

## Annexe K5. E5 brique de sujet « Bioproduction de streptomycine »

Cette brique de sujet a été conçue à partir du sujet complet « Bioproduction de streptomycine » disponible en annexe K4. Il propose une orientation différente à partir de la question 1.5

Une startup cherche à se spécialiser dans la synthèse de streptomycine produite par la bactérie *Streptomyces griseus*. Les caractéristiques de la streptomycine et de la bactérie productrice sont présentées dans les **documents 1 et 2**.

Un procédé de production en bioréacteur de 2 litres a été mis au point. Les résultats sont présentés dans le **document 3**. Le responsable scientifique de l'entreprise demande au pilote de production d'analyser ces résultats et de proposer des solutions visant deux objectifs :

- Optimiser la durée de la production ;
- Garantir la stabilité de la streptomycine en maintenant le pH du milieu de production entre 7,0 et 8,0.

1.1 Identifier l'échelle de bioproduction à ce stade de développement. (C3.1)

1.2 Expliquer le choix du responsable scientifique de maintenir le pH entre 7,0 et 8,0. (C3.1)

Un collaborateur propose d'arrêter la production au bout de 5 jours car la concentration en mycélium est maximale et les cellules sont toujours vivantes.

1.3 Argumenter l'intérêt ou non de cette proposition. (C3.1)

Une vérification de l'intérêt de la régulation du pH est réalisée sur une bioproduction de streptomycine en bioréacteur de 2 litres. Le **document 4** présente les résultats obtenus avec une régulation du pH à 7,4.

1.4 Comparer les résultats obtenus et expliquer l'intérêt de mettre en place une régulation du pH. (C3.1)

La production est mise en œuvre dans un bioréacteur de 10 L. La régulation du pH à 7.4 est assurée par injection d'une solution d'HCl préparée par les différents techniciens de l'entreprise. La production finale est bien inférieure à celle attendue. Le responsable scientifique demande au pilote de production de vérifier s'il peut émettre une hypothèse sur cette baisse de production. Les relevés des paramètres de fermentation et la fiche de suivi de la préparation de la solution d'HCl sont présentés dans les **documents 5 et 6**.

1.5 Expliquer l'intérêt de ces documents pour le suivi de production. (C3.4)

1.6 Analyser les résultats et valider ou non la production. (C3.2)

1.7 Rechercher la cause du dysfonctionnement (C3.2)

1.8 Proposer une ou plusieurs action(s) corrective(s) à mettre en œuvre pour éviter ce dysfonctionnement (C3.4)

L'entreprise souhaite maintenant monter en échelle de façon à produire 1 kg de streptomycine.

1.9 Déterminer le volume du bioréacteur à utiliser pour obtenir cette quantité en un seul lot si on obtient la même productivité. (C3.2)

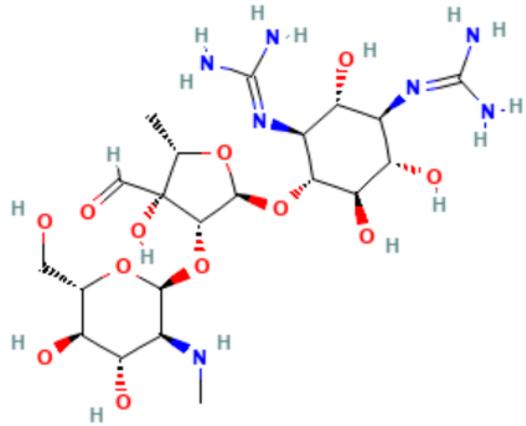
Le **document 7** présente les particularités de la culture de bactéries filamenteuses en bioréacteur.

