



FR

EXAMEN EUROPÉEN DE QUALIFICATION 2025

Épreuve A

Cette épreuve contient :

- | | | |
|---|-------------------|---------------|
| * | Lettre du client | 2025/A/FR/1-4 |
| * | Dessins du client | 2025/A/FR/5 |
| * | Document D1 | 2025/A/FR/6-8 |
| * | Document D2 | 2025/A/FR/9 |

Lettre du client

Chère Madame Florence,

5 [001] Notre société a été créée en 2020 afin de produire des tests à écoulement latéral pour le virus SARS-CoV-2. Ces tests étaient très demandés pendant la pandémie de COVID-19. Cependant, la diminution du nombre de cas de COVID-19 s'est traduite par une moindre demande pour ces tests, si bien que nous sommes à la recherche de nouveaux marchés pour nos produits.

10

[002] Les tests à écoulement latéral peuvent être utilisés pour diagnostiquer des infections causées par des bactéries et des virus autres que le SARS-CoV-2 et ils servent aussi à effectuer des tests de grossesse à domicile. Nous souhaitons obtenir une protection pour les derniers développements de notre technologie au moyen d'une
15 nouvelle demande de brevet qui couvre le dépistage du COVID-19 ainsi que d'autres utilisations possibles.

[003] Nous sommes sur le point de partir pour une réunion ayant lieu demain avec un investisseur potentiel basé sur la côte ouest des États-Unis. Nous serons donc en
20 déplacement pour le reste de la journée et ne serons pas disponibles pour répondre à d'éventuelles questions. J'ai donc joint toutes les informations dont vous aurez besoin pour rédiger et déposer la demande aujourd'hui, y compris les documents D1 et D2 pour vous donner d'autres éléments d'arrière-plan. Veuillez noter que, conformément à la politique de notre société, nous n'acquitterons pas de taxes de revendication
25 supplémentaires et nous ne souhaitons déposer qu'une demande.

[004] Les tests à écoulement latéral fonctionnent en faisant migrer par écoulement capillaire un échantillon de liquide le long d'une bandelette-test pour le faire entrer en contact avec un agent de détection, lequel fait apparaître un résultat visuel positif ou
30 négatif. Le liquide testé dans un test pour le COVID-19 est généralement un échantillon, prélevé dans le nez ou la gorge, qui a été suspendu dans une solution d'extraction. Ce test est conçu pour rechercher une partie du virus qui pourrait se trouver dans l'échantillon. Dans notre test, la molécule cible détectée est la protéine spiculaire du virus SARS-CoV-2.

[005] La Figure 1A est une représentation graphique de notre test à écoulement latéral. Le liquide à tester (5) est appliqué sur le tampon échantillon (1). Ce dernier est habituellement un tampon absorbant qui agit comme une éponge pour contenir l'échantillon liquide (5) et qui est de préférence fait en fibre de cellulose. Le tampon échantillon a pour fonction principale d'assurer la répartition régulière et contrôlée de l'échantillon, si bien qu'il constitue une partie importante du test.

[006] En aval du tampon échantillon (c'est-à-dire dans la direction de l'écoulement capillaire du liquide) se trouve le tampon conjugué (2). C'est dans ce tampon conjugué qu'est conservé l'agent de détection (11) pour le test, normalement sous une forme séchée. Lorsque l'échantillon de liquide parvient au tampon conjugué, il peut réhydrater et mobiliser l'agent de détection. Le tampon conjugué est de préférence fait de fibre de verre non tissée.

[007] L'agent de détection est un conjugué (11) d'un anticorps (10) et d'une particule colorée (9). L'anticorps doit être capable de reconnaître spécifiquement dans l'échantillon de liquide la molécule cible (6), qui, dans notre test, est la protéine spiculaire produite par le virus cible, et de s'y lier. De nombreux types différents d'anticorps sont disponibles dans le commerce et tous peuvent être utilisés dans le test. Idéalement, l'anticorps présentera une forte affinité de liaison pour la molécule cible. L'affinité de liaison peut être définie par la constante de dissociation à l'équilibre (K_D). Plus la valeur K_D est basse, plus l'affinité de l'anticorps pour sa cible est élevée. Les anticorps à forte affinité de liaison ont habituellement une $K_D \leq 10^{-7}M$.

