



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

**Ce document a été mis en ligne par le Réseau Canopé
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 2017

Durée : 3 heures

Coefficient : 2

Aucun document ou matériel autorisé.

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 11 pages, numérotées de 1 à 11.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 1/11

LES SOINS MIS EN CAUSE DANS LES INFECTIONS

1. Les infections au sein de l'établissement hospitalier (10,5 points)

L'état altéré d'un patient peut le rendre plus vulnérable lors d'une hospitalisation. Il peut alors contracter une infection au sein de l'établissement d'accueil.

1.1. *Staphylococcus aureus* et sa détection

La bactérie *Staphylococcus aureus*, et particulièrement les souches dites « SARM » sont souvent responsables d'infections associées aux soins (infections nosocomiales) suite à des facteurs iatrogènes. On observe souvent une septicémie. Un des facteurs de virulence de la bactérie est l'acide lipoteichoïque qui a une localisation pariétale.

- 1.1.1. **Définir** les expressions « infections nosocomiales » et « facteurs iatrogènes ».
- 1.1.2. **Schématiser et légénder** de manière succincte l'ensemble de la structure portant l'acide lipoteichoïque.
- 1.1.3. **Décrire** le mécanisme d'une bactériémie pathologique thromboembolique induite par *Staphylococcus aureus*.
- 1.1.4. **Citer** un autre mécanisme de bactériémie pathologique et **proposer** une étiologie.

La gélose de Chapman est un milieu permettant d'isoler *Staphylococcus aureus* à partir d'un prélèvement biologique.

- 1.1.5. **Préciser** le rôle des principaux constituants de ce milieu.
- 1.1.6. **Justifier** l'aspect caractéristique des colonies de *Staphylococcus aureus* sur le milieu de Chapman.

1.2. Antibiogramme des souches responsables d'infections nosocomiales

Les *Staphylococcus* peuvent posséder de nombreux moyens de résistance aux β -lactamines. L'EUCAST, dans ses recommandations 2016, propose une recherche de pénicillinase ainsi que la recherche de la résistance à la méticilline, et ce, pour toutes les espèces de *Staphylococcus*.

- 1.2.1. **Expliquer** précisément le mode d'action des β -lactamines sur la cellule bactérienne.

Le **document 3** montre quelques résultats de l'antibiogramme effectué sur une souche de *Staphylococcus aureus*.

- 1.2.2. **Interpréter** les résultats fournis.
- 1.2.3. **Proposer** une technique appropriée pour la recherche d'un gène *mecA* additionnel.

10 % des infections nosocomiales peuvent être imputées à des bactéries du genre *Enterococcus* qui, comme les *Streptococcus*, présentent une résistance naturelle (résistance à bas niveau) aux aminosides. L'EUCAST recommande la recherche d'une résistance acquise (résistance de haut niveau) aux aminosides.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 2/11

- 1.2.4. **Préciser** la cible des aminosides ainsi que la cause de la résistance naturelle des *Enterococcus* à ces antibiotiques.
- 1.2.5. **Expliquer** comment la recherche de la résistance acquise est réalisée au laboratoire.

2. Les infections faisant suite à la prise de médicaments (15,5 points)

Clostridium difficile est une bactérie responsable, surtout chez les personnes au-delà de 65 ans, de diarrhées après antibiothérapie, qui peuvent évoluer en colites pseudomembraneuses potentiellement graves. La transmission de cette bactérie au sein de la population âgée des maisons de retraite inquiète les autorités sanitaires.

La ville de Marseille compte une population d'environ 10 000 personnes domiciliées en EHPAD (Etablissements d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes). L'agence régionale de santé PACA, rapporte que de février à septembre 2013, une souche de virulence accrue, *Clostridium difficile* O27, a contaminé 10 personnes hébergées dans ce type d'établissement, et ayant suivi une antibiothérapie. Sur ces 10 patients, 3 sont décédés.

- 2.1. **Rappeler** les caractéristiques morphologiques, tinctoriales et culturelles des bactéries du genre *Clostridium*.
- 2.2. **Calculer** le taux de mortalité au cours de cet épisode épidémique.

