



Ce document a été mis en ligne par l'organisme [FormaV®](#)

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :

www.formav.co/explorer

B.T.S. ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

E4 – U42 **Bases scientifiques et technologiques** **de la biologie médicale**

Microbiologie

SESSION 2019

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 12 pages, numérotées de 1/12 à 12/12.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 1/12

DÉPISTAGE ET INFECTIONS CHEZ LA FEMME ENCEINTE

La surveillance de la grossesse comprend plusieurs consultations et examens médicaux obligatoires permettant de vérifier l'état immunitaire de la femme enceinte (immunisation contre la toxoplasmose, la rubéole, l'hépatite...) et de dépister des infections *a priori* bénignes pour la mère mais qui peuvent être préjudiciables pour le fœtus ou le nouveau-né.

1. La toxoplasmose chez la femme enceinte (12 points)

1.1. Épidémiologie de la toxoplasmose

Le sérodiagnostic de la toxoplasmose fait partie des examens prénataux obligatoires. En France, la toxoplasmose est l'une des infections les plus prévalentes avec des valeurs de séroprévalence variables chez l'adulte comprises entre 20 et 55 %.

La toxoplasmose est une anthroponose due à un parasite, *Toxoplasma gondii*.

L'infection primaire chez la femme enceinte non immunisée est asymptomatique dans 80 à 90 % des cas mais les risques de transmission fœtale sont importants avec des conséquences sur le développement du fœtus. L'incidence annuelle de la toxoplasmose congénitale est d'environ 1 pour 1000 naissances.

1.1.1. **Définir** la séroprévalence de la toxoplasmose chez le sujet immunocompétent et l'incidence de la toxoplasmose congénitale.

1.1.2. **Indiquer** la classification du parasite *Toxoplasma gondii*.

1.1.3. **Identifier** les stades morphologiques parasitaires numérotés de 1 à 4 dans le cycle de *Toxoplasma gondii*.

1.1.4. **Identifier** le ou les hôte(s) définitif(s) et intermédiaire(s). **Justifier**.

1.1.5. En **déduire** la nature du cycle parasitaire.

Les chats domestiques sont de moins en moins porteurs et vecteurs du parasite chez les femmes citadines. Si ces femmes sont dépistées séronégatives vis-à-vis de la toxoplasmose lors de leur grossesse, elles font l'objet d'un suivi mensuel et doivent prendre quelques précautions.

1.1.6. **Préciser** et **justifier** les mesures prophylactiques préconisées chez la femme enceinte séronégative.

1.2. Diagnostic de la toxoplasmose

Des résultats sérologiques chez une patiente enceinte sont donnés dans le dossier technique à différentes semaines d'aménorrhée (SA).

1.2.1. **Interpréter** ces résultats.

L'ADN parasite peut être recherché dans différents prélèvements, incluant le liquide amniotique (LA). La PCR (Polymerase Chain Reaction) quantitative en temps réel (qPCR) est devenue la technique de référence pour la recherche directe du parasite.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 2/12

Des cibles variées ont été décrites, avec initialement le gène B1 du toxoplasme ainsi qu'une séquence répétitive d'ADN, nommée Rep-529.

Une qPCR avec utilisation de sondes fluorogéniques en tandem (couple donneur / extincteur) et des amorces spécifiques du gène Rep529 a été réalisée chez la patiente précédente. Les résultats sont donnés dans le dossier technique.

1.2.2. **Indiquer** deux avantages d'utilisation de cette technique dans le diagnostic de la toxoplasmose congénitale.

1.2.3. **Interpréter** les résultats de la patiente et **conclure**.

Si le résultat est positif, le prélèvement de liquide amniotique (LA) peut être envoyé à des centres experts faisant partie du CNR Toxoplasmose afin de réaliser une mise en culture sur des fibroblastes embryonnaires humains (cellules MRC5). La culture des parasites présents dans le LA va permettre le génotypage de la souche de *Toxoplasma gondii* isolée de la patiente à des fins épidémiologiques. La culture et le repiquage de ces cellules MRC5 nécessite l'utilisation d'un milieu MEM Eagle.

