

LE TEST D'IMMUNODIFFUSION OU TEST D'OUCHTERLONY : RECHERCHE D'UN ANTIGÈNE

A des fins expérimentales, des lapins reçoivent par injections un antigène. Ils produisent alors des anticorps spécifiques contenus dans leur sérum et qui peuvent être mis en évidence par la méthode d'Ouchterlony.

On cherche à identifier l'antigène injecté à un lapin.

Matériel

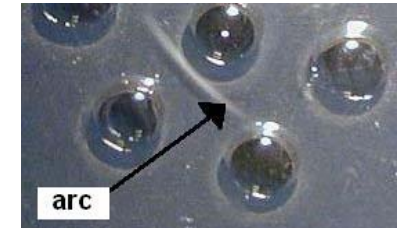
- deux petites boîtes de Petri contenant du gel d'agar (dont une pour s'exercer) ; éventuellement un gabarit de perçage ;
- un tube emporte-pièce et un cure-dent + une aiguille lancéolée + un marqueur (pour marquer la boîte de Petri) ;
- sérum du lapin (= S) ; il contient des anticorps dirigés contre l'antigène inconnu injecté ;
- eau distillée (= E) et 4 solutions d'antigènes protéiques :
 pancréatine = P caséine = C hémoglobine = H albumine de sérum de bœuf (BSA) = B
- un compte-goutte pour chaque produit, des gants ;
- une lampe de bureau et une petite feuille de papier noir.

Activités et conditions des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1- Après lecture du protocole fourni, choisir la disposition des produits dans la boîte de Petri et l'indiquer sur le schéma de la fiche réponse. Justifier ce choix. Appeler l'examineur pour vérifier et pour obtenir éventuellement un document de secours	Adopter une démarche explicative	3
2- Réaliser le protocole en utilisant les indications de la fiche technique. Appeler l'examineur pour obtenir la boîte des résultats ou sa représentation (fiche résultats élève)	Réaliser une manipulation d'après un protocole respect des étapes du protocole utilisation maîtrisée du matériel organisation et rangement de la paillasse	10
3- Représenter sur la fiche réponse les résultats de la boîte fournie en réalisant un schéma sur le modèle du précédent. Schématiser les associations moléculaires que révèle un arc de précipitation. Respecter les modèles proposés dans la fiche document.	Traduire des informations par des schémas	5
4- A partir des résultats fournis, déterminer quel est l'antigène injecté au lapin. Justifier votre réponse.	Adopter une démarche explicative	2

LE TEST D'IMMUNODIFFUSION OU TEST D'OUCHTERLONY : RECHERCHE D'UN ANTIGÈNE

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. En revanche, elle se traduit par un arc de précipitation visible à l'œil nu lorsque les deux solutions réagissent. Le temps de réaction est de l'ordre de 24h (c'est la raison pour laquelle, après avoir réalisé le protocole, vous disposerez, pour lire les résultats, d'une boîte préparée à l'avance).



Protocole technique

1- Creuser les puits nécessaires dans la gélose de la boîte de Petri.

Au fond de la boîte de Petri est coulé un gel d'agar.

Utiliser le gabarit ci-contre (ou celui fourni) pour répartir les puits nécessaires.

S'exercer avec la boîte d'apprentissage pour creuser les puits avec l'emporte-pièce.

Utiliser le cure-dent pour éliminer les disques de gélose si nécessaire.

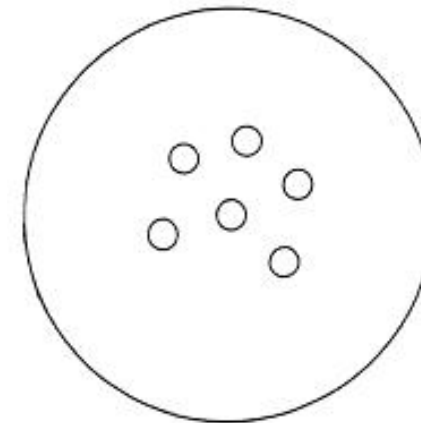
2. Marquer sur la boîte de Petri la disposition des produits à déposer dans les puits permettant de révéler la réaction de l'anticorps étudié avec les différents antigènes proposés.

3. Remplir les puits

Le produit, prélevé dans un tube avec un compte goutte propre, doit être déposé dans le puits approprié sans débordement ni bulles et sans endommager le gel d'agar.

S'exercer avec la boîte d'apprentissage et de l'eau distillée.

4. Observer les résultats fournis sur fond noir et en éclairage rasant.



Gabarit de perçage