

BTS METIERS DE L'EAU

BIOCHIMIE BIOLOGIE ET MICROBIOLOGIE DES EAUX - U. 4

SESSION 2005

Durée : 4 heures
Coefficient : 4

Matériel autorisé :

Calculatrice conformément à la circulaire N°99-186 du 16/11/1999

Aucun document autorisé

Documents à rendre avec la copie :

1 feuille de papier millimétré

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 METIERS DE L'EAU	Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4	MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h
	Page : 1/12

MICROBIOLOGIE DES EAUX D'ALIMENTATION

Les différentes parties sont indépendantes.

Cette étude a pour but d'aborder différents phénomènes liés à la prolifération des biofilms dans les réseaux de distribution d'eau potable et d'envisager quelques moyens de lutte.

I/ LE BIOFILM

(45 POINTS)

1.1 Définir le biofilm.

A/ STRUCTURE ET DYNAMIQUE

1.2 A partir des documents 1 et 2 de l'annexe 1 (page 6/12), expliquer en quoi la structure du biofilm peut être qualifiée d'hétérogène.

1.3 A l'aide d'un schéma, illustrer et commenter la dynamique du biofilm dans une canalisation.

B/ AVANTAGES ET INCONVENIENTS

1.4 A partir de l'extrait de l'article de Y. Levi, TSM n°11, 11-99 en annexe 2 (page 7/12), établir un tableau présentant les avantages et les inconvénients du biofilm.

1.5 Expliquer en quoi le biofilm peut être à l'origine de la prolifération de bactéries pathogènes dans les réseaux de distribution d'eau potable.

1.6 Citer un exemple de biotransformation par un biofilm utilisé en production d'eau potable et un exemple en épuration des eaux usées.

C/ MICROBIOLOGIE

L'étude des différentes populations constituant le biofilm a permis d'isoler deux souches : *Pseudomonas aeruginosa* et *Flavobacterium aquatile*. Ce sont toutes deux des bactéries chimio-organotrophes, hétérotrophes pour le carbone.

1.7 Définir la chimio-organotrophie.

1.8 Définir l'hétérotrophie pour le carbone.

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie saprophyte des eaux qui est aussi une bactérie pathogène opportuniste (BPO). Certaines espèces de *Flavobacterium* sont des bactéries commensales de l'Homme.

1.9 Définir la saprophytisme et le commensalisme.

1.10 Expliquer ce qu'est une BPO.

BTS METIERS DE L'EAU	Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4	MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h
	Page : 2/12

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram -, oxydase +.

1.11 Expliquer les principales étapes de la coloration de Gram et leur interprétation en relation avec la structure de la paroi des bactéries.

1.12 Définir et localiser l'oxydase dans la cellule bactérienne. Expliquer son rôle.

Afin de mieux comprendre les cinétiques de formation des biofilms, on a étudié la croissance de ces bactéries en milieu non renouvelé. Les résultats des expériences figurent en annexe 3 (page 8/12).

1.13 Expliquer la méthode de dénombrement par incorporation dans la masse des microorganismes revivifiables.

1.14 A partir des résultats du tableau 1, calculer la concentration en microorganismes revivifiables dans la suspension mère.

1.15 Calculer les concentrations en microorganismes revivifiables, correspondant aux différentes dilutions de la suspension mère, proposées dans le tableau 2.

La courbe représentant la turbidité en fonction de la concentration en microorganismes revivifiables ($NTU = f(UFC/mL)$) est une droite pour une gamme de concentration en UFC de 8.10^6 à $1,6.10^8$ UFC/mL.

Dans cet intervalle, on a la relation : $1 NTU = 2,7.10^6$ UFC/mL.

1.16 A partir des résultats du tableau 3, tracer la courbe de croissance $Ln(UFC/mL) = f(t)$ et déterminer le temps de génération (G), le taux de croissance horaire (r) et la vitesse spécifique de croissance (μ) pour *Pseudomonas aeruginosa*.

