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

BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

Sous-épreuve de Microbiologie et Génie Fermentaire

SESSION 2016

DUREE DE L'EPREUVE : 2h00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :
- dictionnaire anglais/français autorisé, calculatrice autorisée.

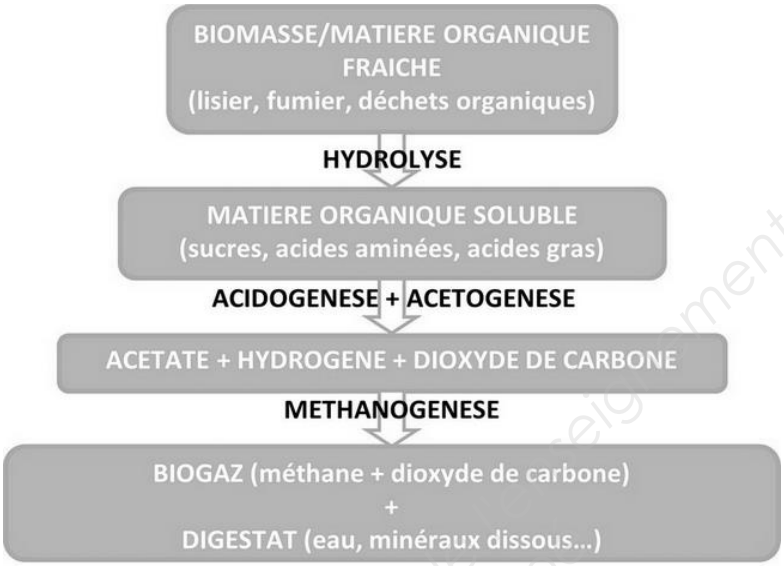
Tout autre matériel est interdit

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 10 pages numérotées de 1/10 à 10/10.

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

La méthanisation biologique

La méthanisation est un processus de digestion anaérobie dans laquelle un écosystème microbien complexe transforme la matière organique en compost, dioxyde de carbone et méthane. La méthanisation permet d'éliminer la pollution organique en générant une énergie renouvelable : le biogaz.
La méthanisation se déroule en plusieurs étapes :



1. Les acteurs biologiques du procédé de méthanisation (8 points)

Les différentes étapes de la méthanisation sont réalisées par des Eubactéries et des Archées.
La première étape consiste à **hydrolyser la matière organique** complexe en monomères. Le composant principal de la matière organique issue des déchets agricoles est la cellulose. Pour améliorer les rendements de production en méthane, le biométhanisateur est également inoculé avec des souches cellulolytiques. Le **document 1** présente la méthode de sélection de souches cellulolytiques performantes (**1a**) et leur identification (**1b**).

1.1 Schématiser l'arbre phylogénétique du monde vivant en trois domaines.

1.2 Indiquer la nature du milieu de base.

1.3 Présenter les intérêts de complémenter le milieu en carboxyméthyl cellulose (CMC).

1.4 Expliquer le principe de la mise en évidence de l'activité cellulolytique.

1.5 Indiquer les deux types de taxonomie auxquels les identifications du **document 1b** font référence.

1.6 Dans le cas des identifications résumées dans le tableau 2 du **document 1b**, préciser le principe physicochimique permettant de révéler les caractères positifs ou négatifs des fermentations.

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

1.7 Identifier la souche la plus intéressante dans la problématique étudiée. Justifier le choix.

La méthanogénèse à partir de l'acétate peut suivre deux voies différentes présentées dans le **document 2** :

- la voie acétoclastique (AC), présentée en (1) et réalisée par exemple par *Methanosarcinaceae spp*.
- l'oxydation syntrophique de l'acétate (OSA) qui s'effectue en deux étapes (2) et (3) par des bactéries oxydant l'acétate comme *Clostridium ultunense* par exemple, en association syntrophique avec des méthanogènes hydrogénotrophes en général *Methanomicrobiales spp*., *Methanobacteriales spp*. ...

