

**RECHERCHE DE LA SPÉCIFICITE D'UN ANTICORPS PAR LE TEST D'IMMUNODIFFUSION OU TEST D'OUCHTERLONY**  
**VERSION « PRODUITS DE SUBSTITUTION »**

La spécificité d'un anticorps est liée à sa capacité de liaison avec une molécule donnée présentant des propriétés antigéniques. Le test d'immunodiffusion, ou test d'Ouchterlony, permet la mise en évidence de cette liaison antigène-anticorps.

**On cherche à savoir si les anticorps contre l'albumine de sérum de bœuf (BSA) ont une spécificité stricte vis à vis de la BSA.**

Matériel

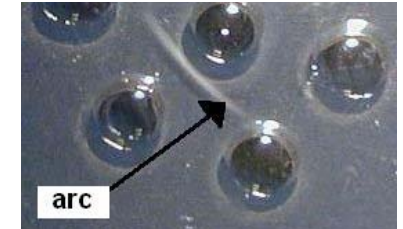
- deux petites boîtes de Petri contenant du gel d'agar (dont une pour s'exercer) ; éventuellement un gabarit de perçage ;
- un tube emporte-pièce, un cure-dents, une aiguille lancéolée, un marqueur (pour marquer la boîte de Petri) ;
- sérum de lapin (= S) contenant des anticorps anti BSA (Albumine de Sérum de Bœuf) remplacé par un produit de substitution ;
- eau distillée (= E) et 4 solutions d'albumine d'espèces différentes remplacées par des produits de substitution mimant les albumines extraites de : œuf de poule = O      lait de vache = L      sérum de bœuf = B      sérum de cheval = C
- un compte-gouttes pour chaque produit, des gants.

Activités et conditions des activités	Capacités et principaux critères d'évaluation	Barème
1- Après lecture du protocole fourni, <b>choisir</b> la disposition des produits dans la boîte de Petri et <b>l'indiquer</b> sur le schéma de la fiche réponse. <b>Justifier</b> ce choix. <b>Appeler l'examineur pour vérifier et pour obtenir éventuellement un document de secours.</b>	<b>Adopter une démarche explicative</b>	3
2- <b>Réaliser</b> le protocole en utilisant les indications de la fiche technique. (vous travaillez en fait sur des produits de substitution mimant les véritables réactions)  <b>Appeler l'examineur pour obtenir les résultats réels.</b>	<b>Réaliser une manipulation d'après un protocole</b> Respect des étapes du protocole Utilisation maîtrisée du matériel Organisation et rangement de la paillasse	10
3- <b>Représenter</b> sur la fiche réponse les résultats réels de la boîte fournie en réalisant un schéma sur le modèle du précédent. <b>Schématiser</b> les associations moléculaires que révèle un arc de précipitation, en respectant les modèles proposés dans la fiche document.	<b>Traduire des informations par des schémas</b>	5
4- <b>Exploiter</b> les résultats fournis pour <b>discuter</b> le degré de spécificité de l'anticorps anti-BSA.	<b>Adopter une démarche explicative</b>	2

## RECHERCHE DE LA SPÉCIFICITE D'UN ANTICORPS PAR LE TEST D'IMMUNODIFFUSION OU TEST D'OUCHTERLONY 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. En revanche, elle se traduit par un arc de précipitation visible à l'œil nu lorsque les deux solutions réagissent. 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 40 minutes. NB : Les résultats fournis par l'examineur correspondent aux résultats réels



### PROTOCOLE TECHNIQUE

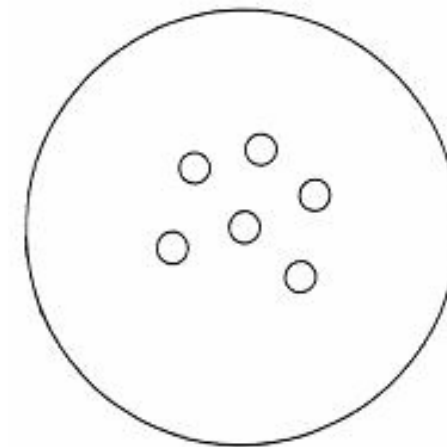
#### 1- Creuser les puits nécessaires dans la gélose de la boîte de Petri

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.



Gabarit de perçage

#### 2. Choisir et 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.

Votre résultat sera évalué à la fin du temps de réaction.

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