

Gouvernement de la République du
Sénégal
Ministère du Développement Rural
Service de l'Océanographie et des
Pêches Maritimes
Centre de Recherches Océanographiques
de Dakar-Thiaroye

PROTOCOLES D'ANALYSES ELECTROPHORETIQUES

A EMPLOYER AVEC L'APPAREIL J.C.B.

(à l'usage des préparateurs)

J.C. BARON

PROGRAMME DES NATIONS UNIS POUR LE DEVELOPPEMENT

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
OUTRE-MER

DAKAR , Octobre 1971

D.S.P. n°35

PROTOCOLES D'ANALYSES ELECTROPHORETIQUES

A EMPLOYER AVEC L'APPAREIL J.C.B.

(A l'usage des préparateurs)

par

J.C. BARON

I N T R O D U C T I O N

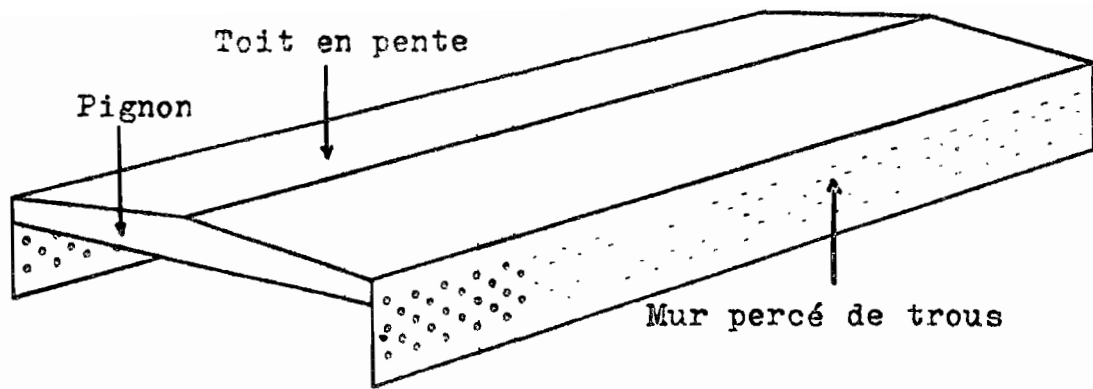
- I - GEL D'AMIDON
- II - GEL D'AGAROSE
- III - PREPARATIVE PAPIER
- IV - REVELATIONS PARTICULIERES
- V - AUTRES TAMPONS
- VI - EXTRACTION DE PROTEINES DES TISSUS
- VII - PRELEVEMENT DU SANG ET DU SERUM
- VIII - LISTE NOMINATIVE DES PRODUITS NECESSAIRES

OCTOBRE 1971

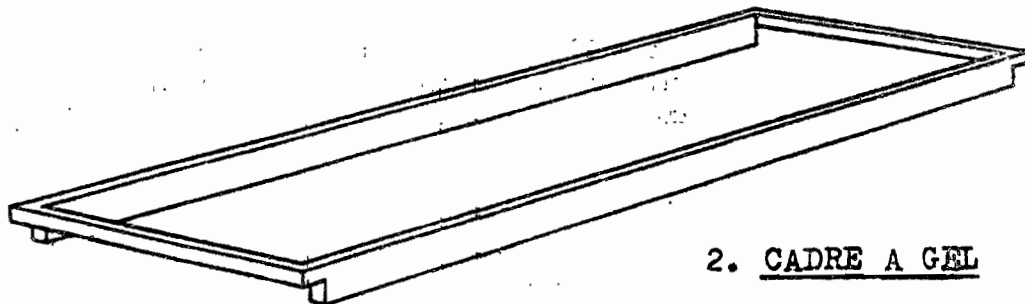
I N T R O D U C T I O N

Ce fascicule complète de façon pratique l'enseignement théorique du 1^o fascicule sur les "Données de base pour la recherche sérologique appliquée aux poissons" (Abidjan FAO/PDPPC/RS/-2/70) et dont une deuxième réédition revue et complétée est prévue.

