

Annexe K4. E5 exemple de sujet complet « Production de Streptomycine »

L'exemple proposé ci-dessous a vocation à présenter le format d'un sujet complet, des exemples de questions et de documents à exploiter. Le format du corrigé et de la grille d'évaluation correspondante, sont présentés à la fin du document.

La proposition n'a pas été testée sur la durée et son niveau de difficulté. Elle vise à évaluer l'ensemble des compétences du bloc 3 et son élaboration prend appui sur la démarche proposée dans la ressource K1.

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR

BIOTECHNOLOGIE EN RECHERCHE ET EN PRODUCTION

U5 – Fabrication d'un produit à haute valeur ajoutée par procédé biotechnologique

SESSION 2026

DUREE DE L'ÉPREUVE : 3h00
COEFFICIENT : 3

Matériel autorisé :

- Dictionnaire anglais/français.
- Tout autre matériel est interdit.

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

	Intitulé des compétences évaluées	Points
C3.1	Exploiter des données utiles à la bioproduction	
C3.2	Réaliser les procédures de bioproduction dans le respect de bonnes pratiques de fabrication	
C3.3	Respecter les contraintes liées aux exigences de l'environnement de travail en bioproduction	
C3.4	Assurer la traçabilité de la bioproduction mise en œuvre	

Production de Streptomycine par *Streptomyces griseus* et montée en échelle

Le genre *Streptomyces* désigne des bactéries filamenteuses Gram positives principalement retrouvées dans les couches superficielles des sols où leur développement et leur dispersion sont facilités par leur croissance de type mycélienne et leur capacité de sporulation.

Les *Streptomyces* sont des bactéries d'intérêt majeur sur le plan industriel ; elles sont à l'origine de la production de très nombreuses molécules bioactives, notamment d'antibiotiques comme la streptomycine.

Une entreprise de bioproduction est spécialisée dans la production personnalisée de composés chimiques destinés aux industries pharmaceutiques, cosmétiques et aux laboratoires de recherche. En fonction des composés, l'entreprise peut produire de quelques milligrammes à plusieurs kilogrammes de produits, ceci grâce à une diversité de services allant de la Recherche et Développement jusqu'à l'échelle de production industrielle dans des fermenteurs allant de 10 m³ jusqu'à un volume de 120 m³.

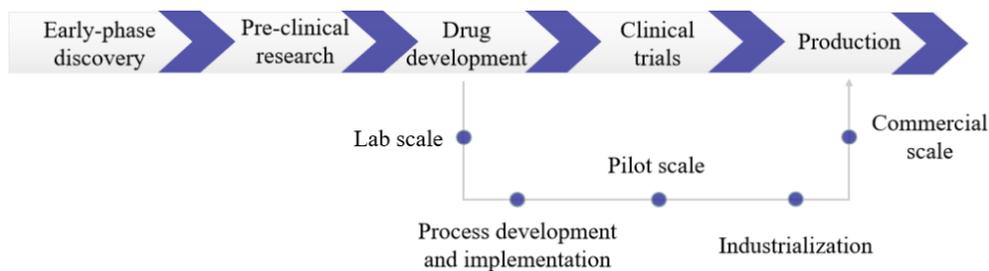


Figure 1 Etapes de production de médicaments dans l'entreprise

Source : <https://www.bocsci.com/cdmo/process-development.html>

Cette entreprise souhaite réévaluer son procédé actuel de fabrication de streptomycine de numéro CAS 57-92-1 afin d'augmenter la productivité de cet antibiotique. Actuellement la production est réalisée sans régulation du pH.

Les démarches menées par l'entreprise visent deux optiques :

- vérifier si lorsque le pH est régulé, la concentration de streptomycine produite est plus élevée,
- réaliser une montée en échelle en fonction des résultats obtenus.

1. Optimisation de la production de streptomycine

Un technicien de laboratoire est en charge de cette étude en bioréacteur de 2 litres.

