

BACCALAURÉAT TECHNOLOGIQUE

ÉPREUVE D'ENSEIGNEMENT DE SPÉCIALITÉ

SESSION 2025

SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE

Biochimie, Biologie et Biotechnologies

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 collège », est autorisé.*

Dès que ce document vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce document comporte 13 pages numérotées de 1/13 à 13/13.

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

LE MICROBIOTE INTESTINAL DU NOURRISSON

De nombreuses études ont montré que l'allaitement maternel contribue à l'établissement du microbiote intestinal du nourrisson. En particulier, la composition microbienne et la composition biochimique du lait de la mère influencent la multiplication et la diversification de la flore microbienne intestinale du nourrisson.

La compréhension de ces phénomènes permet d'envisager des applications thérapeutiques chez les nourrissons, notamment par l'utilisation de probiotiques, microorganismes présentant un effet bénéfique sur la santé. Une pathologie particulièrement ciblée par ces approches est l'eczéma du nourrisson.

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

Deux aspects du microbiote du nourrisson sont étudiés.

Dans un premier temps, le sujet porte sur l'effet de la composition du lait maternel pour la mise en place du microbiote chez le nourrisson: après avoir mis en évidence la diversité du microbiote du lait maternel par PCR quantitative en temps réel, l'impact de la composition biochimique du lait maternel sur le microbiote du nourrisson est étudié.

Dans un second temps, le sujet aborde l'étude de la croissance d'un microorganisme identifié comme probiotique possible pour le traitement de l'eczéma.

1. DIVERSITÉ MICROBIENNE DU LAIT MATERNEL

Le lait maternel contient une grande diversité de microorganismes. Grâce à différentes techniques de biologie moléculaire, dont la PCR quantitative en temps réel (qPCR), l'analyse d'échantillons de lait maternel permet de révéler cette diversité microbienne.

1.1. Analyse quantitative d'échantillons par qPCR

Depuis son invention, la PCR en point final est une des techniques les plus utilisées pour la détection de l'ADN après amplification d'une séquence spécifique.

Le **document 1** présente les étapes de la PCR en point final et une courbe représentant l'influence de la température sur l'activité de l'ADN polymérase utilisée.

Q1. (C1) Décrire chaque étape en s'appuyant sur la structure de l'ADN et en déduire son nom.

Q2. (C3) Analyser la courbe du **document 1** pour expliquer le choix de la température de l'étape 3.

La technique de la PCR quantitative en temps réel (qPCR), décrite dans le **document 2**, a été développée à partir de la technique historique de la PCR en point final. Cette technique permet notamment d'accéder à des données quantitatives tout au long de l'amplification.

Q3. (C1) Déterminer le Ct pour un échantillon contenant initialement 10^7 copies d'ADN cible.

Q4. (C1) Déterminer, à l'aide de la courbe d'étalonnage, la quantité initiale d'ADN cible présente dans un échantillon pour lequel on détecte un signal fluorescent au bout de 20 cycles ($C_t=20$).

Q5. (C1) En déduire un intérêt de la PCR quantitative en temps réel par rapport à la PCR classique.

1.2. Utilisation de la qPCR pour mettre en évidence la diversité microbienne dans le lait maternel

La qPCR est utilisée pour mettre en évidence la diversité du microbiote présente dans le lait maternel, de manière quantitative et qualitative.

Le **document 3** présente les résultats de qPCR obtenus à partir de deux échantillons de lait maternel prélevés l'un 10 jours après l'accouchement et l'autre 90 jours après l'accouchement.

Q6. (C3) Montrer que la composition du microbiote du lait maternel évolue de manière qualitative et quantitative au cours du temps.

2. EFFET D'OLIGOSACCHARIDES SUR LE MICROBIOTE INTESTINAL DU NOURRISSON

Les oligosaccharides présents dans le lait maternel, appelés HMO (Human Milk Oligosaccharides), possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques pour le microbiote intestinal du nourrisson.

Le **document 4** présente la structure d'un exemple de HMO ainsi que les enzymes nécessaires à sa digestion.

Q7. (C3) Expliquer pourquoi les HMO sont peu dégradés par le système digestif du nourrisson.

Chez le nourrisson, près de 50 % des germes retrouvés dans le tube digestif sont des bifidobactéries.

Q8. (C1) Écrire l'équation bilan de la dégradation, par les bifidobactéries, d'une mole d'oligosaccharide HMO proposé dans le **document 4** en monomères.

Q9. (C4) Argumenter, en s'appuyant sur le devenir des molécules du **document 4**, pourquoi la présence des HMO dans le lait maternel peut favoriser le développement des bifidobactéries dans le tube digestif du nourrisson.

