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 SUPERIEUR
BIOANALYSES ET CONTRÔLES

EPREUVE E3 – UNITE U32
MICROBIOLOGIE ET TECHNOLOGIES D'ANALYSE

SESSION 2017

_____

Durée : 3 heures

Coefficient : 3

_____

Matériel autorisé :

- Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique 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.

L'expression écrite, le soin et la formulation des réponses (concision, qualité des schémas, des tableaux…) seront évalués à hauteur de 3 points sur 60.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Le sujet se compose de 17 pages, numérotées de 1/17 à 17/17.

Base Nationale des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Élimination des bactéries multi-résistantes en milieu hospitalier

Les cas de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques impliquées dans des infections nosocomiales sont de plus en plus nombreux. Les procédures de nettoyage-désinfection dans les hôpitaux doivent donc être parfaitement maitrisées afin d'éviter la transmission de ces souches.

De nombreux cas de multi-résistances à *Escherichia coli* (*E. coli*) sont décrits dans la littérature. Ces souches habituellement fragiles dans l'environnement sont bien plus persistantes dans le cas du milieu hospitalier, notamment par leur capacité à s'implanter sur les surfaces au sein de biofilms.

Lorsqu'une souche multi-résistante est détectée, l'hôpital procède à son identification précise, à la recherche des différentes niches microbiennes dans les locaux, et à la mise au point de techniques d'élimination efficaces.

1. Identification d'une souche multi-résistante détectée à l'hôpital (9 points)

Une souche multi-résistante est détectée à l'hôpital et compte-tenu du contexte clinique, *E. coli* est suspectée. L'identification de l'espèce bactérienne est réalisée dans un premier temps par séquençage d'une partie du gène codant pour l'ARNr 16S.

1.1. Comparaison de séquences ARNr 16S

Un pourcentage d'identité inférieur à 97 % entre deux séquences est l'indication d'un genre bactérien différent. Un pourcentage supérieur à 99 % permet une identification à l'espèce.

Une analyse bioinformatique de la séquence donne les résultats présentés dans le **document n°1**.

Q1- Analyser les résultats de l'étude de l'ARNr 16 S de la bactérie recherchée et **argumenter** sur la nécessité d'approfondir l'identification.

Afin de poursuivre l'identification de la bactérie, une hybridation ADN/ADN est réalisée.

1.2. Hybridation ADN/ADN

Cette méthode consiste en une hybridation entre l'ADN de l'organisme à analyser et celui d'une souche de référence. Un pourcentage d'hybridation supérieur à 70 % ainsi qu'une stabilité thermique des hybrides permettent de confirmer qu'il s'agit bien d'organismes de la

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

même espèce. Le critère de stabilité est défini par une réduction du Tm des hétéroduplex (« *melting temperature* » ou température de demi-dénaturation) n'excédant pas les 5 °C.

Une hybridation entre l'ADN de la bactérie à identifier et celui d'une souche de référence d'*E. coli* est réalisée. Le pourcentage d'hybridation obtenu lors de l'hybridation des hétéroduplex est supérieur à 70 %. Le **document n°2** montre les courbes de fusion obtenues.

Q2- **Comparer** les Tm obtenus pour les deux souches testées. **Conclure** sur l'identification de la souche multirésistante étudiée.

Les bactéries multi-résistantes identifiées sont envoyées au centre national de référence des souches pour procéder à une recherche de plasmides bactériens, souvent décrits comme impliqués dans les phénomènes de multi-résistance.

1.3. Étude du plasmide impliqué dans la multi-résistance

Le plasmide pHNSHP45 est présenté dans le **document n°3**. Ce plasmide comporte un gène *mcr-1* impliqué dans la résistance aux antibiotiques, ainsi que d'autres gènes conférant des caractéristiques complémentaires.

Q3- **Proposer** deux arguments justifiant que ce plasmide peut également être à l'origine de la propagation de résistances aux antibiotiques et d'implantation en milieu hospitalier.

Lorsqu'une souche d'*E. coli* multi-résistante a été découverte et caractérisée, il est indispensable de trouver toutes les niches microbiennes susceptibles de l'héberger avant de l'éradiquer. Une recherche est alors effectuée dans les locaux.

2. Détection de la souche dans les locaux (27 points)

2.1- Méthodes microbiologiques conventionnelles

Dans un premier temps, la pollution microbiologique globale de l'atmosphère des locaux a été mesurée. La démarche et les résultats sont présentés dans le **document n°4**.

Q4- **Identifier** les paramètres à régler sur l'aérobiocollecteur pour réaliser le protocole 1. En **argumentant** la réponse, **proposer** un exemple de réglages qui permettraient de satisfaire le protocole pour un prélèvement de 25 minutes.

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

Ensuite la recherche de souches d'*E. coli* potentiellement multi-résistantes a été réalisée à différents niveaux :

- des prélèvements ont été réalisés sur les sols de plusieurs zones du service hospitalier après leur nettoyage et leur désinfection (salle de consultation, couloirs du service de chirurgie et bloc opératoire). Sur ces prélèvements, la flore totale a été recherchée en parallèle.
- au niveau du bloc opératoire, différents prélèvements ont été réalisés sur plusieurs surfaces horizontales, également après nettoyage et désinfection :
  - la table d'opération ;
  - le plateau supérieur du chariot d'instruments chirurgicaux ;
  - le scialytique (éclairage mobile au-dessus de la table d'opération).

La démarche, les milieux utilisés et les résultats sont présentés dans le **document n°5**.

Q5- **Préciser** les raisons pour lesquelles le milieu TBX est adapté à une recherche spécifique d'*E. coli*.

Q6- **Expliquer** l'intérêt de l'emploi du thiosulfate de sodium dans le protocole 2 et l'intérêt de l'étape de rinçage à l'eau physiologique du protocole 3.

Q7- **Établir** la formule de calcul qui permet d'obtenir les résultats en UFC/cm^2 du protocole 2. **Retrouver** par le calcul la valeur de $2{,}0 \cdot 10^1$ UFC/cm^2 obtenue pour la flore totale dans le bloc opératoire, sachant que 5 colonies ont été dénombrées pour cet essai.