Clostridium difficile exprime son pouvoir pathogène par le biais de différentes toxines dont une toxine de type « AB ». Comme pour de nombreuses bactéries, ces toxines sont souvent à la base de leur pathogénicité. C'est le cas, par exemple, de la toxine cholérique et de la toxine diphtérique.

- 2.3. **Citer** les microorganismes responsables du choléra et de la diphtérie.
- 2.4. **Expliquer** la signification de « toxine de type AB ».
- 2.5. **Comparer** brièvement les effets cellulaires des toxines cholérique et diphtérique.

Au laboratoire, le caractère toxigène de la souche peut être confirmé par la recherche des toxines excrétées par la bactérie directement dans les selles.

Le **document 4** propose la composition du kit de détection des toxines de *Clostridium difficile*.

- 2.6. **Schématiser** le principe de cette technique pour une cupule révélant un résultat positif.
- 2.7. **Proposer** une procédure de validation de cette technique.

La propagation de la bactérie d'un patient à l'autre dans l'établissement de santé peut être facilitée par sa capacité à sporuler.

- 2.8. **Indiquer** les propriétés de la spore bactérienne.

L'isolement de *Clostridium difficile* à partir des selles des patients infectés peut se faire sur le milieu CDSA.

- 2.9. **Expliquer** le caractère sélectif et différentiel du milieu CDSA.
- 2.10. **Préciser** les conditions d'incubation de ce milieu.
- 2.11. **Décrire et justifier** l'aspect des colonies suspectes de *Clostridium difficile* sur le milieu CDSA.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 3/11

3. Les infections nosocomiales à étiologie non bactérienne (14 points)

3.1. Transmissions virales dans les services de pédiatrie.

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est responsable de la bronchiolite du nourrisson. Dans les services de pédiatrie, 50 % du personnel est porteur du virus, et les manifestations évoquent un syndrome grippal. 15 % des soignants présentent une forme asymptomatique, néanmoins très contagieuse.

Le VRS est un *Orthomyxovirus*, à ARN simple brin de polarité négative, possédant donc une transcriptase virale. Sa capsid est de symétrie hélicoïdale et il s'agit d'un virus enveloppé. L'enveloppe contient les protéines H (à activité hémagglutinante) et N (neuraminidase). Contrairement au virus grippal, la totalité du cycle viral se déroule dans le cytoplasme des cellules respiratoires infectées.

3.1.1. Réaliser un schéma simple et légendé du VRS.

3.1.2. Préciser le mécanisme de formation de l'enveloppe virale.

3.1.3. Définir la notion d'ARN à polarité négative.

3.1.4. Proposer un schéma simple de l'étape de réplication du génome viral.

Le diagnostic de certaines viroses peut passer par l'infection *in vitro* de cultures cellulaires eucaryotes. Ces cultures cellulaires se réalisent généralement sous des PSM de type II.

3.1.5. Indiquer la signification du sigle PSM.

3.1.6. Donner succinctement le principe de fonctionnement d'un PSM de type II et **préciser** les différents types de protections assurés.

L'infection virale des cellules eucaryotes en culture, peut se traduire par un effet cytopathogène de celles-ci.

3.1.7. Proposer un exemple d'effet cytopathogène.

Les milieux de Hanks ou de Eagle, sont des milieux synthétiques, couramment utilisés pour la culture cellulaire eucaryote. Ces milieux sont en général supplémentés en sérum de veau fœtal (SVF).

3.1.8. Définir la notion de milieu synthétique.

3.1.9. Préciser le rôle du SVF dans les milieux de culture.

3.2. Infections nosocomiales à éléments fongiques

Bien que relativement rares, les infections nosocomiales à dermatophytes sont pourtant à considérer. Ainsi, en 2009, dans un hôpital pédiatrique américain, un enfant de deux ans, admis à plusieurs reprises suite à une infection à *Trichophyton tonsurans* récidivante, a contaminé, sur une période de 5 mois, 21 membres du personnel dans cet hôpital.

3.2.1. Citer les autres genres de dermatophytes.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 4/11

Le **document 7**, présente le résultat d'un examen microscopique utile à l'orientation de l'identification des dermatophytes.