1.1 Positionner le niveau d'échelle correspondant au poste de travail du technicien, dans les échelles de production de l'entreprise représentées dans la figure 1. (C3.1)

Les paramètres de la production actuelle de streptomycine sont consignés dans le **document 1**. La fiche produit de la Streptomycine et les étapes du procédé de fabrication de la molécule sont respectivement présentés dans le **document 2** et le **document 3**.

1.2 Identifier le type de métabolite correspondant à la streptomycine. Expliquer la réponse. (C3.1)

1.3 Estimer la quantité de streptomycine produite au cours du temps. (C3.1)

1.4 Déterminer le temps à partir duquel la fermentation doit être arrêtée. Argumenter la réponse. (C3.1)

1.5 À partir de la fiche produit de la streptomycine et du procédé de fabrication, expliquer l'étape d'acidification retrouvée après la fermentation. (C3.2)

La fermentation menée en bioréacteur de 2 litres se déroule dans les mêmes conditions que celles du **document 1** sauf pour le pH qui est régulé à 8.

Les résultats obtenus sont les suivants :

	Avec régulation	Sans régulation
Quantité de streptomycine produite en $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	1400	(réponse à la question 1.3)
Rendement de conversion du substrat en biomasse ($R_{X/S}$)	62 %	63 %
Rendement de conversion du substrat en produit ($R_{P/S}$)	54 %	40 %

1.6 Comparer ces résultats puis conclure sur l'influence de la régulation du pH sur la production de biomasse et sur la production de streptomycine. (C3.2)

2. Montée en échelle de la production de streptomycine

Afin de transférer le procédé optimisé à petite échelle vers une production à grande échelle, un technicien doit mettre en œuvre un bioréacteur de 15 litres présenté dans le **document 4**.

2.1 Identifier l'échelle à laquelle est réalisée la bioproduction à ce poste. (C3.1)

2.2 Identifier les éléments ou les codes des éléments du bioréacteur et les reporter sur l'annexe 1 à rendre avec la copie (C3.2)

2.3 Décrire le rôle des éléments suivants : le générateur de vapeur, le manomètre, les contre-pales, la sonde pH (SPH) et la sonde O_2 dissous (SOD). (C3.2)

Le **document 5** montre la réalisation d'un prélèvement au fermenteur avant inoculation.

2.4 Préciser l'intérêt de réaliser ce prélèvement. (C3.2)

2.5 Repérer, à l'aide du document 4, les vannes à ouvrir. Puis préciser les conditions à respecter pour effectuer ce prélèvement. (C3.2) (C3.3)

Le bioréacteur est ensemencé par une préculture de 5 jours de *Streptomyces griseus* dans le milieu décrit dans le **document 6**.

2.6 Préciser les caractéristiques qualitative et quantitative de l'inoculum utilisé pour ensemencer le bioréacteur. (C3.2)

Les étapes du procédé de fabrication du **document 3**, comportent une première étape de purification par chromatographie échangeuse d'ions. Le principe de cette technique de séparation est proposé dans le **document 7**.

2.7 Argumenter le choix du type de chromatographie utilisée d'après son principe et d'après les propriétés chimiques de la streptomycine. (C3.2)

3. Production industrielle de streptomycine

Les études précédentes ont permis la production de streptomycine à l'échelle industrielle dans bioréacteur de 30 m³. La stérilisation du milieu de culture et du bioréacteur constituent des points critiques liés à ce changement d'échelle. Le **document 8** présente la comparaison de la stérilisation en batch utilisée pour le bioréacteur Classic série EVO de 15 L et les méthodes de stérilisation en continu.

3.1 Décrire les deux méthodes de stérilisation proposées à la comparaison. (C3.3)

3.2 Argumenter le choix de la méthode de stérilisation appropriée pour un bioréacteur de 30 m³. (C3.2)

Un dossier de lot est un document qui retrace l'historique de fabrication d'un lot spécifique de produits. Il s'agit d'un enregistrement détaillé de toutes les étapes de production, depuis l'identification du produit jusqu'à sa libération. Le **document 9** correspond à une copie d'écran du tableau de bord du bioréacteur utilisé pour la production de la streptomycine.

