

RECHERCHE D'UNE MOLÉCULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DIFFERENTS LAITS

Fiche sujet – candidat

L'ingestion par l'Homme d'une protéine, la β -lactoglobuline bovine (BLG), peut être responsable d'allergies (c'est-à-dire une réponse immunitaire excessive). Pour les personnes allergiques, il peut être recommandé de remplacer le lait de vache, par exemple par du lait de soja. La détection de la β -lactoglobuline bovine dans les produits alimentaires peut être réalisée par un test immunologique type ELISA.

On cherche à comprendre l'intérêt de l'utilisation de lait de soja chez les personnes allergiques à la BLG.

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 avec 6 embouts ou matériel équivalent (pipettes pasteur, ...), une solution de lavage avec une pipette + propipette (ou matériel équivalent), des gants, un chronomètre, du papier filtre, un marqueur
- quatre « 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)	3 – une « solution » de lait de soja
2 – une « solution » de lait cru de vache	4 – eau distillée

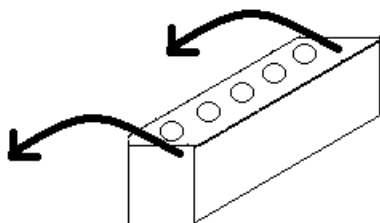
Activités et déroulement des activités	Capacités	Barème
1. Expliquer , à l'aide du principe du test de détection d'antigène présenté dans la fiche document- candidat, l'intérêt des solutions testées dans le protocole.	Comprendre la manipulation	3
2. Mettre en œuvre le protocole fourni en suivant les indications de la fiche protocole-candidat. <u>Préparer la question 3 pendant les temps d'attente.</u> Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours	Réaliser une manipulation en suivant un protocole <ul style="list-style-type: none"> - respect des étapes du protocole - utilisation maîtrisée du matériel - organisation de la paillasse Présenter des données sous forme d'un tableau Traduire des informations par un schéma	8
3. 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-candidat.	Appliquer une démarche explicative	6
4. Expliquer à partir des résultats obtenus (ou précisés par le document de secours) pourquoi le lait de soja peut être recommandé aux personnes allergiques à la BLG.	Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité	2
5. Ranger le poste de travail.		1

RECHERCHE D'UNE MOLÉCULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DIFFERENTS LAITS

Fiche protocole – candidat

Protocole d'utilisation du matériel

1. **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement et en respectant les consignes de sécurité.
2. **Repérer les puits et déposer** dans chacun d'eux trois gouttes ou 100µL d'une des solutions à tester. Attention, une solution différente par puits.
3. **Ajouter** dans chacun des puits trois gouttes ou 100µL 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 avec la solution de lavage et **vider** immédiatement comme précédemment ;
 - **renouveler** ce lavage deux fois (trois lavages en tout).
6. **Ajouter** dans chaque puits 6 gouttes ou 200µL de réactif d' Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
 7. **Laisser agir** 7 minutes avant de lire les résultats.

RECHERCHE D'UNE MOLÉCULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DIFFÉRENTS LAITS

Fiche document – candidat

Principe du test de détection d'antigène (type ELISA)

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 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 représentations guidant la réalisation du schéma explicatif à l'échelle moléculaire (les molécules n'ont pas toutes été représentées) :