II/ PARAMETRES INFLUENÇANT LA FORMATION DU BIOFILM DANS LES RESEAUX DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE (22 POINTS)

A/ INFLUENCE DU CARBONE ORGANIQUE DISSOUS BIODEGRADABLE (CODB)

2.1. Le glucose est une molécule constituante du CODB, préciser sa formule brute.

Expliquer en quoi elle est biodégradable.

Préciser le nom des voies métaboliques correspondantes et les principales molécules intermédiaires, dans le cas d'une biodégradation du glucose en aérobiose.

2.2 Citer un autre exemple de molécule constituant du Carbone Organique Dissous Réfractaire (CODR).

Certaines molécules de CODR présentes dans les eaux de surface réagissent avec le chlore et aboutissent à la formation de composés indésirables.

2.3 Citer le nom de ces composés et expliquer en quoi ils peuvent être nuisibles pour la santé.

BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 3/12

L'annexe 4 (page 9/12) illustre l'influence du CODB sur les populations bactériennes présentes dans une canalisation.

2.4 Analyser et interpréter ce graphique.

B/ INFLUENCE DES APPORTS DE CELLULES EXOGENES

La concentration en cellules en suspension peut être déterminée par différentes méthodes : néphélométrie, filtration sur membrane et incorporation dans la masse.

2.5 Comparer la sensibilité (facilité à dénombrer de faibles concentrations en bactéries) de chacune de ces méthodes.

2.6 Analyser et interpréter le graphique de l'annexe 5 (page 10/12).

2.7 A l'aide des valeurs du graphe de l'annexe 5, choisir, en la justifiant, la méthode qui aurait pu être utilisée dans cette expérience pour mesurer la densité bactérienne de l'eau en entrée de réseau.

C/ INFLUENCE DU CHLORE LIBRE SUR LES BACTERIES EN SUSPENSION DANS L'EAU

DU RESEAU

2.8 Analyser et interpréter le graphique de l'annexe 6 (page 10/12).

Déterminer la valeur de la concentration en chlore libre permettant d'inactiver 90 % des bactéries. Conclure, en sachant que la concentration usuelle du chlore libre résiduel dans un réseau est d'environ 0,2 à 0,4 mg/L.

2.9 A partir des documents précédents, préciser l'influence du chlore libre sur la prolifération du biofilm dans les canalisations de distribution d'eau potable.

III/ EVOLUTION DU BIOFILM DANS LE RESEAU DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE (13 POINTS)

Le graphique de l'annexe 7 (page 11/12) présente l'évolution en chlore résiduel et celle de la concentration en bactéries le long d'un réseau.

3.1 Décrire et expliquer l'évolution de la teneur en chlore résiduel.

3.2 Expliquer la différence observée entre les courbes « cellules totales dénombrées par épifluorescence » et « UFC ».

Expliquer l'évolution de ces paramètres le long du réseau.

3.3 Expliquer le risque lié à la consommation d'eau, encouru par des abonnés situés en des points éloignés du réseau.

BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 4/12

Le graphique de l'**annexe 8 (page 11/12)** présente la cinétique de colonisation du matériau constitutif des canalisations en différents points du réseau et pour différents temps d'immersion.

3.4 Décrire et expliquer les résultats obtenus.

Le graphique de l'**annexe 9 (page 12/12)** présente l'évolution d'un biofilm constitué en un point du réseau soumis à une chloration en continu.

