Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV®.

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
formav.co/explorer

BTS BIOALC • CORRIGÉ DÉTAILLÉ

BTS BioAlc

Techniques de biologie cellulaire et moléculaire

Session 2006 • Code sujet : **BAE5BCM/4** • Durée : **3 H** • Coefficient : **2**

Sommaire

Cliquez sur une partie pour y accéder directement

1. Dosage immunoenzymatique compétitif des gliadines dans un aliment pour bébé (11 questions) **Page 3**

2. Ce qu'il faut retenir & Questions fréquentes (FAQ) (Synthèse & Q&A Examen) **Page 9**

Sujet officiel (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E5 - Expertise au laboratoire pour l'optimisation de méthodes de bioanalyse/2006/BTS BioAlc - E5 - Expertise au laboratoire pour l'optimisation de méthodes de bioanalyse - Session 2006 - 3-Sujet.pdf

1. Dosage immunoenzymatique compétitif des gliadines dans un aliment pour bébé

L'épreuve étudie le dosage des gliadines extraites d'un aliment pour bébé par une méthode immunoenzymatique hétérogène fondée sur la compétition. Le candidat conduit le protocole, exploite les témoins et la gamme d'étalonnage, puis détermine la teneur en gluten et évalue la qualité de l'aliment pour les personnes atteintes de maladie cœliaque.

Réalisation expérimentale

Question Protocole. Réaliser la gamme de 11 dilutions successives de raison 1/2 à partir de la solution étalon de gliadines à 1 mg/mL, en commençant dans la cupule A11. Effectuer le dosage selon le protocole : distribuer les dilutions, le diluant et l'échantillon dans les cupules indiquées, ajouter le conjugué sauf en A1, incuber, laver et rincer, ajouter le substrat, arrêter la réaction avec la soude puis lire les absorbances à 405 nm contre A1.

1. Ajouter 100 µL de PBS dans A11, puis 100 µL de l'étalon à 1 mg/mL. Mélanger : A11 est la dilution au 1/2.
2. Mettre 100 µL de PBS dans les 10 cupules suivantes. Transférer 100 µL de A11 vers la cupule suivante, mélanger et poursuivre dans l'ordre A11-H11, puis A12-C12. Après mélange en C12, éliminer 100 µL.
3. Distribuer 50 µL des 11 dilutions en D1-H1 puis A2-F2. Ajouter 50 µL de diluant en B1 et C1, 50 µL d'échantillon en G2 et H2, puis 50 µL de conjugué partout sauf A1.
4. Agiter 5 min, incuber 45 min à 37 °C, laver 3 fois et rincer 1 fois. Ajouter 100 µL de substrat, incuber 15 min à 37 °C, arrêter avec 50 µL de NaOH et lire à 405 nm contre A1.

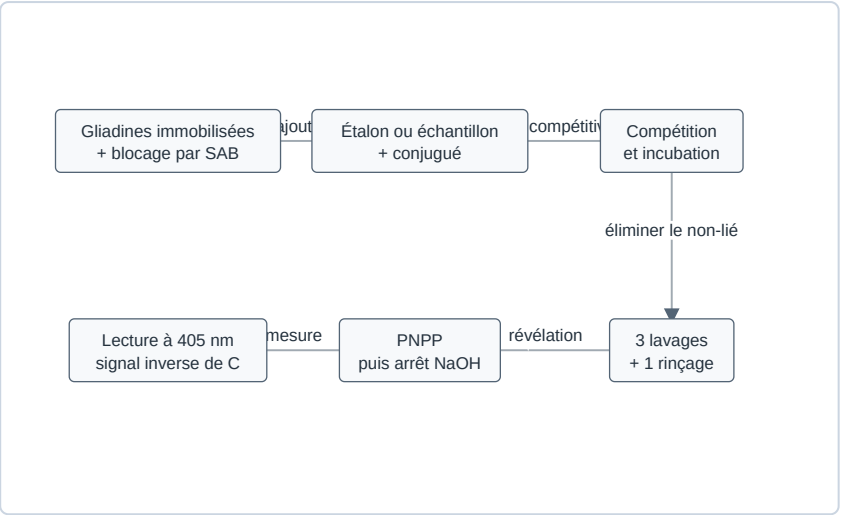
> **✓ RÉPONSE À RETENIR**
>
> Gamme préparée de A11 à C12 ; dosage en D1-F2 et G2-H2 ; lecture à 405 nm contre A1.

