



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Bordeaux
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

B.T.S. Analyses de Biologie Médicale

E4 – U42

Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale

Microbiologie

SESSION 2015

—
Durée : 3 heures

Coefficient : 2
—

Aucun matériel autorisé.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 9 pages, numérotées de 1/9 à 9/9.

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 1/9 |

RISQUES INFECTIEUX POUR LES VOYAGEURS ET RECOMMANDATIONS SANITAIRES

La médecine des voyages est une discipline médicale « jeune », née à la fin des années 1980. Les maladies du voyageur varient au cours du temps et nécessitent d'être régulièrement évaluées par des études épidémiologiques adaptées. Les recommandations sanitaires qui visent à minimiser les risques de maladies pour le voyageur, en particulier la vaccination, évoluent parallèlement. Elles sont publiées chaque année dans le Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (BEH).

1. Risques infectieux et vaccination en fonction de la situation épidémiologique de la zone visitée (40 points)

Les risques infectieux concernent notamment les infections invasives à méningocoque (IIM) et la tuberculose.

1.1. Les infections invasives à méningocoque (*Neisseria meningitidis*)

La vaccination contre les IIM est recommandée en cas de séjour :

- en zone d'endémie, notamment la « ceinture de la méningite » en Afrique subsaharienne au moment de la saison sèche, dans des conditions de contact étroit avec la population locale ;
- en zone d'endémie pour y exercer une activité dans le secteur de la santé ou auprès des réfugiés, quelle que soit la saison ;
- dans une zone où sévit une épidémie.

Elle est obligatoire dans le cas d'un séjour en Arabie Saoudite.

1.1.1. **Citer** deux symptômes d'une méningite chez l'adulte et les étiologies possibles, autres que bactériennes.

Le diagnostic rapide de méningite à méningocoque du groupe B peut être établi directement sur le liquide céphalorachidien (LCR) grâce au coffret dont la composition est fournie en **annexe 1**.

1.1.2. **Indiquer** le type de réaction mise en jeu.

1.1.3. **Préciser** le rôle des réactifs R2, R9 et R10 et le résultat attendu pour chacun d'eux.

Le diagnostic doit être confirmé par la mise en culture du LCR.

1.1.4. **Citer** la technique la plus courante de prélèvement du LCR.

1.1.5. **Préciser** la principale caractéristique d'un milieu de culture utilisé pour la recherche de méningocoque, **citer** un exemple de milieu et **préciser** ses conditions d'incubation.

L'isolement a permis d'obtenir des colonies de 1 à 2 mm de diamètre, bombées, brillantes.

1.1.6. **Présenter** les résultats des observations microscopiques faites après coloration de Gram sur une colonie isolée et le résultat du test rapide d'orientation réalisé.

L'identification doit être poursuivie par des tests biochimiques conventionnels qui peuvent être réalisés grâce à une galerie miniaturisée.

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 2/9 |

Après incubation, trois tests sont apparus positifs : GLU (glucose), MAL (maltose) et GGT (gamma glutamyl transférase).

1.1.7. **Indiquer** le principe de la lecture des cupules GLU et MAL.

Le test GGT est obtenu dans un microtube bifonctionnel qui permet de mettre en évidence la PAL (phosphatase alcaline) et la GGT.

1.1.8. **Donner** les conditions à respecter pour assurer la bifonctionnalité du microtube.

Le test PEN (pénicilline) est apparu négatif. Le microtube correspondant contient de la benzylpénicilline.

1.1.9. **Citer** l'enzyme recherchée. Justifier la recherche de cette enzyme et **indiquer** la conséquence de ce résultat négatif sur un traitement éventuel.

Certaines souches de méningocoques sont capsulées.

1.1.10. **Indiquer** la composition chimique de la capsule.

1.1.11. **Expliquer** son rôle dans le pouvoir pathogène des méningocoques.

1.2. La tuberculose

La vaccination par le BCG (bacille de Calmette et Guérin) est recommandée pour les enfants dès la naissance, en particulier en cas de séjours fréquents ou supérieurs à un mois dans les pays à forte incidence tuberculeuse (continent africain, continent asiatique, pays d'Amérique Centrale et du Sud, pays d'Europe Centrale et de l'Est).

