



SERVICES CULTURE ÉDITIONS
RESSOURCES POUR
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Campagne 2012

B.T.S. Analyses de Biologie Médicale

E4 – U42

Bases scientifiques et technologiques de la biologie médicale

Microbiologie

SESSION 2012

Durée : 3 heures

Coefficient : 2

Aucun document autorisé

Calculatrice interdite

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Le sujet se compose de 10 pages, numérotées de 1/10 à 10/10.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 1/10

Le péril fécal

(Barème sur 80 points)

Les diarrhées constituent un motif fréquent de consultation, surtout dans les pays où l'hygiène est précaire. Si certains épisodes diarrhéiques sont sans lendemain, d'autres sont en revanche à l'origine d'épidémies redoutables.

Ces épidémies explosives sont en rapport avec de nombreux facteurs, parmi lesquels :

- la démographie galopante dans certains pays,
- la récession économique,
- les catastrophes naturelles telles que les tsunamis et les séismes, ainsi que celles provoquées par l'Homme telles que les guerres et la famine.

1. CHOLÉRA

(49 points)

Le choléra est **endémique** dans certaines zones du monde, comme l'Inde, le Bangladesh, l'Amérique latine et l'Afrique. En 2008, le nombre de cas de choléra déclarés à l'OMS a été de 190130 avec 5143 décès, donc un taux de létalité de 2,7%.

Une **épidémie** de choléra est survenue en Haïti à la suite du séisme de janvier 2010.

L'étude épidémiologique donne les résultats suivants (d'après le bulletin OMS du 25 juillet 2011) :

Date	Nombre de cas cumulés de choléra
11 avril 2011	120 000
11 mai 2011	130 000
11 juin 2011	160 000
11 juillet 2011	200 000

La population haïtienne est estimée en 2011 à environ 10 000 000 personnes.

1.1. Définir les termes « épidémie » et « endémie ».

1.2. Définir les notions de prévalence et d'incidence. Calculer la prévalence de la maladie au 11 juillet ainsi que les incidences mensuelles (d'avril à mai / de mai à juin / de juin à juillet). Interpréter ces résultats.

1.3. Décrire les principaux modes de transmission du choléra à l'Homme.

Des tests de diagnostic rapide sont maintenant disponibles et permettent de porter un diagnostic de choléra en quelques minutes à partir d'échantillons biologiques tels que les selles.

La fiche fournie en **annexe 1** reproduit la réalisation technique d'un test immunochromatographique d'identification de *Vibrio cholerae* sérotype O1.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 2/10

- 1.4. Justifier l'appellation de test « immunochromatographique ».
- 1.5. À l'aide de schémas légendés, représenter l'enchaînement des réactions d'un test aboutissant à un résultat positif.
- 1.6. Préciser le rôle du contrôle.

Ce diagnostic n'exclut pas la nécessité d'isoler et d'identifier *Vibrio cholerae* par les techniques usuelles.

La technique d'enrichissement/isolement consiste en un enrichissement systématique des selles par une succession de cultures de 4 à 6 heures en eau peptonée hypersalée alcaline (EPSA) à 37°C suivies d'un isolement sur un milieu sélectif TCBS.

- 1.7. Préciser le rôle de l'étape d'enrichissement. Justifier l'utilisation du milieu EPSA en fonction des caractères cultureux de *Vibrio cholerae*.
- 1.8. La composition de la gélose TCBS est donnée en **annexe 2**.

1.8.1. Indiquer le ou les agents sélectifs du milieu.

1.8.2. Sur milieu TCBS, les colonies suspectes apparaissent jaunes sans centre noir. Conclure sur les caractères biochimiques déterminés en citant les constituants du milieu permettant de mettre en évidence chacun de ces caractères.

L'étape suivante dans l'identification de *Vibrio cholerae* consiste à vérifier la morphologie microscopique et la recherche de l'oxydase.

