Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U33
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2019

_____

Durée : 2 heures

Coefficient : 3

_____

Matériel autorisé :

- L'usage de tout modèle de calculatrice, avec ou sans mode examen, est autorisé.

- Dictionnaire anglais-français.

Compétences évaluées :

C2.1. Analyser une problématique	12 points
C2.2. Analyser un protocole, une fiche, un dossier technique ou des documents	12 points
C2.4. Présenter des informations, analyser, interpréter, valider des résultats	4 points
C3.1. Adapter ou optimiser des procédures ou des procédés	10 points

L'expression écrite, le soin et la formulation des réponses (concision, qualité des schémas, des tableaux ...) seront évalués à hauteur de 2 points sur 40.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Le sujet se compose de 9 pages numérotées de 1/9 à 9/9.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

ÉTUDES PRÉ-CLINIQUES DU RITUXIMAB, UN ANTICORPS MONOCLONAL THÉRAPEUTIQUE

Le rituximab est un anticorps monoclonal qui sert de principe actif dans des médicaments anticancéreux. La mise au point de ce principe actif a nécessité des études pré-cliniques, en vue de la constitution du dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché. Ces études se déclinent en plusieurs domaines : les études pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et toxicologiques.



1 Production du principe actif.

Le **document 1** présente une classification des anticorps monoclonaux thérapeutiques, à laquelle appartient le rituximab.

Q1. Réaliser un schéma annoté du rituximab à l'aide de la liste ci-dessous :
Chaine lourde, Chaine légère, Région variable murine, Région constante humaine, Paratope, Ponts disulfures.
Argumenter l'intérêt des anticorps chimériques ou humanisés en thérapie humaine.

Le **document 2** présente la technique d'obtention des hybridomes.

Q2. Rappeler les trois caractères essentiels des deux types de cellules utilisées pour l'obtention des hybridomes.

On sélectionne les hybridomes candidats à l'aide d'un milieu de culture contenant de l'hypoxanthine, de l'aminoptérine et de la thymidine (milieu HAT).
Le **document 3** schématise les voies de biosynthèse des nucléotides.

Q3. Expliquer la méthode de sélection des hybridomes candidats.

Q4. Indiquer une méthode permettant l'isolement des hybridomes candidats et une méthode de sélection de l'hybridome sécrétant l'anticorps de spécificité souhaitée.

2 Pharmacodynamie du principe actif.

Le récepteur cellulaire du rituximab, présent sur les lymphocytes B, est une protéine transmembranaire. Cette protéine CD20 est schématisée dans le **document 4**.

Q5. Indiquer la polarité des parties 1, 2 et 3 de la protéine CD20.

Les leucémies lymphoïdes chroniques (LLC) se caractérisent par une multiplication anarchique des lymphocytes B.
Le **document 5** propose un schéma simplifié des voies de transduction du signal après fixation du rituximab sur le récepteur CD20.

Q6. Argumenter l'utilisation du rituximab comme anticancéreux efficace dans le traitement des LLC.

Base Nationale des sujets d'examens de l'enseignement professionnel

3 Pharmacocinétique du principe actif.

Les protocoles de traitement des LLC mettent en jeu plusieurs injections sous-cutanées de rituximab. Des suivis pharmacocinétiques sont obtenus par un dosage régulier du rituximab dans le sang des patients par une technique ELISA 1 dont un extrait du protocole est présenté dans le **document 6**.

Q7. Schématiser l'édifice moléculaire obtenu dans un puits contenant du rituximab.

Un témoin positif et un témoin négatif sont nécessaires à la validation de la technique ELISA 1.

Q8. Pour chaque témoin, indiquer sa composition qualitative, expliquer son rôle et préciser le résultat attendu.

Le **document 7** compare la technique d'ELISA 1 présentée dans le **document 6,** avec deux autres techniques ELISA existantes (ELISA 2 et ELISA 3).

Q9. Comparer les trois techniques ELISA et justifier l'utilisation préférentielle de la technique ELISA 3.

Le **document 8** présente un exemple de suivi pharmacocinétique du rituximab par la technique ELISA 3.

Q10. Déterminer graphiquement C_{max} *et* $T_{1/2}$ après la sixième injection.

4 Toxicologie du principe actif.

Le rituximab peut, dans certains cas, favoriser la réactivation du virus de l'hépatite B.
Le **document 9** présente ce virus.