1.10 Présenter les points de vigilance lié à ce type de culture (C3.1)

1.11 Créer un document pour enregistrer les paramètres à suivre dans l'optique de la montée en échelle. (C3.4)

1.12 Identifier les différents volumes de bioréacteurs nécessaires pour cette montée en échelle à réaliser par l'entreprise. (C3.2)

## Document 1. Caractéristiques de la streptomycine

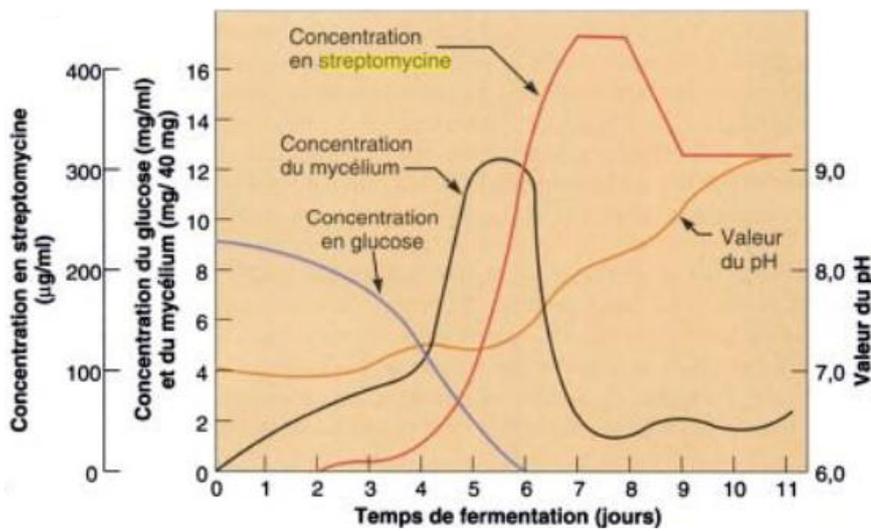
Nom Synonymes	Streptomycine CAS 57-92-1 Streptomycin A, Strepcen, Gerox [...]
Formule moléculaire	C <sub>21</sub> H <sub>39</sub> N <sub>7</sub> O <sub>12</sub>
Structure chimique	
Masse moléculaire	581,6 g · mol <sup>-1</sup>
pKa	11,09
Solubilité	Soluble dans l'eau
Stabilité	Stable entre pH 2 et 9
Utilisations	<p>La Streptomycine est un antibiotique produit par la bactérie <i>Streptomyces griseus</i>. Selman Waksman et Albert Schatz ont reçu le prix Nobel de médecine pour la découverte des effets anti-bactériens de cette molécule.</p> <p>La streptomycine est toujours utilisée dans le cas d'infection par <i>Mycobacterium tuberculosis</i> multirésistant.</p>

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

## Document 2. Caractéristiques de la souche *Streptomyces griseus*

Morphologie	Bactéries filamenteuses
Milieu de culture	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hocken hull (1963) recommended the medium consisting of: <ul style="list-style-type: none"> <li>– glucose (2.5%)</li> <li>– soyabean meal (4.0%)</li> <li>– distillers dry soluble (0.5%) – sodium chloride (0.25%)</li> <li>– pH 7.3-7.5</li> </ul> </li> </ul>
Conditions de culture	Température entre 25°C et 30 °C pH entre 7,0 et 8,0

### Document 3. Suivi de la fermentation



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

### Document 4. Production de streptomycine en bioréacteur de 2L avec et sans régulation de pH

	Avec regulation à 7,4	Sans régulation
Concentration de streptomycine produite en $g \cdot L^{-1}$	1,4	Déterminé à partir du <u>document 3</u>
Rendement de conversion du substrat en biomasse ( $R_{X/S}$ )	62 %	63 %
Rendement de conversion du substrat en produit ( $R_{P/S}$ )	54 %	40 %

### Document 5 : Suivi des paramètres de production

Les paramètres de culture sont relevés au cours de la production de streptomycine.