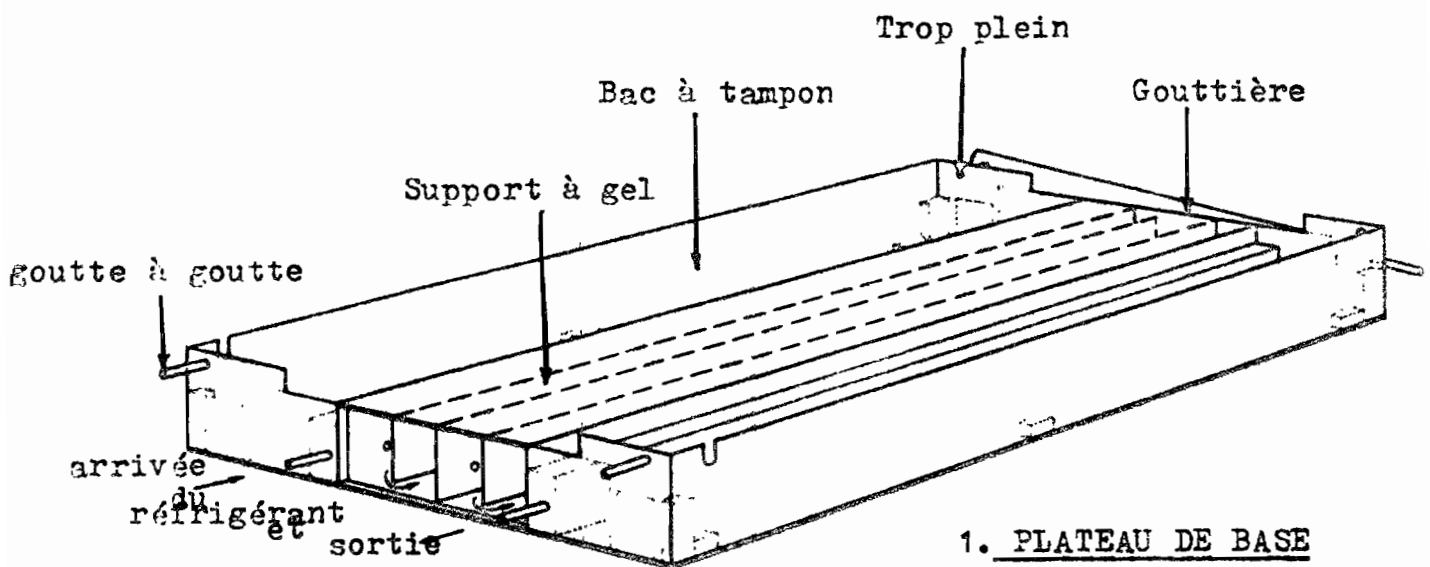
L'appareil d'électrophorèse employé, fabriqué au laboratoire est fragile et doit être manipulé avec précaution. Il comprend deux bacs à tampon, un plateau à gel et une enceinte réfrigérante. Il est complété par 2 électrodes à fil de platine, 1 cadre à gel et un couvercle.



3. COUVERCLE



2. CADRE A GEL



1. PLATEAU DE BASE

FIGURE 1

1 - PROTOCOLE D'ELECTROPHORESE EN GEL D'AMIDON

(AMIDON HYDRAULISE CONNAUGHT)

A EFFECTUER LA VEILLE

- 1 - APPAREIL : S'assurer de la propreté de l'appareil et du cadre et les nettoyer à l'alcool. Fixer le cadre, obturer les fentes avec de l'adhésif et de la pâte à modeler.
Vérifier le réfrigérant.
Nettoyer la plaque qui recouvre le gel et préparer les poids qui pèsent sur cette plaque.
- 2 - GEL Préparer dans un erlenmeyer de 2 litres 90 g d'amidon. Boucher au papier d'aluminium.
Préparer dans une éprouvette de 1 litre 75 ml de solution 1 et 675 ml de solution 2 (tampon Borate lithium - Triscitrique).
- 3 - PAPIERS D'INCLUSION WHATMAN N° 3 - Vérifier qu'il y en a suffisamment des 2 dimensions utilisées : 10 x 10 mm et 15 x 10 mm.

