

# BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

**SESSION 2026**

## SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

**Biochimie, Biologie et Biotechnologies**

**Mercredi 17 juin 2026**

Durée de l'épreuve : **3 heures**

*L'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.  
L'usage de la calculatrice sans mémoire, « type collègue », est autorisé.*

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Ce document comporte 11 pages numérotées de 1/11 à 11/11.

| COMPÉTENCES ÉVALUÉES |                       |                         |                               |                       |                       |
|----------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| C1                   | C2                    | C3                      | C4                            | C5                    | C6                    |
| Analyser un document | Effectuer les calculs | Interpréter des données | Argumenter un choix technique | Élaborer une synthèse | Communiquer à l'écrit |
| 4 points             | 2 points              | 5 points                | 3 points                      | 5 points              | 1 point               |

## ÉTUDE DE FERMENTS LACTIQUES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS

L'acide lactique est un conservateur utilisé par de nombreuses industries, en particulier cosmétiques et agro-alimentaires. Comme additif alimentaire, il est identifié par le code E270 et sa production à l'échelle industrielle est réalisée par fermentation microbienne à partir de glucides. Les microorganismes utilisés pour produire l'acide lactique sont appelés ferments lactiques. Certaines entreprises sont spécialisées dans la production de tels ferments, soit en vue de la production industrielle d'acide lactique, soit en vue de la commercialisation de ferments pour la transformation directe d'aliments pour humains ou pour animaux.

### Partie I – Questionnement scientifique et technologique (durée indicative 2 h 30)

*Streptococcus thermophilus*, une souche de ferment lactique parmi les plus utilisées dans l'industrie, a été génétiquement modifiée par plusieurs techniques de biologie moléculaire dans le but d'améliorer le rendement de production d'acide lactique. Cette souche génétiquement modifiée est appelée *S. thermophilus* GM.

Le laboratoire d'une entreprise de bioproduction évalue l'intérêt d'utiliser la souche *S. thermophilus* GM plutôt que la souche sauvage en suivant la démarche suivante :

- comparaison de l'efficacité de la production d'acide lactique entre les deux souches ;
- comparaison de la croissance des deux souches.

Dans un premier temps, le principe de la technique de modification génétique utilisée pour obtenir *S. thermophilus* GM est présenté.

#### 1. PRINCIPE DE LA TECHNIQUE DE MODIFICATION GÉNÉTIQUE DE *S. THERMOPHILUS* SAUVAGE

Une modification génétique de *S. thermophilus* a été effectuée par la technique CRISPR-Cas9. L'utilisation de cette technique a permis d'ajouter un gène impliqué dans la fermentation lactique dans le génome de la bactérie.

Le **document 1** présente, de façon simplifiée, le principe de la technique CRISPR-Cas9.

**Q1.** C1 Reporter sur la copie les repères 1 à 4 et identifier les éléments qu'ils désignent à partir de la description du principe.

La mise en œuvre de la technique CRISPR-Cas9 nécessite l'élaboration d'un ARN-guide de séquence complémentaire à celle de l'ADN cible.

La séquence d'ADN cible est donnée ci-dessous :

5' – CGACGAAGGTCC – 3'

**Q2.** C4 Argumenter le choix de la séquence d'ARN-guide parmi les propositions ci-dessous :

|          |                        |
|----------|------------------------|
| <b>A</b> | 5' – GGACCTTCGTCG – 3' |
| <b>B</b> | 5' – GGACCUUCGUCG – 3' |
| <b>C</b> | 5' – GCUGCUUCCAGG – 3' |
| <b>D</b> | 5' – GCTGCTTCCAGG – 3' |

## 2. VÉRIFICATION DE L'EFFICACITÉ DE LA PRODUCTION INDUSTRIELLE DE L'ACIDE LACTIQUE PAR LES DEUX SOUCHES DE *S. THERMOPHILUS*

### 2.1. La fermentation lactique

Lors de la fermentation lactique, le lactose est transformé en lactate par les ferments. Le **document 2** présente un schéma du métabolisme mis en place lors de cette fermentation.

