

CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES

Les globules rouges existent chez les Vertébrés sous deux états : l'état primitif avec noyau et l'état dérivé sans noyau. La présence d'un noyau dans les cellules est facilement observable sur des frottis sanguins. Dans une recherche de relations de parenté au sein d'un groupe d'étude à partir d'un caractère donné, les espèces les plus étroitement apparentées sont celles qui partagent l'état dérivé du caractère.

On cherche à établir les relations de parenté d'une espèce X avec 3 espèces : Homme, Poule et Sardine, en utilisant le caractère « globule rouge ».

<p>Matériel par poste :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 3 frottis fixés : sang humain ; sang de Poule ; sang de l'espèce X • un poisson pour réaliser un frottis, une cuvette à dissection • coupelle, scalpel, verre de montre, boîte de Petri, lames de microscopie, • compte-gouttes, flacon de sérum physiologique, aiguille montée ou cure-dent • microscope à éclairage intégré ou avec lampe 	<ul style="list-style-type: none"> • essuie-tout, papier absorbant et alcool • 3 flacons pour coloration de frottis : N°1 = fixateur ; N° 2 et N° 3 = colorants • pissette d'eau distillée, sèche-cheveux, marqueur • récipient de collecte de matériel souillé (Javel) • gants, lunettes
--	--

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
<p>1. Justifier, à l'aide des données ci-dessus, l'intérêt d'utiliser des frottis sanguins pour établir des relations de parenté (utiliser le verso de la fiche réponse-candidat).</p>	<p>Comprendre la manipulation</p>	2
<p>2. Réaliser le prélèvement et le frottis de sang en suivant les étapes du protocole de la fiche technique – candidat et en respectant les consignes de sécurité.</p> <p style="text-align: center;">Appeler l'examineur pour vérification du prélèvement puis du frottis</p>	<p>Réaliser une manipulation en suivant un protocole</p>	6
<p>3. Observer au microscope un frottis d'une des quatre espèces.</p> <p style="text-align: center;">Appeler l'examineur pour vérification de la première mise au point</p>	<p>Utiliser le microscope</p>	4
<p>4. Sur la fiche réponse – candidat, traduire l'observation d'un globule rouge par un dessin.</p>	<p>Représenter une observation par un dessin</p>	4
<p>5. Répéter les étapes 3 et 4 pour les trois autres frottis.</p>	<p>Appliquer une démarche explicative</p>	3
<p>6. Choisir, parmi les arbres proposés, celui qui correspond aux relations de parenté établies à partir de vos observations. Justifier votre réponse.</p>	<p>Gérer et organiser le poste de travail</p>	1
<p>7. Ranger microscope et poste de travail et respecter les consignes de sécurité.</p>		

CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES

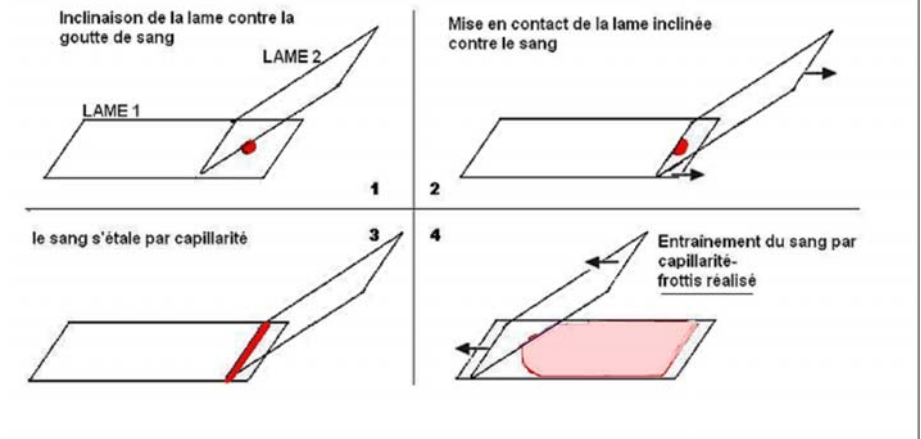
Veiller à organiser le plan de travail pour manipuler proprement ; porter une blouse et respecter les règles de sécurité.

