

Thème 4 – Chapitre 3 – Activité 2

DOSAGE DE L'OVALBUMINE DU BLANC D'ŒUF PAR IMMUNODIFFUSION SIMPLE (MANCINI)

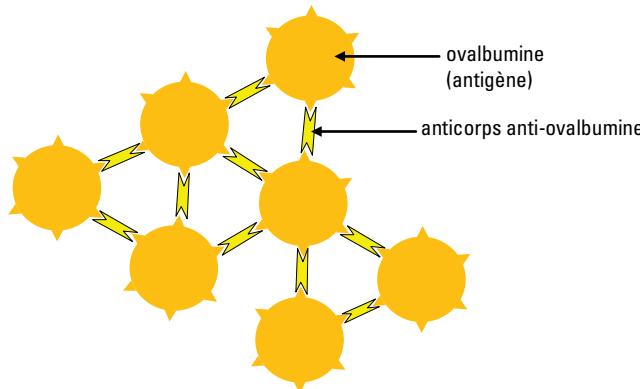
Éléments de réponse

RÉFLEXIONS PRÉLIMINAIRES

1.

Lors de cette technique, l'anticorps (ici : anticorps anti-ovalbumine) est incorporé dans la gélose à une concentration constante. Les antigènes (ici : solutions mère et filles d'ovalbumine et le blanc d'œuf) sont déposés dans des puits creusés dans la gélose d'où ils diffuseront de façon radiale et décroissante : immunodiffusion radiale simple. Dans la zone d'équivalence antigénique, il se forme un anneau de précipitation dont le carré du diamètre est proportionnel à la concentration en antigène. La concentration en antigène de la solution à tester (ici l'ovalbumine du blanc d'œuf) est exprimée par référence à la courbe étalon obtenue grâce à l'antigène de concentration connue (ici les solutions mère et filles d'ovalbumine).

2.



3.

L'anneau de précipitation se forme dans la zone d'équivalence antigénique. Si on diminue la concentration en anticorps dans le gel, cette zone sera atteinte par diffusion de l'antigène plus tardivement. De ce fait, le diamètre de l'anneau de précipitation augmente.

ANALYSE DES RÉSULTATS

1.

Solution filles	SF1	SF2	SF3
Volume de solution mère ovabulmine (μL)	500		
Tampon PBS (μL)	500	500	500
Volume de redistribution (μL)		500	500
$t_{\text{ovalbumine}} (\text{g.L}^{-1})$	1	0,5	0,25

Rejet de 500 μL

$$\text{Vol}_{\text{sol mère}} = (t_{\text{ovalbumine de sol fille}} \times \text{Vol}_{\text{sol fille}}) / t_{\text{ovalbumine sol mère}}$$

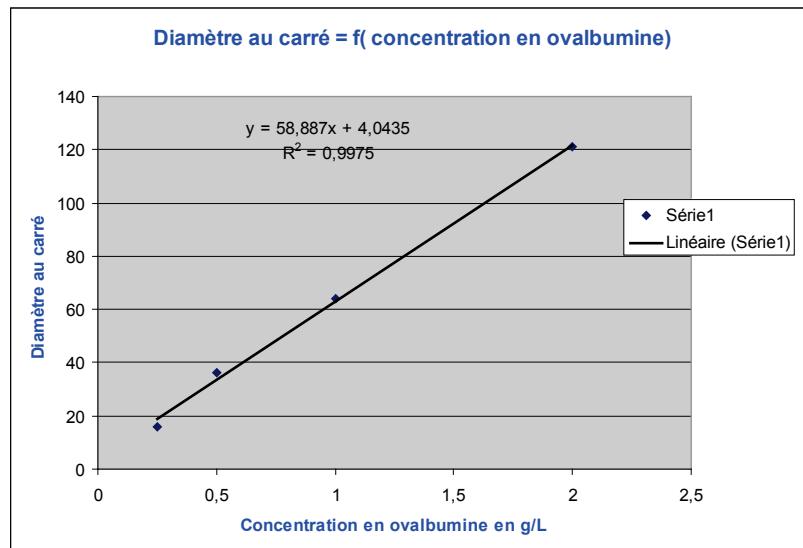
$$\text{Exemple pour SF1 : } \text{Vol}_{\text{sol mère}} = (1 \times 1000) / 2 = 500 \mu\text{L}$$

En immunologie, les dilution en cascade sont privilégiées et sont de raison $1/2$ dans ce cas.

2.

Solutions	Sol mère	SF1	SF2	SF3	Blanc d'œuf	Blanc d'œuf
Diamètre (mm)	11	8	6	4	9	9
Diamètre ² (mm ²)	121	64	36	16	81	81
$t_{\text{ovalbumine}} (\text{g.L}^{-1})$	2	1	0,5	0,25	x	x

3.



4.

L'ordonnée à l'origine de la courbe étalon représente le diamètre du puits.

5.

Grâce à l'équation de la droite, on peut déterminer la concentration en ovalbumine de la solution notée « blanc d'œuf » : 1,31 g.L⁻¹.

6.

La solution « blanc d'œuf » correspond à une dilution au 1/10 de la dissolution du blanc d'œuf.

$$t_{\text{ovalbumine sol blanc d'œuf pur}} = 13,1 \text{ g.L}^{-1}$$

$$\%_{\text{massique en ovalbumine}} = (t_{\text{ovalbumine sol blanc d'œuf pur}} / t_{\text{blanc d'œuf}}) \times 100 = (13,1 / 150) \times 100 = 8,7 \%$$

$$\%_{\text{massique en ovalbumine théorique}} = (12 \times 60) / 100 = 7,2 \%$$

Par comparaison, le blanc d'œuf étudié a un % massique en ovalbumine supérieur à celui théorique donc présente un risque majeur d'allergie chez l'enfant.