



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

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR BIOANALYSES ET CONTRÔLES

ÉPREUVE E3 – UNITÉ U32 MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2014

Durée : 3 heures
Coefficient : 3

Matériels autorisés :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique à condition que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999).
- Dictionnaire anglais-français.

Document à rendre et à agraffer avec la copie :

- Document 7page 10/11

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

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 1/11

PRÉVENTION DES TOXI-INFECTIONS ALIMENTAIRES À *ESCHERICHIA COLI* ENTÉROHÉMORRAGIQUE

Escherichia coli (*E. coli*) est une bactérie fréquente du tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud. La plupart des souches d'*E. coli* sont sans danger. Certaines souches, cependant, comme les souches entérohémorragiques (ECEH), peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires (TIA) graves. La transmission à l'homme se fait par la consommation d'aliments contaminés, viande hachée crue ou mal cuite, lait cru et légumes consommés crus par exemple.

Son importance pour la santé publique est apparue en 1982, à la suite d'une flambée de TIA aux Etats-Unis. Depuis ces 30 dernières années, les souches d'ECEH sont impliquées dans de nombreuses épidémies alimentaires dans le monde et sont considérées comme une famille de pathogènes émergents.

La prévention des TIA à ECEH inclut notamment :

- l'étude des souches incriminées,
- le développement des méthodes de recherche des ECEH dans les aliments,
- la lutte contre la contamination des animaux par les sérotypes les plus pathogènes, principalement *E. coli* O157:H7.

1 - Étude des souches d'*E. coli* entérohémorragiques (ECEH) (19 points)

L'infection par ECEH peut prendre plusieurs aspects comprenant une simple diarrhée, une colite hémorragique et, pour les cas les plus graves, un syndrome hémolytique et urémique (SHU) touchant principalement les enfants en bas âge.

1.1 - Épidémiologie

En France, le suivi des infections à ECEH est basé, depuis 1996, sur la surveillance du SHU chez l'enfant de moins de 15 ans. Le **document 1** présente quelques données épidémiologiques du SHU observées en France.

1.1.1 - Définir le terme « incidence ».

1.1.2 - Analyser et interpréter le **document 1a**.

1.1.3 - Analyser le **document 1b**. Proposer une hypothèse expliquant la variation saisonnière.

1.2 - Caractéristiques et physiopathologie des ECEH

1.2.1 - *Escherichia coli* appartient au groupe des coliformes thermotolérants.

1.2.1.1 - Définir les coliformes thermotolérants.

1.2.1.2 - Indiquer les caractères biochimiques permettant de différencier *E. coli* des autres espèces de coliformes thermotolérants.

1.2.2 - Les ECEH se multiplient dans une fourchette de température de 7°C à 50°C, la température optimale étant de 37°C. Leur pH optimal de croissance est autour de 7, mais certaines souches de ECEH peuvent se développer dans des aliments acides, jusqu'à pH 4,4. La cuisson détruit les ECEH quand toutes les parties de l'aliment atteignent au moins 70°C. Qualifier le plus précisément possible les ECEH par rapport à leurs conditions de culture.

1.2.3 - Les ECEH sont des bactéries entéroinvasives sécrétant des exotoxines dénommées shiga-toxines pour leur similitude avec la toxine de *Shigella dysenteriae*. Définir les termes « entéroinvasives » et « exotoxines ».

1.2.4 - Le sérotype O157:H7 est le plus important en santé publique.

1.2.4.1 - Donner le principe général d'un sérotypage bactérien.

1.2.4.2 - Expliquer la signification de l'appellation « O157:H7 », en précisant la localisation et la nature biochimique des structures impliquées dans ce sérotype.

1.2.5 - *E. coli* O157:H7 possède un plasmide appelé pO157 qui porte une vingtaine de gènes de virulence.

1.2.5.1 - Définir un plasmide.

1.2.5.2 - Quels autres types de gènes peuvent être portés par un plasmide ?

2 - Recherche d'*E. coli* O157:H7 dans les aliments (18,5 points)

Dans le but d'être validée, une nouvelle méthode alternative de recherche par PCR d'*E. coli* O157:H7 dans la viande de bœuf est comparée à la méthode de référence.

La méthode de référence est présentée en **document 2** et la méthode alternative en **document 3**.

2.1 - Méthode de référence

2.1.1 - Que signifie méthode « horizontale » ?

