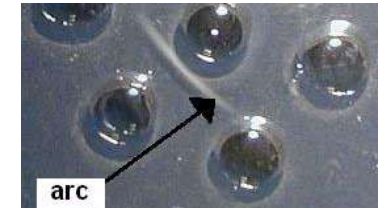


LE TEST D'IMMUNODIFFUSION OU TEST D'OUCHTERLONY : RECHERCHE D'UN ANTIGÈNE VERSION « PRODUITS DE SUBSTITUTION »

Principe de la méthode d'Ouchterlony

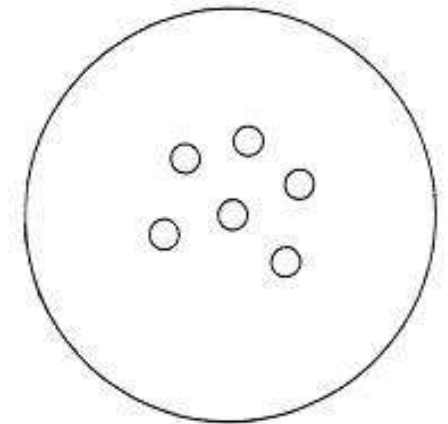
C'est l'immunodiffusion sur gel : les solutions déposées dans les puits creusés dans le gel diffusent de façon homogène dans toutes les directions autour du puits. Deux auréoles de diffusion peuvent donc entrer en contact lorsqu'elles ont suffisamment progressé. Cette zone de contact reste invisible s'il n'y a pas de réaction entre les deux solutions. Quand il y a réaction entre les solutions, il se forme un arc de précipitation visible à l'œil nu. Celui-ci est dû à l'interaction entre de nombreux anticorps et les antigènes spécifiques, entraînant la formation d'un complexe immun. NB : le temps de réaction avec les produits véritables est de l'ordre de 24h ; vous manipulez ici sur des produits de substitution mimant les réactions réelles mais permettant une lecture des résultats au bout de 15 min.



de précipitation

Préparation d'un gel d'Agar à couler dans une boîte de Pétri pour test d'Ouchterlony

1. **Peser** dans la coupelle 0,2g d'Agar prélevés à l'aide de la spatule.
2. **Verser** 14 mL d'eau distillée puis l'Agar dans le Bécher et **dissoudre** soigneusement l'Agar avec la spatule.
3. **Chauffer** le mélange en remuant à la spatule jusqu'à ce que le mélange devienne limpide et **arrêter au tout début de l'ébullition**.
4. **Retirer** à l'aide de la pince en bois, attendre quelques secondes que le Bécher refroidisse afin pouvoir saisir le flacon sans se brûler.
5. **Pipeter** 5 mL de gel d'Agar chaud et fluide et le verser dans une boîte de Pétri.
6. **Egaliser** le niveau et **supprimer** rapidement les bulles.
7. **Laisser** la boîte refroidir sans mettre le couvercle.
8. Ne pas remuer les boîtes avant prise du gel d'Agar : environ 5 mn.



Gabarit de perçage dans le gel d'Agar

Préparation du test

1. **Utiliser** le gabarit de perçage ci-contre (ou celui qui vous est fourni) pour **creuser** à l'aide du tube emporte pièce les puits nécessaires dans le gel d'Agar.
2. **Éliminer** les disques de gélose avec le cure-dent si nécessaire.

Réalisation des dépôts

1. **Marquer** sur la boîte de Pétri la disposition des produits à déposer dans les puits permettant de révéler la réaction de l'anticorps étudié avec les différents antigènes proposés.
2. **Remplir** les différents puits avec μL ou gouttes : chaque produit devra être prélevé avec un compte goutte propre ou une micropipette à embout propre, puis être déposé dans les puits sans débordement ni bulles et sans endommager le gel d'agar.
3. **Fermer** la boîte.
4. **Observer** les résultats fournis sur fond noir et en éclairage rasant.