A EFFECTUER LE JOUR MEME

- 1 - GEL A 12% Préparer le gel d'amidon à l'aide de l'erlenmeyer de 2 litres dans lequel on a versé les 750 ml de tampon. Chauffer avec les 2 becs bunsen et débuller à la trompe à vide (bouchon n° 45) pendant 1 minute à compter du soulèvement du gel.
Couler le gel et le recouvrir avec la plaque de plexiglass prévue à cet effet. Ajouter 2 poids sur cette plaque et laisser refroidir 30 à 45 mn à la température du laboratoire puis 30 à 45 mn en chambre froide ou au frigidaire (5 à 10°). Décoller le gel du cadre à l'aide d'une lame (grattoir à papier), ôter le cadre et enlever les bavures d'amidon.
- 2 - INCLUSION DES ECHANTILLONS
Décongeler et préparer les échantillons à traiter. Nettoyer la réglette repère et la disposer sur le gel pour pratiquer à l'aide d'une microspatule de 10 x 10 mm ou 22 de 15 mm pour les papiers de 15 x 10 mm. Déposer alors les papiers sur les trous borgnes et à l'aide de pipettes différentes (ou la même rincée trois fois et séchée au papier filtre) déposer 2 gouttes de l'échantillon à analyser (sérum, extrait de tissus, hémoglobine). Introduire ensuite les papiers dans les fentes correspondantes.
- 3 - MIGRATION : Mettre les électrodes, remplir les bacs de tampon, ajuster le couvercle, brancher les fils électriques et faire passer le courant en notant l'heure de départ.
Régler le voltage au redresseur à 120 volts ce qui donne une d.d.p d'environ 4,5 volts par cm de gel.

Régler le goutte à goutte du tampon, installer le bac de récupération du trop plein. Régler la réfrigération.

Au bout de 30 mm on peut ôter les papiers d'inclusion et resserrer les bords des fentes.

Laisser migrer encore 6 h (soit un total de 6 h 30) puis arrêter le courant, débrancher le goutte à goutte, ôter le couvercle et les électrodes et siphonner le tampon des bacs.

4 - REVELATION DES PROTEINES :

Couper et ôter les pieds du gel, glisser un fil métallique fin entre le gel et le plateau pour supprimer les adhérences. Adapter le chevalet puis la glissière. A l'aide du fil métallique on coupe le gel dans le sens de la longueur. La tranche supérieure (6 mm) est ôtée et disposée dans une seconde glissière ; la tranche inférieure de 3 mm reste au fond de la glissière que l'on dépose dans un bac. Le bain révélateur est alors versé par dessus le gel (ou étalé avec un pinceau si la quantité est trop faible). Deux tranches de 3 mm sont encore disponibles pour 2 révélations différentes dont celles des protéines totales à l'amidoschwarz (colorées pendant 1 minute).

5 - PHOTOGRAPHIE DES ELECTROPHOREGRAMMES

Pour les révélations fugaces la photographie est prise immédiatement après avoir séché la surface du gel avec du papier filtre. Pour les révélations stables procéder à des lavages successifs de gel et à la décoloration du fond.

A EFFECTUER LES JOURS SUIVANTS

1 - DECOLORATION DES GELS ET PHOTOGRAPHIES

Continuer à décolorer les gels. Faire des photographies à l'aide du support de photographie (appareil à roulettes fabriqué au laboratoire)

L'éclairage est réalisé par 2 lampeshalogènes de 800 watts placées de chaque côté du gel. Il est recommandé d'utiliser le filtre rouge Kodak wratten n° 25 pour les gels colorés en bleu. Utiliser un appareil photographique avec un objectif de 50 mm muni d'un parasoleil. Temps de pose 1/30 ; diaphragme variant de 5,6 à 11 pour un film noir et blanc de 40 ASA.

2 - PLASTIFICATION DES GELS

Les gels sont placés pendant au moins 3 heures dans le bain suivant préparé avant l'emploi: 950 ml d'acide acétique à 5 % et 50 ml de glycérol.

