



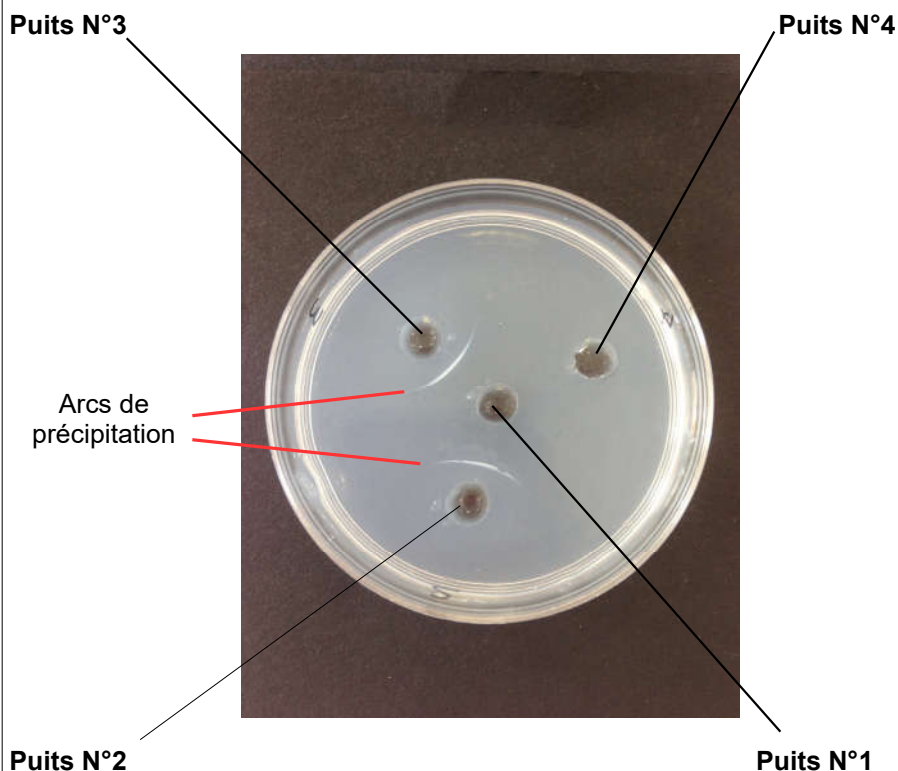
Vérification d'une immunisation par le test d'Ouchterlony Version "produits de substitution"

