

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

M.M.B. 12/15

République Algérienne Démocratique et Populaire

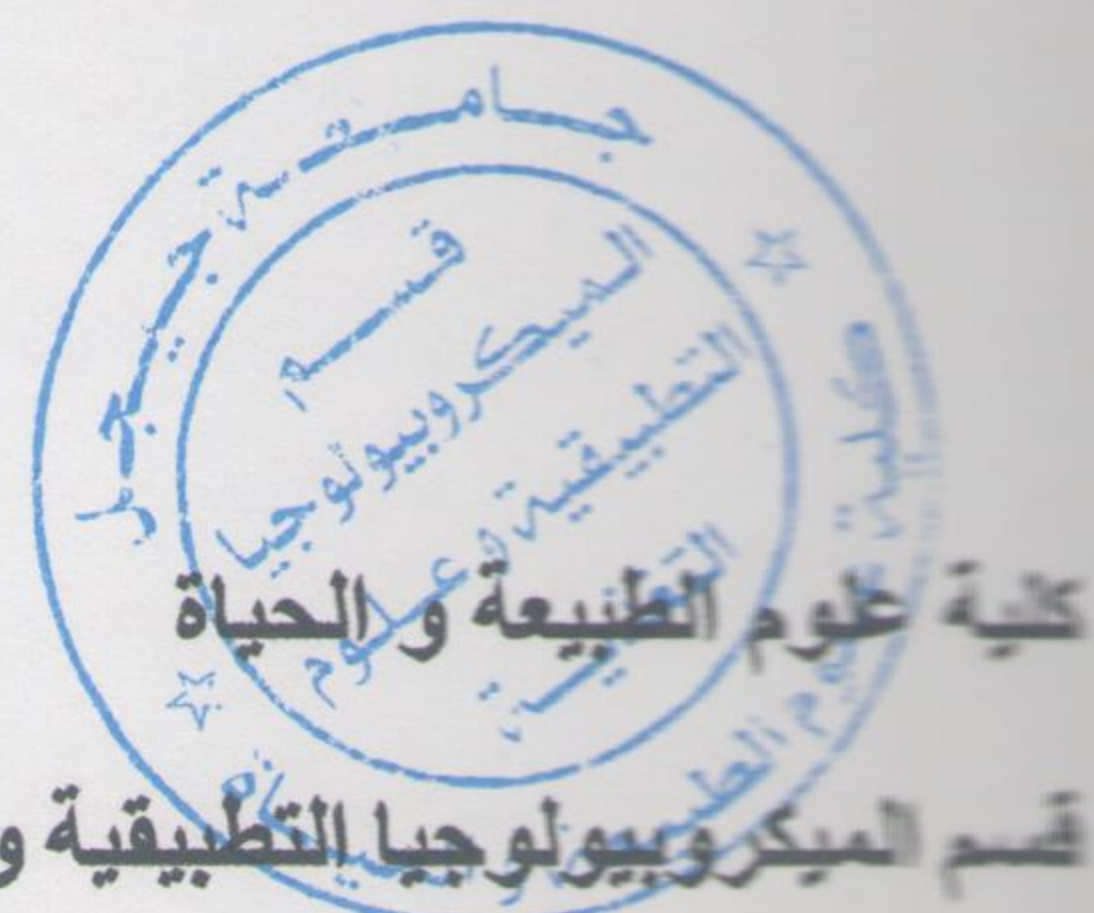
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

جامعة جيجل

Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature
et de la Vie

Département : Microbiologie Appliquée
et Sciences Alimentaires



Mémoire De Fin D'études

En vue de L'obtention Du Diplôme : Master Académique en Biologie
Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

2
2

*Production des antibiotiques par les espèces du genre
Penicillium et sélection des meilleures espèces
productrices.*

Membres du Jury :

- ✚ Présidente : M^{me} BOURZAMA Gh.
- ✚ Encadreur : Dr. AKROUM S.
- ✚ Examinatrice : M^{me} BEKKA F.



Réalisé par :

- M^{elle} KIDER Assia
- M^{elle} YAHOUI Khaoula

Année universitaire : 2014 / 2015.

Ordre bibliographie :

Sommaire

	Page
Introduction générale.....	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Présentation du genre <i>Penicillium</i>	
I.1. Présentation du genre <i>Penicillium</i>.....	3
I.2. Présentation des espèces productrices d'antibiotiques.....	4
I.2.1. <i>Penicillium chrysogenum</i>	5
I.2.2. <i>Penicillium nalgiovense</i>	5
I.2.3. <i>Penicillium griseofulvum</i>	6
I.2.4. <i>Penicillium roquefortii</i>	7
I.2.5. <i>Penicillium sclerotiorum</i>	8
I.2.6. <i>Penicillium persicinum</i>	9
I.2.7. <i>Penicillium corylophilum</i>	10
Chapitre II : Les principaux antibiotiques produits par le genre <i>Penicillium</i>	
II.1. Les principaux antibiotiques produits par le genre <i>Penicillium</i>.....	12
II.1.1. Les pénicillines.....	12
a) La pénicilline G	13
b) La pénicilline V.....	13
II.1.2. Griséofulvine	13
II.1.3. Fumagilline.....	14
II.1.4. Sclérotiorine	14
II.1.5. Fumiquinazoline F.....	15
II.2. Les conditions de production des antibiotiques par les moisissures.....	15
II.2.1 Les milieux et les conditions de production des antibiotiques	16
a) Les milieux de culture.....	16
b) Les conditions de culture	16
II.2.2 Extraction et purification.....	16
II.2.3 Exemple : La production de la pénicilline par <i>P. chrysogenum</i>	17
Partie pratique	
Matériel et méthodes.....	18
I. Matériel.....	18
II. Méthodes.....	19
II.1. Isolement des moisissures.....	19
II.2. Identification des moisissures.....	21
II.2.1. Observation macroscopique du mycélium.....	22
II.2.2. Observation microscopique du mycélium.....	22
II.3. Mise en évidence de la production des substances antibactériennes.....	22
Résultats	
I. Identification des espèces de <i>Penicillium</i>.....	24
I.1. Caractéristiques macroscopiques	24
I.2. Caractéristiques microscopiques	26
II. Production des substances antibactériennes.....	30
Discussion.....	34
Conclusion.....	36
Références bibliographiques.....	37

Liste des figures

	Page
Figure 1 : Caractères morphologiques des différents types des pénicilles.....	3
Figure 2 : Structure chimique des pénicillines.....	12
Figures 3: Structure chimique de la pénicilline G.....	13
Figure 4 : structure chimique de la pénicilline V.....	13
Figure 5 : Structure chimique de la griséofulvine.....	13
Figure 6 : Structure chimique de la fumagilline.....	14
Figure 7 : Structure chimique de la sclérotiorine.....	15
Figure 8 : Structure chimique de la fumiquinazoline.....	15
Figure 9 : Protocole d'isolement et de purification des moisissures.....	20
Figure 10 : Protocole d'identification des moisissures.....	21

Liste des photos

Photos 1,2 : <i>P. chrysogenum</i> après 21 jours de croissance.....	5
Photos 3,4 : <i>P. nalgiovense</i> après 7 jours de croissance.....	6
Photos 5,6 : <i>P. griseofulvum</i> après 7 jours de croissance.....	7
Photos 7 : <i>P. roquefortii</i> après 7 jours de croissance.....	8
Photo 8 : <i>P. sclerotiorum</i> après 7 jours de croissance.....	9
Photos 9,10 : <i>P. persicinum</i> après 7 jours de croissance	9
Photos 11,12 : <i>P. corylophilum</i> après 7 jours de croissance.....	10
Photos 13: Origine de différents prélèvements de <i>Penicillium</i>	19
Photos 14,15 : Culture de l'espèce 1 à 7 jours de croissance sur le milieu Sabouraud.....	24
Photos 16,17 : Culture de l'espèce 3 à 7 jours de croissance sur le milieu MEA	25
Photos 18,19 : Culture de l'espèce 4 à 7 jours de croissance sur le milieu MEA.....	25
Photos 20,21 : Culture de l'espèce 6 après 7 jours de croissance sur le milieu Sabouraud ...	26
Photo 22 : Observation microscopique de <i>P. italicum</i> au grossissement x 40.....	26
Photo 23 : Observation microscopique des conidies de <i>P. italicum</i> au grossissement x 40...	27
Photo 24 : Observation microscopique de <i>P. roquefortii</i> au grossissement x40.....	27
Photo 25 : Observation microscopique de <i>P. roquefortii</i> au grossissement x 40 après coloration par la fuschine	28
Photo 26 : Observation microscopique des conidies de <i>P. roquefortii</i> au grossissement x 40.....	28
Photo 27 : Observation microscopique de <i>P. camembertii</i> au grossissement x 40.....	28
Photo 28 : Observation microscopique de <i>P. simplicissimum</i> au grossissement x 40.....	29
Photo 29 : Observation microscopique de <i>P. cyclopium</i> au grossissement x 10.....	29
Photos 30,31 : Observation microscopique de <i>P. cyclopium</i> au grossissement x 40.....	30
Photos 32,33 : Activité antibactérienne de <i>P. griseofulvum</i> contre <i>L. monocytogenes</i> et <i>Ps. aeruginosa</i>	31
Photos 34,35 : Activité antibactérienne de <i>P. roquefortii</i> contre <i>L. monocytogenes</i> et <i>Ps. aeruginosa</i>	31
Photo 36 : La croissance du mycélium de <i>P. roquefortii</i> sur la culture de <i>S. typhimurium</i>	32
Photo 37 : Activité antibactérienne de <i>P. camembertii</i> contre <i>S. typhimurium</i>	32
Photos 38,39 : Activité antibactérienne de <i>P. simplicissimum</i> contre <i>Ps. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>	32
Photos 40,41,42 : Activité antibactérienne de <i>P. cyclopium</i> contre <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. typhimurium</i> et <i>Ps. aeruginosa</i>	33

Tableau

Tableau 1 : Résultats de l'activité antibactérienne des moisissures.....	30
---	-----------

Liste des abréviations

°C	: Degré Celsius
H	: Heure
µm	: Micromètre
mm	: Millimètre
Milieu CYA	: Milieu Czapek Yeast Agar.
Milieu G25N	: Milieu Nitrate Glycérol 25% Agar.
Milieu MEA	: Milieu Malt Extract Agar
Milieu MA	: Milieu Malt Agar
PLP	: protéines de liaison des pénicillines

Introduction générale

Penicillium est un genre de moisissures cosmopolites, très répandue dans la nature et contenant plus de 250 espèces. Ces espèces se différencient entre elles surtout par la couleur, la taille, les détails structuraux des mycéliums, la vitesse de croissance et les pigments sécrétés (Oliveri et al. 2007).

Les espèces de ce genre sont répandues dans le sol, sur les plantes, dans l'air à l'extérieur ; de même, elles sont communes dans le maïs, le blé, la farine, le pain, le riz, le fromage, la viande, les noix, la pomme et ses produits dérivés, les poires, les cerises, les bananes, les pêches, les abricots, les raisins, etc (Bandh et al. 2011).

Dans la majorité des cas les *Penicillium* provoquent une bio-détérioration, comme c'est souvent remarqué sur les textiles, les papiers et les divers produits alimentaires. Aussi, ce genre est capable de sécréter des métabolites secondaires hautement toxiques dites « mycotoxinogènes » comme l'ochratoxine A produit par *P. verrucosum*, la citrinine par *P. citrinum* et *P. vindicatum*, la patuline par *P. griseofulvum* et *P. expansum*. Ceci notamment au cours de leur prolifération sur les céréales stockées, ce qui entraîne des pertes des céréales et leurs dérivées, une pourriture de pomme et des agrumes. De plus, ces métabolites constituent un danger réel pour la sécurité sanitaire de l'homme et de l'animal. Parmi les risques que ces moisissures peuvent causer pour la santé de l'homme nous pouvons citer aussi l'allergie chez les individus sensibles, les infections cutanées superficielles et les mycoses invasives chez les individus dont l'immunité est amoindrie (Botton et al. 2009 ; Chabasse et al. 2002).

D'autre part, les espèces du genre *Penicillium* sont parmi les microorganismes les plus utilisés en biotechnologie ; notamment dans la fabrication des fromages comme *P. jansinii*, *P. roquefortii* et *P. camembertii*. Cette dernière espèce est très utilisée du fait qu'elle assure la couverture blanche des fromages à pâte molle et croûte fleurie comme le camembert, ce qui lui confère une résistance contre les microorganismes pathogènes. *P. jansinii*, quant à elle, assure une couverture blanche sur les saucissons visible dès la sortie de l'étuvage, elle permet une lutte efficace contre les moisissures polluantes et évite de brosser les produits en fin de séchage et de tapper le saucisson. La production des antibiotiques est un autre domaine où excellent les *Penicillium*, ce grand marché permet la production d'une grande quantité de médicament en utilisant les moisissures. Les principales molécules produites étant les pénicillines par *P. chrysogenum*, la griséofulvine par *P. griseofulvum*, la production de l'acide gluconique par *P. purpurogenum* et l'acide pénicillique par *P. cyclopium*. Aussi, un grand nombre de *Penicillium* peut sécréter une large variété d'enzymes dont les endoglucanases, les lipases, la catalase, les protéases, les cellulases et les xylanases pectiques (Chabasse et al. 2002 ; Chinedu et al. 2008).

Dans ce travail, nous nous intéressons à la production des substances antibactériennes par les espèces du genre *Penicillium*, et plus précisément la production des antibiotiques. De ce fait, nous commençons par isoler les moisissures appartenant à ce genre à partir de différents échantillons, puis nous les identifions sur la base morphologique et nous testons leur capacité à inhiber différentes bactéries pathogènes pour l'homme.

Chapitre I : Présentation du genre *Penicillium*

I.1. Présentation du genre *Penicillium*

Ce genre réunit des champignons filamenteux imparfaits, appartenant à la classe des Deutéromycètes. *Penicillium* contient actuellement plus de 250 espèces (Houbraken et al. 2011).

Les *Penicillium* sont des champignons pour la plupart très répandus dans l'environnement, pouvant être responsables de nombreuses dégradations. Elles ont pour habitat naturel le sol, les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition tels que : les végétaux, le compost, les céréales et l'air (Anastasi et al. 2005 ; Bandh et al. 2011 ; Barcus et al. 2005 ; Teh et Zakaria 2013).

Les espèces de *Penicillium* sont ubiquistes, saprophytes et opportunistes. Nutritionnellement, elles sont peu exigeantes, pouvant se développer dans plusieurs types d'environnements qui contiennent des sels minéraux (Cardoso et al. 2007 ; Pitt et Hocking 2009 ; Teh et Zakaria 2013).

D'un point de vue morphologique les *Penicillium* se distinguent par leur organisation en Pinceau ou Pénicille (d'où le nom de *Penicillium*) (Houbraken et al. 2011). Le thalle, formé de filaments mycéliens septés, porte des verticilles lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par des métules surmontées de phialides. Le terme pénicille désigne les verticilles, les métules et les phialides. Selon les espèces, les métules peuvent être présentes ou absentes (Figure 1) (Chabasse et al. 2002 ; Ellis et al. 2007).