Q8- **Comparer** l'ensemble des résultats obtenus pour les protocoles 1 et 2 avec les informations du **document n°6. En déduire** la conformité des résultats par rapport à la norme NF ISO 14698. **Commenter** les résultats de recherche d'*E. coli* (protocoles 2 et 3). **Proposer** des actions correctives à mettre en œuvre si nécessaire pour maitriser la pollution microbiologique de l'atmosphère des locaux, des sols et des surfaces.

Ces méthodes de détection mises en œuvre à l'hôpital impliquent une étape d'incubation de 24h. Les responsables envisagent donc de mettre en place une nouvelle technique de détection plus rapide.

Base nationale des sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

2.2- <u>Mise en place d'une méthode alternative de détection des niches bactériennes</u>

E. coli peut persister dans l'environnement en s'incluant dans des biofilms. Afin de détecter rapidement ces potentielles sources de contamination à *E. coli*, l'hôpital utilise l'ATPmétrie (**document n°7**).

Q9- **Citer** les grandes étapes de la formation des biofilms pour **montrer** qu'ils sont des sources de contamination redoutées en milieu hospitalier.

Q10- A l'aide du **document n°7**, **expliquer** le principe de l'ATPmétrie afin de **montrer** comment cette méthode permet de détecter et quantifier la présence de micro-organismes.

L'objectif de l'hôpital est de détecter sur ces surfaces, toute contamination, et le cas échéant de pouvoir la quantifier.

Deux méthodes proposées par deux fournisseurs de systèmes d'ATPmétrie sont testées pour vérifier la qualité des opérations de nettoyage – désinfection (sur les surfaces horizontales en plastique du bloc opératoire : table d'opération, chariot à instruments, scialytique).

Le **document n°8** montre la procédure de réalisation et les résultats de ces essais.

Les essais réalisés mettent en jeu notamment les étapes suivantes :

- la contamination artificielle d'une surface par *E. coli* ;

- l'emploi d'un réactif de lyse cellulaire.

Q11- **Expliquer** l'intérêt de ces deux étapes.

Q12- D'après les courbes de calibration obtenues, **indiquer** pour chaque méthode les seuils de détection et les limites de quantifications supérieures en UFC/cm^2. **Argumenter** afin de **sélectionner** la méthode la plus adaptée aux objectifs de l'hôpital.

Cette nouvelle méthode permettra à l'hôpital d'être plus réactif pour traiter efficacement les locaux contaminés.

3. Élimination de la souche d'*E. coli* multi-résistante (21 points)

3.1- Validation de l'efficacité d'un nouveau désinfectant chimique

Un nouveau désinfectant **APESIN Clean Bacto®,** utilisé pour la propreté des sols, est testé au laboratoire. La fiche fournisseur du désinfectant est présentée dans le **document n°9.** Le service hygiène de l'hôpital cherche à valider son efficacité sur la souche multi-résistante d'*E. coli*.

Le désinfectant comporte une molécule tensio-active qui a de ce fait une action bactéricide.

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

Q13- Expliquer cet effet bactéricide du désinfectant sur *E. coli*.

Dans un premier temps, le laboratoire évalue la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) du désinfectant vis à vis de la souche multi-résistante.

La détermination de la CMI est réalisée en milieu liquide et en microplaque, en mettant en contact un inoculum calibré de la souche à $1 \cdot 10^6$ bactéries/mL avec des concentrations décroissantes du désinfectant.

Q14- **Présenter** un tableau de dilution sachant qu'on utilise :

- une microplaque contenant 12 puits par ligne
- du bouillon Mueller Hinton stérile
- du désinfectant **APESIN Clean Bacto®**
- un inoculum calibré de la souche multi-résistante
- un volume final par puits de 100 µL
- le puits 1 pour réaliser un témoin de culture.

Après incubation de la microplaque, lecture et interprétation des résultats, on détermine une CMI comprise entre 0,20 et 0,10 % (0,10 % < CMI ≤ 0,20 %).

Q15- **Expliquer** le raisonnement qui conduit à cette conclusion.

Dans un second temps, la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) du désinfectant est recherchée selon un protocole adapté de la norme NFT 72-150. Le protocole et les résultats sont présentés dans le **document n°10.**

Q16- **Analyser** le **document n°10**, afin de déterminer la CMB du désinfectant vis à vis de la souche multi-résistante. A partir du **document n°9**, repérer la concentration d'utilisation minimale du désinfectant. **Conclure** quant à la validité du nouveau désinfectant **APESIN Clean Bacto®,** choisi par l'hôpital.

Les patients pouvant être en contact avec le désinfectant, des risques d'allergies à ce composé chimique peuvent se déclarer. L'hôpital souhaite donc envisager une alternative biologique.

Base Nationale des Sujets d'examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

3.2- Étude d'une alternative à la désinfection chimique, les cocktails de phages

L'utilisation des phages pour éliminer les contaminations bactériennes fait l'objet de nombreux brevets, depuis longtemps, pour différentes applications en industrie agro-alimentaire, pharmaceutique ou pour la maitrise de l'hygiène en milieu médical. Les phages restent donc des alternatives potentielles à la désinfection chimique.

L'hôpital souhaite tester l'utilisation d'un « cocktail » de phages fournit par une entreprise spécialisée. Le « cocktail » est une suspension contenant 5 phages différents à haute concentration, tous étant lytiques et dirigés spécifiquement contre *E. coli*.

Une première étude est réalisée pour vérifier la sensibilité d'*E. coli* aux différents phages constitutifs. Le **document n°11** montre la réalisation et les résultats de cet essai.

Q17- **Expliquer** pourquoi la mise en contact phage / bactérie peut conduire à obtenir des zones dites clarification de la culture.

Q18- **Commenter** les résultats obtenus, d'une part pour le cocktail de phages, d'autre part pour chaque phage constitutif du cocktail. **Proposer** une hypothèse expliquant la différence de comportement entre les différents phages du cocktail.