1.2.4. **Expliciter** le sigle CNR.

1.2.5. **Expliquer** le rôle des constituants suivants présents dans le milieu MEM Eagle :

- le sérum de veau fœtal (SVF)
- le rouge de phénol
- l'amphotéricine B

2. Portage et infections materno-fœtales bactériennes (14 points)

2.1. Dépistage du *Streptococcus agalactiae*

Dans le cadre de la prévention anténatale du risque infectieux à *Streptococcus agalactiae*, la Haute Autorité de Santé (HAS) préconise un dépistage systématique du portage vaginal du streptocoque du groupe B (SGB) lors du dernier trimestre de grossesse, entre 34 et 38 SA.

2.1.1. **Énumérer** les principales caractéristiques morphologiques, tinctoriales et biochimiques du SGB.

2.1.2. **Citer** deux infections néonatales impliquant les SGB.

Un prélèvement vaginal réalisé chez une femme enceinte à 36 SA a été isolé sur un milieu chromogène, CHROMagarTMSTREPB.

2.1.3. **Donner** le principe et l'intérêt d'un milieu chromogène.

2.1.4. **Préciser** les conditions d'incubation et l'aspect des colonies suspectes sur ce milieu chromogène.

2.1.5. **Donner** le principe du test rapide permettant de confirmer l'identification du SGB au sein de la classification de Lancefield.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 3/12

Un contrôle qualité de cette gélose a été réalisé à partir de *S.agalactiae* ATCC® 12386 et de *S.agalactiae* ATCC® 13813.

2.1.6. **Préciser** la notion de souche ATCC®.

2.2. Risque d'infection néonatale à *Escherichia coli* K1

Escherichia coli de sérotype K1 occupe aussi une part importante des risques d'infection néonatale. Le dépistage d'*E. coli* à partir d'un prélèvement vaginal est préconisé mais il est surtout réalisé lors d'une bactériémie néonatale non SGB.

2.2.1. **Préciser** la localisation et la nature biochimique de l'antigène K.

2.2.2. **Citer** les autres antigènes d'*E. coli* et **préciser** leur localisation cellulaire.

2.2.3. **Préciser** deux rôles de l'antigène K dans le pouvoir pathogène.

Si le portage ou une infection urinaire à *E. coli* K1 est mis en évidence chez la femme enceinte, une antibiothérapie est préconisée avant l'accouchement. Le phénotype sauvage de cette bactérie est sensible pour de nombreux antibiotiques mais des résistances sont apparues et leur pourcentage par catégories d'antibiotiques est devenu élevé et inquiétant. Certaines souches d'*E. coli* K1 ont acquis des résistances aux antibiotiques suivants : amoxicilline (AMX), céfoxitine (FOX), et ceftazidime (CAZ).

2.2.4. **Indiquer** la famille et les sous-familles auxquelles appartiennent ces antibiotiques.

2.2.5. **Proposer** deux mécanismes de résistance retrouvés chez *E. coli* pour cette famille d'antibiotiques.

L'augmentation des résistances s'explique par la pression de sélection due à l'utilisation importante des antibiotiques et à la possibilité de transferts de gènes de résistance.

2.2.6. **Citer** et **définir** deux modes de transferts génétiques bactériens.

La spectrométrie de masse permet d'identifier ou confirmer la présence de SGB et d'*E. coli* (sans le sérotype).

2.2.7. **Commenter** brièvement les étapes de 1 à 4 de cette méthode appliquée à l'identification microbienne.

3. Candidose vaginale pendant la grossesse (7 points)

Une candidose vaginale pendant la grossesse est parfois le début d'une mycose vulvo-vaginale récidivante (MVVR). En effet, une proportion importante de femmes présentant une MVVR (4 épisodes par an ou plus) a développé la première mycose pendant une grossesse.

Les candidoses font partie des infections opportunistes.

3.1. **Citer** le genre et l'espèce de l'agent pathogène principalement responsable de ces mycoses vaginales.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 4/12

3.2. **Définir** « infections opportunistes ».

