



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

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Montpellier
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 2016

Durée : 3 heures

Coefficient : 2

Aucun matériel autorisé.

Dossier technique :

- document 1 à 12.....page 6 à 12.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 12 pages, numérotées de 1/12 à 12/12.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2016
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 16ABE4MB1	Page : 1/12

L'EAU, VECTEUR DE MICROORGANISMES PATHOGÈNES

1. L'eau et les contaminations fécales

De nombreuses infections humaines font suite à la consommation d'eau souillée par des micro-organismes (bactéries, virus, parasites) d'origine fécale. **(25 points)**

1.1. Les shigelles

Les shigelles constituent un problème de santé publique important dans les pays en voie de développement. La contamination se fait à partir d'aliments ou d'eau, souillés par des matières fécales de malades ou de porteurs sains.

1.1.1. Détailler le mécanisme physiopathologique qui conduit à une shigellose.

1.1.2. Au laboratoire d'analyses de biologie médicale, les shigelles sont des germes recherchés de manière systématique dans les prélèvements de selles par isolement sur une gélose sélective.

1.1.2.1. Donner le nom de genre des autres bactéries recherchées dans le cadre d'une coproculture standard.

1.1.2.2. Citer les milieux nécessaires pour faire l'ensemble de ces recherches en précisant les conditions d'incubation à respecter.

1.1.2.3. Préciser l'intérêt de ce milieu dans la recherche des shigelles ; **indiquer** et **expliquer** l'aspect des colonies de shigelles sur le milieu BD XLD Agar.

L'identification biochimique de la souche suspecte conduit au résultat *Shigella spp.*

1.1.2.4. Donner la signification du résultat « *Shigella spp.* ».

1.1.2.5. Décrire la démarche permettant de poursuivre l'analyse.

1.2. Les pathovars d'*Escherichia coli*

Des études épidémiologiques au Canada et aux Etats Unis ont montré que le pathovar d'*Escherichia coli* O157 : H7 pouvait être transmis par l'eau. Il est responsable de troubles digestifs avec des complications rénales graves.

Escherichia coli est une entérobactérie qui fait partie de la flore commensale fécale mais certaines souches possèdent des facteurs de virulence qui leur permettent d'exercer un pouvoir pathogène.

1.2.1. Citer le groupe bactérien prédominant dans la flore fécale commensale et **préciser** le rôle majeur que joue cette flore.

1.2.2. Le **document 2** montre l'organisation de la paroi d'*Escherichia coli*. Sur la copie, **donner un titre** au **document 2** et **reporter** les légendes.

1.2.3. Localiser précisément la structure qui permet de classer *Escherichia coli* dans le groupe O157.

1.2.4. La recherche de ce pathovar se fait par isolement sur le milieu sélectif Mac Conkey sorbitol.

1.2.4.1. Relever les constituants jouant le rôle d'inhibiteurs.

1.2.4.2. Déduire de l'aspect des colonies le « caractère sorbitol » des *Escherichia coli* O157.

- 1.2.5.** Le test d'agglutination au latex réalisé dans le cadre du diagnostic d'*E. coli* O157 permet de confirmer rapidement l'identité des colonies suspectes sur milieu Mac Conkey sorbitol.
- 1.2.5.1. Présenter** la réalisation des quatre témoins permettant de vérifier la spécificité de la réaction.
- 1.2.5.2. Donner** le résultat attendu pour ces témoins.
- 1.2.5.3. Construire et légènder** un schéma présentant le principe de ce test.

1.3. Les virus entériques

Les virus entériques humains constituent un véritable danger pour la santé publique. Les infections par *Adenovirus* (virus à ADN) peuvent être facilement transmises car les virus sont entraînés dans l'intestin, sécrétés avec les selles et rejetés en grande quantité dans l'environnement où ils sont capables de persister très longtemps. Ces infections virales restent dans la plupart des cas des infections locales touchant notamment les épithéliums digestifs.

