

## RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS

L'ingestion par l'Homme d'une protéine, la  $\beta$ -lactoglobuline bovine (BLG), peut être responsable d'allergies. Pour les personnes allergiques, il est recommandé de remplacer le lait de vache par du lait de soja ou du lait de vache hypoallergénique. La détection de la  $\beta$ -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 ou de lait hypoallergénique chez les personnes allergiques à la BLG.**

### Matériel :

- une barrette de puits au fond desquels sont fixés des anticorps anti  $\beta$ -lactoglobuline bovine (anti  $\beta$ -Ig ) = **Ac1** ;
- une solution d'anticorps traceurs = complexe entre un deuxième anticorps anti  $\beta$ -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, du papier filtre ;
- cinq « solutions » à tester (les produits ont été dilués dans de l'eau distillée) :
 

1 – une solution de $\beta$ -lactoglobuline bovine ( $\beta$ -Ig à $20\text{ng.mL}^{-1}$ ),	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 et principaux critères d'évaluation	Barème
<b>1- Mettre en œuvre</b> le protocole en suivant les indications de la fiche technique.  <u>Répondre à la question 2 et préparer la 3 pendant les temps d'attente.</u>	<b>Réaliser une manipulation en suivant un protocole</b> respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation et rangement de la paillasse	9
<b>2- Préciser</b> l'intérêt des tests des puits 1 et 5. <b>Justifier</b> les lavages du protocole.  <b>Appeler l'examineur pour vérifier les résultats et obtenir éventuellement un document de secours</b>	<b>Adopter une démarche explicative</b>	3
<b>3- Construire</b> un tableau comprenant les résultats de la manipulation et les schémas des molécules présentes dans les puits en fin de test. Ces schémas respecteront les modèles de la fiche document et montreront les associations moléculaires.	<b>Représenter des données sous forme d'un tableau</b> <b>Traduire des informations par un schéma</b>	6
<b>4- Expliquer</b> à partir des résultats obtenus (ou précisés par le document de secours) pourquoi les laits de soja et hypo-allergéniques sont recommandés aux personnes allergiques à la BLG.	<b>Adopter une démarche explicative</b>	2

**RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS**

:

**Protocole d'utilisation du matériel**

1. **Placer** dans chaque puits deux gouttes d'une des solutions à tester. Attention, une solution 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 $\mu$ L) de la solution d'Ellman (substrat de l'enzyme acétylcholinestérase).
7. **Laisser agir** quelques minutes.

## RECHERCHE D'UNE MOLECULE RESPONSABLE D'ALLERGIES DANS DES LAITS

### 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  $\beta$ -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  $\beta$ -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 :**

