

AT 5 : COSMETIQUE ET INFECTION

Le contexte

Des adolescents ayant utilisé une lotion préconisée dans le traitement d'appoint des peaux acnéiques développent une forte inflammation suppurée de la peau et l'un se plaint de douleurs articulaires.

Les signes cliniques chez ce dernier laissent présumer une infection secondaire à Streptocoques .Au cours d'une infection secondaire due à un streptocoque du groupe A et quelques souches des groupes C, et G(rhumatisme articulaire aigu [R.A.A.], glomérulonéphrite aiguë...), la recherche de l'agent infectieux reste souvent négative et seul un diagnostic sérologique est susceptible d'apporter une réponse.

De nombreux agent infectieux (staphylocoques, Pseudomonas.) peuvent être à l'origine d'infections suppurées.

Le médecin préconise un contrôle du cosmétique par les laboratoires de l'ANSM

Il demande au laboratoire de biochimie-biologie de réaliser des examens

- Bactériologique sur les suppurations
- Sérologique.
- Electrophorèse des protéines sériques

Objectifs

- Comprendre la démarche de contrôle microbiologique d'un cosmétique
- Mettre en place une démarche d'identification bactérienne à partir d'un prélèvement biologique
- Réaliser une identification antigénique par une technique d'agglutination
- Réaliser une recherche d'anticorps par technique immunologique
- Etudier le profil électrophorétique des protéines sériques lors d'une infection.

Fiches protocoles

Fiche protocole 1 : Test d'efficacité des conservateurs de la lotion : challenge test

Fiche protocole 2 : Diagnostic bactériologique de l'infection

Fiche protocole 3 : Diagnostic immunologique, dosage des antistreptolysines O dans le sérum

Fiche protocole 4 : Analyse de profil électrophorétique

Documents ressources (classeur labo)

Fiche technique : Identification antigénique

- Sérogroupage des Streptocoques
- Identification rapide de Staphylococcus

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

FICHE PROTOCOLE 1

TEST D'EFFICACITE DES CONSERVATEURS DU PRODUIT COSMETIQUE OU CHALLENGE TEST

1. MATERIEL ET REACTIFS

PSM

Balance

Solution anti acnéique

Souche de Staphylococcus aureus à $5 \cdot 10^7$ UFC.mL⁻¹

Flacon stérile

Milieu PWT (peptone, tween, lécithine)

Milieu gélosé TS

Système pour dilution (paille , ou p1000+cône, ou pipette de 1 mL stérile)

2. MODE OPERATOIRE

Suivre l'organigramme de la manipulation

3. COMPTE –RENDU

3.1. Présentation des résultats

Indiquer le nom des conservateurs qui figurent sur l'étiquette de la lotion

Proposer un planning pour la réalisation et la lecture de l'épreuve 3 du challenge test pour J7, J14 et J28.

Présenter dans un tableau les résultats des dénombrements à J0 et J2

Entourer les dilutions à retenir pour calculer Ntotal (contamination expérimentale initiale) et N2 (contamination résiduelle après 2 jours)

3.2. Exploitation des résultats

Calculer la concentration initiale expérimentale N0 (niveau de contamination J0) en UFC.g⁻¹ de solution anti acnéique « EC »

Comparer N0 et NT (contamination théorique). Sachant que la concentration NT à $5 \cdot 10^7$ UFC.mL⁻¹ de Staphylococcus aureus a été estimée par une mesure d'absorbance à 600 nm Emettre une hypothèse permettant d'expliquer la différence

Calculer la concentration résiduelle N2 à J2 en UFC.g⁻¹ de solution anti acnéique « EC »

$$N = \frac{\sum C(\text{colonies})}{V_{ml} \cdot 1,1 \cdot d_1}$$

Calculer la réduction logarithmique (R_{log}) de la population microbienne à J2 en utilisant la formule

