

BTS MÉTIERS DE L'EAU

BIOCHIMIE BIOLOGIE ET MICROBIOLOGIE DES EAUX – U. 4

SESSION 2010

Durée : 4 heures

Coefficient : 4

Matériel autorisé :

-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).

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Le sujet comporte 12 pages, numérotées de 1/12 à 12/12.

| | | |
|--|-------|--------------|
| BTS MÉTIERS DE L'EAU | | Session 2010 |
| Biochimie, biologie et microbiologie des eaux – U. 4 | MTBBM | Page : 1/12 |

ANALYSE DE LA DÉGRADATION DE LA QUALITÉ D'UNE EAU DE BAIGNADE

Une lagune naturelle qui est utilisée comme zone de baignade subit depuis quelques années une dégradation de la qualité de l'eau en été.

Cette lagune reçoit l'effluent de sortie d'une station d'épuration d'une capacité de 20000 EH qui traite les eaux usées d'une ville balnéaire.

Par ailleurs une zone de riziculture se trouve également à proximité de la lagune comme le montre la situation géographique simplifiée, présentée dans l'annexe 1 (page 7/12).

Il vous est demandé d'étudier l'impact du rejet de la station d'épuration et l'impact de la zone de riziculture sur la qualité de l'eau de la lagune.

1. Étude de l'effluent rejeté par la STEP (42 points)

La plage aménagée au niveau de la lagune possède le pavillon bleu, synonyme de bonne qualité de l'eau de baignade. La DDASS analyse régulièrement l'eau de la lagune pour évaluer sa qualité et attribuer ou non le pavillon bleu. Cependant, durant la période estivale, le maire de la cité balnéaire entreprend des analyses microbiologiques supplémentaires afin de pouvoir agir rapidement en cas de non-conformité (interdiction de la baignade).

Les bactéries recherchées sont les coliformes, et plus précisément, Escherichia coli, qui est un indicateur de contamination fécale. La norme européenne impose que le nombre d'E. coli pour 100 mL soit inférieur à 2000. Mais, pour l'obtention du pavillon bleu, un résultat inférieur à 100 est demandé.

Selon le résultat obtenu, la qualité de l'eau est classée en trois catégories :

- *< 100 : bonne qualité de l'eau, favorable pour le pavillon bleu ;*
- *entre 100 et 2000 : qualité moyenne de l'eau, conforme à la norme, mais défavorable pour le pavillon bleu ;*
- *> 2000 : mauvaise qualité de l'eau, non conforme à la norme européenne, cela entraîne la fermeture de la plage.*

1.1 Préciser ce que signifie le terme coliforme.

1.2 Définir ce qu'est un indicateur de contamination fécale, et citer un exemple autre que celui des coliformes.

1.3 E. coli est une bactérie membre de la famille de entérobactéries.

Lister les critères qui permettent de s'orienter vers cette famille bactérienne.

Le prélèvement d'eau effectué dans une zone de baignade en vue d'une analyse microbiologique doit respecter plusieurs consignes. Le prélèvement se fait en flacon stérile disposé au bout d'une perche. Le prélèvement se fait dans au moins un mètre d'eau et 30 cm sous la surface. Le flacon doit être orienté vers le large, à contre courant.

Le flacon est ensuite transporté au laboratoire en moins de deux heures et dans une glacière maintenue à 4 °C.

1.4 Justifier le rôle de chacune de ces consignes.

| | | |
|--|-------|--------------|
| BTS MÉTIERS DE L'EAU | | Session 2010 |
| Biochimie, biologie et microbiologie des eaux – U. 4 | MTBBM | Page : 2/12 |

Afin de disposer au plus vite des résultats des analyses microbiologiques, un test enzymatique rapide a été développé par Véolia pour obtenir le nombre d'*E. coli* en quelques heures après le prélèvement. Il s'agit du test Coliplage®. Le principe de ce test est expliqué dans l'annexe 2 (page 8/12).

