Les produits utilisés sont des produits de substitution permettant de modéliser les mécanismes mis en jeu. Parmi les produits utilisés, certaines solutions sont corrosives.

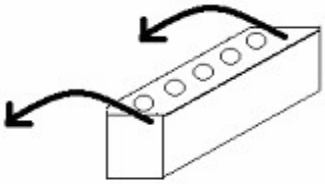
**Précautions de la manipulation :**

## Protocole

1- **Repérer les puits et déposer** 20 µL (ou une goutte) des différentes solutions à tester (une par puits). **Laisser incuber** 3 min à température ambiante

2- **Vider** la barrette en la renversant d'un geste rapide au-dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits.

3- **Laver** les puits : remplir 20 µL de la solution de lavage L puis vider cette solution de rinçage. **Tamponner** ensuite les puits sur du papier filtre pour éliminer l'excès de produits et éviter la contamination.



4- **Ajouter** 20 µL de solution d'anticorps de détection AC2. **Laisser incuber** 3 min à température ambiante.

5- **Vider** la barrette en la renversant d'un geste rapide au-dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits.

6- **Laver** les puits : **remplir** tous les puits avec la 20 µL de solution de lavage L (eau distillée), en évitant les débordements, et vider immédiatement comme précédemment.

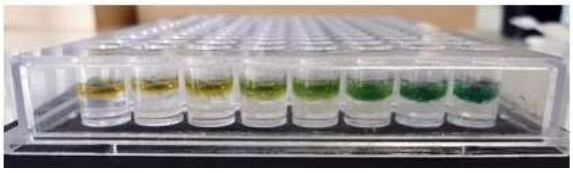
7- **Mettre** dans les puits 20 µL de la solution S de substrat.

8- **Lisez** les résultats en vous appuyant sur le document support et les informations du document ressource. Attention, adaptez votre lecture au contenu de vos puits.

*Le jaune marque une absence de cortisol, le vert une présence et le violet une abondance forte.*

Exemple de résultats barette

svtlyceedevienne.com



D'après ens-lyon.fr

| SVT | Thème 3C : Comportement et stress : vers une vision intégrée de l'organisme | Term Spé SVT |
|---|---|---|
| TP | **Chapitre 1 : Stress aiguë, l'adaptabilité de l'organisme** | ESTHER |

## TP 19 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing

Dossier du patient :

Mr Z

Dossier transmis pour suspicion de syndrome de Cushing

Consultations successives par des experts de Terminales Spécialité SVT en cours de formation en endocrinologie (étude des hormones), analyses biologiques, cancérologie, immunologie, génétique et diagnostique.

| | |
|---|---|
| NOM Prénom :<br><br>NOM Prénom : | Laboratoire d'analyses médicales de<br>Cergy le haut |

*Merci de fusionner tous les documents du patient (4 pages) afin d'en assurer un suivi efficace !*

# 1- Dossier du patient transmis par Dr Jules Verne

# TP 19 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage de la cortisol

## A compléter avant ou pendant la séance de TP

### Stratégie expérimentale (étape A1)

**Proposez votre stratégie expérimentale pour déterminer, par un test ELISA, si M. Z est atteint du syndrome de Cushing:**

**Présentation des résultats (étape B3)**

*Titre : Schémas des réactions théoriques des réactions immunologiques lors d'un test ELISA de dosage de la cortisol, à gauche (témoin sans cortisol) et à droite (test avec cortisol)*

***Légendes***

## 2- Dosage du cortisol par un test ELISA

# TP 19 – Un diagnostic pour le syndrome de Cushing – Le dosage de la cortisol

## Interprétations des résultats obtenus (étape B4)

**Exploitation des résultats et des ressources pour résoudre la situation problème : Mr Z a-t-il un syndrome de Cushing ?**

*+ Photographie / schéma légendé et titré de vos résultats du test ELISA*

Après avoir confirmé le syndrome de Cushing pour Mr Z., vous devez réaliser des analyses supplémentaires pour proposer un traitement adapté.