**Q3.** C1 Établir le bilan de matière de la dégradation d'une mole de lactose en lactate.

### 2.2. Dosage de l'acide lactique

Le dosage du lactate produit par la souche de *S. thermophilus* GM et du lactate produit par une souche de *S. thermophilus* sauvage est effectué par une méthode enzymatique. Le **document 3** présente le mode opératoire du dosage enzymatique du lactate.

**Q4.** C1 Montrer que la méthode enzymatique utilisée est une méthode en point final.

**Q5.** C1 Montrer que le protocole utilisé permet le dosage du L-lactate et du D-lactate.

La concentration en lactate attendue dans le milieu de culture en fin de fermentation est de l'ordre de  $4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**Q6.** C3 Expliquer le choix d'une dilution au  $1/100^{\text{ème}}$  du milieu de culture, préalable au dosage.

Les résultats obtenus pour la souche GM sont présentés dans le **document 3**.

**Q7.** C2 Calculer la concentration en masse de lactate dans l'échantillon dilué puis dans l'échantillon non dilué.

La concentration en acide lactique produit par la souche sauvage a été également mesurée selon la même procédure :

$\rho$  (lactate, milieu de culture) souche sauvage =  $3,9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**Q8.** C4 Argumenter l'intérêt de la modification génétique de la souche *S. thermophilus* pour la production d'acide lactique.

### 3. PRODUCTION DE FERMENTS LACTIQUES

Outre la production industrielle d'acide lactique, l'entreprise de bioproduction souhaite également produire *S. thermophilus* à des fins de commercialisation comme ferments lactiques, en vue de la production d'aliments fermentés pour animaux.

#### 3.1. Étude de la croissance des deux souches de *S. thermophilus*

Un suivi de croissance des deux souches de *S. thermophilus* (sauvage et GM) est réalisé dans le but de comparer leurs paramètres de croissance.

Le **document 4** présente les résultats obtenus.

**Q9.** ☐ Calculer la vitesse spécifique de croissance  $\mu_{\text{expo}}$  (en  $\text{min}^{-1}$ ) puis le temps de génération  $G$  de la souche *S. thermophilus* GM pendant la phase exponentielle de croissance.

**Q10.** ☐ Comparer les courbes de croissances obtenues pour la souche sauvage et la souche GM selon les critères suivants : durée de la phase de latence, vitesse spécifique de croissance et concentration en biomasse finale.

**Q11.** ☐ Argumenter l'intérêt de la modification génétique de la souche *S. thermophilus* pour la production de ferments lactiques.

#### 3.2. Étude de la dépendance de la souche *S. thermophilus* aux facteurs de croissance

Afin de diminuer leurs coûts de production, des entreprises productrices de ferments cherchent à cultiver les bactéries sur des milieux moins coûteux en facteurs de croissance. On étudie alors la dépendance des souches de *S. thermophilus* vis-à-vis de facteurs de croissance. Le **document 5** présente les résultats obtenus.

**Q12.** ☐ Interpréter les résultats obtenus pour le disque témoin, pour chaque souche.

**Q13.** ☐ Interpréter les résultats du test de dépendance aux facteurs de croissance pour les deux souches.

**Q14.** ☐ Argumenter l'intérêt de la modification génétique de la souche *S. thermophilus* pour le coût de production.

### 4. BILAN

**Q15.** ☐ Comparer sous la forme d'un tableau l'ensemble des caractéristiques des souches de *S. thermophilus* sauvage et GM étudiées.

|                                                                       |
|-----------------------------------------------------------------------|
| <b>Partie II – Question de synthèse (durée indicative 30 minutes)</b> |
|-----------------------------------------------------------------------|