- 1.3.1. Reporter**, sur la copie, les légendes du **document 5** et **préciser** leur signification.
- 1.3.2. Indiquer** la caractéristique structurale qui permet à ces virus de persister dans l'environnement.
- 1.3.3.** Le cycle de multiplication d'un *Adenovirus* est présenté dans le **document 6**. Sur la copie, **nommer** et **décrire** les étapes 1 à 8 de ce cycle.
- 1.3.4.** Le diagnostic d'infection à *Adenovirus* est facile : culture cellulaire, techniques immunologiques, techniques de biologie moléculaire (Polymerase Chain Reaction).
- 1.3.4.1. Comparer** en termes d'avantages et d'inconvénients la mise en œuvre et les résultats fournis par la PCR à ceux de la culture cellulaire. **Se limiter** aux critères suivants :
- rapidité d'obtention du résultat,
 - locaux et équipements spécifiques,
 - spécificité du diagnostic,
 - mesures de sécurité.
- 1.3.4.2. Citer** les éléments nécessaires à la réalisation d'une PCR.

1.4. *Giardia intestinalis*

C'est le parasite intestinal d'origine hydrique le plus souvent identifié au laboratoire. Ses kystes résistent bien aux agents chlorés et restent donc présents dans l'eau de consommation.

Giardia intestinalis suit un cycle monoxène sans étape de maturation dans le milieu extérieur. L'infestation se manifeste fréquemment par une diarrhée modérée, des nausées, un ballonnement abdominal et des selles malodorantes.

- 1.4.1. Définir** un cycle monoxène.
- 1.4.2. Préciser** le stade parasitaire infestant et sa voie d'entrée dans l'organisme.

1.4.3. L'examen parasitologique des selles permet le diagnostic de la giardiase.

1.4.3.1 **Présenter** les critères morphologiques permettant d'identifier un kyste de *Giardia intestinalis*.

1.4.3.2 **Citer** l'autre forme parasitaire pouvant être retrouvée dans les selles d'un sujet atteint de giardiase et **expliquer** pourquoi cette autre forme parasitaire n'est pas impliquée dans la transmission de la giardiase.

2. L'eau et les infections nosocomiales

Des micro-organismes responsables d'infections nosocomiales dont des bactéries multirésistantes, peuvent être retrouvés respectivement dans l'eau du réseau sanitaire ou dans les effluents des établissements de santé. (12 points)

2.1. *Legionella*

Les données épidémiologiques 2013 publiées par l'Institut National de Veille Sanitaire (INVS) indiquent que l'incidence de la légionellose en France en 2013 a été de 1,9/100000 et que 4% de l'ensemble des cas étaient des cas nosocomiaux. Les investigations menées ont montré que les réseaux d'eau sanitaire des hôpitaux étaient la source de la contamination.

2.1.1 **Définir** le terme « incidence » et l'expression « cas nosocomiaux ».

L'agent responsable de la légionellose est *Legionella pneumophila* de séro groupe 1. Cette bactérie est capable de survivre et de se multiplier à l'intérieur des macrophages.

2.1.2 **Citer** deux mécanismes permettant à une bactérie de survivre à l'intérieur d'un macrophage.

2.1.3 Le dépistage de *Legionella pneumophila* se fait par la mise en évidence d'antigènes solubles dans les urines à l'aide d'un test d'immunochromatographie du type cassette BioNexia™ *Legionella*.

2.1.3.1 **Définir** l'expression « antigènes solubles ».

2.1.3.2 **Préciser** les avantages de cette méthode de recherche.

2.1.3.3 **Expliquer** la formation des lignes colorées T et C+ sur la cassette.

2.1.3.4 **Représenter** l'aspect d'une cassette dans le cas d'un résultat non valide.

2.2 *Aspergillus*

Aspergillus fumigatus est un champignon présent dans les matières organiques en décomposition au niveau des canalisations très anciennes du réseau d'eau des services hospitaliers. Il est responsable, chez le patient immunodéprimé, d'infection pulmonaire.

Aspergillus fumigatus est, ainsi, la première cause d'infection nosocomiale chez les patients atteints de leucémies.

2.2.1 **Citer** un prélèvement adapté à la recherche d'un *Aspergillus* lors d'une infection pulmonaire.

Aspergillus peut être également impliqué dans la contamination de prélèvements biologiques, compliquant ainsi l'analyse.

2.2.2 **Indiquer** comment est distinguée au laboratoire une contamination d'une infection à *Aspergillus*.

2.2.3 **Donner** le nom d'un milieu approprié à la culture des *Aspergillus* et **préciser** ses caractéristiques.