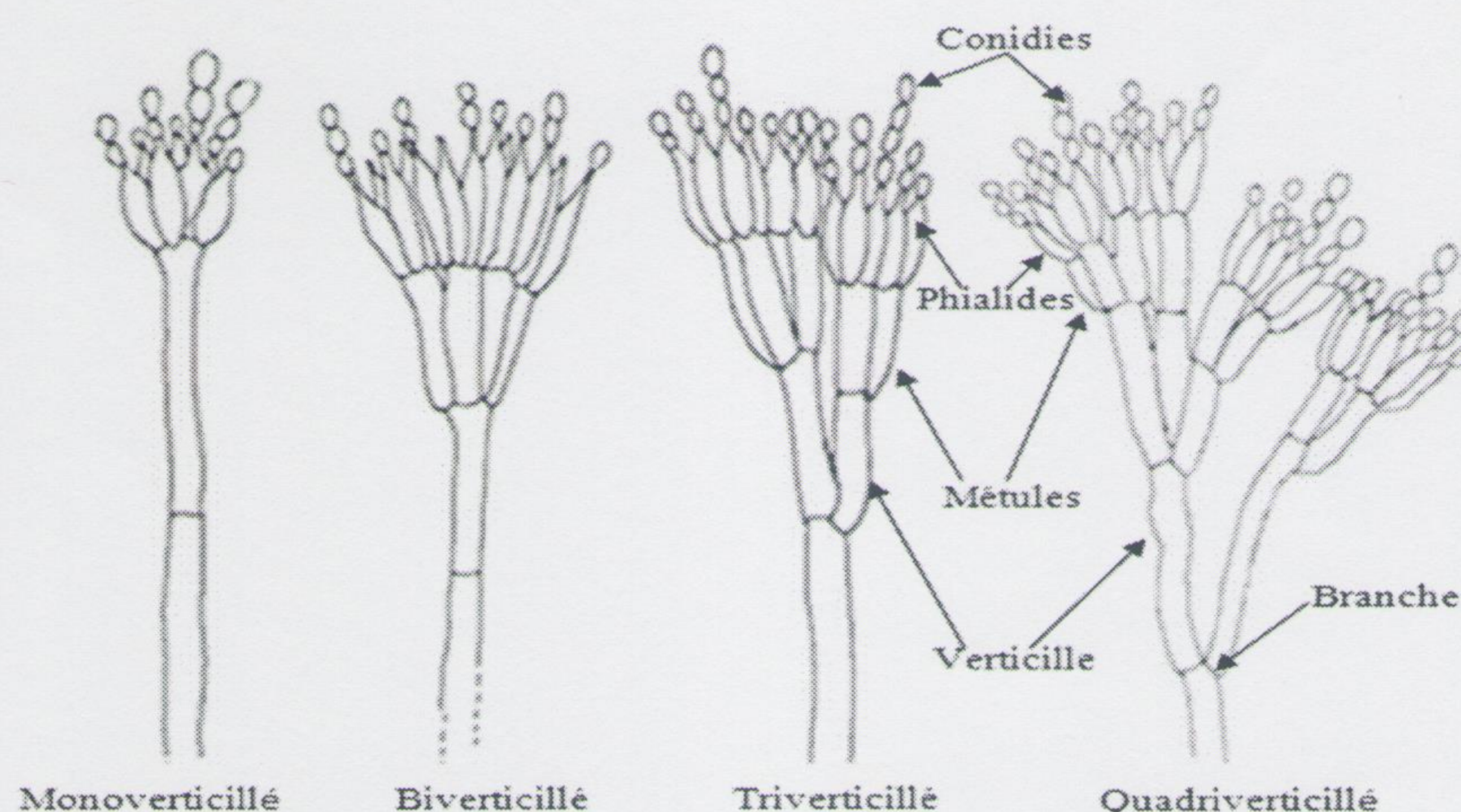


Figure 1 : Caractères morphologiques des différents types de Pénicilles (site 1).

Les phialides sont disposées sur les métules en cas de conidiophores bi. ou tri. ou quadriverticillé, et sur les verticilles directement en cas de conidiophores monoverticillés. Les phialides sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne un aspect de pinceau. Les phialides (cellules conidiogènes) donnent naissance à des conidies disposées en longues chaînettes (chaines basipètes, non ramifiées) (Chabasse et al. 2002).

Les conidies sont des spores asexuées unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres (pigmentées), mesurant moins de 5µm de diamètre (Chabasse et al. 2002).

L'organisation des pinceaux (des pénicilles) permet de définir des groupes de *Penicillium* à l'intérieur desquels la détermination spécifique est obtenue par des caractères microscopiques (formes, tailles, ornementsations et couleurs) et physiologiques (pigments, vitesse de croissance sur différents milieux et à différentes températures) (Cardoso et al. 2007).

Les *Penicillium* se développent rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (géloses à l'extrait de Malt, Sabouraud, Czapek, etc) mais sont inhibés par le cycloheximide, le chloramphénicol ou autres substances antifongique. Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20 à 27°C. Après 2 jours d'incubation, on observe des petits mycéliums plats, duveteux, poudreux, veloutés et formés de courts filaments aériens, habituellement blancs. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux mycéliums leur teinte, le plus souvent dans les tons vert, vert bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, pour certaines espèces, jaune, orange, chamois, rose ou rouge. Le revers du mycélium peut être incolore ou foncé selon les espèces. Un pigment diffuse par fois dans la gélose, de même qu'un exsudat est parfois remarqué (Chabasse et al. 2002).

Le *Penicillium* est une moisissure caractérisée par l'absence de la reproduction sexuée, elle est de ce fait considérée comme imparfaite et appartenant à la classe des Deutéromycètes selon la classification de Ainsworth 1986 (Botton et al. 1990).

Règne : Mycètes (*Fungi*)

Embranchement : Amastigomycètes (Amastigomycota)

Classe : Deutéromycètes

Sous classe : Hyphomycètes

Ordre : Hyphomycétales

Famille : *Honilaceae*

Genre : *Penicillium*

I.2. Présentation des espèces productrices d'antibiotiques

L'identification des espèces de *Penicillium* se fait sur la base des caractéristiques macroscopiques et microscopiques montrées par les cultures des espèces à 25°C pendant au moins 7 jours. Les trois milieux de cultures les plus utilisés sont cités ci-dessous (Marziano et al. 2000).

I.2.1. *Penicillium chrysogenum* (synonyme: *P. griseoroseum*, *P. notatum*, *P. meleagrinum*)

P. chrysogenum a un thalle vert-bleu, vert-jaune devenant gris ou brun. Les pénicilles sont asymétriques et souvent complexes à ramifications divergentes. Les conidiophores ont des dimensions de 200 à 1000 x 3 à 4.5 µm. Les métules sont au nombre de 3 à 5 avec des dimensions de 8 à 15 x 2.5 à 4µm. Les phialides sont ampulliformes et au nombre de 4 à 7 par métule avec des

dimensions de 7 à 10 x 2 à 2.5µm. Les conidies sont sub-globuleuses, lisses, disposées en longueur sous forme des colonnes irrégulières (Botton et al.1990).

Sur milieu MA (Malt-Agar) (pH 6,5) : Le mycélium est velouté mesurant de 25 à 40 mm de diamètre après 7 jours de culture (Pitt et Hocking 2009), de couleur bleu-vert, avec un amas de mycélium blanc au centre et une forte odeur (photo 1). Le revers est blanc-jaune (Botton et al.1990).

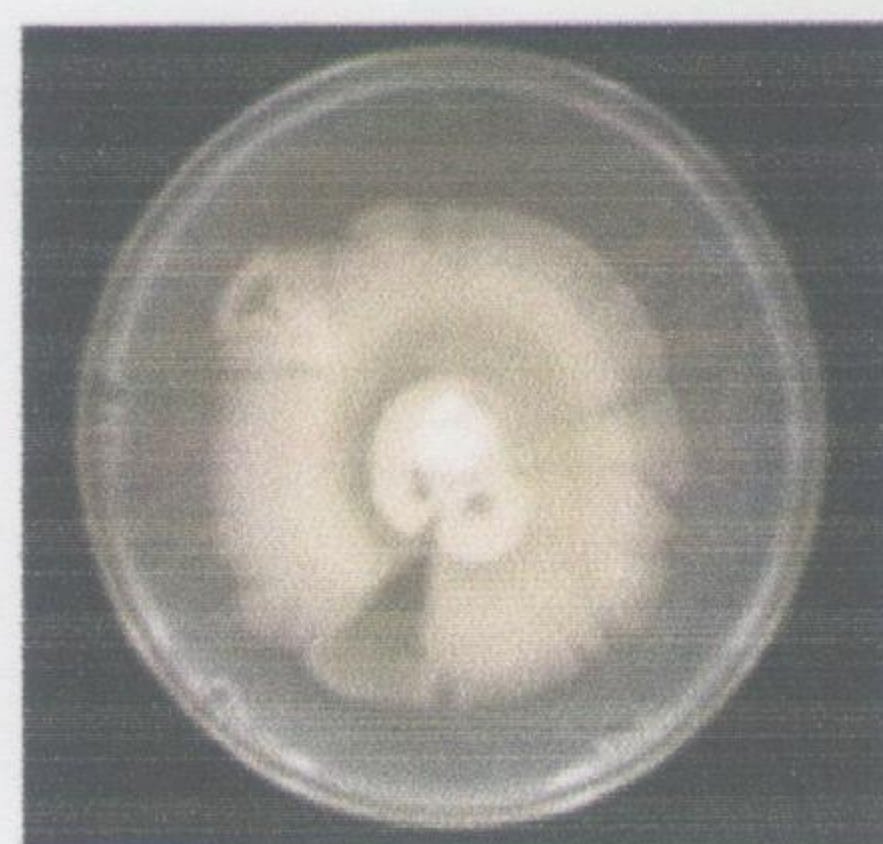
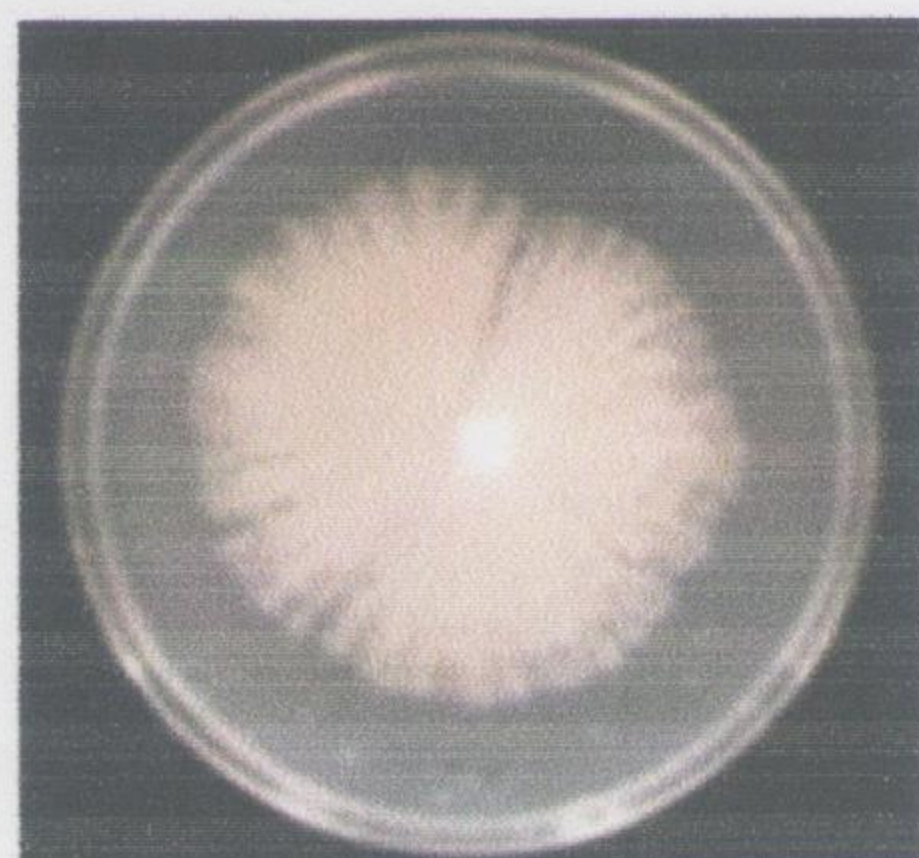


Photo 1 : Milieu MA

Photo 2 : Milieu CYA

Photos 1,2 : *P. chrysogenum* après 21 jours de croissance (site 2).

Sur milieu CYA (Czapek Yeast Agar) (pH 5,5) : Le mycélium se présente sous forme de cercles concentriques avec une alternance de vert et de blanc et une grosse sectorisation verte. Au centre un amas de mycélium blanc (photo 2). Le revers est jaune (site2).

Sur milieu G25N 25% (Glycérol Nitrate Agar) (pH) : *P. chrysogenum* est caractérisé par mycélium mesurant de 18 à 22 mm de diamètre, il est plissé radialement et dense. Le revers est pâle ou brun-jaune vif ou brun-rougeâtre (Pitt et Hocking 2009).

P. chrysogenum est capable de produire un grand nombre de métabolites secondaires tels que : l'andrastrine A et B, la chrysogine, la pénicilline, la roquefortine C et D, la méléagrine, l'acide sécalonique D et F, l'acide oxalique (Gombert et al. 2011) la sorbicilline, la xanthocilline (Houbraken et al. 2012), l'endoglucanase, la lipase (Chinedu et al. 2008 ; Macarisin et al. 2007 ; Shafei et Allam 2010).

1.2.2. *Penicillium nalgiovense* (synonyme : *P. janssenii*)

P. nalgiovense a des pénicilles irréguliers, avec de 2 à 4 métules. Les conidiophores sont lisses ou très finement granuleux, avec des dimensions de 200-600 x 2,5-3,5µm. Les métules mesurent de 7-25 x 2,5- 3,5 µm. Les phialides en verticilles de 2 à 8, elle sont ampulliformes et mesurent 6-10 x 2,2-2,5 µm. Les conidies sont globuleuses avec 2,5-4 µm de diamètres, lisses et de couleur vert-pâle en masse(Botton et al.1990).

Sur milieu MEA : Le mycélium est variable, avec 10-30 mm de diamètre. Il a une texture lisse, dense ou un peu floconneux (photo 3). Habituellement la conidiogénèse est intense, de couleur blanche à vert pâle. L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le revers est plus coloré, orange-brun à brun-ombre en profonde (Pitt et Hocking 2009).

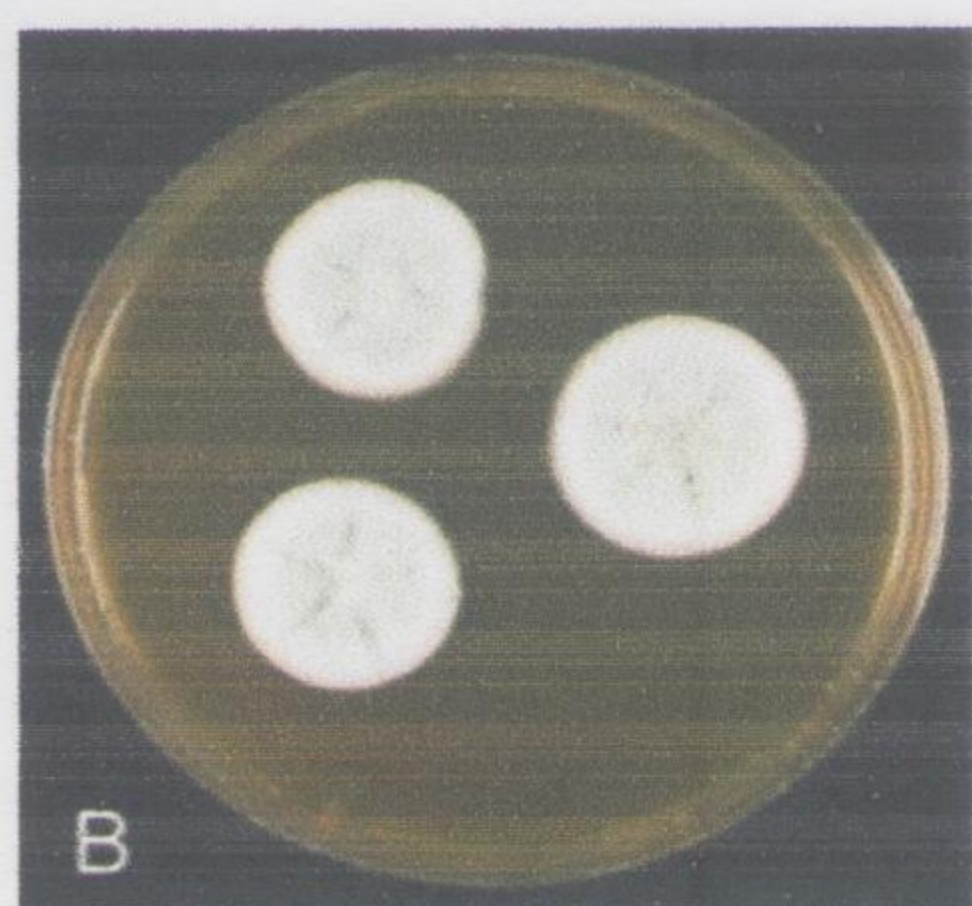


Photo 3 : Milieu MEA

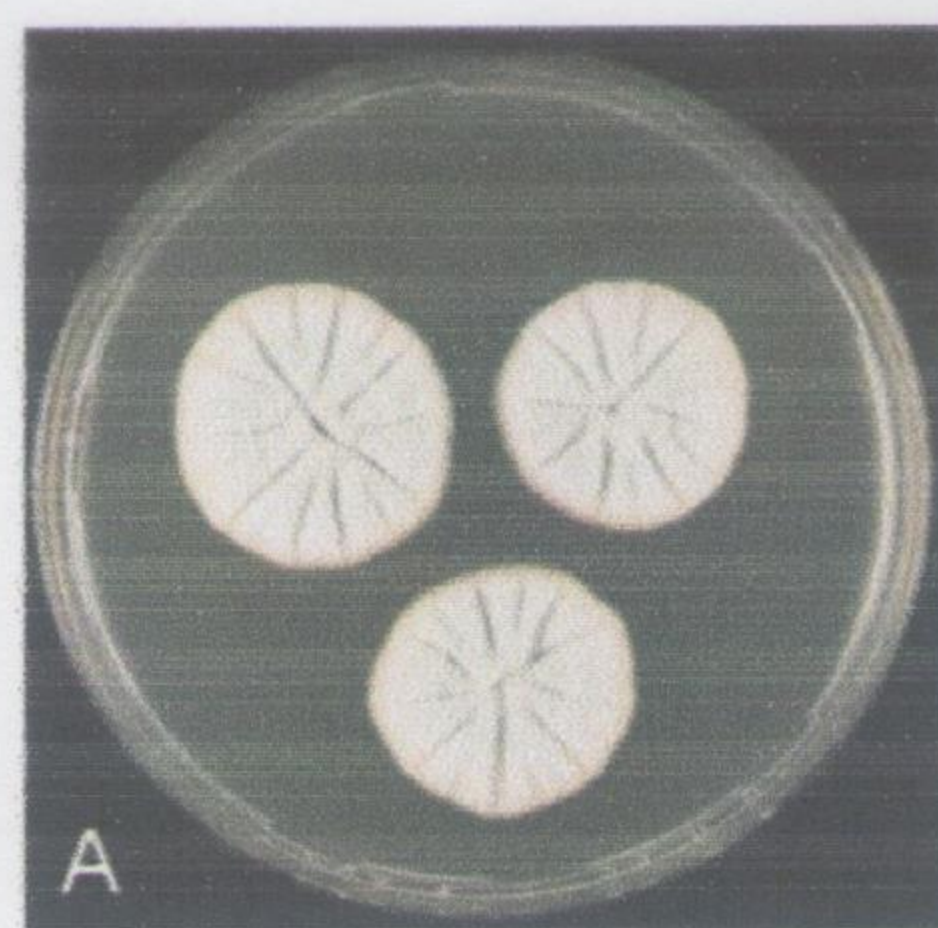


Photo 4 : Milieu CYA

Photos 3,4 : *P. nalgiovense* après 7 jours de croissance (Frisvad et Robert 2004).