Le gel est ensuite recouvert de papier Arches 302 et placé à 30 cm d'une lampe à infra rouge jusqu'à plastification complète (2 à 3 heures). Le papier est alors enlevé par frottement du doigt sous un filet d'eau. Après avoir séché le gel avec un papier filtré on réalise un sous-verre avec de l'adhésif.

ANNEXE

1 - Tampon discontinu Borate-lithium, Tris-citrique

Solution 1 :

(pour les bacs)	Li OH (0,025M)	5,244 g
	H ₂ BO ₃ (0,01M)	30,920 g
	eau distillée	5 litres

<u>Solution 2 :</u>	Acide citrique (0,08M)	3,2 g
	Tris (0,05M)	12,1 g
(pH=8,3 μ =0,058)	eau distillée	2 litres

2 - <u>Colorant pour amidon :</u>	Noir amido	16 g
	acide acétique	160 ml
	alcool méthylique	800 ml
	eau distillée	800 ml

3 - <u>Décolorant pour amidon :</u>	acide acétique	380 ml
	alcool méthylique	2000 ml
	eau distillée	2000 ml

II - PROTOCOLE D'ELECTROPHORESE EN GEL D'AGAROSE

(Agarose I.B.F.)

- 1 - APPAREIL : S'assurer de la propreté de l'appareil et du cadre à gel et les nettoyer à l'alcool. Fixer le cadre, obturer les fentes avec de l'adhésif et de la pâte à modeler.
Vérifier le réfrigérant.
Assurer l'horizontalité de l'appareil.
Nettoyer à l'alcool la plaque de verre support du gel et la déposer sur le plateau de l'appareil.
- 2 - GEL A 1,5%: Préparer le gel d'agarose à l'aide d'un erlenmeyer de 1 litre dans lequel on a versé 9 grammes d'agarose et 600 cm³ de tampon de Hirschfeld (400 ml de solution concentrée et 200 ml d'eau distillée).
Après dissolution complète de l'agarose laisser légèrement refroidir et verser doucement dans le cadre.
Laisser refroidir une heure puis décoller le gel du cadre à l'aide d'une lame (grattoir à papier), ôter le cadre et enlever les bavures d'agarose.
- 3 - INCLUSION DES ECHANTILLONS :
 - 3.1. Agarose non tamponné à 3 % : Préparer 1,5 g d'agarose + 50 ml d'eau distillée dans un bécher, mettre ce dernier dans un autre bécher plus grand rempli au 1/4 d'eau distillée qui servira au rinçage de la pipette. Déposer les béchers dans un bain marie.(45°)
 - 3.2. Préparation des échantillons - A l'aide d'une pipette Pasteur jaugée, rincée à l'eau entre chaque prélèvement, on dépose des volumes égaux d'échantillons dans de petits tubes à bactériologie.
 - 3.3. Réservoirs : La réglette repère étant disposée sur le gel, pratiquer les réservoirs à l'aide d'un emporte pièce (Apelab) en aspirant à un bout.
 - 3.4. Inclusion : Les échantillons à étudier sont mélangés en parties égales avec l'agarose non tamponné (attendre qu'une "peau" se soit formée à la surface) et déposés dans les réservoirs.
- 4 - MIGRATION : Mettre les électrodes, remplir les bacs de tampon, ajuster le couvercle, brancher les fils électriques et faire passer le courant en notant l'heure de départ.
Régler le voltage au redresseur à 75 volts (190 mA) ce qui donne une d.d.p. d'environ 4,5 volts par cm de gel.
Installer le bac de récupération du trop plein et régler le goutte à goutte du tampon. Régler la réfrigération si l'électrophorèse n'est pas faite en chambre froide ce qui serait préférable, le gel d'agarose ne risquant pas de se casser.

Laisser migrer pendant 4 h 30. Débrancher le goutte à goutte, ôter le couvercle et les électrodes et siphonner le tampon hors des bacs.

5 - REVELATION DES PROTEINES :

Couper le gel à ras de la plaque de verre, soulever celle-ci et recouvrir le gel d'une feuille de papier Arches 302.