3.3 À partir du tableau de bord du bioréacteur industriel, lister sur l'annexe 2 les rubriques indispensables à renseigner dans la fiche de suivi de la fabrication de streptomycine. Compléter les données connues. (C3.4)

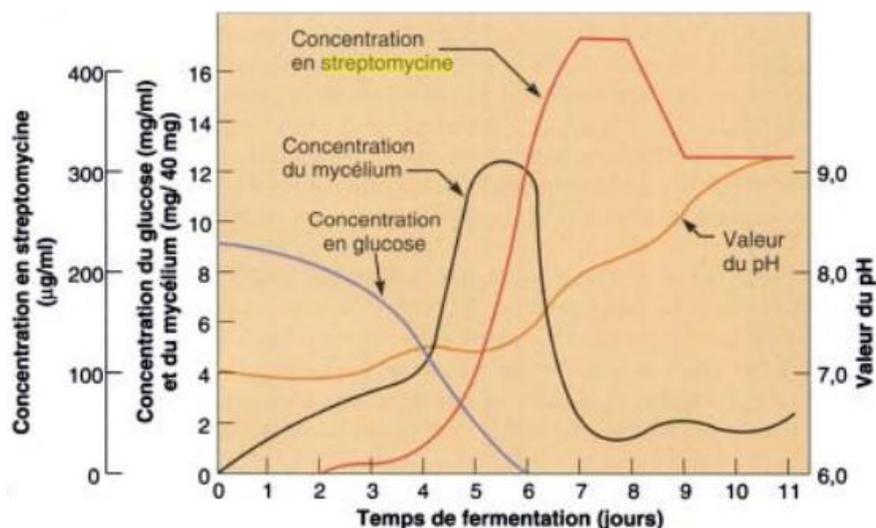
3.4 Expliquer la nécessité pour l'entreprise de bioproduction de tracer les données inscrites dans le dossier de lot du produit fini. (C3.4)

Autre possibilité pour le paragraphe 3 :

Contexte : Cette entreprise produit aussi une autre forme de streptomycine, la streptomycine sulfate en solution injectable de numéro de CAS 3810-74-0.

Savoirs associés	Concepts et notions	
Organisation et hygiène des locaux	Niveau de confinement des laboratoires (L1,L2, L3, L4) Zone à atmosphère contrôlée de grade A,B,C,D Tenue professionnelle Procédure d'habillage	
Cellule, métabolite, molécule, particule, à haute valeur ajoutée	Haute Valeur ajoutée Molécule d'intérêt	

Document 1. Suivi de la fermentation



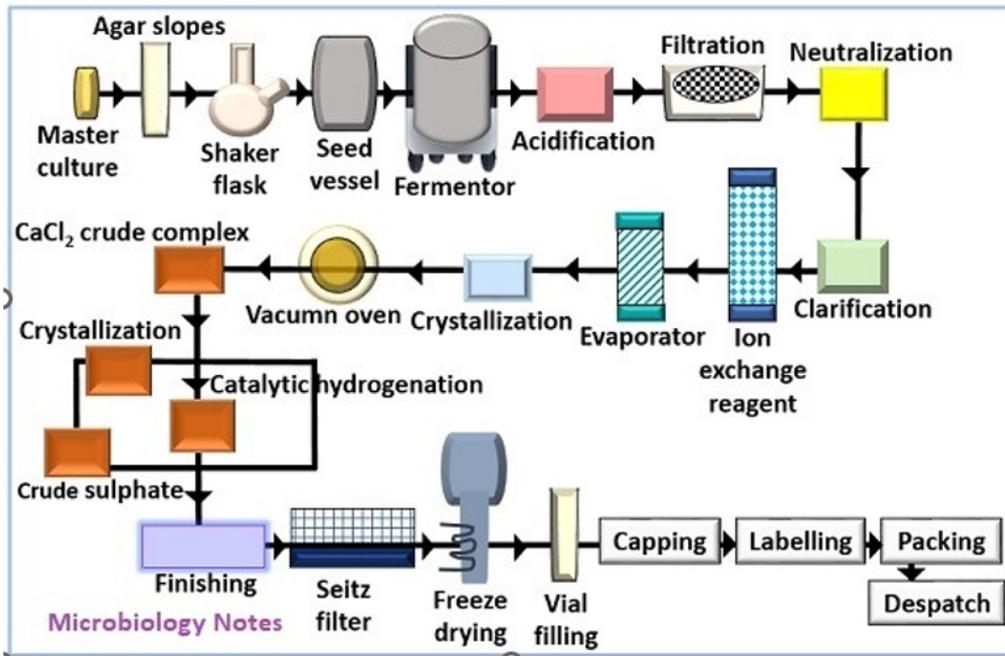
Sources : <https://gyansanchay.csjmu.ac.in/wp-content/uploads/2022/02/Streptomycin-production.pdf>