Sur milieu CYA : Le mycélium mesure généralement de 28 à 35 mm de diamètre après 7 jours de croissance. Il est plissé radialement, dense et velouté à un peu floconneux (photo 4). La conidiogénèse va légère à intense, de couleur blanche à vert pâle. L'exsudat est clair. Le revers est pâle ou blond (Pitt et Hocking 2009).

Sur milieu G25N : Le mycélium est de 14-22 mm de diamètre. Il est lisse, dense à floconneux. +La conidiogénèse est modérée à intense blanc à vert foncé, comme sur le milieu CYA, l'exsudat et le pigment soluble sont absents. Le revers est pâle, jaune ou brun doré (Pitt et Hocking 2009).

P. nalgiovense capable de synthétiser plusieurs métabolites tels que la chrysogine, la benzamide, la nalgiovensine, la nalgiolaxine (Hobracken et al.2012) et les pénicillines G et F (Pitt et Hocking 2009).

I.2.3. *Penicillium griseofulvum* (synonymes : *P. patulum*, *P. urticae*, *P. flexuosum*, *P. maltum*)

P. griseofulvum a un thalle à croissance très lente. Les pénicilles sont asymétriques, souvent complexes et irréguliers, comportant 3-5 ramifications fortement divergentes. Les conidiophores sont isolés ou lâchement fasciculés, sinueux et lisses mesurant 400-600 x 3-4 µm. Les métules sont en verticilles de 2-3, elles sont souvent renflées au sommet avec 7-10 x 3,5-4 µm de dimension. Les phialides sont en verticilles de 6 à 9 par métule, très courtes mesurant 4,5-6 x 2-2,5 µm. Les conidies sont elliptiques à sub-globuleuses avec 2,5-3,5 x 2,2-2,5 µm de dimension, elle sont lisses et disposées en chaînettes divergentes (Botton et al. 1990 ; Frisvad et Robert 2004).

Sur le milieu MEA : Le mycélium est de 15 à 25 mm de diamètre après 7 jours. Il a une texture lisse, rarement plissée radialement, granulaire et de couleur blanche. La conidiogénèse est modérée à intense, de couleur vert-grisâtre au marges et gris-verdâtre au centre (photo 5). Le revers est pâle à brun (Pitt et Hocking 2009).

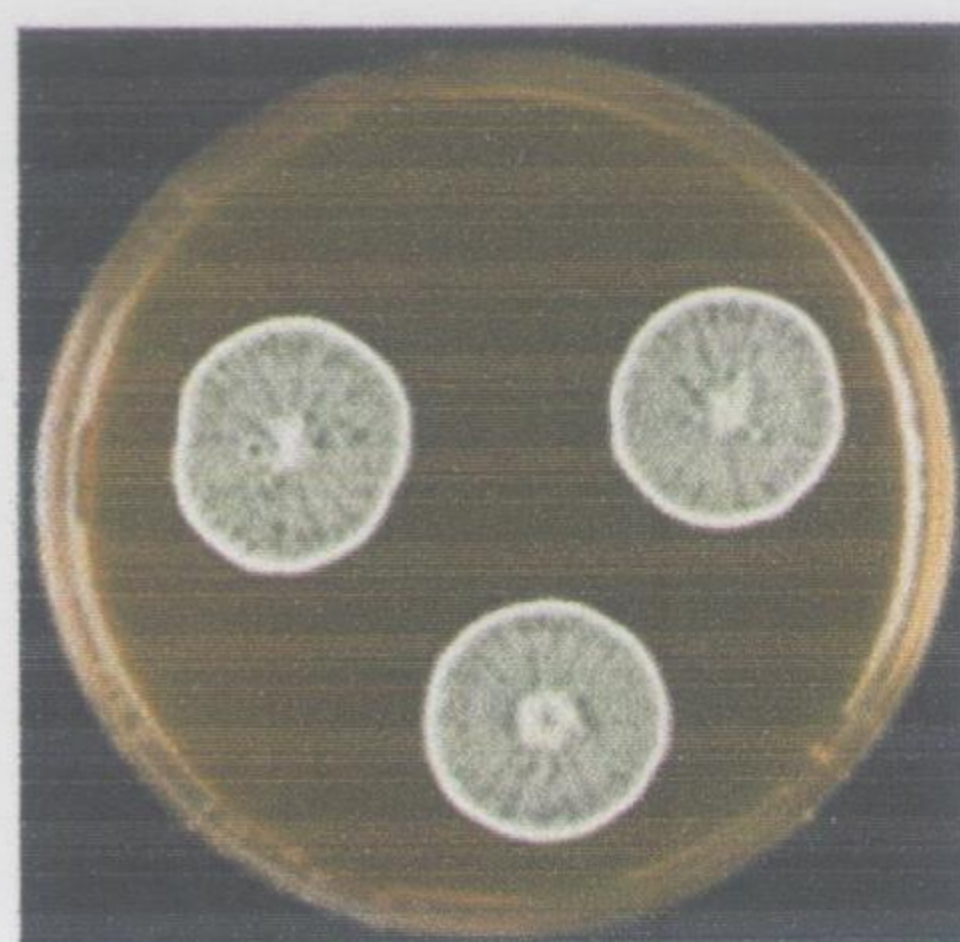


Photo 5 : Milieu MEA



Photo 6 : Milieu CYA

Photos 5,6 : *P. griseofulvum* après 7 jours de croissance (Frisvad et Robert 2004).

Sur milieu CYA : Le diamètre du mycélium est de 20 à 25 mm après 7 jours de culture, par fois 30 mm, blanc, modérément profond, dense, avec un aspect granuleux, vert grisâtre au marges et gris-verdâtre au centre. L'exsudat est clair à jaune pâle. Les pigments solubles sont parfois présents de couleur brune-rouge (photo 6). Le revers est pâle, jaune ou brun (Botton et *al.*1990 ; Cardoso et *al.* 2007).

Sur le milieu G25N : Le mycélium est de 16 à 22 mm de diamètre après 7 jours. Il a une texture lisse et veloutée au magé et souvent floconneuse au centre. Le reverse est pâle (Pitt et Hocking 2009).

P. griseofulvum produit principalement la griséofulvine, aussi elle est capable de produire la pénicilline G (Frisvad et Robert 2004 ; Laich et *al.* 2002 ; Pitt et Hocking 2009). Elle produit la patuline, la roquefortine C et F, l'acide cyclopiazonique, la cyclopiamine, la cyclopiamide, l'acide fulvique. (Frisvad et Robert 2004 ; Pitt et Hocking 2009) et la β -xylanase (Berrin et *al.* 2007).

1.2.4. *Penicillium roquefortii* (synonyme : *P. glaucum*)

P. roquefortii a un thalle à croissance très rapide. Il n'a aucune odeur. Les pénicilles sont triverticillés et asymétriques. Les conidiophores sont de 100 à 200 x 4 à 6,6 μ m de dimensions, fortement granuleux, avec souvent une seule ramification granuleuse, mesurant de 15 à 40 x 3 à 4 μ m. Les métules sont regroupées par 4 à 7 et mesurent 10-5 x 3-4, 5 μ m, les phialides par 5 à 8, elles sont ampulliformes et mesurent 8-12 x 3-3,5 μ m. Les conidies sont globuleuses, verdâtres, lisses et relativement grosses de 4 à 6 μ m de diamètre. Les sclérotés sont parfois présents dans les vieilles cultures de couleur blanche et sont de 50 à 100 μ m de diamètre (Botton et *al.*1990).

Sur milieu MEA : Le mycélium a une croissance très rapide de 40 à 70 mm de diamètre après 7 jours de culture. Il a une texture lisse ou légèrement plissée radialement, plate et strictement veloutée. La conidiogénèse est modérée à intense, turquoise-grisâtre aux marges, principalement vert foncée et parfois brune olive au centre (photo 7). Le revers est brun, vert ou vert-bleu profond presque noir (Botton et *al.*1990 ; Houbraken et *al.* 2010 ; Pitt et Hocking 2009).

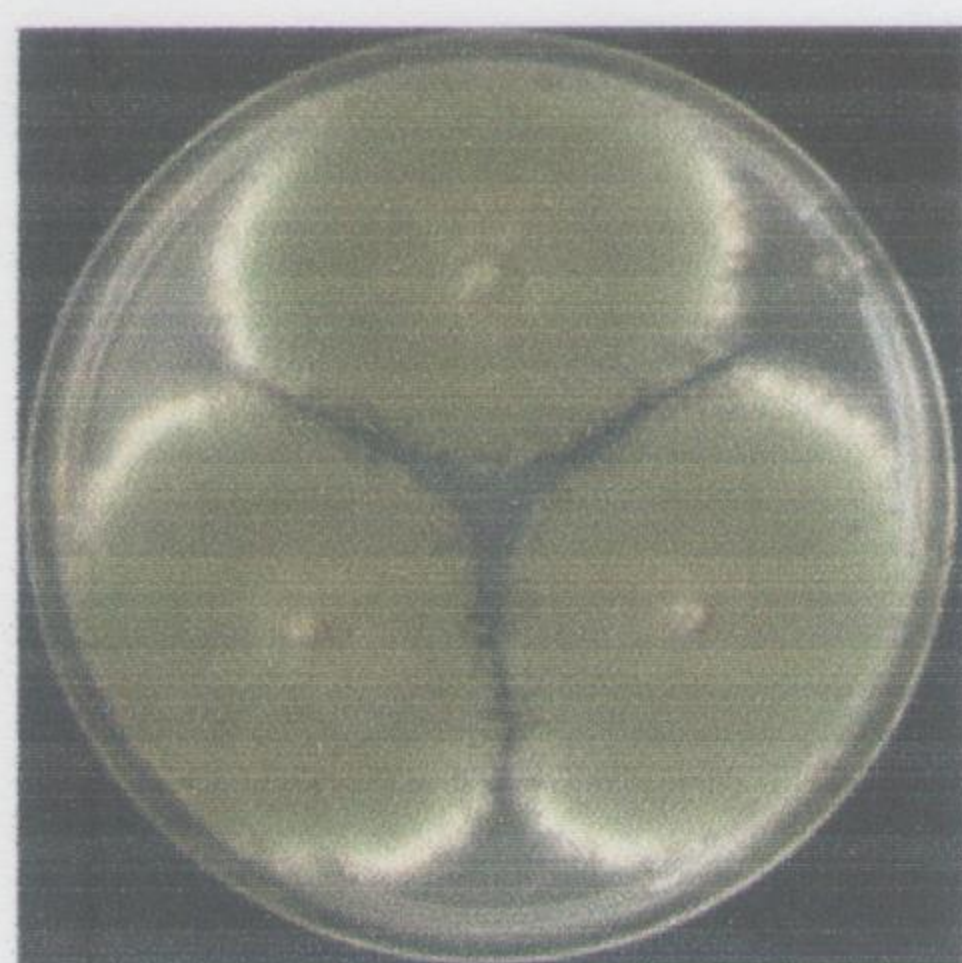


Photo 7 : Milieu MEA

Photo 7 : *P. roquefortii* après 7 jours de croissance (site 3).

Sur milieu CYA : Le mycélium a une croissance très rapide, de 40 à 70 mm de diamètre après 7 jours de culture (photo 7). Il a exactement les mêmes caractéristiques que sur le milieu MEA (Pitt et Hocking 2009).

Sur milieu G25N : Le mycélium est de 20 à 22 mm de diamètre mais parfois atteint jusqu'à 28 mm après 7 jours de croissance. Il a une texture lisse ou légèrement plissée radialement, pâle, turquoise grisâtre aux marges. Il est principalement vert foncé et parfois brun olive au centre (Pitt et Hocking 2009).

P. roquefortii est capable de produire la pénicilline (avec une faible concentration) et d'autres métabolites comme les roquefortines A, B, C et D, l'acide mycophénolique, l'acide pénicillique et aussi de la patuline (Botton et al. 1990 ; Houbraken et al. 2010).

1.2.5. *Penicillium sclerotiorum* (synonyme: *P. multicolor*, *P. adametzioides*)

Les sclérotés sont habituellement présents dans les isolats frais. Ils ont une texture lisse, sphérique ou irrégulière, de couleur pâle et sont de 200 à 400 μm de longueur. Les verticilles sont de 100 à 300 μm de longueur, minces, avec une paroi lisse à finement granulée. Les pénicilles sont strictement monoverticillés, de 4 à 6 μm de diamètre. Les phialides sont nombreuses et ampulliformes de 7 à 9 μm de longueur. Les conidies sont ellipsoïdes, de 2.5 à 3.0 μm de longueur, avec une paroi lisse à finement granulée, portées en longues colonnes bien définies ou irrégulières (Pitt et Hocking 2009 ; Rivera et Seifert 2011).

Sur milieu CYA : Le mycélium est de 30 à 40 mm de diamètre après 7 jours de culture. Il est plissé, plat, dense, de couleur blanche aux marges et jaune à orange brillant au voisin de centre. La conidiogénèse est légère, de couleur gris-turquoise ou vert-gris. L'exsudat peut être limité ou abondant, de couleur pâle, jaune ou rouge-orange (photo 8), Les pigments solubles sont présents, de couleur jaune ou brun. Le revers est jaune-orange, orange à couleur de café ou rouge-orange (Pitt et Hocking 2009).

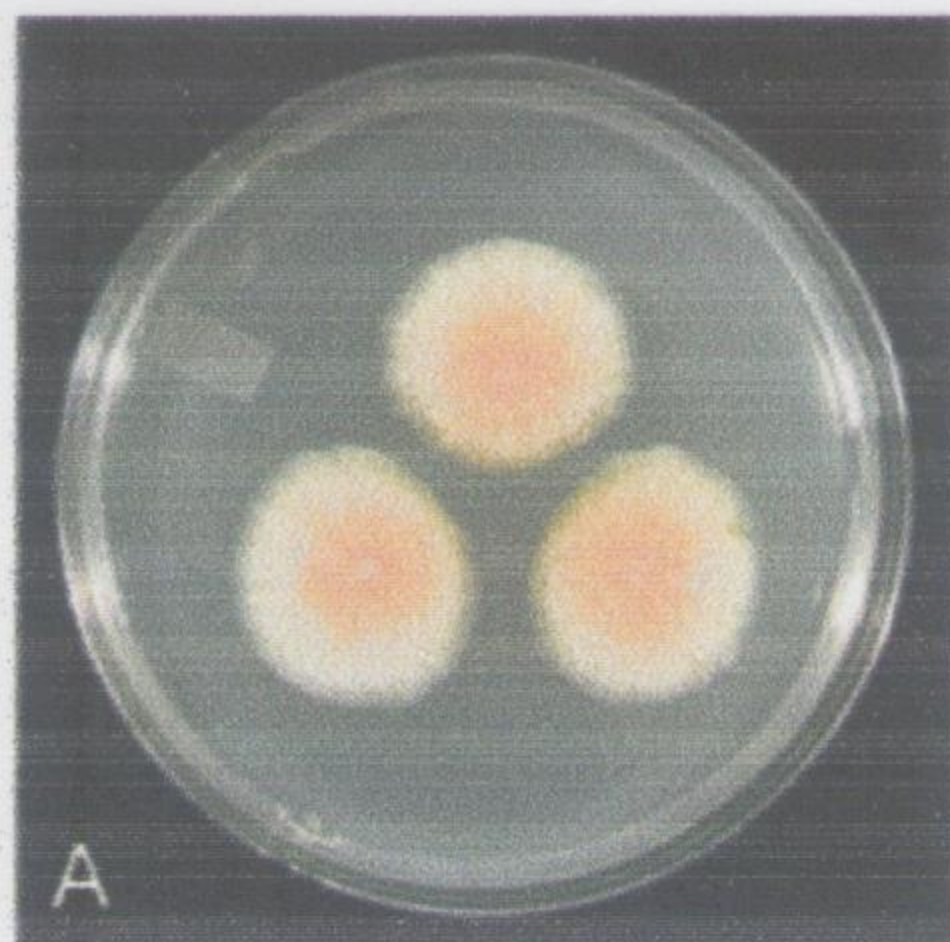


Photo 8 : *P. sclerotiorum* après 7 jours de croissance sur milieu CYA (Rivera et Seifert 2011).