- 1.9. Indiquer les caractéristiques microscopiques de *Vibrio cholerae* à l'état frais et après coloration de Gram.
- 1.10. Expliquer le principe de recherche de l'oxydase.
- 1.11. Préciser la localisation de l'oxydase dans la cellule bactérienne.
- 1.12. La galerie type pour identifier *Vibrio cholerae* est une minigalerie du type API 20 NE[®]. La deuxième partie de cette galerie miniaturisée correspond à un auxanogramme pour le carbone. Pour ensemercer l'auxanogramme, on remplit l'ensemble tube et cupule de chaque test en utilisant une suspension bactérienne dans un milieu spécial (API AUX Medium[®]) dont la composition qualitative est donnée en **annexe 3**.
- 1.12.1. Indiquer la caractéristique essentielle de ce milieu et justifier son utilisation pour l'auxanogramme.
- 1.12.2. Définir le terme « facteur de croissance ».

Après incubation de la galerieensemencée avec l'espèce *Vibrio cholerae* :

- la cupule GLU de l'auxanogramme donne un trouble
- le tube GLU incubé sous huile de vaseline vire au jaune.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 3/10

1.13. Indiquer et justifier les caractères révélés respectivement dans les deux cupules.

La galerie API 20 NE permet d'identifier l'espèce *Vibrio cholerae*. L'étape suivante consiste à déterminer le sérovar et le biovar de la souche.

On commence par un test d'agglutination avec un antisérum anti O1 (ce test peut être effectué directement sur les colonies suspectes isolées sur TCBS).

L'antigène O1 correspond à une partie du lipopolysaccharide (LPS) présenté en **annexe 4**.

1.14. Identifier les parties 1, 2 et 3 et donner leur rôle respectif.

1.15. À l'aide d'un schéma légendé, indiquer la localisation précise du LPS dans la bactérie.

Un protocole de caractérisation d'une souche responsable du choléra implique la mise en évidence de la toxine. Cette étape est fondamentale car il existe des variants qui ne produisent pas de toxine.

La toxine cholérique est une toxine de type AB qui est le facteur pathogène principal du choléra.

1.16. Préciser le rôle de la sous-unité B.

1.17. Expliquer les conséquences de la pénétration de la sous-unité A dans un entérocyte.

La production de la toxine cholérique est dépendante de la présence du génome du bactériophage « CTX phi ». Sa présence résulte donc d'un phénomène de conversion lysogénique.

1.18. Expliquer le phénomène conversion lysogénique.

Un antibiogramme standard est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Les antibiotiques habituellement testés sont, entre autres :

Bêta-lactamines : Ampicilline, Céfotaxime.

Quinolones et Fluoroquinolones : Acide Nalidixique, Ofloxacine, Norfloxacin, Ciprofloxacine.

Tétracyclines : Tétracycline, Doxycycline, Minocycline.

1.19. Préciser le mode d'action des bêta-lactamines.

1.20. De nombreuses souches sont résistantes à l'amoxicilline, mais restent sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique.

1.20.1. Interpréter ces résultats.

1.20.2. À l'aide de l'**annexe 5**, représenter en grandeur réelle le résultat obtenu autour du disque d'amoxicilline + acide clavulanique et représenter sur le schéma la région de la gélose où la concentration en antibiotique correspond à la CMI.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 4/10

- 1.21. Citer le support génétique le plus fréquent de ce type de résistance acquise à l'amoxicilline chez les bacilles à Gram négatif et donner ses principales caractéristiques. Décrire succinctement le principal mécanisme d'acquisition de cette résistance.

2. POLIOMYÉLITE

(14 points)

De nombreux virus ont une transmission féco-orale : *Poliovirus*, *Virus de l'hépatite A*, *Rotavirus* entre autres.

« La poliomyélite fait sa réapparition en Chine pour la première fois depuis 1999, a annoncé, mardi 20 septembre 2011, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) : neuf cas ont été signalés depuis 2 mois dans la province occidentale du Xinjiang...

La souche de *Poliovirus* en cause dans les infections détectées en Chine est de type 1, considérée comme plus « mauvaise » que celle de type 3. Elle provoque un taux élevé de paralysies et laisse beaucoup d'enfants avec des séquelles ... »

(Source : Le Monde, édition du 1/10/2011)

Le *Poliovirus* est un virus nu à symétrie icosaédrique et à ARN.