1.5 Définir ce qu'est une enzyme.

Afin de mettre au point l'abaque de ce test, des essais préliminaires ont été effectués pour mettre en relation l'activité enzymatique β -D glucuronidase et le nombre de bactéries. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau suivant** :

| | | | | | | | | | | | | |
|--|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Activité enzymatique (pmol / min / 100 mL) | 2,34 | 3,10 | 4,00 | 4,46 | 4,74 | 5,31 | 5,56 | 5,71 | 6,21 | 6,28 | 7,40 | 7,53 |
| Nombre bactéries dénombrées sur boîtes de Pétri | 1 | 2 | 7 | 11 | 15 | 26 | 32 | 36 | 54 | 57 | 123 | 133 |

1.6 À partir des résultats du tableau précédent, **représenter** graphiquement le log (activité enzymatique) en fonction du log (nombre bactéries).

Le test réalisé sur le prélèvement **dilué au demi**, effectué dans la lagune, permet d'obtenir une activité enzymatique de **5,26 pmol / min / 100 mL**.

1.7 Déterminer le nombre de bactéries présentes dans ce prélèvement.

Discuter de la qualité microbiologique de cette eau.

Ce résultat doit être confirmé par une méthode reconnue par la norme Afnor.

La méthode normalisée de dénombrement des coliformes et coliformes thermotolérants référencée NF T 90-413, est basée sur la détermination du NPP.

1.8 Préciser la signification de « NPP ».

Qualifier la méthode décrite dans cette norme.

1.9 Justifier le choix de l'utilisation de cette méthode plutôt que le dénombrement par filtration sur membrane.

1.10 Expliquer la différence entre un milieu présomptif et un milieu confirmatif.

1.11 Présenter un mode opératoire succinct permettant la réalisation de cette méthode.

Les résultats obtenus sur l'eau de sortie de la station d'épuration sont consignés dans le **tableau suivant** :

| Dilutions | Pure | | | 10⁻¹ | | | 10⁻² | | |
|---|-------------|---|---|------------------------|---|---|------------------------|---|---|
| <i>Essai présomptif BLBCP 30 °C</i> | + | + | + | + | + | + | - | - | + |
| <i>Essai confirmatif 44°C BLBVB</i> | + | + | + | - | + | - | - | - | - |
| <i>44°C Eau peptonée</i> | + | + | + | - | + | - | - | - | - |

1.12 À l'aide de l'**annexe 3 (page 9/12)**, **procéder** à la lecture des résultats, **dénombrer** les coliformes thermotolérants et *E. coli* présents, en précisant dans chaque cas les milieux de culture utilisés. **Conclure** sur la qualité du rejet.

1.13 Comparer les résultats obtenus par la méthode rapide et la méthode normalisée.

Afin de remédier à ce problème de coliformes, le maire demande aux techniciens de la station de réfléchir à un traitement tertiaire de désinfection de l'effluent clarifié.

1.14 L'utilisation de l'hypochlorite de sodium (« eau de javel ») ou des rayons UV est à l'étude. **Indiquer** les avantages et inconvénients de chacun d'eux sous forme de tableau.

La station rejette directement dans la zone de baignade qui est classée en zone sensible.

1.15 Justifier le choix du traitement par UV pour la désinfection du rejet dans le contexte étudié.

1.16 À partir de l'**annexe 4 (page 10/12)**, **déterminer** la dose optimale pour traiter les coliformes. Si les conditions sont réunies, **définir** le nombre de bactéries qu'il devrait rester après traitement. **Justifier** si ce traitement est suffisant pour garder le pavillon bleu.

2. Étude de l'impact agricole sur la qualité de l'eau de la lagune : (21 points)

La lagune d'eau saumâtre est un écosystème lentique naturel. Elle est exposée à des perturbations liées aux activités humaines, qui s'exercent à sa périphérie : aménagement de digues, de canaux et agriculture intensive, en particulier la riziculture.

Cette activité nécessite de gros volumes d'eau d'irrigation dont les rejets sont chargés en produits chimiques divers (pesticides essentiellement) et se déversent, pour partie, dans la lagune.