Sur milieu MEA et G25N : Le mycélium est de 13 à 18 mm de diamètre après 7 jours de croissance. Il a exactement les mêmes caractéristiques que sur le milieu CYA (Pitt et Hocking 2009).

P. sclerotiorum est une espèce très utilisée pour la production des molécules industrielles comme la sclérotiorine (Lucas et al. 2007) et les enzymes telle que la xylanase (Knob et Eleonora 2008).

I.2.6. *Penicillium persicinum*

P. persicinuma un thalle à croissance parfois lente. Les pénicilles sont larges, triverticillés et asymétriques. Les conidiophores sont isolés ou faiblement fasciculés, lisses et mesurant de 200 à 400 x 3 à 4,5µm. Les métules sont au nombre de 2 à 4 par verticille, avec des dimensions de 12 à 20 x 3,5 à 5µm. Les phialides sont cylindriques regroupées par 3 à 8 et mesurent 8 à 15 x 2,5 à 3µm. Les conidies sont d'abord cylindriques puis elliptiques, lisses, avec des dimensions de 3 à 5 x 2,5 à 3,5µm (Botton et al. 1990).

Sur milieu MEA : Le mycélium est de 22 à 26 mm de diamètre après 7 jours de croissance. Il est plat, surélevé au centre et velouté. La conidiogénèse est abondante de couleur verte (photo 9). L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le revers est incolore à crème (Wang et al.2004).

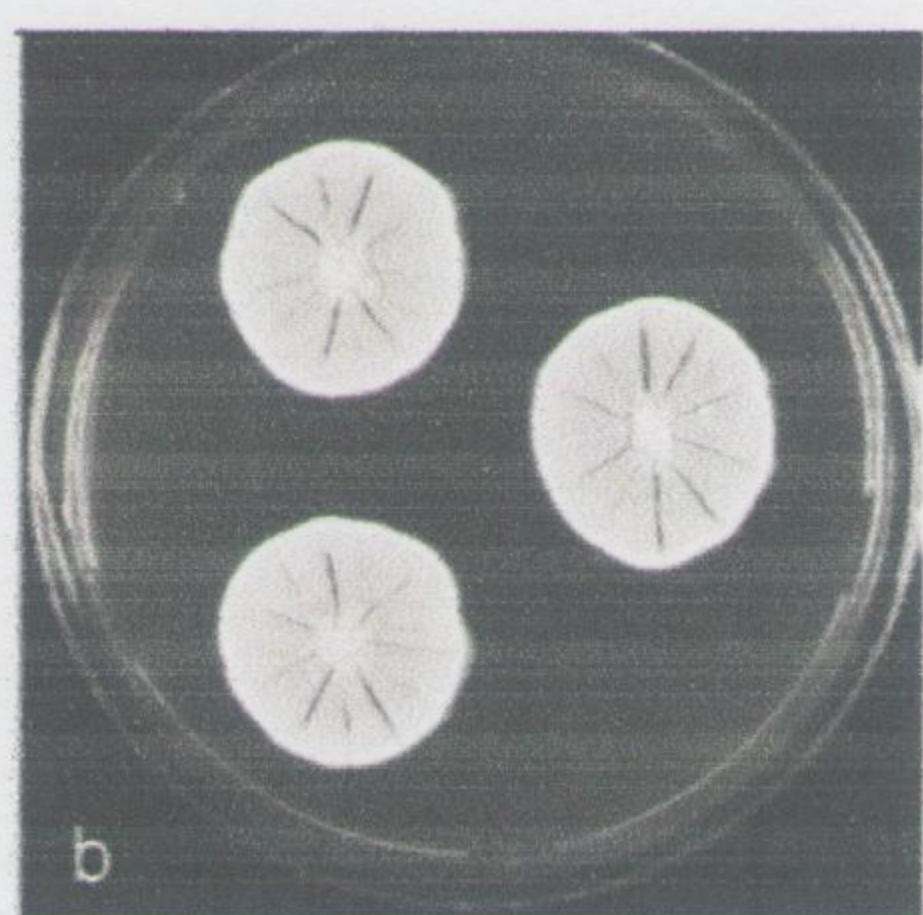


Photo 9 : Milieu MEA

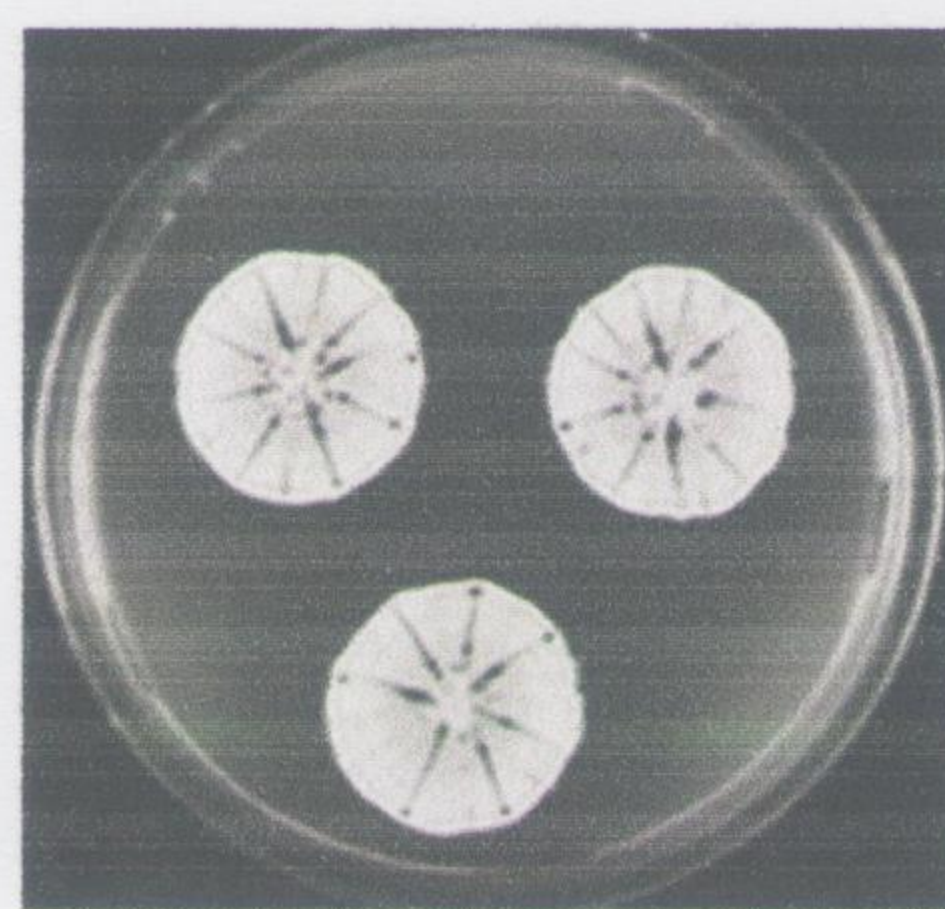


Photo 10 : Milieu CYA

Photo 9,10 : *P. persicinum* après 7 jours de croissance (Wang et al.2004).

Sur milieu CYA : Le mycélium est de 22 à 30 mm de diamètre après 7 jours de croissance. Il est velouté, radial, avec des zones annulaires et un centre légèrement surélevé (photo 10). La conidiogénèse est légère à modérée et de couleur verte. Le mycélium est blanc avec une teinte de rouge-rosâtre dans des zones centrales. Pas ou peu d'exsudat. Les pigments solubles sont produits. Le revers est près du vieux rose (Wang et al. 2004).

Sur milieu G25N : Le mycélium est de 22 à 25 mm de diamètres après 7 jours de croissance. Il est légèrement radial, avec des zones annulaires, légèrement surélevé au centre et velouté. La conidiogénèse est légère à modérée, de couleur verte. Le mycélium est blanc aux marges, de couleur rosâtre pâle à cannelle au centre. L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le revers n'a aucune couleur (Wang et al. 2004).

P. persicinim produit des métabolites secondaires intéressants tels que : l'andrastine A et B, la chrysogine, la griséofulvine, la dechlorogriseofulvine, la lichexanthone et les roquefortines C et D (Houbraken et al.2012 ; Wang et al.2004).

I.2.7. *Penicillium corylophilum* (synonyme : *P. barcinonense*, *P. chloroleucon*, *P. obscurum*, *P. citreovirens* *P. corylophiloides* *P. coeruleoviride*, *P. citreovirens*)

P. corylophilum un thalle à croissance le plus souvent rapide. Les pénicilles sont biverticillés et asymétriques. Les conidiophores sont lisses avec des dimensions de 100 à 250 x 2 à 3 µm. Ils sont terminés par 2 à 5 métules souvent inégales et mesurent 12 à 25 X 2 à 3 µm. Les phialides au nombre de 6 à 10 par métule, elles sont ampulliformes mesurant de 7 à 12 x 2 à 3 µm. Les conidies sont globuleuses et lisses avec 2.5 à 3 µm de diamètre (Botton et al.1990).

Sur milieu MEA : Le mycélium est de 30 à 45 mm de diamètre après 7 jours de culture. Il est plat, relativement clairsemé et strictement velouté. Le mycélium est de couleur blanche ou chamois. La conidiogénèse est modérée, de couleur vert foncé (photo 11). Quelque fois l'exsudat clair est présent. Le revers est pâle aux marges, mais généralement de couleur vert sombre au centre (Botton et al. 1990 ; Pitt et Hocking 2009).



Photo 11 : Milieu MEA

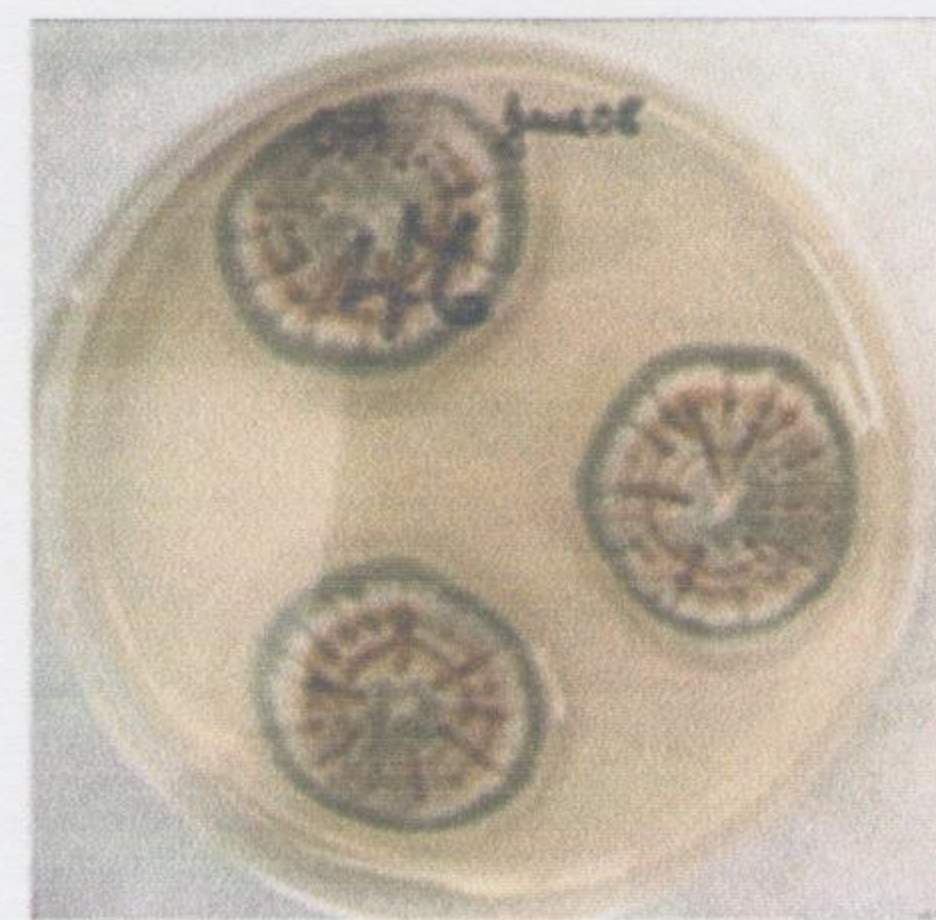


Photo 12 : Milieu CYA

Photos 11,12 : *P. corylophilum* après 7 jours de croissance (site 4).

Sur milieu CYA : *P. corylophilum* a un mycélium de 25 à 35 mm de diamètre après 7 jours de culture. Il est plat à extrêmement plissé radialement, modérément dense et strictement velouté. Le mycélium est blanc ou rarement chamois. La conidiogénèse est intense à modérée, de couleur vert foncé (photo 12). Parfois un exsudat clair est présent. Le revers est pâle, brunâtre ou parfois gris foncé au centre (Pitt et Hocking 2009).

Sur milieu G25N : Le mycélium est de 10 à 16 mm de diamètre après 7 jours de croissance. Il est plat, froissé au centre et dense. Le mycélium est blanc, il est de même couleur que sur le milieu CYA. Le revers est pâle (Pitt et Hocking 2009).

Parmi les métabolites secondaires produits par *P. corylophilum*, nous avons des métabolites d'activité antimicrobienne comme la pénicilline et la fumiquinazoline F, la lectine contre des levures comme *Saccharomyces cerevisiae* et des bactéries comme *Bacillus cereus* et aussi la sérine peptidase, la xylanase etc (Singh et al. 2013 ; Medeiros et al. 2007).

Chapitre II : Les principaux antibiotiques produits par le genre *Penicillium*

II.1. Les principaux antibiotiques produits par le genre *Penicillium*

Les antibiotiques sont des substances chimiques d'origine biologique (Dedet2007) soit naturelles, semi-synthétiques ou synthétiques employés pour le traitement des maladies (des agents chimiothérapeutiques). Leur usage interne est possible parce qu'ils ont une toxicité sélective. Ils sont capables de tuer les microorganismes sensibles ou d'inhiber leur croissance : on parle respectivement d'antibiotiques bactéricides ou bactériostatiques. Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le mécanisme d'action et le spectre d'action (Gaudy et Bruxeraud 2005 ; Prescott et al. 2010).

II.1.1. Les pénicillines

Elles sont produites par des champignons du genre *Penicillium*. Principalement *P. chrysogenum*, *P. nalgiovense*, *P. griseofulvum*, *P. corylophyllum*, *P. roquefortii* (Laich et al. 2002 ; Wiemann et al. 2014).

Les pénicillines appartiennent à la famille des β -lactames qui se caractérisent par un élément structural commun : l'azétidin-2-one ou noyau β -lactame. L'association de ce noyau avec un noyau thiazolidine forme l'acide 6-amino-pénicillinique, structure de base des pénicillines (bicycle). De plus, ces molécules possèdent une chaîne latérale qui confère à chaque pénicilline sa spécificité physique et bactériologique (figure 2) (Gaudy et Bruxeraud 2005 ; Stora 2010).