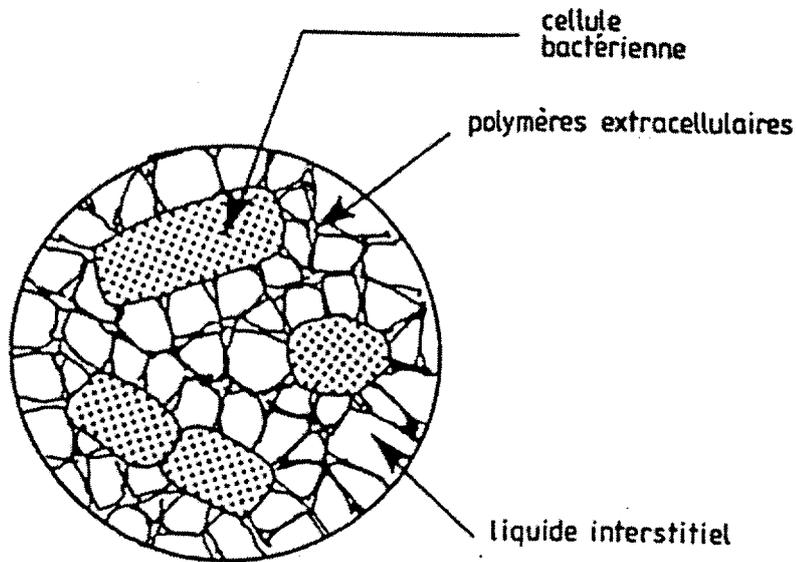
3.5 Expliquer les résultats obtenus.

3.6 A partir des résultats des trois expériences précédentes, conclure quant à la colonisation bactérienne d'un réseau.

BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 5/12

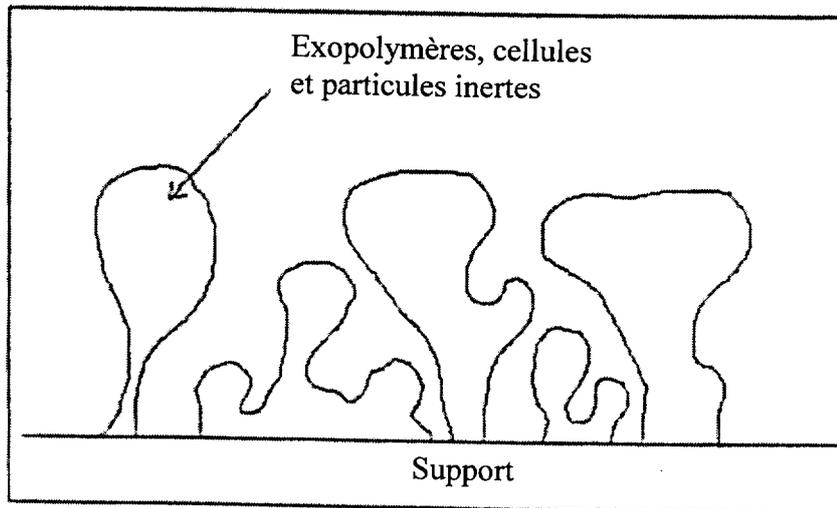
ANNEXE 1 : STRUCTURE DU BIOFILM

DOCUMENT 1 : SCHEMA D'UNE OBSERVATION DE BIOFILM AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE



DOCUMENT 2 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU BIOFILM VU EN COUPE VERTICALE

(De Beer et al, 94)



BTS METIERS DE L'EAU

Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4

Coefficient : 4

Durée : 4 h

Session 2005

MTBBM

Page : 6/12

Quel que soit le domaine industriel, l'apparition de biomasses liées à l'interface entre matériaux et fluides constitue, soit un inconvénient majeur, soit un avantage considérable. Sans décrire tous ces domaines il est possible de citer quelques cas particuliers.

Les biomasses ont une responsabilité importante dans les processus de colmatage des conduites pétrolières, de la corrosion des conduites industrielles, des pertes d'efficacité des échangeurs de chaleur, dans la formation des caries dentaires, et peuvent induire, en chirurgie et dans les milieux médicaux, des contaminations à l'origine des maladies nosocomiales.

Lors de la production et la distribution des eaux potables, les biomasses colonisent les réseaux intérieurs des hôpitaux, des grands immeubles, des avions, des stations thermales et sont à l'origine de proliférations bactérienne, pouvant induire des pathologies surtout vis-à-vis de populations fragilisées. Elles provoquent les phénomènes de colmatage des systèmes de filtration et, en particulier, des systèmes à membranes et opacifient les surfaces des capteurs optiques.