Le **document 5** présente l'effet des HMO sur la colonisation de l'épithélium intestinal du nourrisson par des bactéries pathogènes.

Q10. (C3) Montrer que la concentration en HMO a un effet sur la colonisation des cellules intestinales par *Campylobacter jejuni*.

Q11. (C1) Décrire l'interaction moléculaire entre les bactéries pathogènes et l'épithélium intestinal du nourrisson en l'absence d'HMO.

Q12. (C4) Émettre alors une hypothèse expliquant pourquoi les HMO limitent la colonisation des cellules intestinales du nourrisson par des bactéries pathogènes en s'appuyant sur les schémas du **document 5**.

3. INFLUENCE DU LAIT MATERNEL SUR LE MICROBIOTE INTESTINAL DU NOURRISSON

Q13. (C5) Rassembler l'ensemble des éléments obtenus sur le lien entre la composition du lait maternel et le microbiote intestinal du nourrisson.

4. ÉTUDE DE LA CROISSANCE D'UN MICROORGANISME IDENTIFIÉ COMME PROBIOTIQUE POSSIBLE

L'eczéma du nourrisson est une maladie allergique fréquente caractérisée par une inflammation chronique de la peau provoquant démangeaisons et lésions cutanées.

Des études sur le microbiote de nourrissons atteints d'eczéma montrent une corrélation entre l'absence de *Lactobacillus rhamnosus GG* et l'apparition de cette maladie. Sous forme de probiotique, une supplémentation en *Lactobacillus rhamnosus GG* pourrait prévenir la survenue de la pathologie.

4.1. Préculture de la souche

Les bactéries de la souche *Lactobacillus rhamnosus GG* sont des bacilles (2 à 4 µm de long) à Gram positif qui s'organisent parfois en courtes chaînes.

Ces microorganismes fermentescibles sont acidophiles, aéro-anaérobies facultatifs et immobiles. Ils nécessitent pour leur croissance des ions sulfate, magnésium et manganèse. Ils ne cultivent pas en milieu ordinaire.

Le **document 6** donne des indications sur les conditions de préculture de la souche et présente le milieu de culture utilisé.

Q14. (C2) Déterminer par le calcul le volume d'inoculum de préculture nécessaire pour effectuer la culture de *Lactobacillus rhamnosus GG* dans un puits de la microplaqué.

Q15. (C3) Expliquer pourquoi les bactéries peuvent cultiver dans les conditions de la préculture.

4.2. Culture de la souche

À la suite de la préculture, la souche de *Lactobacillus rhamnosus GG* est cultivée et sa croissance est mesurée. Le **document 7** présente les conditions de culture et la courbe de croissance de *Lactobacillus rhamnosus GG*.

Q16. (C4) Argumenter l'intérêt d'utiliser une préculture pour optimiser la croissance de la souche de *Lactobacillus rhamnosus GG*.

Un industriel prévoit de produire un probiotique destiné aux nourrissons à partir de cette souche de *Lactobacillus rhamnosus GG* et de le conditionner sous forme lyophilisée, afin de conserver la viabilité de la souche, à raison de 10 milliards de bactéries par sachet.

Q17. (C2) Déterminer par le calcul la concentration en nombre de bactéries, $C_{N(\text{bactéries ; milieu})}$, exprimé en $\text{bactéries} \cdot \text{mL}^{-1}$ obtenue après 2 heures de culture.

Donnée : 1 unité d'atténuation lue à 590 nm correspond à $1.10^9 \text{ bactéries} \cdot \text{mL}^{-1}$