2.1.2 - Qualifier la 1^{ère} étape de la méthode et expliquer son intérêt.

2.1.3 - Justifier le choix de la température d'incubation utilisée lors de cette étape.

2.1.4 - Isolement sur milieu Mac Conkey Sorbitol (CT-SMAC).

2.1.4.1 - Citer les rôles respectifs des constituants du milieu, présentés sur le **document 4**.

2.1.4.2 - Dédire de la composition du milieu les types trophiques d'*E. coli* O157:H7. Justifier la réponse.

2.1.4.3 - Sur ce milieu, les colonies suspectes d'*E. coli* O157:H7 sont incolores, pouvant présenter un halo orangé. Interpréter, en justifiant, ces caractéristiques.

Donnée : Rouge neutre.

Forme acide : rouge – Zone de virage : pH 6.8 à pH 8- Forme basique : jaune-orangé.

2.1.5 - Isolement sur milieu chromogène ChromID O157: H7 (milieu comparable au milieu Chromagar O157) : **document 5**.

2.1.5.1 - Qu'est-ce qu'un milieu chromogène ?

2.1.5.2 - Analyser la fiche technique de ce milieu afin d'expliquer son efficacité pour la recherche d'*E. coli* O157:H7.

2.2 - Méthode alternative par PCR

2.2.1 - Quel est l'organisme officiel chargé, en France, de la validation des méthodes alternatives ?

2.2.2 - Quel est le but de l'étape 2 (**document 3**) ?

2.2.3 - Préciser le principal intérêt que présente la méthode alternative de recherche d'*E. coli* O157:H7 par rapport à la méthode référence. Justifier la réponse.

2.2.4 - Citer un autre exemple de méthode alternative utilisée dans la recherche de bactéries pathogènes.

3 - Stratégies de lutte contre la contamination des bovins par *E. coli* O157:H7 (22,5 points)

Le cheptel bovin est considéré à l'heure actuelle comme le principal réservoir d'*E. coli* O157:H7, bactérie qui peut coloniser le système digestif des bovins. Ces derniers sont des porteurs sains. Ils peuvent contaminer l'eau, les aliments et l'équipement des exploitations par leurs matières fécales.

La mise en œuvre de stratégies visant à réduire le nombre de bovins contaminés est donc indispensable. Plusieurs sont à l'étude actuellement.

3.1 - Hygiène des exploitations bovines

L'équipement, comme les sources d'approvisionnement en eau, peut être un vecteur de propagation d'un animal à l'autre. Les abreuvoirs doivent donc présenter un haut niveau d'hygiène.

Le **document 6** présente la fiche commerciale d'un désinfectant pouvant être utilisé pour l'entretien des abreuvoirs.

3.1.1 - Relever le(s) principe(s) actif(s) du produit et préciser le groupe de désinfectants auquel il(s) apparten(n)ent.

3.1.2 - Indiquer le mode d'action de ce groupe de désinfectants.

3.1.3 - L'activité de l'Agroxyde II est conforme à la norme AFNOR 72171.

Citer une méthode permettant d'évaluer l'activité d'un désinfectant et en présenter le principe.

3.2 - Thérapie bactériophagique contre *E. coli* O157:H7

La capacité, de différents bactériophages spécifiques d'*E. coli* O157:H7 (nommés KH1 à KH5) à lyser des cultures d'*E. coli* O157:H7 au laboratoire, a été testée. Le **document 7** présente les résultats d'une étude.

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 3/11

3.2.1 - Exploitation de la courbe « control » du document 7a.

3.2.1.1 - Compléter le tableau du document 7a.

3.2.1.2 - Déterminer la vitesse spécifique de croissance de la souche d'*E. coli* O157:H7 testée. Justifier la démarche.

3.2.1.3 - Définir et calculer le temps de génération.

3.2.2 - D'après l'analyse du document 7.

3.2.2.1 - Montrer que l'utilisation des bactériophages de manière isolée ne peut pas être envisagée pour lutter contre la multiplication d'*E. coli* O157:H7 (document 7a).

3.2.2.2 - Indiquer, en justifiant, les conditions possibles d'utilisation des bactériophages pour l'élimination d'*E. coli* O157: H7 en culture (document 7b).