Le diagnostic d'une MVVR est réalisé à partir d'un prélèvement vaginal.

3.3. **Préciser** le matériel utilisé et les conditions de conservation du prélèvement.

3.4. **Décrire** l'aspect microscopique caractéristique d'un frottis vaginal coloré par la méthode de Gram dans le cas d'une candidose.

Le prélèvement a été ensemencé sur une gélose Sabouraud + chloramphénicol.

3.5. **Justifier** l'utilisation de ce milieu.

Une patiente présentant une MVVR a déjà été soignée par un antifongique. Afin de vérifier l'absence de résistance, un antifongigramme a été réalisé à partir de la souche de *Candida* isolée en utilisant la galerie ATB Fungus 3 de chez BIOMERIEUX®.

3.6. **Réaliser** sur la copie la lecture des résultats de cette galerie, présentés dans le dossier technique. **Conclure**.

4. Dépistage du parvovirus B19 chez la femme enceinte (7 points)

Devant une éruption cutanée (rash) de nature indéterminée chez une femme enceinte, le dépistage sérologique du parvovirus B19 peut être effectué. Le parvovirus B19 est l'agent du mégalérythème épidémique ou « 5^{ème} maladie infantile » (après la rubéole, la rougeole, les oreillons, et la varicelle). Le risque d'atteinte fœtale est d'environ 10 %. Le virus attaque les hématies fœtales entraînant une anémie et un œdème généralisé visible à l'échographie du 2^{ème} ou 3^{ème} trimestre. Lorsque l'atteinte fœtale est soupçonnée, le diagnostic se fait par des méthodes sérologiques.

4.1. **Citer** les principaux critères permettant la classification des virus et **indiquer** ceux correspondant au parvovirus B19.

4.2. **Préciser** la signification « - DNA » et « + DNA » apparaissant dans le cycle viral du parvovirus B19.

Le diagnostic sérologique permettant de mettre en évidence la présence d'immunoglobulines de type M ou G dirigées contre les protéines de capsid VP1 et VP2 du parvovirus B19 peut être réalisé par la technique d'immuno-empreinte (western-blot) à partir du sérum maternel. Des échantillons issus de plusieurs patientes (Sample ID) ont été analysés.

4.3. **Présenter** le principe de dépistage par cette méthode.

4.4. **Conclure** sur le cas de l'échantillon 102.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 5/12

DOSSIER TECHNIQUE

Liste des documents

Document 1 : Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*

Document 2 : Résultats sérologiques toxoplasmiques d'une patiente enceinte

Document 3 : Résultats qPCR à partir du liquide amniotique (LA) d'une patiente enceinte

Document 4 : Extrait de la fiche technique du milieu CHROMagar™ StrepB

Document 5 : Étapes de la spectrométrie de masse (en MALDI TOF) appliquée à l'identification bactérienne

Document 6 : Extrait de la fiche technique ATB FUNGUS 3 de BIOMERIEUX®

Document 7 : Résultats des scores de croissance sur la feuille de lecture ATB FUNGUS 3

Document 8 : Cycle viral du parvovirus B19

Document 9 : Extrait de la fiche technique du Kit recomLine® Parvovirus B19 IgM (Biosynex Fumouze)