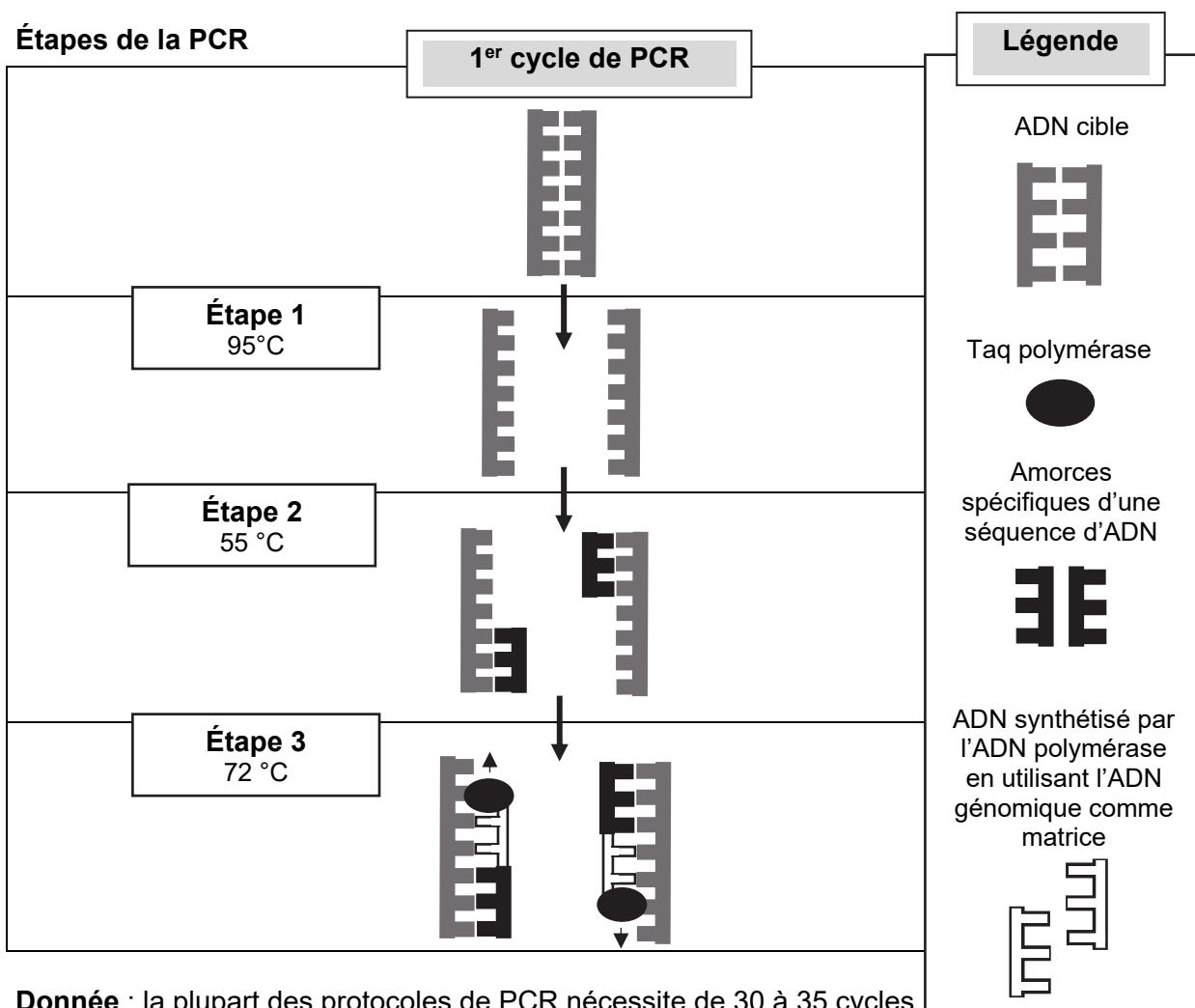
Q18. (C2) En déduire le volume de milieu àensemencer pour obtenir, après culture, le nombre de bactéries souhaitées pour la préparation d'un sachet de probiotique.

Partie II – Question de synthèse (durée indicative 30 minutes)

Le **document 8** présente un ensemble de données scientifiques sur l'utilisation des probiotiques chez le nourrisson.

Q19. (C5) Montrer que l'utilisation des probiotiques en prévention chez le nourrisson peut sembler pertinente pour certaines indications mais présente également des limites.

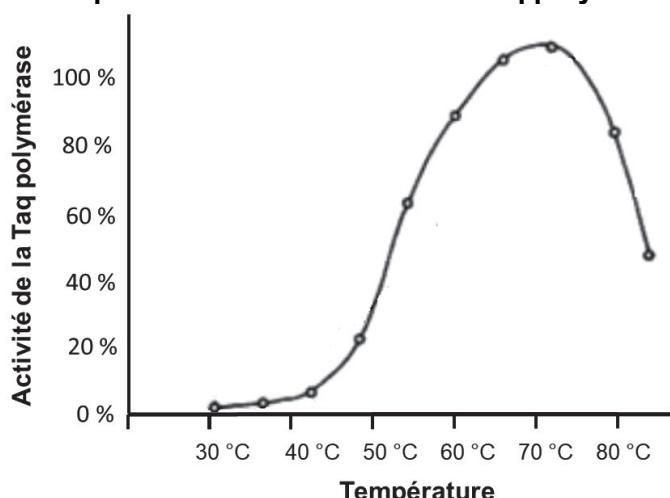
DOCUMENT 1 : Principe de la PCR en point final



Les résultats obtenus par la technique PCR reposent entre autre sur :

- la qualité d'hybridation des amores avec l'ADN cible ;
- la dénaturation complète du brin matrice.