Le cocktail de phages utilisé étant jugé suffisamment efficace, une étude de la cinétique de destruction d'*E. coli* a été réalisée dans un second temps. L'objectif est de comparer l'efficacité de la désinfection « phagique » par rapport à la désinfection chimique (avec le désinfectant d'origine utilisé par l'hôpital). Le protocole et les résultats figurent dans le **document n°12**.

Q19- **Analyser** les résultats et **présenter** un tableau comparatif «avantages-inconvénients» des deux méthodes d'élimination (désinfectant et cocktail phagique).

Base Nationale des Sujets d'examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document n°1 : Résultats de l'analyse bioinformatique de séquences de l'ARNr 16S

Extrait du meilleur alignement de la séquence recherchée avec une base de données de séquences d'ARNr 16S (*Quick BioInformatic Phylogeny of Prokaryotes v1.0.1*)

```
>Escherichia_coli~v~N~LM995446=Bacteria-Proteobacteria-
Gammaproteobacteria-Enterobacteriales-Enterobacteriaceae-Escherichia-
Escherichia_coli
 Length = 1482
 Score = 2065 bits (1160)
 Identities = 1177/1201 (98%), Gaps = 1/1201 (0%)

Query: 1    ctacgggaggcagcagtggggaatattgcccaatgggcgca-gcctgatgcagccatgcc 60
             |||||||||||||||||||||||||||| |||||||||| |||||||||||||||||
Sbjct: 282  ctacgggaggcagcagtggggaatattgcacaatgggcgcaagcctgatgcagccatgcc 341


Query: 61   gcgtgtatgaagaaggccttcgggttgtaaagtactttcagcggggaggaagggagtaaa 120
             ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct: 342  gcgtgtatgaagaaggccttcgggttgtaaagtactttcagcggggaggaagggagtaaa 401

Query: ...

Sbjct: ...
```

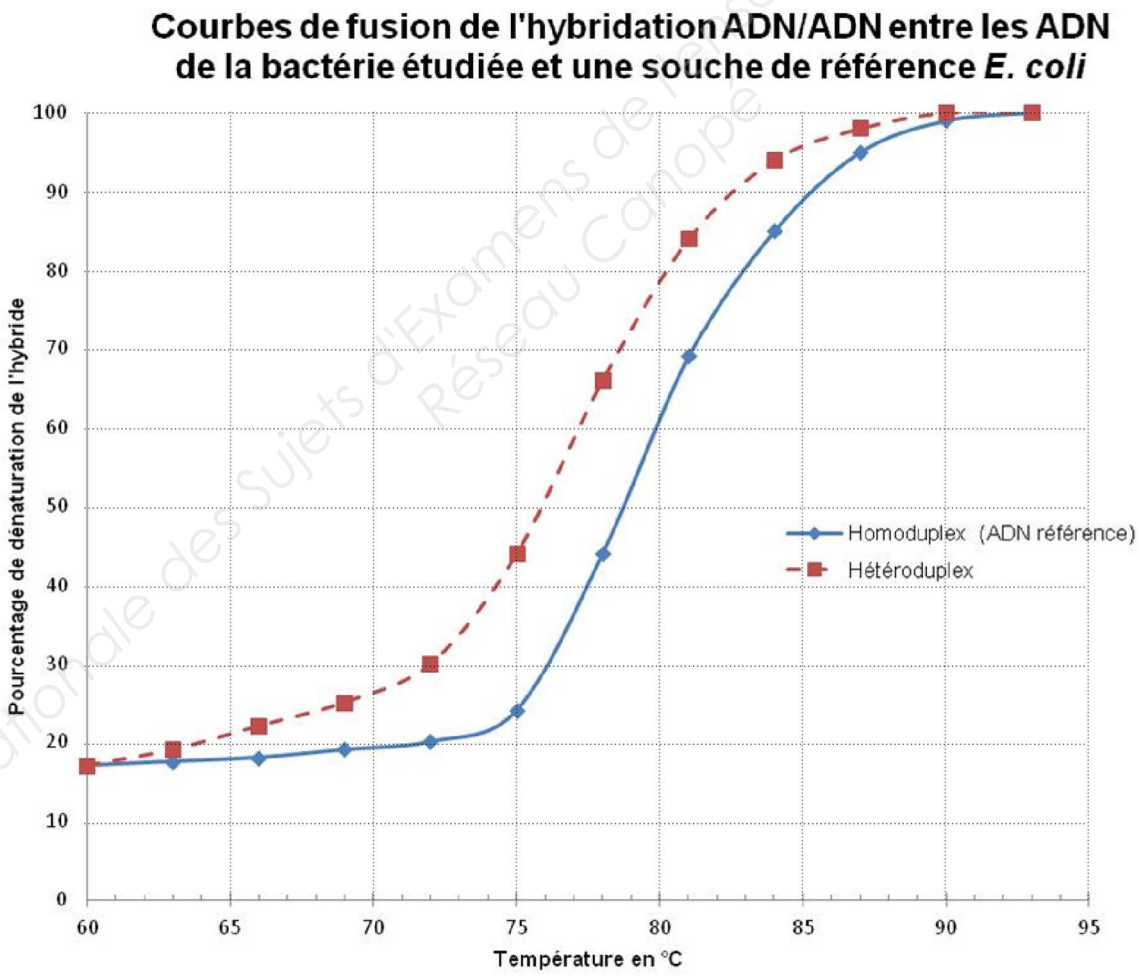
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document n°2 : Méthode d'étude comparée de deux souches d'*E. coli* par hybridation ADN/ADN

Protocole de réalisation de l'hybridation ADN/ADN :

On réalise dans un premier temps la dénaturation d'extraits d'ADN, par un chauffage progressif, sur la souche de référence et sur la souche à comparer.
Les produits de dénaturation sont alors mis en contact afin de produire des hétéroduplex (molécules d'ADN double brin issu de l'hybridation de deux brins d'origines distinctes), en diminuant lentement la température.