EXTRACTION DU SANG DE POISSON

1. **Couper** le corps du poisson transversalement à environ 1,5 cm de la nageoire de la queue.
2. **Presser** le corps du poisson pour **recueillir** une goutte de sang (épais) ; la **déposer** dans le verre de montre.
3. **Diluer** avec une goutte de sérum physiologique à l'aide de l'aiguille montée ou d'un cure-dent.

REALISATION D'UN FROTTIS SANGUIN

1. **Nettoyer** 2 lames à l'alcool (faces et tranches), les **sécher** avec du papier absorbant, les **déposer** sur papier absorbant.
2. **Prélever** une goutte de sang dilué à l'aide du compte-goutte.
3. **Déposer** la goutte de sang à l'extrémité d'une lame (figure 1).
4. **Appliquer** une autre lame inclinée à 45° en avant de la goutte de sang de façon que le sang s'étale sous la lame par capillarité (figure 2 et 3).
5. **Faire glisser** la lame inclinée à 45° pour **étaier** uniformément la goutte (figure 4).
6. **Sécher** le frottis avec le sèche-cheveux.
7. **Repérer** au marqueur, avec une lettre F, la face où se trouve le sang.



COLORATION VARIANTE DE LA COLORATION DE MAY- GRÜNWARD - GIEMSA

(porter obligatoirement lunettes et gants et travailler sous la hotte ou dans un local bien aéré)

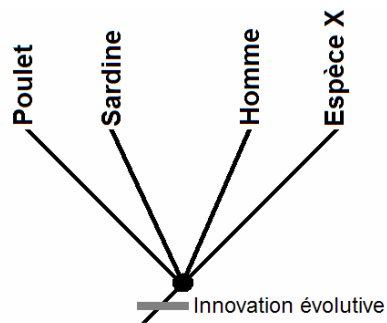
1. **Aligner** devant soi, dans l'ordre, les trois flacons : Flacon 1 = fixateur (couleur violette), Flacon 2 = colorant rouge, Flacon 3 = colorant bleu.
2. **Placer** la lame sur une boîte de Petri
3. **Recouvrir** le frottis de quelques gouttes de fixateur (flacon 1) et attendre 5 secondes, **égoutter** verticalement au contact du papier absorbant.
4. **Procéder** comme à l'étape 2 pour le colorant (flacon 2 puis flacon 3).
5. **Rincer** la lame en l'arrosant délicatement avec la pissette d'eau distillée au dessus de l'évier.
6. **Egoutter** sur papier absorbant puis **sécher** la lame au sèche-cheveux.
7. **Observer** au microscope sans lamelle (bien repérer la face F où se trouve le sang).

Sur un frottis ainsi coloré, les noyaux cellulaires sont de couleur violacée à rose selon les types de cellules. Les globules rouges sont les cellules les plus nombreuses.

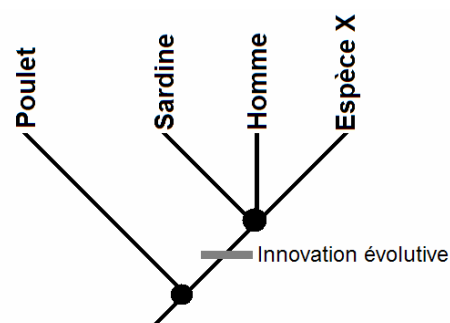
CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES

Etablissement	classe
Nom	Prénom

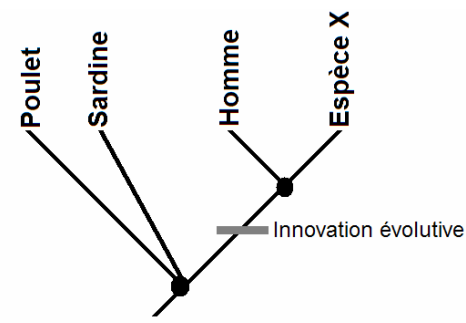
--	--	--	--

Propositions d'arbres phylogénétiques :