Influence de la température sur l'activité de la Taq polymérase :



DOCUMENT 2 : Principe de la PCR quantitative en temps réel (qPCR)

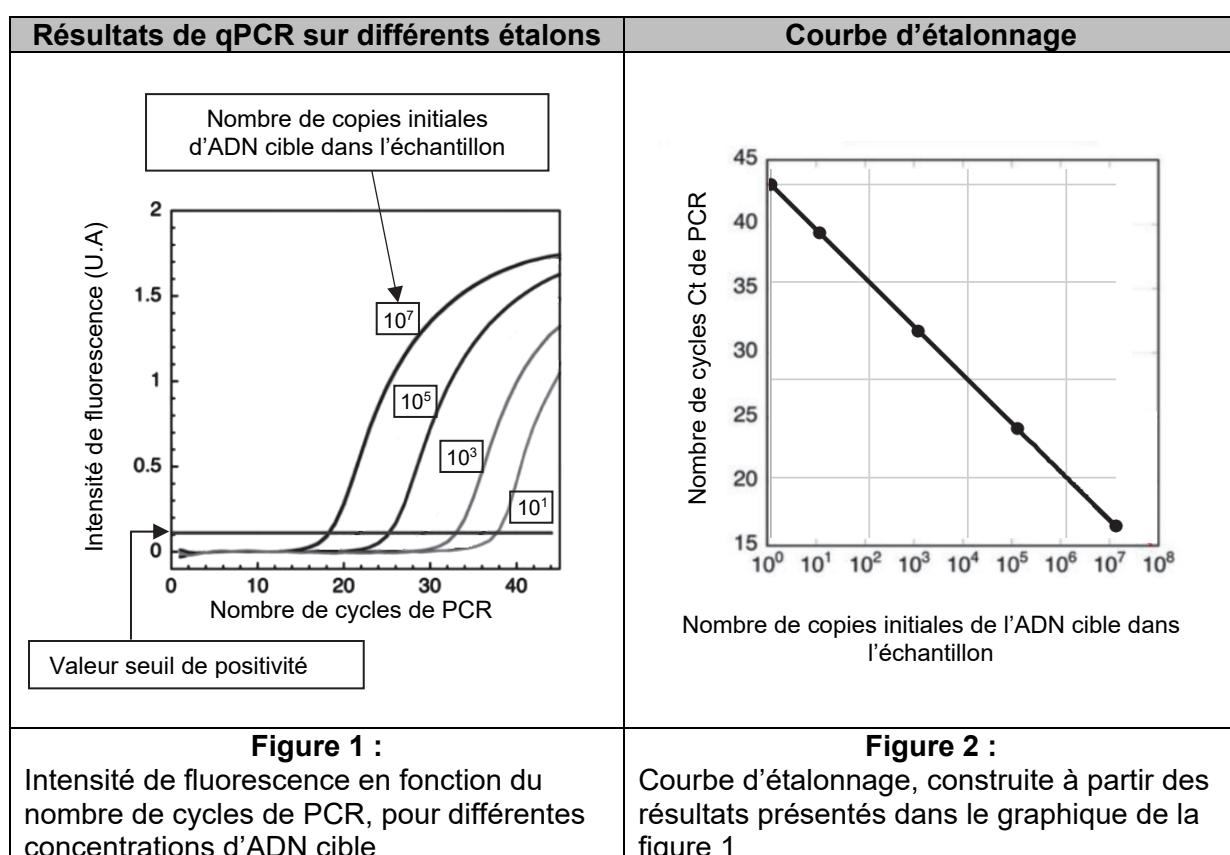
Adapté de : <https://biochimie.umontreal.ca/wp-content/uploads/sites/37/2015/07/qPCR.pdf> et académie de Nantes (<https://slideplayer.fr/slide/14226762/>)

La technologie de la PCR quantitative en temps réel est basée sur l'émission de fluorescence proportionnelle à la quantité d'ADN amplifié. Le signal fluorescent est considéré comme positif lorsqu'il est supérieur à une valeur seuil. L'augmentation de l'intensité de ce signal est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons.

On détermine le nombre de cycles nécessaires pour que l'intensité de fluorescence émise par les amplicons dépasse la valeur seuil de positivité. Ce nombre de cycles, appelé Ct, dépend de la quantité initiale d'ADN cible.

