

# Cocktail optimisé pour bactéries<sup>1</sup>

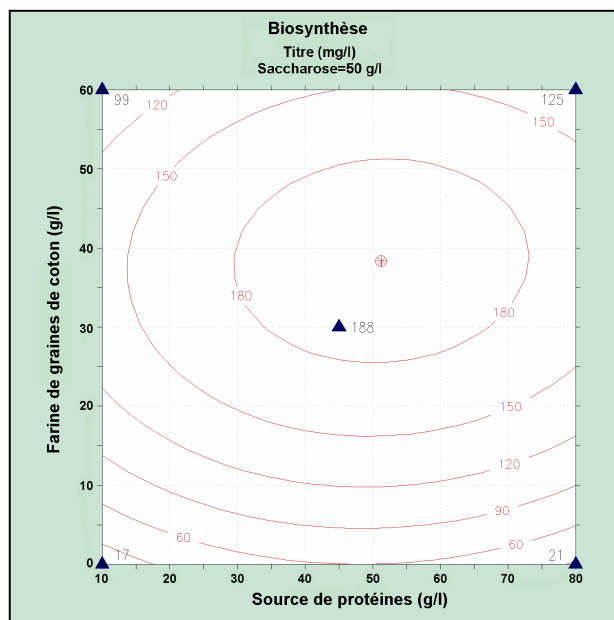
Lors de l'optimisation d'un procédé, rien ne doit être laissé au hasard, et surtout pas l'incontournable planification des expériences. Cet article illustre comment la mise en pratique de cette idée permet de tripler à peu de frais le rendement d'un procédé de biosynthèse.

Nikolaus Haselgruber et Philippe Solot<sup>2</sup>

En matière de biosynthèse, les biotechnologistes se trouvent souvent confrontés au problème de l'optimisation du milieu de culture. Lorsque quelques substances prometteuses ont été sélectionnées, la question des proportions du mélange se pose. Dans de telles situations, il est courant d'effectuer une série d'expériences au cours de laquelle on ne fait varier qu'un facteur à la fois. L'inconvénient majeur de cette procédure est évident : le cas échéant, les essais seront répartis défavorablement dans l'espace des expériences possibles, si bien qu'aucune configuration véritablement bonne ne pourra être trouvée.

## Beaucoup d'information, peu d'expériences

L'objectif d'obtenir un maximum d'information au moyen d'un minimum d'expériences peut être atteint grâce aux plans d'expériences statistiques. Les expériences qui doivent être réalisées résultent alors de la spécification des réponses à optimiser et des facteurs d'influence. Dans le cas pratique suivant qui concerne l'optimisation d'un procédé de biosynthèse, on désire maximiser le titre du métabolite produit en faisant varier les composantes du milieu. Celui-ci se compose des substances suivantes dont les concentrations peuvent varier dans certaines proportions : saccharose : de 20 à 50 g/l ; source de protéines : de 10 à 50 g/l ; farine de graines de coton : de 0 à 20 g/l ; carbonate de calcium : de 0 à 5 g/l ; extrait de levure : de 0 à 10 g/l. Avec cinq grandeurs influentes, il devient déjà difficile d'avoir une bonne vue d'ensemble de la situation. Un progiciel qui guide l'utilisateur durant toutes les différentes étapes de la planification s'avère par conséquent être un allié précieux.



En général, la mise en oeuvre des plans

**Ce graphique de courbes de niveau montre l'influence de la source de protéines et de la farine de graines de coton sur la réponse, le titre. Les triangles bleus indiquent les expériences effectuées. Le maximum apparaît avec la source de protéines proche de 51 g/l et la farine de graines de coton proche de 49 g/l.**

d'expériences comporte trois phases : le criblage, la modélisation et l'optimisation. Durant la première phase, on considère un grand nombre de facteurs potentiellement influents, dont l'effet véritable est souvent inconnu. On recherche alors les facteurs les plus influents, tandis qu'on élimine ceux qui sont probablement insignifiants. Suit la phase de modélisation, où les facteurs présumés importants sont étudiés de plus près et durant laquelle on cherche encore à réduire le nombre de facteurs. Dans la phase d'optimisation finale, on essaie de représenter, le plus

<sup>1</sup> Version française d'un article paru en novembre 2002 dans le magazine suisse *Chemische Rundschau*.