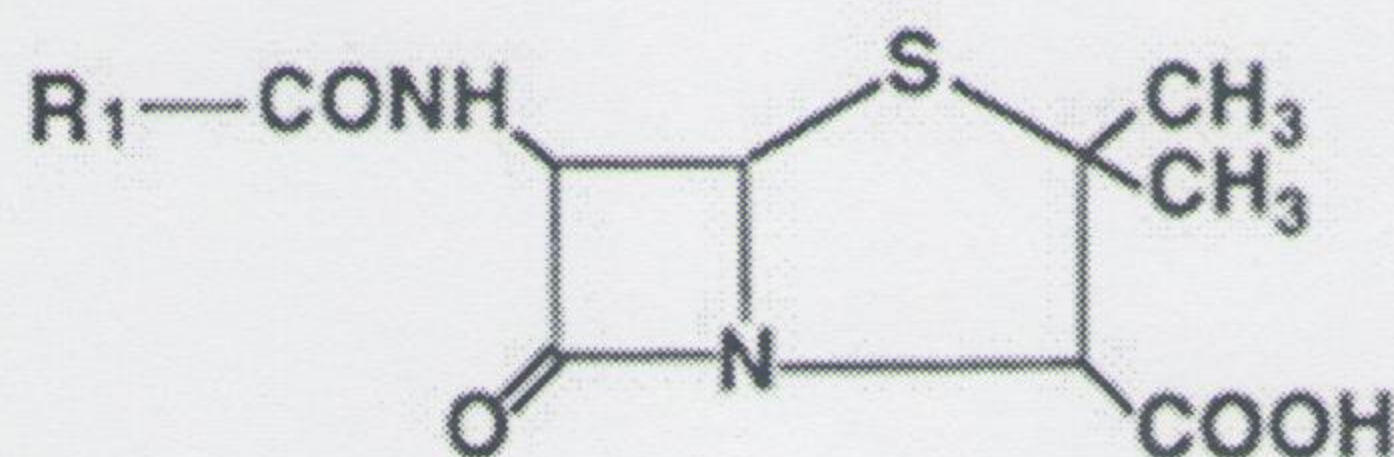


Figure 2 : Structure chimique des pénicillines (site 5).

Les pénicillines ont une activité bactéricide et des propriétés bactériostatiques annexes. Elles agissent au niveau de la paroi bactérienne en bloquant sa constitution (Stora 2010).

Les β -lactamines se lient de manière covalente aux protéines de liaison des pénicillines (PLP) qui sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, rendant ainsi inactives ces enzymes, ce qui aboutit à l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne. Les PLP qui sont insérées au niveau de la face externe de la membrane cytoplasmique, vont reconnaître le cycle bêta lactame du fait de son analogie structurale avec leur substrat naturel et vont s'y lier. Ceci entraînera la destruction progressive de la paroi cellulaire et aboutira à la mort de la bactérie (Prescott et al. 2010).

Les pénicillines produites par le genre *Penicillium* sont :

a) La pénicilline G

La pénicilline G (ou la benzyl pénicilline) est un antibiotique naturel, elle est produite par *P. chrysogenum* et *P. griseofilvum*, caractérisé par la chaîne latérale benzyle fixée au groupe aminé en position 6 (figure 3). C'est la première pénicilline découverte, elle est sensible aux pénicillinases, β -lactamases et à la dégradation en milieu acide (Gaudy et Bruxeraud 2005 ; Prescott et al. 2010).

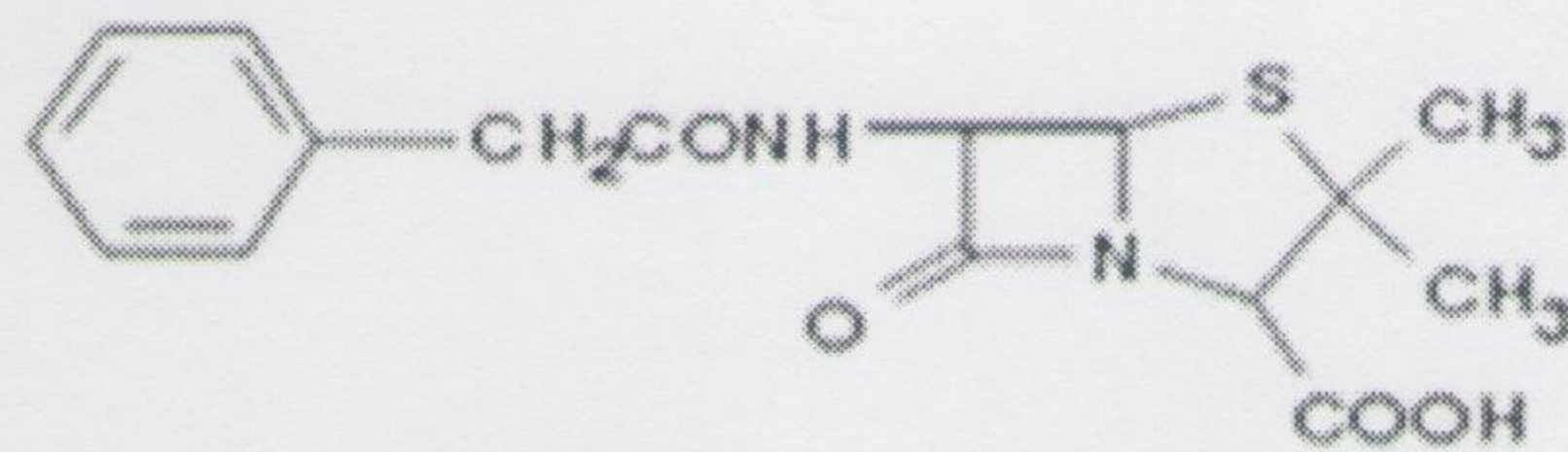


Figure3: Structure chimique de la pénicilline G (Prescott et al. 2010).

La pénicilline G a un spectre d'activité étroit, elle est très active contre la plupart des bactéries à Gram positif tels que les Streptocoques, les Staphylocoques, les Pneumocoques et sur les anaérobies, peu contre les bactéries à Gram négatif : les Gonocoques et les Méningocoques (Gaudy et Bruxeraud 2005 ; Prescott et al. 2010).

b) La pénicilline V

La pénicilline V ou la pénicilline est similaire à la pénicilline G en termes d'activité et est aussi sensible aux pénicillinases ; mais elle résiste à l'hydrolyse acide et différente par la chaîne latérale phénoxy-méthyle fixée au groupe aminé en position 6 (figure 4). Cette molécule est produite par *P. chrysogenum* (Gaudy et Bruxeraud 2005 ; Prescott et al. 2010 ; Zaharia et al. 2005).

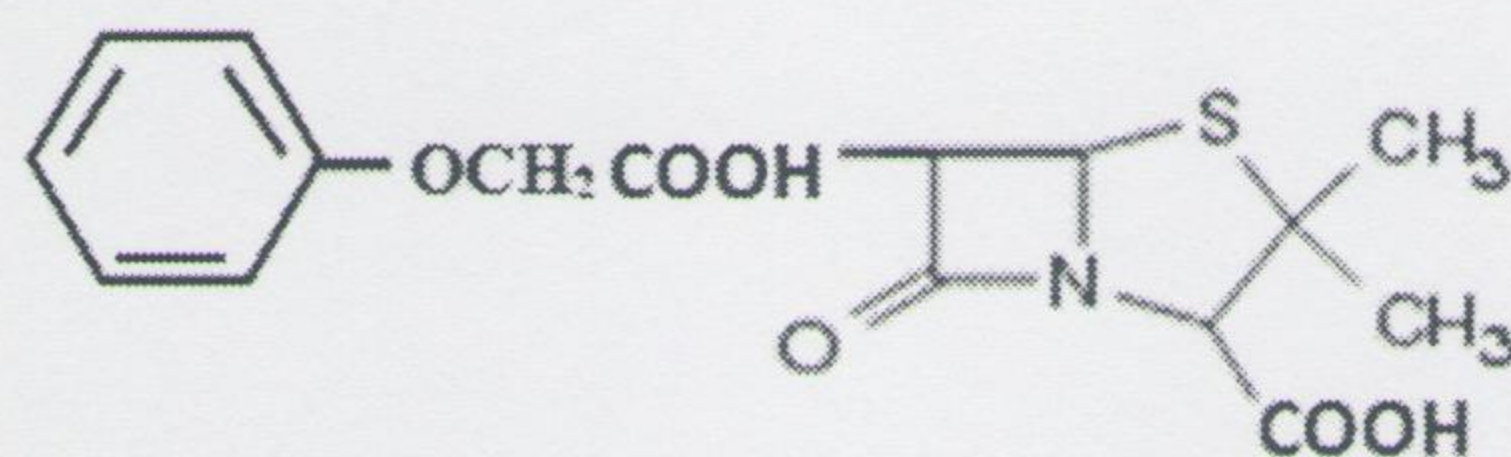


Figure4 : Structure chimique de la pénicilline V (Cavallo et al. 2004).



II.1.2. Griséofulvine

La griséofulvine est un antibiotique aromatique à activité antifongique (Madigan et Martinko 2007) (figure 5). Elle est synthétisée par *P. griseofulvum* et ainsi que par d'autres espèces du genre *Penicillium* (*P. persicinum*) (Houbraken et al. 2012).

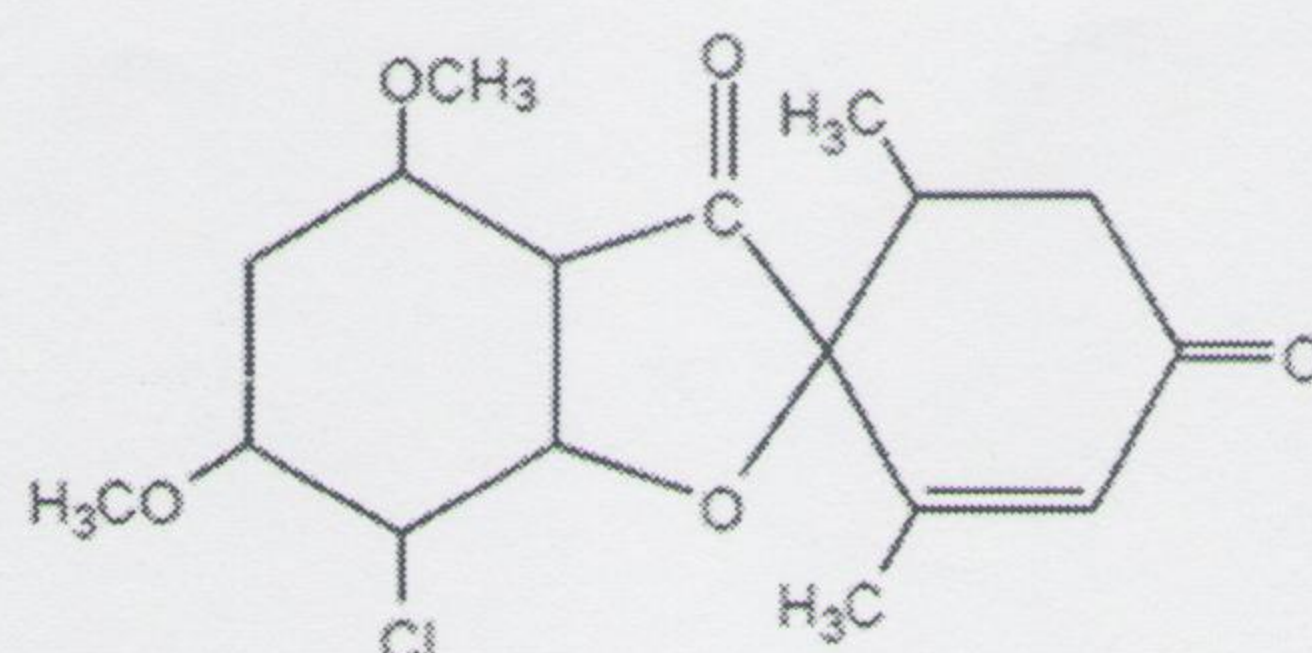


Figure 5 : Structure chimique de la griséofulvine (Bambeke 2008).

La griséofulvine est utilisée pour le traitement des teignes et des dermatomycoses. Elle semble perturber le fuseau mitotique (interaction avec les microtubules) et inhiber la division cellulaire des cellules fongiques, elle peut également inhiber la synthèse des protéines et des acides nucléiques. La griséofulvine a un effet fongistatique contre les dermatophytes (teignes inflammatoires) tels que : les *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Microsporum* (Freiman et Sasseville 2006 ; Prescott et al. 2010).

II.1.3. Fumagilline

La fumagilline, un sesquiterpène cyclohexanique hautement fonctionnalisé (figure 6), est un antibiotique antiparasitaire produit par *P. jenseni* (Botton et al. 1990). Cette molécule s'est montrée efficace dans le traitement des microsporidioses intestinales (Michelon et al. 2006 ; Picoul et al. 2003).

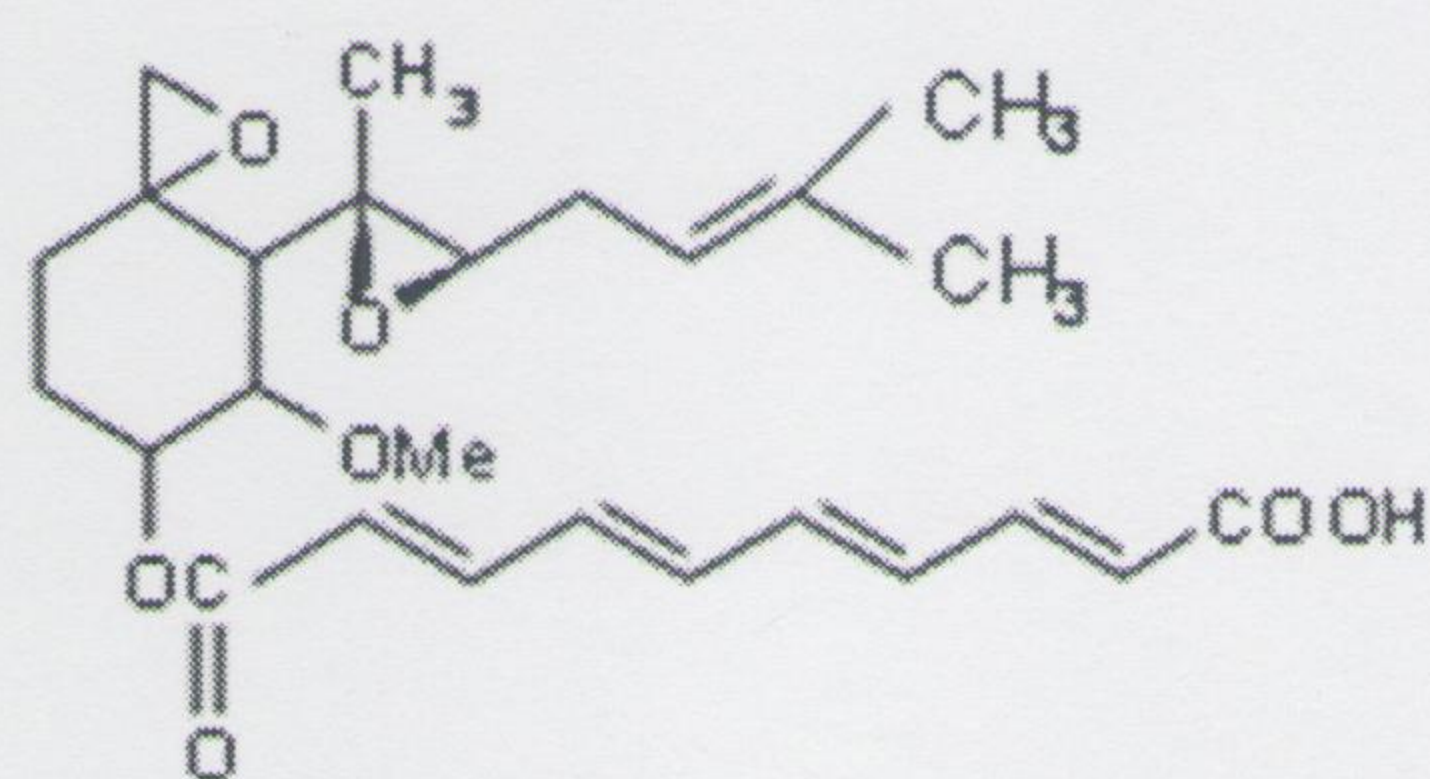


Figure 6 : Structure chimique de la fumagilline (site 6).

Le mécanisme par lequel la fumagilline exerce son activité antiparasitaire est l'inhibition de la réplication microsporidiale. Néanmoins, le processus exact n'est pas encore clairement établi. La cytochimie suggère que la fumagilline inhibe la synthèse de l'ARN chez le parasite (Grayson et al. 2010).

La fumagilline a des effets inhibiteurs puissants *in vitro* vis-à-vis d'un certain nombre d'espèces de microsporidies. Elle est utilisée dans la prise en charge de diarrhées sévères dues à une microsporidiose intestinale à *Enterocytozoon bieneusi* chez des patients immunodéprimés (Grayson et al. 2010).

II.1.4. Sclérotiorine

La sclérotiorine est une substance antibactérienne active qui appartient à la classe des azaphélones. Elle est produite par *P. sclerotiorum* (Lucas et al. 2007). Elle est le résultat de liaison de neuf molécules de l'acétate et trois molécules de formate. La structure de cet antibiotique est présentée dans la figure 7 (Lucas et al. 2010).

