

CARACTÉRISTIQUES DES PEPTIDES ANTIBACTÉRIENS DES VISCÈRES DE *SEPIA OFFICINALIS*

E. Soufi-Kechaou¹, J. Berge², H. Ben Ismail^{3*}, P. Jaouen⁴ and R. Ben Amar⁵

¹ GEPEA-UMR CNRS 6144, Université de Nantes, France; INAT, Tunisie

² Laboratoire des Sciences et Technologies de la Biomasse Marine, Ifremer Nantes, France

³ INAT, Tunisie - benismailhanen@yahoo.fr

⁴ GEPEA-UMR CNRS 6144, Université de Nantes, France

⁵ Laboratoire des Sciences des Matériaux et Environnement, Faculté des Sciences de Sfax, Tunisie

Abstract

L'objectif de ce travail a été d'étudier les activités antimicrobiennes des peptides issus des co-produits de la pêche. L'hydrolysate généré à partir de l'hydrolyse avec la Pepsine a ainsi été fractionné selon la charge des molécules. Les peptides bioactifs sont de nature cationique et possèdent un bas poids moléculaire.

Keywords: *Cephalopods, Enzymes, Antibiotics, Bacteria, Mediterranean Sea*

Introduction

Actuellement les co-produits des industries de conditionnement et de transformation des ressources halieutiques sont essentiellement transformés en farines et huiles, destinés à l'alimentation animale [1]. Pourtant, ces co-produits constituent une source importante de molécules bioactives [2]. Cette étude s'intéresse au screening des propriétés antibactériennes des peptides des hydrolysats des viscères de la seiche *Sepia officinalis*. Une séparation par la charge des hydrolysats a permis de déterminer la relation entre l'activité des peptides antibactériens et la charge.

Matériel et méthodes

Les viscères de *Sepia officinalis* ont subi une hydrolyse de deux heures en bioréacteur enzymatique par la Pepsine à échelle pilote (20 L). L'hydrolysate final (50g/L de concentration protéique) est fractionné sur des cartouches SPE échangeuses de cations (SCX) et d'anions (SAX). Les souches bactériennes testées sont celles des pathogènes humains et de la flore de contamination des produits halieutiques. La méthode de diffusion en puits de gélose a été adoptée. Un témoin antibiotique (Polymyxine B et lysozyme 1 mg/mL). Les antibiogrammes ont été réalisés en triplicats. Les prélèvements effectués pour les tests sont de 60µL avec une concentration peptidique de 3 mg/mL.

Résultats

Les résultats du screening de l'activité antibactérienne sont présentés dans le Tableau 1.

Tab. 1. Antibiogramme réalisé avec les 3 fractions issues de la séparation par la charge sur les colonnes SCX et SAX de l'hydrolysate. CA : fraction cationique ; AN : fraction anionique ; NR : fraction non retenue (-) : pas d'inhibition

	Zone d'inhibition (mm)			Témoin (+/-)
	CA	AN	NR	
<i>Bacillus megaterium</i>	20,2±1,2	-	-	15±0,2
<i>Escherichia coli</i>	18,6±2,0	5,1±2,8	-	16,3±1,3
<i>Lactococcus graviae</i>	15,6±0,4	-	-	17,6±0,2
<i>Micrococcus luteus</i>	8,5±0,1	-	-	15,2±1,2
<i>Vagococcus salmonarium</i>	19,3±1,1	-	-	17±0,1

Les résultats montrent l'absence d'activité antibactérienne dans les fractions anionique et non retenue et une forte présence de cette activité inhibitrice dans la fraction cationique. Une très faible inhibition ($d = 5,1 \pm 2,8$) est cependant observée au niveau de *E.coli* mais au niveau d'un seul antibiogramme, expliquant le fort écart-type obtenu. Pour la fraction cationique, toutes les souches de bactéries testées sont sensibles à l'hydrolysate fractionné. Le plus diamètre d'inhibition de l'hydrolysate fractionné est toujours supérieur au témoin gram+/gram-sauf pour les souches *L. graviae* et *M. luteus*. Pour cette bactérie uniquement, l'inhibition est particulièrement faible vu que $d < 6$ mm. Toutefois, l'inhibition est remarquablement forte au niveau des autres souches qui sont sensibles à cette fraction cationique. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 15 et 20 mm, la souche bactérienne la plus sensible semble être *B. megaterium* ($20,2 \pm 1,2$ mm).

Les résultats précédents ont été confirmés par les CMI (Concentrations Minimales Inhibitrices) [3]: aucune activité antibactérienne n'a été détectée aussi bien dans la fraction anionique que dans la fraction non retenue. C'est la fraction peptidique cationique qui est active particulièrement contre *B.megaterium* avec

une CMI de 75 µg/ml.

En se basant sur des concentrations protéiques, toutes les autres CMI sont inférieures à 200 µg/mL, ce qui confirme que les peptides cationiques sont très actifs. Les profils chromatographiques (Figure 1) ont mis en évidence des différences entre la fraction CA et la fraction NR. La plupart des peptides qui se retrouvent dans la fraction CA sont supérieurs à 1000 Da alors que la fraction NR comprend les peptides de petite taille.

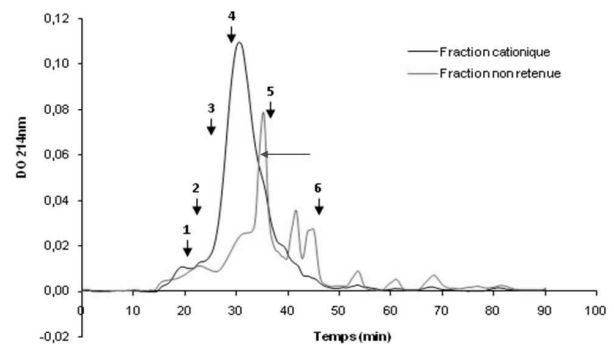


Fig. 1. Profils chromatographiques de la fraction active cationique et de la fraction non retenue (Calibrations : 1= 7330 Da ; 2 = 3142 Da ; 3 = 2168 Da ; 4 = 1040 Da ; 5 = 496 ; 6 = 250 Da).

Discussion et conclusion

Dans ce travail, la fraction CA a été très active contre les deux groupes de bactéries pathogènes. La nature cationique des peptides bioactifs est vérifiée. Les profils ont montré que la fraction antimicrobienne active possède un PM compris entre 2000 et 250 Da. Un travail complémentaire de fractionnement par ultrafiltration sera utilisé comme stratégie de prépurification.

References

- 1 - Benjakul, S., Morrissey, M.T. (1997) Protein hydrolysates from Pacific Whiting solid wastes. *J. Agric. Food Chem.* 45 (9): 3423-3430.
- 2 - Ravallec-Plé R., Charlot, C., Pires, C., Braga, V., Batista, I., Van Wormhoudt, A., Le Gal, Y., et Fouchereau-Péron, M. (2001) The presence of bioactive peptides in hydrolysates prepared from processing waste of sardine (*Sardina pilchardus*). *J. Sci. Food Agric.* 1120-1125.
- 3 - Du Toit E.A., Rautenbach M. (2000) A sensitive standardized micro-gel well diffusion assay for the determination of antimicrobial activity. *J Microbiol Methods.* 42(2):159-65.