1.8 Proposer une définition de la syntrophie.

1.9 Comparer les réactions (1) et (2) d'un point de vue énergétique.

1.10 Montrer l'importance thermodynamique de la syntrophie dans le cas de la méthanogénèse OSA.

L'acétate produit au cours de l'étape d'acétogénèse peut être métabolisé par les bactéries sulfato-réductrices (BSR). Ce **métabolisme compétiteur** conduit à une diminution de la production de méthane et à la pollution du biogaz par H_2S. Le métabolisme de ces bactéries est présenté dans le **document 3**.

1.11 Citer les deux donneurs d'électrons pouvant être utilisés par les BSR. En déduire les types trophiques de ces bactéries.

1.12 Préciser l'accepteur final d'électron. En déduire le type respiratoire des BSR.

2. Le procédé de biométhanisation (4 points)

La succession des populations bactériennes pendant une digestion thermophile a été étudiée à partir d'une biométhanisation réalisée en biofermenteur de laboratoire.
Cette étude comporte l'évaluation en temps réel :

- de différents paramètres physicochimiques dans le bioréacteur (**document 4a**)
- des populations microbiennes au cours du processus de biométhanisation (**document 4b**).

2.1 Décrire l'évolution de la concentration en acide acétique et en méthane (**document 4a)**.

2.2 Établir le lien entre les deux courbes analysées et les étapes de la méthanisation mises en évidence.

2.3 Interpréter **(document 4b)** l'évolution de la population des Méthanosarcinales en fonction de la production des gaz.

2.4. A l'aide du **document 4b,** évaluer les paramètres de croissance des Méthanosarcinales entre 20 et 25 jours.

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

3. Décontamination du digestat (6 points)

La biomasse utilisée lors de la biométhanisation peut être contaminée par différents agents pathogènes comme les virus. Ces agents pathogènes risquent d'être conservés dans le digestat et épandus sur les sols cultivables. Il est donc impératif de le décontaminer en fin ou au cours du procédé de production du biogaz.

Une étude de désinfection du digestat par l'ammoniac a été menée afin d'éliminer des virus à ARN simple brin. Le **document 5** présente les différents virus soumis à désinfection et leurs conditions de culture. Les six types de virus sont préalablement cultivés au moyen de quatre lignées cellulaires différentes.

3.1 Indiquer la caractéristique essentielle des lignées cellulaires utilisées.

3.2 Présenter le schéma annoté du virus AIV.

Un exemple de cycle de multiplication d'un virus ARN (-) non segmenté est présenté **document 6**.

3.3 Identifier les étapes 1 à 6 du cycle viral.

3.4 Présenter le premier événement de l'étape 4 permettant l'expression du virus. Justifier de son importance par comparaison avec le cycle de multiplication d'un virus ARN (+).

L'action de l'ammoniac est testée sur les virus MS2 et FCoV. Le **document 7** présente certains des résultats collectés.

3.5 Rappeler la signification de la grandeur D.

3.6 Estimer la concentration minimale en NH_3 permettant d'inactiver 90 % de la population des deux virus en moins de 10 h.
Donnée **:** un traitement de 10 h correspond à log D = 1

3.7 A l'aide des données du **document 5**, émettre une hypothèse permettant d'expliquer la différence de résistance au traitement observée entre les deux virus.

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

Clarté et rigueur de l'expression écrite de la composition (2 points)
Justesse et rigueur de l'expression écrite (orthographe, grammaire, vocabulaire)
Clarté de la présentation générale de la copie et fluidité de la lecture

Document 1 :

1a. Sélection des souches cellulolytiques

Screening of cellulase-producing bacteria

Each bacterial culture was inoculated onto CMC agar and was incubated at 30 °C for 7 days. The CMC agar plates were flooded with iodine* at room temperature for 3 min; the excess was removed, and the diameter of the degradation halo around each colony was measured. The strains that formed hydrolysis zones were selected for use in subsequent assays. The positive control for cellulase activity was 0.5 $U.mL^{-1}$ cellulase from *Aspergillus niger*.