Document 2. Fiche produit de la Streptomycine

Nom	Streptomycine CAS 57-92-1
Synonymes	Streptomycin A, Strepceen, Gerox [...]
Formule moléculaire	$C_{21}H_{39}N_7O_{12}$
Structure chimique	
Masse moléculaire	$581,6 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
pKa	11,09
Solubilité	Soluble dans l'eau
Stabilité	Stable entre pH 2 et 9

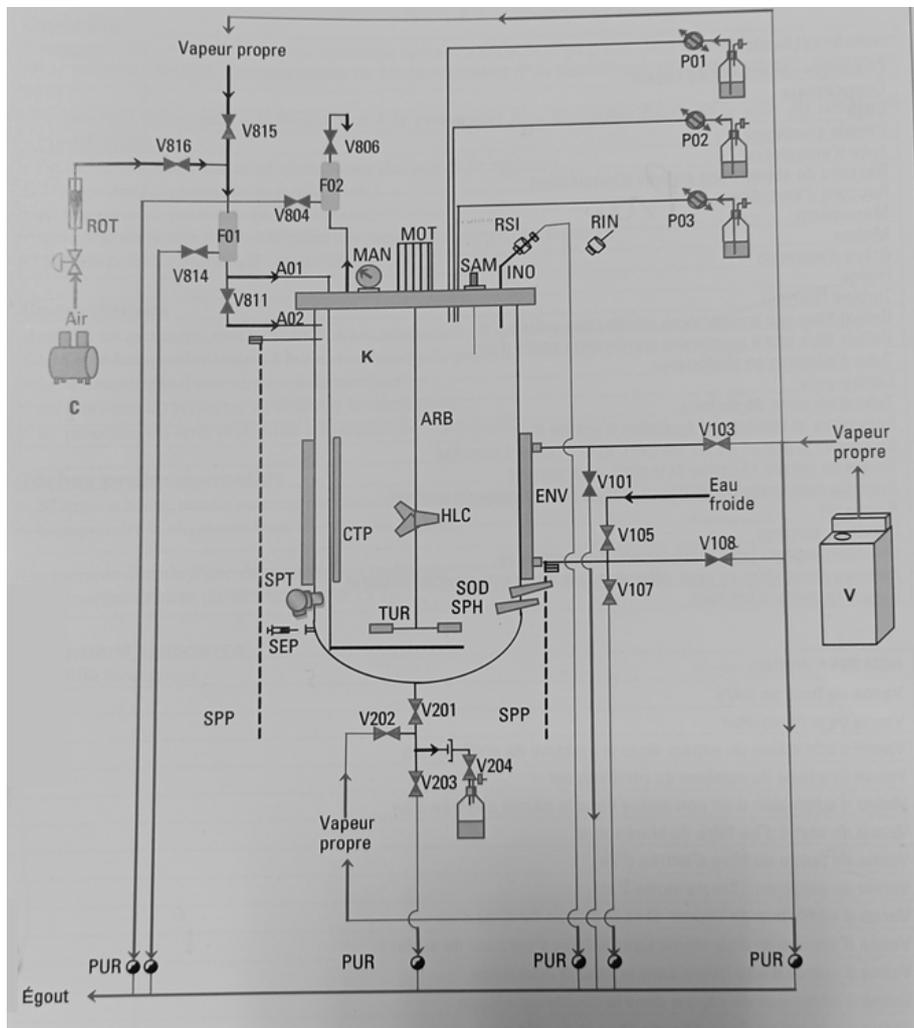
Sources : Extrait et traduit de : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Streptomycin-A#section=Stability-Shelf-Life>