3.3 - Utilisation de levures probiotiques chez les ruminants

La recherche a montré, sur un modèle intestinal au laboratoire, qu'un ajout de levures-probiotiques (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856) à l'alimentation animale pouvait être envisagé dans le but de réduire la croissance intestinale du pathogène *E. coli* O157:H7.

3.3.1 - Définir le terme « probiotique ».

3.3.2 - Citer deux moyens par lesquels une souche probiotique peut limiter la croissance d'un micro-organisme pathogène.

3.3.3 - Dans le cas de *Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3856, l'effet inhibiteur pourrait être lié à la production d'éthanol.

3.3.3.1 - Quel type de métabolisme peut conduire à la production d'éthanol par les levures ?

3.3.3.2 - Établir l'équation bilan de production d'éthanol à partir du glucose par cette voie métabolique.

3.3.3.3 - Justifier l'utilisation de ce métabolisme par les levures dans le cadre d'un modèle intestinal.

DOCUMENT 1 : DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DU SHU EN FRANCE

Document 1a

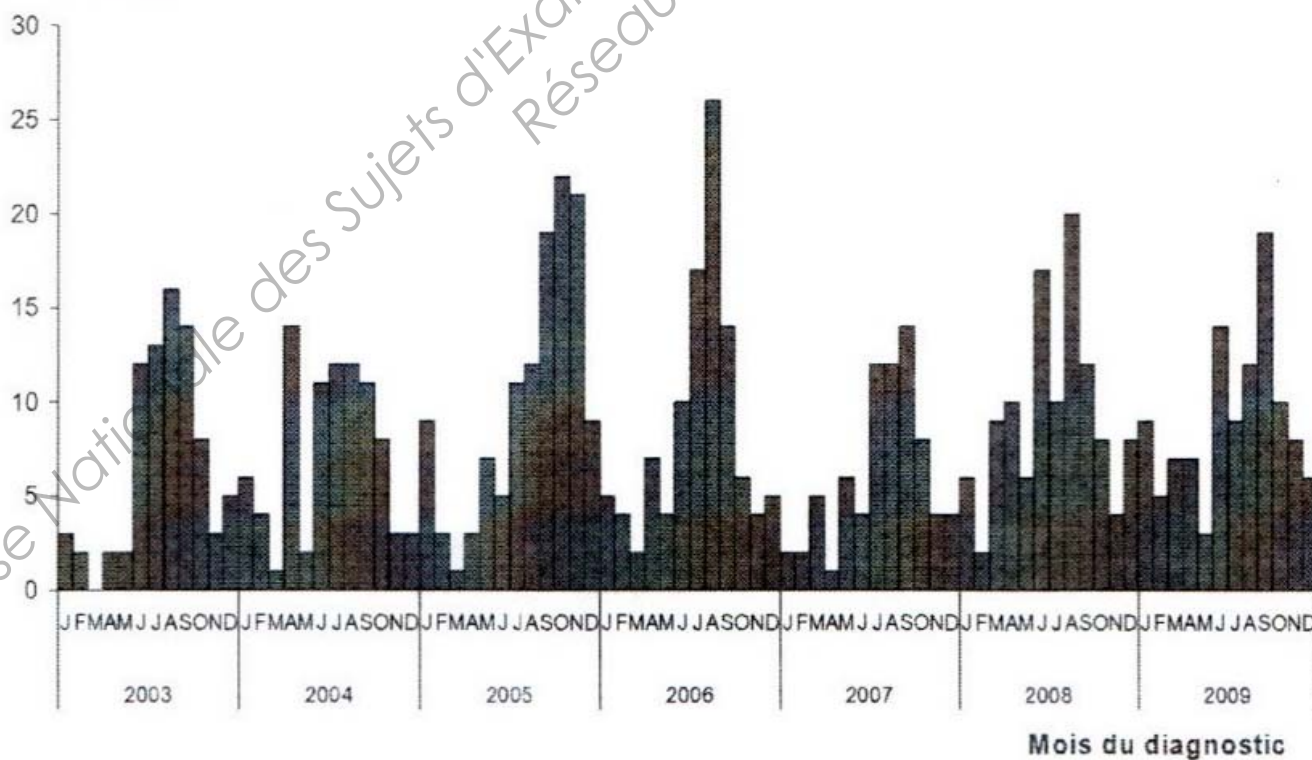
Incidence annuelle du SHU par 100 000 enfants de moins de 15 ans, France, 1996-2009