3.2.2. Préciser quel type d'examen microscopique a été mis en œuvre dans ce cas.

3.2.3. Reporter sur la copie la légende des éléments numérotés 1 et 2.

3.2.4. Citer un milieu sélectif approprié à la culture des dermatophytes, et en **préciser** les conditions d'incubation.

L'augmentation du nombre d'infections mycosiques nosocomiales est imputée à l'utilisation grandissante des antibiotiques à large spectre (déséquilibre des flores résidentes) et de chimiothérapie. L'un des organismes fongiques impliqués est *Cryptococcus neoformans*, notamment chez les patients fortement immunodéprimés.

3.2.5. Préciser la nature unicellulaire ou pluricellulaire de ce champignon, et en **déduire** la catégorie à laquelle il appartient.

3.2.6. Indiquer le principal facteur de virulence de ce microorganisme.

3.2.7. Citer un produit pathologique susceptible de contenir ce microorganisme.

Une galerie de type « API 20 C AUX » permet de réaliser l'identification de ce microorganisme sur la base d'un auxanogramme.

3.2.8. Analyser la composition du milieu « API C medium » et **justifier** son utilisation dans la détermination de l'auxanogramme du microorganisme à identifier.

3.2.9. Expliquer le rôle de la cupule 0 de la galerie.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 5/11

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents techniques

Document 1 : Indicateurs colorés de pH couramment utilisés dans les milieux de culture

Document 2 : Extraits du communiqué du CA-SFM - EUCAST 2016

Document 3 : Résultats partiels d'un antibiogramme sur milieu gélosé d'une souche de *Staphylococcus aureus*

Document 4 : Composition du kit RIDASCREEN® de détection des toxines A et B de *Clostridium difficile*, à partir d'un échantillon de selles (*Document R-Biopharm AG*)

Document 5 : Extrait de la fiche technique du milieu CDSA (*Document Beckton-Dickinson*)

Document 6 : Schéma d'un PSM de type II (*INRS*)

Document 7 : Examen microscopique à partir d'une culture de *Trichophyton*

Document 8 : Extrait de la fiche technique de la microgalérie « API 20 C AUX » (*Document BioMérieux*)

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2017
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	17ABE4MB1	Page : 6/11

Document 1 : Indicateurs colorés de pH couramment utilisés dans les milieux de culture

<i>Indicateur coloré de pH</i>	<i>Couleur en milieu acide</i>	<i>Couleur en milieu basique</i>
Rouge de phénol	jaune	rouge
Rouge de méthyl	jaune	rouge
Rouge neutre	rouge	jaune
Bromocrésol pourpre	Jaune	violet
Bleu de Bromothymol	Jaune	bleu

Document 2 : Extraits du communiqué du CA-SFM - EUCAST 2016

[La recherche de résistance par le biais d'une pénicillinase se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme, à l'aide d'un disque de Pénicilline G à 1 unité].

Si le diamètre est < 26 mm, la souche est résistante.

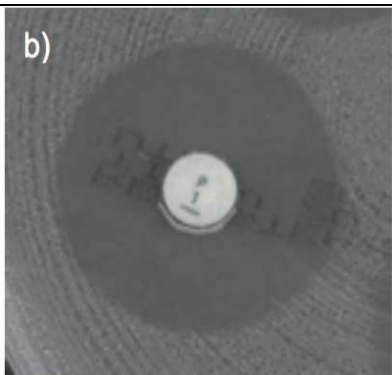
Si le diamètre est ≥ 26 mm ET la bordure est nette, la souche est résistante.

Si le diamètre est ≥ 26 mm ET la bordure est floue, la souche est sensible.

La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl-pénicillines (oxacilline, cloxacilline), est recherchée à l'aide d'un disque de Céfoxitine 30 µg dans les conditions standards de l'antibiogramme. Il ne doit pas être tenu compte d'une éventuelle zone fantôme pour la lecture des diamètres d'inhibition.