*Document Ressource*

**Le diagnostic confirmé, et après ? -** Une fois le diagnostic d'excès de cortisol endogène confirmé, l'étape suivante consiste à localiser sa source. En effet, plusieurs pathologies peuvent conduire à une hypercortisolémie. Il faut distinguer :

- les syndromes de Cushing ACTH-indépendants (15% des cas) où une tumeur est visible dans *les glandes surrénales. Celles-ci présentent de multiples nodules qui secrètent cette hormone en excès, de façon autonome, indépendamment du contrôle normalement exercé par l'hypophyse.*
- les syndromes de Cushing ACTH-dépendants (représentant 85% des cas, et sont associés à des pathologies hypophysaires (on parle alors de **maladie de Cushing**).

Le syndrome de Cushing (SC) est un ensemble de symptômes et signes résultant de l'exposition prolongée et inappropriée des tissus à un excès de glucocorticoïdes.
Il est associé à une mortalité quatre fois supérieure à la population normale (de même âge et sexe), due principalement aux complications cardiovasculaires (hypertension artérielle et événements thromboemboliques) et à la susceptibilité aux infections bactériennes. Comme presque tous les effets physiques et psychiques du SC sont réversibles sous traitement, un diagnostic et un traitement précoces sont essentiels.

***Résultats des analyses au dos***

**Analyse supplémentaire demandée : IRM/Scanner**

**Interprétations des résultats d'IRM/scanner :**

**Analyse supplémentaire demandée : Dosages sanguins**

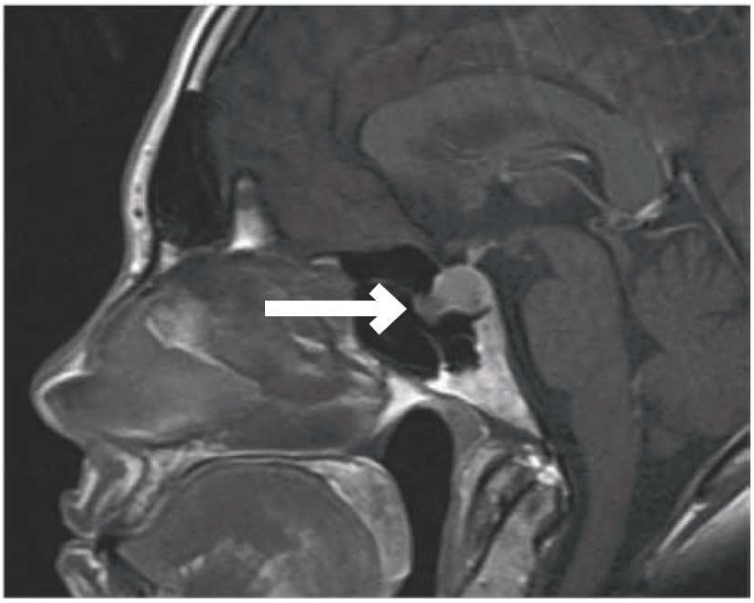
**Interprétations des résultats du dosage sanguin :**

**Bilan des analyses supplémentaires demandées :** *Décrivez l'origine du syndrome de Cushing et proposez un traitement adapté*

# 3- Résultats des analyses complémentaires

## Document ressource – Résultats de l'IRM et du scanner de Mr Z :

Doc 1 - IRM anatomique de Mr Z en coupe sagittale relevant la présence d'une tumeur (indiquée par la flèche blanche) – Source : https://www.louvainmedical.be/fr



Doc 2 - Scanner anatomique de Mr Z avec en légendes : 1, Foie. 2, Rein droit. 3, Rachis. 4, Aile iliaque (côté gauche). 5, Rein gauche. 6, Estomac. 7, Rate. Flèche, Surrénale. (Source : https://www.info-radiologie.ch/)

Note - Aucune pathologie ou anomalie (tumeur, lésion, ..) visible au niveau abdominale

## Document ressource – Résultats des dosages sanguins de Mr Z :

| | Patient | valeurs normales |
|---|---|---|
| Cortisol | 18 $\mu g \cdot dl^{-1}$ | 5 et 15 $\mu g \cdot dl^{-1}$ |
| ACTH | 35 pg /ml | Le soir, vers 20 heures : < 10 pg /ml |
| CRH | | rarement mesuré dans le plasma, car les concentrations sont plus faibles et mal corrélées avec les concentrations de CRH dans la tige pituitaire |