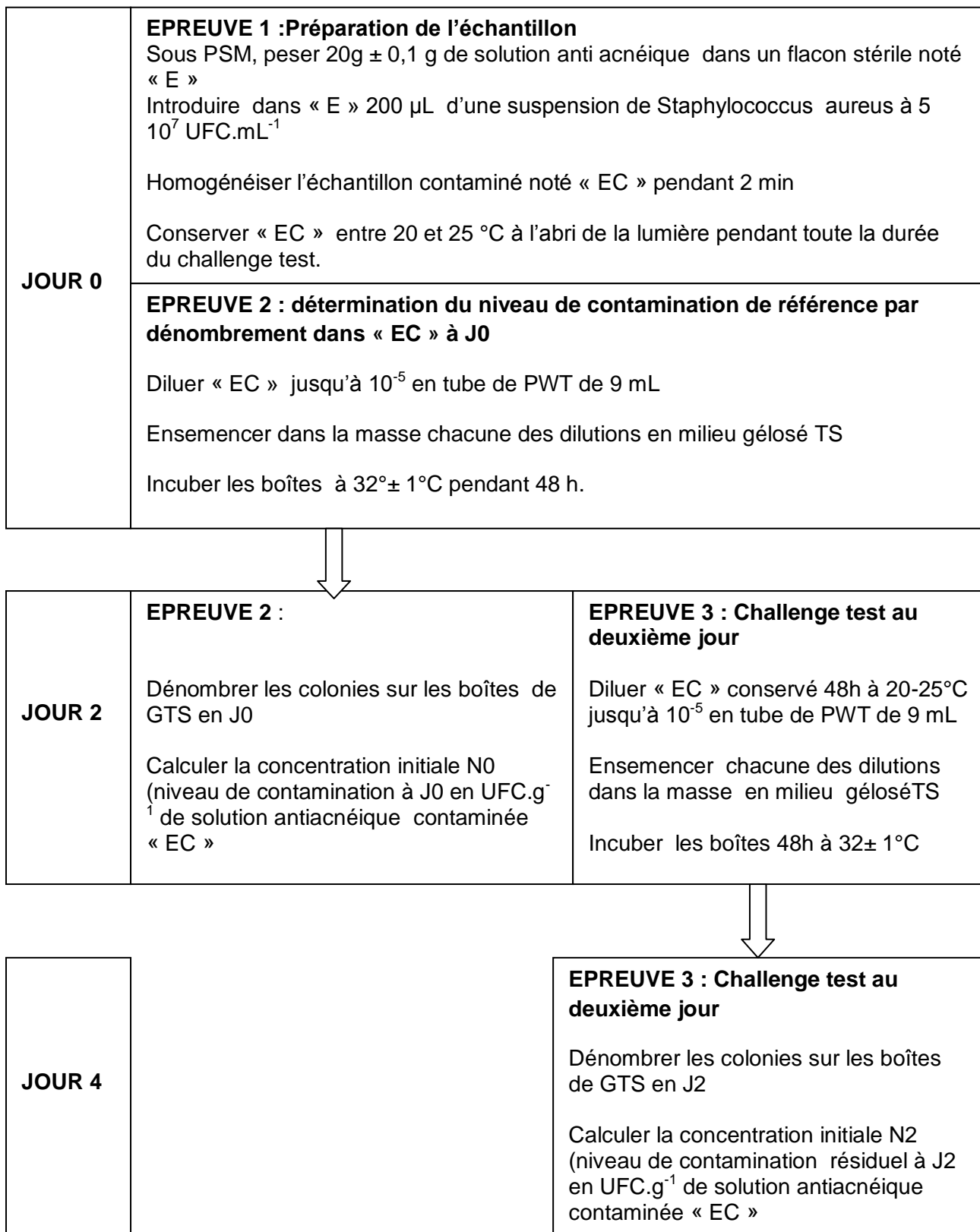
$$R_{log} = \log(N0) - \log(N2)$$

Conclure sur l'efficacité des conservateurs de la lotion anti acnéique

SEQUENCE – RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

ORGANIGRAMME DU CHALLENGE TEST

« extrait du livre de biotech TSTL-collection cnokaert-Guillet »



SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

PRINCIPE DU CHALLENGE TEST OU TEST D'EFFICACITE DES CONSERVATEURS DANS LES PRODUITS COSMETIQUES

L'industrie cosmétique a recours au test de contamination artificielle ou challenge test pour vérifier l'efficacité des conservateurs contenus dans les produits cosmétiques lors de leur fabrication

Ce test permet de maîtriser la contamination secondaire des produits cosmétiques, contamination lors de leur utilisation par les consommateurs.

Ce test consiste à :

- Réaliser la contamination artificielle du produit cosmétique avec un nombre connu de microorganismes (bactéries, levures, moisissures) pathogènes ou susceptibles d'altérer le produit.
- Faire le suivi de l'évolution de ce nombre de microorganisme dans le produit sur une période de un mois avec une estimation de la population à J2, J7, J14, J28.

Les souches utilisées sont celles habituellement retrouvées comme contaminant des produits cosmétiques après utilisation par le consommateur (contamination secondaire).

Candida albicans, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Critères d'acceptation du challenge test

	Réduction logarithmique par rapport à J0				
	Critères	J2	J7	J14	J28
Bactéries	A	2	3	5	NR
	B	0	0	3	NR
Mycètes	A	-	-	2	NI
	B	-	0	1	NI

NR= non retrouvé ; NI = pas d'augmentation

Composition du milieu PWT 1 g de peptones bactériologique 10 g de tween 80 0,7 g de lécithine QSP 1 L d'eau distillée	Le tween 80 et la lécithine sont des molécules amphiphiles (bipolaires), capables grâce à leur effet tensio-actif de neutraliser l'action anti microbienne des conservateurs en les émulsionnant dans des micelles
--	--

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

TRAVAIL DE REFLEXION -FICHE PROTOCOLE 2

Diagnostic bactériologique de l'infection

Répondre aux questions en utilisant la liste du matériel et des réactifs de la fiche protocole 1

Q1. Proposer une démarche microbiologique permettant l'identification de l'agent infectieux présent dans le prélèvement. Un organigramme peut-être réalisé .