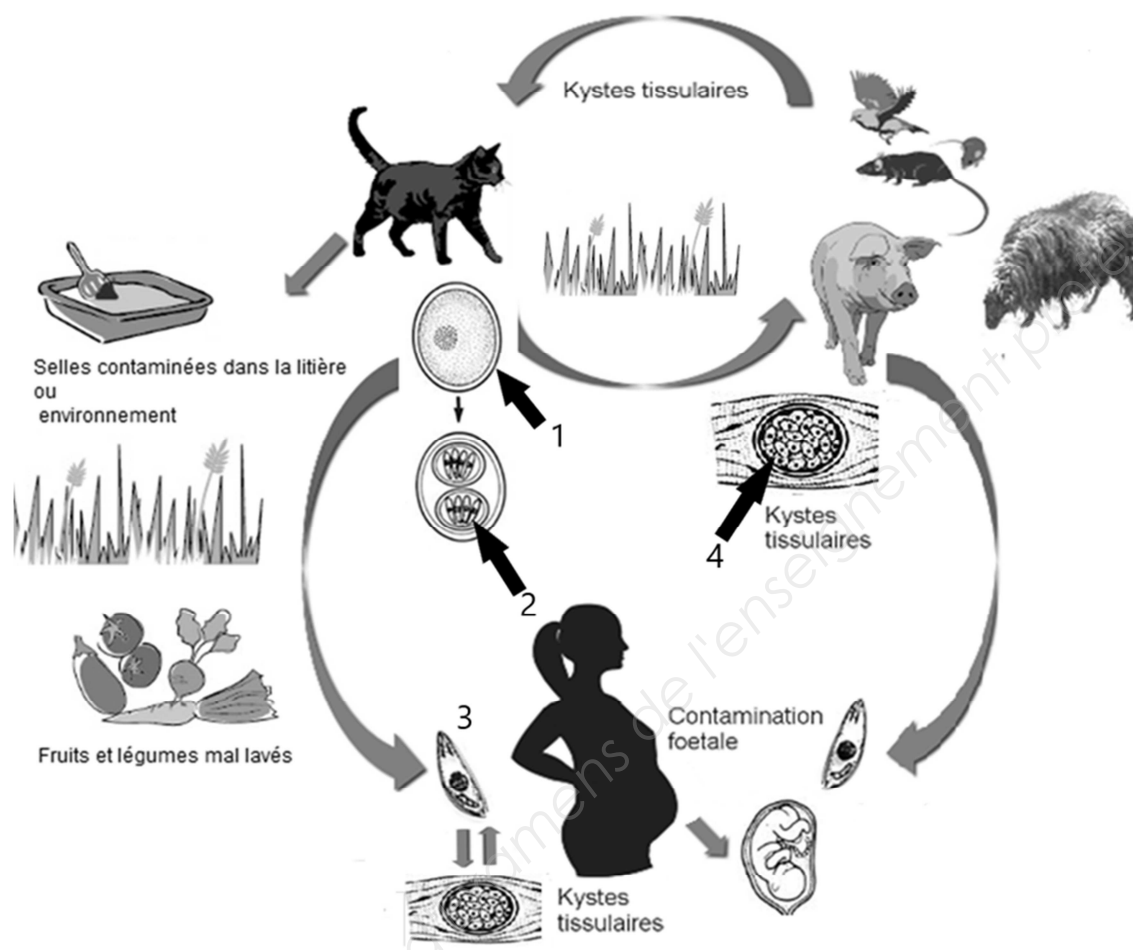
Résultats de patients (Sample ID) pour le dépistage des IgM par western- blot

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 6/12

DOCUMENT 1

Cycle parasitaire de *Toxoplasma gondii*

Modifié à partir de <https://www.esccap.fr/sante-publique/toxoplasmose-risque-enceinte-grossesse.html>
(© Christophe Lebis Creative Commons) et <https://conseils-veto.com>



DOCUMENT 2

Résultats sérologiques toxoplasmiques d'une patiente enceinte

Sérologie de la toxoplasmose :

Dates de prélèvements en semaine d'aménorrhée (noté SA)

Techniques réalisées en Chimiluminescence (CMIA)

Prélèvements (en SA)	4	8	12	16	20	24
Anticorps TOXO IgG (Taux UA/mL)	4,6	4,5	4,7	35,5	38,2	37,3
Anticorps TOXO IgM (Index)	0,55	0,53	3,15	5,25	4,52	3,24

Interprétations :