Méthodologie

Question 3.1. Présenter, sous forme d'un schéma légendé, les étapes de la méthode mise en œuvre pour le dosage.

Les gliadines sont d'abord immobilisées dans les cupules, puis les sites libres sont bloqués par la SAB. Les gliadines solubles de l'étalon ou de l'échantillon entrent en compétition avec les gliadines immobilisées pour le conjugué anti-gliadines marqué à la phosphatase alcaline. Après lavage, l'enzyme retenue transforme le PNPP en produit coloré. La coloration, mesurée à 405 nm, diminue lorsque la concentration en gliadines solubles augmente.

Étapes du dosage compétitif des gliadines



Plus la concentration en gliadines solubles est élevée, moins le conjugué est retenu et plus l'absorbance diminue.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Immobilisation et blocage, compétition antigène-conjugué, lavages, révélation au PNPP et lecture à 405 nm.

Question 3.1. Préciser le rôle de l'ajout de sérumalbumine bovine (SAB) à 3 %.

La SAB à 3 % s'adsorbe sur les zones des cupules qui ne sont pas recouvertes par les gliadines. Elle bloque ainsi les sites libres et limite la fixation non spécifique du conjugué sur le support. Le bruit de fond diminue et le signal mesuré reflète davantage la liaison spécifique du conjugué aux gliadines immobilisées.

✓ RÉPONSE À RETENIR

La SAB bloque les sites libres et réduit la fixation non spécifique du conjugué.

Question 3.1. Préciser le rôle des lavages, puis indiquer la composition et le rôle des témoins correspondant aux cupules A1, B1 et C1.

Les lavages au PBS-Tween éliminent les molécules non liées, notamment le conjugué libre. Le rinçage au PBS retire le détergent résiduel avant l'ajout du substrat.

- **A1 :** sans gliadines immobilisées, sans SAB et sans conjugué ; reçoit substrat et NaOH. Blanc de lecture.
- **B1 :** sans gliadines immobilisées, avec SAB, diluant et conjugué ; contrôle de fixation non spécifique.
- **C1 :** avec gliadines immobilisées et SAB, sans compétiteur soluble, avec conjugué ; témoin du signal maximal.

✓ RÉPONSE À RETENIR

A1 : blanc ; B1 : contrôle non spécifique ; C1 : signal maximal sans compétiteur soluble.

Question 3.1. **Conclure sur les résultats obtenus pour chacun des témoins A1, B1 et C1.**

Les résultats attendus sont qualitatifs, car aucune valeur d'absorbance n'est fournie. A1 doit donner un signal nul ou très faible. B1 doit rester faible, proche du blanc ; un signal élevé suggérerait une fixation non spécifique ou un lavage insuffisant. C1 doit donner le signal maximal, car le conjugué peut se fixer aux gliadines immobilisées en l'absence de compétiteur soluble.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> A1 : signal nul ou très faible ; B1 : signal faible ; C1 : signal maximal.

Expression et analyse des résultats

Question 3.2. **Présenter un tableau de préparation de la gamme d'étalonnage. Établir un tableau récapitulatif avec les concentrations en gliadines des cupules D1 à F2, leurs logarithmes, les absorbances brutes de toutes les cupules et les absorbances nettes en tenant compte des témoins.**

La solution initiale à 1 mg/mL correspond à 1 000 µg/mL. Chaque dilution est obtenue en mélangeant à volumes égaux la solution précédente et le PBS pH 7,2. Les cupules de gamme sont ordonnées de D1 à H1, puis de A2 à F2. Les absorbances brutes doivent être relevées expérimentalement pour les 16 cupules ; l'absorbance nette de chacune est sa valeur brute moins celle de A1.