Q11. Déduire les trois caractéristiques principales du virus de l'hépatite B permettant son positionnement taxonomique.

Lors des phases de test sur volontaires sains, un suivi de la virémie (taux de virus dans le sang) est réalisé par PCR. Le **document 10** présente un extrait modifié de la fiche technique utilisée.

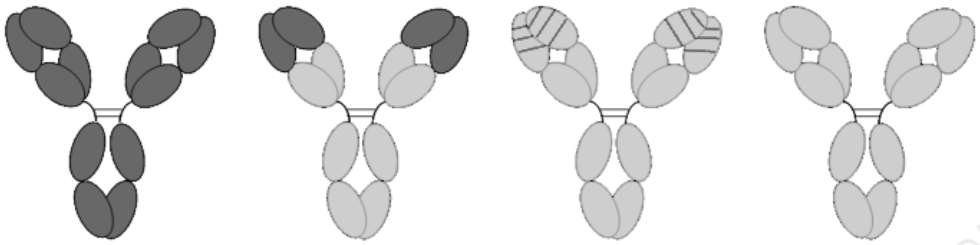
Q12. Indiquer le rôle des réactifs (1) à (5) de la colonne « *Component* » du tableau.
Calculer les volumes V_1, V_4 et V_5 pour préparer 100 µL de mélange réactionnel.

Dans un but économique et écologique, le laboratoire souhaite effectuer plusieurs PCR successives en utilisant les mêmes tubes.
Pour empêcher les contaminations croisées entre les amplicons résiduels de la PCR précédente avec la matrice à amplifier de la PCR à réaliser, il utilise le réactif AmpErase® UNG.

Q13. Présenter l'origine et la nature du réactif AmpErase® UNG.
Expliquer comment ce réactif limite les contaminations croisées au cours des PCR successives.

Base nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

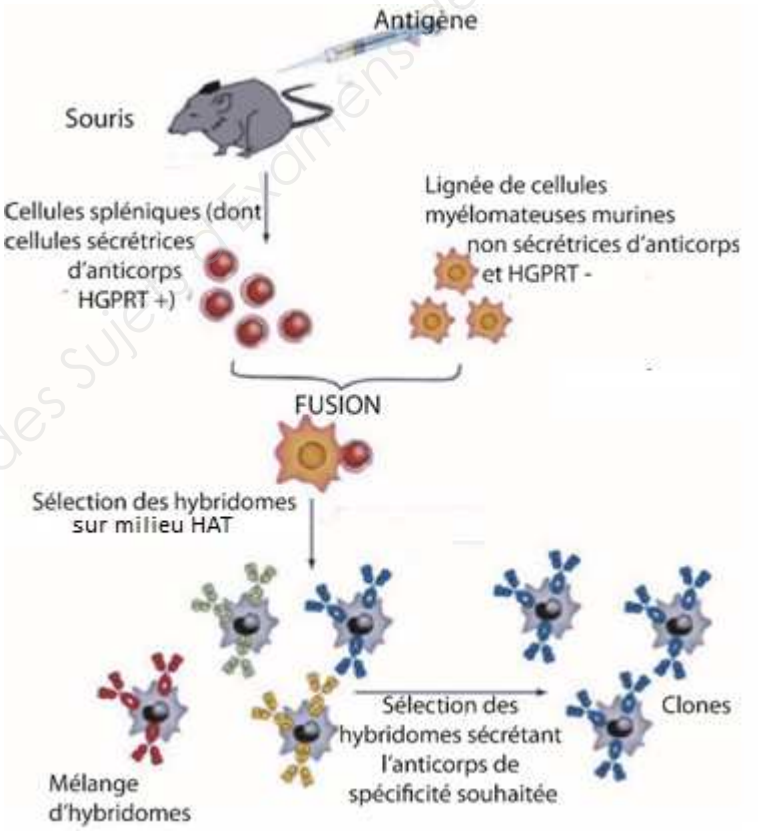
Document 1: classification des anticorps monoclonaux thérapeutiques antibodies (mAbs) par types : murins, chimériques, humanisés, humains.