- 2.1. Réaliser un schéma légendé du *Poliovirus*.
- 2.2. Expliquer la caractéristique structurale de ce virus permettant sa transmission par l'intermédiaire d'aliments ou d'eau de boisson contaminés par des excréments.
- 2.3. Les trois types de *Poliovirus* sont caractérisés par des antigènes différents ; préciser la localisation de ces antigènes.
- 2.4. Les *Poliovirus* sont des virus à ARN de polarité positive. Donner la signification de l'expression « ARN à polarité positive ».
- 2.5. Le cycle de réplication du *Poliovirus* est présenté en **annexe 6**. Citer les différentes étapes du cycle de multiplication du *Poliovirus* en reportant les numéros correspondants sur la copie.

Au laboratoire, ce virus est cultivé sur certaines lignées cellulaires HeLa ou Vero par exemple.

- 2.6. La multiplication virale peut être détectée par un effet cytopathogène caractéristique. Expliquer ce qu'est un effet cytopathogène et en donner un exemple.
- 2.7. Le sérotype du *Poliovirus* est déterminé grâce à la technique de culture des cellules après séroneutralisation éventuelle du virus à l'aide d'anticorps spécifiques connus. Expliquer le principe de cette technique.
- 2.8. Il existe deux types de vaccins en France contre les *Poliovirus* : un vaccin atténué administré par voie orale et un vaccin inactivé administré par injection. Ces vaccins confèrent une protection contre les trois sérotypes.

Préciser la différence essentielle de composition entre ces deux vaccins.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 5/10

3. AMIBIASE ET ASCARIDIOSE

(17 points)

De nombreuses parasitoses sont liées au péril fécal, parmi elles : l'amibiase intestinale et l'ascaridiose.

- 3.1. Indiquer sous quelle forme infestante ces deux parasites pénètrent chez l'Homme.
- 3.2. Réaliser un schéma légendé à la même échelle de ces deux formes infestantes.
- 3.3. Proposer deux moyens à mettre en œuvre pour lutter contre le péril fécal.
- 3.4. La forme végétative d'*Entamoeba histolytica* se multiplie activement dans l'organisme.
 - 3.4.1. Donner les caractéristiques morphologiques de la forme végétative virulente.
 - 3.4.2. Justifier la gravité des symptômes provoqués par *Entamoeba histolytica* ainsi que le taux élevé de mortalité observé en absence de traitement.
- 3.5. Indiquer le(s) but(s) d'une technique de concentration de selles pour faire le diagnostic d'une parasitose digestive et donner le principe d'une technique diphasique.
- 3.6. Amoeba-Spot IF[®] est un test de sérodiagnostic de l'amibiase par immunofluorescence indirecte (IFI) dans le sérum.
 - 3.6.1. Donner une représentation schématique légendée des différentes étapes d'une réaction d'immunofluorescence indirecte.
 - 3.6.2. Préciser comment s'effectue la lecture.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 6/10

ANNEXE 1

TEST PERMETTANT LA DÉTECTION QUALITATIVE DES ANTIGÈNES O1 DE *Vibrio cholerae*

Ce test est un test immunochromatographique qualitatif et rapide pour la détection de l'antigène O1 de *Vibrio cholerae* dans les prélèvements de selles et d'eaux.

Ce test utilise une barette comprenant :

- Une fenêtre de dépôt S contenant des anticorps libres monoclonaux de lapin anti *Vibrio cholerae* O1 marqués à l'or colloïdal,
- Une ligne T contenant des anticorps de lapin anti *Vibrio cholerae* O1 fixés,
- Une ligne C contenant des anticorps de chèvre anti-immunoglobulines de lapin.

RÉACTIFS

- barettes d'immunochromatographie.
- tampon de migration : détergent, conservateur.

ÉCHANTILLONS

- selles, eaux.

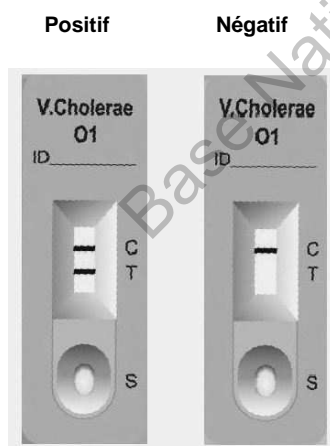
PROTOCOLE DU TEST

- Réaliser si nécessaire, une suspension de selles dans de l'eau physiologique stérile, afin d'obtenir un échantillon liquide.
- Sortir le dispositif de son emballage protecteur et enlever l'opercule de la fenêtre de dépôt.
- Déposer quatre gouttes d'échantillon dans la fenêtre S, attendre approximativement 3 minutes pour que l'échantillon soit correctement absorbé.
- Ajouter 2 gouttes de tampon, attendre 15 minutes avant de lire les résultats. Observer le développement de la couleur rouge dans la zone Contrôle C, et lire le résultat de la zone Test T.