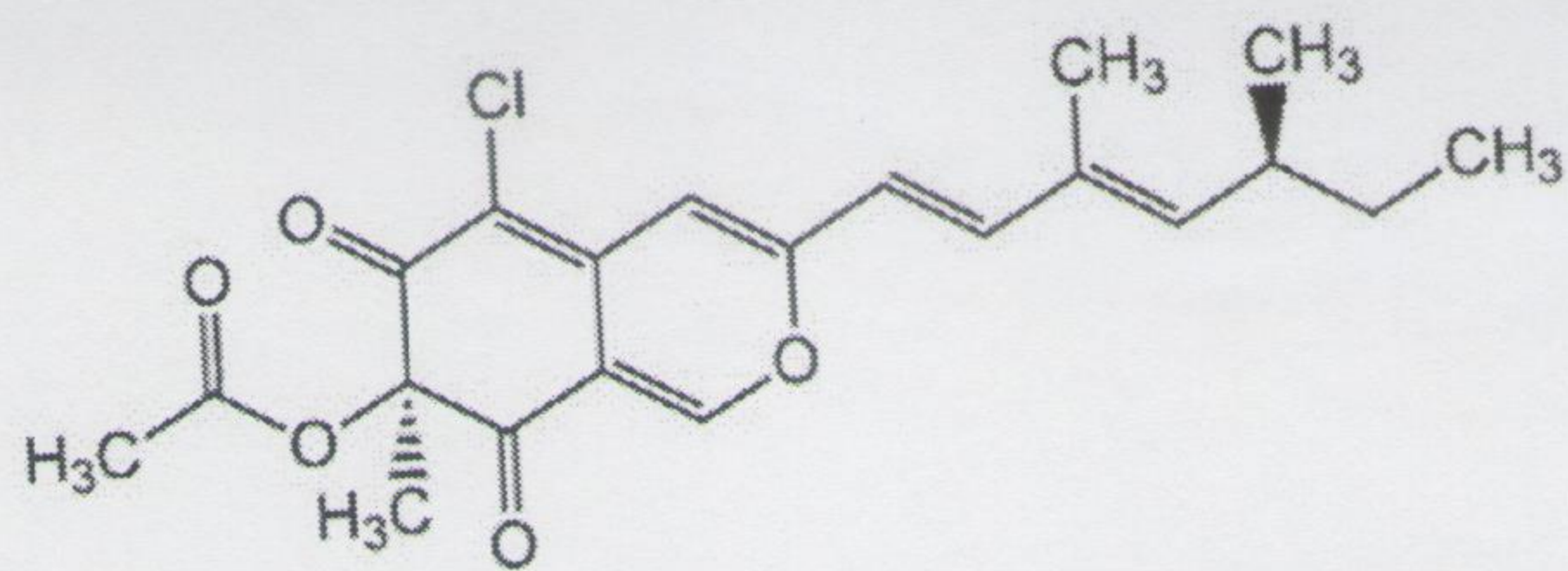


Figure 7 : Structure chimique de la sclérotiorine (Lucas et al.2010).

La sclerotiorine a une activité antibactérienne contre plusieurs microorganismes dont *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* (Lucas et al.2007), *Streptomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* (Lucas et al.2010).

II.1.5. Fumiquinazoline F

La fumiquinazoline F est une des fumiquinazolines qui sont des antitumoraux. Elle appartient à la classe des alcaloïdes fongique polycyclique. Elle est aussi dotée d'une activité contre certaines bactéries Gram-positif. Cette molécule est supposée être le résultat de la liaison entre le tryptophane, l'alanine et l'acide anthranilique. La structure exacte de la molécule est présentée dans la figure 8 (Brian et al. 2010). La fumiquinazoline F est synthétisée par *P. corylophilum* (Silva et al. 2004).

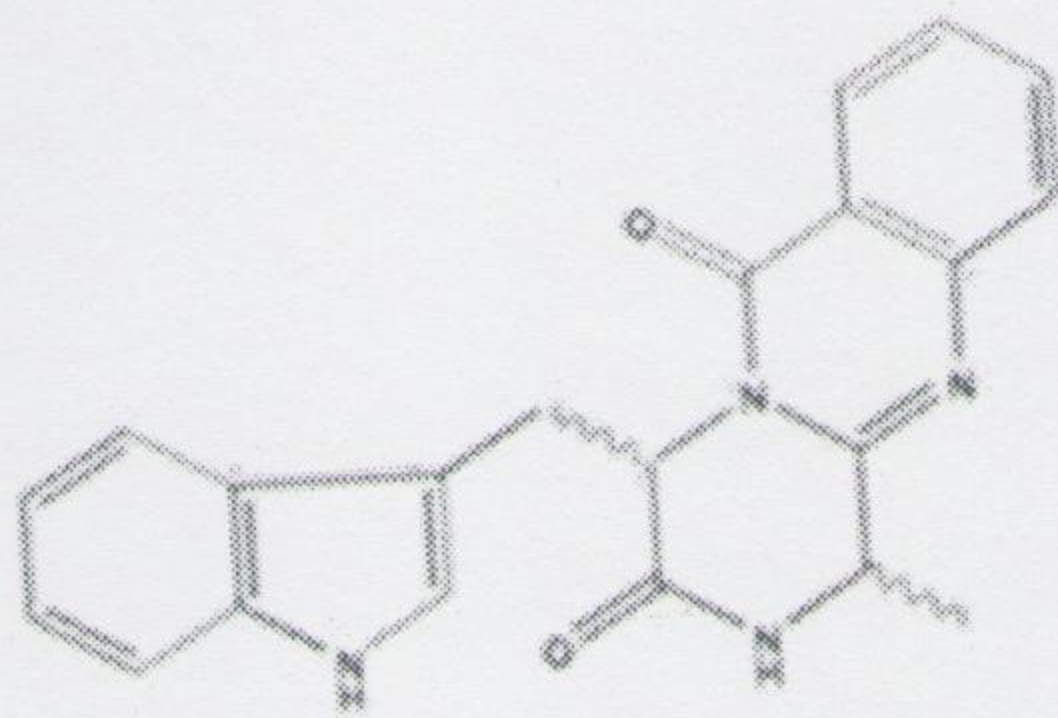


Figure 8 : Structure chimique de la fumiquinazoline F (Silva et al. 2004).

La fumiquinazoline F est active contre les bactéries à Gram positif, principalement contre *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus*. Mais l'activité de cette molécule est inférieure à celle de la pénicilline G et n'a pas une activité contre les bactéries Gram négatif (Silva et al. 2004).

II.2. Les conditions de production des antibiotiques par les moisissures

Les métabolites secondaires microbiens sont des composés produits principalement par les mycètes, habituellement en retard dans le cycle de croissance (idiophase). Leurs voies métaboliques ont toutes pour origine des molécules produites pendant la phase de croissance (précurseurs) tels que : les acides aminés, l'acétyl-CoA... (Barrios et al. 2003 ; Madigan et Martinko 2007). Ces composés sont habituellement produits par fermentation submergée. Leur production commence quand la croissance est limitée par l'épuisement d'une source nutritive principale (Barrios et al. 2003).

II.2.1. Les milieux et les conditions de production des antibiotiques

a) Les milieux de culture

Les milieux doivent permettre de fournir sans limitation les précurseurs nécessaires aux synthèses des antibiotiques tout en évitant ces phénomènes de répression et ou d'inhibition. Les oses, les polyholosides, les acides gras, les triglycérides et les protides fournissent les sources de carbone et d'énergie. Lors de la phase de croissance initiale, il est possible d'ajouter des sources d'énergie rapidement catabolisables. Mais il faudra veiller à ce que ce substrat soit totalement utilisé avant la phase de production pour éviter les phénomènes de répression catabolique de production. Pendant cette phase, les cellules utilisent des sources d'énergie et de carbone lentement catabolisables (dextrine ou amidon pour la production de Macrolides) (Leveau et Boux 1993).

b) Les conditions de culture

pH : Le pH joue un rôle primordial dans la production des métabolites secondaires. De faibles variations de pH peuvent avoir des effets marqués sur la productivité de la souche. Les pH ~~généralement utilisés sont neutres ou légèrement acides~~ (Zaharia et al. 2005).

La température : Si la température permettant une croissance des microorganismes est de l'ordre de 25°C, celle permettant une synthèse d'antibiotiques n'est que de 5 à 10°C (Dayalan et al. 2011)

L'aération : Toutes les productions des antibiotiques se déroulent dans les conditions aérobies. Les optima de concentration en oxygène ne sont pas nécessairement les mêmes pour la croissance et pour la synthèse des métabolites secondaires. Exemple : la production de céphalosporine augmente alors que celle de la pénicilline N diminue si la concentration en oxygène est élevée (Harris et al. 2007).

II.2.2. Extraction et purification

A l'issue de la fermentation, l'antibiotique est présent dans un mélange polyphasique complexe comprenant les cellules, les éléments du milieu et de nombreux métabolites. Les principales méthodes d'extraction sont la séparation liquide-solide qui permet d'extraire l'antibiotique des fractions liquides et solides. Et l'extraction primaire qui permet d'obtenir une forme ionique de l'antibiotique. La purification quant à elle représente une étape importante du coût de production. Pour cette raison, le degré de pureté recherché dépend de l'application. La séparation est basée principalement sur des techniques chromatographiques, notamment la chromatographie d'adsorption et échangeuse d'ion (Madigan et Martinko 2007).

II.2.3. Exemple : La production de pénicilline par *P. chrysogenum*

La pénicilline est produite par *P. chrysogenum* dans des fermenteurs de 40000 à 200000 litres et peut être poursuivie pendant plusieurs jours (Madigan et Martinko 2007).

Le milieu de production des pénicillines contient généralement une source organique de nitrogène, des glucides fermentaires (saccharose, fructose ou glucose, lactose), carbonate de calcium comme un tampon et autres sels inorganiques selon ses besoins (Harris et al. 2007; Sørensen et al. 2013). L'oxygène est également ajouté à un volume ne dépassant pas 40% de saturation qui correspond à un taux volumétrique de 0.4 à 0.8 mmol/min. Le pH et la température des bouillants de culture sont généralement entre 5-7 et 23 à 28°C respectivement (Harris et al. 2007).

La purification de la pénicilline commence par la filtration du bouillon. Dans la première phase, les déchets solides et cellules microbiennes sont séparés par filtration. Le bouillon aqueux riche en pénicilline est alors traité avec le charbon actif pour enlever les colorants et les impuretés. La récupération de la pénicilline est faite par l'extraction liquide-liquide (extraction par solvants) : La pénicilline est extraite à partir d'une phase aqueuse dans l'acétate butylique dissolvant. La récupération du soluté est alors effectuée par l'évaporation de l'échantillon extrait (Dayalan et al. 2011).

Matériel et méthodes

I. Matériel

Instrument et appareils utilisés

- Bec bunsen
- Boîtes de Pétri
- Pipettes Pasteur
- Tubes à essai stériles
- Anse de platine
- Lames
- Lamelle
- Bain-marie
- Four Pasteur
- Etuve
- Microscope optique
- Écouvillons

Milieus utilisés

- Gélose Sabouraud
- Bouillon nutritif
- Gélose à l'extrait de Malt
- Gélose nutritive

Colorant utilisé

- Fuschine

Microorganismes

Les moisissures du genre *Penicillium* sont isolées à partir de plusieurs aliments. Elles sont ensuite purifiées et identifiées.

Les suspensions bactériennes proviennent de l'université de Jijel et de l'hôpital de Jijel. Avant l'utilisation, elles sont repiquées sur le bouillon nutritif et incubées à 37°C pendant 24 H.

II. Méthodes

II.1. Isolement des moisissures

Objectif

Prélever et isoler des espèces du genre *Penicillium* à partir de différents aliments (photo 13).



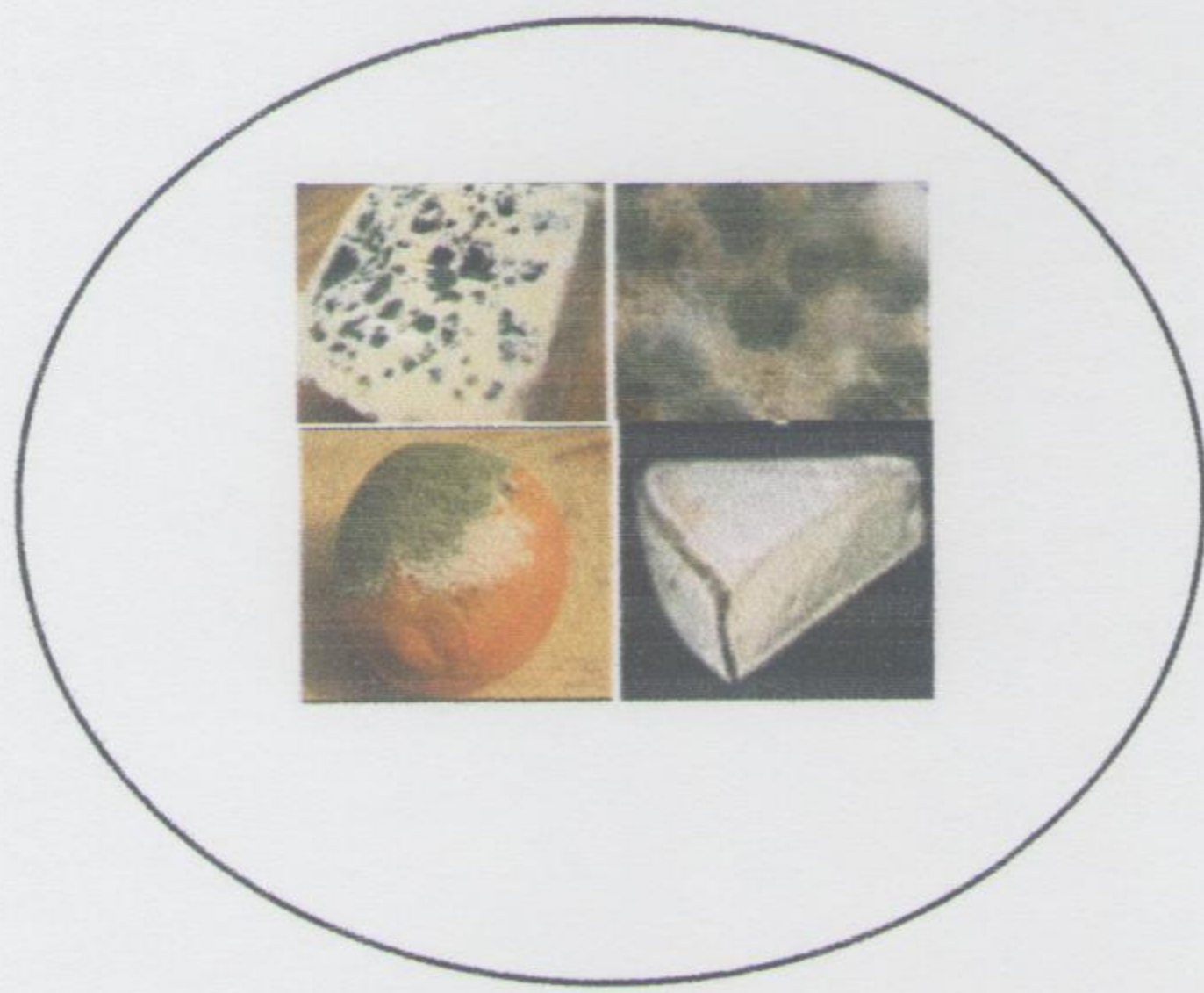
Photos 13 : Origine de différents prélèvements de *Penicillium*.

Application

Le prélèvement des moisissures se fait à partir de l'écorce des oranges portant à la surface un mycélium vert et un autre bleu-vert, d'un morceau du pain portant à la surface un mycélium vert, du feutrage blanc du camembert et des crevasses vert-gris du roquefort.

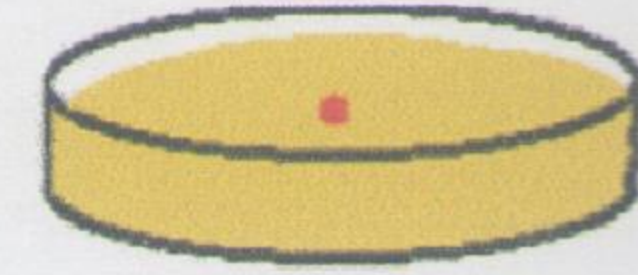
L'ensemencement se fait par touche à l'aide d'une anse de platine sur la gélose Sabouraud ou gélose à l'extrait de Malt coulée en boîte de Pétri (cinq dépôts par boîte). L'incubation se fait ensuite à 25°C pendant 3 jours pour l'isolement et 7 jours pour l'identification.