Q2. Justifier le choix des milieux d'isolement ensemencés par le laboratoire. Donner le rôle des constituants indiqués pour chaque milieu

Q3. Donner les résultats permettant le choix de la galerie API Strep ou API Staph

GELOSE COLUMBIA ANC

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose Columbia grâce à l'Acide Nalidixique et à la Colistine (ANC) est un milieu sélectif de base qui, après addition de 5% de sang de mouton, est utilisé pour les détection, isolement et détermination des caractéristiques hémolytiques des cocci à Gram positif à partir des prélèvements biologiques d'origine animale.

FORMULE - TYPE

Pour 1 litre de milieu de base :

- Polypeptone 17,0 g
 - Peptone pancréatique de coeur .. 3,0 g
 - Extrait autolytique de levure....3,0 g
 - Amidon de maïs.1,0 g
 - Chlorure de sodium...5,0 g
 - Colistine 10,0 mg
 - Acide nalidixique 15,0 mg
 - Agar agar bactériologique . 14,0 g
- pH du milieu à 25°C : 7,3 ± 0,2.

GELOSE DE CHAPMAN AU MANNITOL

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Chapman au mannitol permet l'isolement sélectif, la recherche et le dénombrement des staphylocoques pathogènes dans, les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les prélèvements biologiques d'origine animale.

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.. 5,0 g
 - Peptone pepsique de viande. 5,0 g
 - Extrait de viande. 1,0 g
 - Mannitol. 10,0 g
 - Chlorure de sodium.75,0 g
 - Rouge de phénol. 25,0 mg
 - Agar agar bactériologique. 15,0 g
- pH du milieu à 25°C : 7,4 ± 0,2.

GELOSE AU CETRIMIDE

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose grâce au cétrimide est un milieu sélectif destiné aux isolement et dénombrement de Pseudomonas aeruginosa dans les produits biologiques d'origine animale, les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques.

FORMULE - TYPE

Pour 1 litre de milieu de base :

- Peptone pancréatique de gélatine. 20,0 g
 - Cétrimide. 0,3 g
 - Chlorure de magnésium. 1,4 g
 - Sulfate de potassium. 10,0 g
 - Agar agar bactériologique. 15,0 g
- pH du milieu à 25°C : 7,2 ± 0,2

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

FICHE PROTOCOLE 2 Diagnostic bactériologique de l'infection

1. MATERIEL ET REACTIFS

- Prélèvement cutané/ 2 élèves : AD1 et AD2
- Gélose au sang ANC
- Gélose Chapman
- gélose au Cétrimide
- Réactif enzymatique catalase et oxydase
- Galerie biochimique d'identification (API Strep, API Staph)
- Kits d'identification antigénique
- Matériel courant de laboratoire de biotechnologies
- Lames-Lamelles
- Colorant de GRAM
- Microscope



2. DEMARCHE D'IDENTIFICATION

JOUR 1 :

2.1. Observation microscopique

Réaliser un Frottis coloré au GRAM

Présenter le résultat de l'observation sur le compte-rendu

2.2. Isolement

Faire les isollements du prélèvement sur les milieux gélosés (gélose au sang ANC , gélose chapman, gélose au cétrimide)

Incuber 24h à l'étuve à 37°C.

JOUR 2 :

2.3. Lecture des isolements

Présenter le résultat de l'observation macroscopique sur le compte-rendu

2.4. Réaliser la recherche de l'enzyme respiratoire

Effectuer un test rapide de recherche d'enzyme respiratoire

Proposer une orientation pour l'identification de la souche bactérienne.

2.5. Réaliser un test d'identification antigénique rapide adapté

- Faire valider le choix du test par l'enseignant
- Utiliser **LES FICHES TECHNIQUES** correspondantes
 - Sérogroupage des Streptocoques
 - Identification rapide de *Staphylococcus aureus* par test d'agglutination sur lame

2.6. Lire la galerie d'identification biochimique adaptée.

- Faire valider le choix de la galerie par l'enseignant

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

3. COMPTE- RENDU

3.1. Présentation des résultats

Classer les résultats permettant de donner la famille et le genre du germe responsable de l'infection.

Monter que les caractères biochimiques et antigéniques conduisent au même taxon

3.2. Exploitation des résultats

Regrouper les résultats et Indiquer pour chaque adolescent le germe responsable de l'infection cutanée.