[008] Ces anticorps sont attachés à de petites particules colorées qui fourniront le résultat visible du test. Ces particules sont généralement de taille relativement uniforme et doivent avoir une forme sphérique pour se déplacer à une vitesse régulière. Si la protéine spiculaire virale est présente dans l'échantillon, elle se liera à la partie constituée d'anticorps dans le conjugué coloré comme le montre la Figure 1B. Le conjugué comprenant la molécule cible liée s'écoulera alors en aval vers la membrane de réaction (3).

[009] La membrane de réaction (3) comporte une ligne de test (7) qui contient des anticorps additionnels (12) spécifiques à la protéine spiculaire (molécule cible) lesquels sont immobilisés dans une ligne traversant la surface de la membrane. Ces anticorps peuvent être soit les mêmes que ceux utilisés dans le conjugué de l'agent de détection
5 soit des anticorps différents, mais pour des raisons de coûts et de facilité de fabrication, nous préférons utiliser le même type d'anticorps. Lorsque l'échantillon de liquide parvient à la ligne de test, comme le montre la Figure 1C, les éventuels conjugués ayant la molécule cible attachée seront capturés et piégés. À mesure que ces conjugués sont capturés, une ligne colorée se forme. Cette ligne colorée indique que l'échantillon
10 contient la molécule cible, qui, dans le cas du test pour le COVID-19, est la protéine spiculaire virale, ce qui montre que le patient dont provient l'échantillon est infecté par le virus.

[010] Différents matériaux peuvent être utilisés pour la membrane de réaction, tels que
15 de l'acétate de cellulose ou du nylon, mais nous préférons utiliser une membrane en nitrocellulose. La nitrocellulose présente l'avantage par rapport aux autres matériaux habituellement utilisés pour des bandelettes d'avoir une aptitude naturelle à se lier aux protéines. Ainsi, les anticorps (qui sont un type de protéine) peuvent être appliqués directement et immobilisés fortement sans qu'un traitement supplémentaire soit
20 nécessaire. En outre, les membranes en nitrocellulose sont facilement disponibles dans toute une gamme de tailles de pores (de 0,05 à 12 microns) et la taille des pores peut être sélectionnée pour contrôler la vitesse d'écoulement de l'échantillon. Nous avons constaté qu'une taille de pores d'au moins 5 microns fonctionne bien, les meilleurs résultats étant obtenus avec une taille de pores entre 8 et 12 microns.

25
[011] Avantagusement, la membrane de réaction comprend aussi une ligne de contrôle (8) pour montrer que le test a été effectué correctement. La ligne de contrôle contient un différent type d'anticorps (13) qui est spécifique au conjugué et qui est immobilisé dans une ligne traversant la membrane. Certains des conjugués restants, qui
30 ne sont pas piégés par la ligne de test, seront alors capturés par la ligne de contrôle, ce qui causera un changement de couleur. Il est ainsi confirmé que l'échantillon de liquide contenant les conjugués est parvenu avec succès à la ligne de test où une interaction a été possible. C'est pourquoi la ligne de contrôle doit se situer en aval de la ligne de test.

[012] Nous trouvons également utile de prévoir un tampon à mèche (4) situé à l'extrémité aval du test. Le tampon à mèche fonctionne en s'imprégnant de liquide, ce qui augmente le volume de l'échantillon qui pénètre dans la bandelette-test. Le volume accru élimine l'excédent de conjugués et améliore la sensibilité du test. Divers types de matériaux peuvent être utilisés pour le tampon à mèche, mais nous avons constaté que les tampons à mèche les plus absorbants sont en filtre de cellulose.