Année	Nombre de cas de SHU	Incidence annuelle	Année	Nombre de cas de SHU	Incidence annuelle
1996	81	0,66	2004	87	0,72
1997	92	0,75	2005	122	1,01
1998	76	0,59	2006	104	0,87
1999	93	0,76	2007	74	0,62
2000	79	0,64	2008	112	0,94
2001	74	0,61	2009	109	0,91
2002	73	0,60			
2003	80	0,66	Total	1256	0,74

Document 1b

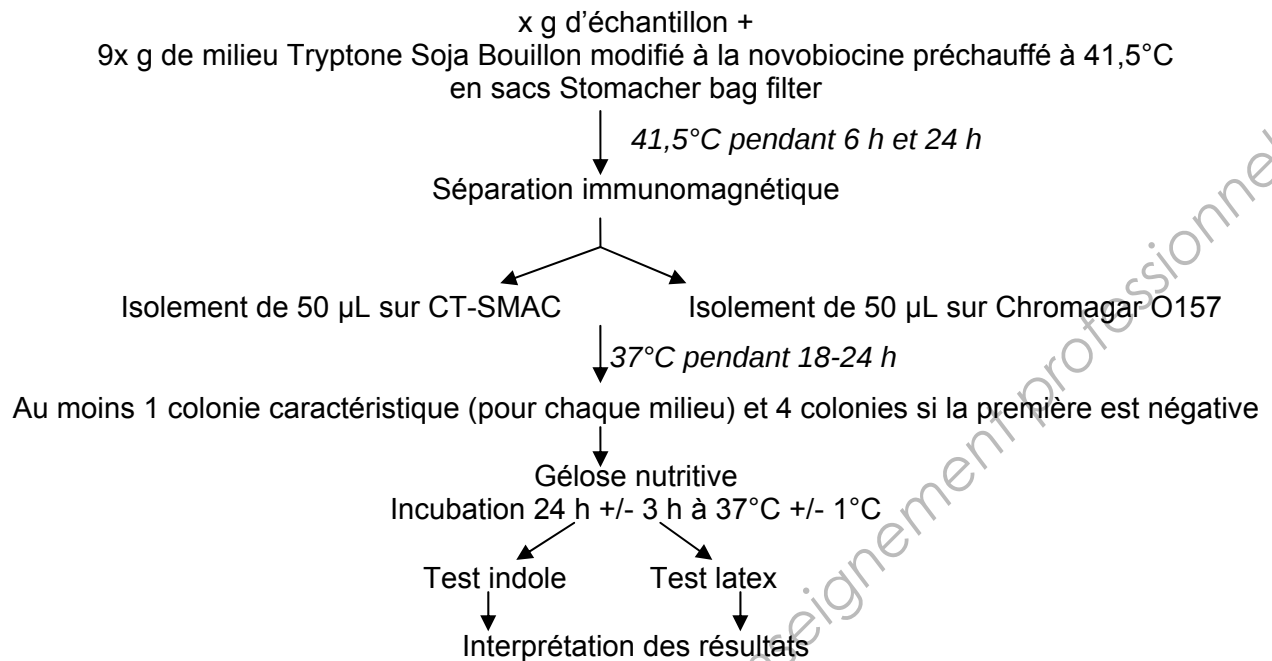
Distribution mensuelle du nombre de SHU chez l'enfant de moins de 15 ans, France, 2003-2009

Nbre de cas



Source : Surveillance du syndrome hémolytique et urémique post-diarrhéique chez les enfants de moins de 15 ans en France en 2009 – Lisa King et al – INVS / Institut Pasteur / Hôpital Robert Debré.