RÉSULTATS :

Résultat positif	Présence d'une ligne rouge à la fois dans la zone Contrôle et la zone Test
Résultat négatif	Présence d'une ligne rouge uniquement dans la zone Contrôle
Résultat non valide	Présence d'une ligne rouge dans la zone Test et absence de ligne rouge dans la zone Contrôle
	Absence de ligne dans la zone Test et dans la zone Contrôle

EXEMPLES DE RÉSULTATS



Légende :

- S fenêtre de dépôt
- C zone contrôle
- T zone test

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 7/10

GÉLOSE TCBS

FORMULE - TYPE

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

Pour 1 litre de milieu :

- Peptones.....	10,0 g
- Peptones de levure.....	5,0 g
- Saccharose.....	20,0 g
- Bile de bœuf bactériologique .	5,0 g
- Cholate de sodium	3,0 g
- Citrate de sodium.....	10,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	10,0 g
- Chlorure de sodium	10,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,0 g
- Bleu de bromothymol	40,0 mg
- Bleu de thymol.....	40,0 mg
- Agar- agar.....	14,0 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 8,6 ± 0,2.

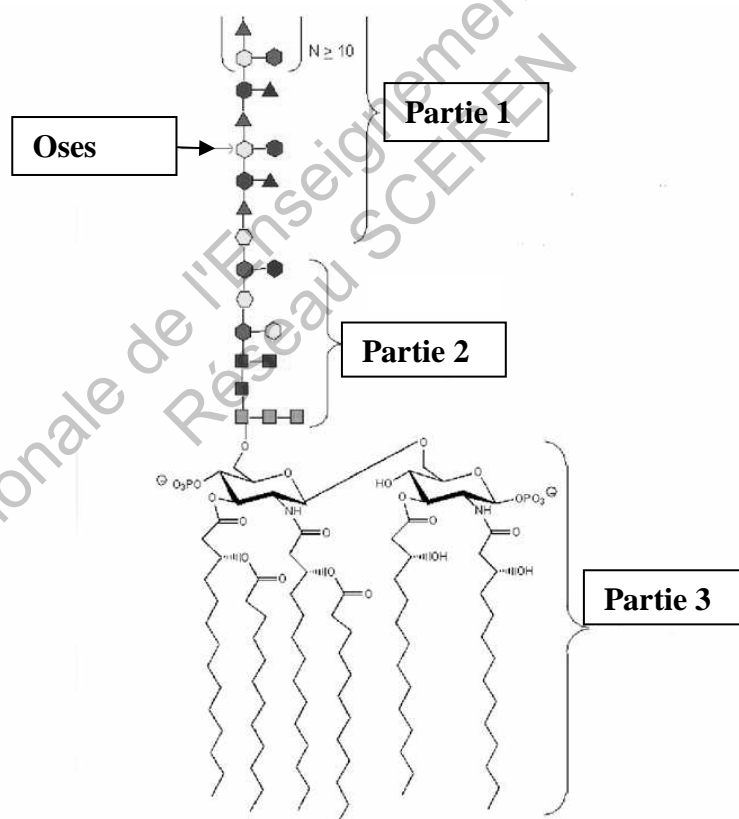
ANNEXE N°3

Composition Api AUX médium®

- Sulfate d'ammonium
- Agar-agar
- Solution de facteurs de croissance
- Solution d'oligoéléments
- Dihydrogénophosphate de sodium
- Chlorure de potassium
- Eau déminéralisée
- pH final : 7,0 – 7,2

ANNEXE 4

STRUCTURE D'UN LIPOPOLYSACCHARIDE D'UNE BACTÉRIE GRAM NÉGATIF



BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2012
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	Code : 12ABE4MB1	Page : 9/10

ANNEXE 5

Extrait des recommandations du CASFM

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
PENICILLINES					
Amoxicilline	25 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Amoxicilline/acide clavulanique	20/10 µg	≤ 2/2	>8/2	≥ 23	< 16

ANNEXE 6

CYCLE DE MULTIPLICATION DU *POLIOVIRUS*

