

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 -lg) = **Ac1**
- une solution d'anticorps de détection = complexe entre un deuxième anticorps anti β -lg (**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, 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 -lg 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	

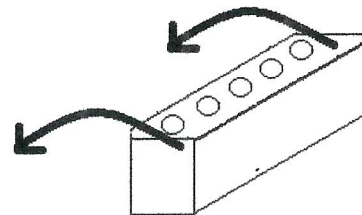
Activités et déroulement des activités	Capacités
1- Mettre en œuvre le protocole expérimental en suivant les indications de la fiche protocole. Appeler l'examineur pour présenter votre manipulation <u>Répondre à la question 2 et préparer la question 4 pendant les temps d'attente.</u> 2- Préciser l'intérêt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

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

Fiche protocole

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

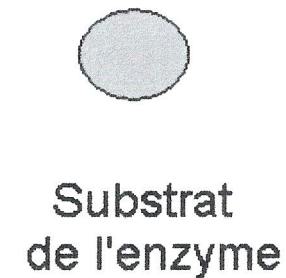
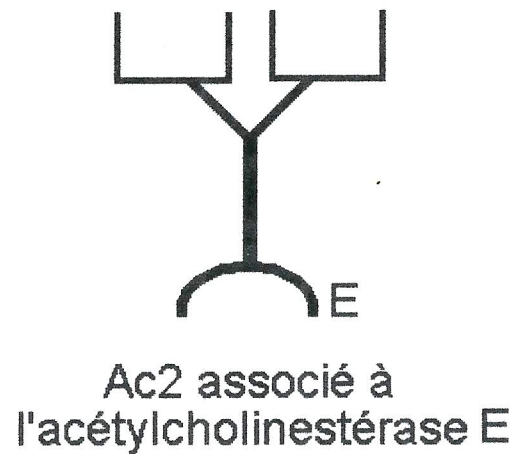
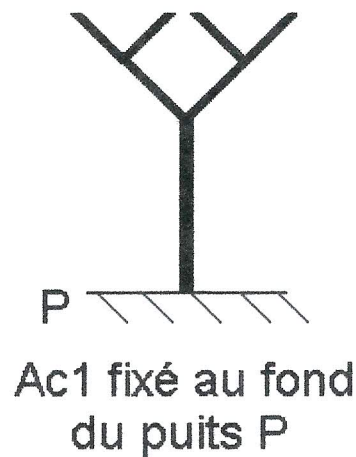
Principe du test de détection d'antigène

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 :



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

Fiche secours

RESULTATS OBTENUS

1. β -lactoglobuline bovine
2. solution de lait de vache cru
3. solution de lait de soja
4. solution de lait de vache hypo-allergénique
5. eau distillée