[013] Pour faciliter l'utilisation, nos tests à écoulement latéral sont de préférence logés dans des cassettes en plastique, qui protègent la bandelette-test et qui sont marquées pour indiquer clairement la position des lignes de contrôle et de test. Dans notre produit commercial pour le COVID-19, nous vendons habituellement le test avec une solution d'extraction, qui peut être utilisée pour suspendre l'échantillon à tester (p. ex. un écouvillon de nez ou de gorge) avant qu'il ne soit appliqué au test. La solution d'extraction est généralement une solution tamponnée, telle qu'une solution saline tamponnée au phosphate, mais elle peut aussi contenir des composants additionnels.

[014] Nous avons par le passé utilisé des particules de latex coloré dans nos conjugués. Cependant, un de nos scientifiques a suggéré d'utiliser plutôt des nanoparticules d'or en raison de leur couleur rouge rubis intense. Nous avons commandé chez BoucleD'or™ des nanoparticules d'or colloïdal de 40 nm, telles que décrites dans le document D2, pour les tester.

[015] Nous avons constaté qu'elles produisaient de très bons résultats et qu'elles déplaçaient même la sensibilité de notre test à écoulement latéral par rapport aux résultats obtenus avec le latex coloré. Il est ainsi possible de voir les résultats même si la concentration de la protéine spiculaire (molécule cible) est très faible dans l'échantillon. Nous avons réalisé des expériences avec des nanoparticules d'or d'autres fabricants et découvert que tout type ayant un diamètre inférieur ou égal à 100 nm est adapté à notre test, les particules plus larges n'ayant pas nécessairement la couleur rouge nécessaire. Cependant, les particules de 40 nm de diamètre ont donné la meilleure sensibilité. Nous avons également trouvé que des nanoparticules d'or ayant un diamètre de moins de 20 nm ne peuvent pas transporter suffisamment d'anticorps pour donner un résultat précis.

