

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE

Présenté

Par

LEILA BAKOUR

En vue de l'obtention du

MAGISTER EN MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Caractérisation chimique de nouvelles mutactimycines
synthétisées par *Saccharothrix* sp. SAI03 et influence
des sources de carbone et d'azote sur la production

Soutenu publiquement le septembre 2006

devant le jury composé de:

Mme D. SADOUN	Professeur à l'Université A. Mira de Béjaia	Présidente.
M. S. BENALLAOUA	Professeur à l'Université A. Mira de Béjaia	Examineur.
M.A. TOUATI	Chargé de cours à l'Université A. Mira de Béjaia	Membre invité.
M. A. ZITOUNI	Maître de Conférences à l'E.N.S. de Kouba.	Co-Rapporteur
M.N.SABAOU	Professeur à l'E.N.S. de Kouba.	Rapporteur

TABLE DES MATIERES

Avant-propos

Dédicaces

Summary

خلاصة

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I- REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.- APERÇU SUR LA TAXONOMIE ET L'ÉCOLOGIE DES ACTINOMYCETES.....4	
1.- Aperçu sur la taxonomie des actinomycètes.....	4
1.1.- Critères morphologiques.....	4
1.2.- Critères chimiques	4
1.3.- Critères physiologiques	5
1.4.- Les critères moléculaires	6
2.- Aperçu général sur l'écologie des actinomycètes.....	6
II.- IMPORTANCE DES ACTINOMYCETES	6
1.- Importance dans le domaine industriel.....	8
1.1.- Production d'antibiotiques.....	8
1.2.- Production d'autres substances.....	8
1.3.- Autres rôles.....	9
2.- Importance dans le domaine agronomique.....	9
III.- LE GENRE SACCHAROTHRIX	9
1.- Position taxonomique et caractéristique du genre <i>Saccharothrix</i>	10
2.- Métabolites secondaires sécrétés par <i>Saccharothrix</i>	11
3.- Caractéristiques et position taxonomique de <i>Saccharothrix</i> sp. SA 103.....	11
4.- Antibiotiques sécrétés par <i>Saccharothrix</i> sp. SA 103	12
IV.- DONNEES SUR LES MUTACTIMYCINES	18
1.- Caractéristiques chimiques des mutactimycines et microorganismes producteurs	18
2.- Spectre d'action des anthracyclines et des mutactimycines	19
3.- Mode d'action et biosynthèse des mutactimycines et des anthracyclines	19
4.- Toxicité des anthracyclines.....	21
V.- REGULATION DE LA BIOSYNTHESE DES ANTIBIOTIQUES 23	
1.- Facteurs physico-chimiques.....	23
2.- Inoculum.....	23
3.- Facteurs nutritionnels.....	24
3.1. - La source de carbone	24
3.2.- La source d'azote.....	26
3.2.1.- Régulation par les ions ammonium	26
3.2.2.- Régulation par les acides aminés.....	27
3.3.- La source de phosphate.....	28
3.4.- Les sels minéraux et les oligo-éléments	28
CHAPITRE II- MATERIELS ET METHODES	
I. – MICROORGANISMES	30
1. - Souche d'actinomycète.....	30
2.- souche de microorganismes-cibles	30
II.- MISE EN EVIDENCE DE L'ACTIVITE ANTIBIOTIQUE DE LA SOUCHE SA 103 31	
1.- Mise en évidence sur milieu solide.....	31
2. - Production en milieu liquide.....	31
3.- Test d'antibiographie par la méthode des puits	31

4.- Extraction des antibiotiques.....	32
5.- Chromatographie sur couche mince de gel silice.....	32
6.- Mise en évidence des zones actives par bioautographie.....	32
III.- ETUDE DES ANTIBIOTIQUES PRODUITS PAR LA SOUCHE SA 103	33
1.- Cinétique de production de l'activité antibiotique globale.....	33
2. – Extraction et purification des mutactimycines.....	33
2.1.- Extraction des mutactimycines.....	33
2.2.- Purification des mutactimycines par HPLC.....	34
3.- Etude spectroscopique des antibiotiques purifiés.....	34
3.1.- Etude en spectroscopie UV - visible.....	34
3.2.- Etude en spectroscopie Infra-Rouge.....	35
3.3. – Etude en spectroscopie de masse.....	35
4.- Détermination des concentrations minimales inhibitrices des mutactimycines.....	35
IV.- ETUDE DE L'INFLUENCE DE QUELQUES SOURCES D'AZOTE ET DE CARBONE SUR LA PRODUCTION D'ANTIBIOTIQUE	37
1.- Milieux de culture.....	37
1.1.- Milieu de base.....	37
1.2.- Source d'Azote et vitamines.....	37
1.3.- Sources de carbone.....	38
2.- Conditions de cultures.....	38
2.1.- Pré-cultures.....	38
2.2.- Cultures.....	39
3.- Méthodes analytiques.....	39
3.1.- Estimation de la biomasse.....	39
3.2.- Détermination de l'activité antimicrobienne globale des antibiotiques.....	39
3.3.- Evaluation de la production globale des mutactimycines.....	40
3.4.- Dosage des mutactimycines par HPLC.....	40
3.4.1.- Conditions expérimentales.....	40
3.4.2.- Courbe d'étalonnage.....	40
CHAPITRE III- RESULTATS ET DISCUSSIONS	
I.- MISE EN EVIDENCE DES ANTIBIOTIQUES DE LA SOUCHE SA103	42
1.- Résultats.....	42
1.1.- Mise en évidence sur milieu solide.....	42
1.2.- Mise en évidence sur milieu liquide.....	43
1.2.1.- Cinétique de production de l'activité globale.....	43
1.2.2.- Extraction des antibiotiques et mise en évidence par bioautographie.....	45
2.- Discussion.....	45
II.- PURIFICATION ET CARACTERISATION DES MUTACTIMYCINES DE LA SOUCHE SA 103	47
1.- Résultats.....	47
1.1.- Extraction et purification des mutactimycines.....	47
1.2.- Etudes spectroscopiques.....	48
1.2.1.- Spectres UV- visible des mutactimycines.....	48
1.2.2.- Spectre infra-rouge des mutactimycines.....	48
1.2.3.- Spectre de masse des mutactimycines.....	52
1.3.- Concentrations minimales inhibitrices.....	57
2.- Discussion.....	57
III.- INFLUENCE DE QUELQUES SOURCES D'AZOTE ET DE CARBONE SUR LA PRODUCTION DES MUTACTIMYCINES	60
1.- Résultats.....	60
1.1.- Influence de la source d'azote.....	60
1.1.1.- Cinétique de croissance de <i>Saccharothrix</i> sp. SA 103.....	60
1.1.2.- Cinétique de production globale des mutactimycines.....	60

1.1.3.- Quantification par HPLC de la production des mutactimycines	61
1.1.4.- Cinétique de production globale des activités antibactériennes et antifongiques.....	61
1.2.- Discussion.....	65
2.1.- Influence de la source de carbone.....	67
2.1.1.- Cinétique de croissance des cultures	67
2.1.2.- Cinétique de production globale des mutactimycines	69
2.1.3.- Quantification par HPLC de la production des mutactimycines	69
2.1.4.- Cinétique de production globale des activités antibactérienne et antifongique.....	72
2.2.- Discussion.....	75
DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE.....	78
CHAPITRE IV- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	82