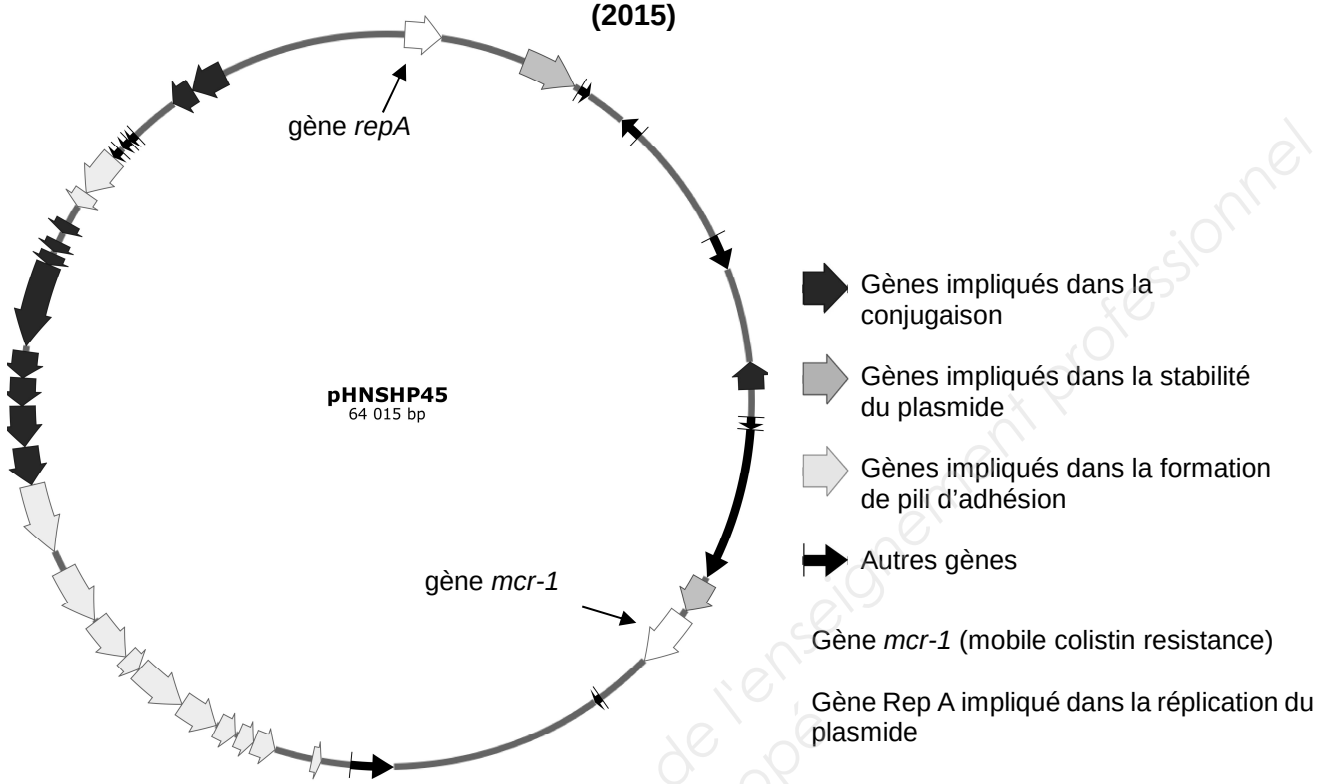
La dénaturation des hétéroduplex est alors suivie au cours d'une augmentation progressive de la température. Il est possible de déterminer la Tm (température à laquelle 50 % des ADN sont dénaturés).
Une comparaison est réalisée entre la dénaturation des hétéroduplex et celle des homoduplex issus uniquement de l'ADN de la souche de référence.



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

Document n°3 : Carte du plasmide pHNSHP45 portant le gène *mcr-1*

d'après Liu *et al.*, Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study (2015)



Document n°4 : Protocole 1 - Estimation de la pollution microbiologique de l'atmosphère des locaux

La recherche est réalisée selon la norme NF ISO 14698 relative à la pollution microbiologique des salles propres et environnements maitrisés.
On utilise des aérobiocollecteurs, appareils qui aspirent l'air et projettent les particules en suspension sur une gélose (gélose PCA, « plate count agar », dans ce protocole). La détection des micro-organismes totaux, représentant la pollution microbiologique globale, est réalisée par comptage des colonies après incubation. Les appareils sont télécommandés afin de déclencher le prélèvement à distance, après que l'opérateur (qui est vecteur de contamination) soit sorti du local à contrôler.

Conditions de mesure :
- Volume d'air contrôlé = 1 m^3
- Le prélèvement doit être réalisé de la façon suivante :
  - en plaçant l'aérobiocollecteur au centre du local à contrôler, en le positionnant à 80 cm du sol (sur un chariot par exemple),
  - avec un débit d'aspiration ne dépassant pas 50 L/min au risque de créer des turbulences qui nuiraient au prélèvement.

Résultats :

Zone contrôlée	Salle de consultation	Couloir du service de chirurgie	Bloc opératoire
Nombre d'UFC	80	4	0

Document n°5 : Recherche de contamination sur les surfaces après nettoyage-désinfection

Protocole 2 - Essais flore totale et *E. coli* sur les sols après nettoyage et désinfection

Composition de la gélose TBX pour recherche *d'E. coli* :

Tryptone	20 g/L
Sels biliaires	1,5 g/L
Agar	15 g/L
5-bromo 4-chloro 3-indolyl β-D glucuronide	0,075 g/L

Conditions de réalisation du protocole :

- Avec du ruban adhésif, délimiter une surface à contrôler de 25 cm^2,
- A l'aide d'un écouvillon stérile, frotter la surface en effectuant 20 passages,
- Plonger l'écouvillon dans un tube de 10 mL de diluant, bien homogénéiser pour disperser le prélèvement,
- Transférer aseptiquement 1 mL du tube précédent dans 9 mL d'une solution neutralisante de thiosulfate de sodium à 0,05 %. Homogénéiser.
- Ensemencer en masse, une gélose TBX et une gélose PCA, avec 1 mL provenant du tube précédent,
- Incuber les milieux à température / durée adaptée,
- Dénombrer les UFC après incubation et exprimer les résultats en UFC/cm^2.