Dessins du client

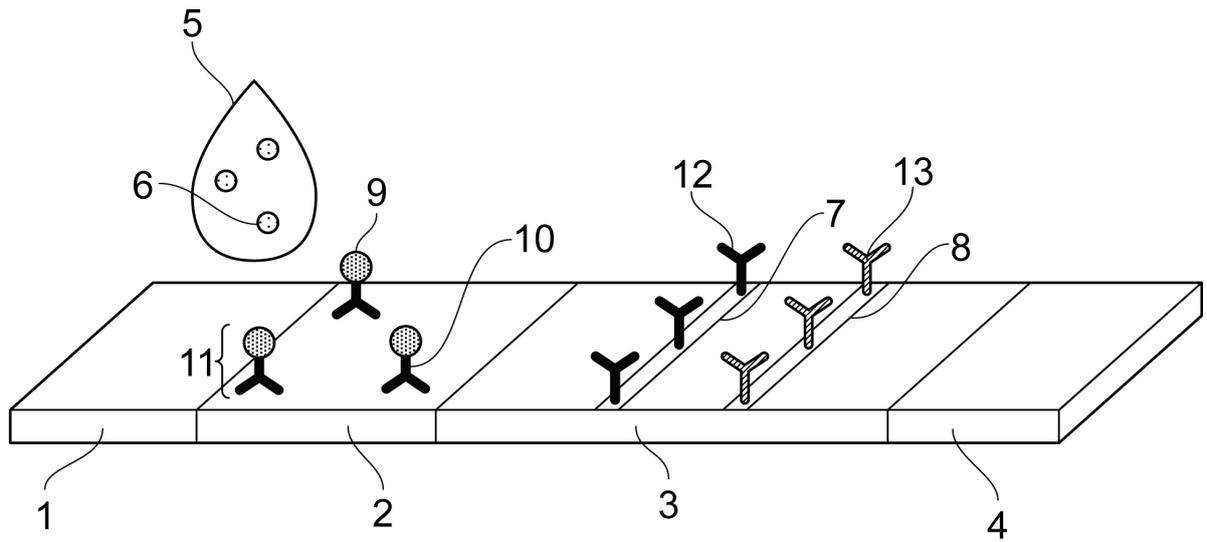


FIG. 1A

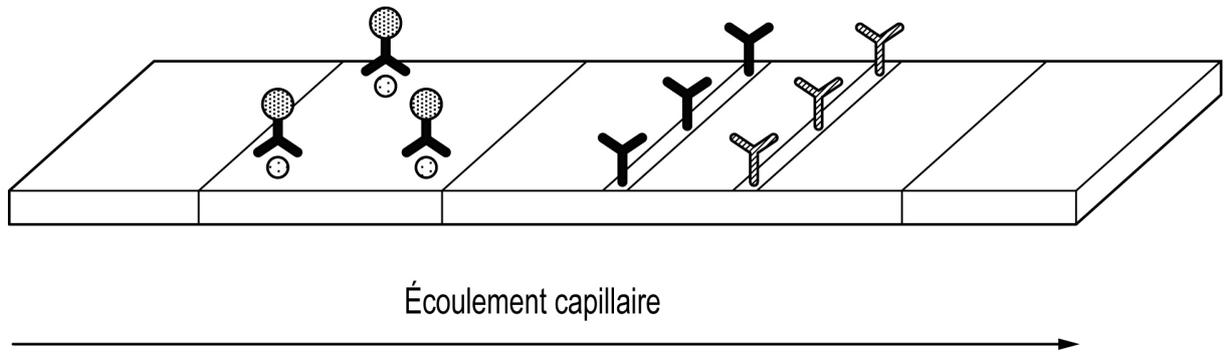


FIG. 1B

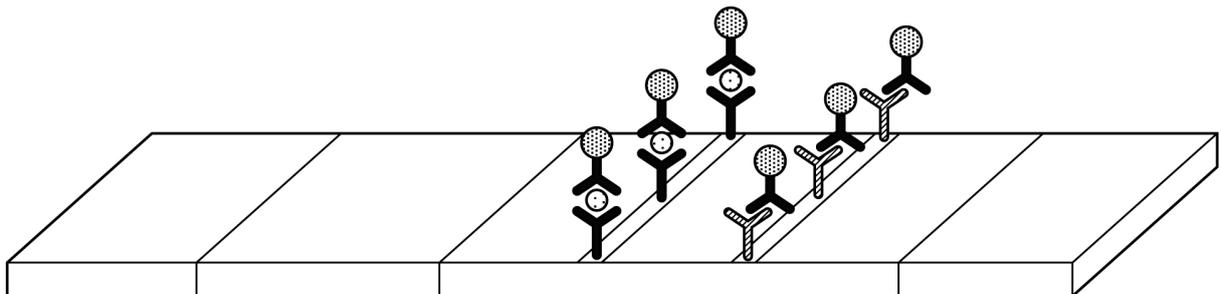


FIG. 1C

Extrait de l'article : "Tests de grossesse au fil du temps"

[001] Depuis des milliers d'années, certaines cultures ont reconnu que l'on pouvait découvrir des indices concernant la grossesse d'une femme en inspectant son urine.

5 Dès le début du vingtième siècle, des chercheurs ont constaté que le corps d'une femme produit une hormone appelée hormone chorionique gravidique (hCG) après qu'un ovule a été fécondé et que cette hormone est alors présente dans son urine.

[002] À la fin des années 1970, les premiers tests de grossesse en kit, à effectuer à domicile, ont été approuvés par la Food & Drug Administration des États-Unis. Ces kits de test exigeaient de mélanger l'urine avec des solutions dans des éprouvettes et d'attendre deux heures le résultat. Ces tests étaient non seulement difficiles d'utilisation, mais produisaient aussi un pourcentage important de faux négatifs, si bien que les résultats n'étaient pas toujours fiables.

