



SERVICES CULTURE ÉDITIONS  
RESSOURCES POUR  
L'ÉDUCATION NATIONALE

**Ce document a été numérisé par le CRDP de Bordeaux pour la  
Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

**Campagne 2013**

# CORRIGE

**Ces éléments de correction n'ont qu'une valeur indicative. Ils ne peuvent en aucun cas engager la responsabilité des autorités académiques, chaque jury est souverain.**

## CORRECTION / BARÈME

### CONTAMINATION D'UN RÉSEAU D'EAU CHAUDE SANITAIRE PAR DES LÉGIONELLES

#### 1. Caractéristiques des légionelles (22 POINTS / 80)

##### 1.1. Étapes de la coloration (5 PTS)

Sur un frottis fixé (1 point) :

- cristal violet 1 minute (coloration) (1 point) ;
- lugol 1 minute (mordantage) (1 point) ;
- rinçage alcool (décoloration éventuelle) (1 point) ;
- safranine 30 secondes (recoloration éventuelle). (1 point)

##### 1.2. Observation au MO à 100 × + huile avec un maximum de lumière. (1 PT)

1.3. Interprétation : *Legionella* est une bactérie GRAM – ⇒ paroi fine, perméable à l'alcool donc décolorée puis recolorée en rose par la safranine. (3 PTS)

##### 1.4. Étude document n°2 (3 PTS)

Aspect microscopique de la bactérie : bacille flagellé. (1 point)

Longueur apparente : 6 µm.

G × 30 000

⇒ longueur réelle : 2 µm. (2 points)

##### 1.5. Différences cellules eucaryotes – procaryotes (5 PTS)

Cellule eucaryote : amibe	Cellule procaryote : <i>Legionella</i>
- Noyau vrai : enveloppe nucléaire contenant le matériel génétique.	- Pas d'enveloppe nucléaire : chromosome libre dans le cytoplasme.
- Absence de peptidoglycane.	- Présence de peptidoglycane.
- Chaîne respiratoire mitochondriale	- Chaîne respiratoire membrane plasmique.
Différences d'organites (RE, appareil de Golgi, mitochondries, cytosquelette).	

##### 1.6. Pathogène opportuniste (2 PTS)

Bactérie qui engendre une maladie de façon non systématique. La maladie apparaît chez l'individu infecté, si celui-ci est immunodéprimé.

##### 1.7. Maladie : légionellose. (1 PT)

1.8. Voie de transmission : inhalation d'aérosols infectieux (voie respiratoire). (2 PTS)

## 2. Prélèvements et analyse des échantillons (34 POINTS /80)

### 2.1. Emplacement des 6 prélèvements (4 PTS)

P1 : point de purge : zone de risque de stagnation de l'eau entre 2 purges. (1 point)

P2 : point de contrôle de l'ensemble du circuit en boucle. (1 point)

P3, P4, P5 et P6 : points de contrôle de chaque circuit d'alimentation des chambres (chambre 112 : risque accru de contamination : bras mort). (2 points)

### 2.2. Étapes du protocole d'échantillonnage (5 PTS)

- récipient stérile (1 point) ;
- flambage et éliminer le premier jet si recherche de la qualité de l'eau en amont du point de prélèvement (1 point) ;
- pas de flambage et pas d'élimination du premier jet si recherche de la qualité de l'eau au point d'usage (1 point) ;
- analyse de l'échantillon au maximum le lendemain du prélèvement, si impossibilité conservation en emballage réfrigéré (1 point) ;
- cas des eaux contenant des oxydants : ajouter du thiosulfate de sodium en quantité suffisante pour neutralisation (1 point).

### 2.3. Composition du milieu GVPC (4 PTS)

- (1 point) {
- extrait de levure
  - charbon actif pulvérulent
  - tampon ACES
  - $\alpha$  cétooglutarate
  - KOH 1M
  - Agar
  - ED
  - solution de L-cystéine (1 point)
  - solution de pyrophosphate ferrique (1 point)
  - solution d'antibiotiques (polymixine B + vancomycine + cycloheximide) + glycine (1 point)