4.1. Protéines dénaturées

Dessécher le gel sous une lampe à rayons infra rouge jusqu'à obtenir un mince film adhérent au verre. Immerger la plaque dans le bain révélateur des protéines pendant 1 heure puis effectuer la décoloration par des bains successifs de décolorant. Laisser ensuite sécher à l'air libre.

4.2. Protéines non dénaturées :

Effectuer les réactions colorées sur le gel avant de fixer les protéines soit à l'acide acétique à 5 % pendant 3 heures soit par la chaleur. Procéder ensuite comme précédemment.

6 - PHOTOGRAPHIE DES ELECTROPHOREGRAMMES :

Pour les révélations fugaces la photographie est prise immédiatement après avoir séché la surface du gel avec du papier filtre. Pour les protéines dénaturées à la chaleur, la photographie peut attendre, les gels réduits à l'état de film se conservant indéfiniment.

ANNEXE

1 - Tampon de Hirschfeld

Solution concentrée pour le gel :
véronal acide 3,32 g
véronal sodé 21,02 g
lactate de Ca 3,07 g
eau distillée 2 litres

Solution pour les bacs (pH = 8,6)
véronal acide 6,9 g
véronal sodé 43,8 g
lactate de Ca 1,92 g
eau distillée 5 litres

2 - Colorant pour agarose :

noir amido 1 g
acétate de Na 6,8 g
eau distillée 965 ml
acide acétique 35,5 ml
glycérol 111 ml

3 - Décolorant pour agarosé :

glycérine 360 ml
acide acétique 100 ml
eau distillée q.s.p.f. 5 litres (4,6401)

III - PROTOCOLE D'ELECTROPHORESE PREPARATIVE

SUR PAPIER (Whatman n° 3)

- 1 - APPAREIL : S'assurer de la propreté de l'appareil et du cadre à papier et les nettoyer à l'alcool. Mettre l'appareil en place, remplir les bacs à tampon, installer les électrodes, le goutte à goutte et le trop plein.
- 2 - PAPIER : On utilise 2 feuilles de papier Whatman n° 3 découpées à l'avance dans les grandes feuilles du commerce (qui contiennent 4 feuilles de 285 x 210 mm). Reporter sur ces feuilles le tracé de la figure 2 à l'aide d'un crayon ni trop dur ni trop gras en prenant garde de ne pas poser les doigts sur le papier. Puis tendre les feuilles sur le support en les bloquant par dessous entre les 2 pieds du cadre et les arroser de tampon à l'aide d'une pissette. Laisser sécher 5 mn.
- 3 - DEPOT DE L'ECHANTILLON :
0,75 ml d'échantillon sont déposés à l'aide d'une pipette entre les deux traits de départ (à 2 cm du bord cathodique du cadre). Le dépôt doit être fait en plusieurs fois et de façon régulière ce qui est très important.
- 4 - MIGRATION : Le cadre est déposé sur le plateau de l'appareil, les tendeurs sont mis en place ainsi que le couvercle et l'étanchéité est renforcée par de la pâte à modeler. Mettre le contact électrique et régler le voltage à 190 volts au redresseur ce qui donne une ddp. d'environ 9 volts par cm de papier. Laisser migrer pendant 7 h 45.
- 5 - REVELATION DES PROTEINES :
Les bandes témoins sont découpées et colorées au noir amido pendant 10 minutes puis décolorées.
Pendant ce temps les bandes tracées à l'avance sont découpées et stockées telles quelles au frigidaire ou au congélateur ou bien pressées dans des corps de seringue pour en extraire les protéines qui seront soumises à une 2^e électrophorèse (électrophorèse bidimensionnelle).