To flood = inonder
* Le diiode colore la cellulose en bleu.

Composition du milieu CMC agar (carboxymethyl cellulose) :
Milieu de base supplémenté avec 10 $g.L^{-1}$ de CMC.

Milieu de base :

1	$g.L^{-1}$	KH_2PO_4
0,5	$g.L^{-1}$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$
20	$g.L^{-1}$	NaCl
0,01	$g.L^{-1}$	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$
0,01	$g.L^{-1}$	$MnSO_4 \cdot H_2O$
0,3	$g.L^{-1}$	NH_4NO_3
15	$g.L^{-1}$	agar

Applied and Environmental Microbiology, July 2014, Volume 80, Number 14, p. 4199–4206

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

Document 1

1b. Résultats et identification des souches

DNA extraction and molecular identification using 16S rRNA genes

The 16S rRNA gene was amplified. Then the products were sequenced. Sequences were analyzed, assembled and subsequently analyzed using BLASTN software against the nonredundant database available in GenBank.

Bacterial strain	Host species	Species with sequence homology[a]	E value	Similarity (%)	Identity (%)	Homolog GenBank accession no.	Diam of halo (cm)
MC23	*Mytilus chilensis*	*Aeromonas bivalvium*	0.0	100	99	DQ504430.1	1.1
MC25	*Mytilus chilensis*	*Aeromonas salmonicida*	0.0	99	98	AB472980.1	1.5
MA2	*Mesodesma donacium*	*Aeromonas bivalvium*	0.0	100	99	DQ504430.1	1.1
MA5	*Mesodesma donacium*	*Raoultella ornithinolytica*	0.0	100	99	CP004142.1	0.8
MA11	*Mesodesma donacium*	*Klebsiella* sp.	0.0	100	99	GU290323.1	0.9

[a] Sequence homology was determined with BLASTN.

Tableau 1 : Diamètre des halos de dégradation de la cellulose et identification des souches

Test	Reaction and/or enzyme	*Aeromonas bivalvium* (MC23)	*Aeromonas salmonicida* (MC25)	*Aeromonas bivalvium* (MA2)	*Raoultella ornithinolytica* (MA5)	*Klebsiella* sp. (MA11)
ONPG	β-Galactosidase (*ortho*-nitrophenyl-β-D-galactopyranosidase)	+	+	+	+	−
ADH	Arginine dihydrolase	+	+	+	−	−
LDC	Lysine decarboxylase	−	−	−	+	+
ODC	Ornithine decarboxylase	−	−	−	−	−
CIT	Citrate utilization	−	−	−	+	+
H2S	H_2S production	−	−	−	−	−
URE	Urease	−	−	−	+	+
TDA	Tryptophan deaminase	+	+	+	+	+
IND	Indole production	+	+	+	+	+
VP	Acetoin production (Voges-Proskauer test)	−	+	+	+	+
GEL	Gelatinase	+	+	+	−	−
GLU	Fermentation/oxidation (glucose)	+	+	+	+	+
MAN	Fermentation/oxidation (mannitol)	+	+	+	+	+
INO	Fermentation/oxidation (inositol)	−	−	−	+	+
SOR	Fermentation/oxidation (sorbitol)	−	−	−	+	+
RHA	Fermentation/oxidation (rhamnose)	−	−	−	+	+
SAC	Fermentation/oxidation (saccharose)	+	+	+	+	+
MEL	Fermentation/oxidation (melibiose)	−	−	−	+	+
AMY	Fermentation/oxidation (amygdalin)	−	−	+	+	+
ARA	Fermentation/oxidation (arabinose)	+	+	+	+	+
Nitrate reduction GLU tube	NO_2 production	−	−	+	+	+