1.2.1. **Citer** deux symptômes orientant vers un diagnostic de tuberculose pulmonaire.

1.2.2. **Citer** la principale espèce bactérienne responsable de tuberculose humaine et **indiquer** ses caractéristiques morphologiques et tinctoriales.

Des tests permettent la détection directe dans le produit pathologique des mycobactéries tuberculeuses après amplification du gène codant l'ARNr (ARN ribosomal 16S). Ils sont réalisés à partir d'échantillons provenant de crachats, de lavages broncho-alvéolaires ou d'aspirations trachéales.

1.2.3. **Établir** une comparaison des différents prélèvements cités, en précisant leurs avantages et leurs inconvénients.

L'amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) débute par une étape de dénaturation thermique des acides nucléiques.

1.2.4. **Expliquer** le phénomène de dénaturation thermique.

La révélation des amplicons nécessite l'utilisation d'une sonde.

1.2.5. **Indiquer** la nature de la sonde utilisée pour la détection.

Les échantillons doivent être mis en culture.

1.2.6. **Préciser** trois conditions particulières de culture des mycobactéries.

Des tests de sensibilité aux agents anti-mycobactériens doivent également être effectués grâce à un kit pour antibiogramme. L'**annexe 2** présente un extrait de fiche technique d'un kit.

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 3/9 |

L'antibiogramme de mycobactéries se différencie d'un antibiogramme standard pour bactéries non exigeantes par le milieu utilisé, l'inoculum, l'apport d'antibiotiques, la méthode de lecture et d'interprétation.

1.2.7. À l'aide d'un tableau, **présenter** ces différences.

1.2.8. **Préciser** la nature et le rôle des tubes témoins, et le rôle des tubes contenant l'acide para-aminosalicylique (PAS).

Les résultats obtenus avec la souche isolée de l'expectoration d'un patient de retour d'Afrique sont présentés dans l'**annexe 3**.

1.2.9. **Interpréter** ces résultats.

| |
|--|
| 2. Risques infectieux et vaccination en fonction des conditions du séjour (durée, saison) et des facteurs de risque individuels (30 points) |
|--|

Les risques infectieux concernent notamment la fièvre typhoïde, l'hépatite B et le paludisme.

2.1. La fièvre typhoïde

La vaccination contre la fièvre typhoïde est recommandée pour les voyageurs devant effectuer un séjour prolongé ou dans de mauvaises conditions, dans des pays où l'hygiène est précaire, particulièrement dans le sous-continent indien.

Une souche de *Salmonella* Typhi est identifiée à partir d'une selle isolée sur un milieu chromogène, grâce à ses antigènes O et H.

2.1.1. **Expliquer** le principe général des milieux chromogènes.

2.1.2. **Préciser** la composition chimique et la localisation des antigènes O et H.

2.1.3. **Citer** la technique d'identification utilisée et en **préciser** le principe.

2.1.4. **Présenter** le test permettant de valider les résultats.

La surveillance de la résistance des salmonelles aux antibiotiques est assurée par le Centre National de Référence (CNR) des salmonelles. La technique utilisée est l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé en suivant les recommandations du Comité Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Le rapport du CNR de 2011, publié en 2012, présente notamment l'évolution des résistances du sérotype Typhi de 1997 à 2011. Les résultats sont fournis dans l'**annexe 4**.

2.1.5. **Commenter** succinctement la résistance de *Salmonella* Typhi aux antibiotiques testés et son évolution.

2.1.6. **Préciser** le principal mécanisme d'évolution de cette résistance.

L'amoxicilline a été testée.

2.1.7. **Nommer** la famille d'antibiotiques à laquelle elle appartient et préciser son mode d'action.

Le CNR précise dans son rapport que la CMI de l'azithromycine est déterminée systématiquement, sur toutes les souches, depuis 2009.

2.1.8. **Définir** la CMI.

La détermination de la CMI en routine est réalisée par la technique de l'E-test.

2.1.9. **Détailler** le principe de cette technique.