Les moisissures sont ensuite repiquées sur le même milieu jusqu'à l'obtention d'une culture pure (figure 9).



Echantillons

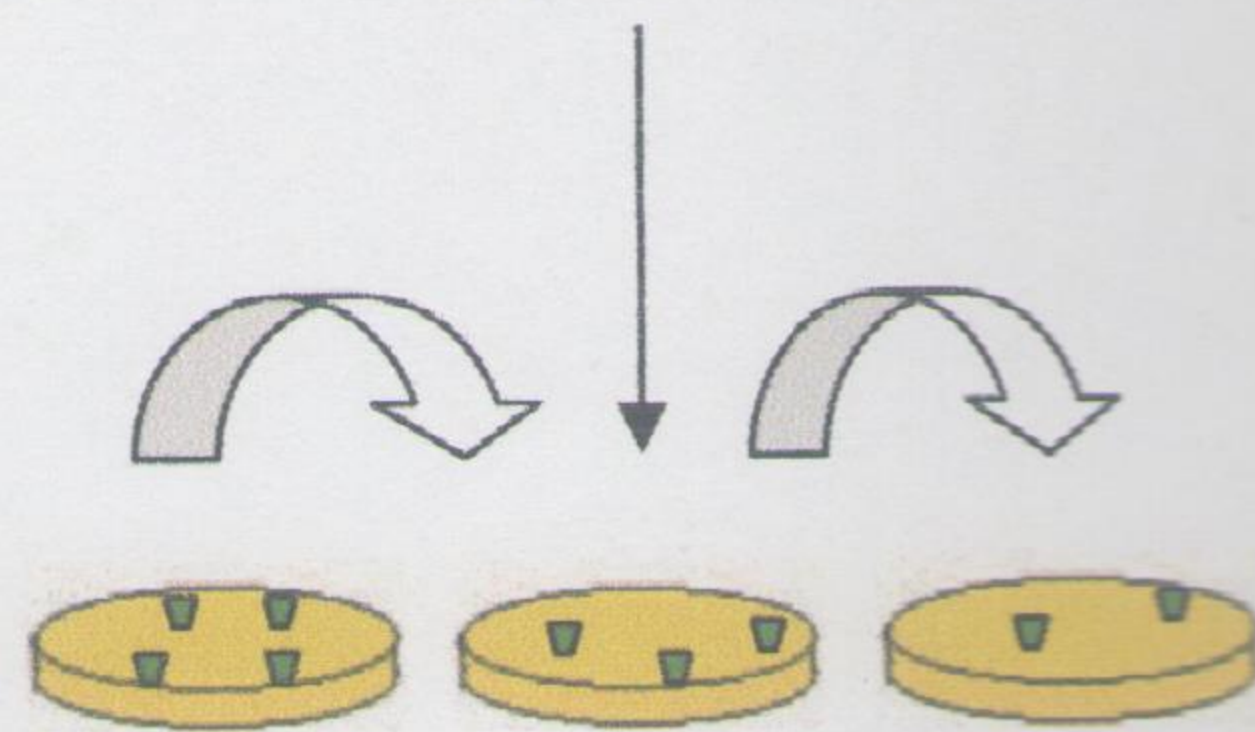
Prélèvement sur gélose Sabouraud ou à l'extrait de Malt



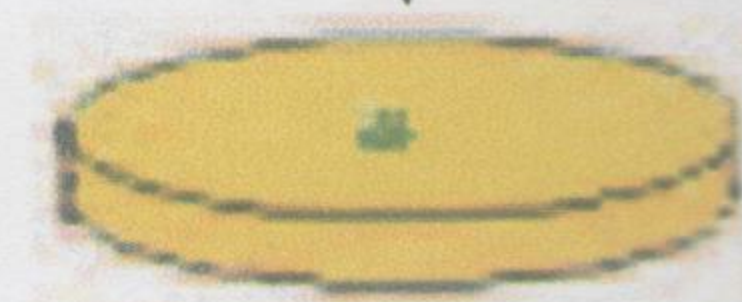
Incubation 25°C/
72H



Croissance des
mycéliums



Isolement par repiquages
successifs (purification)



Suivi de la croissance de
l'espèce (7jours)

Figure 9 : Protocole d'isolement et de purification des moisissures.

II.2. Identification des moisissures

Objectif

L'objectif est de déterminer à quelle espèce appartient chacun des mycéliums prélevés auparavant.

Principe

L'identification de *Penicillium* basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques de ce champignon. Nous réalisons des observations macroscopiques et microscopiques pour connaître l'identité de l'espèce.

Application

Une goutte d'eau physiologique stérile est déposée sur une lame puis étalée, ensuite la moisissure est prélevée à partir de la boîte de Pétri, soit à l'aide d'un ruban adhésif, soit à l'aide d'une anse de platine. Le mycélium est ensuite déposé avec le ruban ou en appliquant une lamelle après son dépôt par l'anse de platine.

L'observation microscopique se fait au grossissement $\times 10$ puis $\times 40$ (figure 10). En cas de mycélium hyalin et difficile à caractériser une goutte de fuschine est ajoutée à l'eau physiologique avant le prélèvement de la moisissure (Diguta2010).

L'identification des espèces fongiques se fait par la caractérisation morphologique : d'une part par l'observation macroscopique du mycélium sur la boîte de Pétri ; et d'autre part, par l'observation microscopique des structures caractéristiques de l'espèce (Diguta2010).

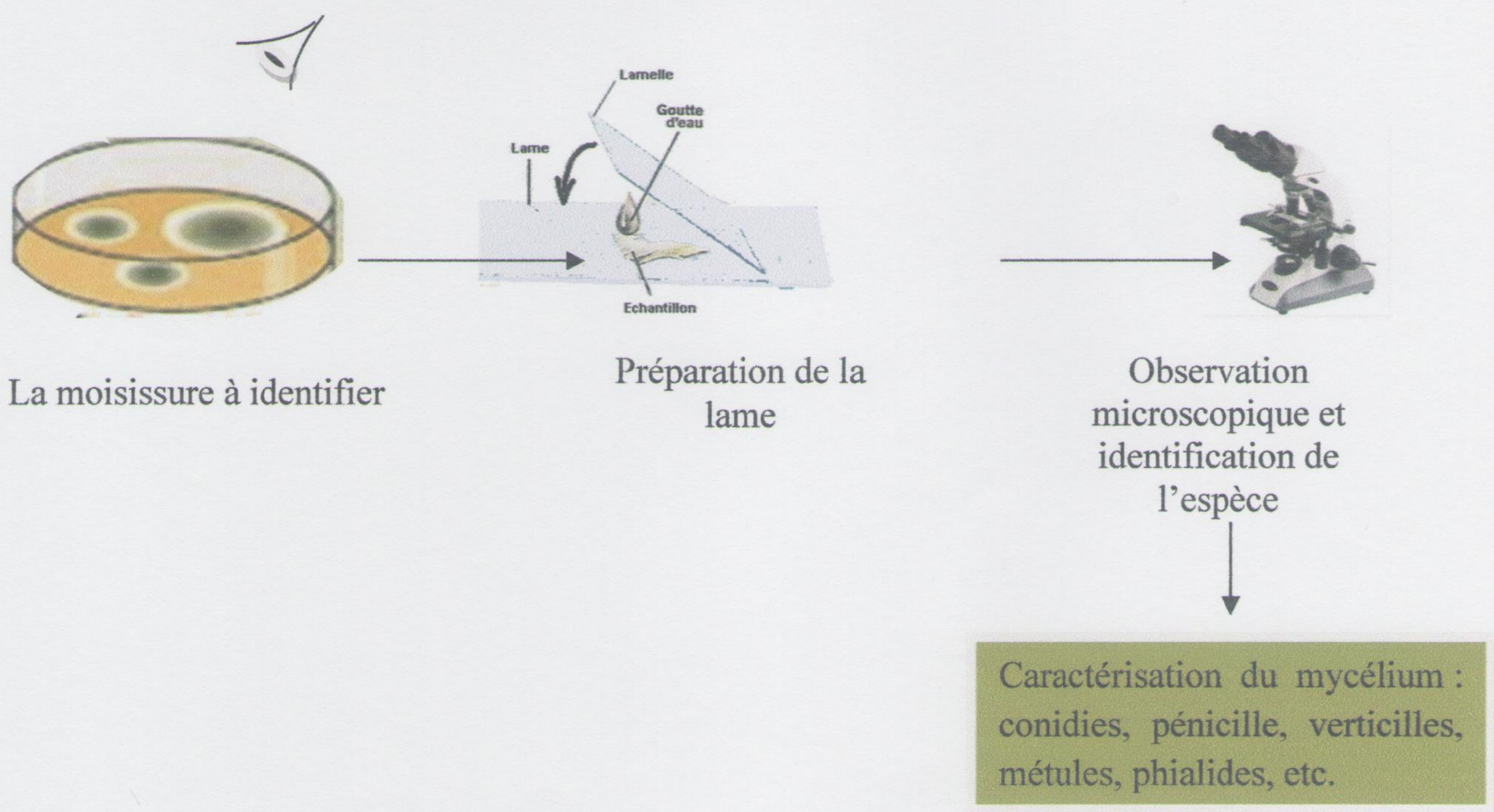


Figure 10 : Protocole d'identification des moisissures.

II.2.1. Observation macroscopique du mycélium

L'observation du mycélium sur la boîte de Pétri se fait après 7 jours d'incubation. Les caractéristiques recherchées sont : la couleur du mycélium, la texture, la présence ou l'absence des sillons radiaux, la vitesse de croissance, l'aspect du contour, la couleur de la marge, la production de pigments solubles et d'exsudat, puis l'aspect au verso de la boîte de Pétri (Botton et *al.* 1990 ; Diguta 2010).

II.2.2. Observation microscopique du mycélium

Les principales structures recherchées pour l'identification des espèces du genre *Penicillium* sont :

- **Le pénicille** : déterminer la couleur, l'aspect et surtout préciser s'il est monoverticillé, biverticillé, triverticillé ou quadriverticillé.
- **Les métules** : déterminer la forme, l'ornementation, la paroi (simple ou double) et le nombre par verticille.
- **Les phialides** : déterminer la forme, l'ornementation, la paroi (simple ou double) et le nombre par métule.
- **Les conidies** : déterminer la forme, la disposition, l'ornementation, la paroi, la couleur et la longueur des chaînettes.
- **Le mycélium** : déterminer la couleur, l'ornementation, la paroi, le type (septé ou siphonné), la ramification, etc (Cardoso et *al.* 2007 ; Frisvad et Robert 2004).

II.3. Mise en évidence de la production des substances antibactériennes

Objectif

Déterminer si les espèces isolées et identifiées comme étant des *Penicillium* sont capables d'inhiber la croissance de quelques bactéries pathogènes pour l'homme.

Principe

Ensemencer par étalement les bactéries pathogènes sur la gélose nutritive, appliquer dessus des échantillons de la moisissure étudiée, puis incuber. Le principe de cette méthode est exactement le même que celui du test antibiogramme : l'apparition des zones d'inhibition témoigne de l'activité antibactérienne de la moisissure.

Application

Les suspensions bactériennes avec une concentration de 10^6 UCF/ ml sont ensemencées à l'aide d'un écouvillon sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive. Une fois, la surface de la gélose entièrement recouverte, nous utilisons le bout large de la pipette Pasteur afin de prélever des disques du mycélium de la moisissure considérée. Ces disques sont formés en appuyant la pipette Pasteur de manière verticale sur la surface de la gélose Sabouraud ou de l'extrait de Malt. Les échantillons

obtenus ont alors le même diamètre et sont déposés sur la surface de la gélose nutritiveensemencée par les bactéries. L'incubation de fait à 25°C pendant 72 H (Sanou 1994).

Comme test positif, des disques de pénicilline sont utilisés contre toutes les espèces bactériennes.

Résultats

I. Identification des espèces du genre *Penicillium*

L'identification du mycélium se fait après 7 jours de croissance. Ce laps de temps permet l'apparition de la couleur finale du mycélium, son aspect à l'état adulte et sa vitesse de croissance.

I.1. Caractéristiques macroscopiques

Espèce1 : Cette espèce est prélevée à partir de l'orange (moisissure verte foncée).

Sur le milieu Sabouraud, le mycélium est de couleur blanche puis vert-gris après 7 jours de croissance, septé radialement, au centre surélevé et avec une bordure dentelée. Le mycélium a un aspect poudreux (photo 14). Il a une odeur aromatique. Le revers a une couleur orange (photo 15).

L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le diamètre est de 2.4 cm.