Résultats :

Sols contrôlés	Salle de consultation	Couloir du service de chirurgie	Bloc opératoire
Flore totale : UFC / cm^2	$2{,}2 \cdot 10^1$	$2{,}4 \cdot 10^1$	$2{,}0 \cdot 10^1$
E. coli : UFC / cm^2	$1{,}6 \cdot 10^1$	$1{,}2 \cdot 10^1$	$1{,}2 \cdot 10^1$

Protocole 3 : Essais *E. coli* sur des surfaces horizontales du bloc opératoire après nettoyage et désinfection

Conditions de réalisation :

- Avec du ruban adhésif, délimiter une surface à contrôler de 25 cm^2,
- A l'aide d'un écouvillon stérile, frotter la surface en effectuant 20 passages,
- Plonger l'écouvillon dans un tube de 10 mL de diluant, bien homogénéiser pour disperser le prélèvement,
- Filtrer le contenu du tube sur membrane filtrante 0,45 µm,
- Rincer le filtre avec environ 20 mL d'eau physiologique stérile,
- Transférer le filtre sur gélose TBX,
- Incuber à température / durée adaptée,
- Dénombrer les UFC après incubation et exprimer les résultats en UFC/cm^2.

Résultats :

Surfaces horizontales contrôlées	Table d'opération	Plateau du chariot d'instrument	Scialytique
UFC / cm^2	4	3	4

Base nationale des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document n°6 : Classification des zones à risque et recommandations réglementaires en milieu hospitalier (adapté à partir de la norme NF ISO 14698)

Zone		1 Faible risque	2 Risque modéré	3 Haut risque	4 Très haut risque
Exemples		Administration Services techniques	Psychiatrie Salles d'attente Salles de consultation Traumatologie	Urgences Soins intensifs Service de chirurgie Maternité Pédiatrie	Blocs opératoires Néonatologie Oncologie
Sols et surfaces	Technique de traitement à employer	Balayage humide	Balayage humide + Bio-nettoyage des sols	Balayage humide + Bio-nettoyage des sols et des surfaces horizontales faciles d'accès	Balayage humide + Bio-nettoyage des sols et des surfaces horizontales
	Produits à employer	Détergent	Détergent désinfectant	Détergent désinfectant	Détergent désinfectant
	Fréquence d'application	Selon usage des locaux	Quotidiennement	Quotidiennement	Pluri-quotidiennement
	Pollution microbiologique acceptée (flore totale)	< 5 UFC / cm^2	< 2 UFC / cm^2	< 0,2 UFC / cm^2	< 0,2 UFC / cm^2
Air	Pollution microbiologique acceptée (flore totale)	-	< 100 UFC / m^3	< 10 UFC / m^3	< 5 UFC / m^3

Bio-nettoyage = terme utilisé en milieu hospitalier pour désigner une décontamination des surfaces à l'aide d'un détergent et d'un désinfectant

Document n°7 : L'ATPmétrie

L'ATPmétrie permet de mesurer la quantité d'ATP présente dans un échantillon. La mesure repose sur une réaction mettant en jeu le couple luciférine / luciférase :

$$\text{ATP} + \text{luciférine} + O_2 \xrightarrow{\text{luciférase}} \text{AMP} + \text{PPi} + \text{oxyluciférine} + \text{photons}$$

L'émission de lumière est mesurée par un luminomètre. Les résultats sont exprimés en RLU (Relative Light Unit).

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

Document n°8 : Essais des protocoles d'ATPmétrie

Conduite de l'essai : pour chaque protocole, les 4 étapes suivantes sont réalisées :

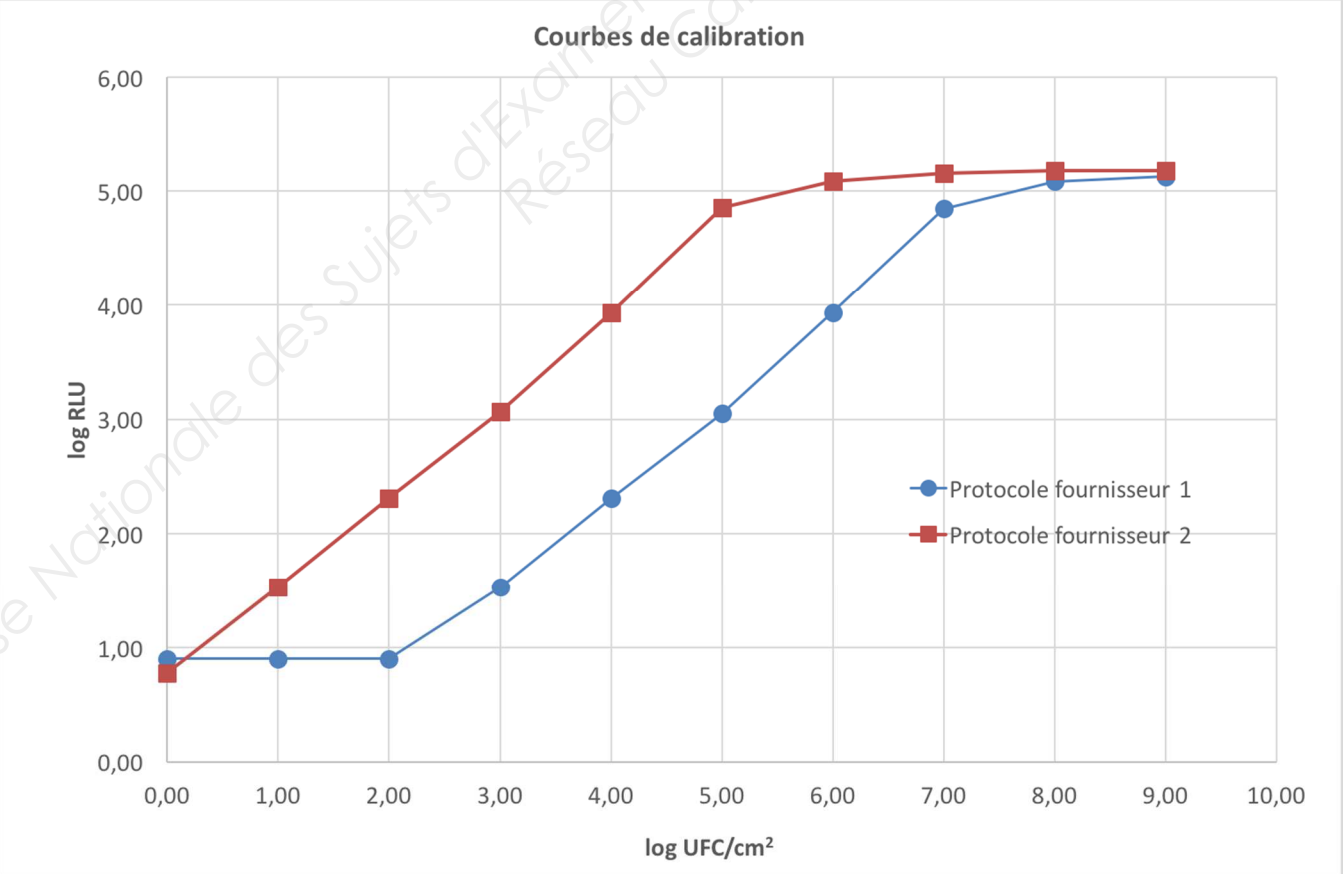
1- Préparation de suspensions étalons d'*E. coli*
A partir d'une suspension d'*E. coli* à $2{,}5 \cdot 10^{10}$ bactéries / mL, réaliser 9 dilutions décimales en eau physiologique stérile.