Tableau 2 : Profils biochimiques des souches isolées obtenus par API20E

Applied and Environmental Microbiology, July 2014, Volume 80, Number 14, p. 4199–4206

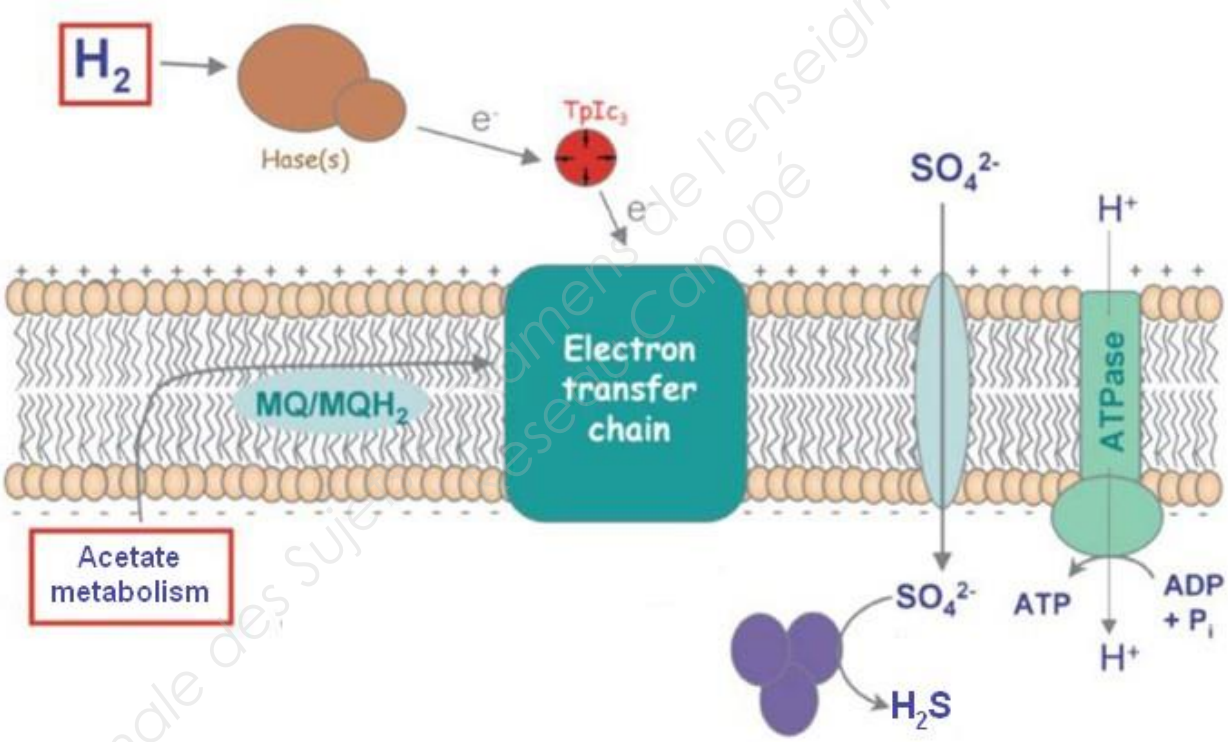
Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement professionnel
Réseau Canopé

Document 2 Les réactions de méthanogénèse

Voie AC	$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$ $\Delta G^{0'} = -31.0\,kJ\ mol^{-1}$ (1)
Voie OSA : étape 1	$CH_3COO^- + 4H_2O \rightarrow 2HCO_3^- + 4H_2 + H^+$ $\Delta G^{0'} = +104.6\,kJ\ mol^{-1}$ (2)
Voie OSA : étape 2	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$ $\Delta G^{0'} = -135.6\,kJ\ mol^{-1}$ (3)

FEMS Microbiol Ecol 83 (2013) 38–48

Document 3 Représentation schématique de la production d'ATP chez les bactéries sulfato-réductrices (BSR)

