

Corrigé type Examen du module Techniques d'analyses microbiologiques
1^{ère} Année Master en Microbiologie Fondamentale

1. Donnez les différentes étapes d'un examen bactériologique.

- Prélèvement **0,25**
- Examen macroscopique **0,25**
- Recherche d'antigènes ou analyse par biologie moléculaire **0,25**
- Analyse cytologique **0,25**: examen quantitative **0,25** (numération des éléments figurés) et examen quantitative **0,25**.
- Analyse bactériologique **0,25**:

Examen direct par coloration de Gram ou autre coloration **0,25**

Mise en culture **0,25**: isolement sur gélose (dans certaines situations enrichissement sur bouillon) **0,25**, après purification, on réalise une identification **0,25** et un antibiogramme **0,25**.

2. L'analyse cytologique d'un prélèvement peut être de 2 types. Citez les 2 types d'analyse cytologique et donnez pour chaque type 2 exemples de prélèvements pathologiques.

Il peut s'agir d'une analyse quantitative **0,25** qui va permettre de répondre en nombre d'éléments figurés par unité de volume (millimètre cube ou microlitre, millilitre). Cette numération est effectuée pour les prélèvements de nature liquide **0,25** (liquides céphalorachidiens **0,25**, urines **0,25**, liquides articulaires, liquides pleuraux, etc.).

Une analyse qualitative **0,25** précisant la nature des éléments figurés observés sera effectuée sur la plupart des prélèvements précédemment cités lorsqu'une réaction cellulaire aura été mise en évidence. Cette analyse qualitative sera quant à elle également effectuée pour les prélèvements de nature solide **0,25** (biopsies **0,25**, tissus **0,25**, écouvillonnages, etc.).

3. Pourquoi réalise-t-on un examen microscopique lors de l'analyse bactériologique d'un prélèvement pathologique?

Cet examen oriente sur **une famille de bactéries ou un genre bactérien** **0,25**, permettant d'**adapter** ou de **modifier** une **antibiothérapie**. **0,25**

En fonction du prélèvement ou du contexte clinique, il peut dans certains cas, **en quelques minutes, identifier de façon quasi certaine un pathogène**. **0,25**

L'examen renseigne également sur **la quantité de bactéries présentes dans le prélèvement. 0,25**

4. Expliquez pourquoi cette bactéries ne peuvent pas pousser que sur gélose au sang cuit et donnez un exemple de Bactérie.

Les géloses au **sang cuit**, appelées **géloses «chocolat»**, permettent de libérer par la cuisson des facteurs de croissance supplémentaires. « **le facteur X (hème) 0,25** nécessaire à la croissance de nombreuses bactéries, et le facteur **V (nicotinamide adénine dinucléotide) 0,25**, en raison de la dénaturation de NAD-ase qui détruit le NAD ». *Haemophilus influenzae*, **0,25** qui requiert à la fois les facteurs X et V, ne pousse pas sur gélose au sang ordinaire.

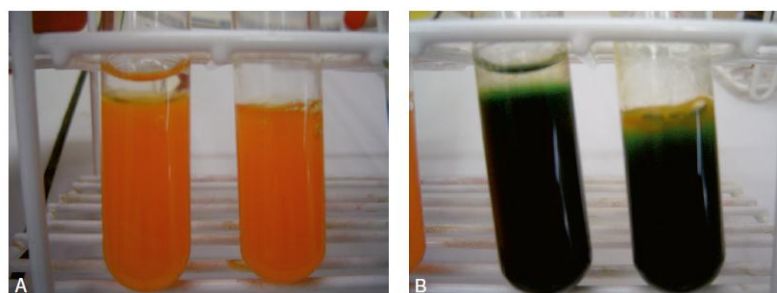
5. **Étude de la voie d'attaque des glucides MEVAG (milieu de Hugh et Leifson) 0,25**

Les bactéries peuvent utiliser les glucides selon 2 voies. La **voie fermentative 0,25** et les catabolites formés, **acides**, entraînent une diminution du pH du milieu. Par **voie oxydative 0,25**, peu de catabolites acides sont formés.

2 milieux semi-solides **0,25** contenant un indicateur de pH sont régénérés au bain-marie bouillant. Ensuite, lorsqu'ils sont refroidis autour de 45 °C, 6 gouttes d'une solution de glucose à 30 % (concentration finale en glucose de 1 %) sont ajoutées **0,25**. Les milieux sont ensuite refroidis et ensemencés par piqûre centrale **0,25**. L'un des deux tubes est recouvert de 0,5 cm d'huile de paraffine stérile **0,25**. Ce tube constitue le tube dit « fermé », c'est-à-dire dans lequel les réactions s'effectueront en absence d'oxygène. L'autre tube est dit « ouvert ». Les résultats des deux voies d'attaque des glucides sont présentés.

0,25

0,25



– Étude de la voie d'attaque des glucides.

A) Culture positive dans les deux tubes et acidification des tubes : métabolisme fermentatif (par exemple entérobactéries). B) Culture positive et acidification uniquement dans la partie supérieure du tube « ouvert » : métabolisme oxydatif (par exemple *Pseudomonas aeruginosa*).

6. **Comment prépare-t-on le milieu urée indole au laboratoire et quels sont les tests recherchés sur ce milieu en donnant l'interprétation.**

Le milieu Urée-Tryptophane (Urée-Indole) est un milieu synthétique fournissant un ensemble de résultats utiles à l'identification des Entérobactéries et autres bactéries.