Les deux graphiques ci-dessous montrent :

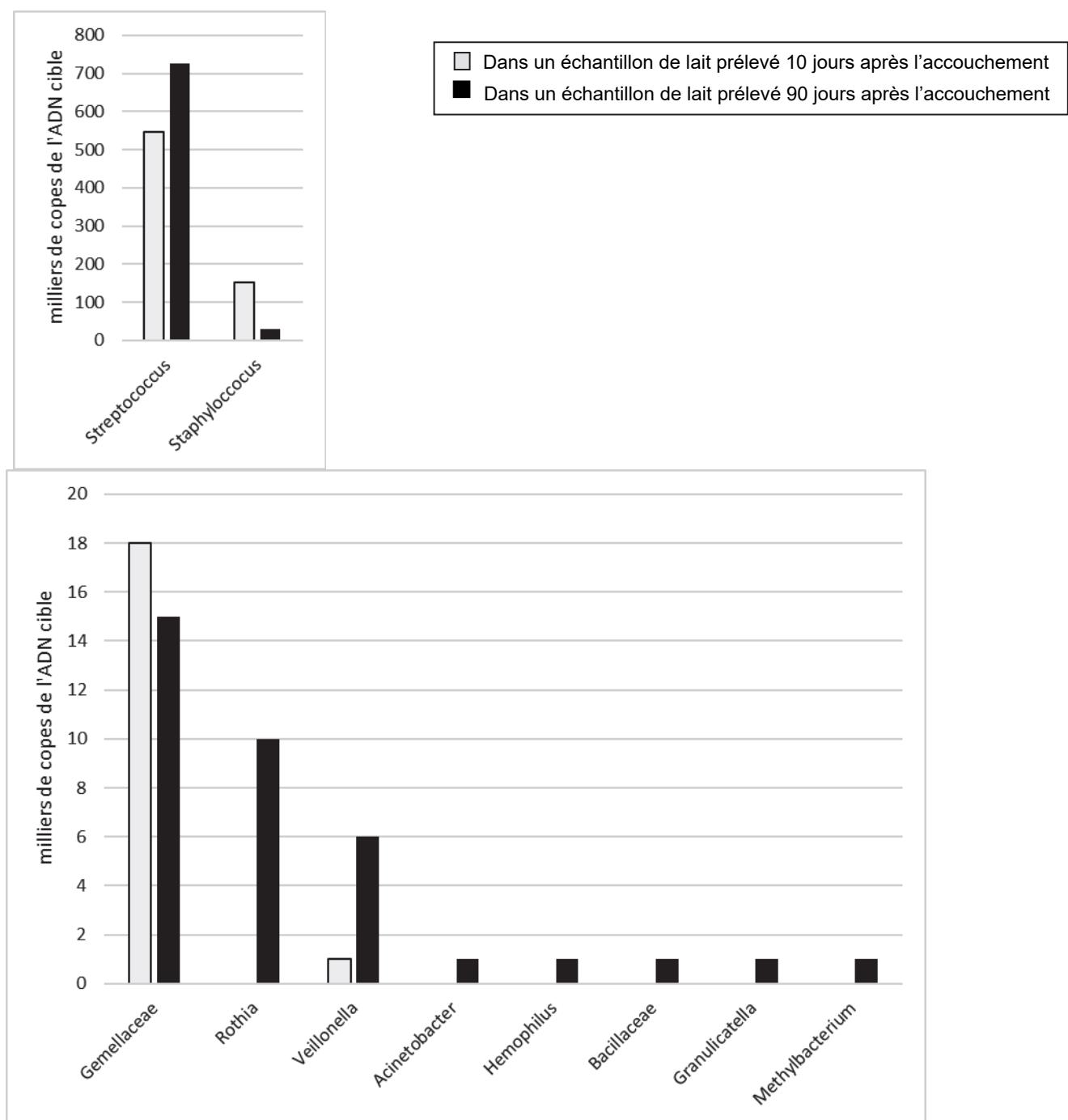
- les résultats de PCR quantitative en temps réel obtenus à partir de l'analyse d'une gamme d'étalons contenant différentes quantités d'ADN cible ;
- la courbe d'étalonnage reliant Ct à la quantité d'ADN cible initial.



Donnée : Sur la Figure 1, le Ct se lit sur l'axe des abscisses. Il correspond au nombre minimal de cycles de PCR permettant d'atteindre le seuil de positivité.

DOCUMENT 3 : Résultats de qPCR montrant l'abondance de différents genres bactériens présents dans le lait maternel

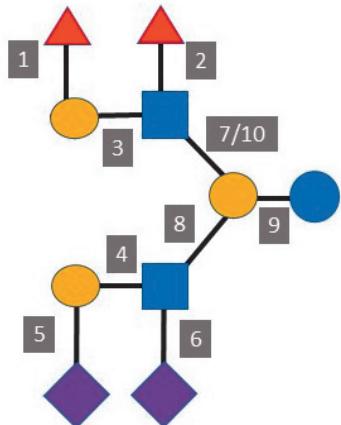
Source : Melanie Rae Simpson, Ekaterina Avershina. (2017) J. Dairy Sci. 101:889–899



DOCUMENT 4 : Hydrolyse enzymatique d'un oligosaccharide HMO

Source : adapté de Smilowitz JT, Lebrilla CB, Mills DA, German JB, Freeman SL. *Annu Rev Nutr.* 2014; doi: 10.1146/annurev-nutr-071813-105721.