2.2. L'hépatite B

En dehors des recommandations du calendrier vaccinal (enfants, adolescents, professions de santé et/ou conduites à risque), la vaccination contre l'hépatite B est recommandée pour des séjours fréquents ou prolongés dans les pays à forte ou moyenne prévalence du portage chronique du virus : Afrique subsaharienne, Asie orientale, Amazonie, parties méridionales d'Europe centrale et orientale.

2.2.1. **Présenter** les symptômes de l'hépatite B ainsi que deux modes de contamination possibles.

2.2.2. À partir du schéma annoté du VHB proposé en **annexe 5**, **décrire** ce virus.

La détection et le dosage d'antigène HBe dans un sérum peuvent être réalisés par une méthode immuno-enzymatique associée à une détection finale en fluorescence (ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay). La composition des réactifs d'un coffret est fournie en **annexe 6**.

2.2.3. Le protocole prévoit un étalonnage à l'ouverture de chaque nouveau lot, puis tous les 14 jours. **Indiquer** le réactif à utiliser et **expliquer** la notion d'étalonnage.

Des contrôles, positif et négatif, permettent de valider les résultats.

2.2.4. **Donner** la composition de ces contrôles.

Le vaccin de l'hépatite B est composé de l'antigène HBs obtenu par génie génétique, associé ou non à un adjuvant.

2.2.5. **Définir** la notion d'adjuvant.

2.3. Le paludisme

Selon le BEH du 3 juin 2014, les pays de contamination sont toujours majoritairement situés en Afrique subsaharienne (95,9 %), les cas surviennent principalement chez des sujets d'origine africaine (80,1 %), résidant en France ou arrivant d'Afrique.

2.3.1. **Nommer** le genre et l'espèce responsable d'un cas d'urgence de paludisme.

2.3.2. **Citer** le mode de contamination de l'homme et donner deux recommandations en matière de prophylaxie du paludisme

2.3.3. Au retour d'une zone d'endémie, on peut observer un « accès palustre ». **Définir** cette expression.

2.3.4. La technique de référence pour poser le diagnostic de paludisme est l'observation d'un frottis sanguin coloré au May Grünwald Giemsa.

Préciser les trois principaux critères permettant l'identification de l'espèce en cause.

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 5/9 |

ANNEXE 1

Extrait de la fiche technique Pastorex™ meningitis

PASTOREX™ MENINGITIS, coffret pour 25 tests, contenant :

| Réactif | Suspension |
|--|--|
| R1 : <i>N. meningitidis</i> B/ <i>E.coli</i> K1 | latex rouge sensibilisé par un anticorps monoclonal de souris spécifique de <i>N. meningitidis</i> groupe B / <i>E.coli</i> K1 |
| R2 : <i>N. meningitidis</i> B/ <i>E.coli</i> K1 contrôle négatif | latex rouge sensibilisé par un anticorps monoclonal de souris spécifique de l'anatoxine tétanique |
| R3 : <i>H. influenzae</i> b | latex blanc sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques d' <i>H. influenzae</i> de type b |
| R4 : <i>S. pneumoniae</i> | latex vert sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>S. pneumoniae</i> |
| R5 : <i>Streptococcus</i> B | latex jaune sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>Streptococcus</i> B |
| R6 : <i>N. meningitidis</i> A | latex bleu sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupe A |
| R7 : <i>N. meningitidis</i> C | latex rouge sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupe C |
| R8 : <i>N. meningitidis</i> Y/W 135 | latex rose sensibilisé par des anticorps de lapin spécifiques de <i>N. meningitidis</i> groupes Y et W135 |
| R9 : Contrôle négatif polyvalent | latex prune sensibilisé avec des IgG de lapin non immunisé |
| R10 : Contrôle positif polyvalent | Extrait antigénique polyvalent lyophilisé à reconstituer avec 1 ml d'eau stérile. Contient les antigènes polysaccharidiques de <i>N. meningitidis</i> A, C, B, Y/W135, <i>H. influenzae</i> b, <i>Streptococcus</i> B et <i>S. pneumoniae</i> . Volume suffisant pour 20 réactions |

Tous ces réactifs contiennent 0,02 % de merthiolate.

Les réactifs R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9 contiennent une quantité $\leq 0,1$ % d'azote de sodium.