ANNEXE

- 1 - Tampon : Ce tampon appelé tampon de Hirschfeld est le même que celui utilisé dans les bacs lors de l'électrophorèse en gel d'agarose (pH = 8,6 g)

véronal acide	6,9 g
véronal sodé	43,8 g
lactate de Ca	1,92 g
eau distillée	5 litres
- 2 - Colorant pour papier

noir amido	20 g
alcool méthylique	1800 ml
acide acétique	200 ml

Agiter et filtrer avant l'emploi.
3. Décolorant pour papier

alcool méthylique	1800 ml
acide acétique	200 ml

IV - REVELATIONS PARTICULIERES

1 - REVELATIONS DES HAPTOGLOBINES :

Le sérum étudié doit être additionné d'hémoglobine. Après l'électrophorèse badigeonner le gel avec la solution suivante :

- eau distillé 10 ml
- dissoudre 4 cachets de Benzidine
- ajouter 10 ml d'acide acétique glacial

2 - REVELATION DES ESTERASES

1 - Tampon phosphate 0,4 M (pH = 6,55)

a - Phosphate de Na₂ - 0,4M 143,26 g
(Na₂HPO₄, 12H₂O = 358,14)

eau distillée 1 litre

b - Phosphate de K - 0,4M 54,44 g
(KH₂PO₄ = 136,9)

eau distillée 1 litre

c - Réaliser le tampon en ajustant la solution (a) à l'aide de la solution (b) jusqu'à obtention d'un pH de 6,55.

2 - Solution de substrat : ~~x~~ naphtyl acétate 0,08 g
acétone 8 ml

3 - Révéléateur des estérases : La tranche de gel est mise à incuber 30 mm dans la solution suivante :

- Tampon phosphate 0,4M (pH = 6,55) 200 ml
- ~~x~~ naphtyl acétate à 1 % dans l'acétone 8 ml
(ou ~~x~~ naphtyl butyrate)
- Fast blue BB (ou RR) salt 200 mg

V - AUTRES TAMPONS EMPLOYES

1 - TAMPON DISCONTINU DE POULIK pH = 8,6

• Solution concentrée pour le gel

Tris hydroxyméthyle aminométhane	92 g
acide citrique	10,5 g
eau distillée q.s.p.f.	1 litre

diluer 10 fois pour l'utilisation

• Solution pour les bacs

acide borique	74,4 g
Na OH (en pastilles)	9,72 g
eau distillée q.s.p.f.	4 litres

2 - TAMPON DISCONTINU TRIS-GLYCINE

• Solution pour le gel

Tris	9 g
Glycine (glycocolle)	4,68 g
eau distillée q.s.p.f.	1 litre

Ajuster le pH à 8,7 avec HCl normal

• Solution pour les bacs

Tris	1,2 g
Glycine	4,68 g
eau distillée q.s.p.f.	1 litre

3 - TAMPON DISCONTINU DE ASHTON : (donne une bonne résolution entre les globulines et l'albumine).

• Solution 1 (pour les bacs)

Hydroxyde de lithium	6 g
acide borique	59,45 g
eau distillée q.s.p.f.	5 litres

• Solution 2

acide citrique	3,2 g
Tris	12,58 g
eau distillée q.s.p.f.	2 litres

• Solution pour le gel

10 % de solution 1
90 % de solution 2

4 - TAMPON VERONAL : pH = 8,2

veronal sodé	47,6 g
HCl N	69 ml
eau distillée	4,3 ml

5 - TAMPON TRIS - E.D.T.A. pH = 8,8

Tris	75,5 g
EDTA	7,5 g
Acide borique	13,0 g
eau distillée q.s.p.f.	5 litres

6 - TAMPON DE ARONSSON ET GRONWALL (pour acétate de cellulose) pH = 8,9

Tris	60,5 g
EDTA	6 g
Acide borique	4,6 g
eau distillée	1 litre

7 - TAMPON PHOSPHATE pH = 7,3 (Wilkins) pour hémoglobine.

K ₂ HPO ₄	9,85 g
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	4,75 g
eau distillée	10 litres

VI - EXTRACTION DE PROTEINES DES TISSUS

Les extractions sont faites à partir de tissus de poissons, généralement à partir des muscles (blancs ou rouges), du coeur ou des gonades.

1 - PRELEVEMENTS : Les prélèvements sont effectués soit sur le poisson frais soit sur le poisson conservé congelé. Les morceaux de muscles sont toujours prélevés au même endroit, au niveau de la nageoire pectorale, sur le dos par exemple, et tout de suite congelés en attendant d'être utilisés. Les prélèvements sont numérotés comme les poissons dont on a relevé la longueur à la fourche et le sexe.