2.1 Donner la définition d'un écosystème, en précisant particulièrement ses 2 composantes.

2.2 Définir le terme « lentique ».

Un programme de biosurveillance a été initié dans la lagune. Il a pour missions :

- *d'évaluer le degré d'imprégnation des réseaux trophiques aquatiques par des composés organochlorés ;*
- *d'en déterminer leur mode de contamination ;*
- *d'en déterminer l'impact sur les individus et les communautés.*

La bioaccumulation des molécules polluantes chez les organismes aquatiques répond à deux processus :

- *bioaccumulation par **transfert direct** à travers les téguments (branchies et tissu épithélial) : le niveau d'«absorption» des polluants dépend du rapport « surface exposée sur volume de l'organisme » : il diminue quand on s'élève dans la chaîne alimentaire ;*
- *mécanisme de **bioamplification** par la chaîne alimentaire : l'imprégnation est la plus grande dans les maillons les plus élevés des chaînes.*

2.3 En vous aidant de la chaîne trophique présentée dans l'**annexe 5 (page 11/12)**, **commenter** soigneusement le graphique de l'**annexe 6 (page 12/12)**.

| | | |
|---|--------------|---------------------|
| BTS MÉTIERS DE L'EAU | | Session 2010 |
| Biochimie, biologie et microbiologie des eaux – U. 4 | MTBBM | Page : 4/12 |

2.4 Expliquer pourquoi les invertébrés benthiques ont un niveau de contamination aussi élevé que celui des super-prédateurs. **Identifier** en particulier les deux modes de contamination de ces 2 maillons. **Justifier** votre réponse.

2.5 Conclure quant à la relation entre le niveau de bioaccumulation et l'emplacement trophique des organismes. **Expliquer** notamment les termes « bioaccumulation » et « bioamplification », dans le contexte précédemment décrit.

La chronicité de la contamination par ce cocktail de molécules polluantes se manifeste par l'expression d'une certaine pathologie chez les organismes.

En effet, des analyses réalisées sur des anguilles collectées dans cette zone, ont révélé que près de 90 % de celles prélevées dans le principal canal collecteur des eaux de drainage des rizières et plus de la moitié des anguilles provenant de la lagune présentaient des lésions hépatiques, et/ou branchiales allant de la simple nécrose à des tumeurs cancéreuses.

2.6 Comparer en terme de différences une toxicité aiguë et chronique.

2.7 Citer 2 facteurs abiotiques qui joueront un rôle sur la toxicité des micro-polluants, au niveau de la lagune.

Bien que la riziculture revête une importance économique certaine, on ne peut nier les interactions de cette activité avec la conservation de la nature, la gestion de l'eau, les habitats et les ressources trophiques.

2.8 Proposer un exemple de mesure préventive qui permettrait de réduire le niveau de contamination de la lagune, tout en permettant le maintien des activités agricoles.

2.9 Nommer deux procédés, rencontrés dans le domaine de la potabilisation de l'eau, pouvant constituer un mode de traitement curatif des pesticides.

3. Étude de l'impact microbiologique de l'eau de la lagune : (17 points)

Que ce soit en zone de baignade ou pour une eau potable, l'eau n'est pas un milieu favorable au développement des microorganismes, qui doivent donc développer différentes stratégies de survie comme le saprophytisme, le commensalisme, le parasitisme ou la dormance (différentiation cellulaire aboutissant à une forme de résistance).

Ainsi, l'eau peut être considérée comme le vecteur de microorganismes pathogènes.

L'ensemble de ces pathologies d'origine hydrique se manifeste le plus souvent par des diarrhées définies cliniquement comme des émissions de selles trop fréquentes et trop abondantes.

On parle d'infection quand la maladie est provoquée par la multiplication des microorganismes chez leur hôte, et, d'intoxication, quand la maladie est provoquée par l'ingestion de toxines préformées dans l'eau par des microorganismes.