<sup>2</sup> N. Haselgruber est consultant en statistique appliquée et Ph. Solot Directeur Général de AICOS Technologies SA, Bâle, Suisse.

précisément possible, la relation qui lie les facteurs réellement influents aux réponses.

### Une grande flexibilité

Le cas pratique présenté ici autorise l'utilisateur à passer directement à la phase d'optimisation, puisqu'il n'existe que cinq facteurs potentiellement influents. Les intervalles de variation des facteurs et les propriétés des réponses doivent maintenant être enregistrés dans STAVEX ; de son côté, le programme propose différents plans d'expériences. Ceux-ci sont calculés de manière à obtenir un maximum d'information à partir des résultats d'un minimum d'expériences. L'utilisateur peut aussi modifier les plans proposés ou définir ses propres plans et n'utiliser alors le logiciel que pour l'analyse. Après avoir choisi un plan dit *centroïde à sommets*, 26 expériences sont prescrites. Le résultat de ces expériences (le titre du métabolite) est saisi dans le logiciel.

L'analyse met en évidence une bonne adaptation du modèle. Le titre du métabolite est maximal pour la configuration suivante : saccharose : 50 g/l ; source de protéines : 50 g/l ; farine de graines de coton : 20 g/l ; carbonate de calcium : 0 g/l et extrait de levure : 0 g/l. Les trois premiers facteurs se situent à la limite supérieure de leur intervalle de variation, les deux derniers à la limite inférieure, à savoir 0. Pour atteindre l'optimum, ni le carbonate de calcium ni l'extrait de levure ne doivent donc figurer dans le mélange. L'étape d'optimisation peut à présent être réitérée, avec une meilleure connaissance de la situation. Les facteurs « carbonate de calcium » et « extrait de levure » sont maintenant écartés. En outre, on adapte le domaine de variation des autres facteurs en augmentant la limite supérieure : saccharose (de 50 à 80 g/l), source de protéines (de 50 à 80 g/l) et farine de graines de coton (de 20 à 60 g/l).

Le logiciel propose maintenant à l'utilisateur un plan de Box-Behnken avec 13 expériences. Celles-ci sont effectuées, leurs résultats saisis puis analysés. Pour permettre une interprétation aisée des résultats, STAVEX offre une large gamme de graphiques. Cette nouvelle analyse donne une meilleure adaptation du modèle et l'optimum se trouve maintenant à l'intérieur du domaine analysé (saccharose : 48,53 g/l, source de protéines :

51,32 g/l, farine de graines de coton : 38,38 g/l). Le titre du métabolite s'élève à 195,5 mg/l et l'intervalle de confiance à 90% de cette valeur est [176,6 ; 214,5] (mg/l).

Étant entendu qu'un modèle statistique ne peut illustrer la réalité qu'en la simplifiant, il est nécessaire d'examiner l'adaptation et/ou la qualité du modèle. À cet égard aussi, on obtient un très bon résultat ( $R^2_c=0,97$ ).

### Production triplée en 40 expériences

En outre, on recommande de réaliser une expérience de confirmation avec la configuration optimale des paramètres identifiée par le logiciel. Le titre de cette expérience s'élève à 205 g/l, ce qui souligne la qualité du modèle. En tout, on aura effectué seulement 40 expériences, pour aboutir à tripler le titre du métabolite par rapport aux toutes premières tentatives, à savoir 60 mg/l.

### De nombreuses applications

*Plus de 100 entreprises et universités utilisent actuellement Stavex dans toute l'Europe. La plupart des sociétés font partie de l'industrie chimique et pharmaceutique, parfois aussi de l'industrie alimentaire. Le logiciel peut être utilisé aussi bien pour optimiser des expériences de laboratoire que des procédés de production. Le logiciel a par exemple été utilisé dans des projets aussi divers que :*

- l'optimisation de procédés chimiques
- l'optimisation de mélanges de réactifs
- la formulation de produits pharmaceutiques
- la mise au point de recettes pour des produits alimentaires.