2 - EXTRACTION Poser 2,5 grammes de tissu (muscle) et les déposer dans un mortier Potter de 5 ml. Broyer à l'aide du pilon puis ajouter 2,5 ml d'eau distillée - Broyer à nouveau. On pratique par groupe de 8 échantillons que l'on pèse successivement puis que l'on broie à tour de rôle en revenant au 1° après le 8°. Lorsque les broyages sont terminés, laisser les pilons enfoncés dans les mortiers et verser les surnageants dans les tubes en plastiques (numérotés de 1 à 8) servant à la centrifugation. Equilibrer les tubes trop légers (ne jamais ajouter d'eau qui diluerait les protéines) et les mettre dans les pots de centrifugation. Visser les bouchons, déposer les 8 pots dans la petite couronne et la couronne dans la centrifugeuse réfrigérée M.S.E. dont on a mis le compresseur en route 10 minutes plus tôt (sur 4°). Régler la centrifugation sur 15.000 tours/minute pendant 20 minutes. Lorsque la centrifugation est terminée ôter la couronne puis les pots sans les agiter. Prélever le surnageant de chaque tube plastique à l'aide d'une pipette Pasteur et le déposer dans un tube bactériologique numéroté que l'on conserve au congélateur jusqu'au moment de l'emploi. Les pipettes ayant servi aux prélèvements sont laissées dans les tubes.

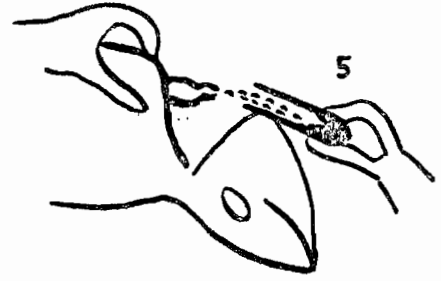
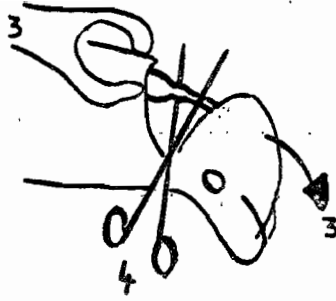
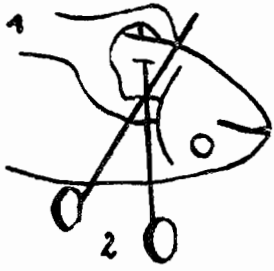


FIGURE 3

COTÉ ANODIQUE



	21		20
19	19		18
17	17		16
15	15		14
13	13		12
11	11		10
9	9		8
7	7		6
5	5		4
3	3		2
1	1		

DEPOT DE L'ECHANTILLON

COTÉ CATHODIQUE



FIGURE 2

VII - PRELEVEMENT DU SERUM DE SARDINELLE

I - PRELEVEMENT DU SANG

Mode opératoire

Le prélèvement se fait sur la sardinelle vivante. Si le poisson est trop vivace il faut le laisser quelques minutes hors de l'eau pour l'affaiblir, nous avons constaté en effet que le volume de sang total obtenu est alors plus important. Avec un poisson trop vif les ondées de sang sont désordonnées et de faible amplitude, en outre le "1^o jet" est souvent perdu ; avec un poisson affaibli les ondées sont lentes mais fortes et l'on ne rate que rarement la première giclée.

Tenir la sardinelle dans la main gauche, ventre en l'air pouce et indexe sous les opercules (1). De la main droite sectionner à l'aide d'une paire de ciseaux pointus la base des arcs branchiaux (2) puis tirer la tête vers le bas pour déchirer les chairs et faire apparaître le cœur (3). Sectionner en avant du bulbe cardiaque (4) et recueillir le sang pulsé dans un tube de Kahn numéroté, sec et stérile, débouché et présenté par un aide de préférence. Le tube est aussitôt rebouché et maintenu dans la glacière portative.

Les échantillons de sang sont conservés de 24 à 48 heures en glacière à environ + 4° (et non au congélateur, ce qui provoquerait l'hémolyse des globules).