3.1 Définir les termes suivants : saprophytisme, commensalisme et parasitisme.

3.2 Donner un exemple de microorganisme adoptant une forme de résistance ; **nommer** cette forme de résistance.

3.3 Définir le pouvoir pathogène.

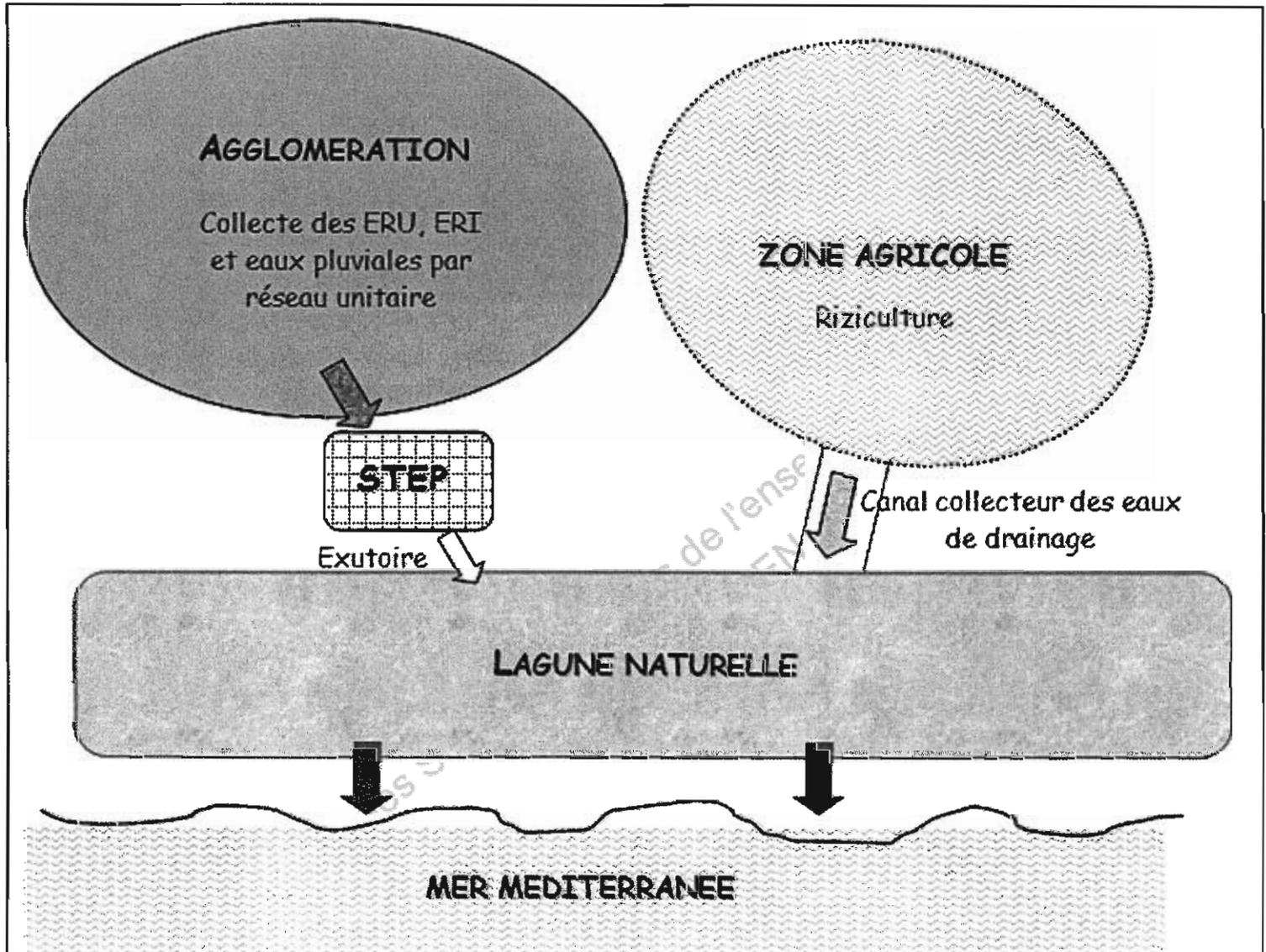
3.4 Donner un exemple de bactérie, un exemple de virus et un exemple de protozoaire responsable de maladie d'origine hydrique.

