

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 d'une réponse immunitaire excessive). Pour les personnes allergiques, il peut être recommandé de remplacer le lait de vache, par exemple par du lait hypoallergénique. 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 hypoallergénique chez les personnes allergiques à la BLG.

Matériel :

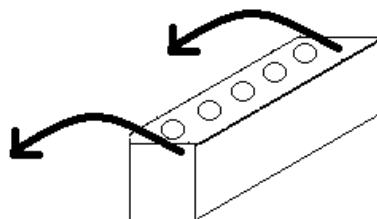
- une barrette de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti β -lactoglobuline bovine (anti β -Ig) = **Ac1** ;
- une solution d'anticorps de détection = complexe entre un deuxième anticorps anti β -Ig (**Ac2**) et une enzyme (l'acétylcholinestérase) ;
- une solution de réactif d'Ellman (cette 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 hypoallergénique,
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. <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 - respect des étapes du protocole - utilisation maîtrisée du matériel - organisation de la paillasse	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.	Présenter des données sous forme d'un tableau Traduire des informations par un schéma	6
4. Expliquer à partir des résultats obtenus (ou précisés par le document de secours) pourquoi le lait hypoallergénique peut être recommandé aux personnes allergiques à la BLG.	Appliquer une démarche explicative	2
5. Ranger le poste de travail.	Gérer et organiser le poste de travail, respecter les consignes de sécurité	1

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 100 μL d'une des solutions à tester. Attention, une solution différente par puits.
3. **Ajouter** dans chacun des puits trois gouttes ou 100 μL 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 tamponnant 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 ;
 - **vider** l'eau de lavage et absorber le liquide restant en tamponnant la barrette sur du papier filtre.
 - **renouveler** ce lavage deux fois. (trois lavages en tout).
6. **Ajouter** dans chaque puits 6 gouttes ou 200 μL de la solution d'Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
 7. **Laisser agir** 7 minutes avant de lire les résultats.

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) :