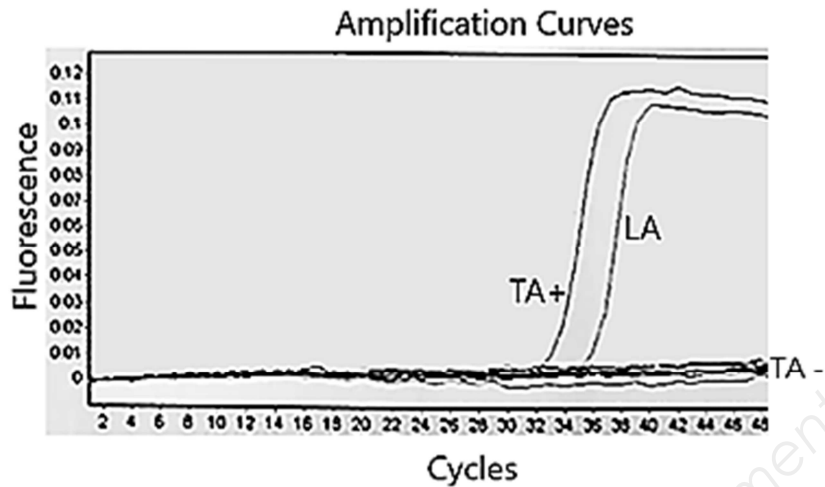
Taux TOXO IgG	Négatif < 7,5	Douteux 7,5 à 10,5	Positif > 10,5
Index TOXO IgM	Négatif < 0,8	Douteux 0,8 à 0,99	Positif ≥ 1

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 7/12

DOCUMENT 3

Résultats qPCR à partir du liquide amniotique (LA) d'une patiente enceinte

Impression écran modifiée de résultats d'un diagnostic prénatal réalisé par le laboratoire CERBA



TA - : témoin négatif d'amplification
TA + : témoin positif d'amplification
LA : prélèvement de liquide amniotique

DOCUMENT 4

Extrait de la fiche technique du milieu CHROMagar™ StrepB

<http://www.chromagar.com/publication>

INTERPRETATION :

Apparence des colonies typiques : *Streptococcus agalactiae* (groupe B) → mauve
Enterococcus spp → bleu métallique
Lactobacillus, *Leuconostoc*, *Lactococcus* → rose pâle,
Croissance limitée à inhibée pour les autres microorganismes → bleu, incolore

PERFORMANCE & LIMITATIONS :

L'incubation sous CO₂ peut générer des faux positifs. Des souches rares de *Streptococcus* du groupe B peuvent nécessiter 24h de plus d'incubation pour obtenir une taille de colonie satisfaisante.

Quelques souches de *Streptococcus* des groupes C, F & G peuvent donner des colonies mauves.

Certains organismes comme *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* peuvent donner des colonies mauve-violet pâle. La plupart des *Streptococcus* de groupe A donnent des colonies mauves comme des faux positifs. Cependant, ils peuvent être différenciés par un test PYR : PYR(+) --> StrepA ; PYR(-) --> StrepB

Quelques souches de *Staphylococcus* peuvent donner des colonies mauves. Cependant, elles peuvent être différenciées par un test catalase. L'identification finale peut nécessiter des tests additionnels comme l'hydrolyse de l'hippurate, des tests CAMP, ou des tests immunologiques.

Les tests de confirmation par agglutination au latex peuvent être effectués directement depuis les colonies suspectes observées sur le milieu.