(Document Bio-Rad)

Extrait de la fiche technique d'un kit pour antibiogramme de mycobactéries**1- PRINCIPE**

Le kit pour antibiogramme *Mycobacterium tuberculosis* permet de déterminer la sensibilité du B.K. à l'isoniazide (INH), la streptomycine (STREP), la rifampicine (RIF) et l'éthambutol (EMB) par la méthode des proportions. Les bacilles tuberculeux (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) sont sensibles au PAS (acide para-aminosalicylique) alors que les mycobactéries atypiques sont toutes résistantes.

2- PRÉSENTATION**- Milieu Löwenstein-Jensen**

6 tubes de témoins sans antibiotiques de 7 ml.

- Milieu Löwenstein-Jensen avec antibiotiques

| | |
|------------------------------|-------------------------------|
| 3 x 7 ml Isoniazid 0.1 µg/ml | 3 x 7 ml Rifampicin 40 µg/ml |
| 3 x 7 ml Isoniazid 0.2 µg/ml | 3 x 7 ml Streptomycin 4 µg/ml |
| 3 x 7 ml Isoniazid 1 µg/ml | 3 x 7 ml Ethambutol 2 µg/ml |
| 3 x 7 ml Isoniazid 10 µg/ml | 3 x 7 ml P.A.S. 0.5 µg/ml |

3- MODE OPÉRATOIRE**Matériel nécessaire non fourni**

- Spatule de platine
- Flacon stérile
- Billes de verre stériles
- Suspension de B.C.G. à 1 mg/ml

Précautions d'utilisation / Consigne d'hygiène et de sécurité

La manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir des mycobactéries nécessite la prise de mesures techniques de prévention et le respect des normes de sécurité en vigueur pour les germes de classe

Ensemencement :

A. Méthode indirecte (préparation de l'inoculum à partir de colonies isolées en culture)

Déposer environ 5 mg de culture pure de mycobactéries dans un flacon stérile contenant une trentaine de billes de verre, de 3 à 5 mm de diamètre.

- Agiter ce flacon à sec pendant 20 à 30 secondes.
- Ajouter 0,1 ml d'eau distillée stérile. Agiter 10 à 15 secondes.
- Ajouter 5 ml d'eau distillée stérile. Agiter 10 à 15 secondes.
- Ajuster la concentration de cette suspension par addition d'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention d'une opacité équivalente à celle d'une suspension de B.C.G. à 1 mg par ml.
- À partir de cette suspension, préparer successivement 3 dilutions : 10^{-1} , 10^{-3} et 10^{-5} .

B. Méthode directe (préparation de l'inoculum à partir du prélèvement)

Incubation :

- Incuber pendant 28 jours à 37°C en position horizontale.
- Après disparition de l'inoculum (3 ou 4 jours), les tubes seront fermés hermétiquement.

Lecture :

- La lecture des résultats peut se faire à partir du 25^e jour.
 - Elle s'effectue en comptant le nombre de colonies apparues dans les différents tubes pour en déduire la proportion de bacilles résistants. Une souche est dite résistante lorsque les bacilles résistants qu'elle contient atteignent ou dépassent un pourcentage limite fixé à 1 %.
 - Les colonies de bacilles tuberculeux ne prennent un aspect typique que si le milieu est bien oxygéné et la partie liquide de l'inoculum bien évaporée.
- Les tubes ne seront fermés qu'après évaporation complète.

(Document Bio-Rad)

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 7/9 |

ANNEXE 3

Résultats d'antibiogramme

| Dilution | Tubes témoins | PAS 0,5 µg | INH | | | | RIF 40 µg | STREP 4 µg | EMB 2 µg |
|------------------------------------|---------------|---------------|--------|--------|------|-------|--------------|---------------|-------------|
| | | | 0,1 µg | 0,2 µg | 1 µg | 10 µg | | | |
| Nombre de colonies par tube | | | | | | | | | |
| 10 ⁻¹ | nappe | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | nappe | | |
| 10 ⁻³ | 62 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 61 | 40 | 25 |
| 10 ⁻⁵ | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

