

CONCOURS GENERAL DES LYCEES

Spécialité : **Biotechnologies**

SESSION 2014

Epreuve d'admission

Durée totale de l'épreuve : 6 h

1. Exploitation d'informations scientifiques et présentation d'un travail de synthèse : 1,5 h
2. Résolution expérimentale d'un problème scientifique : 4,5 h

Le médicament au service des thérapies ciblées



La **première partie de l'épreuve** permet d'appréhender cette thématique selon deux approches :

- la présentation du processus de fabrication d'un médicament, depuis sa conception jusqu'à son utilisation ;
 - une réflexion sur les répercussions sociétales des thérapies ciblées pour le traitement des cancers.
- Elle fait l'objet d'une soutenance orale de trente minutes et requiert un temps de préparation d'une heure pour exploiter les documents fournis et élaborer les supports de présentation en vue de la soutenance.

La **deuxième partie de l'épreuve** est expérimentale. Elle présente des exemples de contrôles réalisés lors des différentes phases de fabrication d'un médicament dans le but de garantir la qualité de ce dernier.

La réalisation pratique nécessite une réflexion préliminaire et donne lieu à la rédaction d'un compte rendu présentant les résultats obtenus et leur exploitation, l'ensemble devant être réalisé en une durée totale de 4,5 h.

Exploitation d'informations scientifiques et présentation d'un travail de synthèse Durée : 1,5 h (préparation 1 h et soutenance orale 30 minutes)

1. Etude de la fabrication d'un médicament

L'enchaînement des différentes étapes nécessaires à la fabrication d'un médicament est présenté par un support numérique, « **James ou le roman d'un médicament** », film d'animation réalisé par Denis van Waerebeke (2010).

- Visionner le film sur l'ordinateur mis à disposition.
- Compléter le transparent (**annexe 1**) à l'aide des mots clés et expressions proposés ci-dessous :

Vérification de l'absence d'effets secondaires / Sélection d'une molécule d'intérêt / Pharmacovigilance / Essais à grande échelle / Tests de tolérance et de sélectivité / Autorisation de mise sur le marché / Tests cliniques / Test de l'activité thérapeutique

- Proposer un protocole expérimental permettant de tester l'efficacité d'un nouvel antibiotique sur différentes souches microbiennes.

Le travail effectué sera présenté au cours d'un **entretien de 10 minutes**.

2. Répercussions sociétales des thérapies ciblées pour le traitement des cancers

Les documents en **annexe 2** présentent différentes données relatives aux débats engendrés par la mise en œuvre des thérapies ciblées des cancers.

A partir de l'exploitation de ces documents, présenter les débats de société soulevés ces dernières années au sujet des thérapies ciblées dans le traitement des cancers.

Un **exposé de 10 minutes sera suivi par 10 minutes d'entretien** avec le jury.

Un plan détaillé rédigé sur transparent(s) servira de support à la présentation orale.

Résolution expérimentale d'un problème scientifique

Durée : 4,5 h

La fabrication d'un médicament doit garantir la production d'un produit dont la qualité doit satisfaire aux résultats attendus par l'industrie pharmaceutique et à l'usage auquel ce produit est destiné.

Le personnel, les process de fabrication, les locaux, le matériel, les matières premières, les méthodes d'analyses, sont contrôlés et validés pour garantir la qualité irréprochable du médicament.

On se propose de mettre en œuvre certains contrôles réalisés en amont de la production :

- surveillance microbiologique de l'ambiance de travail ;
- contrôle et validation des matières premières telles l'eau PPI mais aussi du contenant du médicament ;
- contrôle métrologique d'une pipette automatique, matériel utilisé au laboratoire d'analyses.

Les réalisations pratiques peuvent nécessiter l'utilisation des EPC (équipement de protection collective) et des EPI (équipement de protection individuelle).

La gestion des déchets est sous la responsabilité du candidat.

Dans le sujet, la lettre Q correspond aux questions nécessitant une rédaction et la lettre T aux consignes techniques données au candidat.

A. Qualification de l'ambiance des zones à atmosphère contrôlée (ZAC) par contrôle microbiologique de l'air

Les zones à atmosphère contrôlée (ZAC) sont alimentées en air recyclé grâce à un système de filtration et d'extraction d'air. Ce système permet de minimiser la contamination microbiologique et particulaire mais aussi de réguler l'humidité et la température.