2.2.4 L'identification peut reposer sur l'observation microscopique. Un champ microscopique, observé à l'objectif 40, est présenté dans le **document 9**.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2016
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 16ABE4MB1	Page : 4/12

2.2.4.1 Sur la copie, **reporter** les numéros et les **légender**.

2.2.4.2 **Donner** le rôle de la légende « 3 » et **justifier** son implication dans les aspergilloses pulmonaires.

2.3 Bactéries multirésistantes

Plusieurs études menées sur des effluents hospitaliers ont mis en évidence la présence d'entérobactéries productrices de β lactamases à spectre élargi (B.L.S.E.), et en particulier la présence de souches d'*Escherichia coli*.

2.3.1 Préciser la nature et le mode d'action d'une β lactamase.

Les plasmides jouent un rôle important dans la diffusion de la résistance aux antibiotiques par production de BLSE.

2.3.2 Définir un plasmide et **citer** un mécanisme de transfert de plasmides entre bactéries.

2.3.3 Le communiqué du Comité de l'antibiogramme indique les méthodes qualitatives et quantitatives permettant de confirmer la production d'une BLSE.

2.3.3.1 Proposer un schéma légendé pour représenter le résultat positif obtenu lorsque la recherche se fait par une méthode quantitative en milieu solide.

2.3.3.2 Le **document 11** montre le résultat obtenu par une méthode qualitative en milieu solide. Le disque 1 est un disque de ceftazidime.

Indiquer la famille d'antibiotiques à laquelle appartient la ceftazidime et **expliquer** la présence de la zone A entre les disques 1 et 2.

3. Les eaux naturelles et les parasites

Plusieurs cas de bilharziose urogénitale ont été détectés par les autorités sanitaires nationales et régionales fin avril 2014. Les personnes concernées n'ont pas séjourné dans une zone d'endémie de la maladie, mais elles se sont toutes baignées dans le Cavu, la rivière de Sainte-Lucie de Porto-Vecchio en Corse. **(3 points)**

Le cycle d'un agent infectieux responsable de bilharziose est présenté dans le **document 12**.

3.1 Indiquer le mode de contamination **en précisant** la forme parasitaire infestante.

3.2 Nommer en les justifiant les organismes jouant le rôle d'hôte intermédiaire et d'hôte définitif.

3.3 Citer l'élément parasitaire recherché pour identifier l'agent responsable de la bilharziose et **préciser** les principaux critères d'identification de cet élément parasitaire.

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents techniques

- Document 1 : Extrait de la fiche technique de la gélose BD XLD Agar (xylose-lysine-désoxycholate Agar)
- Document 2 : Document à exploiter
- Document 3 : Composition et lecture de la gélose Mac Conkey sorbitol
- Document 4 : Composition du coffret du test d'agglutination au latex pour l'identification d'*Escherichia coli* O157
- Document 5 : Structure d'un *Adenovirus*
- Document 6 : Cycle de multiplication d'un *Adenovirus*
- Document 7 : Un cycle complet de PCR
- Document 8 : Présentation de la cassette du test BioNexia™ *Legionella*
- Document 9 : Observation microscopique d'un état frais à partir d'une culture aspergillaire (grossissement x 400)
- Document 10 : Extrait du communiqué du Comité de l'Antibiogramme (SFM) EUCAST 2014
- Document 11 : Photographie d'un antibiogramme standard sur milieu gélosé
- Document 12 : Cycle d'un agent infectieux responsable de schistosomose

Document 1 : Extrait de la fiche technique de la gélose BD XLD Agar (xylose-lysine-désoxycholate Agar)

Application :

La BD XLD Agar est un milieu différentiel modérément sélectif servant à l'isolement et à la différenciation des agents pathogènes entériques Gram négatifs (*Salmonella* et *Shigella*) dans les échantillons cliniques. Il convient particulièrement à l'isolement des espèces de *Shigella*.

Principe :

Les agents pathogènes sont différenciés des non-pathogènes fermentant le lactose et des non-fermentant le lactose et le saccharose. De plus, le milieu a été formulé de manière à favoriser la croissance des *Shigella* qui, souvent, ne se développaient pas dans les autres formulations en raison de l'ajout d'inhibiteurs toxiques.