Données :

Critères des coques Gram +

- Famille des Staphylococcaceae :
 - ✓ Caractère de famille : CG+ non exigeant, Catalase+, AAF, Fermentatif.
 - ✓ Galerie de famille: GN, Viande Foie, MEVAG,
 - ✓ Galerie genre et espèce :Chapman inclinée, Bouillon Cœur Cerveau (Recherche de la coagulase et la thermonucléase).
 - ✓ Micro méthode : API Stap.
 - ✓ Test d'identification rapide sur colonies prélevées Chapman (test d'agglutination sur lame permettant la recherche de d'Ag de surfaces présents chez l'espèce aureus (protéine A et coagulase liée (RF)).

- Famille des Streptococcaceae :
 - Streptococcaceae non exigeant :
 - ✓ Caractère de famille : CG+ non exigeant, Catalase-, AAF, Fermentatif, culture sur BEA.
 - ✓ Galerie de famille : GN, Viande foie, MEVAG.
 - ✓ Galerie de genre et d'espèce : Micro méthode : API Strep

 - Streptococcaceae exigeant :
 - ✓ Caractère de famille : CG+ exigeant, catalase - ; culture sur Gélose au sang ANC , colonie α ou β hémolytique.
 - ✓ Sérogroupe (recherche de la nature du polyside C spécifique du groupe)
 - ✓ Galerie Api Strep

TRAVAIL DE REFLEXION – FICHES TECHNIQUES IDENTIFICATION ANTIGENIQUE DE SOUCHES

Q1. Définir une « réaction d'agglutination ».

Pour chaque technique sérogroupage des Streptocoques ou test d'identification rapide de Staphylococcus aureus :

Q2. Indiquer le ou les antigènes recherchés pour identifier le groupe ou l'espèce de bactéries

Q3. L'antigène est-il directement disponible pour une réaction d'agglutination ? Que faut-il faire avant les tests d'agglutination ?

Q4. Donner le rôle des témoins.

Q5. Donner la nature des molécules fixées sur les particules de latex

Q6. Dédire des réponses précédentes l'expression « identification antigénique »

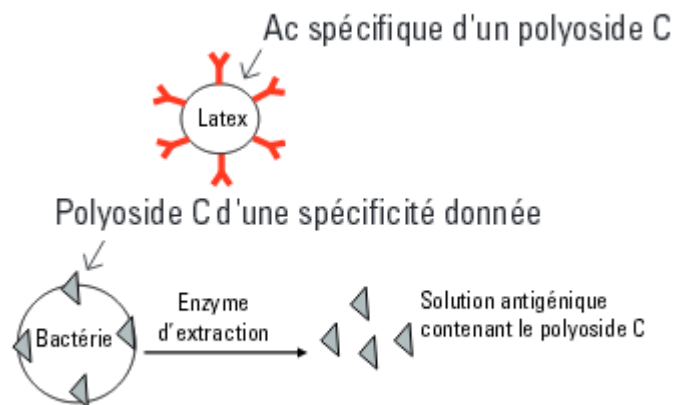
FICHE TECHNIQUE : KIT SEROGROUPAGE DES STREPTOCOQUES

1. PRINCIPE

Dans la classification de Lancefield, les streptocoques (genre Streptococcus et genre Enterococcus) sont classés en groupes selon la nature de leur polyoside C, antigène pariétal. On distingue ainsi les groupes A, B, C, E, F, G...

Le sérogroupage des streptocoques repose sur l'identification antigénique du polyoside C par agglutination sur lame en présence de particules de latex sensibilisées avec des anticorps spécifiques de chaque groupe : antiA, antiB, antiC, antiD, antiF et antiG

Le polyoside C est souvent recouvert de protéines, ce qui le rend inaccessible aux anticorps. Il faut donc auparavant extraire le polyoside C pour obtenir une solution antigénique.



2. TECHNIQUE

2.1. Extraction du polyoside C. solution antigénique à tester

- À partir d'un isolement sur gélose au sang, prélever deux à trois colonies correspondant à des coques Gram +, catalase -, présentant une hémolyse β ou α
- Emulsionner les colonies dans x mL d'enzyme d'extraction.
- Incuber 10 à 15min à 37 °C

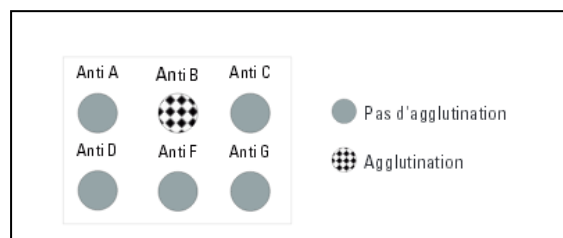
2.2. Témoin de réactivité

- Déposer sur une plaque une goutte de chaque réactif de latex sensibilisés.
- Mettre en contact dans chaque goutte de latex une goutte de mélange de polyoside C donné avec le kit
- Appliquer des mouvements de roulis de la plaque tenue horizontalement
- Observer l'apparition d'une agglutination

