

ZV0001107

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLES (I.S.R.A.)
L--e-----

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
B.P. 2057

DAKAR - HANN

FICHE TECHNIQUE

ARBOVIRUS : MATERIEL ET REACTIFS

Par Dr A. NIASSE

REF. N° 115/VIRO.
OCTOBRE 1982.

A - MATERIEL

Broyeurs stériles

Tubes 8 centrifuger **stéril**

Bac à glace

Pipettes **graduées** 1, 2, 5, 10, 25 ml

Seringues plastique "tuberculine" graduées en 0,01 et 0,025 ml

Aiguilles tuberculine stériles

Tubes à essais munis au fond d'un peu de coton hydrophile

Pincés **stériles**

Ciseaux stériles

Portées de souriceaux, **souris sevrées**

Filtre millipore 0,22 stérilisé à l'autoclave

Seringues de 10 ou 20 ml **stériles**

Flacons de 250 ml ou plus, munis d'un bouchon à 1 trou et tube verre

Pots à centrifuger plastique (centrifugation **rapide**)

Hématies d'oie

Erlenmeyer de 60, etc...

Flacons antibiotiques de 10 ml **avec étiquette et bouchon**

Plaques à godets "Micro-titer" en U

Micropipettes de 0,025 et 0,05 ml

Microdiluteurs de 0,025 et 0,05 ml

Papier GO, NO, GO de 0,025 et 0,05

Beckens de 100.

B - SOLUTION A

1) A C D (Acide citrate **dextrose**)

- **glucose anhydre** 22,0 g

- **citrate trisodique** 22,52 g

- **acide citrique** 8,0 g

- **H₂O distillée** q.s.p. . 1 000 ml

Autoclaver 10 minutes à 110° C.

.....

.....

...../.....

2) D G V (dextrose gélatine véronal)

- a) - 5,5 acide diéthylbarbitinate 0,58 g
- gélatine 0,68 g
- 5,5 diéthylbartitinate de sodium . 0,38 g
- H₂O distillée (en chauffant) 250 ml

- b) CaCl₂ anhydre 0,02 g
- MgSO₄, H₂O 0,12 g
- NaCl 8,50 g
- glucose 10,0 g
- H₂O distillée . . . q.s.p 750 ml

Mélanger 250 ml de A et 750 ml de B. Stériliser à l'autoclave
10 minutes à 120°C.

3) Tampon borate pH 9,0 = TB

- NaCl 7,02
 - Acide borique 3,09
 - H₂O distillée . . . q.s.p 1 000 ml
- Faire dissoudre au bouillant puis
- NaOH N/1 24 ml
- Agiter et vérifier le pH 9,0.

4) Solution albumine bovine à 4 p.100 en pH 9,0

- Albumine bovine (fraction V) poudre 4,0 g
- Tampon borate pH 9,0 90 ml

Vérifier et

Filtrer sur millipore après avoir complété à 100 ml avec du tampon

borate pH 9,0

Conserver à + 4°C.

5) Solution tampon borate à 0,4 % albumine bovine pH 9,0 = BAB

- Albumine bovine 4 % en pH 9,0 100 ml
- Sel tampon borate pH 9,0 900 ml

Filtrer sur millipore et garder à + 4°C.

6) Phosphate monosodique pH 4,3

- NaH_2PO_4 24,0 g
- Nacl 8,77 g
- H_2O distillée q.s.p. 1 000 ml

Autoclaver 10 mn/110°

Conserver à la température ambiante.

7) Phosphate disodique pH 8,8

- NaH_2PO_4 28,4 g
- Nacl 8,77 g
- H_2O distillée ... q.s.p. 50 ml

Compléter avec H_2O distillée q.s.p. 1 000 ml

Stériliser à 100°/10 minutes.

8) Tampon phosphate,, pH 7,6 = TP

- Phosphate disodique 3,2 g
- Phosphate monosodique 0,39 g
- Nacl 6,0 g
- H_2O distillée ... q.s.p. 1 000 ml

Stériliser, autoclaver 120°/20 minutes. Vérifier pH 7,6.

9) Solution tampon à 10 p.100 de sérum de lapin = TPS

- Tampon TP 90 ml
- Sérum de lapin décomplémenté 10 ml

Filter sur millipore 0,22. Le pH sera à 7,4.

10) Solution Nacl à 0,85 p.100

- Nacl 8,5g
- H_2O distillée 1 000 ml.

11) Solution véronal pour réaction de fixation du complément = VG

- Comprimés OXOID "complément fixation" 10
- Gélatine 1,0 g
- H_2O distillée chauffée 250 ml

Après dissolution complète, ajouter ...

- H_2O distillée ... q.s.p. 1 000 ml.

12) Solution Hanks BSS

a) Solution concentrée

Solution A)

- Chlorure de sodium 80,0 g
- Chlorure de potassium 4,0 g
- Chlorure de calcium 1,4 g
- Sulfate de magnésium (7 H₂O) 2,0 g
- Phosphate dissodique (12 H₂O) 1,2 g
- Phosphate monopotassique 0,6 g
- Glucose anhydre 10,0 g
- Eau distillée q.s.p. 1 000 ml,

Solution B)

- Bicarbonate de soude 3,5 g
- Rouge de phénol 0,2 g
- Eau distillée*.....a.....* 100 ml

b) Solution pour l'emploi

- Sol. A . ..*.....**..... 100 ml
- Sol. B 10 ml
- Eau distillée 890 ml

Filtrer.

13) Solution Hanks à 0,75 p.100 albumine bovine

- Hanks pour l'emploi 1 000 ml
- Albumine bovine (faction) poudre 7,5 g

Filtrer sur millipore 0,22

Ajouter antibiotiques 500 unités pénicilline et 250 microgrammes Strepto/ml.

14) Milieu de conservation de l'ascite "TG 180"

- Glycérine..... 1,0 ml
- Sérum lapin 0,75 ml
- Solution Hanks 3,25 ml.

- 15) Suspension Kaolin à 15 p.100 en tampon borate PH 9,0
- Kaolin lavé aux acides 150,0 g
- Tampon borate pH 9,0.....1000ml
Conserver à + 4° C.

- 16) Solution acide phéniqué à 5 %
- Acide phéniqué 5,0 g
- Sol. NaCl 0,85 p.1000 100 ml

- 17) Véronal 5 fois concentré
- Comprimé OXCID 1
- Eau distillée chauffée 20 ml
Conserver à + 4° C.

18) préparation de 200 ml de diluant des hématies en fonction du pH :

pH	Tampon phosphate disodique	Tampon phosphate monosodique
5,75	6 ml	194 ml
6,0	25 ml	175 ml
6,2	44 ml	156 ml
6,4	64 ml	136 ml
6,6	90 ml	110 ml
6,8	110 ml	90 ml
7,0	128 ml	72 ml
7,2	144 ml	56 ml
7,4	158 ml	42 ml

19) Immun-sérum (voir fiche n°)

20) Immun-ascite (voir fiche n°)

21) Sérum de lapin normal (voir fiche n°).