Type of mAb	Murine	Chimeric	Humanized	Human
Exemples	Ibritumomab tiuxetan (CD20) : IgG1κ Tositumomab-I^{131} (CD20) : IgG2aλ	Cetuximab (EGFR) : IgG1κ **Rituximab** (CD20) : IgG1κ	Trastuzumab (ERB2) : IgG1κ Bevacizumab (VEGF) : IgG1	Panitumumab (EGFR) : IgG2

Source : Kohzoh Imai & Akinori Takaoka Comparing antibody and small-molecule therapies for cancer Nature Reviews Cancer 6, 714-727 (September 2006)

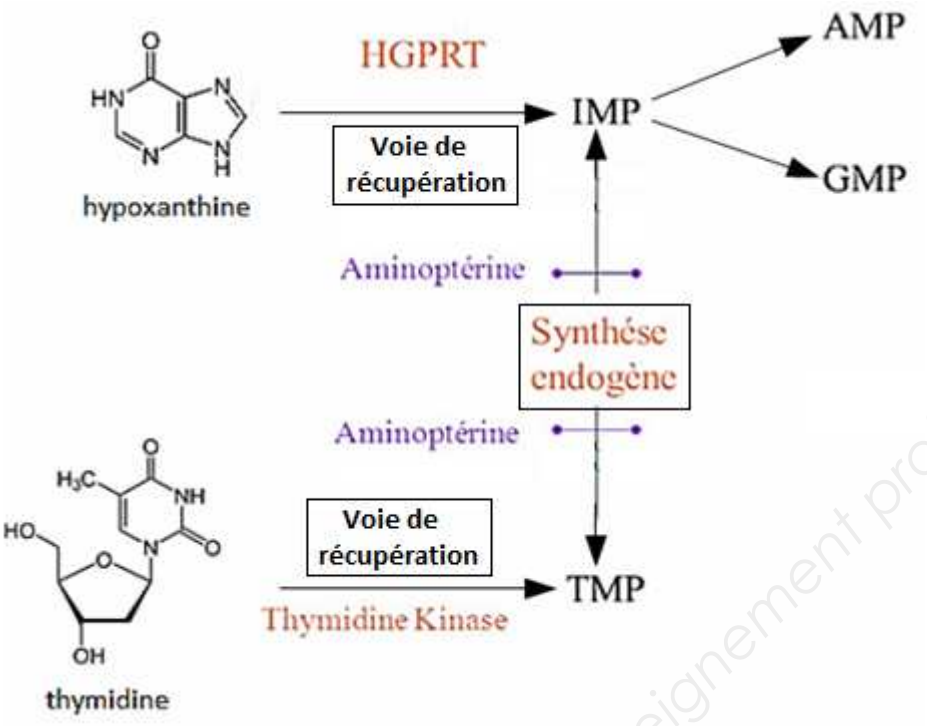
Document 2 : principe général de la technique d'obtention des anticorps monoclonaux.



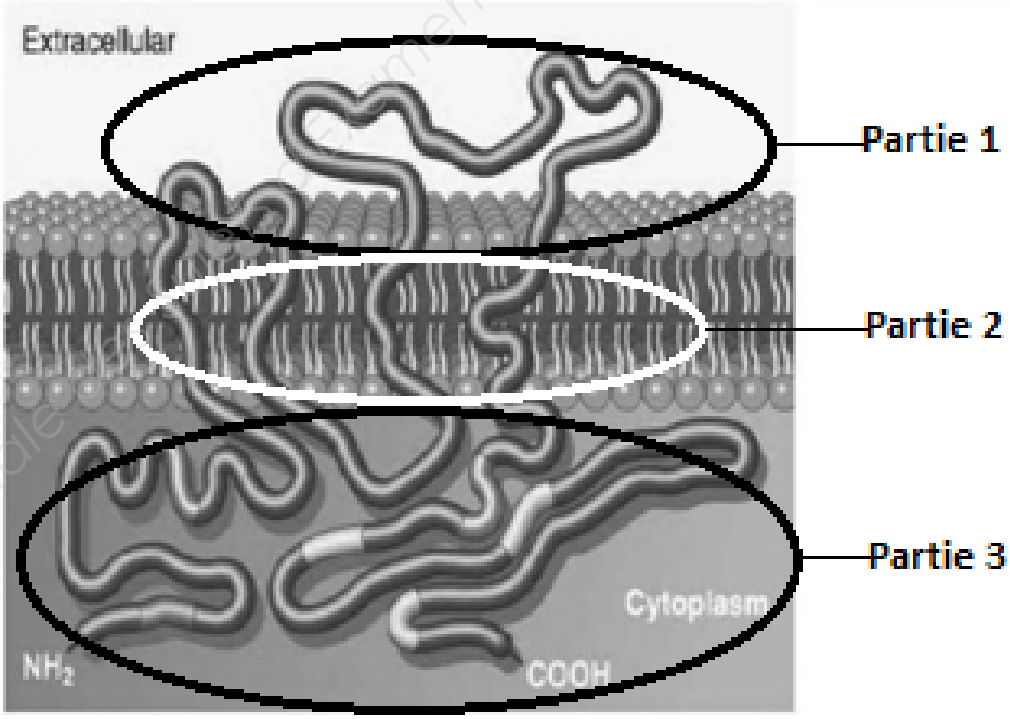
Source : CARTRON G. In Histoire de la thérapie ciblée en cancérologie (2007) [CD-ROM]. John Libbey Eurotext. Livre (152 p)