2- Contamination artificielle d'une surface en plastique
- Sur une plaque en plastique parfaitement nettoyée, matérialiser avec un marqueur 10 zones carrées de 5 cm de côté,
- Déposer, respectivement au niveau de chaque zone, 1 mL de chaque suspension étalon, suspension mère comprise. Etaler pour répartir le dépôt et sécher.

3- Mesure de la quantité d'ATP
- Au niveau de chaque zone, frotter toute la surface en utilisant un écouvillon d'ATPmétrie.
- Transférer l'écouvillon dans le tube fournisseur contenant le réactif de lyse cellulaire et les réactifs d'ATPmétrie, homogénéiser et laisser agir 1 minute,
- Introduire le tube dans le luminomètre et relever immédiatement la valeur en RLU.
- Recommencer pour réaliser la mesure dans les autres zones.

4- Construction de la courbe de calibration
Tracer la courbe de calibration dite « log-log » : log RLU = f (log UFC/cm^2). Exploiter les zones de proportionnalité en traçant une régression linéaire.

Courbes de calibration obtenues :



Donnée : log UFC/cm^2 = 1 correspond à un nombre de micro-organisme de 10^1 par cm^2

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

Document n°9 : Étiquette fournisseur du désinfectant

tana PROFESSIONAL

Fiche Technique

APESIN clean bacto



Détergent désinfectant sols et surfaces

- **Bactéricide, Mycobactéricide, Levuricide et Virucide**
- **Actif dès 20°C**
- **Toutes eaux**

Performances

- APESIN clean bacto est bactéricide, mycobactéricide (tuberculocide), levuricide (fongicide versus *Candida albicans*), et virucide : voir tableau des propriétés désinfectantes en page 2.
- APESIN clean bacto a un excellent pouvoir désinfectant dès 0,25% en présence de salissures. Il a été spécialement étudié pour garantir un grand respect des surfaces et un confort d'utilisation optimum.
- Sa formule est conforme à la réglementation relative aux produits de nettoyage des surfaces pouvant se trouver au contact de denrées alimentaires, arrêté du 19/12/13.

Utilisation & Dosage

Nettoyage/Désinfection des sols
Méthode manuelle d'imprégnation ou de pré-imprégnation

1. Diluer APESIN clean bacto, se référer au tableau de dosage ci-dessous (à partir de 0.25% selon la norme visée et le degré de salissures)
2. Mettre le nombre de bandeaux nécessaire à tremper par rapport à la quantité de solution.
3. Si nécessaire, placer un bandeau sur la grille pour l'égoutter.
4. Fixer le bandeau au support velcro du balai.
5. Laver le sol avec un mouvement de godille.
6. Laisser agir le temps du séchage.
7. En cas de salissures importantes, augmenter les dosages.
8. Utilisation en autolaveuse ou en spray.

Nettoyage/Désinfection des surfaces

1. Diluer APESIN clean bacto dans un seau ou un pulvérisateur se référer au tableau de dosage ci-dessous (à partir de 0,25% selon la norme visée et le degré de salissures).
2. Appliquer sur la surface à nettoyer et à désinfecter.
3. Frotter si nécessaire.
4. Laisser agir le temps du séchage.
5. Inutile de rincer (sauf les surfaces pouvant entrer en contact avec les denrées alimentaires où le rinçage est obligatoire).

Domaines d'application:

- Tous types de sols résistant à l'eau.
- Tous types de surfaces résistant à l'eau (tables, chariots, plans de travail, baignoires...).
- Sols protégés par une émulsion.

Ingrédients:

100g de produit contiennent:
7,5% : N-(3-aminopropyl)-N- dodécylpropane-1,3-diamine (n° cas 2372-82-9), <5% agents de surface anioniques, <5% agents de surface non ioniques, parfums, Limonene, Coumarin.

Site de production et développement durable

EMAS ISO 50001 INTECHNICA TÜV SÜD

Précautions d'utilisation, de stockage et de conservation

Sécurité: Produit réservé à un usage strictement professionnel. Fiche de données de sécurité disponible sur demande pour les professionnels, et accessible sur www.diese-fds.com. Utiliser les biocides avec précaution. Lire attentivement l'étiquette et la fiche technique avant chaque utilisation.

Stockage: Stocker à température ambiante dans l'emballage d'origine. Protéger du gel.

Environnement: Ne jeter que les emballages entièrement vides dans les containers spéciaux.