Contrairement à la majorité des espèces entériques, les shigelles ne fermentent pas le xylose. La lysine est présente dans le milieu afin de permettre la différenciation de *Salmonella* des non-pathogènes.

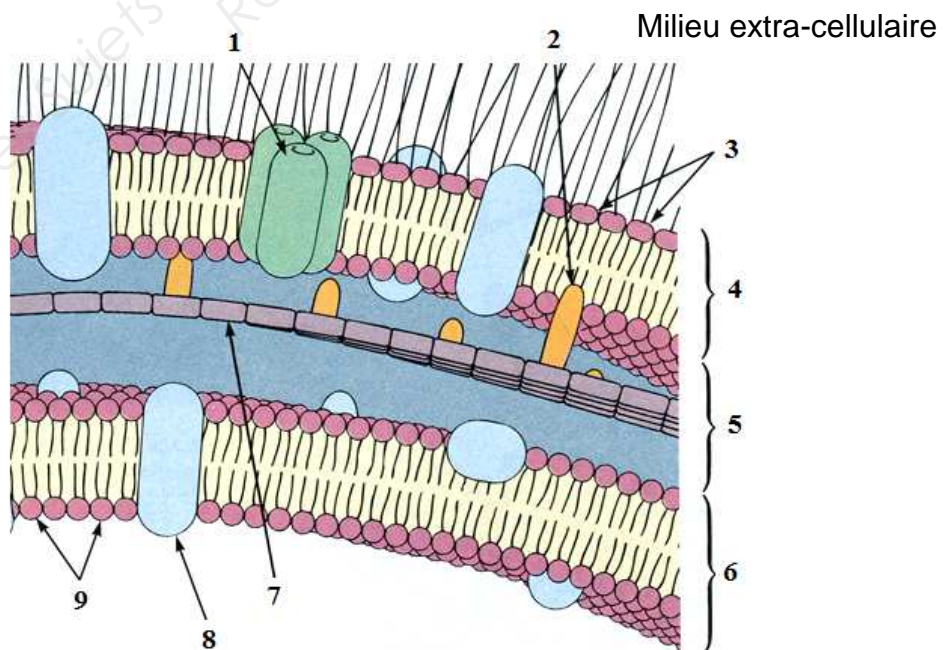
Formule par litre d'eau purifiée :

Xylose	3,5 g	Rouge de phénol	0,08 g
L-lysine	5,0 g	Désoxycholate de sodium	2,5 g
Lactose	7,5 g	Thiosulfate de sodium	6,8 g
Saccharose	7,5 g	Citrate d'ammonium ferrique	0,8 g
Chlorure de sodium	5,0 g	Gélose	13,5 g
Extrait de levure	3,0 g		

pH de $7,4 \pm 0,2$

Source : www.bd.com

Document 2 :



Source : Microbiologie (Prescott Harley Klein) - Éditions De Boeck Université

Document 3 : Composition et lecture de la gélose Mac Conkey sorbitol

Composition :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone	17,0 g
- Peptone pepsique de viande	3,0 g
- D-Sorbitol	10,0 g
- Sels biliaires n°3	1,5 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Rouge neutre	30,0 mg
- Cristal violet	1,0 mg
- Céfixime	0,05 mg
- Tellurite de potassium.....	2,5 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,5 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

Lecture :

Escherichia coli O157 : H7 donne des colonies incolores différentes des colonies caractéristiques d'*E. coli* (roses-rouges).

Source : Biokar Diagnostics

Document 4 : Composition du coffret du test d'agglutination au latex pour l'identification d'*Escherichia coli* O157

COMPOSITION DU COFFRET

Coffret de 100 tests

- Latex test

Particules de latex bleues sensibilisées par des anticorps de lapin dirigés contre l'antigène somatique O157.

100 tests

- Latex de contrôle

Particules de latex bleues sensibilisées par des immunoglobulines de lapin non spécifiques.

100 tests

- Contrôle positif

Suspension d'*E. coli* O157 inactivé.

25 tests

- Contrôle négatif

Suspension d'*E. coli* O116 inactivé.