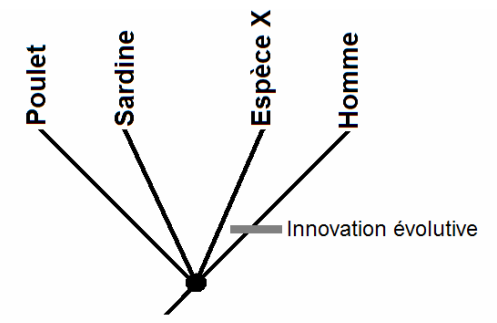
Proposition n°1



Proposition n°2



Proposition n°3



Proposition n°4

CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES

Capacités et critères d'évaluation (en gras , évaluation pendant la séance)	Barème	Noms des candidats			
1- Comprendre la manipulation Le frottis sanguin permet d'établir la présence ou non de noyau dans les globules rouges, donc l'état primitif ou dérivé.	2				
2- Réaliser une manipulation d'après un protocole - respect des étapes du protocole <ul style="list-style-type: none"> • prélèvement : section du poisson, dilution du sang • réalisation du frottis : taille de la goutte, prise en main de la lame, geste d'étalement, séchage, marquage • coloration : organisation de la paillasse, respect des étapes - utilisation maîtrisée du matériel et des produits y compris gants, blouse et lunettes	2 4				
3 - Utiliser le microscope - réalisation des réglages (éclairage, diaphragme, éventuellement condenseur) - utilisation des objectifs (ordre croissant des objectifs, choix adapté, mise au point) - recherche d'une région favorable de la préparation	3 1				
4- et 5- Représenter une observation par un dessin d'observation - Représentation fidèle à l'observation - Netteté et finesse du tracé réalisé au crayon à papier, mise en page et soin - Titre adapté, grossissement et légende (seule légende attendue : présence ou absence de noyau)	1 2 1				
6- Appliquer une démarche explicative La proposition 3 est la réponse attendue. GR sans noyau (anucléés) chez l'espèce X : le partage de l'état dérivé anucléé par l'Homme et l'espèce X permet d'établir que X est plus proche parent de l'Homme que de la Poule et de la Sardine.	3				
7- Gérer et organiser le poste de travail et rangement final	1				
Note	/ 20				

CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES**Matériel par poste :**

- 3 frottis fixés : sang humain ; sang de Poule ; sang de l'espèce X
- un poisson pour réaliser un frottis, une cuvette à dissection
- coupelle, scalpel, verre de montre, boîte de Petri, lames de microscopie,
- compte-gouttes, flacon de sérum physiologique, aiguille montée ou cure-dent
- microscope à éclairage intégré ou avec lampe

- essuie-tout, papier absorbant et alcool
- 3 flacons pour coloration de frottis : N°1 = fixateur ; N° 2 et N° 3 = colorants
- pissette d'eau distillée, sèche-cheveux, marqueur
- récipient de collecte de matériel souillé (Javel)
- gants, lunettes, hotte si la salle n'est pas bien aérée

IMPORTANT :

Les colorants ou les fixateurs du sang contiennent souvent du méthanol, neurotoxique dans les conditions répétées d'utilisation professionnelle. Par sécurité, préparateurs et élèves les manipuleront sous hotte ou dans un local bien aéré et porteront lunettes et gants. Comme fixateur, on préférera l'éthanol.

A l'attention des préparateurs

L'espèce X choisie doit impérativement avoir des globules rouges anucléés ;

Obtention des frottis fixés : (NB : cette obtention est impérative, elle ne saurait être remplacée par l'utilisation du document de secours).

- achat dans le commerce de frottis d'Oiseaux, de Mammifères (Lapin et Homme) et des frottis de secours de « poisson » ;
- on peut également préparer au laboratoire des frottis à partir de sang issus de morceaux frais du commerce (foie) ou de l'abattoir local ; lui fournir un flacon avec anticoagulant tel que l'oxalate de potassium (2 mg par mL de sang) ;
- réaliser les frottis avec le protocole candidat. La dilution n'est pas utile avec du sang frais. Vérifier la qualité de chaque frottis fourni aux candidats ;
- préparer le sérum physiologique artificiel avec de l'eau distillée : composition : 0,9% de NaCl (soit 9 gr de NaCl par litre d'eau distillée) ;

A vérifier : le bon état de marche du microscope et de son éclairage (à déréglé entre deux candidats), l'affûtage du scalpel (scalpel à lame jetable conseillé) ;

