

RECHERCHE DE LA β -LACTOGLOBULINE BOVINE PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

Fiche sujet-candidat

L'ingestion par l'Homme d'une protéine, la β -lactoglobuline bovine, peut être responsable d'allergies (c'est-à-dire une réaction immunitaire excessive à l'antigène). Des tests immunologiques permettent de détecter sa présence dans les produits alimentaires à des fins préventives.

On cherche à déterminer quel(s) lait(s) peut (peuvent) être consommé(s) sans risque par un individu allergique à la β -lactoglobuline bovine.

Matériel :

- une barrette de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti β -lactoglobuline bovine (anti β -Ig) = **Ac1**
- une solution d'anticorps de détection = complexe entre un deuxième anticorps anti β -Ig (**Ac2**) et une enzyme (l'acétylcholinestérase)
- une solution de réactif d'Ellman (cette solution contient le substrat de l'acétylcholinestérase)
- une micropipette et 7 embouts (ou matériel équivalent, une solution de lavage et une pipette (+ propipette), un feutre permanent, des gants, un chronomètre, papier filtre
- cinq « solutions » à tester (les produits ont été dilués dans de l'eau distillée) :

1 – une solution de β -lactoglobuline bovine (β -Ig à 20ng.mL ⁻¹)	4 – une solution de lait de vache hypoallergénique
2 – une solution de lait cru de vache	5 – eau distillée
3 – une solution de lait de soja	

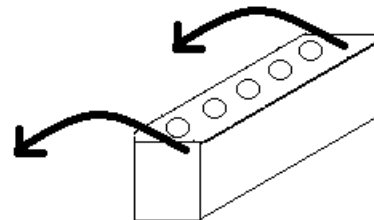
Activités et déroulement des activités	Capacités	Barème
<p>1- Mettre en œuvre le protocole expérimental en suivant les indications de la fiche protocole.</p> <p>Appeler l'examineur pour présenter votre manipulation</p> <p><u>Répondre à la question 2 et préparer la question 4 pendant les temps d'attente.</u></p>	<p>Réaliser une manipulation d'après un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation de la paillasse</p>	8
<p>2- Préciser l'intérêt des tests réalisés dans les puits 1 et 5.</p>	<p>Comprendre la manipulation</p>	3
<p>3- Justifier la réalisation des lavages demandés par le protocole.</p> <p>Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours.</p>		
<p>4- Construire un tableau comprenant les résultats de la manipulation et les schémas des associations moléculaires présentes dans les puits en fin de test en vous inspirant de la fiche document.</p>	<p>Présenter des données sous forme d'un tableau Traduire des informations par un schéma</p>	6
<p>5- Déterminer à partir des résultats obtenus le(s) lait(s) qu'un individu allergique à la β-lactoglobuline bovine peut consommer.</p>	<p>Adopter une démarche explicative</p>	2
<p>6- Ranger le poste de travail.</p>	<p>Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité</p>	1

RECHERCHE DE LA β -LACTOGLOBULINE BOVINE PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

Fiche protocole - candidat

Protocole d'utilisation du matériel

1. **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en respectant les consignes de sécurité d'usage.
2. **Repérer les puits et déposer** dans chacun d'eux trois gouttes (100 μ L) d'une des solutions à tester. Attention, une solution différente par puits.
3. **Ajouter** dans chacun des puits trois gouttes (100 μ L) de la solution d'anticorps de détection [AC2 associé à l'acétylcholinestérase].
4. **Laisser incuber** 10 min à température ambiante.
5. **Procéder** au lavage :
 - **vider** le contenu de la barrette en la retournant d'un seul mouvement au dessus de l'évier de manière à éviter le mélange des produits ;



- **absorber** le liquide restant en tapotant la barrette sur du papier filtre ;
 - **laver** les puits délicatement : **remplir** tous les puits aux trois-quarts (ne pas déborder) avec la solution de lavage et **vider** immédiatement comme précédemment ;
 - **renouveler** deux fois ce lavage (trois lavages en tout).
6. **Ajouter** dans chaque puits 6 gouttes (200 μ L) de la solution d'Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
 7. **Laisser agir 7 minutes** avant de lire les résultats.

RECHERCHE DE LA β -LACTOGLOBULINE BOVINE PAR L'UTILISATION DU TEST ELISA

Fiche document - candidat

Principe du test de détection d'antigène

Les molécules antigéniques peuvent posséder plusieurs déterminants antigéniques susceptibles d'être reconnus par des anticorps différents. C'est le cas de la β -lactoglobuline bovine qui peut être reconnue par les anticorps 1 et 2 :

- l'anticorps 1 (AC1) est fixé au fond d'une barrette d'identification ;
- l'anticorps 2 (AC2) est un anticorps de détection : AC2 est associé à une enzyme (l'acétylcholinestérase) capable de réagir avec un substrat incolore en donnant un produit coloré.

Si une solution contient de la β -lactoglobuline bovine, celle-ci sera maintenue au fond du puits par AC1 tout en fixant AC2 complexé à l'acétylcholinestérase. L'ajout du substrat de l'enzyme révélera la présence de l'AC2 et indirectement la présence de l'antigène.

Exemples de modèles dont vous pouvez vous inspirer pour la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :