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Document 3 : schéma simplifié des voies de biosynthèse des nucléotides.



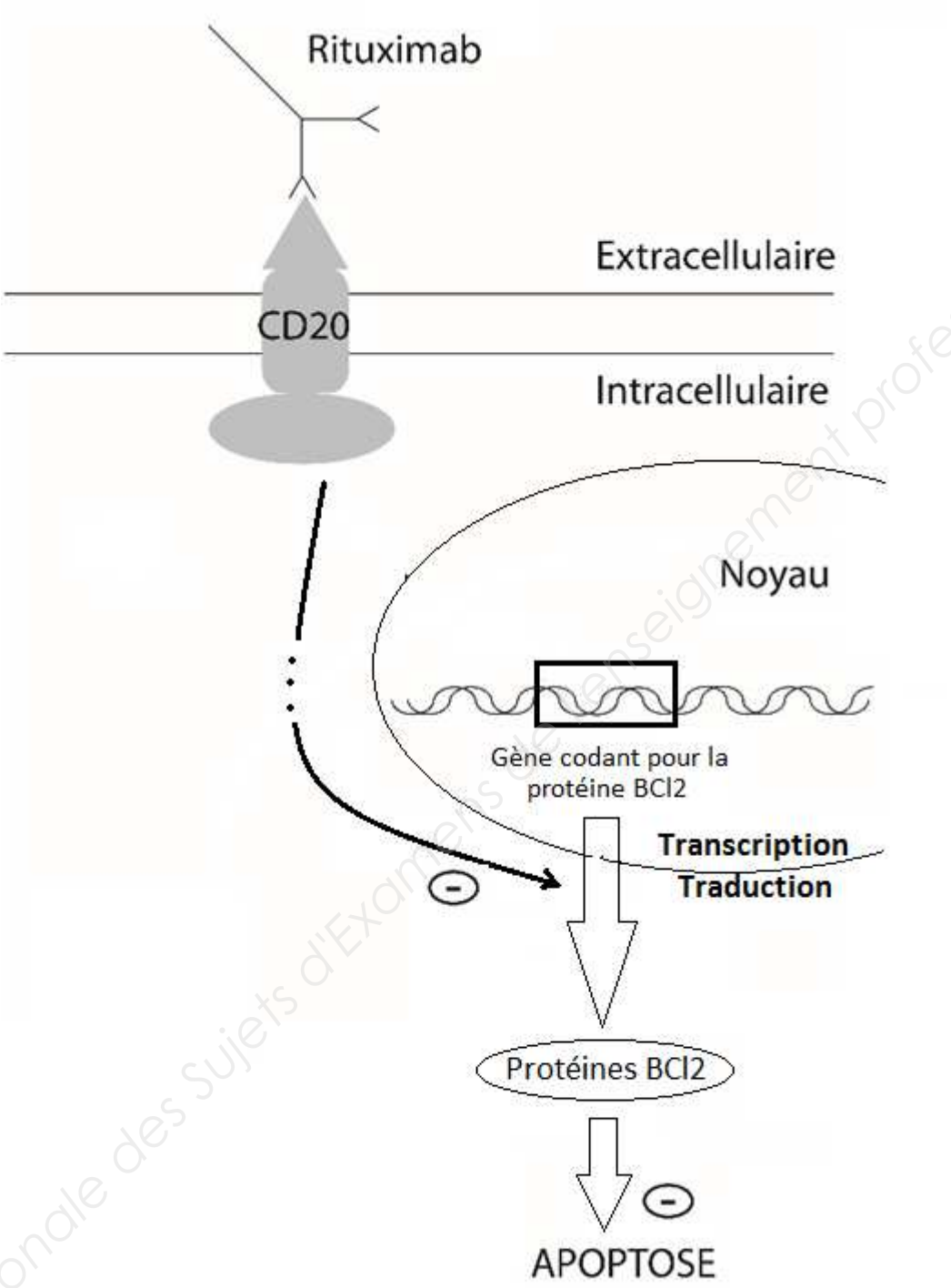
Document 4 : schéma de la protéine CD20.