Elles consomment le chlore résiduel dans les canalisations et peuvent induire des contaminations de l'eau en provoquant des dépassements de normes. Elles peuvent aussi protéger de l'action du chlore, des micro-organismes introduits accidentellement dans des canalisations. Mais les biofilms n'ont pas que des rôles néfastes car ils permettent aussi de réaliser des biotransformations dans les unités de traitement des effluents et des eaux potables.

Dans ces cas, les industriels vont chercher à obtenir la biomasse la plus active et la plus efficace possible en prenant garde aux risques de colmatage des réacteurs.

Dans la nature, dans les sols, sur les sédiments, au contact des plantes ou encore dans notre système digestif, elles permettent des éliminations, épurations ou biotransformations qui constituent des étapes indispensables de la chaîne trophique générale de la biosphère.

BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 7/12

**ANNEXE 3 : ESSAI DE CROISSANCE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
EN MILIEU NON RENOUVELE**

Tableau 1 : Dénombrement des microorganismes revivifiables de la suspension mère
(inoculum de 1 mL, une seule boîte par dilution)

Dilution	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
Nombre de colonies	> 300	> 300	165	13	1

Tableau 2 : Etalonnage : Etablissement de la relation entre la turbidité et la concentration en microorganismes revivifiables (UFC/mL)

Dilution de la suspension mère	1/1	1/2	1/10	1/20	1/100	1/200	1/1000	1/5000	1/10000
Turbidité (NTU)	61	60	58	29	5,2	2,4	0,5	0,1	0,1

Tableau 3 : Résultats de l'essai de croissance

Temps d'incubation à 37°C (min)	0	15	30	45	60	75	90	105
Turbidité (NTU)	0,5	0,6	0,9	1,2	1,6	2,1	2,9	3,9

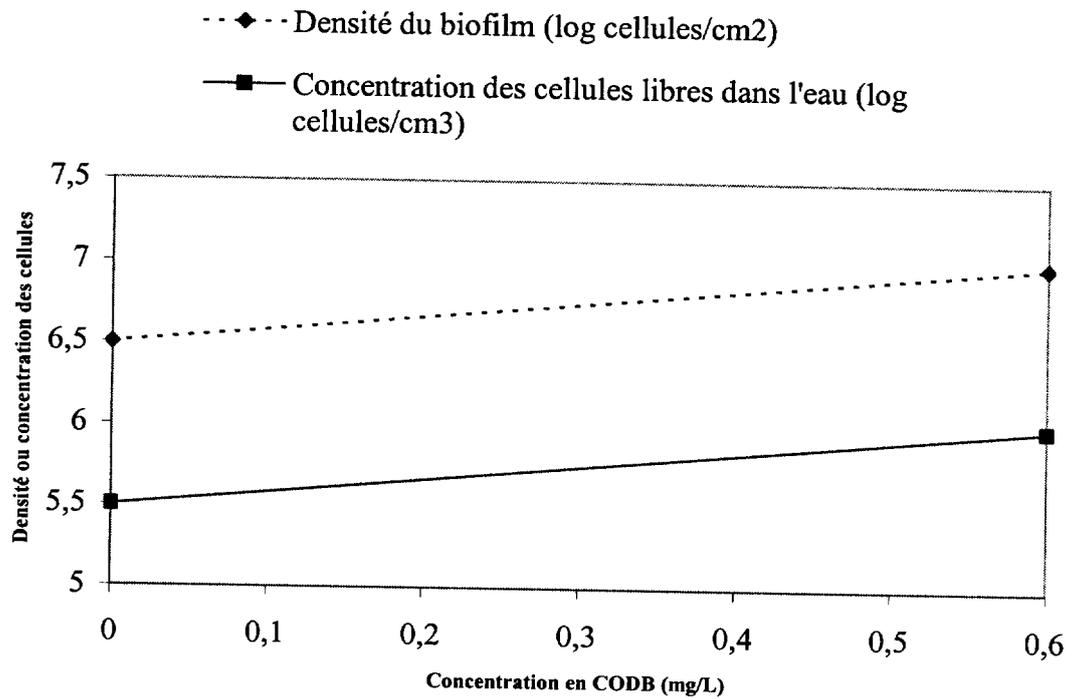
Temps d'incubation à 37°C (min)	120	135	150	165	180	195	210
Turbidité (NTU)	5,3	7,2	9,7	13,1	17,7	23,9	27,5

BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 8/12

ANNEXE 4 : INFLUENCE DU CODB

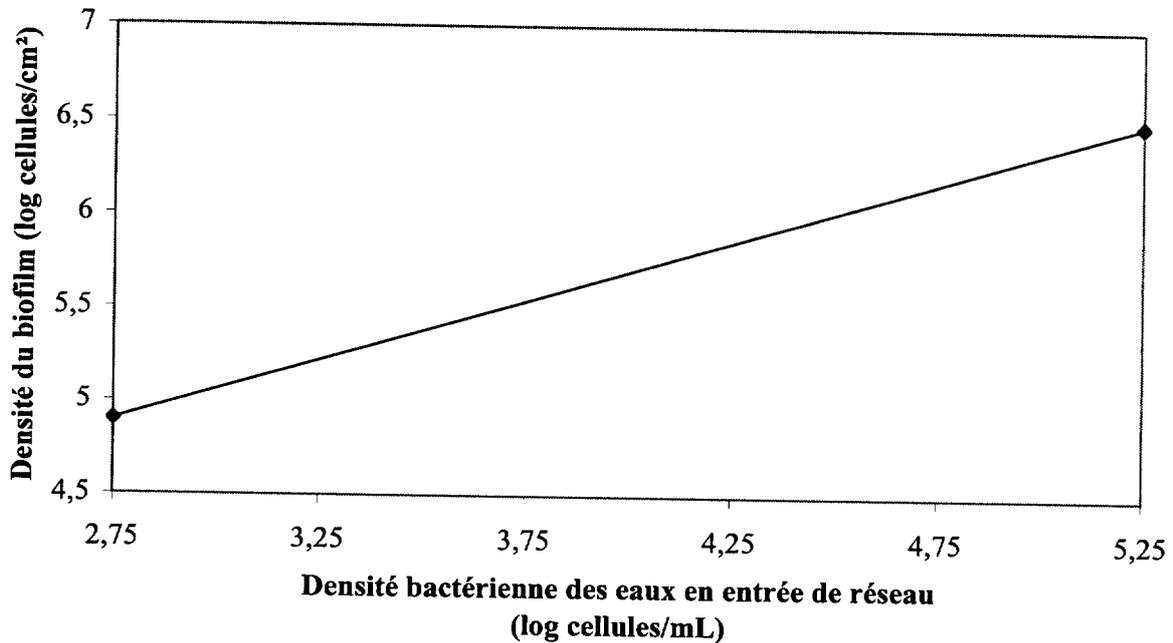
SUR LES POPULATIONS BACTERIENNES PRESENTES DANS UNE CANALISATION

Pour cette expérience, la concentration en oxydant résiduel est nulle.