Pour *S.aureus* [...], avec des diamètres d'inhibition de 22, 23, 24 mm [...], il convient de rechercher l'expression d'une PLP additionnelle [...] ou la présence d'un gène *mecA* additionnel par une technique appropriée.

Document 3 : Résultats partiels d'un antibiogramme sur milieu gélosé d'une souche de *Staphylococcus aureus*

<i>Antibiotique testé</i>	<i>Diamètre mesuré (mm)</i>	<i>Image sur la gélose</i>
<i>Pénicilline G (1 unité)</i>	27	 <small>Source EUCAST 2016</small>
<i>Céfoxitine 30 µg</i>	24	<i>Non fournie</i>

Document 4 : Composition du kit RIDASCREEN[®] de détection des toxines de *Clostridium difficile*, à partir d'un échantillon de selles (Document R-Biopharm AG)

« Plate »	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support, revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant spécifiquement les toxines de <i>Clostridium difficile</i>
« Diluent »	100 mL	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
« Wash »	100 mL	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
« Control + »	2 mL	Contrôle positif, toxine inactivée, prêt à l'emploi
« Control - »	2 mL	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
« Conjugate 1 »	13 mL	Anticorps conjugués à la biotine ciblant les toxines de <i>Clostridium difficile</i> dans une solution protéique stabilisée, prête à l'emploi.
« Conjugate 2 »	13 mL	Conjugué peroxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prête à l'emploi.
« Substrate »	13 mL	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
« Stop »	8 mL	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

Remarques : - La streptavidine possède une affinité naturelle et forte pour la biotine.

- L'activité enzymatique est révélée par l'apparition d'une couleur.

Document 5 : Extrait de la fiche technique du milieu CDSA (Document Beckton-Dickinson)

Applications :

La *Clostridium difficile* Selective Agar (CDSA) (gélose sélective de *Clostridium difficile*) est recommandée comme milieu sélectif et différentiel pour l'isolement primaire de *Clostridium difficile* à partir d'échantillons fécaux.

Composition :

Digestion peptique de tissu animal	32,0 g
Mannitol	6,0 g
Phosphate monopotassique	1,0 g
Phosphate disodique	5,0 g
Chlorure de sodium	2,0 g
Facteurs de croissance	3,3 g
Sulfate de magnésium	0,1 g
Gélose	20,0 g
Rouge neutre	0,03 g
Cyclosérine	0,25 g
Céfoxitine	0,016 g

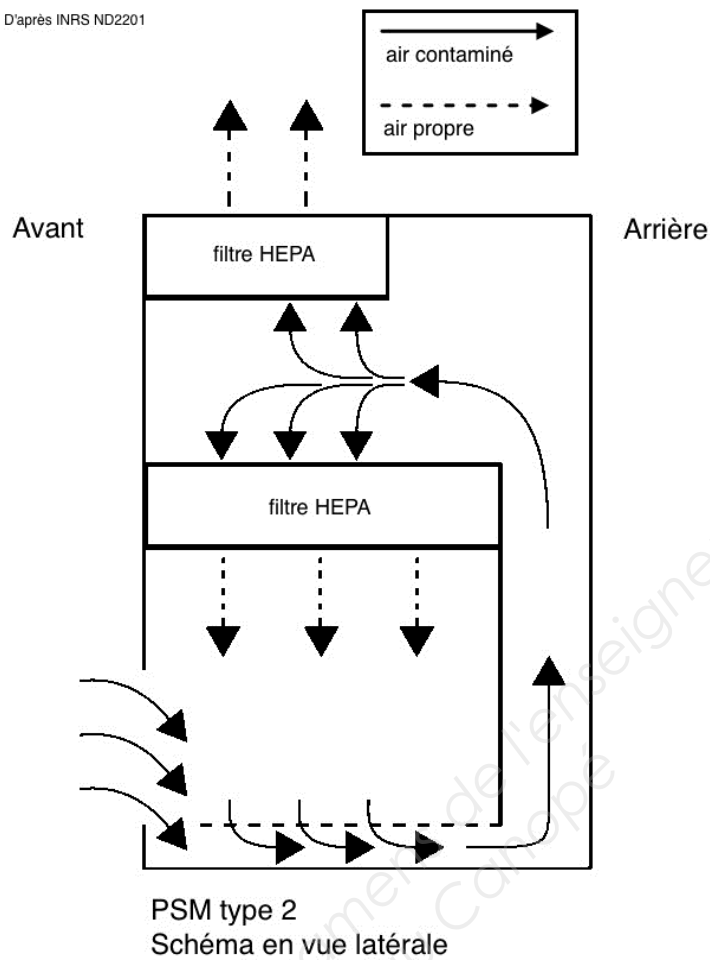
pH 7,2 +/- 0,2

Principe (extraits) :