Source : thèse d'exercice de pharmacie, Emmanuelle SURGA, université Henri Poincaré, 2011
www./docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2011_SURGA_EMMANUELLE.pdf

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Document 5 : schéma simplifié d'une des voies de transduction du signal activée par le rituximab.



Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Document 6 : extrait d'un protocole de dosage du rituximab par une technique ELISA (ELISA1).

At your disposal : serum with rituximab at 100 µg·mL^{-1} and serum with no rituximab

1. Coating : add CD20 peptides in each well. Incubate 2 h at room temperature (RT)
2. Wash 3 times with PBS Tween
3. Saturation : add BSA in PBS buffer and incubate 2 h at RT
4. Wash 3 times with PBS Tween
5. Add Standards rituximab at known concentration or samples and incubate 1 h at RT
6. Wash 3 times with PBS Tween
7. Add peroxydase-conjugated goat anti-Fc fragment from human IgG and incubate 1 h at RT
8. Wash 3 times with PBS Tween
9. Add OPD substrat
10. Add Stop solution after 5 minutes
11. Measure absorbance at 450 nm

Adapté de Blasco, et al. Evaluation of a peptide ELISA for the detection of rituximab in serum Journal of Immunological Methods, Volume 325, Issue 1, Pages 127-139

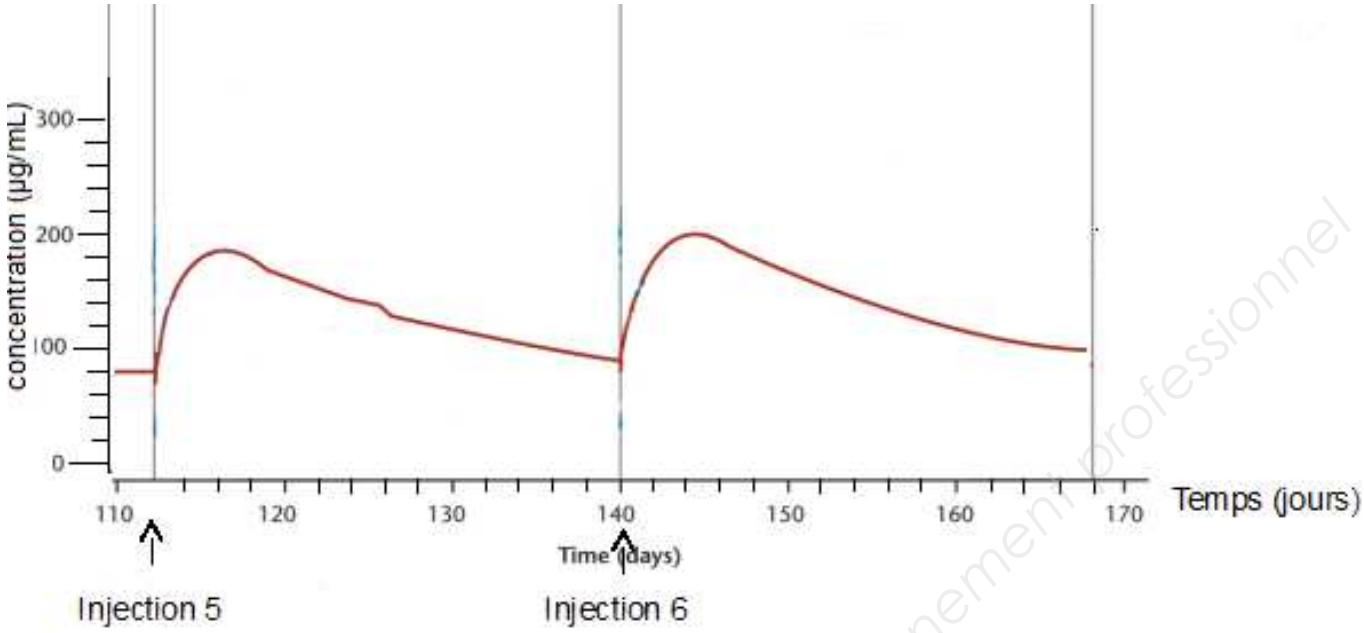
Document 7 : Comparaison de 3 techniques ELISA utilisées pour doser le rituximab dans le sang.