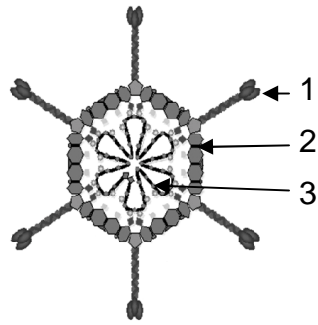
25 tests

- Cartes jetables DR0500

35 cartes jetables

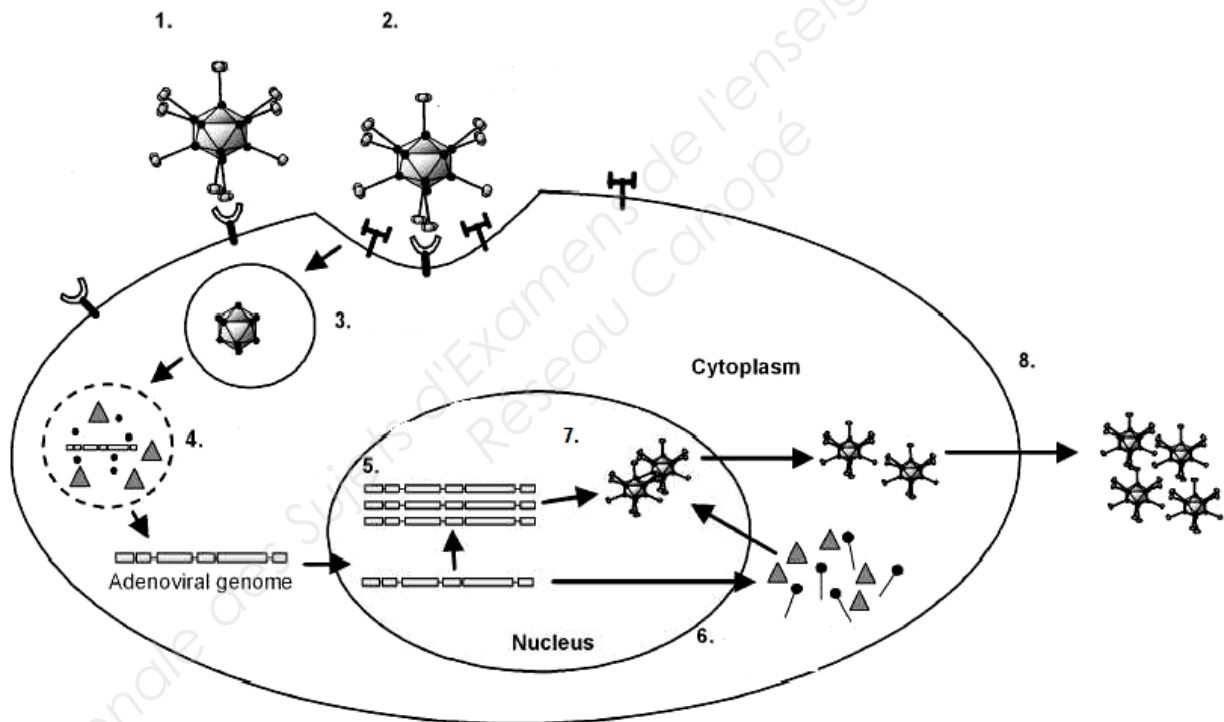
Source : www.oxid.com

Document 5 : Structure d'un Adenovirus



Source : http://www.nature.com/cgt/journal/v13/n9/fig_tab/7700928f1.html

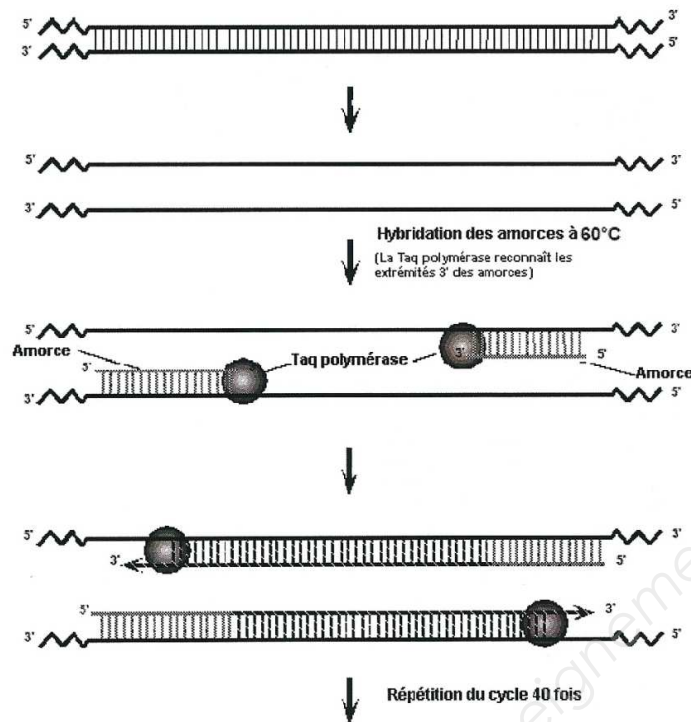
Document 6 : Cycle de multiplication d'un Adenovirus



Source :

http://www.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fo.quizlet.com%2FGFvXIlvHxzrzLNIq4.ph_A_m.png&imgrefurl=http%3A%2F%2Fquizlet.

Document 7 : Un cycle complet de PCR

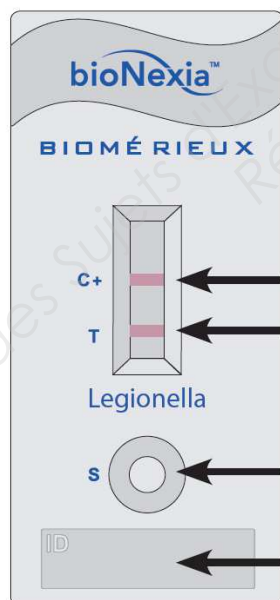


Source : <http://explorer.bio-rad.fr>

Biotechnology Explorer™ Kit PCR Chromosome 16 : PV92 Référence 166-2100EDU

Document 8 : Présentation de la cassette du test BioNexia™ Legionella

Aspect de la cassette :



Source : BioNexia™ Legionella

Fenêtre de lecture :

Ligne de contrôle positif et de migration (C+)
Visible pour tous les résultats valides (positifs et négatifs)

Ligne de test (T) :
Visible pour tous les échantillons positifs

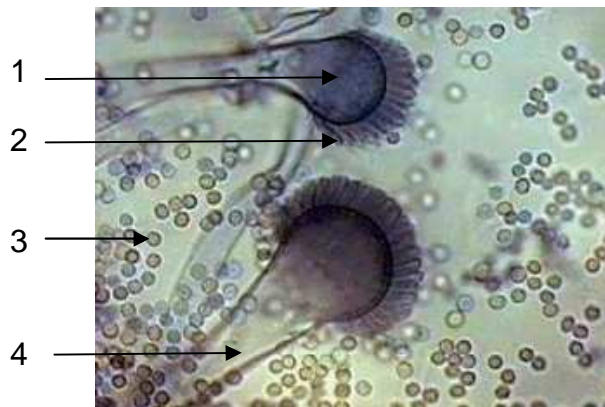
Puits échantillon (S) :
Dépôt de l'échantillon

Zone d'identification :
ID patient ou échantillon

Contenu de la cassette :

- Anticorps de lapin anti-*Legionella* conjugués à des particules d'or au niveau de la zone S ;
- Anticorps de lapin anti-*Legionella* immobilisés sur la zone de test T ;
- Antigènes de contrôle positif intégrés à la ligne de contrôle C+ (*Legionella pneumophila* sérotype 1 inactivé par la chaleur).

Document 9 : Observation microscopique d'un état frais à partir d'une culture aspergillaire (grossissement x 400)



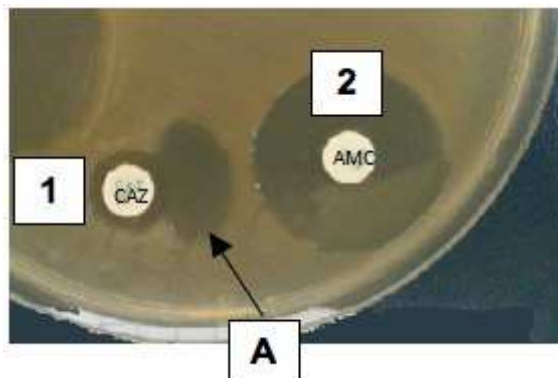
Source : <http://www.moldbacteria.com/mold/sampling-airborne-aspergillus-species.html>

Document 10 : Extrait du communiqué du Comité de l'Antibiogramme (Société Française de Microbiologie) EUCAST 2014

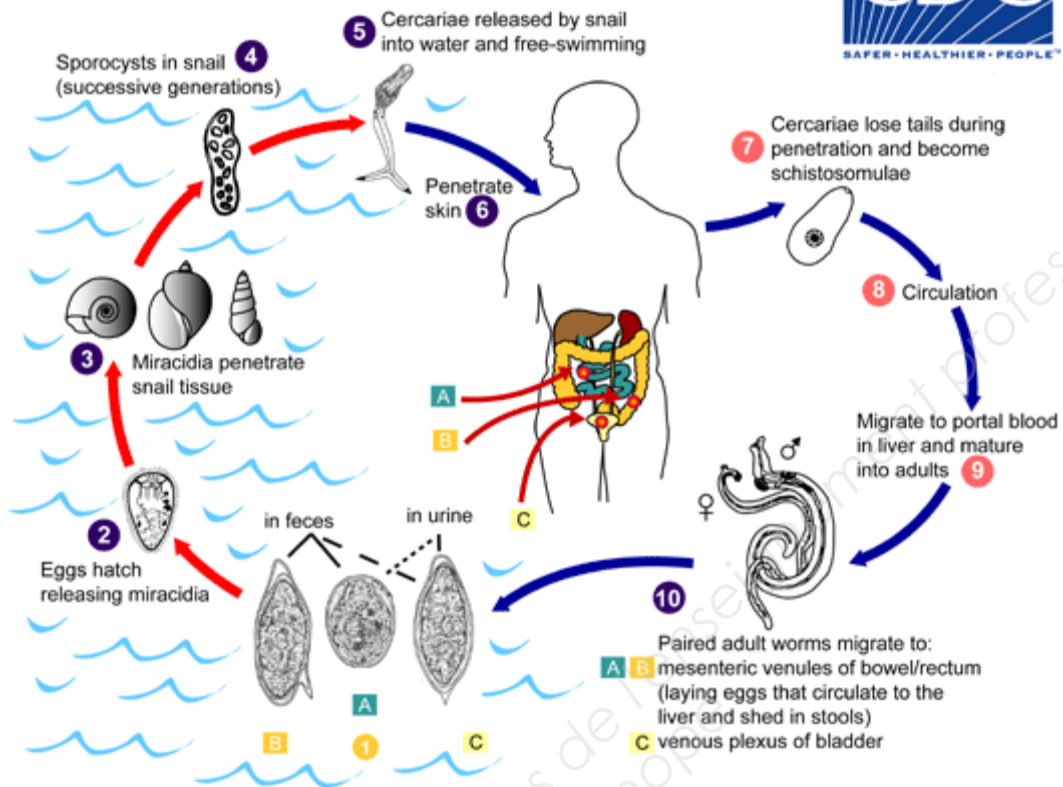
La présence d'une BLSE peut être confirmée par des méthodes quantitatives ou qualitatives :

- Les méthodes quantitatives peuvent consister en :
 - o La mesure d'une augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de céfotaxime, céftazidime ou céfépime combiné(s) à l'acide clavulanique comparativement à la zone d'inhibition autour de ce(s) même(s) disque(s) utilisé(s) sans acide clavulanique.
 - o La diminution d'au moins trois dilutions de la CMI de ces céphalosporines mesurée en présence d'acide clavulanique. Toute synergie significative témoigne de la présence d'une BLSE et permet de distinguer ces enzymes de certaines bêta-lactamases plasmidiques non BLSE hyperproduites (OXA-1/30, SHV-1).
- La méthode qualitative peut consister en l'utilisation de la méthode de la synergie entre deux disques sur l'antibiogramme standard, c'est-à-dire un disque de céfotaxime, céftazidime ou céfépime et un disque contenant de l'acide clavulanique distants de 30 mm.

Document 11 : Photographie d'un antibiogramme standard sur milieu gélosé



Document 12 : Cycle d'un agent infectieux responsable de schistosomose.



Source : www.cdc.gov