Document des sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Bonne réalisation réalisé

Document n°10 : Détermination de la CMB de la souche multi-résistante vis à vis du nouveau désinfectant (adapté à partir de la norme NFT 72-150)

Principe :

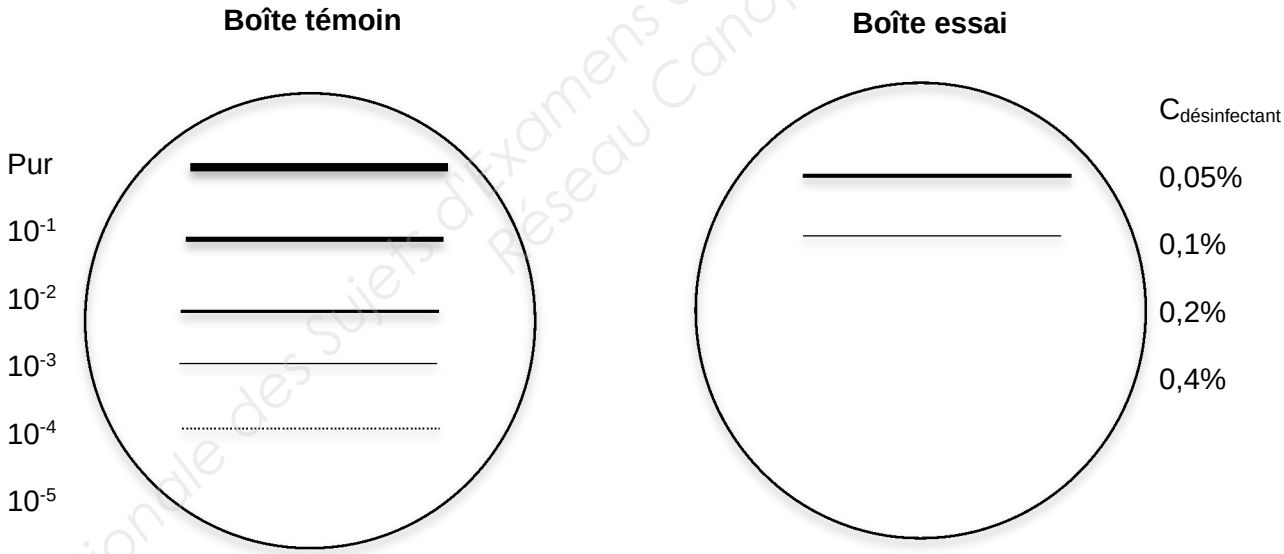
Le protocole consiste à déterminer **la concentration minimale à laquelle le désinfectant est capable de réduire de 99,999% le nombre de cellules vivantes (soit une réduction de 10^5) en 5 minutes** de contact à 20 °C.
La détermination repose sur une appréciation visuelle de l'intensité du développement bactérien d'un mélange souche / désinfectant et d'une comparaison à des témoins de croissance.

Protocole :

Réalisation d'une boîte témoin permettant d'estimer une réduction de 10^5 de l'inoculum de la souche multi-résistante. Pour cela une gélose Mueller Hinton est ensemencée en stries avec l'inoculum pur de la souche et les dilutions 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} et 10^{-5} de celui-ci.

Réalisation de la boîte essai :
- Une gamme de concentration du désinfectant est réalisée et chaque concentration est mise en contact avec l'inoculum pur pendant 5 minutes à 20°C.
- Les différents mélanges désinfectant / inoculum sont ensuite ensemencés en strie à la surface d'une gélose Mueller Hinton. Une strie correspond à une concentration en désinfectant testé.

Résultats après incubation :



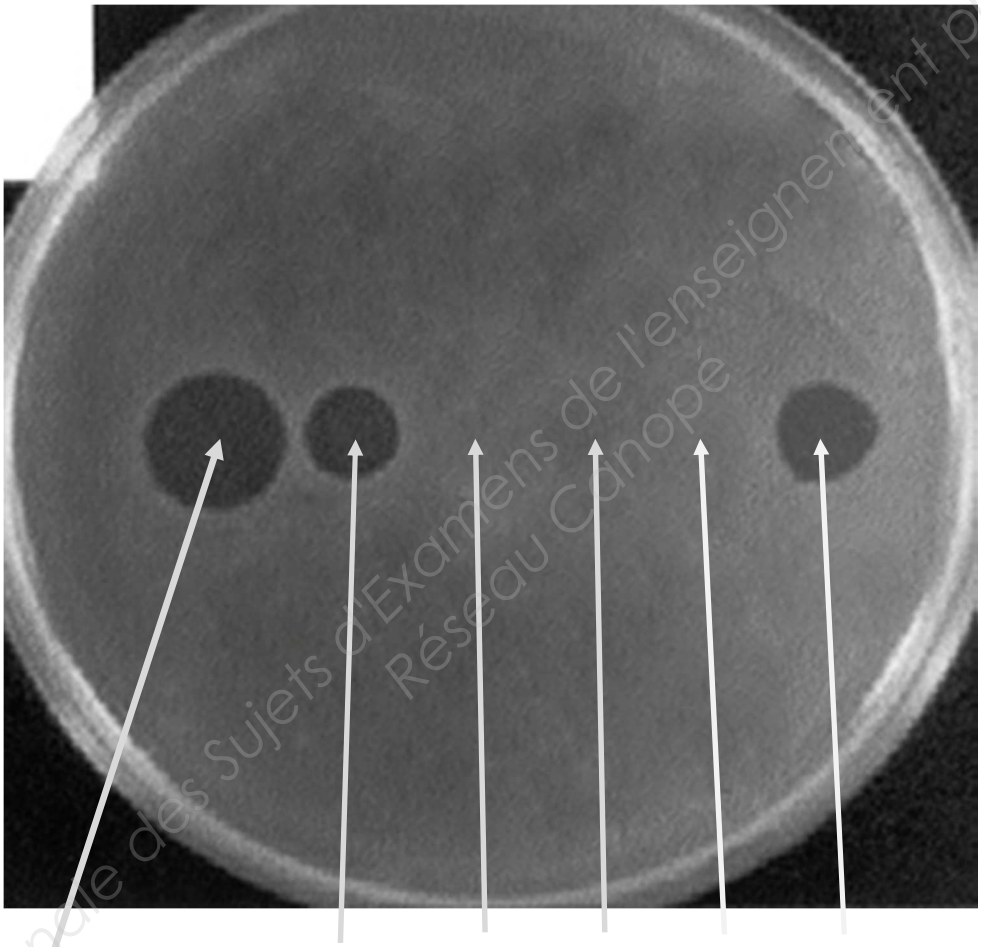
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document n°11 : Étude de sensibilité d'*E. coli* aux différents phages du cocktail