3.5 Comparer, à l'aide d'un tableau, les groupes de cellules auxquels appartiennent les bactéries et les protozoaires.

3.6 Donner un exemple d'organisme aquatique responsable d'intoxication. **Justifier** votre réponse.

ANNEXE 1

SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA ZONE CONCERNÉE



ERU : eaux résiduaires urbaines

ERI : eaux résiduaires industrielles

ANNEXE 2

MÉTHODE RAPIDE DE DÉNOMBREMENT D'*E. COLI* (COLIPLAGE® BREVETÉE PAR VEOLIA)

Principe : il s'agit d'évaluer la quantité de bactéries présentes dans un échantillon d'eau en mesurant une activité enzymatique.

L'activité enzymatique mesurée est fonction du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon.

Les bactéries sont mises en contact avec un substrat dont la dégradation par une enzyme libère un produit fluorescent dans les UV à 365 nm.

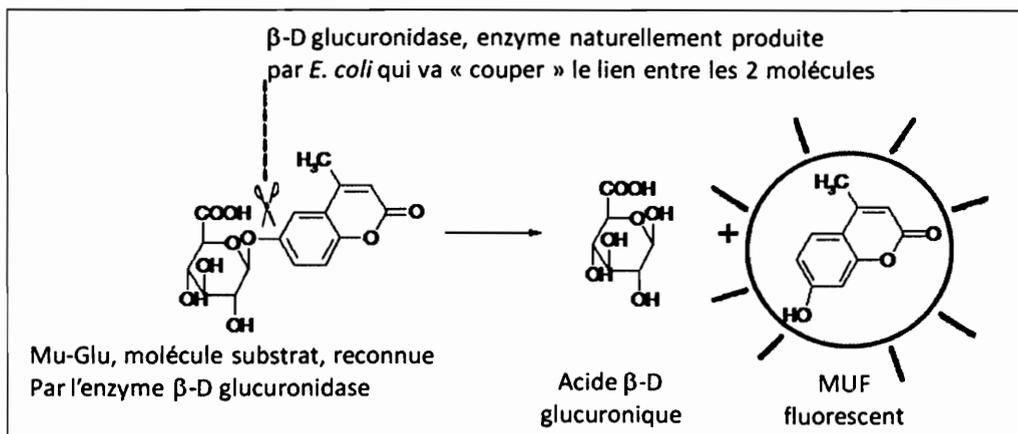


Schéma de la réaction d'hydrolyse avec l'enzyme de la bactérie E. coli et le substrat Mu-Glu.

Un suivi au cours du temps de la fluorescence permet de mesurer l'activité enzymatique. Cette activité enzymatique est ensuite convertie en nombre de bactéries à l'aide d'un abaque.

Mode opératoire : sur 100 mL d'eau à analyser.

- 1) 1^{ère} Filtration de l'échantillon sur deux filtres successifs dont le diamètre des pores fait 20 µm puis 10 µm.
- 2) 2^{ème} filtration de l'échantillon sur un filtre dont le diamètre des pores fait 0,2 µm.
- 3) Mise en solution du filtre dans 10 mL de solution tampon à un pH de 6,9.
- 4) Incubation de la solution à 44 °C et ajout du substrat (Mu-Glu).
- 5) Des prélèvements de 2 mL sont alors effectués toutes les 5 minutes, 40 µL de soude sont ajoutés et la fluorescence est mesurée.
- 6) L'activité enzymatique correspond au coefficient directeur de la droite obtenue sur le graphe qui représente l'intensité de la fluorescence = f (temps).
- 7) L'abaque permet ensuite de convertir cette activité enzymatique en nombre de bactéries.

Source : Document Véolia présentant le procédé Coliplage®

ANNEXE 3

TABLEAU DES NPP

Table 1 -- Table NPP pour 3 × 1 ml, 3 × 0,1 ml et 3 × 0,01 ml (1)