	ELISA 1	**ELISA 2**	**ELISA 3**
Limite de détection	50 µg·mL^{-1}	0,5 µg·mL^{-1}	30 ng·mL^{-1}
Forme de rituximab dosée	Libre uniquement	Libre et lié	Libre et lié
Reproductibilité	Élevée	Moyenne	Élevée

Adapté de Cartron, et al. Pharmacokinetics of rituximab and its clinical use: Thought for the best use? Critical Reviews in Oncology/Hematology 62 (2007) 43–52 et « Rituximab ELISA (mAb-based) » distribué par Eagle Biosciences, Inc.

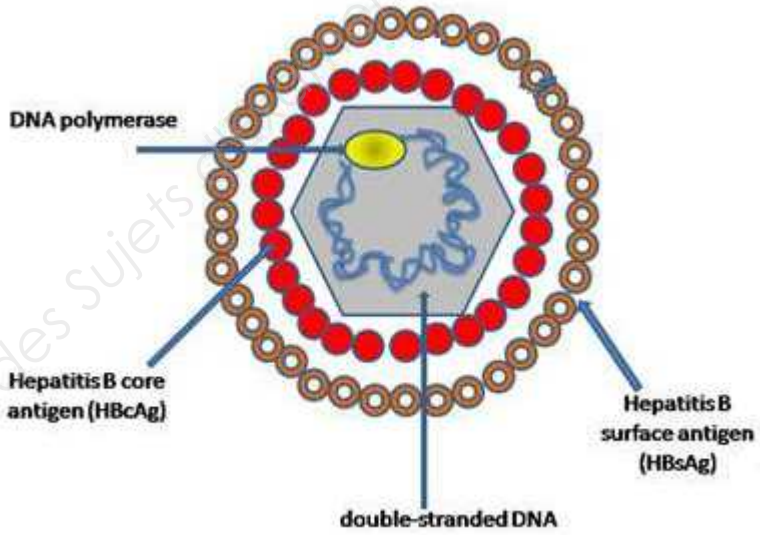
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Document 8 : pharmacocinétique du rituximab : mesurage par la technique ELISA 3.



Adapté de Assouline S, et al, Pharmacokinetics and safety of subcutaneous rituximab plus fludarabine and cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukemia. Br J Clin Pharmacol 2015; 80: 1001–09.

Document 9 : représentation schématique du virion de l'hépatite B.



Adapté de https://futura-sciences.com

Base Nationale des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel

Document 10 : extrait adapté de la fiche technique du réactif AmpErase® Uracil N-Glycosylase (UNG).

Product description:

AmpErase® Uracil N-Glycosylase (UNG) is a 26-kDa ultrapure, recombinant enzyme encoded by the *E.coli uracil N-glycosylase* gene, designed to degrade PCR products from previous amplifications without degrading native nucleic acid templates.

AmpErase® UNG has activity below 55°C.
Prior PCR amplicons are degraded because in the reaction mix, dTTP are substituted by dUTP.
The annealing temperature should be ≥55°C to avoid degradation of newly synthesized dU-containing products by residual AmpErase® UNG activity.
AmpErase® UNG is denatured during the PCR reaction.

Exemple de mix PCR utilisant le réactif AmpErase® :

N°	Component	Volume	Final Concentration
/	Autoclaved, distilled water	qsp 100 µL	/
1	10X PCR Buffer II	V_1	1X
2	10 mM dATP	2 µL	0,2 mM
	10 mM dCTP	2 µL	0,2 mM
	10 mM dGTP	2 µL	0,2 mM
	20 mM dUTP	2 µL	0,2 mM
3	25 mM $MgCl_2$	8 µL	2,0 mM
4	10 µM forward primer	V_4	0,2 µM
	10 µM reverse primer	V_4	0,2 µM
/	Template DNA	variable	< 2 µg/100 µL
5	AmpliTaq DNA polymerase (5 $U.\mu L^{-1}$)	V_5	2,5 U/100 µL
/	AmpErase® UNG (1 $U.\mu L^{-1}$)	1 µL	1 U/100 µL

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.