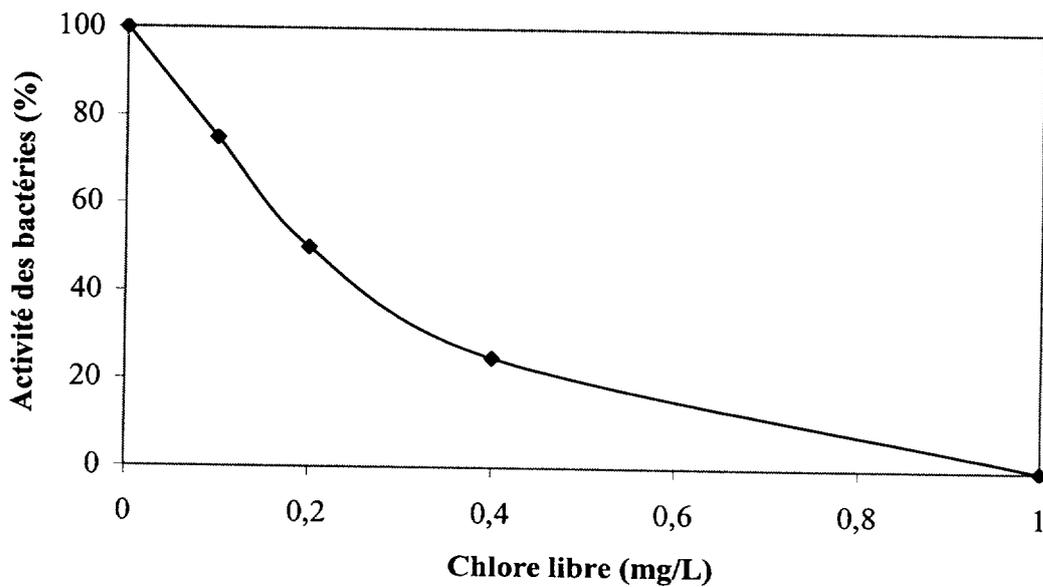


**ANNEXE 5 : INFLUENCE DE L'APPORT DE CELLULES EXOGENES
SUR LA DENSITE DU BIOFILM**

Pour cette expérience, la concentration en oxydant résiduel est nulle.