| Nombre de résultats positifs | | | NPP | Catégorie de l'essai (1) | Limites de confiance | |
|------------------------------|---|---|--------|--------------------------|----------------------|------|
| | | | | | 95 % | 95 % |
| | | | | 1 | | |
| 0 | 0 | 0 | < 0,30 | | 0,00 | 0,94 |
| 0 | 0 | 1 | 0,30 | 3 | 0,01 | 0,98 |
| 0 | 1 | 0 | 0,30 | 2 | 0,01 | 1,00 |
| 0 | 1 | 1 | 0,61 | 0 | 0,12 | 1,70 |
| 0 | 2 | 0 | 0,62 | 3 | 0,12 | 1,70 |
| 0 | 3 | 0 | 0,94 | 0 | 0,35 | 3,50 |
| 1 | 0 | 0 | 0,36 | 1 | 0,02 | 1,70 |
| 1 | 0 | 1 | 0,72 | 2 | 0,12 | 1,70 |
| 1 | 0 | 2 | 1,1 | 0 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 1 | 0 | 0,74 | 1 | 0,13 | 2,00 |
| 1 | 1 | 1 | 1,1 | 3 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 2 | 0 | 1,1 | 2 | 0,4 | 3,5 |
| 1 | 2 | 1 | 1,5 | 3 | 0,5 | 3,8 |
| 1 | 3 | 0 | 1,6 | 3 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 0 | 0 | 0,92 | 1 | 0,15 | 3,50 |
| 2 | 0 | 1 | 1,4 | 2 | 0,4 | 3,5 |
| 2 | 0 | 2 | 2,0 | 0 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 1 | 0 | 1,5 | 1 | 0,4 | 3,8 |
| 2 | 1 | 1 | 2,0 | 2 | 0,5 | 3,8 |
| 2 | 1 | 2 | 2,7 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 2 | 0 | 2,1 | 1 | 0,5 | 4,0 |
| 2 | 2 | 1 | 2,8 | 3 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 2 | 2 | 3,5 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 3 | 0 | 2,9 | 3 | 0,9 | 9,4 |
| 2 | 3 | 1 | 3,8 | 0 | 0,9 | 9,4 |
| 3 | 0 | 0 | 2,3 | 1 | 0,5 | 9,4 |
| 3 | 0 | 1 | 3,8 | 1 | 0,9 | 10,4 |
| 3 | 0 | 2 | 6,4 | 3 | 1,8 | 18,1 |
| 3 | 1 | 0 | 4,3 | 1 | 0,9 | 18,1 |
| 3 | 1 | 1 | 7,6 | 1 | 1,7 | 19,9 |
| 3 | 1 | 2 | 12 | 3 | 3 | 36 |
| 3 | 1 | 3 | 18 | 0 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 0 | 9,3 | 1 | 1,8 | 38,0 |
| 3 | 2 | 1 | 15 | 1 | 3 | 38 |
| 3 | 2 | 2 | 21 | 2 | 3 | 40 |
| 3 | 2 | 3 | 29 | 3 | 9 | 99 |
| 3 | 3 | 0 | 24 | 1 | 4 | 99 |
| 3 | 3 | 1 | 46 | 1 | 9 | 198 |
| 3 | 3 | 2 | 110 | 1 | 20 | 400 |
| 3 | 3 | 3 | > 110 | | | |

| (1) Explication des catégories | |
|--------------------------------|---|
| Catégorie | Définition |
| 1 | Combinaisons de tubes les plus fréquentes correspondant à 95 % des cas. |
| 2 | Combinaisons de tubes moins fréquentes que celles de la catégorie 1 et correspondant à seulement 4 % des cas (dans 99 % des cas, les combinaisons obtenues appartenant à la catégorie 1 ou 2). |
| 3 et 0 | Combinaisons de tubes moins fréquentes que celles de la catégorie 2 et correspondant à moins de 1 % des cas. Les résultats obtenus entrant dans ces catégories doivent être considérés avec la plus grande prudence. Ils peuvent être dus soit à une erreur, soit à une imperfection de la technique. |

(1) Voir de MAN, J.C, MPN tables, corrected, Eur. J. Appl. Biotechnol. (1983) 17, pp. 301-305

ANNEXE 4

STÉRILISATEUR UV

TECHNOLOGIE

Un appareil de traitement UV se compose d'une ou plusieurs lampes placées dans des gaines de quartz pour être isolées thermiquement de l'eau. Ces lampes peuvent être assemblées dans un tube cylindrique (appareil de type fermé) ou dans un canal (appareil de type ouvert). Dans les deux cas l'eau circule, au voisinage des lampes, en couches minces car les rayons UV sont rapidement absorbés par l'eau.