Protocole :

La souche d'*E. coli* est ensemencée en masse sur gélose non sélective. Une fois la gélose solidifiée et séchée, différents dépôts de suspensions phagiques sont réalisés en surface par la technique des micro-gouttes : 5 µL de chaque suspension phagique testée sont déposés sur la gélose de façon à former un dépôt de 1 à 2 mm de diamètre maximum.
Après séchage des dépôts, la gélose est incubée 24h à 37°C. On observe les zones de clarification après incubation.

Résultats après incubation :



Position de dépôt du cocktail de phages
(phages 1 + 2 + 3 + 4 + 5)

Position des dépôts
des suspensions phagiques :
de gauche à droite, phage 1 → 2 → 3 → 4 → 5

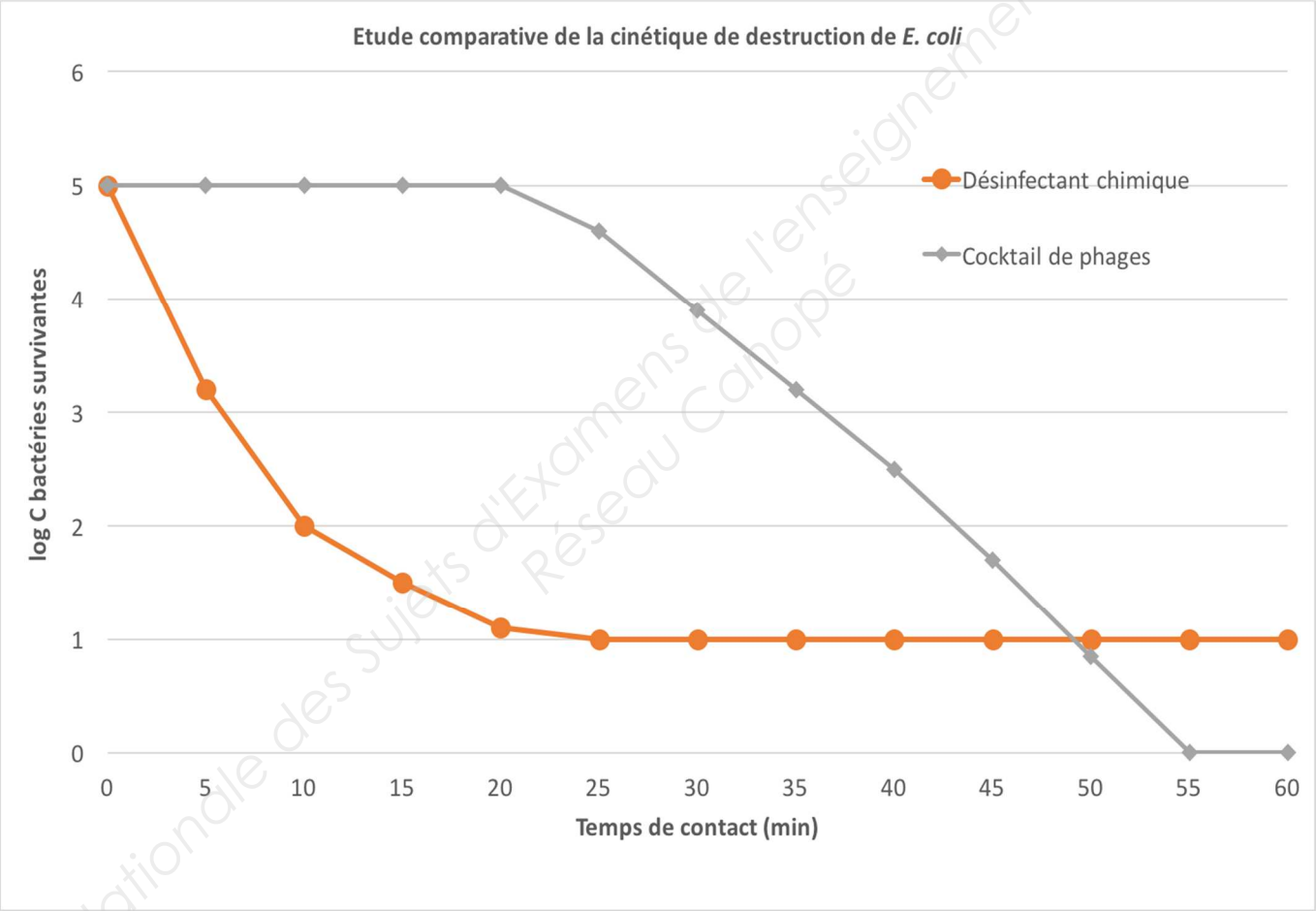
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document n°12 : Étude comparative de la cinétique de destruction d'*E. coli*

Protocole :

Deux tubes de 9 mL d'une suspension de la souche d'*E. coli* calibrée à $1{,}1 \cdot 10^5$ bactéries / mL sont préparés.
Dans le premier tube, à t = 0, on ajoute 1 mL du désinfectant chimique. Dans le second tube, à t = 0, on ajoute 1 mL de suspension du cocktail phagique.
Toutes les 5 minutes pendant une heure, un prélèvement est effectué dans chaque tube, l'action du phage ou du désinfectant est neutralisé et on dénombre les bactéries survivantes.
Pour visualiser la cinétique de destruction, on trace le logarithme de la concentration en bactéries survivantes en fonction du temps.

Courbe cinétique de destruction d'*E. coli* obtenue :



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

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.