Structure d'un HMO et devenir des produits de son hydrolyse



Représentation schématique d'un HMO

Légendes	Molécules	Devenir dans la bactérie
●	Glucose	
○	Galactose	Catabolisme énergétique et anabolisme
◇	Fucose	
■	N-acétylglucosamine	Anabolisme du peptidoglycane
▲	Acide sialique	Constituant des membranes cellulaires

Présence des glycosidases au niveau du tube digestif

Enzyme	Glycosidases sécrétées par le tube digestif du nourrisson	Glycosidases retrouvées dans une population de bifidobactéries
1 α 1-2 fucosidase	-	+
2 α 1-3/4 fucosidase	-	+
3 β 1-3 galactosidase	-	+
4 β 1-4 galactosidase	-	+
5 α 2-6 sialidase	-	+
6 α 2-3 sialidase	-	+
7 β 1-3 N-acétylglucosaminidase	-	+
8 β 1-6 N-acétylglucosaminidase	-	+
9 β 1-4 galactosidase (lactase)	+	+
10 Lacto-N-biosidase	-	+

+ : présence de l'enzyme

- : absence de l'enzyme

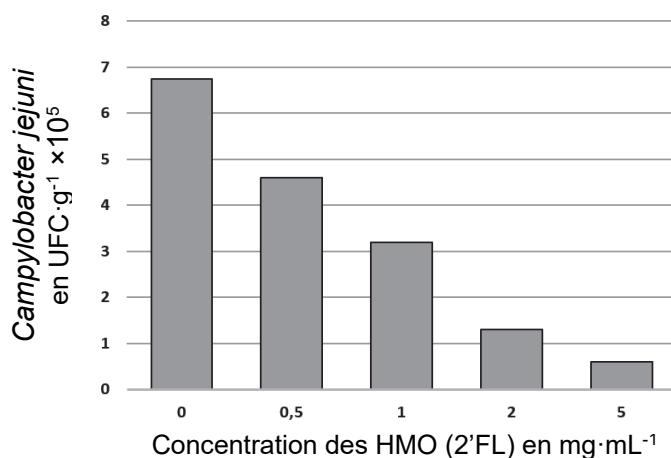
DOCUMENT 5 : Effet des HMO sur la colonisation de l'épithélium intestinal du nourrisson par des bactéries pathogènes

Effet de la concentration en HMO

Source : adapté de Newburg DS et coll.. J Nutr. 2016 Oct

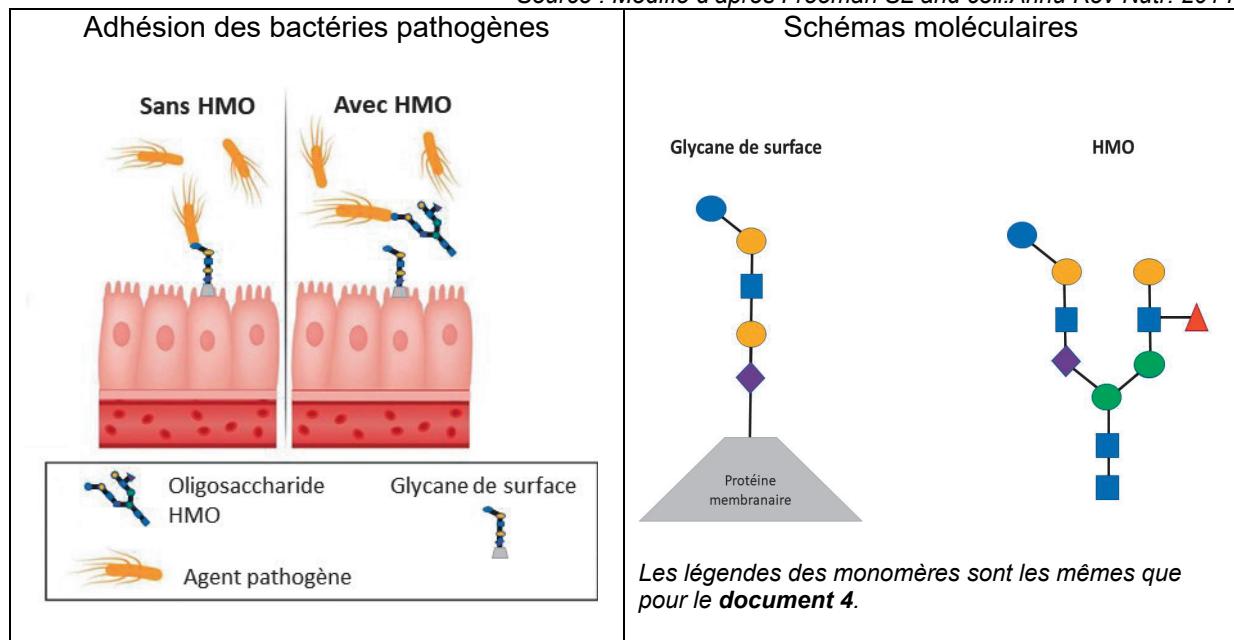
Des cellules épithéliales intestinales ont été cultivées en présence d'une bactérie pathogène, *Campylobacter jejuni*, et avec des concentrations croissantes d'un HMO, le 2'fucosyl-lactose (2'FL).