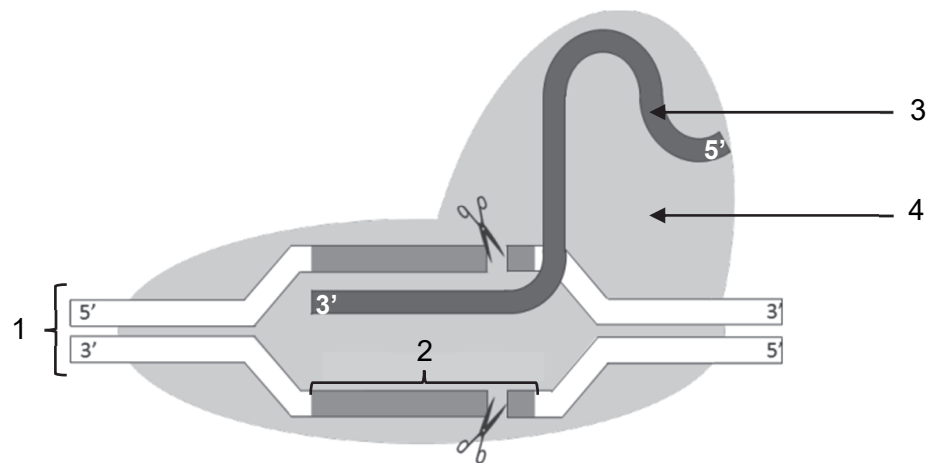
Les ferments lactiques sont très utilisés dans les bio-industries et plus particulièrement dans l'industrie laitière. En effet, les ferments lactiques sont utilisés pour la production de nombreux produits laitiers (yaourt, crème fraîche, fromage...). Cependant, on peut observer des accidents de fabrication suite, par exemple, à une contamination par des virus des ferments lactiques appelés bactériophages. Ces infections peuvent entraîner une inefficacité des ferments et donc une diminution de qualité des produits voire une impossibilité de production.

**Le document 6** présente des extraits de rapports officiels mentionnant les problèmes associés à la présence de bactériophages dans les industries laitières et les solutions pour y faire face.

**Q16.** C5 Rédiger un paragraphe présentant les solutions envisagées pour lutter contre la présence des bactériophages dans l'industrie laitière en précisant leurs limites.

## DOCUMENT 1 : Principe de la technique CRISPR-Cas9

D'après, *Crispr-cas9 : Des ciseaux génétiques pour le cerveau*, L. Galanopoulo, MAJ 07/10/2020, consulté le 15/11/2023



CRISPR-Cas9 est un complexe formé de deux éléments :

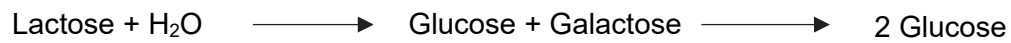
- un brin d'ARN appelé ARN-guide, de séquence complémentaire à celle de l'ADN que l'on veut couper ;
- et une endonucléase, l'enzyme Cas9.

Dans la cellule, l'ARN-guide va reconnaître la séquence d'ADN cible et s'y lier par complémentarité. Cela permet au complexe CRISPR-Cas9 de se positionner sur l'ADN au niveau de la séquence à couper. L'enzyme Cas9 clive alors les deux brins de la séquence d'ADN.