A préparer :

Fixateur : éthanol (à préférer au méthanol) ; Colorant 1 : Eosine 0,08 g dans 100 mL d'eau tamponnée pH7 ; Colorant 2 : Bleu de méthylène : 0,12 g dans 100 mL d'eau tamponnée pH7

A commander :

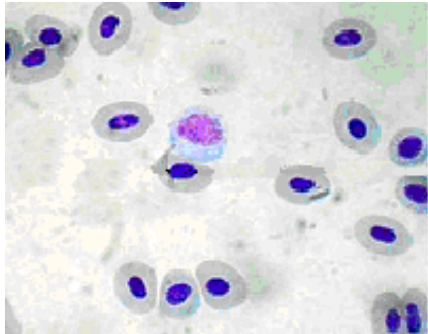
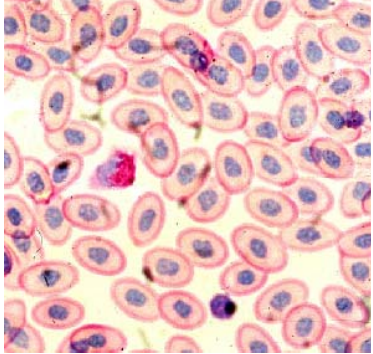

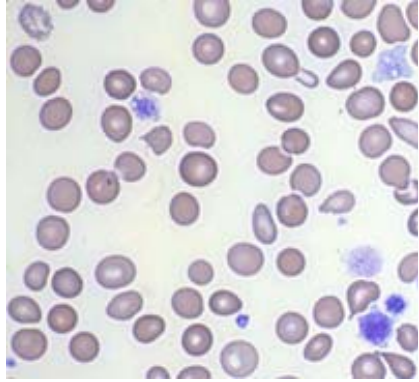
- une Sardine (ou poisson de même taille) par poste ;
- colorant et fixateurs instantanés pour frottis sanguins si le laboratoire ne possède pas les produits nécessaires à leur préparation : laboratoire SUBRA : 6 r Jean de Guerlins 31100 TOULOUSE (produit onéreux mais temps de manipulation réduit). Ces colorants achetés dans l'année se conservent au réfrigérateur pendant un an voire plus et peuvent resservir pour l'épreuve. On trouvera également chez les fournisseurs du Giemsa peu onéreux, à préparer dans l'alcool méthylique. Une technique simple est décrite sur <http://www.ac-nantes.fr:8080/peda/disc/svt/cellules/cellulsang2.html>. Tester préalablement toute méthode choisie. On utilisera de préférence la technique mise en œuvre habituellement dans l'établissement : adapter alors la fiche-protocole candidat (utiliser le fichier word joint) en ne modifiant que la partie technique nécessaire et faire valider par l'IA-IPR ;
- flacons pour répartir les produits : par exemple flacons d'analyse d'urine disponibles en pharmacie..

A l'attention des évaluateurs

- **Ce sujet ne peut être proposé que si la technique du frottis sanguin a été mise en œuvre, même dans un autre contexte ;**
- Question 2 : si le frottis de sang de « poisson » réalisé par le candidat n'est pas exploitable, fournir le frottis de secours. Les points ne seront attribués que si la manipulation a été correcte. Si le candidat étale le sang au lieu de l'entraîner, ne pas le pénaliser au delà d'un point ;
- Document de secours : à utiliser uniquement pour pallier une observation déficiente de la part du candidat à l'étape 4. Impression couleur de bonne qualité sur papier photo ou affichage à l'écran du candidat. Utiliser le fichier [globrouge_secours](#).

Prescriptions			Autorisations	
Blouse	Gants	Lunettes	Calculette	Papier brouillon
Oui	Oui	Oui (travail sous hotte)	non	Fourni par l'établissement

CARACTERE « GLOBULE ROUGE » ET DEGRE DE PARENTE ENTRE DES VERTEBRES**PHOTOGRAPHIES DE FROTTIS SANGUINS DES VERTEBRES ETUDIES**

 — 7µm	 — 7µm
« Poisson » (Sardine)	Poule
 — 7µm	 — 7µm
Homme	Espèce X