15

[003] Dans les années 1990, la mise au point de tests à écoulement latéral a marqué un tournant important. Ces tests présentent l'avantage considérable d'être faciles d'utilisation et de pouvoir produire en quelques minutes un résultat lisible à l'œil nu. Comme nombre d'entre vous le savent, le résultat se présente sous forme de ligne colorée. Mais comment cette ligne est-elle formée ?

20

[004] Comme le montre la Figure A, un test de grossesse à écoulement latéral fonctionne en recueillant un échantillon d'urine sur un tampon échantillon (1). L'urine s'écoule le long de la bandelette-test pour atteindre la zone de conjugué (2) qui contient un agent de détection (9), lequel réagit à une molécule cible dans l'urine. Cette réaction entraîne un changement visible qui indique que le test est positif.

25

[005] Les tests à écoulement latéral se basent sur l'interaction entre un anticorps et sa cible. Les anticorps sont des protéines en forme de 'Y', ayant deux bras qui reconnaissent spécifiquement d'autres molécules auxquelles ils se lient. Un anticorps spécifique à une certaine molécule ne se liera qu'à cette molécule et pas aux autres. Par conséquent, l'utilisation d'anticorps dans ces tests permet de détecter très spécifiquement une molécule cible.

30

[006] La zone de conjugué contient des anticorps (8) qui sont spécifiques à l'hormone hCG. Les anticorps sont attachés à de petites particules de latex de couleur bleue (7). Les conjugués anticorps-latex sont conservés dans la zone de conjugué sous une forme sèche. Si l'hCG est présente dans l'échantillon d'urine, elle se lie aux conjugués et
5 s'écoule en aval dans la bandelette vers la ligne de test (5) pour arriver dans la zone de réaction (3).

[007] Au niveau de la ligne de test (5), il y a d'autres anticorps spécifiques à l'hCG (10), mais ces derniers sont fixés à la bandelette. Ces anticorps fixes capturent l'hCG
10 attachée aux particules de latex bleu. C'est ainsi que se forme la ligne bleue que l'on voit sur ces tests de grossesse.

[008] La zone de réaction comporte aussi une seconde ligne d'anticorps fixes (11). Ces anticorps capturent l'excédent de conjugué non lié à l'hCG. Cette ligne sert de ligne de
15 contrôle (6), montrant que le test a été réalisé correctement si bien qu'elle se situe à l'extrémité du test, le plus loin possible du tampon où est déposé l'échantillon. Bien que la ligne de contrôle soit une caractéristique commune de la plupart des tests de grossesse disponibles dans le commerce, certains tests disponibles n'en comprennent pas et reposent sur d'autres moyens de montrer que le test a été effectué avec succès.

[009] La partie finale du test est la mèche (4) qui absorbe le surplus de liquide de l'échantillon. La mèche (4) est faite d'un matériau absorbant comme le coton, le filtre de cellulose ou la fibre de verre. Le test de grossesse est contenu dans une cassette en plastique avec des marques montrant où les lignes de test et de contrôle se situent pour
25 aider à la lecture du résultat du test.

[010] Le matériau utilisé pour la bandelette qui contient la zone de réaction (3) est une caractéristique importante des tests. Les meilleurs résultats sont obtenus avec une membrane de nitrocellulose ayant une taille de pore de 9 à 10 microns. Parmi d'autres
30 matériaux souvent utilisés dans ces tests de grossesse, on peut citer le filtre de cellulose pour le tampon échantillon (1) et la fibre de verre non tissée pour la zone de conjugué (2).

[011] Pour optimiser la sensibilité des tests de grossesse, il est important d'utiliser des anticorps qui se lieront fortement à l'hormone hCG, de préférence avec une affinité de liaison ($K_D \leq 10^{-7}M$).