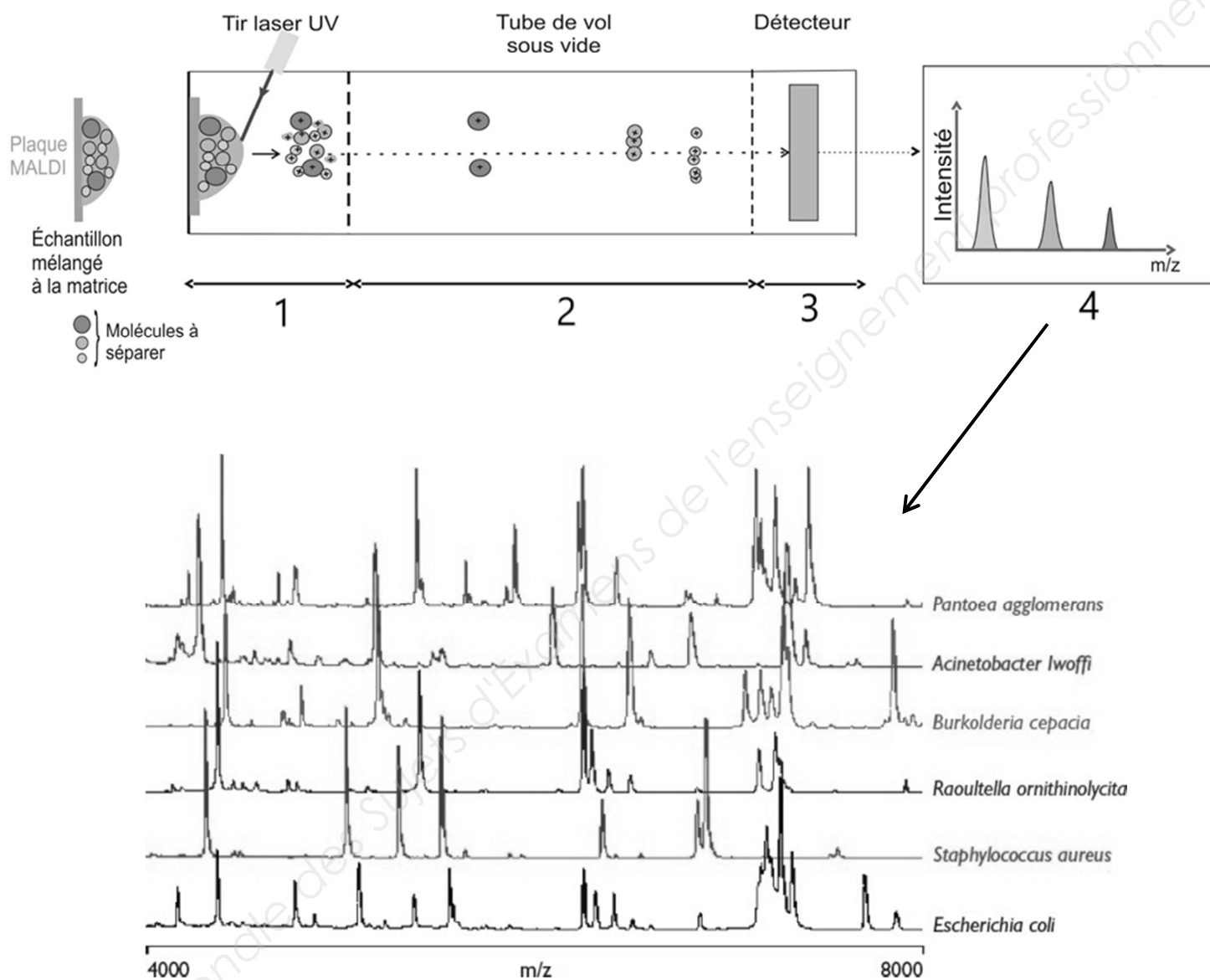
CONTROLE QUALITE :

Merci d'effectuer un contrôle qualité en accord avec l'utilisation du milieu et les normes locales de contrôle qualité. La bonne préparation du milieu peut être testée grâce à l'isolement des souches ATCC suivantes : *S.agalactiae* ATCC® 12386 → mauve ; *S.agalactiae* ATCC® 13813 → mauve ; *E.faecalis* ATCC® 29212 → bleu métallique ; *E.coli* ATCC® 25922 → inhibé ; *C.albicans* ATCC® 10231 → inhibé.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2019
E4 – U42 : B.S.T.B.M. (MICROBIOLOGIE)	19ABE4MB1	Page : 8/12

Étapes de la spectrométrie de masse (en MALDI TOF) appliquée à l'identification bactérienne

D'après <http://disciplines.ac-Montpellier.fr/biotechnologies>
<https://www.revmed.ch>



