

RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS – (VACHE – SOJA)

L'ingestion par l'Homme d'une protéine, la β -lactoglobuline bovine (BLG), peut être responsable d'allergies. 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 :

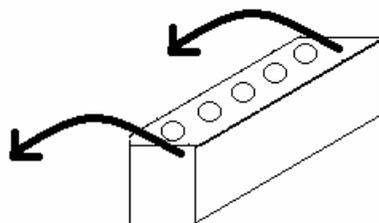
- une barrette de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti β -lactoglobuline bovine (anti β -Ig) = **Ac1** ;
- une solution d'anticorps traceurs = complexe entre un deuxième anticorps anti β -Ig (**Ac2**) et une enzyme (l'acétylcholinestérase) ;
- une solution de réactif d'Ellman (cette solution contient le substrat de l'acétylcholinestérase) ;
- une pissette d'eau pure pour le rinçage, 6 micropipettes (ou équivalent), des gants, un chronomètre, du papier filtre ;
- 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 et principaux critères d'évaluation	Barème
1. Expliquer , à l'aide du principe du test ELISA 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 technique. <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 molécules présentes dans les puits en fin de test. Ces schémas s'inspireront des modèles de la fiche document et montreront les associations moléculaires.	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 de soja 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	1

RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS – (VACHE – SOJA)**Protocole d'utilisation du matériel**

1. **Organiser** votre plan de travail pour manipuler proprement.
2. **Repérer les puits et déposer** dans chacun d'eux deux gouttes (100 μ L) d'une des solutions à tester. Attention, une solution différente par puits. Seuls les puits nécessaires sont utilisés.
3. **Ajouter** dans chacun des puits deux gouttes (100 μ L) de la solution d'anticorps traceurs [AC2 associé à l'acétylcholinestérase].
4. **Laisser incuber** 15 min à température ambiante.
5. **Procéder** au lavage :
 - vider le contenu de la barrette en la retournant d'un seul mouvement 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 au trois quart (ne pas déborder) avec la solution de lavage et vider immédiatement comme précédemment.
 - **Renouveler** encore deux fois ce lavage (trois lavages en tout).
6. **Ajouter** dans chaque puits 4 gouttes (200 μ L) de réactif de Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
 7. **Laisser agir** 5 minutes.

RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS – (VACHE – SOJA)

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 :