Cupule	Concentration (µg/mL)	$\log_{10}(C)$
D1	500	2,699
E1	250	2,398
F1	125	2,097
G1	62,5	1,796
H1	31,25	1,495
A2	15,625	1,194
B2	7,8125	0,893
C2	3,90625	0,592
D2	1,953125	0,291
E2	0,9765625	-0,010
F2	0,48828125	-0,311

Cupule	Absorbance brute à 405 nm	Absorbance nette
A1	À relever	0
B1	À relever	A(B1) - A(A1)
C1	À relever	A(C1) - A(A1)
D1	À relever	A(D1) - A(A1)
E1	À relever	A(E1) - A(A1)
F1	À relever	A(F1) - A(A1)
G1	À relever	A(G1) - A(A1)
H1	À relever	A(H1) - A(A1)
A2	À relever	A(A2) - A(A1)
B2	À relever	A(B2) - A(A1)
C2	À relever	A(C2) - A(A1)
D2	À relever	A(D2) - A(A1)
E2	À relever	A(E2) - A(A1)
F2	À relever	A(F2) - A(A1)
G2	À relever	A(G2) - A(A1)
H2	À relever	A(H2) - A(A1)

✓ RÉPONSE À RETENIR

Gamme : 500 à 0,4883 µg/mL ; absorbances à mesurer, puis corriger par soustraction de A1.

Question 3.2. Pour chaque cupule sauf B1 et C1, calculer le pourcentage d'inhibition selon la formule fournie et reporter les résultats dans le tableau récapitulatif.

Prendre C1 comme absorbance maximale et utiliser les absorbances nettes corrigées par A1. Pour chaque cupule sauf B1 et C1, appliquer la formule ci-dessous. A1, utilisé comme blanc, correspond à 100 % d'inhibition si le signal net de C1 est non nul. Les valeurs numériques ne peuvent être établies sans les absorbances expérimentales.

✓ RÉPONSE À RETENIR

I (%) = [(A nette de C1 - A nette de la cupule) / A nette de C1] × 100 ; B1 et C1 exclus.

Question 3.2. À l'aide d'un outil informatique, représenter le pourcentage d'inhibition en fonction du logarithme de la concentration en gliadines, exprimée en µg/mL. Valider les résultats expérimentaux de l'étalonnage et établir les paramètres de l'équation de la représentation graphique.

Tracer en abscisse $\log_{10}$(C en µg/mL) et en ordonnée le pourcentage d'inhibition des 11 étalons. La courbe attendue est croissante : une concentration soluble plus élevée réduit le signal enzymatique. Vérifier la cohérence des points et des répétitions, puis ajuster la relation sur la zone linéaire. L'équation et ses paramètres nécessitent les absorbances mesurées ; aucune valeur expérimentale n'étant fournie, ils ne peuvent être chiffrés ici.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Courbe attendue croissante ; équation et paramètres à établir par régression des mesures expérimentales.

Question 3.2. Déterminer la concentration en gliadines de l'échantillon G fourni.

Calculer l'inhibition de G2 et H2 à partir des absorbances nettes, puis en prendre la moyenne. Reporter cette moyenne sur la courbe d'étalonnage et relever l'abscisse correspondante x. La concentration de l'extrait est alors $C_G = 10^x$ µg/mL. Les valeurs d'absorbance de G2 et H2 sont nécessaires pour obtenir un résultat numérique.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> $C_G = 10^x$ µg/mL, x étant lu sur la courbe à l'inhibition moyenne de G2 et H2.

Question 3.2. Déduire de la concentration obtenue la teneur en gluten de l'aliment.

Pour 1 g d'aliment extrait dans 10 mL, la masse de gliadines est $10C_G$ µg. En estimant le gluten à deux fois la masse des gliadines, la teneur en gluten est $20C_G$ µg par gramme d'aliment, soit $0{,}002C_G$ % (m/m), avec C_G en µg/mL. Le résultat chiffré dépend de la concentration déterminée en Q9.

> ✓ **RÉPONSE À RETENIR**
>
> Teneur estimée en gluten : $0{,}002C_G$ % (m/m).

Question 3.2. Conclure sur la qualité de l'aliment pour les bébés atteints de maladie cœliaque.