II - PRELEVEMENT DU SERUM

Le sérum est ensuite prélevé en deux fois à la pipette en utilisant une pipette neuve par échantillon :

- une première fois après exudation naturelle de sérum (généralement peu hémolysé).
- une deuxième fois après centrifugation (3 mn à 2 000 t/mn) ce qui provoque souvent une hémolyse des globules teignant en rouge le sérum. Les deux prélèvements sont stockés au congélateur dans 2 tubes différents portant le même numéro.

VIII - LISTE NOMINATIVE DES PRODUITS NECESSAIRES

Abréviations : E = électrophorèse C = chromatographie F = filtration
T = tampons Z = enzymes I.Z = inhibiteurs enzymatiques
S = substrats enzymatiques

I - SUBSTRATS :

ACETATE DE CELLULOSE	E
AGAR NOBLE Spécial	IMMUNODIFFUSION
AGAROSE I.B.F.	E
AMIDON hydrolysé	E
CELLOGEL . . . DEAE - cellulose	C
PAPIER ARCHES	E
COFRAM	E
WHATMAN	E
SEPHADEX G 25 à G 200	F

II - PRODUITS CHIMIQUES COURANTS

ACETATE DE Na	TE
ACETONE	
ACIDE ACETIQUE	
ACIDE BORIQUE	TE
ACIDE CITRIQUE	TE
ACIDE CHLORHYDRIQUE	
ACIDE LACTIQUE	
ALCOOL ETHYLIQUE ABSOLU	
" " 90°	
" " 70°	
BENZENE	
CHLORHYDRATE D'HYDROXYLAMINE	TE
CHLOROFORME	
CHLORURE de MANGANESE	
CHLORURE de MAGNESIUM	
CITRATE TRISODIQUE de Na	
DIETHYLMALONYLUREE SODEE (Véronal sodé)	TE
DIETHYLMALONYLUREE (Véronal)	TE
EAU OXYGENEE	

E.D.T.A. (Idrenal)	TE
GLUCOSE (D) anhydre	
GLYCEROL	
HYDROXYDE de LITHIUM (lithine caustique)	TE
LACTATE de CALCIUM	TE
MERCUROTHIOLATE DE Na	
MS 222 SANDOZ	
PHOSPHATE de Na ₂	T
" " Na	T
" " K ₂	T
" " K	T
POLYVINYLPIRROLIDONE	
SAPONINE (nerkol)	
SODIUM AZIDE	
SOUDE CAUSTIQUE	
SULFATE D'AMONIUM	
TOLUENE	
TRISHYDROXYMETHYLE AMINOMETHANE	T
UREE	

III - COLORANTS

AMIDOSCHWARTZ (Noir amido)	
AZOCARMIN G	
BLEU DE BROMOPHENOL	
BENZIDINE	Z
FAST BLUE BB	Z
" " RR	Z
NITROSO R SALT	
NITRO BLUE DE TETRAZOLIUM (NBT)	Z
OIL RED O.	
O - DIANISIDINE	
ROUGE PONCEAU	
ROUGE CEROL	
VERT DE METHYLE	

IV - PRODUITS SPECIAUX POUR ENZYMES

ACIDE LACTIQUE	
ACETAZOLAMIDE	
ARYLAM (sevine)	IZ
BENZIDINE	
(para) CHLOROMERCURIBENZOATE	
CYANURE de K	
DICHLORYDRATE DE ^H . PHENYLENEDIAMINE	
DI-ISOPROPYLFLUOROPHOSPHATE (DIPF)	IZ
D.P.N.	
ESERINE	IZ
" SALICYLATE	
" SULFATE	
(alpha) NAPHTYL ACETATE	SZ
" ACIDE PHOSPHATE	SZ
" BUTYRATE	SZ
" PHOSPHATE DE Na	SZ
(beta) NAPHTYL ACETATE	SZ
NAPHTYL N. METHYL CARBAMATE (Sevine)	IZ
NEURAMINIDASE	
P.M.S.	

V - PRODUITS DIVERS

COTON CARDE	
COTON HYDROPHILE	
BANDES ADHESIVES	E
PATE A MODELER	E