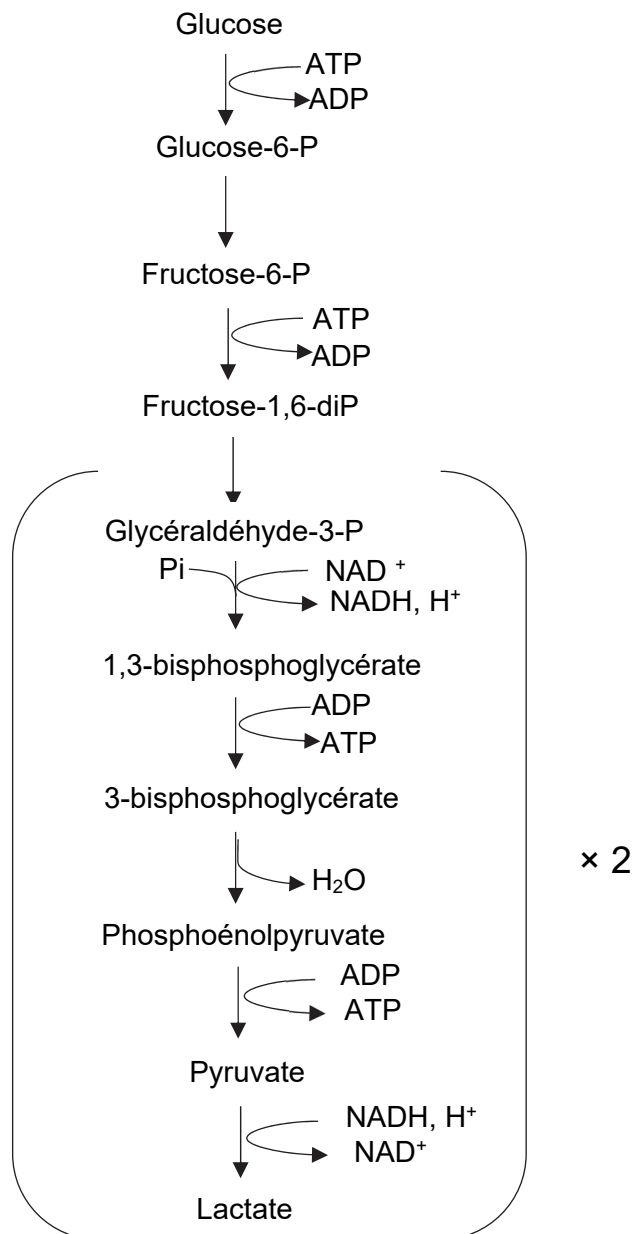
Dans le cadre de l'optimisation de l'acidification par les ferments lactiques, on pourra y insérer un gène impliqué dans la fermentation lactique.

## DOCUMENT 2 : Représentation simplifiée de la fermentation lactique

### 1. Transformation du lactose en glucose

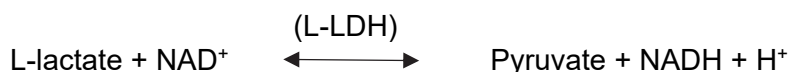
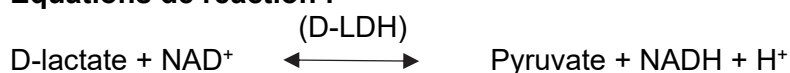


### 2. Transformation du glucose en lactate



### DOCUMENT 3 : Dosage enzymatique du lactate

#### Équations de réaction :



La quantité de NADH formé est mesurée par la lecture de l'absorbance à 340 nm.  
L'étape 2 est nécessaire au bon déroulement du dosage.

#### Réactifs :

Solution 1 : tampon

Solution 2 : NAD<sup>+</sup>

Solution 3 : D-glutamate pyruvate transaminase (D-GPT)

Solution 4 : D-lactate déshydrogénase (D-LDH)

Solution 5 : L-lactate déshydrogénase (L-LDH)

**Échantillon à doser** : surnageant de milieu de culture en fin de fermentation par la souche *S. thermophilus* GM, centrifugé et dilué au 1/100<sup>ème</sup>.

