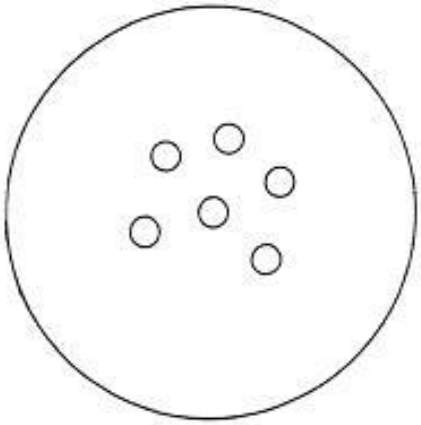
Protocole du test d'Ouchterlony (méthode de substitution)

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 boite 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. **Eliminer** 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 1 à 2 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 boite.
4. **Observer** au bout de 45 min les résultats sur fond noir et en éclairage rasant.