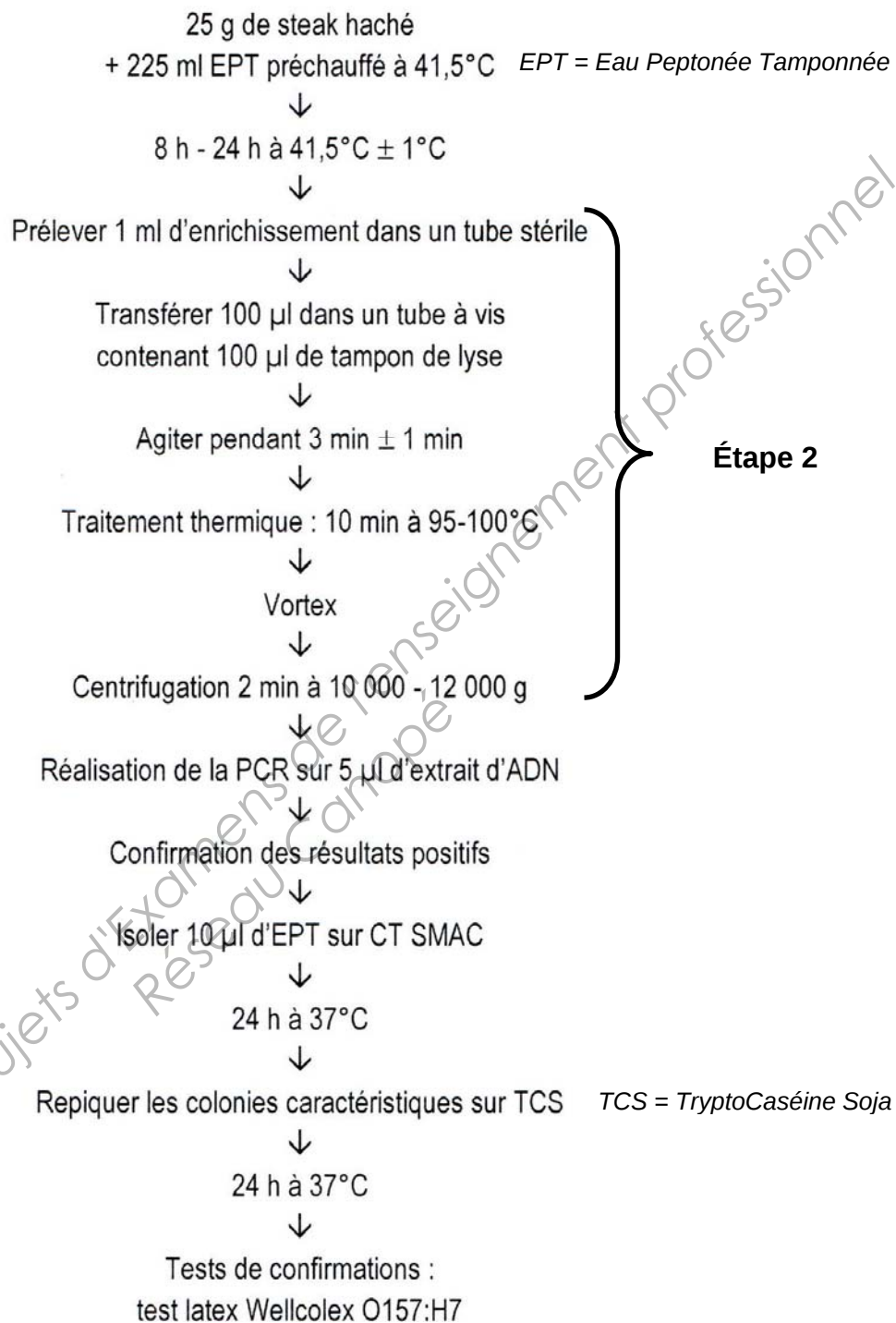
DOCUMENT 2 : MÉTHODE HORIZONTALE DE RÉFÉRENCE NF EN ISO 16654 DE RECHERCHE D'E.COLI O157



CT-SMAC : Cefixime-Tellurite Sorbitol Mac Conkey (voir document 4)

D'après « Validation ISO 16140 de la méthode iQ-Check™ Escherichia coli O157:H7 pour les viandes crues de bœuf – ADRIA DEVELOPPEMENT – 28/07/2008 »

DOCUMENT 3 : MÉTHODE ALTERNATIVE POUR LA RECHERCHE D'E.COLI O157:H7



Source : Validation ISO 16140 de la méthode iQ-Check™ Escherichia coli O157:H7 pour les viandes crues de bœuf – ADRIA
DEVELOPPEMENT – 28/07/2008

DOCUMENT 4 : MILIEU MAC CONKEY SORBITOL (CT-SMAC base)

Extrait de la fiche technique du milieu Biokar®

FORMULE - TYPE du milieu complet

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

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.

DOCUMENT 5 : MILIEU CHROMOGÈNE ChromID O157:H7

Extrait de la fiche technique du milieu Biomérieux®

Summary and explanation

ChromID O157:H7 agar enables the detection and presumptive identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* of serotype O157:H7 responsible for gastrointestinal infections.