#### Mode opératoire :

| Déposer dans les cuves :                                                                                                                     | Blanc (µL) | Essai (µL) |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|
| Eau désionisée                                                                                                                               | 1600       | 1500       |
| Échantillon à doser                                                                                                                          | -          | 100        |
| Solution 1                                                                                                                                   | 500        | 500        |
| Solution 2                                                                                                                                   | 100        | 100        |
| Solution 3                                                                                                                                   | 20         | 20         |
| Mélanger, lire l'absorbance $A_1$ après environ 3 minutes et ajouter :                                                                       |            |            |
| Solution 4                                                                                                                                   | 20         | 20         |
| Solution 5                                                                                                                                   | 20         | 20         |
| Mélanger, mesurer l'absorbance $A_2$ après environ 10 minutes.<br>Mesurer à nouveau l'absorbance après 2 minutes pour vérifier sa stabilité. |            |            |

#### Résultats :

|       | Blanc | Essai |
|-------|-------|-------|
| $A_1$ | 0,101 | 0,103 |
| $A_2$ | 0,102 | 0,351 |

#### Calculs de la concentration en masse :

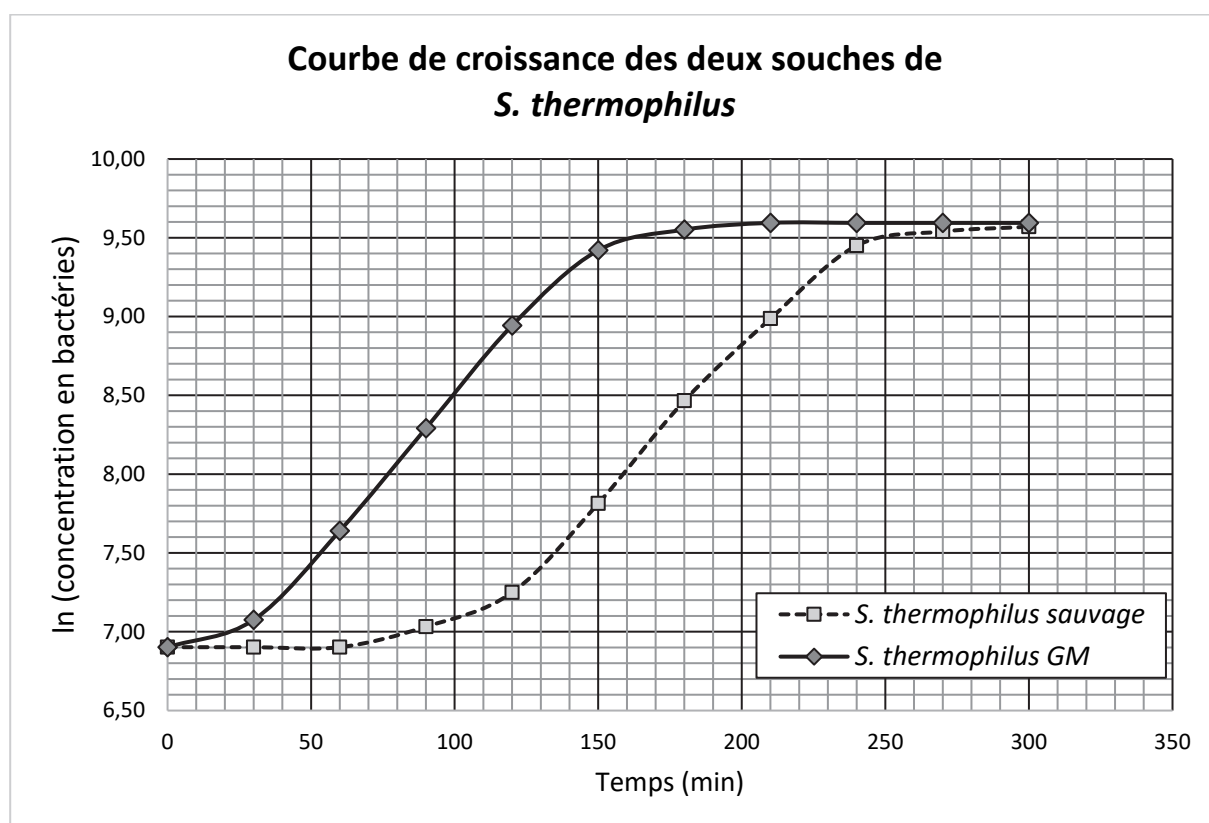
$$\rho_{\text{(lactate, échantillon à doser)}} = 0,3232 \times \Delta A \quad \text{exprimé en g} \cdot \text{L}^{-1}$$