Objectifs					Niveau possible															
- Mise en évidence de la réaction antigène/anticorps par le test d'Ouchterlony (technique d'immuno-diffusion)					Niveau(x) -Terminale S Thème du BO - Corps humain et santé - Le maintien de l'intégrité de l'organisme, quelques aspects de la réaction immunitaire															
Matériel et solutions					Sécurité et hygiène															
Matériel : - 1 petite boîte de Pétri (environ 6 cm de diamètre) contenant un gel d'agar (concentration de l'agar 1,42g/100mL) - 1 portoir de tubes <i>ependorf</i> avec les produits de substitution : (pour le sérum à tester 2 versions peuvent être envisagées)					Fiches toxicologiques de l'INRS →Hydroxyde de sodium et solutions aqueuses http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?reflNRS=FICHETOX_20 → Sulfate de zinc http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?reflNRS=FICHETOX_75 Se référer régulièrement à la fiche FDS de votre fournisseur pour les mises à jour. Précautions de manipulation 															
<table><tr><th>Solutions modélisées</th><th>Solution Antigène A</th><th>Sérum à tester d'un individu</th><th>Sérum d'un individu immunisé</th><th>Sérum d'un individu non immunisé</th></tr><tr><th>Numérotation des puits</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th></tr><tr><td>Solutions de substitution</td><td>Hydroxyde de sodium à 1mol/L</td><td>Sulfate de zinc à 1mol/L ou eau distillée</td><td>Sulfate de zinc à 1mol/L</td><td>Eau distillée</td></tr></table> - 4 pipettes plastiques de 1mL - 1 emporte-pièce (voir ci-contre) - 1 pince fine - 1 marqueur - 1 feuille noire pour la lecture des boîtes - 1 gabarit de perçage - 1 récipient poubelle - 1 chronomètre					Solutions modélisées	Solution Antigène A	Sérum à tester d'un individu	Sérum d'un individu immunisé	Sérum d'un individu non immunisé	Numérotation des puits	1	2	3	4	Solutions de substitution	Hydroxyde de sodium à 1mol/L	Sulfate de zinc à 1mol/L ou eau distillée	Sulfate de zinc à 1mol/L	Eau distillée	  
Solutions modélisées	Solution Antigène A	Sérum à tester d'un individu	Sérum d'un individu immunisé	Sérum d'un individu non immunisé																
Numérotation des puits	1	2	3	4																
Solutions de substitution	Hydroxyde de sodium à 1mol/L	Sulfate de zinc à 1mol/L ou eau distillée	Sulfate de zinc à 1mol/L	Eau distillée																
Protocole																				
Préparation de la boîte de Pétri contenant le gel d'agar ; préparation au laboratoire : - Préparer par pesée, un gel d'agar à une concentration de 1,42g/100mL : - Faire chauffer l'agar à douce ébullition en remuant pour obtenir un mélange limpide - Attendre que la température du gel d'agar soit à environ 65°C - Verser alors 10 mL de gel liquide dans une boîte de Pétri - Laisser refroidir jusqu'à la solidification du gel (les boîtes peuvent conservées au frigo plusieurs jours) Préparation du test : - Utiliser le gabarit de perçage (<i>voir résultats</i>), pour creuser les puits dans le gel à l'aide de l'emporte pièce muni d'une poire aspirante en vous aidant d'une pince fine pour enlever le bout de gélose - Marquer sur la boîte de Pétri, la disposition des produits à déposer - Remplir les différents puits <u>sans débordement</u> avec le produit correspondant à la disposition choisie (2 gouttes) <u>Remarque :</u> Chaque produit devra être prélevé avec une pipette propre. Le remplissage doit se faire sans bulles et sans endommager le gel d'agar - Fermer la boîte - Commencer à observer la formation des arcs de précipitation, après environ 45 minutes de diffusion <u>Remarque :</u> Les boîtes peuvent être conservées au frigo pendant plusieurs jours																				

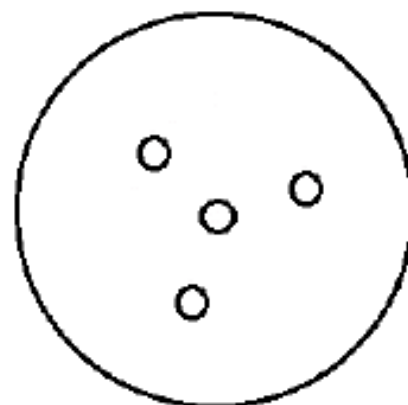
Résultats

Plus le temps de diffusion des produits sera long, meilleur sera l'arc de précipitation.

De boîtes de secours peuvent être préparées avant le TP au laboratoire, puis distribuer aux élèves pour leur permettre de mener à terme leur TP



Boîte de Pétri après 45 minutes de diffusion



Gabarit de perçage

Remarques

Le TP peut être décliné en plusieurs versions au niveau des résultats.

On peut aussi utiliser plus de produits à tester, et donc adapter le gabarit de perçage au nombre de produits à déposer ainsi que le nombre de pipettes plastiques.

Le TP peut s'adapter à n'importe quel cas d'étude visant à mettre en évidence une réaction antigène/ anticorps

Informations

Auteur: MOUFFLE Florence, Technicienne de laboratoire au lycée Ambroise Paré de LAVAL, le 24/09/2018