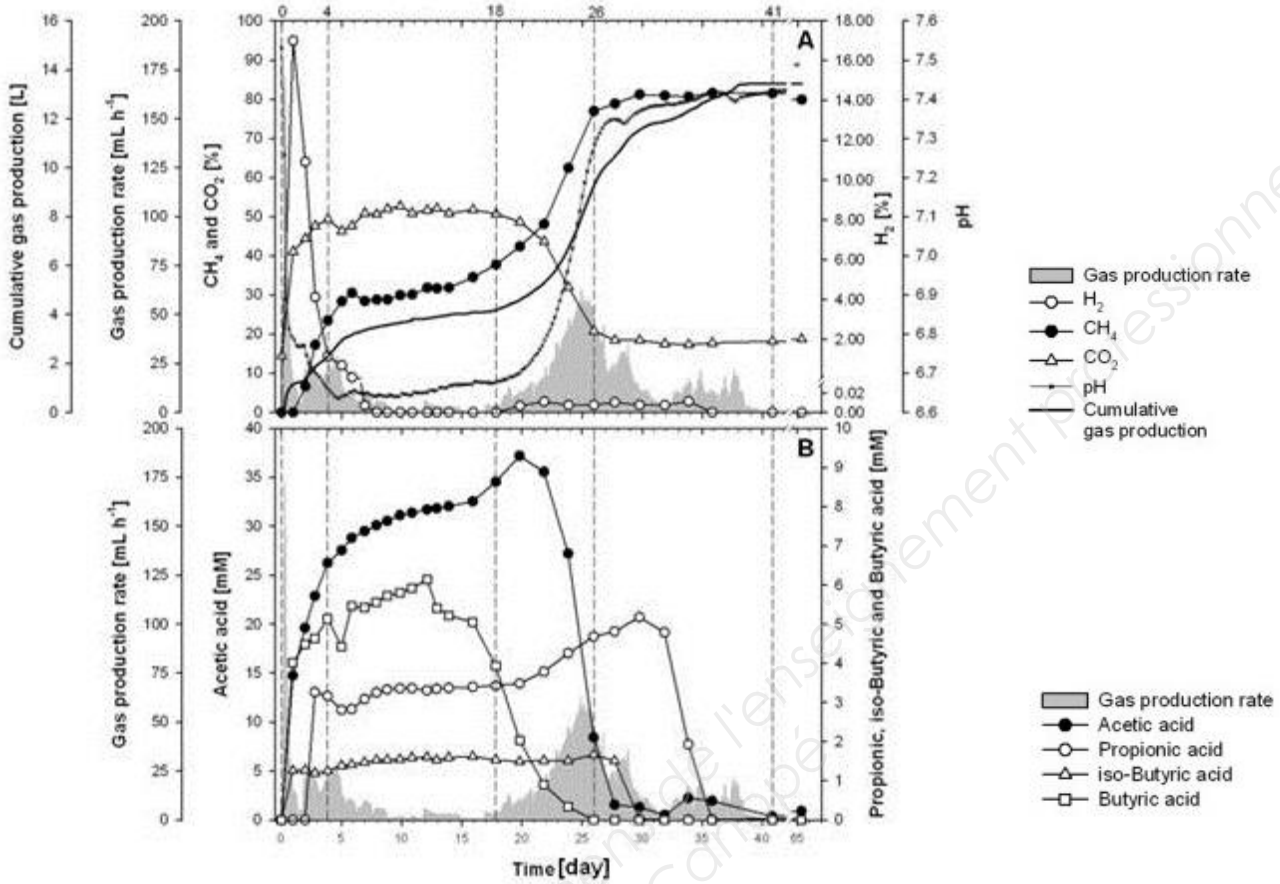


Energies 2015, 8, 399-429

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

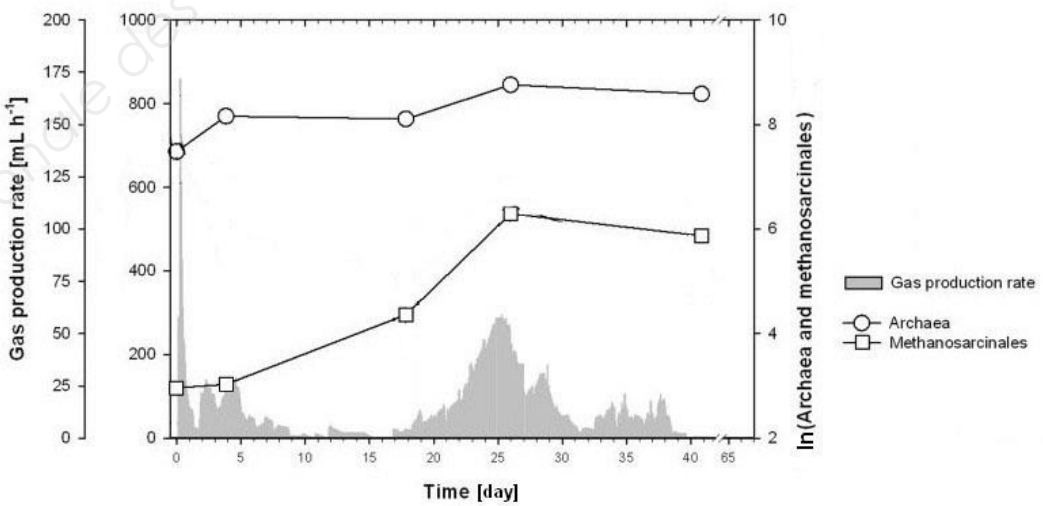
Document 4

4a : Evolution des différents paramètres suivis dans le bioréacteur



Fermenter performance. pH-values, qualitative and quantitative properties of biogas (A) and concentrations of volatil fatty acids (B) during the fermentation. Gas production rate (grey background) is given in A and B to ease the comparison. Dashed lines at t = 0, 4, 18, 26, 41 outline the samples which were additionally investigated by molecular approaches.
To ease = faciliter

4b : Evolution des populations bactériennes au cours du processus de biométhanisation



Les Méthanosarcinales sont une sous population des Archées.

PLOS ONE, February 2014, Volume 9, Issue 2, e86967

Base Nationale des Sujets d'Examen de l'enseignement Professionnel Réseau Canopé

Document 5 Propriétés des différents virus/bactériophages utilisés et leurs conditions de culture

The cell lines were grown to confluence in 25-cm^2 cell culture flasks in their respective cell culture medium (CCM), and the virus was inoculated and cultivated to a 80 to 100% cytopathogenic effect (CPE),

TABLE 1. Properties of the viruses/bacteriophage used in the study[a]

Virus/phage	Shape	Family	Size (nm)	Envelope	Genome	
					Type[b]	Size (kb)
AIV	Spherical/pleomorphic	*Orthomyxoviridae*	80–120	Yes	Segmented −ssRNA	10.0–14.6
BPIV-3	Spherical/pleomorphic	*Paramyxoviridae*	150–200	Yes	−ssRNA	15.4
FCoV	Spherical	*Coronaviridae*	100–120	Yes	+ssRNA	27.6–31
FCV	Icosahedral	*Caliciviridae*	27–40	No	+ssRNA	7.7
MS2	Icosahedral/spherical	*Leviviridae*	26	No	+ssRNA	3.6

[a] See references 24, 26, 27, 38, 43.
[b] −ssRNA, negative-sense single-stranded RNA; +ssRNA, positive-sense single-stranded RNA.