Avec  $\Delta A = (A_2 \text{ essai} - A_1 \text{ essai}) - (A_2 \text{ blanc} - A_1 \text{ blanc})$

#### Métrologie :

Limite de validité du dosage :  $\rho_{\text{(lactate, échantillon à doser)}} : [0,030 - 0,100] \text{ (g} \cdot \text{L}^{-1})$

**DOCUMENT 4 : Suivi de croissance de *S. thermophilus***



| Équations aux grandeurs                                  |                                |
|----------------------------------------------------------|--------------------------------|
| Vitesse spécifique de croissance (min <sup>-1</sup> )    | Temps de génération (min)      |
| $\mu_{expo} = \frac{\ln C_{N2} - \ln C_{N1}}{t_2 - t_1}$ | $G = \frac{\ln 2}{\mu_{expo}}$ |

**Donnée :**  $\ln 2 = 0,69$

## DOCUMENT 5 : Test de dépendance des souches de *S. thermophilus* aux facteurs de croissance

### Mode opératoire

Deux boîtes de gélose dépourvues de facteurs de croissance sont ensemencées, la première avec la souche sauvage de *S. thermophilus* et la deuxième avec la souche modifiée génétiquement.

Trois disques sont déposés à la surface de la gélose :

- Condition 1 : un disque imprégné d'eau stérile (témoin)
- Condition 2 : un disque imprégné d'un facteur de croissance X
- Condition 3 : un disque imprégné d'un facteur de croissance Y

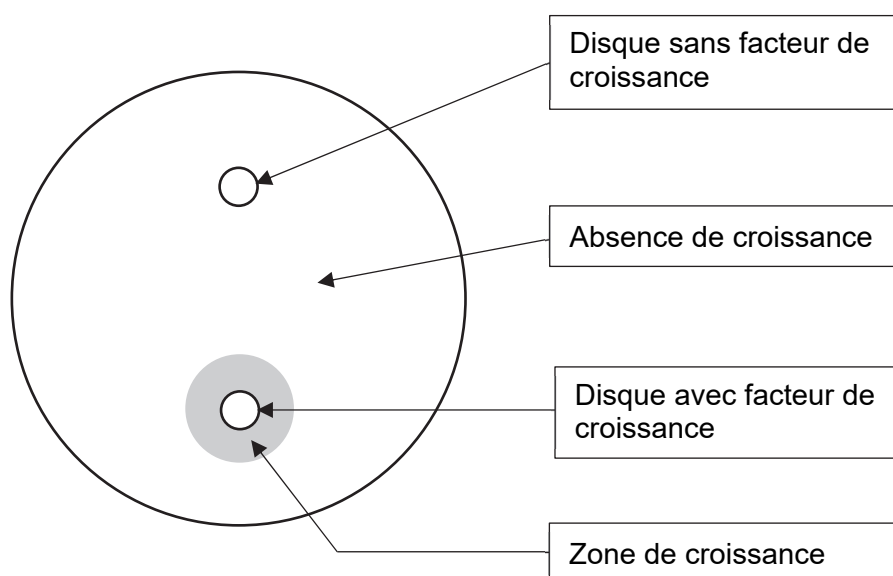
Remarque : le prix d'achat du facteur de croissance X est dix fois supérieur à celui du facteur de croissance Y.