Le seuil indiqué est 0,04 % de gluten. Avec la conversion précédente, il correspond à $C_G = 20$ µg/mL. Comparer à cette limite la concentration calculée en Q9 : si elle est supérieure, l'aliment dépasse le seuil d'exclusion ; si elle lui est inférieure ou égale, il respecte le critère indiqué. Sans résultat numérique pour l'échantillon, la conclusion définitive reste conditionnelle.

✓ RÉPONSE À RETENIR

Conforme au seuil si $C_G \leq 20$ µg/mL ; à exclure si $C_G > 20$ µg/mL.

Ce qu'il faut retenir de ce sujet (Session 2006)

Bilan de l'épreuve : Épreuve E5, unité U53 du BTS Bioanalyses et contrôles, session 2006, code BAE5BCM/4 : durée 3 heures, coefficient 2, total de 40 points. Le sujet porte sur le dosage compétitif des gliadines extraites d'un aliment pour bébé. Il évalue la conduite du protocole, l'analyse des témoins, l'exploitation de l'étalonnage et la détermination de la teneur en gluten pour conclure sur la qualité de l'aliment.

Notions-clés, formules & règles à maîtriser

- En dosage compétitif, davantage de gliadines dans l'échantillon entraîne généralement moins de conjugué fixé et une absorbance plus faible.
- La gamme comporte 11 dilutions successives de raison 1/2 dans le tampon PBS pH 7,2.
- Le pourcentage d'inhibition est I = ((A maximale - A cupule) / A maximale) × 100.
- Selon le sujet, un aliment contenant plus de 0,04 % de gluten doit être exclu de l'alimentation des personnes cœliaques.

Points de vigilance & attentes du jury

- Respecter les volumes, l'ordre des dépôts, les temps et températures d'incubation ainsi que les étapes de lavage.
- Distinguer les témoins A1, B1 et C1 et effectuer la lecture à 405 nm contre A1.
- Indiquer les unités des concentrations et logarithmes, et distinguer absorbances brutes et nettes.
- Tenir compte de l'extraction de 1 g d'aliment dans 10 mL d'éthanol à 70 % avant de conclure sur la teneur en gluten.

Questions fréquentes sur cette épreuve (Q&A Examen)

Q : Comment préparer la gamme étalon de gliadines ?

Réalisez onze dilutions successives de raison 1/2 avec le tampon PBS pH 7,2, en commençant dans la cupule A11. Chaque dilution est deux fois moins concentrée que la précédente, à partir de la solution étalon à 1 mg/mL.

Q : Pourquoi l'absorbance baisse-t-elle lorsque la concentration en gliadines augmente ?

Les gliadines de l'échantillon et celles fixées dans les cupules entrent en compétition pour le conjugué anti-gliadines. Plus l'échantillon contient de gliadines, moins le conjugué se fixe, ce qui réduit l'activité enzymatique et l'absorbance.

Q : Le sujet donne-t-il un barème détaillé par question ?

Non. Le sujet annonce un total de 40 points pour l'épreuve, mais ne précise pas la répartition entre le protocole et les tâches du compte rendu. Il faut traiter toutes les consignes sans attribuer de points supposés.

Q : Quels éléments vérifier avant de déterminer la concentration de l'échantillon ?

Vérifiez les témoins et la cohérence des absorbances, présentez la gamme avec ses unités et ses logarithmes, puis calculez les inhibitions selon la formule donnée. Validez l'étalonnage avant d'utiliser sa représentation pour déterminer la concentration de l'échantillon.

Sujet officiel associé (PDF) : https://btsbioalc.fr/assets/annales/bts-bioalc/E5 - Expertise au laboratoire pour l'optimisation de méthodes de bioanalyse/2006/BTS BioAlc - E5 - Expertise au laboratoire pour l'optimisation de méthodes de bioanalyse - Session 2006 - 3-Sujet.pdf

Ressources BTS BioAlc : Toutes les annales & corrigés • Fiches de révision complètes • Simulateur de notes d'examen

Copyright © 2027 FormaV®. Tous droits réservés.

FormaV® est une marque déposée auprès de l'INPI sous le numéro 5227897.

Ce document a été élaboré par FormaV® avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV®, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV® se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.