2.3. Test

Réaliser le groupage sur plaque avec la solution antigénique de polyoside C

- Déposer sur une plaque une goutte de chaque réactif de latex sensibilisés.
- Mettre en contact dans chaque goutte de latex une goutte de solution antigénique
- Appliquer des mouvements de roulis de la plaque tenue horizontalement
- Observer



SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

FICHE TECHNIQUE : TEST D'IDENTIFICATION ANTIGENIQUE DE *Staphylococcus aureus* : TEST D'AGGLUTINATION SUR LAME

1. PRINCIPE

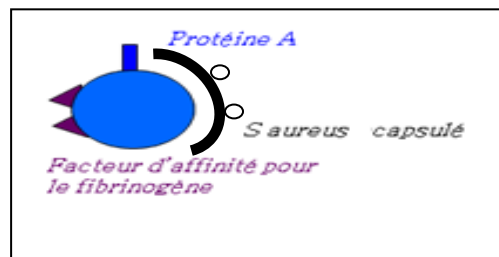
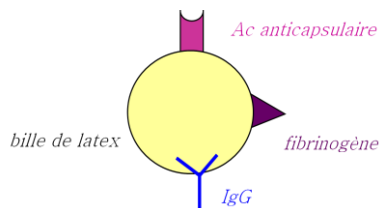
Ces recherches sont réalisées sur des colonies obtenues sur milieux sélectifs (gélose de Chapman ou de Baird-Parker) et présentant les caractères biochimiques permettant de suspecter le genre *Staphylococcus* CG+, catalase +, espèce aureus (Man +)

Il s'agit de Test d'agglutination directe sur lame mettant en jeu des particules de latex sensibilisées

Le réactif contient des particules de latex qui permettent la recherche simultanée sur la paroi des *Staphylococcus aureus*

- du facteur d'affinité pour le fibrinogène (RF), désigné sous le nom de coagulase liée,
- de la protéine A qui possède une affinité pour le fragment Fc des IgG
- des antigènes polysaccharidiques capsulaires des *Staphylococcus* résistants à la métilicine (antibiotique)

L'agglutination révèle la présence de un ou plusieurs antigènes



2. TECHNIQUE

Sur une lame de verre ou une fiche cartonnée noter témoin négatif et essai

2.1. Témoin négatif

Déposer sur la lame une goutte de réactif non sensibilisés témoin négatif et y dissocier une colonie

2.2. Essai

Déposer sur la lame une goutte de réactif sensibilisé et y dissocier une colonie

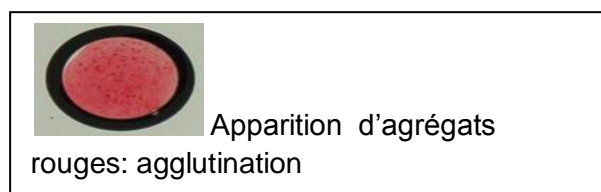
Agiter la lame pendant 10 secondes.

Lire immédiatement le résultat.

Validation du témoin : Absence d'agglutination. Il s'agit d'un témoin de spécificité permettant de contrôler que la souche n'agglutine pas de façon non spécifique avec des particules de latex non sensibilisées

Essai

Toute agglutination du réactif test en présence d'une souche de *Staphylococcus* permet d'identifier l'espèce ***aureus***.



TRAVAIL DE REFLEXION

FICHE PROTOCOLE 3 : DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE D'UNE INFECTION

<http://www.microbiologie-medicale.fr/systematiquebacterienne/titrageaslo.htm>

Q1. Qu'est-ce qu'une streptolysine ? Quand se retrouve-t-elle dans l'organisme humain ?

Q2. Qu'est-ce qu'une antistreptolysine ?

Q3. Quels éléments figurés du sang les synthétisent ?

Q4. Présenter un schéma simplifié du principe du dosage des antistreptolysines dans le sérum des adolescents.

Q5. Expliquer ce qu'est une réaction de neutralisation.

Analyse de la fiche protocole 3 : Dosage des antistreptolysines

Q1. Donner la nature des réactifs à utiliser

Q2. Préciser les événements présentant une dangerosité et donner les mesures de prévention

Q3. Réalisation des dilutions

Q3.1. Etablir l'équation aux grandeurs permettant le calcul d'une dilution.

Q3.2. Expliquer comment procéder pour réaliser la dilution du plasma et des hématies

Q4. Réaliser le(s) schéma(s) des différentes étapes du protocole et donner l'aspect d'une cupule dans le cas d'un résultat positif et négatif

Q5. Expliquer le rôle du témoin sérum

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

ANNEXE 1 : DOSAGE DES ANTISTREPTOLYSINES UTILISATION D'UN KIT ASL

Les streptocoques du groupe A et certains Streptocoques des groupes C et G sont responsables d'infections suppuratives : angines, vaginites, infections cutanées, ou non suppuratives : rhumatisme articulaire aigu. Ces bactéries sécrètent une enzyme renforçant leur pouvoir pathogène : la streptolysine O (SLO) qui lyse les hématies conduisant à la libération de l'hémoglobine.