ANNEXE 4

Extrait du rapport annuel de 2011 du CNR des salmonelles
Résistance aux antibiotiques du sérotype Typhi de 1997 à 2011

| Antibiotique | % de souches résistantes en : | | | | | | | |
|-------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1997 (n=40) (N=170) | 2002 (n=40) (N=133) | 2005* (n=63) (N=116) | 2007* (n=65) (N=65) | 2008* (n=85) (N=85) | 2009* (n=120) (N=120) | 2010* (n=108) (N=109) | 2011* (n=102) (N=102) |
| Amoxicilline | 0 | 2,5 | 8,1 | 20 | 11,8 | 16,0 | 15,7 | 13,7 |
| Ceftriaxone/ceftazidime | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Acide nalidixique | 0 | 7,5 | 17,8 | 33,3 | 30,6 | 24,1 | 38,9 | 39,2 |
| Ciprofloxacine | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,7 | 3,9 |
| Cotrimoxazole | 5 | 7,5 | 7,9 | 22,2 | 11,8 | 18,8 | 20,4 | 13,7 |
| Chloramphénicol | 7,5 | 7,5 | 5,9 | 15,6 | 10,6 | 17,9 | 16,7 | 12,7 |
| Tétracycline | 5 | 7,5 | 5,9 | 15,6 | 8,2 | 10,7 | 10,2 | 4,9 |
| Azithromycine | NT | NT | NT | NT | NT | 0 | 0 | 0 |

n : nombre de souches étudiées

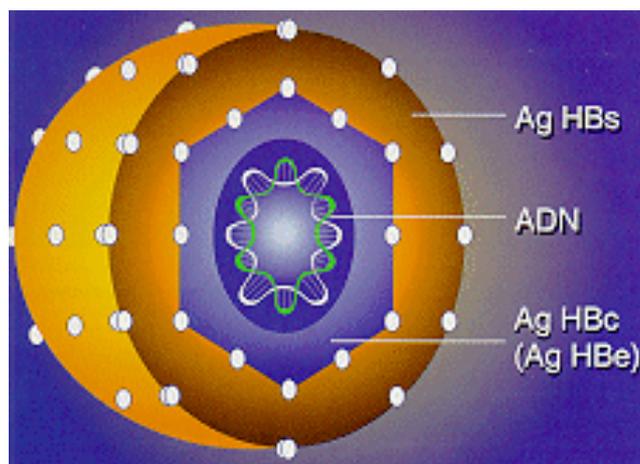
N : nombre de souches du sérotype (une seule par patient) reçues au CNR *Salmonella*

*Souches isolées en France métropolitaine excluant les souches provenant de Mayotte et des Antilles-Guyane.

NT : non testé. La CMI à l'azithromycine est réalisée systématiquement sur toutes les souches depuis 2009

ANNEXE 5

Schéma du VHB



(Source : hepatoweb.com)

ANNEXE 6

Composition des réactifs d'un coffret de détection des antigènes HBe par technique ELFA

| | | |
|---|-----|---|
| 30 cartouches HBE | STR | Prêtes à l'emploi. |
| 30 cônes HBE 1 x 30 | SPR | Prêts à l'emploi. Cônes sensibilisés par de l'anticorps monoclonal de souris anti-HBe |
| Contrôle positif Ag HBe 1 x 1,5 ml (liquide) | C 1 | Prêt à l'emploi. |
| Contrôle négatif Ag HBe 1 x 3 ml (liquide) | C 2 | Prêt à l'emploi. |
| Standard Ag HBe 4 x 1 ml (lyophilisé) | S 1 | Base protéique stabilisée contenant l'antigène recombinant HBe de concentration connue (valeur inscrite sur le flacon). Diluer le contenu du flacon avec 1 ml de diluant pour reconstituer le standard. Après reconstitution, le standard peut être conservé à 2-8°C durant 6 mois. |
| Diluant du standard S1 1 x 5 ml | R 1 | Prêt à l'emploi. Il contient 0,9 g/l d'azoture de sodium. |
| 1 Carte MLE (Master Lot Entry) | | Spécifications des données usine nécessaires à la calibration du test : se référer au Manuel Utilisateur pour la lecture. |

(Document bioMérieux)

| | | |
|---------------------------------------|------------------|--------------|
| BTS Analyses de Biologie Médicale | | Session 2015 |
| E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE) | Code : 15ABE4MB1 | Page : 9/9 |