### 2.4. Milieu sélectif enrichi (3 PTS)

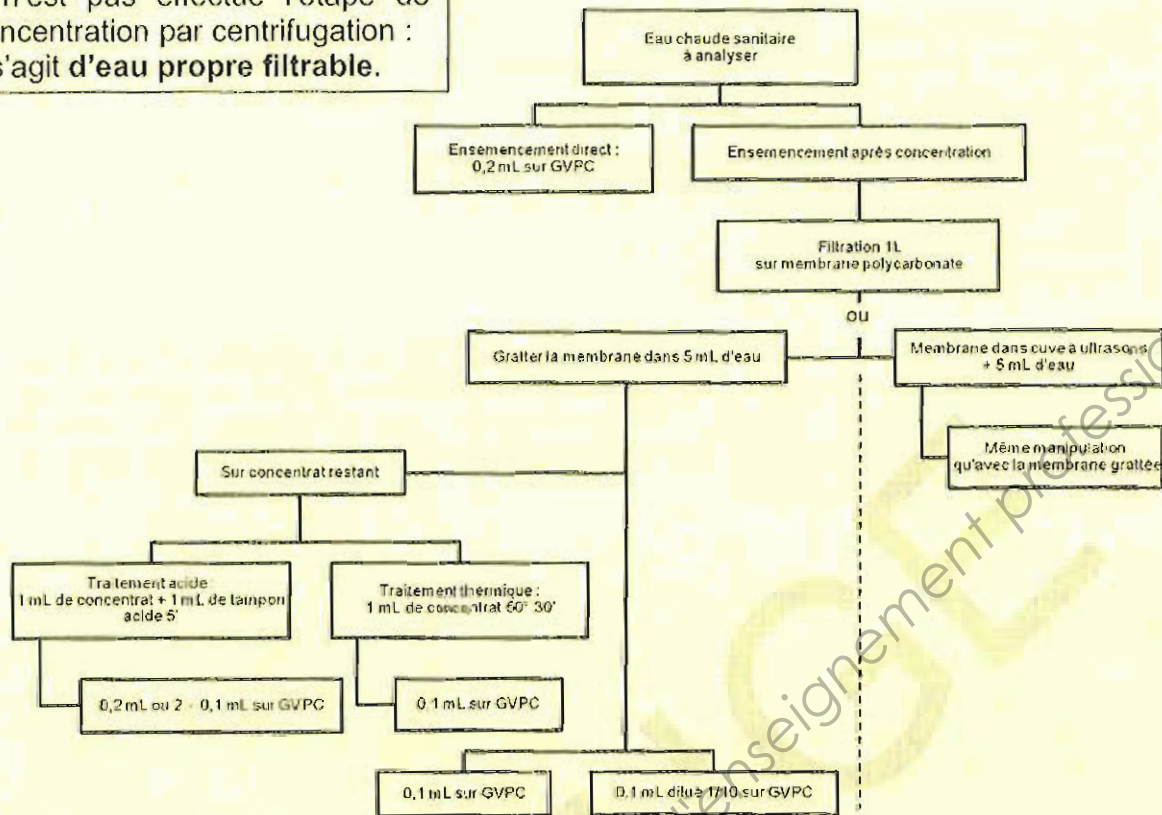
Sélectif : présence de composants (antibiotiques) inhibant partiellement ou totalement la croissance de nombreuses bactéries mais pas celle d'une espèce donnée ici : la légionelle.

Enrichi : présence de facteurs de croissance (fer, cystéine).

2.5. Schéma du mode opératoire : organigramme § 8.1.1., 8.1.2. et 8.2. de la norme : (10 PTS)

Si absence d'organigramme enlever 2 points.

Il n'est pas effectué l'étape de concentration par centrifugation : il s'agit d'eau propre filtrable.



+ Incubation des boîtes à 36°C pendant 8 à 10 jours

## 2.6. Dénombrements (5 PTS)

*Legionella* :

$$P1 = \frac{192 \times 1000}{0,2} = 9,6 \cdot 10^5 \text{ UFC/L (1 point)}$$

$$P2, P3, P4, P6 = \frac{5 \times 1000}{0,2} = 2,5 \cdot 10^4 \text{ UFC/L (1 point)}$$

$$P5 = \frac{12 \times 1000}{0,2} = 6 \cdot 10^4 \text{ UFC/L (1 point)}$$

*Legionella pneumophila* :

toutes les colonies de *Legionella* testées sont des *L. pneumophila*. (2 points)

## 2.7. Commentaires (3 PTS)

Les résultats sont supérieurs à la valeur préconisée  $10^3$  UFC/L : risque accru d'apparition de la maladie. (1 point)

Les foyers d'infection : le point de purge et le bras mort de chambre 112. (2 points)

## 3. Moyens de lutte contre la contamination du réseau (24 POINTS / 80)

### 3.1. Les trois mécanismes de protection (3 PTS)

- la thermophilie (si  $T^\circ < 60^\circ\text{C}$ ) (1 point) ;
- la survie dans les amibes (1 point) ;
- la protection par le biofilm (1 point).

### 3.2. Schéma (3,5 PTS)

- ① Corrosion physique et/ou biologique (0,5 point)
- ② Microorganismes libres (0,5 point)
- ③ Biofilm (0,5 point)
- ④ Attachement et détachement du biofilm (0,5 point)
- ⑤ Zone aérobie (0,5 point)
- ⑥ Zone anaérobie (0,5 point)
- ⑦ Microorganisme fixé (0,5 point)

3.3. La corrosion chimique ou biologique provoque la dégradation de la canalisation (diminution de l'épaisseur de la canalisation). Cette attaque est due soit à la production d'acide, de métabolites ou utilisation des métaux constitutifs de la canalisation (fer pour *Legionella* : facteur de croissance) ou des réactions redox. (3,5 PTS)

### 3.4. (2 PTS)

Les points P1 et P5 (1 point) = Nid bactérien (0,5 point), car eau stagnante (0,5 point).

### 3.5. Nettoyage (2 PTS)

Décollement du biofilm et élimination des nids bactériens (vitesse d'écoulement + nombre de Reynolds élevés : écoulement turbulent).

### 3.6. Forme de chlore (2 PTS)

HClO (1 point) = acide hypochloreux. (1 point)

### 3.7. Concentration en chlore actif (2 PTS)

50 % d'HClO (1 point), sachant que le taux de traitement est de 100 mg Cl<sub>2</sub>/L, la concentration en chlore actif dans le réseau d'eau chaude sanitaire est de 50 mg/L. (1 point)

### 3.8. Rinçage (2 PTS)

Éliminer le chlore en excès afin de ne pas corroder les canalisations.

### 3.9. Choc thermique (2 PTS)

*Legionella* est une bactérie thermophile supportant des T° < 60°C. En maintenant la T° de l'eau à 70°C, on limite le risque de prolifération des bactéries et on tue certaines d'entre elles.

### 3.10. Conclusion (2 PTS)

Chacune des valeurs des prélèvements respecte la recommandation (<10<sup>3</sup> UFC/L), le nettoyage et la désinfection n'ont pas éliminé la totalité des bactéries. Il faut cependant contrôler régulièrement le réseau.