Des contrôles réalisés sur l'air du laboratoire mettent en évidence la présence récurrente d'un contaminant fongique.

Ce microorganisme est présenté sur milieu Sabouraud.

ETUDE PRELIMINAIRE

La manipulation de cultures de moisissures est source de dangers. La préparation des lames doit être réalisée sous poste de sécurité microbiologique (PSM). Elle implique l'utilisation de bleu de lactophénol dit « bleu coton », conditionné en flacons compte-gouttes. L'**annexe 3** présente des éléments issus de la fiche de données sécurité de ce produit.

QA-1. Analyser le danger lié à la manipulation du bleu de lactophénol, évaluer les risques encourus et en déduire les mesures de prévention adaptées.

REALISATION PRATIQUE

Les documents de l'**annexe 4** présentent le protocole de réalisation d'une préparation microscopique d'une moisissure. Les éléments de systématique fongique figurent en **annexe 5**.

TA-1. Procéder à l'observation macroscopique du contaminant fongique.

TA-2. Réaliser une préparation microscopique à partir de la culture fournie.

TA-3. Observer la préparation au microscope optique à l'objectif x 60.

PRESENTATION ET EXPLOITATION DES RESULTATS

QA-2. Réaliser un dessin d'observation d'un champ microscopique caractéristique.

Présenter le champ microscopique caractéristique

QA-3. Proposer une orientation argumentée au genre.

QA-4. Emettre une hypothèse quant à la présence persistante de ce contaminant dans l'air du laboratoire.

B. Vérification de l'absence de pyrogènes dans le diluant d'un médicament par une technique immunoenzymatique ELISA

Dans le cadre de la validation du médicament avant commercialisation, il s'agit de s'assurer que l'eau pour préparation injectable (ou eau ppi), utilisée pour solubiliser la substance active du médicament, est exempte de tout pyrogène.

La présence de substances pyrogènes dans les produits pharmaceutiques induit l'apparition de fièvre aux conséquences parfois graves. La détection et/ou la quantification de pyrogènes est imposée par la réglementation dans tout produit pharmaceutique injectable.

Le test recommandé par la Pharmacopée Européenne (EP 6.7 chapitre 2.6.30) est le test d'activation des monocytes (MAT). En présence de pyrogènes comme les endotoxines bactériennes, les monocytes contenus dans les réactifs (sang frais ou sang congelé) vont sécréter des interleukines 1β . Les interleukines, de par leurs propriétés antigéniques, seront dosées par la technique immunoenzymatique ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay).

Cette technique requiert l'utilisation d'une pipette automatique à volume variable de 200 μL . Les résultats de la technique ELISA ne pourront être validés que si la pipette automatique a été contrôlée par métrologie.

Le contrôle métrologique d'une pipette automatique, effectué par méthode gravimétrique, repose sur la pesée de volumes d'eau distribués à l'aide de la pipette à contrôler à température et pression atmosphérique définies.

ETUDE PRELIMINAIRE

QB-1. A l'aide du protocole du test d'activation des monocytes (MAT), présenté en **annexe 6**, schématiser l'édifice moléculaire obtenu à l'étape 5, pour une réaction positive.

Remettre le schéma à un examinateur ; une correction sera donnée en échange.

Les dilutions en série des solutions d'endotoxine sont réalisées en milieu de culture RPMI (Roswell Park Memorial Institute) dans un volume final de 100 μL .

QB-2. Construire le tableau de travail permettant de préparer une gamme étalon d'endotoxine de 200 pg.mL^{-1} à 12,5 pg.mL^{-1} à partir de la solution étalon à 1000 pg.mL^{-1} . Préciser la base et la raison des dilutions en série.

Les cupules A1 et A2 ne contiennent pas d'endotoxine, celle-ci a été remplacée par de l'eau exempte de tout pyrogène. Les cupules A3 et A4 ne contiennent pas de conjugué (Ac anti IL1 β), il est remplacé par un volume équivalent de tampon.

QB-3. Expliquer l'intérêt de ces cupules.

REALISATION PRATIQUE

TB-1. Effectuer le contrôle métrologique de la pipette automatique de 200 μL , selon le protocole fourni en **annexe 7** et renseigner la fiche d'enregistrement en **annexe 8**.