According to the standard NF EN ISO 16654, it may be used to detect *E.coli* O157.

Principle

This agar contains a mixture of carbohydrates and two chromogenic substances for the detection of two enzymatic activities:

- β -D-galactosidase present in all the strains of *E.coli* irrespective of their serotype,
- β -D-glucuronidase specific to all strains of non O157:H7 *E.coli*.

The selectivity for Gram (+) bacteria is provided by sodium desoxycholate.

To increase its selectivity for enterobacteria, a Cefixime-Tellurite (CT) mixture can be added to the chromID O157:H7 medium.

Composition

Gelatin peptone (bovine or porcine)	6,5 g	Sodium desoxycholate (bovine or ovine)	1,5 g
Yeast extract	6 g	Mixture of carbohydrates (bovine)	24 g
Sodium chloride	5 g	Mixture of activators	0,25 g
Sodium carbonate	0,13 g	Mixture of chromogenic substrates	0,25 g
Neutral red	0,01 g	Agar	12,5 g
Purified water	1 L		
pH 7,1			

Reading and interpretation

- After incubation, observe the bacteria growth.
- Record the presence of characteristic colonies of *E.coli* O157:H7 which are of a green or bluish-green color.

This color is particularly intense when the incubation time is close to 24 hours.

- Identification of characteristic colonies must be followed by biochemical and/or immunological tests.

Quality control

The nutrient capacity of the medium can be tested using the following strain(s):

Strain	Results at 33-37°C	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC® 43894	Growth after 24 hours	Bluish-green colonies
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922		Purple colonies

BTS BIOANALYSES ET CONTRÔLES		Session 2014
Nom de l'épreuve : Microbiologie et technologies d'analyse	Code : BAE3MT	Page : 8/11

AGROXYDE II



DESINFECTANT D'ALTERNANCE POUR ELEVAGES TERRESTRES - TRES PUISSANT ET RAPIDE



A.M.M A PARTIR DE 0,25 %.

AVANTAGES

- Désinfectant - désodorisant **efficace** en eau dure et en **présence de protéines** : actif dans toutes les conditions.
- **Très large spectre d'activité** à basse dilution : élimine économiquement les contaminations bactériennes, fongiques et virales.
- Ne laisse **pas de résidu** car se dégrade en eau, oxygène et acide acétique : **n'affecte pas l'environnement**.
- **Conforme à l'arrêté ministériel** concernant les produits de nettoyage des matériels destinés à être en contact avec les denrées et boissons alimentaires.
- Ses composants figurent sur la liste autorisée par le règlement CE n° 1804/1999 sur la **production biologique** des produits agricoles.
- Autorisé par ECOCERT (pour l'utilisation en Agriculture Biologique).

UTILISATION

- Pour tous **élevages terrestres** : volailles de chair, volailles pondeuses, lapins, porcs, bovins, vaches laitières, veaux, ovins, caprins, chevaux, ...
- **Désinfection des surfaces après nettoyage** : matériels, véhicules et logements d'animaux, locaux et matériels de stockage et de préparation de la nourriture des animaux.

MODE D'EMPLOI

- **1- Vide sanitaire** : murs, plafonds, sols, abords, abreuvoirs, pipettes, mangeoires, circuits d'eau, cages, bacs, silos...
 - Désinsectisation et nettoyage-rinçage préalable.
 - Diluer AGROXYDE II de **0,25 % à 0,75 %**.
 - Traiter par **pulvérisation, trempage, lavage** en laissant agir 20'.
 - Rincer à l'eau et contrôler l'élimination d'AGROXYDE II.
- **2. Pédiluves et rotoluves** : solution d'AGROXYDE II **0,25 %** qu'il faut renouveler quotidiennement.
- Utilisable avec systèmes de dosage peroxyde DOSATRON. Non utilisable avec centrale LB9.

CARACTERISTIQUES

- **Liquide** limpide, incolore, comburant, lentement volatil.
- pH à 0,75 % = 2,7.
- Composition : 216,1g/l d'acide péracétique et de peroxyde d'hydrogène.
- Conforme aux tests des **normes AFNOR** 72171 (bactéricide à 0,25 %), 72301 (fongicide à 0,75 %) et 72180 (virucide à 0,25 %).
- A.M.M. du Ministère de l'Agriculture n°2010192 à 0,25 % (bactéricidie et virucidie) et à 0,75 % (fongicidie).
- Notamment actif sur le virus Influenza à 0.10 %.

