











## 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)		<b>Niveau(x)</b> - Terminale S  <b>Thème du BO</b> - Corps humain et santé - Le maintien de l'intégrité de l'organisme, quelques aspects de la réaction immunitaire		
Matériel et solutions		Sécurité et hygiène		
<b>Matériel :</b> - 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 : <i>(pour le sérum à tester 2 versions peuvent être envisagées)</i>		<b>Fiches toxicologiques de l'INRS des produits utilisés pour la préparation et/ou manipulation</b>  →Hydroxyde de sodium et solutions aqueuses <a href="http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_20">http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_20</a>   → Sulfate de zinc <a href="http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_75">http://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_75</a>		
Solutions modélisées	<b>Solution Antigène A</b>	<b>Sérum à tester d'un individu</b>	<b>Sérum d'un individu immunisé</b>	<b>Sérum d'un individu non immunisé</b>
Numérotation des puits	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
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
- 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				
		    Se référer régulièrement à la fiche FDS de votre fournisseur pour les mises à jour.		
		<b>Précautions de manipulation</b>     <b>Rejet des déchets et recyclage</b> bidons de récupération : effluents basique pour NaOH métal Zn pour le sulfate de zinc poubelle classique pour les géloses		

### 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 être conservées au frigo plusieurs jours)

#### **Préparation du test :**

- **Utiliser** le gabarit de perçage (*voir résultats*), 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 sans débordement avec le produit correspondant à la disposition choisie (2 gouttes)

Remarque : 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

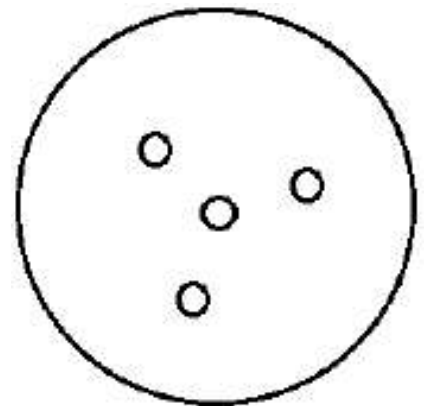
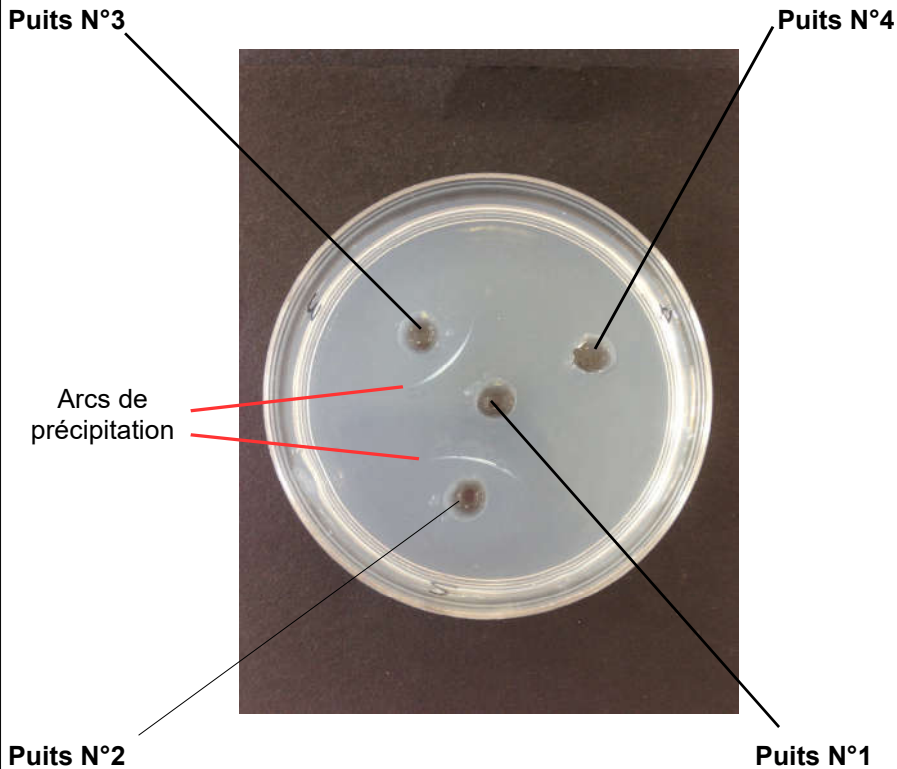
- **Commencer** à observer la formation des arcs de précipitation, après environ 45 minutes de diffusion

Remarque : 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



Photographie de la boîte de Pétri  
après 45 minutes de diffusion

Schéma du  
gabarit de perçage

### Remarques et ressources complémentaires

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

