

**Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel**

**Matériel :**

- chronomètre
- loupe à main
- feutre
- boîte de pétri gélosée (55mm de diamètre)
- gabarit de perçage (plastifié)
- emporte pièce
- aiguille montée (ou cure dent)
- support noir (plastifié)
- micropipette réglée sur 20 µl
- embouts (dans boîte)
- pot « JAVEL »
- pot « POUBELLE »
- portoir avec 4 microtubes étiquetés :
  - (P) sérum individu séropositif
  - (N) sérum individu séronégatif
  - (S) sérum de l'individu à tester
  - (A) antigène utilisée pour la détection

**Protocole :**

**1- Préparer la boîte**

Utiliser le gabarit de perçage pour creuser à l'aide de l'emporte pièce les puits nécessaires dans le gel d'Agarose. Marquer sous la boîte de Pétri la disposition des produits à déposer dans les puits permettant de révéler la réaction des sérums à tester (P, N, S) avec l'antigène (A).

**2- Réaliser les dépôts**

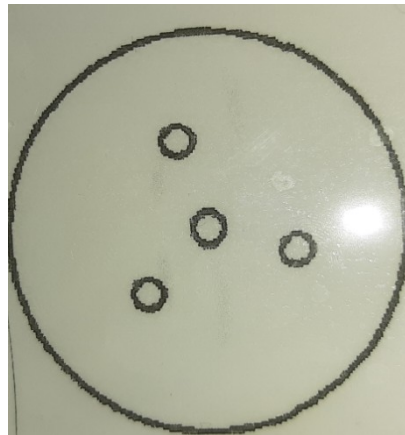
Prélever 20 µL dans le tube à l'aide de la micropipette. Déposer 20 µL dans le puits correspondant en faisant attention de ne pas déborder sur la gélose. Déposer l'embout utilisée dans le pot « JAVEL » et reprendre une embout propre dans le boîte.

**Renouveler l'étape 2 pour chaque puits.**

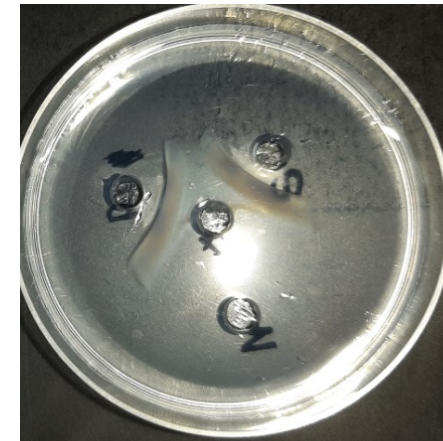
**3- Lecture des résultats**

Après 20 minutes de migration, on peut observer des « arcs de précipitation » entre certains puits, signe de reconnaissance antigène- anticorps.

**Sécurité :** Les produits utilisés sont des produits de substitution permettant de modéliser les réactions entre anticorps et antigènes.



Gabarit de perçage



Résultats

## TP OUCHTERLONY (produits de substitution)

Fiche laboratoire

<b>Blouse</b>	<b>Gants</b>	<b>Lunettes</b>	<b>Calculatrice</b>
Oui	Oui	Oui	Non

### Données complémentaires :

#### Matériel par poste :

- - chronomètre, loupe à main
- - boîte de pétri gélosée (55mm de diamètre), gabarit de perçage (plastifié), support noir (plastifié)
- - emporte pièce, aiguille montée (ou cure dent)
- - micropipette réglée sur 20 µl, embouts (dans boîte)
- - pot « JAVEL », pot « POUBELLE »

#### Coulage des boîtes : à préparer la veille (ou quelques heures avant)

##### Pour 50 boîtes (55 mm de diamètre) :

Mélanger 4 g d'agarose à 500 mL d'eau du robinet (sinon 5 g d'agar agar pour 500 mL d'eau du robinet)

Faire chauffer jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Laisser refroidir un peu.

Couler les boîtes à raison de 10 mL par boîte environ (1 cm d'épaisseur de gel suffit).

Laisser refroidir le gel afin qu'il durcisse 2 h environ à température ambiante (boîte fermée).

Les boîtes peuvent être conservées plusieurs jours au réfrigérateur (dans boîte humide avec couvercle si possible).



Remarque : Pas de conditions stériles car les boîtes ne sont pas conservées longtemps.

Agarose plutôt que Agar Agar car on obtient un gel plus transparent (*mais un peu plus cher*).

La correspondance entre les tubes et les produits de substitutions est donnée dans le tableau ci-dessous.

<b>Produits modélisés</b>	Antigène A	Sérum P	Sérum N	Sérum S
<b>Produits de substitution</b>	soude NaOH ( 0,5 mol/L)	sulfate de zinc ZnSO <sub>4</sub> (0,5 mol/L)	Eau distillée	sulfate de zinc ZnSO <sub>4</sub> (0,5 mol/L)

#### Autres :

Pas de décontamination nécessaire car pas de matériel biologique. Les gels peuvent être jetés dans la poubelle classique.

Le pot « JAVEL » peut être rempli avec de l'eau car il n'y a pas de produits biologiques.

Le sulfate de zinc ZnSO<sub>4</sub> peut être remplacé par du chlorure de baryum BaCl<sub>2</sub> à 0,1 mol/L et la soude NaOH par du sulfate de sodium Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> à 0,2 mol/L.