



DOSAGE D'UNE ENTÉROTOXINE STAPHYLOCOCCIQUE PAR MÉTHODE ELISA



Travaux des Actions Académiques Mutualisées

Niveau

- Terminale STL Biotechnologies, BTS

Thème du programme

- Biotechnologies : analyse immunologique des échantillons biologiques

Situations pédagogiques

- Scénario prévu sur une séance d'une heure

Liens internet

- Anticorps et antigènes marqués : <http://www.pedagogie.ac-nantes.fr>
- Protocole de dosage immunoenzymatique d'une entérotoxine staphylococcique : <http://www.pedagogie.ac-nantes.fr>
- Un lien professeur et un lien élève pour donner votre avis sur ce scénario

Compétences B2i

- **Domaine 1** : S'approprier un environnement informatique de travail
- **Domaine 3** : Créer, produire, traiter, exploiter des données
- **Domaine 5** : Communiquer, échanger

Matériels TICE

- Ordinateur
- Adobe reader
- Tableur : Excel, Open Office...
- Connexion internet

Mots clés

- Immunologie, immunomarquage, ELISA, anticorps, antigène, conjugué



Votre avis nous intéresse, merci de répondre à notre enquête concernant ce scénario.

Elève, cliquer [ici](#).

Professeur, cliquer [ici](#).



Compte-rendu numérique

Elève(s) : indiquer ci-dessous vos nom(s) et prénom(s) puis compléter le compte-rendu directement dans le fichier.

NOM(s), Prénom(s) :

Activité n°1 : Généralités sur la technique d'immuno-marquage utilisée

Objectifs

- Comprendre la notion de conjugué
- Comprendre le vocabulaire de caractérisation des techniques


Durée conseillée

- 20 min

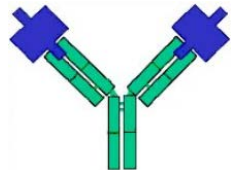
Consignes

- Répondre aux questions à l'aide du diaporama et du protocole proposés

Diaporama
(Cliquer sur l'image pour accéder à la ressource)



Protocole
(Cliquer sur l'image pour accéder à la ressource)



Questions

- 1) Distinguer un marqueur d'un conjugué :
- 2) Préciser les composants du conjugué utilisé dans le dosage de l'entérotoxine staphylococcique A :

3) Caractériser la technique ELISA mise en œuvre dans le dosage de l'entérotoxine staphylococcique A :

Caractéristiques	Justification
Phase homogène ou phase hétérogène :	
Compétitive ou non compétitive :	
Directe ou indirecte :	



Activité n°2 : Préparation de la gamme d'étalonnage

Objectifs

- Dresser le tableau de travail d'une dilution en série

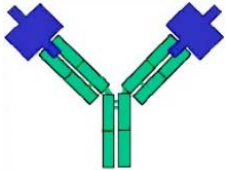
Durée conseillée

- 5 min

Consignes

- Répondre à la question à l'aide du protocole

Protocole
(Cliquer sur l'image pour accéder à la ressource)




Questions

1) Compléter le tableau de travail ci-dessous :

	Dilutions en série						
	1	2	3	4	5	6	7
Tampon PBS (µL)							
Solution étalon (Sol Et) (µL)							
Volume reporté (µL)							
Dilutions : 1/							
Pentérottoxine A (ng/mL)							

Rejet : µL



Activité n°3 : Composition et rôles des témoins et contrôle qualité

Objectifs

- Comprendre les rôles des témoins et contrôles qualité

Durée conseillée

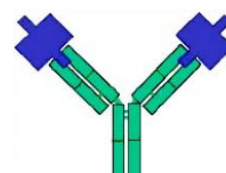
- 10 min

Consignes

- Répondre à la question à l'aide du protocole

Protocole

(Cliquer sur l'image pour
accéder à la ressource)



Questions

1) Compléter le tableau ci-dessous en précisant la composition des témoins et du contrôle qualité, ainsi que leurs rôles.

Cupule	Composition : présence : + / absence : -				Rôle
	AcS	Ag : étalon ou échantillon	Conjugué	PNPP	
A1					
B1					
C1					
D1					



Activité n°4 : Précaution technique et démarche de prévention

Objectifs

- Réfléchir aux précautions techniques permettant d'obtenir des résultats fiables
- Réaliser la démarche de prévention des risques

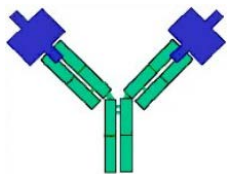
Durée conseillée

- 5 min

Consignes

- Répondre aux questions à l'aide du protocole

Protocole
(Cliquer sur l'image pour accéder à la ressource)




Questions

1) Préciser la précaution technique nécessaire lors des dépôts de PNPP et de NaOH pour obtenir des résultats fiables. Justifier.

2) Réaliser la démarche de prévention des risques en complétant le tableau ci-dessous :

Dangers	Situations exposantes	Evènements déclencheurs	Mesures de prévention



Activité n°5 : Analyse des résultats

Objectifs

- Analyser les résultats des témoins et contrôles qualité
- Tracer la courbe d'étalonnage
- Déterminer la teneur en entérotoxine de l'aliment et conclure

Durée conseillée

- 20 min

Consignes

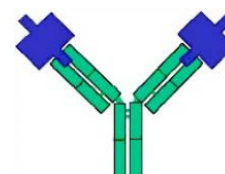
- Répondre aux questions à l'aide du protocole et des résultats fournis

Résultats d'absorbance à 405 nm :

	1	2
A	0,031	2,601
B	0,026	2,543
C	0,019	1,925
D	0,032	0,885
E	0,434	0,432
F	0,467	0,181
G	0,231	0,091
H	0,216	0,045

Protocole

(Cliquer sur l'image pour accéder à la ressource)



Questions

1) Analyser les résultats des témoins et du contrôle qualité :

2) A l'aide d'un tableau :

- Calculer les absorbances nettes pour les points de gamme et les essais (voir protocole).
- Tracer la courbe d'étalonnage et apporter tous les éléments nécessaires à une présentation correcte du graphe.
- Identifier sur la courbe, la zone exploitable de la gamme d'étalonnage.
- Déterminer les concentrations en entérotoxine A des différents essais réalisés sur le surnageant S en ng.mL^{-1} . Préciser le mode de détermination utilisé (équation de la droite de régression, fonction PREVISION...). Calculer la moyenne de ces essais en cas de concordance.
- Calculer la teneur de l'aliment en entérotoxine A en ng.g^{-1} . Préciser la formule littérale du calcul.
- Calculer la masse d'aliment en g, nécessaire pour atteindre la dose minimale de toxine susceptible de provoquer des troubles digestifs (dose minimale nécessaire à l'apparition de troubles : 20 ng). Préciser la formule littérale du calcul.



Enregistrer votre travail dans un fichier clairement identifié et transmettre le fichier tableur et le fichier pdf à votre professeur.