Document 3. Étapes du procédé de fabrication de la streptomycine



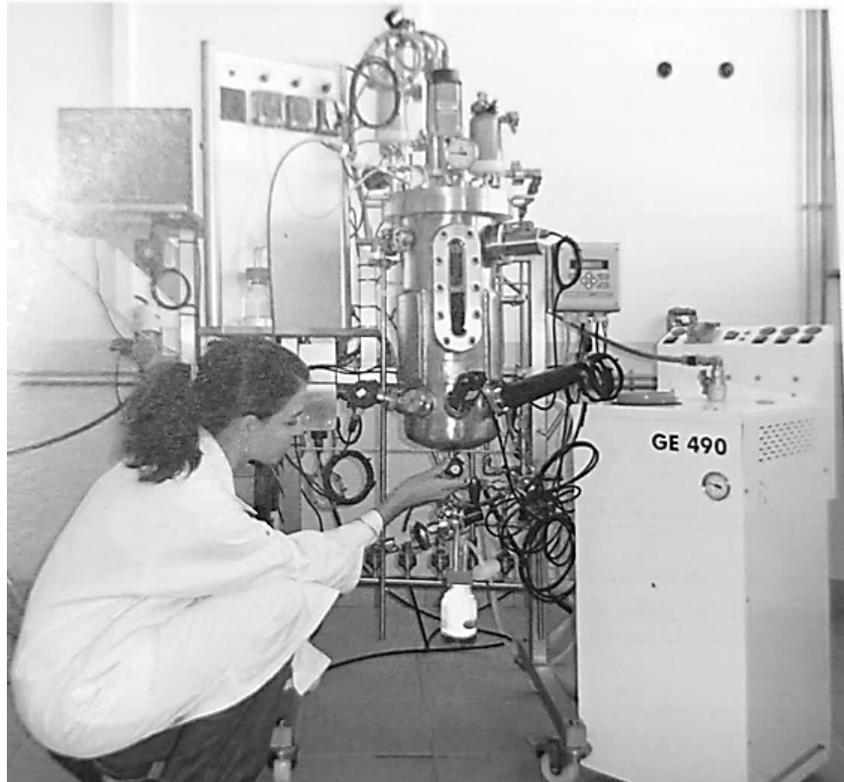
Sources : <https://microbiologynotes.org/streptomycin-chemical-structure-production-recovery-and-uses/>

Document 4. Plan d'installation simplifié d'un bioréacteur 15 L



D'après le fermenteur classic série EVO – Pierre Guérin Technologies

Document 5. Prélèvement d'un échantillon par la vanne de fond sur un bioréacteur de 15 L



Sources : CHILLET P. *Opération unitaire en génie biologique. 3. La fermentation*. CRDP d'Aquitaine, 2011. 111 p. Biologie technique. ISBN : 978-2-86617-596-2

Document 6. Paramètres de la fermentation

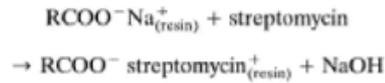
milieu	Composition pour 1 L*
	<ul style="list-style-type: none"> - Glucose (23 g) - Autolysat de levure de bière (27 g) - NaCl (8 g) - K₂HPO₄ (1 g)
	10 L
aération	O ₂ = 120 L · h ⁻¹
agitation	200 rpm
pH	8,0

Sources : * S. Saval, L. Pablos, S. Sanchez. *Optimization of a culture medium for streptomycin production using response-surface methodology*. *Bioresource Technology*, Volume 43, Issue 1, 1993, Pages 19-25, ISSN 0960-8524, [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90077-O](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90077-O)

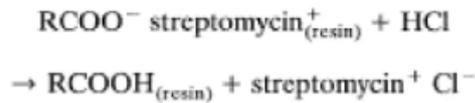
Document 7. Principe de la chromatographie utilisée lors de la purification de la streptomycine

During recovery of streptomycin, the harvested filtrate is fed on to a column of a weak acid cationic resin such as Amberlite IRC 50 (Sodium form).