TB-2. Réaliser les étapes 2 et 3 du protocole du test d'activation des monocytes (MAT).

Remettre la plaque à un examinateur pour la révélation à l'aide du substrat

TB-3. Lire la plaque au lecteur de microplaque en présence d'un examinateur (étape 6).

PRESENTATION ET EXPLOITATION DES RESULTATS

- QB-4.** Etablir les équations aux grandeurs et aux unités permettant de calculer le volume d'eau délivré par la pipette automatique, à partir de l'indication de masse.
- QB-5.** A l'aide de la fiche d'enregistrement en **annexe 8**, renseigner le fichier informatique fourni pour le contrôle de la pipette automatique.
- QB-6.** Conclure quant à la performance de la pipette contrôlée.
- QB-7.** Construire, à l'aide de l'outil informatique, la courbe étalon présentant l'évolution de l'absorbance à 420 nm en fonction de la concentration en endotoxine en pg.mL^{-1} .
- QB-8.** Vérifier la compatibilité des indications de mesure pour les essais réalisés sur l'échantillon 1 et pour ceux réalisés sur l'échantillon 2.
- QB-9.** Déterminer la concentration massique en endotoxine des échantillons 1 et 2 testés en pg.mL^{-1} .
- QB-10.** Calculer la concentration en endotoxine des échantillons 1 et 2 testés en UE et exprimer convenablement les résultats obtenus.
- QB-11.** Conclure quant à la présence de pyrogène dans l'eau ppi sachant que la limite de conformité est de 0,25 UE.

Données :

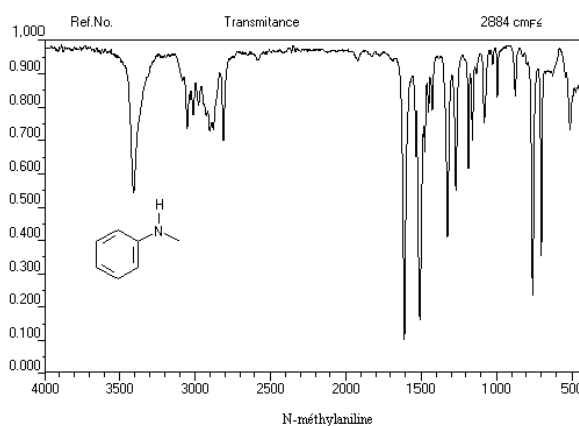
- Ecart type de répétabilité (s_r) de la technique ELISA : 0,025 unité d'absorbance
- $u_c = 0,01$ UE
- Aide-mémoire de métrologie en **annexe 9**

C. Vérification de la conformité de la matière première d'une poche de perfusion d'un médicament par spectrophotométrie à Infra-Rouge

L'industrie pharmaceutique produisant un médicament utilisé en thérapie ciblée a changé de fournisseur pour ses poches à perfusion. Elle vérifie que les poches livrées sont en polychlorure de vinyle (PVC).

En laboratoire de contrôle, cette vérification est réalisée par spectrophotométrie à Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF).

La spectrophotométrie infrarouge est une technique qui permet d'identifier la structure de composés liquides, solides ou gazeux. Elle s'intéresse à la caractérisation de groupements particuliers d'atomes, dits groupements fonctionnels, présents dans une molécule. L'analyse du faisceau infrarouge permet de détecter un certain nombre de bandes d'absorption qui correspondent aux modes de vibrations caractéristiques des divers groupements contenus dans les produits analysés. Le spectre infrarouge constitué par l'ensemble de ces bandes représente alors l'empreinte digitale de la molécule.



ETUDE PRELIMINAIRE

TC-1. Prendre connaissance de la procédure d'utilisation du spectrophotomètre IR mise à disposition.

REALISATION PRATIQUE

TC-2. A l'aide de la procédure d'utilisation du spectrophotomètre IR :

- réaliser le spectre infra-rouge de l'échantillon fourni ;
- comparer le spectre obtenu avec les spectres de molécules répertoriées dans la bibliothèque IRs Polymer2.

PRESENTATION ET EXPLOITATION DES RESULTATS

QC-1. Identifier l'échantillon testé.

QC-2. Conclure.