Le CDSA utilise une base peptonée contenant 0,6 % de mannitol. Les ingrédients ont été optimisés pour améliorer l'isolement et la taille des colonies de *C. difficile*. Les acides aminés présents dans la base gélosée sont utilisés par *C. difficile*, ce qui élève le pH. [...]. Le mannitol est utilisé par un plus petit nombre de *Clostridium spp.*, ce qui améliore l'isolement de *C. difficile*. [...]

Document 6 : Schéma d'un PSM de type 2

D'après INRS ND2201



Document 7 : Examen microscopique à partir d'une culture de *Trichophyton*



Source : phil.cdc.gov

**Document 8 : Extrait de la fiche technique de la microgalerie « API 20 C AUX »
(Document BioMérieux)**

INTRODUCTION

La galerie API 20 C AUX est un système d'identification précise des levures les plus couramment rencontrées basé sur le **principe de l'auxanogramme**.

PRINCIPE

La galerie API 20 C AUX est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation. Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant comme **seule source de carbone**.

Un résultat positif est révélé par un **trouble dans la cupule**.

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API 20 C AUX est reportée dans la liste des tests ci-dessous :

TESTS	SUBSTRATS	QTE (mg/cupule)
0	Aucun	-
GLU	D-GLUcose	1,2
GLY	GLYcérol	1,2
2KG	calcium 2-céto-Gluconate	1,2
ARA	L-ARAbinose	1,2
XYL	D-XYLose	1,2
ADO	ADOnitol	1,2
XLT	XyLiToI	1,2
GAL	D-GALactose	1,9
INO	INOsitol	2,36
SOR	D-SORbitol	1,2
MDG	Méthyl-αD-Glucopyranoside	1,2
NAG	N-Acétyl-Glucosamine	1,2
CEL	D-CELlobiose	1,2
LAC	D-LACTose (origine bovine)	1,2
MAL	D-MALtose	1,2
SAC	D-SACcharose	1,2
TRE	D-TREhalose	1,2
MLZ	D-MéLéZitose	1,2
RAF	D-RAFfinose	1,9

Milieu

API C Medium 7 mL	Sulfate d'ammonium	5 g
	Phosphate monopotassique	0,31 g
	Phosphate dipotassique	0,45 g
	Phosphate disodique	0,92 g
	Chlorure de sodium	0,1 g
	Chlorure de calcium	0,05 g
	Sulfate de magnésium	0,2 g
	L-Histidine	0,005 g
	L-Tryptophane	0,02 g
	L-Méthionine	0,02 g
	Agent gélifiant	0,5 g
Solution de vitamines	1 mL	
Solution d'oligo-éléments	10 mL	
Eau déminéralisée qsp	1000 mL	
pH final : 6,4-6,8 (à 20-25°C)		

MODE OPERATOIRE (extrait)

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 mL) ou une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 mL) ou utiliser un tube contenant 2 mL de la même solution sans additif.
- A l'aide d'une pipette, prélever une fraction de colonie par aspiration ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 h).
- Réaliser une suspension de levures de turbidité égale à 2 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.
- Ouvrir une ampoule d'API C Medium et y transférer environ 100 µL de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.

Inoculation de la galerie

- Remplir les cupules avec la suspension obtenue dans API C Medium. Éviter la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule. Veiller à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber 48-72 h ± 6 h à 29°C ± 2°C.

LECTURE

Cupule plus trouble que le témoin : croissance.
Cupule aussi limpide que le témoin : pas de croissance.