

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

L'ingestion par l'Homme d'une protéine, la β -lactoglobuline bovine, peut être responsable d'allergies. Sa détection dans les produits alimentaires par des tests immunologiques est utilisée pour la prévention.

On recherche la présence de β -lactoglobuline bovine dans différentes solutions en utilisant un test de reconnaissance spécifique antigène – anticorps.

Matériel :

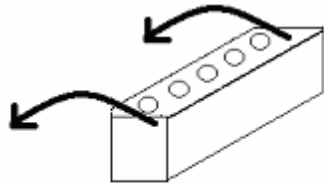
- une barrette de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti β -lactoglobuline bovine (anti β -Ig) = **Ac1** ;
- une solution d'anticorps traceurs = complexe entre un deuxième anticorps anti β -Ig (**Ac2**) et une enzyme (l'acétylcholinestérase) ;
- une solution de réactif d'Ellman (cette solution contient le substrat de l'acétylcholinestérase) ;
- une pissette d'eau pure pour le rinçage, 7 micropipettes (ou équivalent), 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}),
 - 2 – une solution de lait cru de vache,
 - 3 – une solution de lait de soja,
 - 4 – une solution de lait de vache hypoallergénique,
 - 5 – eau distillée.

Activités et déroulement des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1- Mettre en œuvre le protocole expérimental en suivant les indications de la fiche technique. Appeler l'examineur pour présenter votre manipulation <u>Répondre à la question 2 et préparer la question 3 pendant les temps d'attente.</u>	Réaliser une manipulation d'après un protocole Respect des étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Organisation et rangement de la paillasse	9
2- Préciser l'intérêt des tests réalisés dans les puits 1 et 5. Justifier les lavages du protocole. Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours	Adopter une démarche explicative	3
3- Construire un tableau comprenant les résultats de la manipulation et les schémas des molécules présentes dans les puits en fin de test. Ces schémas s'inspireront des modèles de la fiche document et montreront les associations moléculaires.	Représenter des données sous forme d'un tableau Traduire des informations par un schéma	6
4- Déduire des résultats obtenus (ou précisés par le document de secours) quels sont les laits qui contiennent de la β -lactoglobuline bovine.	Adopter une démarche explicative	2

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

Protocole d'utilisation du matériel

1. **Placer** dans chaque puits deux gouttes d'une des solutions à tester. Attention, choisir une solution différente par puits. Seuls les puits nécessaires sont utilisés. Penser à bien les repérer.
2. **Ajouter** dans chacun des puits deux gouttes de la solution d'anticorps traceurs [AC2 associé à l'acétylcholinestérase].
3. **Laisser incuber** 15 min à température ambiante.
4. **Procéder** au lavage :
 - vider le contenu de la barrette en la retournant énergiquement de manière à éviter le mélange des produits ;
 - absorber le liquide restant en tamponnant la barrette sur du papier filtre ;
 - laver à l'eau pure (pissette d'eau pure) ;
 - éliminer l'eau de lavage en secouant énergiquement la barrette.



5. **Répéter** ce lavage deux fois.
6. **Ajouter** dans chaque puits 4 gouttes (200 μ L) de la solution d'Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
7. **Laisser agir** 5 minutes.

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

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 traceur : 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 complexée à l'acétylcholinestérase. L'ajout du substrat de l'enzyme révélera la présence de l'AC2 et indirectement la présence de l'antigène.

Planche de modèles permettant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire :

