RESEAU-CANOPE.FR

CANOPÉ

LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

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.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

1er JOUR

Durée de l'épreuve : 3 H 15

Épreuve E5 - Unité U52

Techniques de microbiologie

Au cours de l'épreuve, le jury appréciera les qualités d'organisation, le respect des règles d'hygiène et de sécurité en laboratoire.

Pour une bonne réalisation de l'épreuve, une gestion optimale du temps imparti est nécessaire en fonction des temps d'incubation. Le candidat prendra soin de bien lire l'ensemble du sujet avant de commencer les manipulations.

Documents interdits - Calculatrice autorisée

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

ÉPREUVE E5. UNITÉ U52
Techniques de microbiologie
1ER JOUR

DÉTECTION DES SALMONELLES RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES.

Le nombre de cas de salmonelloses consécutives à la consommation de produits carnés reste important. Il est donc impératif que l'étape d'enrichissement sélectif qui conditionne l'efficacité du plan de recherche des salmonelles soit régulièrement validée grâce à des matrices alimentaires artificiellement contaminées.
Parmi les souches détectées par ce plan de recherche, certaines apparaissent résistantes ce qui compromet l'efficacité d'une antibiothérapie de première intention, qui préconise l'utilisation des β-lactamines.

Afin de valider le protocole de recherche des salmonelles dans une matrice alimentaire de type viande hachée, le CNR (Centre National de Référence) propose de vérifier la capacité du milieu Rappaport-Vassiliadis à permettre la croissance sélective des salmonelles.

Pour cela, 25 grammes de viande hachée ont été volontairement contaminés par une salmonelle test et des coliformes totaux. Après incubation du pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée, des bouillons d'enrichissement sélectif Rappaport-Vassiliadis ont été inoculés conformément au plan de recherche des *Salmonella*.

1 - Contrôle de l'identité de la souche test de salmonelle. (26 points)

1.1 - Matériel et réactifs :

- Gélose nutritive inclinée de 24 heures ensemencée avec la souche test « S (n° de poste) ».
- Colorants et réactifs usuels d'identification.

1.2 - Protocole opératoire.

Contrôler l'identité de la souche « S » en réalisant une coloration de Gram et un test enzymatique.

Présenter à un examinateur un champ microscopique, accompagné du compte rendu de l'observation.

Réaliser le test enzymatique **en présence d'un examinateur.**

Rédiger une demande justifiée de micro-galerie et milieux associés, **à rendre sur une copie séparée 2 heures après le début de l'épreuve.**

Ensemencer les différents milieux distribués.

1.3 - Compte rendu.

Réaliser un compte rendu des différents examens et tests effectués puis conclure.

2 - Validation de l'étape d'enrichissement sélectif.(37 points)

2.1 - Matériel et réactifs :

- Bouillons Rappaport-Vassiliadis (composition en **annexe 1**) ensemencés notés RVT_0, RVT_6, RVT_{12}, RVT_{18} (à savoir respectivement après 0 heure, 6 heures, 12 heures et 18 heures d'incubation à 37°C) conservés dans la glace.
- Milieu Mac-Conkey (composition en **annexe 1**) en boîte de Pétri (8 boîtes).
- Milieu VRBL (gélose au cristal violet, au rouge neutre, à la bile et au lactose) dont la composition est en **annexe 1**) en surfusion à 55°C (un flacon de 100 cm^3 et un flacon de 50 cm^3 pour la double couche).
- Pipettes graduées stériles 1 mL.
- Boîtes de Pétri vides (6 boîtes).
- 2 tubes de 9 mL d'eau physiologique stérile.
- Billes stériles dans un tube.
- Pot de Javel pour les billes contaminées.
- Boîte de Pétri avec milieu chromogène $SMID_2$ ainsi que la fiche technique de BioMérieux.
- Pipette automatique P_{200} avec cônes stériles.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

2.2 - Protocole opératoire.

2.2.1 - Dénombrement des coliformes totaux dans un bouillon RV à T_0. (15 points)

Réaliser deux dilutions successives au 1/10ème à partir du bouillon RVT_0.

Effectuer une dilution en présence d'un examinateur.

Ensemencer 1 cm^3 de la suspension mère et de chacune des dilutions par inclusion dans la masse d'une gélose VRBL (technique en double couche). Doubler les essais.

Incuber les boîtes à 30°C pendant 24 heures.

2.2.2 - Suivi de l'évolution des deux populations de micro-organismes dans le bouillon RV. (16 points)

Réaliser un dénombrement en surface sur gélose Mac-Conkey de chaque bouillon RV (T_0, T_6, T_{12}, T_{18}) : procéder par étalement en surface de 0,1 mL de chacun de ces bouillons, après agitation vigoureuse.

Doubler les essais et incuber à 30°C pendant 24 heures.

2.2.3 - Recherche des *Salmonella*. (6 points)

À partir du bouillon RV T_{18}, réaliser un isolement sur une gélose $SMID_2$.

Incuber à 37°C pendant 24 heures.

3 - Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une β-lactamine vis-à-vis d'une souche de *Salmonella*. (17 points)

La résistance éventuelle d'une souche de salmonelle vis à vis des β-lactamines peut être mise en évidence par la détermination de la CMI en milieu liquide dont le résultat sera comparé à la concentration critique inférieure (c) de ce même antibiotique.

On déterminera ici, la CMI d'une β-lactamine pour *Salmonella* Newport.

3.1 - Matériel et réactifs :

- Culture pure de 18 heures sur gélose nutritive de *Salmonella* Newport notée "S. Newport".
- Tube contenant 3 cm^3 d'une solution de β-lactamine à 500 $mg.dm^3$ noté «β-lac».
- 10 mL de bouillon Mueller Hinton.
- Étalon Mac Farland de densité 0,5.
- Microplaque stérile à fond conique.
- 1 tube contenant 10 cm^3 d'eau distillée stérile.
- Pipette automatique (P_{100}) et cônes stériles.
- Tubes à hémolyse stériles.

3.2 - Protocole opératoire.

Préparation de l'inoculum « I »

À partir de la souche étiquetée « S. Newport », préparer dans du bouillon Mueller Hinton une suspension étalonnée à environ 10^7 $UFC.cm^{-3}$, soit une densité correspondant à 0,5 Mac Farland.

Préparation de l'antibiotique

À partir de la suspension mère à 500 $mg.dm^{-3}$ (S_1) préparer une suspension diluée au 2/3 dans de l'eau distillée stérile (S_2).

Base Nationale des sujets d'examens de l'enseignement professionnel Réseau CANOPÉ

Préparation de la microplaque

La préparation de la microplaque, dans des conditions rigoureuses d'asepsie, consiste à réaliser deux gammes de concentrations en antibiotique. Chaque gamme est doublée.

Les rangées A et B sont identiques de même que les rangées D et E.

Remplir la microplaque selon les tableaux ci-dessous.

Pour les rangées A et B préparées à partir de S_1

Rangées A et B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Eau distillée (mm^3)	50	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50 → 50
Sol.ATB S_1 (mm^3)	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-
Inoculum « I » (mm^3)	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	-
Bouillon M.H. (mm^3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150

Pour les rangées D et E préparées à partir de S_2

Rangées D et E	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Eau distillée (mm^3)	50	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50 → 50
Sol.ATB S_2 (mm^3)	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-
Inoculum I (mm^3)	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	-
Bouillon M.H. (mm^3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150

Incubation

Incuber 18 heures à 37°C à l'abri des contaminations.

3.3 - Compte rendu.

Compléter les tableaux de l'annexe 2 **à rendre avec la copie**.

Préciser le rôle des cupules 1, 2 et 12.

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

ANNEXE 1 - JOUR 1

Milieu Rappaport-Vassiliadis (RV)

Composants	Quantité pour 1 dm^3
Peptone de soja	4,5 g
Vert de malachite	36 mg
Chlorure de magnésium	7,2 g
Dihydrogénophosphate de potassium	1,5 g
Chlorure de magnésium héxahydraté	37,3 g
pH = 5,2	

Milieu VRBL (Violet Rouge neutre bile lactose)

Composants	Quantité pour 1 dm^3
Peptone de viande	7,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Lactose	10,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Mélange de sels biliaires	1,5 g
Rouge neutre	0,03 g
Cristal violet	0,002 g
Agar- agar	13,0 g
pH = 7,4	

Milieu Mac-Conkey

Peptone de caséine	Quantité pour 1 dm^3
Peptone de viande	17,0 g
Lactose	3,0 g
Chlorure de sodium	10 g
Mélange de sels biliaires	1,5 g
Rouge neutre	0,03 g
Cristal violet	0,001 g
Agar- agar	13,5 g
pH = 7,1	

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau CANOPE

DANS CE CADRE

Académie : Session :

Examen ou Concours Série* :

Spécialité/option* : Repère de l'épreuve :

Épreuve/sous-épreuve :

NOM :

(en majuscules, suivi s'il y a lieu, du nom d'épouse)

Prénoms :

Né(e) le :

N° du candidat

(le numéro est celui qui figure sur la convocation ou la liste d'appel)

* Uniquement s'il sagit d'un examen.

NE RIEN ÉCRIRE

Repère : BAE5TM/1 **SESSION 2009** **Durée : 5 H 30**

Page : 5/5 **Coefficient : 4**

ANNEXE 2 :
TABLEAU DE RÉSULTATS DE LA DÉTERMINATION DE LA CMI

À rendre en fin de J1.
Restitué en J2.

	Rangées A et B	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Jour 1	Dilution S_1												
	Concentration finale en ATB ($mg.dm^{-3}$)												
Jour 2	Résultats Rangée A												
	Résultats Rangée B												

	Rangées D et E	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Jour 1	Dilution S_2												
	Concentration finale en ATB ($mg.dm^{-3}$)												
Jour 2	Résultats Rangée D												
	Résultats Rangée E												

Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel Réseau CANOPE