5 [012] Depuis les années 1990, des tests à écoulement latéral ont été mis au point pour de nombreuses applications différentes, telles que la détection de molécules virales et bactériennes pour diagnostiquer des infections, et ils peuvent tester toute une gamme d'échantillons y compris le sang, la salive et les prélèvements par écouvillon dans le nez
10 ou la gorge. Pour le test d'écouvillons de nez ou de gorge, les échantillons sont habituellement suspendus en premier lieu dans une solution d'extraction saline tamponnée au phosphate.

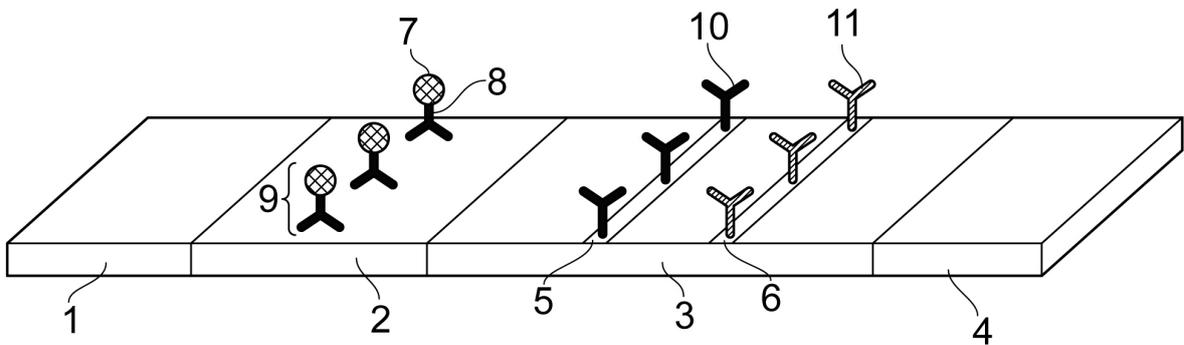


FIG. A

Site Internet de produit : nanoparticules d'or BoucleD'or™

[001] BoucleD'or™ est une société reconnue à la fois comme innovante et comme étant un excellent fournisseur de produits à base de nanoparticules d'or. Nos nanoparticules d'or ont été développées à l'aide de techniques spécialisées qui permettent la production de particules sphériques extrêmement uniformes présentant une faible dispersion de tailles. Nous sommes fiers de proposer une large gamme de nanoparticules d'or pour des applications de haute technologie. Nos nanoparticules d'or sphériques sont disponibles dans des tailles allant de 5 nm à 400 nm de diamètre, les tailles de produit les plus populaires étant présentées dans le tableau ci-dessous.

Nom du produit	Nanoparticules d'or BébéOurs™	Nanoparticules d'or MamanOurs™	Nanoparticules d'or PapaOurs™
Taille (diamètre, nm)	20	40	100
Sphéricité (%)	99+	99+	99+
Formes irrégulières sur 100 particules	<1	<1	<1

[002] L'or colloïdal (suspension de nanoparticules d'or dans un solvant) est utilisé depuis des siècles par des artistes en raison des interactions des nanoparticules avec la lumière visible. Les nanoparticules d'or absorbent et diffusent la lumière, ce qui produit des couleurs allant du rouge vif (particules sphériques ayant un diamètre inférieur ou égal à 100 nm) jusqu'au transparent et à l'incolore, en passant par le bleu et le noir. Ces couleurs résultent d'un phénomène appelé résonance de plasmon de surface localisée (RPSL), où les électrons à la surface de la nanoparticule oscillent en résonance avec la lumière.

[003] Les nanoparticules d'or BoucleD'or™ sont bien adaptées à être utilisées dans un large éventail de domaines, par exemple dans celui des cellules solaires, des cristaux liquides, de la catalyse et de l'électronique. Nos nanoparticules peuvent aussi être conjuguées à divers types de molécules biologiques, par exemple les peptides, les protéines (y compris les antigènes et les anticorps), l'ADN et l'ARN.