Ce milieu urée-indole contient principalement de l'**urée 0,25** (recherche de l'**uréase**) et du **tryptophane 0,25** (recherche de la **tryptophane désaminase (TDA)** et de la **tryptophanase**).

Le tryptophane 0,25 est un acide aminé sensible à la chaleur. La stérilisation de ce milieu s'effectue par filtration sur filtre stérile (0,45um). 0,25

Il permet la recherche de trois activités enzymatiques :

L'uréase : 0,25

Tube rose : Alcalinisation du milieu : Uréase +. **0,25**

Tube jaune-orangé : Milieu inchangé : Uréase -.

Après cette lecture, on sépare le milieu en deux de manière égale, afin de réaliser les deux tests suivants.

La tryptophane désaminase (TDA) : 0,25

Dans un des deux tubes, ajoutez 1 à 2 gouttes du réactif de chlorure de fer III. **0,25**

Tube marron : Formation d'un précipité ou une coloration marron foncé : Tryptophane-désaminase + (TDA +).

Tube jaune-orangé : Milieu inchangé : Tryptophane-désaminase - (TDA -).

La tryptophanase (visualisé par la production d'indole) 0,25

Dans le tube restant, ajoutez 1 à 2 gouttes du réactif de Kovacs. **0,25**

Tube avec un halo rouge : Présence d'un halo rouge : Tryptophanase + (Indole +).

Tube jaune-orangé : Milieu inchangé : Tryptophanase - (Indole -).

7. Citez des exemples d'antigènes recherchés chez certaines bactéries dans le cas du diagnostic rapide des infections.

- ***Chlamydia trachomatis* : 0,25** la protéine majeure de membrane externe: MOMP (spécificité d'espèce) et/ou le lipopolysaccharide (LPS ; spécificité de genre). Prélèvements endocervicaux ou urétraux **0,25**
- ***Clostridium difficile* : 0,25** recherche des toxines de *C. difficile* et la glutamate déshydrogénase (GDH) dans les selles. **0,25**
- ***Legionella pneumophila* : 0,25** recherche du LPS dans les urines. **0,25**

- *Streptococcus pneumoniae* : **0,25** polysaccharide C ou la substance C constitués d'acides teichoïques, qui est spécifique d'espèce. Ces antigènes peuvent être retrouvés au niveau du foyer infectieux, le sang les urines, le LCR. **0,25**
- *Streptococcus pyogenes* : **0,25** recherche du polysaccharide C de groupe A. Ecouvillonnage de la région amygdalienne. **0,25**

8. Donnez la signification d'une cystite et d'une pyélonéphrite.

Cystite : infection urinaire basse qui touche la vessie et urètre. **1**

Signes urinaires :

Pollakiurie (fréquence excessive de mictions)

Brûlures mictionnelles

Émission d'urines troubles, parfois hématurie

Dysurie (difficulté à la miction)

Pyélonéphrite : infection urinaire qui peut toucher les reins et l'uretère en plus de l'utretre et la vessie. **1**

Signes de cystite souvent inauguraux et discrets, parfois absents

Signes témoignant de l'atteinte parenchymateuse rénale :

Fièvre +/- frissons évocateurs d'une bactériémie

Douleurs de la fosse lombaire et de l'angle costolombaire, en règle unilatérales Signes digestifs inconstants mais trompeurs si au 1^{er} plan

9. Dans quelles circonstances les urines du premier jet sont collectées ?

Dans le cadre d'une suspicion:

- d'urétrite ou de prostatite aigue **0,25**
- Recherche de mycoplasmes urogénitaux, de *Chlamydia trachomatis* ou *Neisseria gonorrhoeae* **0,25**
- Recherche de mycobactéries: sur la totalité de la 1ère miction du matin, après restriction hydrique 3 jours de suite **0,25**
- **10. Donnez la signification du mot MALDI-ToF:** matrix assisted laser desorption ionization time of flight. **0,75**

11. Quel est le role de la matrice dans la technique Maldi-Tof?

- Solubilité **0,25**
- Capacité d'absorption **0,25**
- Capacité de co-cristallisation **0,25**
- Stabilité **0,25**

12. Donnez les applications de la spectrométrie de masse au laboratoire de Microbiologie.

- Identification de souche bactérienne **0,25**
- Identification directe sur flacon d'hémocultures **0,25**
- Identification directe sur les urines **0,25**
- Biotypage des bactéries **0,25**
- Détection d'une épidémie **0,25**
- Surveillance d'une épidémie **0,25**
- Identification de clones **0,25**
- Détection rapide de la résistance aux antibiotiques par MALDI-TOF Carbapénémases chez les bactéries à Gram négatif. **0,25**

13. Donnez les avantages de la technique Maldi Tof en comparaison aux techniques classiques d'indentification.

| Identification phénotypique classique 1 | Spectrométrie de masse 1 |
|---|--|
| <p>Problèmes du choix du système d'identification: Gram</p> <p>Tests d'orientation (catalase, oxydase...)</p> <p>Diversité phénotypique: Base de données: nombre importants de souches par espèce</p> <p>Chevauchement des phénotypes Choix multiples</p> <p>Souches déficientes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Variant • Inoculum insuffisant | <p>Choix préalable inutile</p> <p>Colonie ou échantillon hémoculture/urines</p> <p>Une seule base de données pouvant être constituée par une seule souche par espèce</p> <p>Profils protéiques provenant en grande partie par des protéines ribosomales</p> <p>Résultat rapide</p> <p>Coût concurrentiel</p> |