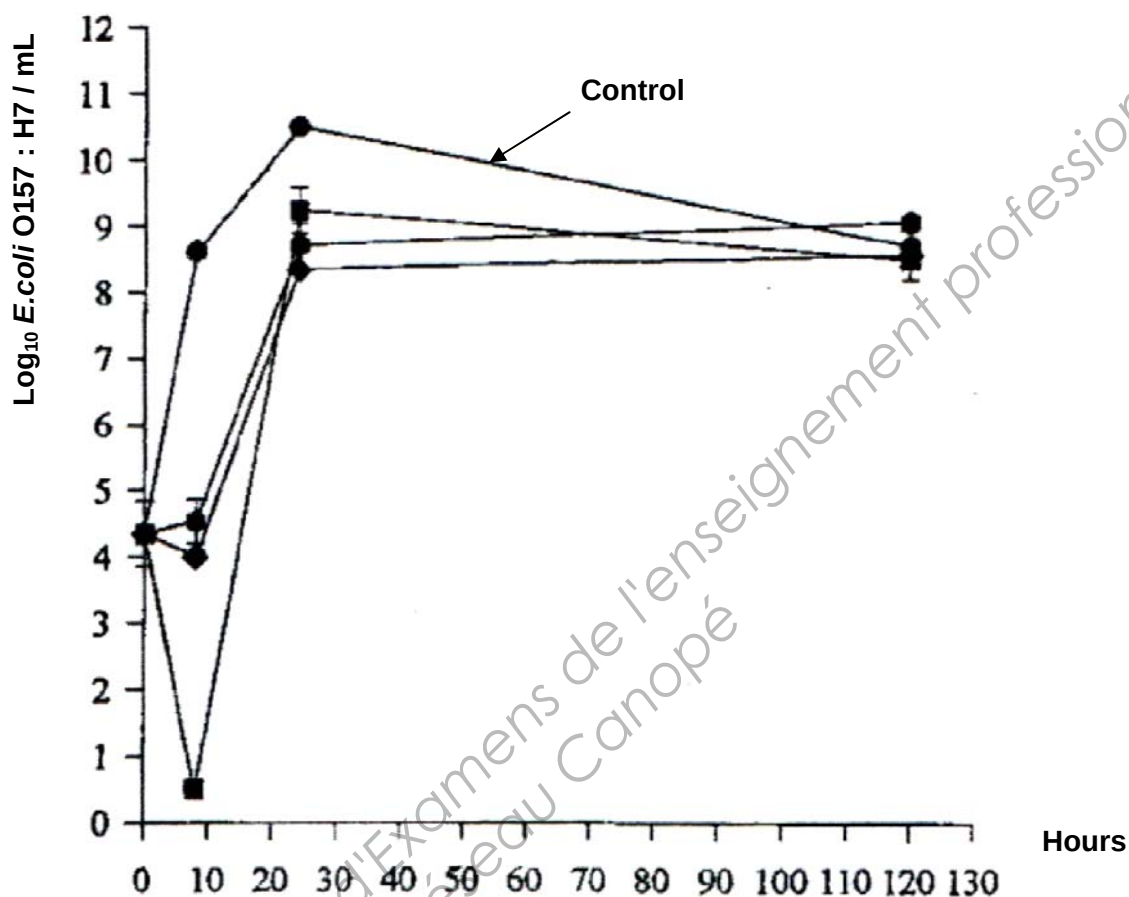


BP 39 - 42001 ST-ETIENNE CEDEX 1 - France - TEL : + 33 (0)4 77 49 46 70 - FAX : + 33 (0)4 77 49 46 71

AGR0201004

**DOCUMENT 7 : ÉTUDE DE L'ACTION DE BACTÉRIOPHAGES SUR
E. COLI O157:H7
À RENDRE AVEC LA COPIE**

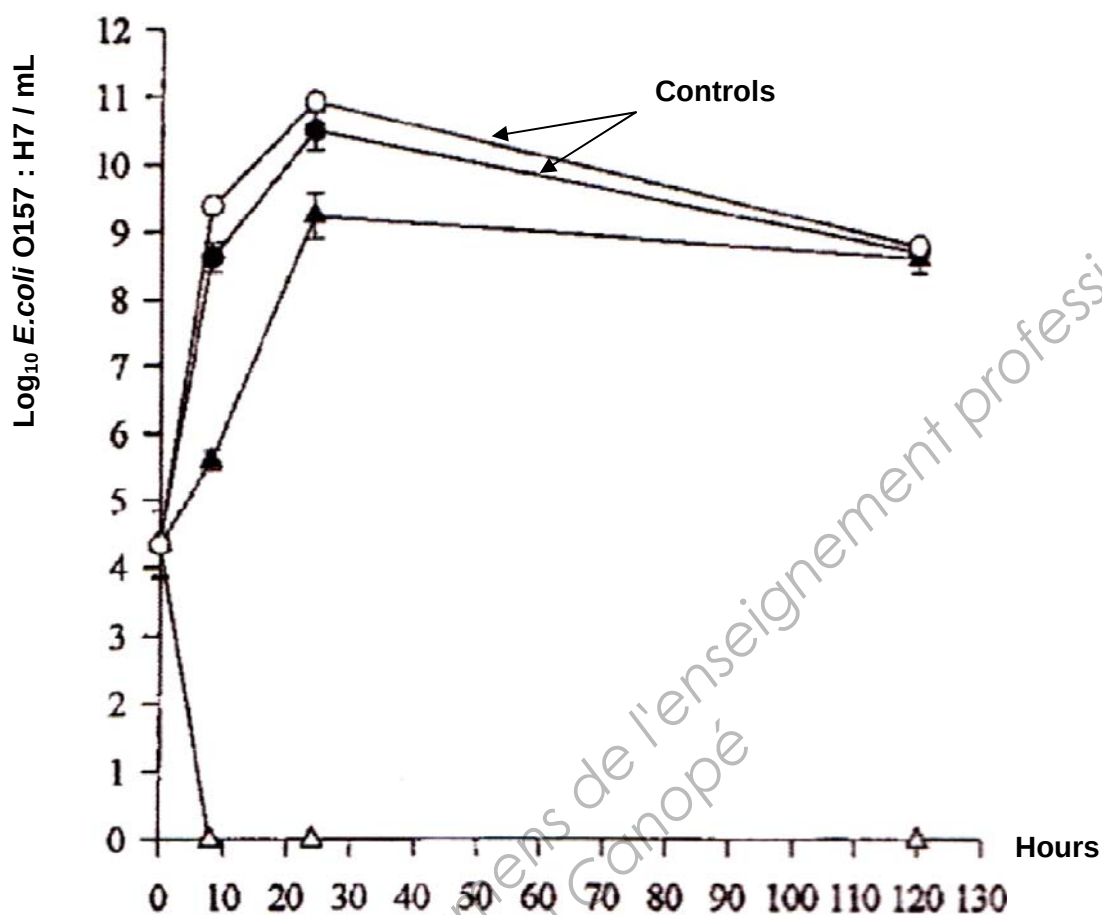
Document 7a : Comparison of lytic efficiencies of phages on *E. coli* O157:H7 cultures at 37°C.



E. coli O157:H7 ($3 \cdot 10^4$ CFU) was treated with KH1 (■), KH4 (◆) or KH5 (◇). The multiplicity of infection was 10^3 PFU / CFU – The control contained only *E. coli* O157:H7 (●)

Hours		0	10	20	120
Concentration <i>E. Coli</i> O157:H7	log	4,4	8,6	10,5	8,5
	CFU/mL				
Essay KH ₁	log	4,4	0,4	9,1	8,3
	CFU/mL				
Essay KH ₄	log	4,4	4,5	8,8	9,0
	CFU/mL				
Essay KH ₅	log	4,4	4,0	8,3	8,4
	CFU/mL				

Document 7b : *E. coli* O157:H7 lysis by a mixture of phages, with or without aeration, at 37°C



E. coli O157:H7 ($3 \cdot 10^4$ CFU) was infected with a mixed phage suspension (10^7 PFU) containing equal concentrations of KH1, KH4, and KH5. Cultures were incubated with (△) or without (▲) aeration. The controls contained only *E. coli* O157:H7 and were either aerated (○) or not aerated (●).

Source : Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-Specific Bacteriophages – INIDIRA T.KUDVA et al – Applied and Environmental Microbiology, Sept.1999.