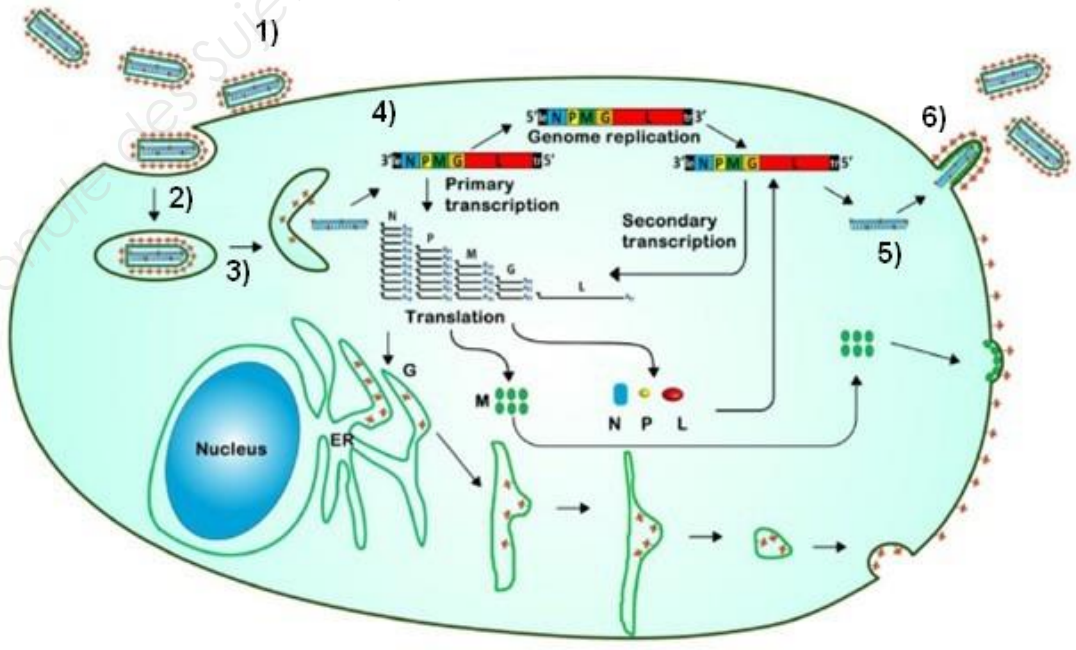
TABLE 2. Cultivation conditions for the viruses and bacteriophage used in the study

Microorganism	Cell/bacterium (strain)	CCM[f]	MOI[a]	Titer ($\log_{10}$ ml^{-1})[b]
LPAIV H5N3	MDCK (ATCC CCL-34)	EMEM with 2.5 mg L^{-1} TPCK-trypsin[c]	0.001	7.0
HPAIV H7N1	MDCK (ATCC CCL-34)	EMEM with 2% (vol/vol) FBS[d]	0.001	8.3
BPIV-3	BT[g]	EMEM-Tricine with 2% (vol/vol) FBS[e]	0.1	7.0
FCV	Fcwf (ATCC CRL-2787)	EMEM-Tricine with 2% (vol/vol) FBS	0.1	6.6
FCoV	Fcwf (ATCC CRL-2787)	EMEM-Tricine with 2% (vol/vol) FBS	0.03	6.7
MS2	WG49 (ATCC 700730)	Nutrient broth	1	10

[a] MOI, multiplicity of infection.
[b] $TCID_{50}$ for virus and number of PFU for bacteriophage.
[c] EMEM, Eagle's minimal essential medium with 120 mg liter^{-1} penicillin G sodium salt and 100 mg liter^{-1} streptomycin sulfate; TPCK-trypsin, trypsin treated with L-(tosylamido-2-phenyl) ethyl chloromethyl ketone (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, NJ).
[d] FBS, fetal bovine serum (PAA Laboratories, Pasching, Austria).
[e] EMEM-Tricine, EMEM with 3 g liter^{-1} Tricine and 25 mg liter^{-1} neomycin sulfate.
[f] SVA production, Uppsala, Sweden.
[g] BT, bovine turbinate.