L'ensemble est commandé par une armoire électrique assurant l'allumage des lampes, leur fonctionnement, le comptage des heures de fonctionnement et d'une alarme indiquant un éventuel dysfonctionnement.

PLAGE DE DÉBITS

De 0.5 à 3.5 m³/heure pour une dose de 40 mJ/cm² au point le plus défavorable et une transmittance de 98 %.

CARACTÉRISTIQUES

Réacteur Inox de 316 L micro-billé.

Raccordements filetés mâles.

Entrée/sortie en ligne avec limiteur de débit.

Lampe UV basse pression standard 33 et 60 W.

Ballasts électronique sans starter.

Témoins de fonctionnement des lampes.

Compteur horaire.

Protection par fusible .

Interrupteur On/Off.

En option capteur UV sélectif à 254 nm et moniteur de contrôle.

DONNÉES TECHNIQUES

| Désignation | Débit | Lampes UV | Raccord | Diamètre |
|-------------|-----------------------|-----------|---------|----------|
| DBP2 | 2,5 m ³ /h | 1 × 33 W | 3/4 " | 90 mm |
| DBP3 | 3,4 m ³ /h | 1 × 60 W | 3/4 " | 90 mm |

DOSE EFFICACE

| Bactéries | Dose UV |
|-------------------------------|---------|
| <i>Bacillus anthracis</i> | 8,5 |
| <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| <i>Legionella pneumophila</i> | 3,8 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 10 |
| <i>Salmonella enteritidis</i> | 7,8 |
| <i>Streptococcus faecalis</i> | 10 |
| <i>Vibrio cholerae</i> | 6,5 |

| Champignons | Dose UV |
|-------------------------------|---------|
| <i>Penicillium roqueforti</i> | 26,4 |
| <i>Aspergillus niger</i> | 33 |

| Virus | Dose UV |
|------------------------------|---------|
| <i>Virus de l'hépatite A</i> | 8 |

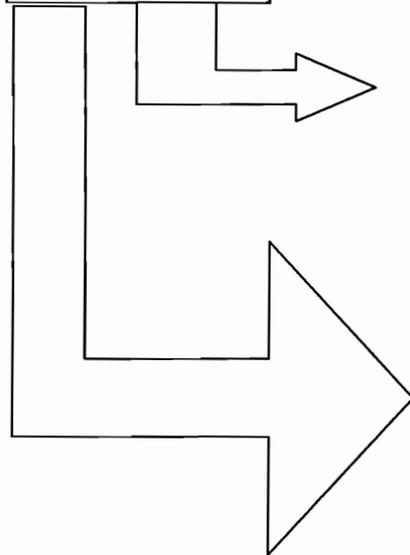
La dose UV correspond à l'énergie UV que doit absorber le micro-organisme vivant pour être détruit. Ces tableaux présentent les niveaux de doses UV (exprimés en milliJoules/cm²) nécessaires pour un abattement des micro-organismes de 99,9 %.

ANNEXE 5

DIFFÉRENTS MAILLONS DES RÉSEAUX TROPHIQUES DE LA LAGUNE LITTORALE

Consommateurs primaires
(phytoplanctonophages)

Zooplancton
(copépodes)



Consommateurs II^{aires}
(Invertébrés benthiques
zooplanctonophages)

Coques, gammares

Consommateurs II^{aires}
Invertébrés pélagiques
(zooplanctonophages)

Mysidacées
Crevettes grises et roses

Consommateurs III^{aires}
Poissons benthivores

Syngnathes
Gobies
Epinoches

**Prédateurs et
superprédateurs**
Ichtyophages
Poissons

Anguilles

ANNEXE 6

IMPRÉGNATION MOYENNE EN PESTICIDES ORGANOCHLORES DES DIFFÉRENTS MAILLONS DU RÉSEAU TROPHIQUE DE LA LAGUNE

Document tiré de l'article de H. ROCHE - Hydrobius n°150