Extrait de la fiche technique ATB FUNGUS 3 de BIOMERIEUX®

1. Détermination de la CMI (AMB, FCA, ITR, VRC) :

- Rechercher et quantifier dans chaque cupule une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou *mini API* (se reporter aux manuels d'utilisation).
- Avant de procéder à la lecture visuelle, il est recommandé de poser la galerie sur un fond noir (planche de lecture ATB FUNGUS 3 disponible auprès de bioMérieux). Pour chaque antifongique, partir de la concentration la plus faible et noter sur la fiche de résultats un score de croissance pour chacune des cupules comparativement aux cupules témoin :

Définition	Score
Absence de réduction de croissance	4
Légère réduction de croissance	3
Réduction marquée de croissance	2
Très faible croissance	1
Absence de croissance	0

- Pour l'Amphotéricine B (AMB), la CMI correspond à la concentration la plus faible permettant d'obtenir une inhibition complète de la croissance (score 0).

Note : une (ou des) colonie(s) isolée(s) ou un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 1.

- Pour le Fluconazole (FCA), l'Itraconazole (ITR) et le Voriconazole (VRC), du fait de la possibilité d'un phénomène de croissance résiduelle, la CMI correspond à la concentration d'antifongiques la plus faible permettant d'obtenir un score 2, 1 ou 0.

Note : un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

2. Interprétation de la Flucytosine (5FC) :

Rechercher et quantifier dans les deux cupules une croissance par lecture visuelle ou automatique par l'automate ATB ou *mini API*® (se reporter aux manuels d'utilisation).

Pour la Flucytosine testée à deux concentrations :

Score de croissance		Résultats		La souche est :	
c	C	c	C		
0/1/2	0/1/2	-	-	S	SENSIBLE
3/4	0/1/2	+	-	I	INTERMEDIAIRE
3/4	3/4	+	+	R	RESISTANTE

Notes :

- La définition des scores de croissance est la même que celle décrite ci-dessus pour la détermination des CMI.
- Un aspect de croissance en périphérie de cupule doit être lu avec un score 0 ou 1.

3. Concentrations critiques utilisées :

Concentrations critiques (en mg/l) recommandées par le CLSI/NCCLS pour <i>Candida</i> spp. (2, 3)			
	S	I	R
Flucytosine	≤ 4	8 - 16	≥ 32
Amphotéricine B*	ND	ND	ND
Fluconazole	≤ 8	16 - 32	≥ 64
Itraconazole	≤ 0,125	0,25 - 0,5	≥ 1
Voriconazole	≤ 1	2	≥ 4

ND : Non formellement défini par le CLSI/NCCLS

Notes :

- Candida krusei* étant une espèce intrinsèquement résistante au Fluconazole, le test doit être interprété R systématiquement.
- *: pour l'Amphotéricine B, une CMI ≥ 2 mg/l suggère une résistance (2).

LIMITES DU TEST

- Un temps d'attente entre les diverses étapes de la manipulation (de la préparation de l'inoculum à l'incubation de la galerie) peut affecter les résultats.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées. Des cultures mixtes ou contaminées peuvent affecter les résultats.
- L'espèce *Candida haemulonii* ne doit pas être testée avec la galerie ATB FUNGUS 3 du fait d'une croissance variable entraînant une interprétation aléatoire des CMI aux antifongiques.
- Les espèces *C. albicans*, *C. dubliniensis* et *C. tropicalis*, peuvent présenter un phénomène de croissance résiduelle (trailing growth) entraînant une surestimation des CMI des antifongiques azolés (Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole), plus particulièrement en cas de lecture automatisée de la galerie ATB FUNGUS 3. En conséquence, il est recommandé de vérifier visuellement les CMI des antifongiques azolés pour ces espèces, notamment dans le cas d'une résistance apparente au Voriconazole (du fait de la résistance très peu fréquente à cet antifongique).
- Il est recommandé d'interpréter Intermédiaire (I) les souches de *C. glabrata* présentant un résultat Sensible (S) au Fluconazole et/ou à l'Itraconazole, du fait d'une moindre sensibilité naturelle de cette espèce vis-à-vis de ces antifongiques.