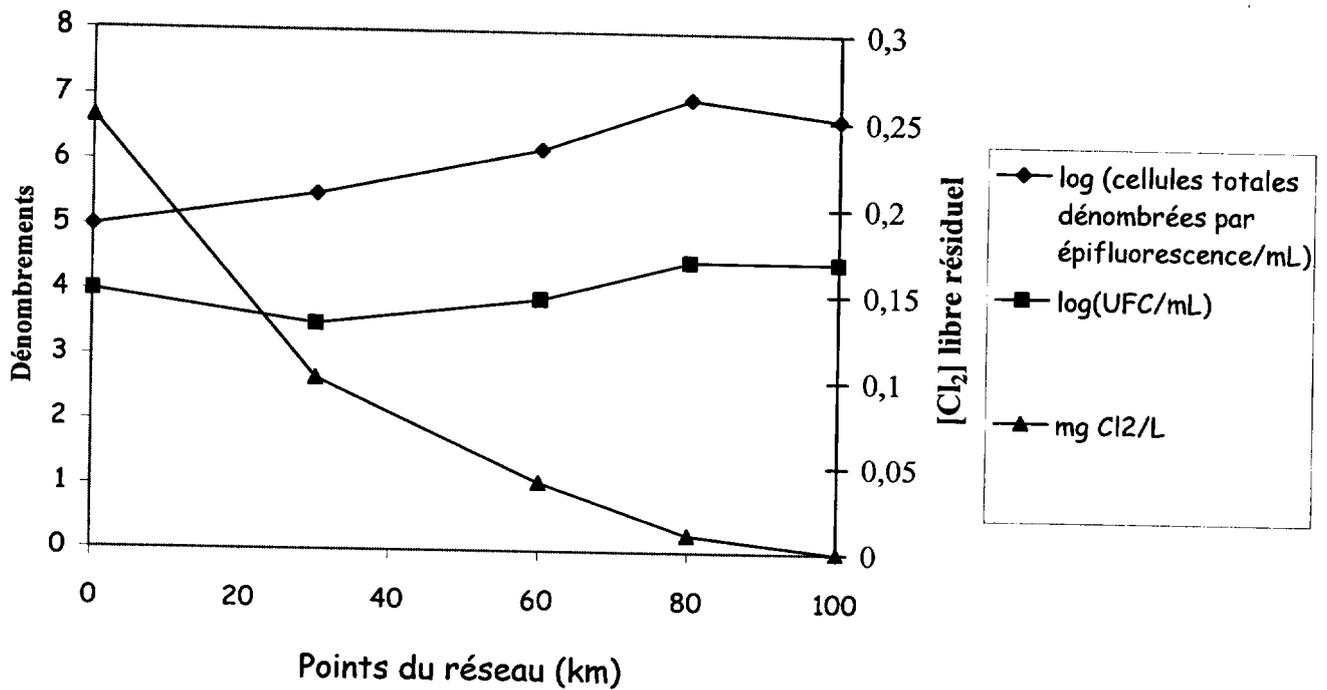


**ANNEXE 6 : EFFET DU CHLORE LIBRE SUR LES BACTERIES EN SUSPENSION
DANS L'EAU DU RESEAU**

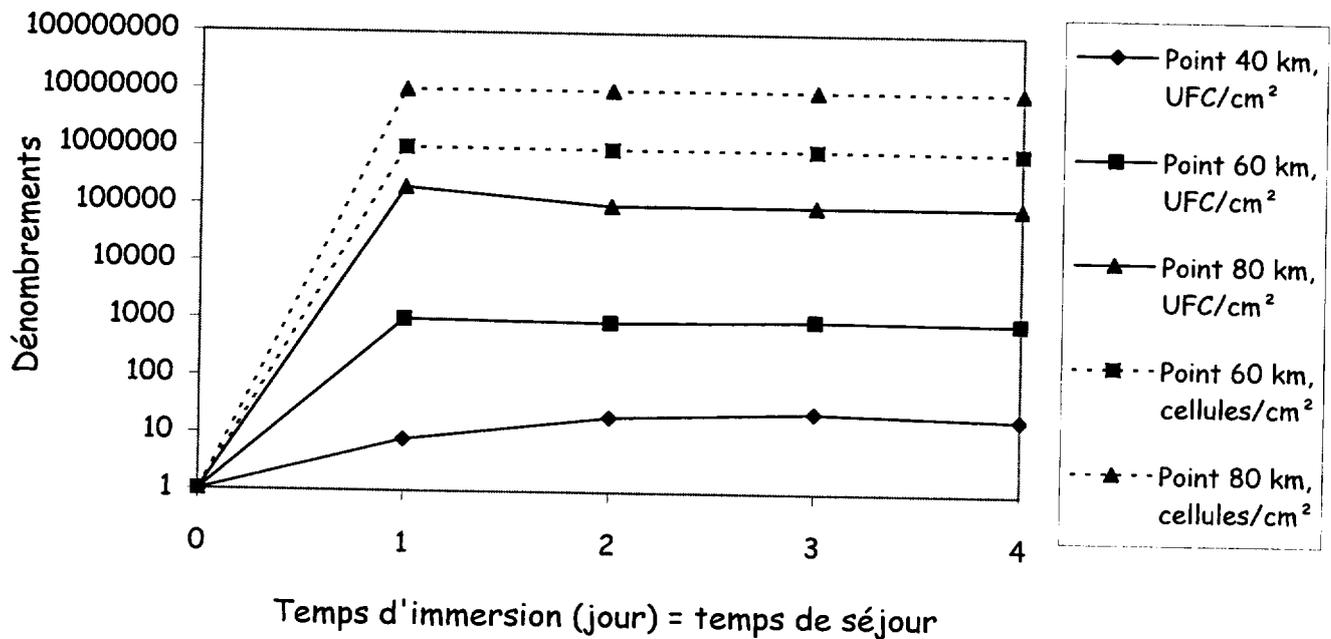


BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 10/12

ANNEXE 7 : EVOLUTION DU CHLORE RESIDUEL ET DE LA CONCENTRATION EN BACTERIES LE LONG DU RESEAU



ANNEXE 8 : CINETIQUE DE COLONISATION DES MATERIAUX IMMERGES



BTS METIERS DE L'EAU		Session 2005
Epreuve de Biochimie, Biologie et microbiologie des eaux – U.4		MTBBM
Coefficient : 4	Durée : 4 h	Page : 11/12

**ANNEXE 9 : EVOLUTION D'UN BIOFILM CONSTITUE
LORS D'UNE CHLORATION EN CONTINU A TAUX CONSTANT**