D'autre part, cette enzyme est immunogène, c'est-à-dire qu'elle est capable d'induire la production d'anticorps anti-streptolysine O (ASLO) lorsqu'elle est introduite dans l'organisme.

La détermination semi-quantitative, dans le sérum du patient, des anticorps anti-streptolysine O permet de confirmer une infection récente à streptocoques du groupe A ou de suivre cette infection.

Principe

L'ASL-kit est un test en barrette qui permet la détermination semi-quantitative des anticorps antistreptolysine O éventuellement présents dans le sérum humain.

Le principe de la détection des anticorps anti-streptolysine est basée sur la neutralisation de l'activité hémolytique de la streptolysine O par les anticorps du sérum à tester.

Les complexes immuns (Ag-Ac) sont révélés par addition d'une suspension d'hématies de mouton.

La neutralisation totale ou partielle de l'activité hémolytique de la streptolysine entraînera une diminution totale ou partielle de la lyse des hématies.

Une gamme de concentrations croissantes de streptolysine est mise en contact avec un volume fixe de sérum du patient. Les anticorps présents en quantité fixe sont mis en contact avec une quantité croissante de streptolysine puis une quantité fixe d'hématies.

Le titre correspond au dernier tube ne présentant pas d'hémolyse (sédimentation = résultat positif).

« <http://stl-bjb.ac-dijon.fr/biohum/bhaslo.htm> »

LECTURE ET INTERPRETATION

➤ **Validation du « témoin sérum »**

Absence d'hémolyse.

Permet de vérifier que le sérum ne contient aucune molécule capable d'hémolyser de manière non spécifique les hématies de lapin.

➤ **Titre du sérum**

Le titre du sérum est donné par le titre de la dernière cupule ne présentant pas d'hémolyse.

Dans 80 % des infections streptococciques, le taux en ASL s'élève au-delà de 200 UI/ml, valeur définie comme limite pathologique.

L'élévation isolée des anticorps ASLO, ASDOR n'est en aucun cas une preuve du R.A.A. Seule l'ascension du titre de ces anticorps lors de deux prélèvements à quinze jours d'intervalle évoque une infection récente, surtout si le titre est très élevé.

FICHE PROTOCOLE 3 DOSAGE DES ANTISTREPTOLYSINES

1. REACTIFS.

R1 : barrette unitaire contenant des quantités croissantes de streptolysine O au fond des cupules 1 à 7. La cupule 8 ne contient pas de streptolysine O et est appelée : témoin sérum

R2 : réducteur : dithiothréitol1 (DTT)

R4 : tampon phosphate-NaCl pH 6,6

Suspension d'hématies de lapin à 50 %

Echantillon de sérum



2. MODE OPERATOIRE

2.1. Préparation des dilutions

2.1.1. Dilution au 1/100 du sérum

Indiquer comment procéder : Cf travail préliminaire

2.1.2. Dilution des hématies de lapin

1 mL de suspension d'hématies de lapin à 2 % est fourni.

La suspension d'hématies de lapin à 2 % a été obtenue à partir d'une suspension à 50 % : indiquer comment faire : Cf travail préliminaire.

2.2. Titrage du sérum

- Placer la barrette sur un support.
- Répartir 75 µL de sérum des adolescents dilué au 1/100 dans chaque cupule.
- Agiter le support par tapotement manuel latéral pendant 1 minute de façon à dissoudre la streptolysine dans l'échantillon.
- **Incuber 15 min à température ambiante.**
- Répartir 75 µL de suspension d'hématies de lapin à 2 % dans chaque cupule.
- Agiter doucement. Recouvrir la barrette d'un film autocollant.
- Incuber 1 h 15 à 1 h 30 à température ambiante

3. COMPTE RENDU

Représenter l'aspect de la barrette.

Vérifier la conformité du témoin

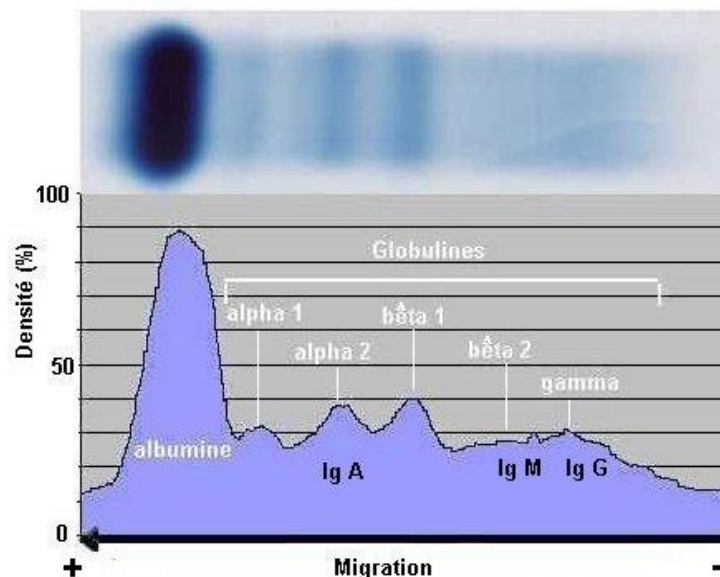
Indiquer le titre du sérum en antistreptolysine