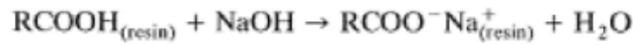
The streptomycin is adsorbed on to the column and the sodium ions are displaced.



Flow rates between 10-30 bed volumes per hour is maintained. The resin is then rinsed with water and eluted with dilute hydrochloric acid



After this the resin column is regenerated to sodium form by passing adequate volume of NaOH.



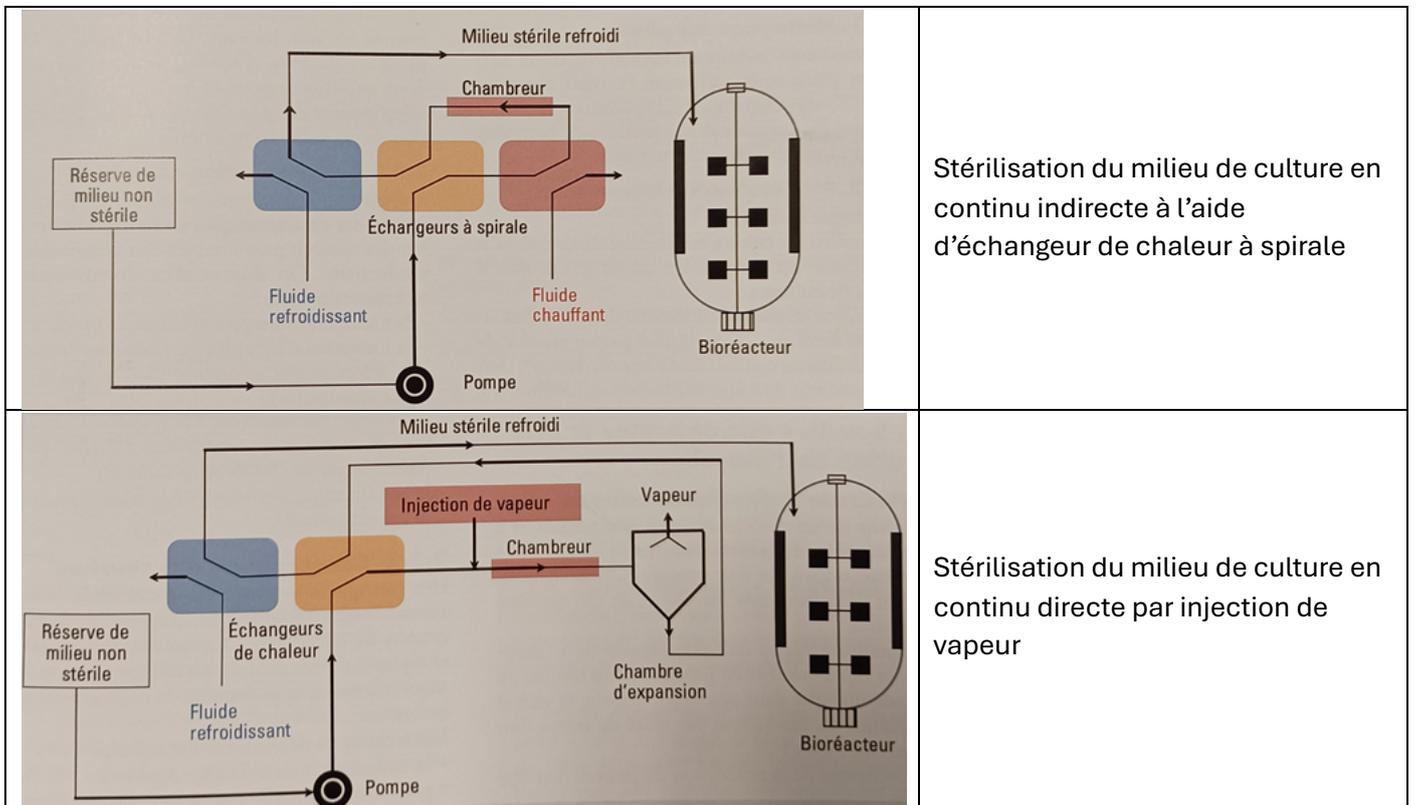
Resin can have capacity of 1 g of streptomycin per gram resin.