Applied and Environmental Microbiology, June 2011, Vol. 77, No. 12, p. 3960–3966

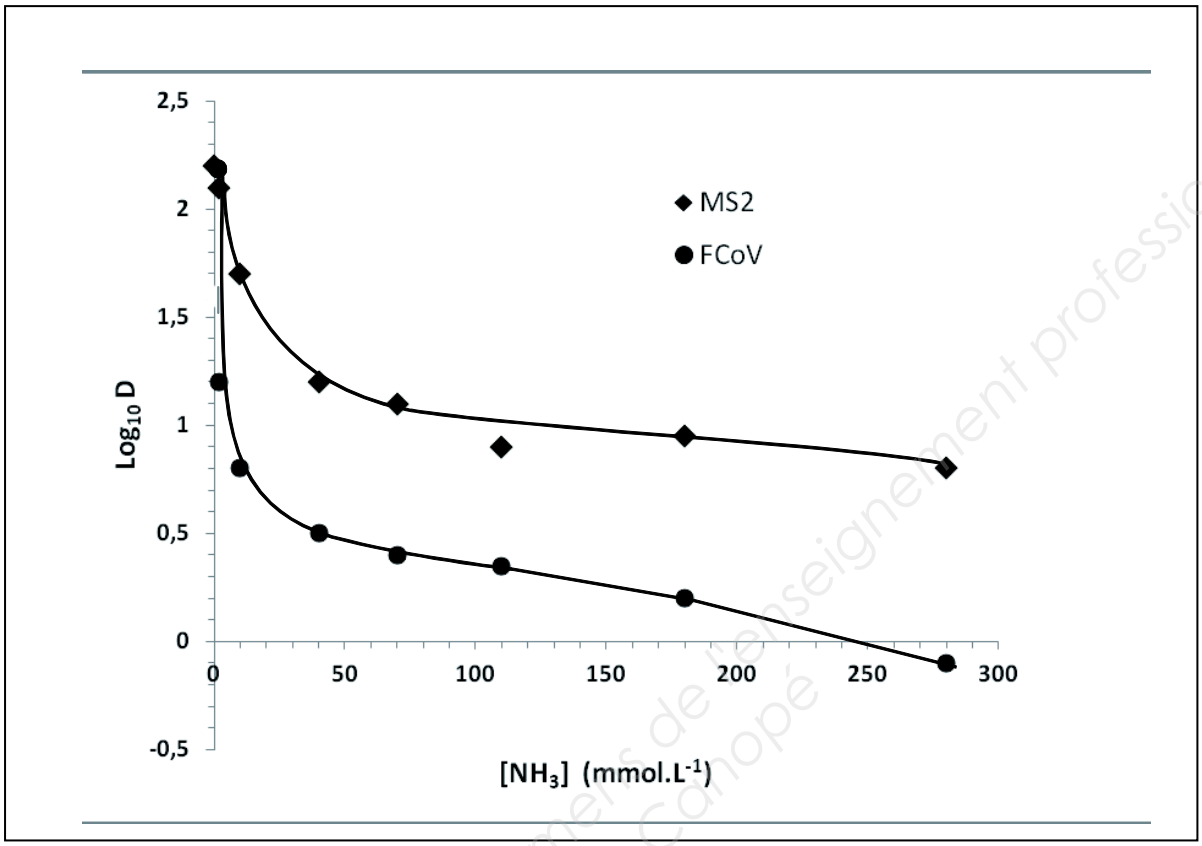
Document 6 : Exemple de cycle de multiplication d'un virus ARN (-)



Anica Dricu (Ed.), ISBN: 978-953-51-0881-8, InTech

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

Document 7 Action de l'ammoniac sur les virus MS2 et FCoV



Log D values (h) of ssRNA viruses as a function of ammonia concentration (mmol.L^{-1}) in waste.
D values : the time required to reduce the population by 1 Log [90%].

Applied and Environmental Microbiology, June 2011, Vol. 77, No. 12, p. 3960–3966

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.