La colonisation du tapis cellulaire par la bactérie pathogène est présentée dans le graphique.



Impact d'un HMO dans l'adhésion des bactéries pathogènes sur l'épithélium intestinal

Source : Modifié d'après Freeman SL and coll. Annu Rev Nutr. 2014



DOCUMENT 6 : Conditions de préculture de la souche *Lactobacillus rhamnosus GG*

Source : adapté de « Croissance de cultures de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* »
https://sda.revuesonline.com/gratuit/SDA23_2_273-283.pdf

Préculture de *Lactobacillus rhamnosus GG*

La souche est lyophilisée et conservée à 4 °C. Après réhydratation, la souche est précultivée dans un bouillon MRS incubé à 37 °C pendant 16 h en aérobiose, à raison de 10 % (volume/volume) pour un volume final de 200 µL.

La préculture permet d'adapter la souche au milieu de culture et de faciliter le démarrage de sa croissance.

Composition du bouillon MRS

Le bouillon MRS est composé ainsi :

Pour 1 litre de milieu :

- Peptones	20,00 g
- Extrait autolytique de levure.....	5,00 g
- Glucose	20,00 g
- Phosphate dipotassique.....	2,00 g
- Acétate de sodium	5,00 g
- Citrate d'ammonium	2,00 g
- Sulfate de magnésium	0,20 g
- Sulfate de manganèse	0,05 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 5,4 ± 0,2

DOCUMENT 7 : Conditions de culture de la souche *Lactobacillus rhamnosus GG*

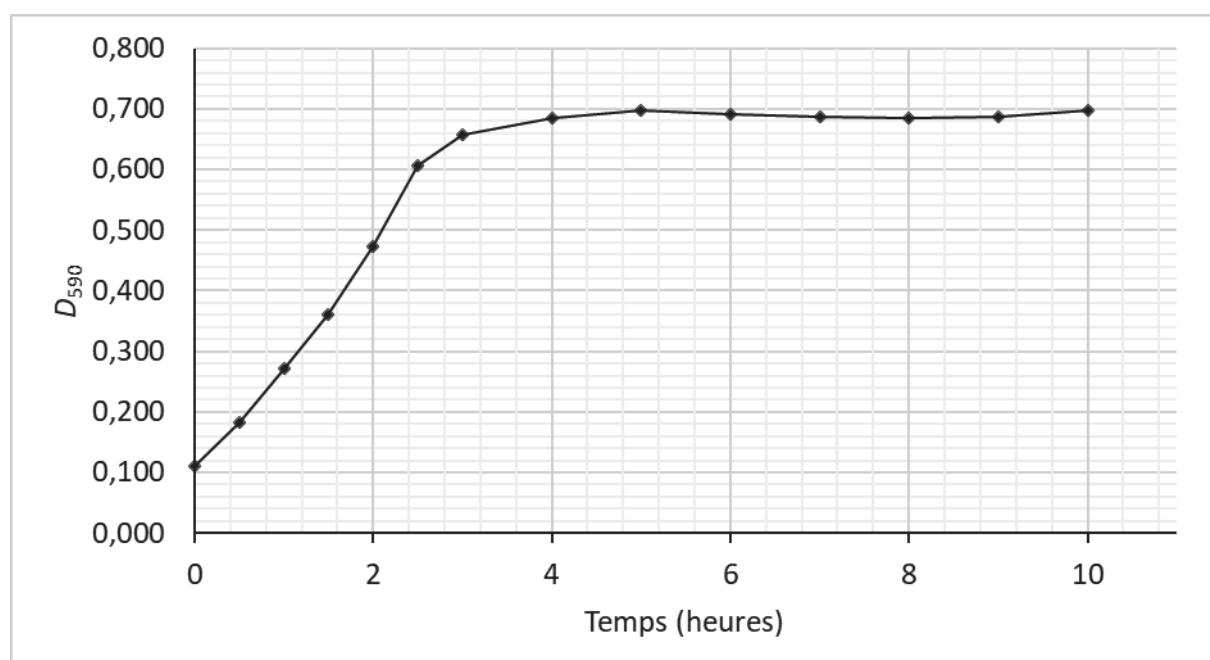
Source : adapté de « Croissance de cultures de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* »
https://sda.revuesonline.com/gratuit/SDA23_2_273-283.pdf