Sources: * S. Saval, L. Pablos, S. Sanchez. Optimization of a culture medium for streptomycin production using response-surface methodology. *Bioresource Technology*, Volume 43, Issue 1, 1993, Pages 19-25, ISSN 0960-8524, [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(93\)90077-O](https://doi.org/10.1016/0960-8524(93)90077-O)

Document 8. Avantages et inconvénients des méthodes de stérilisation en *batch* et en continu

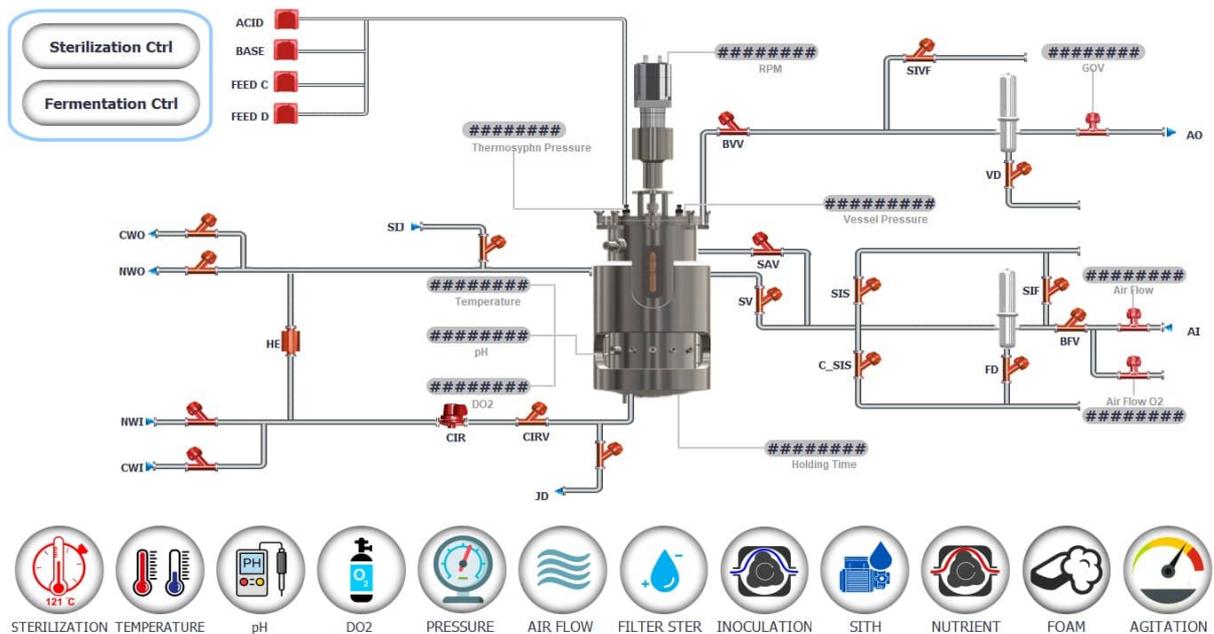
	Stérilisation en batch		Stérilisation en continu	
	Bioréacteur <i>in situ</i> (avec générateur de vapeur)	Indirecte avec échange de chaleur	Indirecte avec échange de chaleur	Directe avec injection de vapeur
Coût	Très faible	Élevé	Élevé	Faible
Risque de contamination	Non	Oui	Oui	Oui
Durée de montée en température	Longue	Faible	Faible	Très faible
Temps de chauffage	Long	Faible	Faible	Faible
Dégradation des composants nutritifs	Oui	Non	Non	Non
Corrosion du bioréacteur	Oui	Non	Non	Non
Formation de mousse	Non	Non	Non	Oui
Dilution du milieu de culture	Non	Non	Non	Oui
Facilité de scale-up	Non	Oui	Oui	Oui

Document 9. Schémas des principes de stérilisation en continu



Sources : CHILLET P. *Opération unitaire en génie biologique. 3. La fermentation*. CRDP d'Aquitaine, 2011. 111 p. Biologie technique. ISBN : 978-2-86617-596-2