Conclure

<http://www.microbiologie-medicale.fr/systematiquebacterienne/titrageaslo.htm>

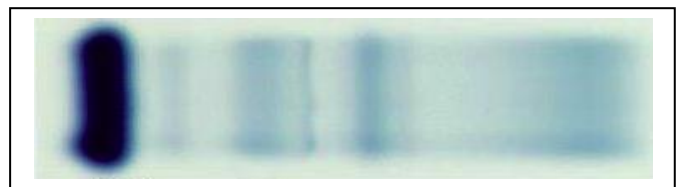
FICHE PROTOCOLE 4 ANALYSE DU PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES SERIQUES LORS D'UNE INFECTION

Les protéines sériques sont les albumines et globulines
Les globulines comprennent des molécules appelées anticorps ou immunoglobulines tels que les IgA, les IgM et les IgG intervenant dans les mécanismes de défense immunitaire. La figure ci-dessous représente le profil électrophorétique du sérum humain normal et son analyse densitométrique. Il servira de référence pour interpréter les résultats des électrophorèses du sérum des adolescents



Profil sérique Adolescent 1

Profil sérique Adolescent 2



1. Analyse qualitative des profils électrophorétiques

Faire un schéma des électrophorégrammes et repérer sur chaque électrophorégramme les différentes protéines
Comparer les deux profils et conclure

2. Analyse quantitative des profils électrophorétiques : utiliser la fiche technique « utilisation du logiciel mesurim »

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

FICHE TECHNIQUE : UTILISATION DU LOGICIEL MESURIM

1. Principe

L'analyse densitométrique permet de quantifier les différentes protéines.

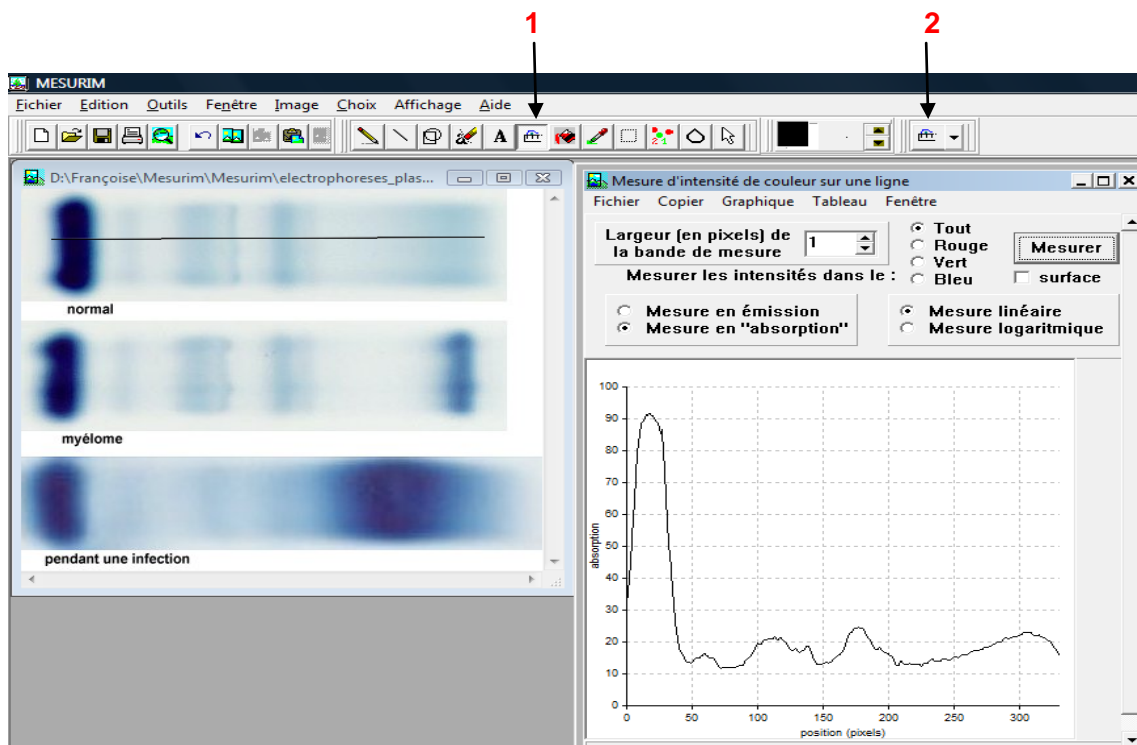
Plus la concentration en protéines est forte dans une portion de bande d'électrophorèse, plus la coloration est forte.