### Résultats du test

Suite à l'incubation, les diamètres des **zones de croissance** (en mm) autour des disques sont mesurés et indiqués dans le tableau :

|             | Diamètres des zones de croissance en mm |                                 |
|-------------|-----------------------------------------|---------------------------------|
|             | Boîte <i>S. thermophilus</i> sauvage    | Boîte <i>S. thermophilus</i> GM |
| Condition 1 | 0                                       | 0                               |
| Condition 2 | 20                                      | 20                              |
| Condition 3 | 0                                       | 20                              |

### Schéma de principe du test de dépendance d'une souche vis-à-vis d'un facteur de croissance



## **DOCUMENT 6 : Problèmes liés à la présence de phages dans l'industrie laitière**

### **Contrôle des bactériophages de la ferme à l'usine**

*D'après : Forum technologique Novalait, novembre 2010.*

Les phages sont aujourd'hui la cause principale des retards dans les fermentations laitières et de la fluctuation de la qualité de certains fromages. Dans le cadre de l'efficacité de production et de la sécurité sanitaire, il est important qu'une usine utilise une bonne stratégie de contrôle, ce qui inclut une procédure efficace de nettoyage. Il apparaît souhaitable que les sources de contamination soient connues afin de maximiser leur contrôle. L'air des usines de transformation du lait a été identifié comme réservoir de phages. De nombreuses surfaces dans ces usines ont été écouvillonnées et identifiées comme contaminées par des phages. L'eau de la ferme a également été identifiée comme réservoir de phages mais les traitements UV se sont avérés très efficaces pour inactiver les bactériophages présents. Des assainisseurs d'air ou de surface tels que le peroxyde d'hydrogène se sont montrés efficaces à des concentrations faibles ne nécessitant pas de rinçage.

### **Phages résistants à la chaleur et au pH**

*D'après Problèmes d'addiction, DEFR Agroscope, décembre 2013*

Autrefois, les phages des bactéries lactiques étaient considérés comme peu résistants à la chaleur. Aujourd'hui, il semble que cette observation ne soit plus valable. On constate que certains phages ne sont pas totalement inactivés même après un traitement thermique du lait de 15 min à 95 °C. C'est en particulier dans les établissements industriels de transformation du lait que les phages résistants à la chaleur se sont développés. Les phages sont en général résistants aux pH élevés, mais sensibles aux acides. Des phages de bactéries lactiques peuvent parfois résister à des traitements de 30 min à un pH de 11. Ils sont en revanche rapidement inactivés à un pH  $\leq 2,5$ . Ce traitement est exploité lors des nettoyages des surfaces et ustensiles en production.

### **Comment éviter les problèmes d'acidification en fromagerie ?**

*D'après : Défaut d'acidification : Cas d'une attaque phagique, Actalia, juillet 2021*

**La rotation de souches** : cette première solution fait appel à des cocktails de ferments de composition connue. Dans le cas de la fabrication de fromage, un cocktail de ferments du commerce contient un type de chaque espèce (*Lactococcus lactis*, *Leuconostoc cremoris*). Si le lait est contaminé par un bactériophage spécifique à une des souches, elle sera alors inactive au bout de quelques jours de fabrication, entraînant un blocage de l'acidification. Une des solutions consiste à changer de cocktail de ferments pour un autre contenant des souches possédant les mêmes propriétés acidifiantes, mais une sensibilité aux bactériophages différente. L'alternance de ces ferments permet d'éviter la prolifération de bactériophages donnés en leur enlevant régulièrement leur souche hôte spécifique.

**La diversité** : cette deuxième solution utilise des ferments d'une grande diversité bactérienne dont la composition exacte n'est pas connue, comme ceux du lactosérum utilisé pour fabriquer des fromages. Ils peuvent contenir des bactériophages sans conséquence sur la fabrication. Même si une grande partie de la population est éliminée par des bactériophages, cette flore sera remplacée par une autre, résistante à ces bactériophages. Cependant, cette solution peut donner lieu à des écarts de qualité d'un lot à l'autre et décaler les temps de travail.