Document 10. Tableau de bord du bioréacteur industriel



: données confidentielles anonymisées

Sources : <https://www.fermex.in/accessory/bioscx-scada-software/>

ANNEXE 1. Codification des différents éléments du bioréacteur

Éléments	Code
Compresseur	
Générateur de vapeur	
	K
Tube d'inoculation	
	MOT
	ARB
	HLC
Contre-pale	
	TUR
	MAN
Boîtier filtre gaz à membrane stérilisation entrée d'air	
Boîtier filtre gaz à membrane stérilisation sortie d'air	

ANNEXE 2. Extrait du dossier de lot

: données confidentielles anonymisées

À rendre avec la copie

Fiche d'enregistrement		Référence : #####
FICHE DE SUIVI DE FABRICATION DE LA STREPTOMYCINE		Date de création : ##/##/####
Rédacteur #####	Vérificateur #####	Approbateur #####
Modifié le ##/##/####	Validé le ##/##/####	Validé le ##/##/####

Lieu de production	#####	Produit fabriqué	
Opération	Fermentation	N° lot	STRE-178463esas4sn
Opérateur	#####		
Référence du bioréacteur	30-BioR-103ac	Date et heure de mise en route	##/##/#### 08 : 32
Volume du bioréacteur		Date et heure de fin de fermentation	##/##/#### 14 : 45

Paramètres de la fermentation		
Inoculum	Souche	
	Référence	#####
	Volume	#####
Milieu	#####	
consignes	#####	

Suivi de fabrication	
Rubrique	Valeurs
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####
	#####

Présentation du format du tableau de correction.

Les attendus pour un niveau maîtrisé correspondent à la déclinaison des indicateurs d'évaluation.

Partie	C	Savoir - faire	Indicateur d'évaluation	Critères de réussite (attendus pour un niveau maîtrisé)
Partie 1				
1.1 Echelle	C3.1	C3.1.2. S'approprier les documents utiles à la bioproduction	Les informations sont transposées en réalisation techniques	
1.2 Métabolite	C3.1	C3.1.2. S'approprier les documents utiles à la bioproduction	Les points clé et les étapes de le bioproduction sont expliqués.	
1.3 Prod streptomycine	C3.1	C3.1.2. S'approprier les documents utiles à la bioproduction	Les information sont transposées en réalisation techniques	
1.4 Arrêt fermentation	C3.1	C3.1.2. S'approprier les documents utiles à la bioproduction	Les information sont transposées en réalisation techniques	
1.5 Acidification	C3.1	C3.2.4. Porter un regard critique sur les étapes de la bioproduction	Des ponts critiques de la bioproduction sont repérés a posteriori.	
1.6 pH	C3.1	C3.2.4. Porter un regard critique sur les étapes de la bioproduction	Des solutions d'amélioration/correction sont proposées.	
Partie 2				
2.1 Echelle	C3.1	C3.1.2. S'approprier les documents utiles à la bioproduction	Les informations sont transposées en réalisation techniques	
2.2 Elements bioréacteur	C3.1	C3.2.3. Faire fonctionner une bioproduction aux différentes échelles	La fonction de chaque élément est caractérisée.	
2.3 Rôles	C3.1	C3.2.3. Faire fonctionner une bioproduction aux différentes échelles	La fonction de chaque élément est caractérisée.	
2.4 Prélèvement	C3.1	C3.2.2. Respecter les bonnes pratiques de fabrication	Les règles de stérilité pu d'asepsie sont respectées.	
2.5 Vannes, conditions	C3.1	C3.3.3. Respecter les exigences spécifiques d'une zone de travail	La gestuelle adaptée à la bioproduction est maîtrisée	
2.6 Inoculum	C3.1	C3.2.3. Faire fonctionner une bioproduction aux différentes échelles	La fonction de chaque élément est caractérisée.	
2.7 Chromatographie	C3.1	C3.2.3. Faire fonctionner une bioproduction aux différentes échelles	La gestion de chaque élément est maîtrisée.	