Culture de *Lactobacillus rhamnosus GG*

Le suivi de croissance de *Lactobacillus rhamnosus GG* est ensuite réalisé en microplaques. Dans chaque puits de la microplaquette, du bouillon MRS stérile est inséré puis inoculé par un volume de préculture de 16 h, à raison de 10 % (volume/volume) pour un volume final de 200 µL.

Les plaques sont incubées à 37 °C pendant 24 h et l'atténuation D est mesurée toutes les 15 min (longueur d'onde : 590 nm).

La croissance de *Lactobacillus rhamnosus GG* est représentée ci-dessous :



Phases de croissance pour une culture de *Lactobacillus rhamnosus GG* sans préculture préalable :

- de 0 à 1,5 h : phase de latence
- de 1,5 h à 5 h : phase exponentielle de croissance
- de 5 h à 10 h : phase stationnaire

DOCUMENT 8 : Quelques données scientifiques sur l'utilisation des probiotiques chez le nourrisson

Définition des probiotiques

Source : ReflOrir ou faire flOrir : C'est quoi les probiotiques et les prébiotiques ? – Inserm, consultation le 13/06/23 <https://www.inserm.fr/c-est-quoi/reflOrir-ou-faire-flOrir-c-est-quoi-probiotiques-et-prebiotiques/>

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, ingérés en quantité adéquate, vont apporter un bénéfice au fonctionnement de notre organisme. Il s'agit essentiellement de bactéries (bifidobactéries, lactobacilles, ...), ou de levures (saccharomycètes), naturellement présentes dans des aliments fermentés (yaourts, kéfir, ...) ou absorbées sous forme de compléments alimentaires.

Que disent les scientifiques sur l'utilisation des probiotiques chez la femme enceinte et le nourrisson ?

Source : Extraits de thèse de pharmacie : Juliette Delvoye. Les probiotiques chez la femme enceinte et le nourrisson. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03897922

[Extrait] Supplémentation des laits artificiels :

Une étude a été effectuée, concernant la supplémentation en bifidobactéries des préparations alimentaires pour nourrissons. On cherche à savoir si ce type de supplémentation peut engendrer des effets à long terme sur le microbiote du nourrisson et sa santé. Au cours de cette étude, on compare des nourrissons nourris par une formule standard de lait à des nourrissons nourris par une formule enrichie en bifidobactéries. Ces deux groupes sont eux même comparés à des nourrissons allaités.

Les résultats de cette étude montrent que la supplémentation en bactéries n'a pas affecté de manière durable le microbiote des nouveaux nés au cours de la première année de vie. Ainsi, elle ne permettrait pas de compenser les différences de microbiotes entre les enfants allaités et les enfants nourris par du lait artificiel. Si quelques différences étaient visibles durant le 1^{er} mois, entre les enfants ayant reçu un lait enrichi en souche de bifidobactéries et ceux nourris par du lait standard, elles n'ont pas perduré au-delà de quelques semaines [...]. La supplémentation en bifidobactéries seule semble insuffisante.

Recommandations de l'Organisation mondiale de l'allergie (OMA)

Source : traduit de : Fiocchi A , Pawankar R , Cuello-Garcia C , et al. World allergy organization mcmaster university guidelines for allergic disease prevention (GLAD-P): probiotics. World Allergy Organ J. 2015

La prévalence * des maladies allergiques chez les nourrissons, dont les parents et les frères et sœurs ne sont pas allergiques, est d'environ 10 % et atteint 20 à 30 % chez ceux dont un parent au premier degré est allergique. Le microbiote intestinal peut moduler les réponses immunologiques et inflammatoires et, ainsi, influencer le développement [...] de l'allergie. Il a été rapporté que les probiotiques modulent les réponses immunitaires et leur supplémentation a été proposée comme intervention préventive.

Résultats : Les preuves actuellement disponibles n'indiquent pas que la supplémentation en probiotiques réduit le risque de développer une allergie chez les enfants. Cependant, compte tenu de tous les résultats critiques dans ce contexte, le groupe d'experts de la OMA a déterminé qu'il existe un avantage probable de l'utilisation de probiotiques dans le cadre de la prévention, non pas de toutes les maladies allergiques, mais spécifiquement de l'eczéma du nourrisson.

* Prévalence : nombre de cas de maladies enregistrés pour une population déterminée