On peut donc évaluer les concentrations des différentes catégories de protéines par mesure optique de la densité de coloration sur la bande.

Le profil d'absorption est lu avec les outils du logiciel Mesurim.

2. MESURAGE

- Lancer Mesurim et ouvrir le fichier, l'image "Electrophoreses _plasma, accessible par le menu Fichier.
- Trois profils électrophorétiques sont disponibles
- Repérer le profil de l'adolescent 1 et 2
- Pour chaque profil
- Cliquer sur l'icône de mesure (1) cliquer puis tracer par glisser de gauche à droite, une ligne de préférence horizontale parcourant la première électrophorèse en son milieu ou une zone plus représentative : c'est la ligne selon laquelle la mesure d'absorption de lumière sera faite.
- Choisir dans le menu de Type de mesure(2) : lumière sur une Bande. Une fenêtre de paramétrage apparaît. Paramétrer la mesure :
 - o Largeur en pixel : 1
 - o Mesure en absorption
 - o Tout (tous les canaux de couleurs)
 - o Mesure linéaire
- Cliquer sur le bouton Mesurer. Un graphique du profil d'absorption s'affiche.
 - o Choisir dans le menu Graphique de la fenêtre de Mesure d'intensité de couleur : fond blanc.
 - o Copier et Coller ce premier graphique dans la cellule adéquate du fichier



CONCLUSION GENERALE

Pour chaque Adolescent présenter une synthèse de l'ensemble des résultats, diagnostic bactériologique, immunologique et biochimique.

Proposer des compléments d'analyses pour traiter les patients et montrer que la crème antiacnéique peut-être à l'origine de l'infection.

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

MATIERE D'OEUVRE : ETUDE DE CAS CLINIQUE

FICHE PROTOCOLE 2 : Diagnostic bactériologique de l'infection

Jour 1

- 1 Prélèvement cutané en bouillon 1 prélèvement pour 2 élèves :

Souche de strepto B hémolytique + quelques bacilles noté AD1

Souche de staph aureus + quelques bacilles noté AD2

- 1Gélose au sang ANC/ el

-1Gélose Chapman/el

- 1gélose au Cétrimide/el

Jour 2

- 1 Galerie biochimique d'identification/groupe ensemencé avec strepto (API Strep,)

-1 Galerie biochimique d'identification/groupe ensemencé avec Staph aureus (API staph)

-Réactif enzymatique catalase et oxydase

- Kits d'identification antigénique

1 kit sérogroupage des Strepto /gpe

1 kit d'identification rapide des Staph /gpe

FICHE PROTOCOLE 3 DOSAGE DES ANTISTREPTOLYSINES

**ASL KIT ref 72 351 : deux kit pour la classe
Rabbit Red Cells (RRC), réf. 72 291.**

-R1 : barrette unitaire contenant des quantités croissantes de streptolysine O au fond des cupules 1 à 7. La cupule 8 ne contient pas de streptolysine O et est appelée : témoin sérum

-R2 : à préparer et répartir réducteur : dithithréitol1 (DTT)

- R4 : tampon phosphate-NaCl pH 6,6

-Répartir en tubes à hémolyse 50 µL de Suspension d'hématies de lapin à 50 %

-Echantillon de sérum 1 échantillon /2 élèves

sérum AD1 = répartir 15 µL Contrôle + en tube eppendorf et noter AD1

sérum AD2 = répartir 15 µL tampon en tube eppendorf et noter AD2

-Pipettes 50 et p 200 + embouts jetables

-Gants latex

-Parafilm + ciseaux

-DASRI

PC dans les salles et salle F15 à disposition – pour utilisation du logiciel mesurim et consultation des sites pour travail de réflexion

Fiche 4 logiciel :Mesurim sur ordi + image jointe à mettre dans mesurim

SEQUENCE –RECHERCHE D'UNE FLORE PARTICULIERE

FICHE PROTOCOLE 1: OU CHALLENGE TEST

MATERIEL ET REACTIFS / 2 ELEVES organigramme manip joint pour tests si nécessaire

PSM

Balance

Solution anti acnéique à acheter à la pharmacie (ou trouver dans nos pharmacies perso) prévoir 20 g ou mL /2 el

1 Souche de Staphylococcus aureus à $5 \cdot 10^7$ UFC.mL⁻¹

1 Flacon stérile

5 en J0 et 5 en J2 Milieu PWT

5 en J0 et 5 en J2 Milieu **gélisé TS**

Système pour dilution (paille , ou p1000+cône, ou pipette de 1 mL stérile)

Composition du milieu PWT

1 g de peptones bactériologique

10 g de tween 80

0,7 g de lécithine

QSP 1 L d'eau distillée