DOCUMENT 7

Résultats des scores de croissance sur la feuille de lecture ATB FUNGUS 3

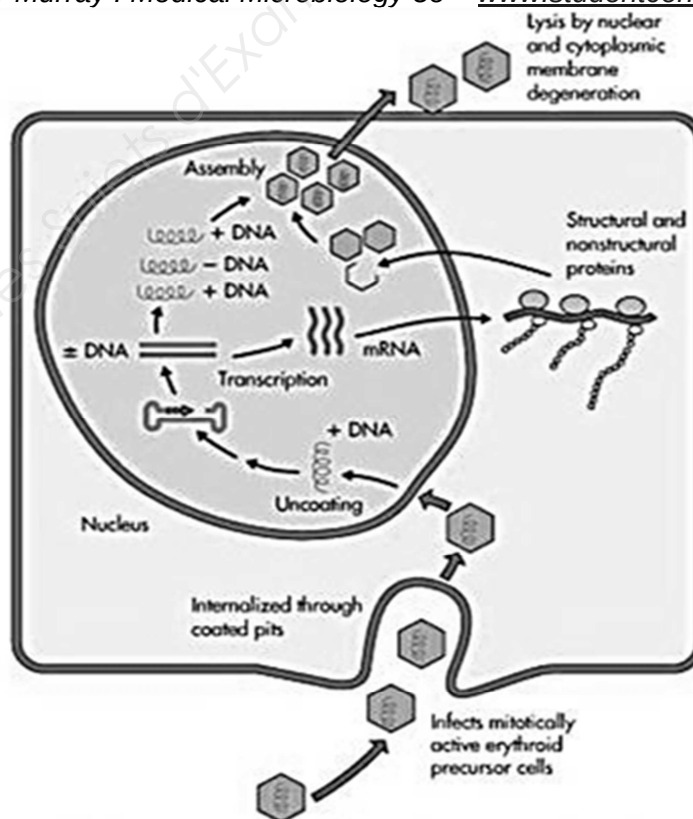
Extrait d'une feuille de lecture des résultats ATB FUNGUS 3 BIOMERIEUX®

	c	0	1	2	3	4	C	SIR
	0	4				4	0	
5 FC	4	1				0	16	
AMB	0.5	1	●			0	4	
AMB	1	0				0	8	
AMB	2	0				0	16	
FCA	1	4	●			4	16	
FCA	2	4				3	32	
FCA	4	4				3	64	
FCA	8	4				0	128	
ITR	0.125	2	●			0	1	
ITR	0.25	0				0	2	
ITR	0.5	0				0	4	
VRC	0.06	4	●			0	1	
VRC	0.125	4				0	2	
VRC	0.25	3				0	4	
VRC	0.5	2				0	8	

DOCUMENT 8

Cycle viral du parvovirus B19

Elsevier Murray : Medical Microbiology 5e – www.studentconsult.com



Extrait de la fiche technique du Kit recomLine® Parvovirus B19 IgM (Biosynex Fumouze)

Kit recomLine® Parvovirus B19 IgM (Biosynex Fumouze)

Détection d'anticorps IgM contre Parvovirus B19 dans le sérum ou le plasma humain par Western-Blot.

20 bandelettes - Conservation : 12 mois à 2-8°C

Composition du coffret :

- 2 tubes de 10 bandelettes contenant les VP1 et VP2
- Conjugué anti-IgM 500µL couplé à la peroxydase.
- Tampon de lavage A 10x 100mL
- Substrat TMB 40 mL
- Lait en poudre 5 g
- 2 Plateaux d'incubation avec 10 puits chacun
- 1 Fiche d'évaluation

Résultats de patients (Sample ID) pour le dépistage des IgM par western- blot

D'après <https://ai2-s2-public.s3.amazonaws.com>

Sample ID	438	171	271	103	D87	102	97S	T9	T12	124	109	136
VP1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BLOT RESULT (VP1)	+	+	+	+	+	?	-	-	-	-	-	-
BLOT RESULT (VP2)	+	+	+	+	+	?	+	+	+	-	-	-