Paramètre	Valeur de consigne	Intervalle d'acceptabilité
pH	7,4	+/- 0,2
Température	30°C	+/- 0,3°C
pO <sub>2</sub>	100 %	+/- 10 %

Techniciens en charge du suivi :

RAT Ranya Trasmani  
 IME Ibrahim El Alami  
 YNM Yvan Martin  
 VEM Valentine Michel

Relevé des paramètres de production :

Jour	Heure	pH	Température (°C)	pO2 (%)	Technicien	Signature
25/11/24	8h02	7,4	30,0	100	IME	
25/11/24	14h00	7,4	30,0	100	IME	
25/11/24	20h03	7,5	30,0	100	YNM	
26/11/24	2h02	7,4	30,1	100	YNM	
26/11/24	8h00	7,5	30,0	95	RAT	
26/11/24	14h01	7,4	30,0	90	RAT	
26/11/24	20h03	7,4	29,8	92	VEM	
27/11/24	2h00	7,4	30,0	100	VEM	
27/11/24	7h59	7,3	30,0	100	YNM	
27/11/24	14h04	7,3	30,0	98	YNM	
27/11/24	20h00	7,4	30,0	97	RAT	
28/11/24	2h01	7,4	30,0	99	RAT	
28/11/24	8h03	7,5	30,0	100	VEM	
28/11/24	13h58	7,4	30,0	100	VEM	
28/11/24	20h02	7,4	30,0	100	IME	
29/11/24	2h00	7,4	30,0	100	IME	
29/11/24	8h01	7,5	30,0	100	YNM	
29/11/24	14h02	7,4	29,8	100	YNM	
29/11/24	20h00	7,3	30,0	99	RAT	
30/11/24	2h01	7,4	29,8	97	RAT	
30/11/24	7h59	7,4	30,0	92	YNM	
30/11/24	14h02	7,4	30,0	94	YNM	
30/11/24	19h58	7,4	29,9	100	VEM	
01/12/24	2h01	7,6	30,0	100	VEM	
01/12/24	8h03	7,6	30,0	100	IME	
01/12/24	14h02	7,7	30,0	100	IME	
01/12/24	20h01	7,7	30,1	100	RAT	
02/12/24	1h58	7,8	30,0	100	RAT	
02/12/24	8h02	7,8	30,0	100	VEM	
02/12/24	14h00	7,8	30,0	100	VEM	
02/12/24	20h00	7,9	30,0	100	YNM	
03/12/24	2h01	8,0	30,1	98	YNM	
03/12/24	8h00	8,0	30,0	92	IME	
03/12/24	14h01	8,3	30,0	100	IME	
03/12/24	19h59	8,7	29,9	95	RAT	
04/12/24	2h00	8,9	30,1	99	RAT	
04/12/24	8h02	9,0	30,1	100	VEM	
04/12/24	14h00	9,3	30,0	100	VEM	
04/12/24	20h02	9,5	30,0	100	YNM	

## Document 6. Fiche de suivi de la préparation de la solution d'HCl utilisée pour la régulation du pH

Jour	Heure	Technicien	Référence matière première	Matériel utilisé	Signature
24/11/2024	16h50	RAT	Solution HCl 36% Suprapur Sigma 1.15186 N°lot : K55606986	Pipette jaugée de 10 mL classe A  Fiole jaugée de 1 L	
27/11/2024	14h20	IME	Solution HCl 36% Suprapur Sigma	Pipette graduée de 10 mL Bécher de 1L	
01/12/2024	10h10	YNM	Solution HCl	Pipette Bécher	

RAT Ranya Trasmani  
IME Ibrahim El Alami  
YNM Yvan Martin

## Document 7. Problématiques rencontrées lors de l'utilisation d'une bactérie filamenteuse en bioproduction

### Augmentation de la viscosité du milieu

La présence de bactéries filamenteuses peut augmenter considérablement la viscosité du mélange dans le bioréacteur. Cela a des conséquences négatives, notamment :

- Une consommation énergétique accrue pour le mélange et l'aération.
- Une réduction de l'efficacité du transfert d'oxygène, limitant la performance du système.

### Problèmes liés à l'exploitation industrielle

Dans un contexte industriel, les bactéries filamenteuses peuvent également :

- Obstruer les conduites et les filtres, entraînant des arrêts de production et des coûts de maintenance accrus.
- Nécessiter des ajustements fréquents des paramètres opérationnels (pH, aération, alimentation, etc.), augmentant la complexité et le coût d'exploitation.