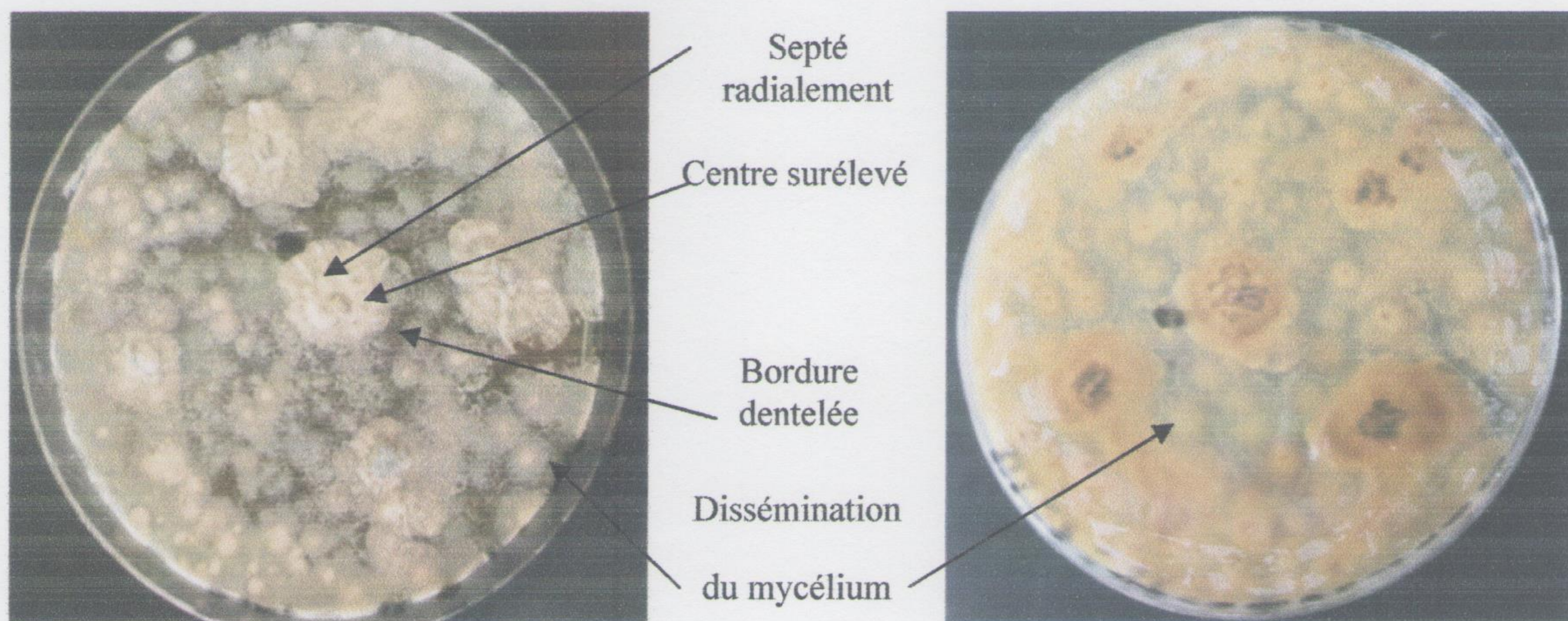


Photo 14 : Recto de la boîte

Photo 15 : Verso de la boîte

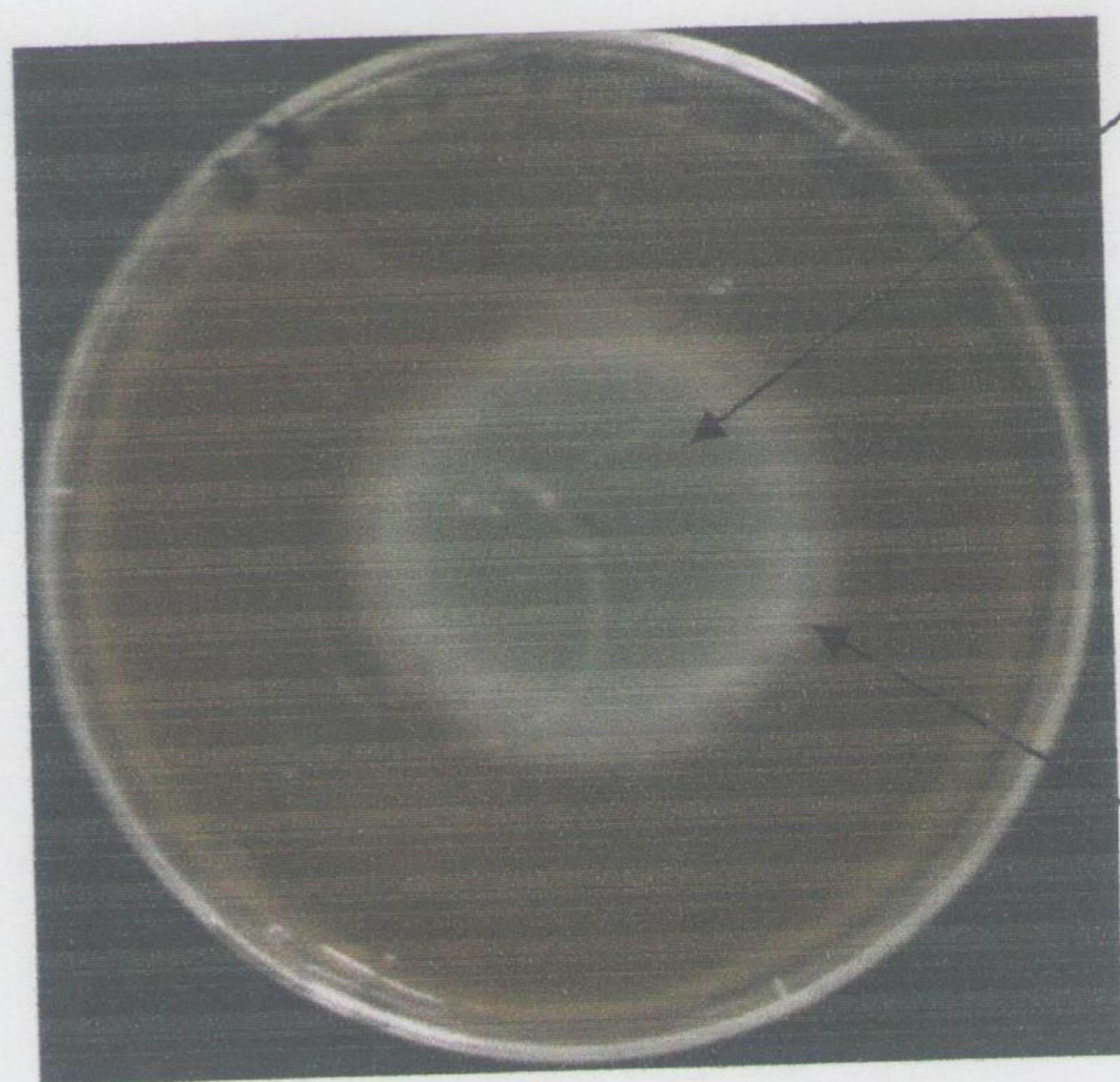
Photos 14,15 : Culture de l'espèce 1 à 7 jours de croissance sur le milieu Sabouraud

Espèce2 : Cette espèce est prélevée à partir de l'orange (moisissure vert-gris).

Sur le milieu Sabouraud, le mycélium est de couleur blanche puis devient vert-gris après 7 jours de croissance, il a un aspect plat et strictement veloutée avec une bordure diffuse, le mycélium a un aspect poudreux. Le revers est de couleur orange-jaune à orange avec un centre brun. L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le diamètre est de 2.6 à 2.8 cm.

Espèce3 : Cette espèce est prélevée à partir de roquefort (moisissure bleu-vert).

Sur le milieu MEA le mycélium a un aspect duveteux et velouté et plat. Il est de couleur blanche puis devient rapidement bleu vert, avec des marges verdâtres à blanches (photo 16). Le revers a une couleur beige à marron (photo 17). L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le diamètre du mycélium est de 3.7 cm.



Mycélium
bleu vert

Marges verdâtres à
blanches

Photo 16 : Recto de la boîte

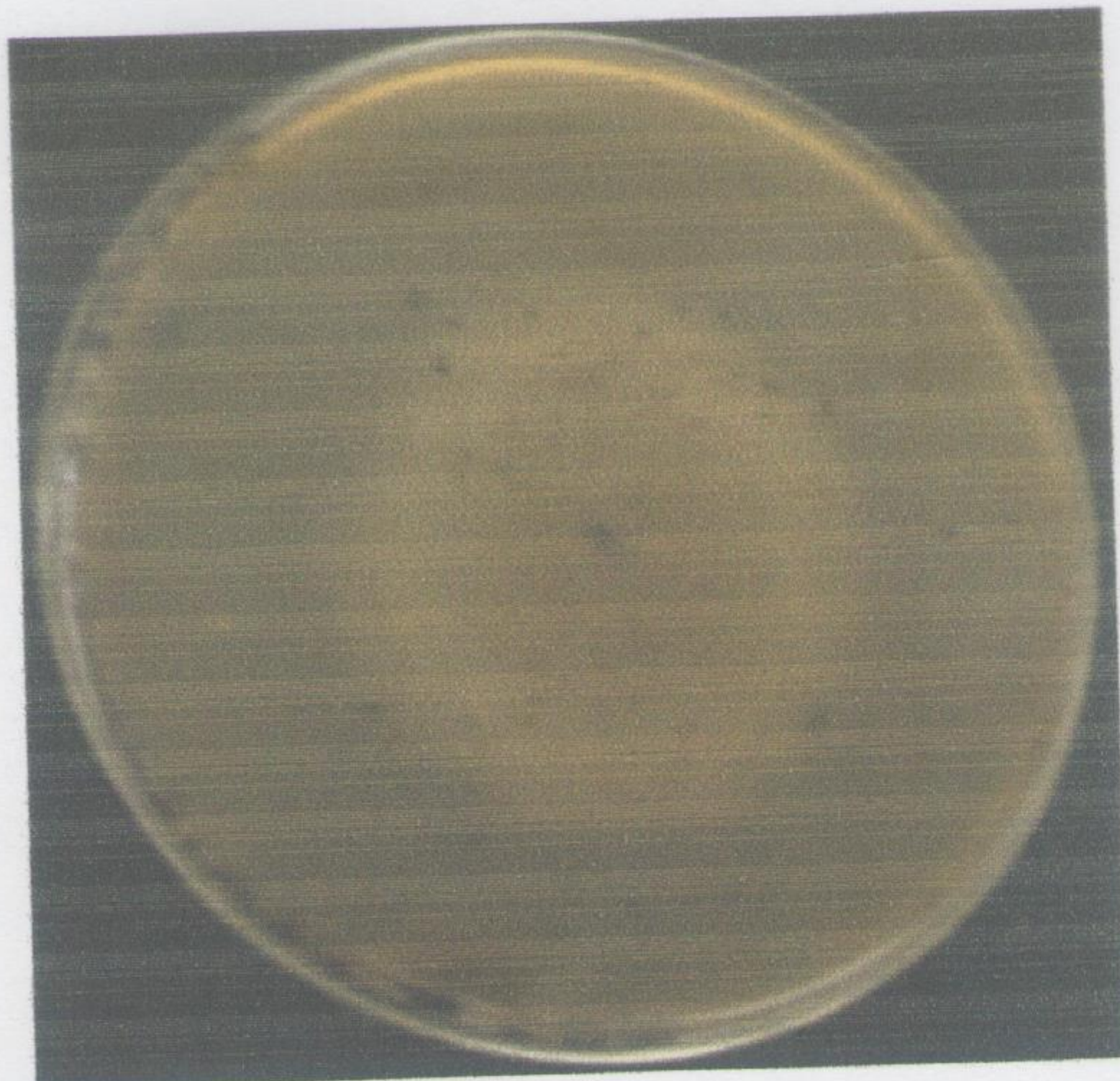
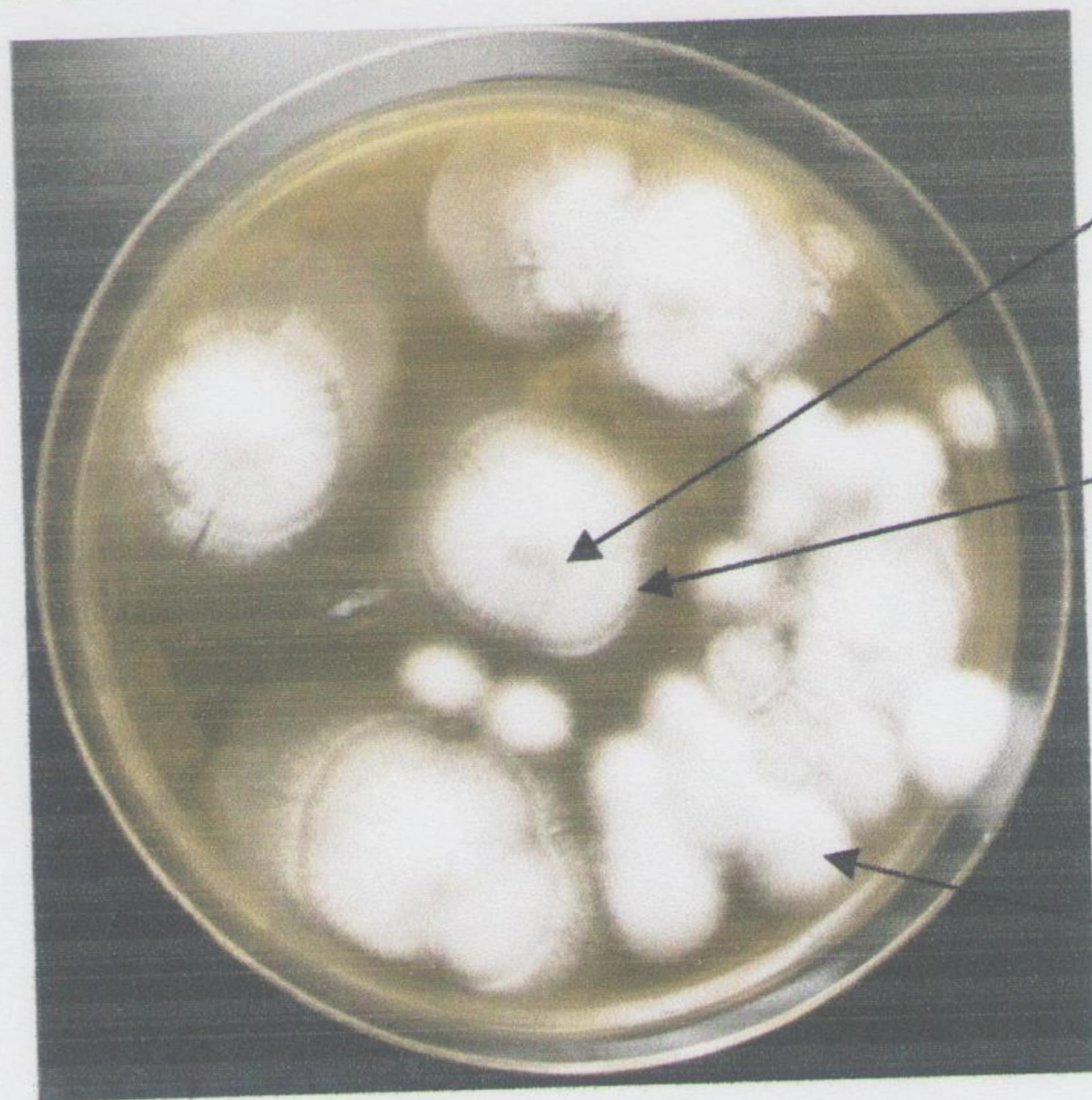


Photo 17 : Verso de la boîte

Photos 16,17 : Culture de l'espèce 3 à 7 jours de croissance sur le milieu MEA

Espèce 4 : Cette espèce est prélevée à partir du camembert (moisissure blanche).

Sur le milieu MEA le mycélium a un aspect cotonneux, au centre surélevé et avec une bordure diffuse. Il est de couleur blanche neige après 7 jours de croissance. La dissémination du mycélium est observée (photo 18). Le revers a une couleur jaune à orange (photo 19). L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le mycélium est de 2.6 à 3 cm de diamètre.



Centre
surélevé

Bordure
diffuse

Dissémination
du mycélium

Photo 18 : Recto de la boîte

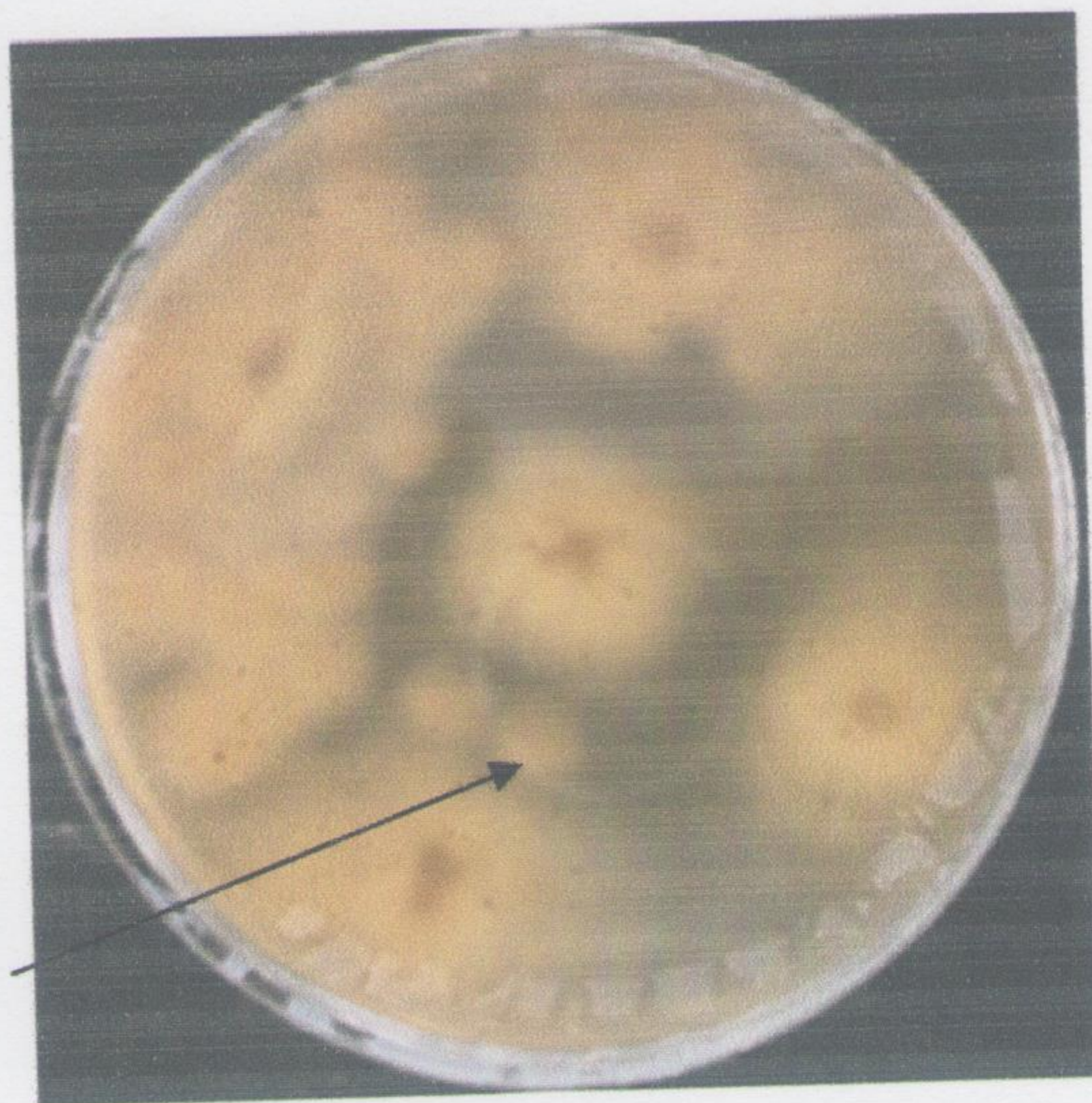


Photo 19 : Verso de la boîte

Photos 18,19 : Culture de l'espèce 4 à 7 jours de croissance sur le milieu MEA

Espèce 5 : Cette espèce est prélevée à partir d'un morceau de pain (moisissure verte).

Sur le milieu Sabouraud le mycélium a un aspect velouté, dense, de couleur blanche puis devient verte, avec des marges blanches de 3 mm de diamètre. Le revers est incolore. L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le diamètre du mycélium est de 1.2 cm après 7 jours de croissance.

Espèce 6 : Cette espèce est prélevée à partir de l'orange (moisissure vert-gris).

Sur le milieu Sabouraud, le mycélium est de couleur foncée puis vert terne. Il a un aspect floconneux et de couleur verdâtre au centre, avec des marges roses de 3 mm de diamètre (photo 20).

Le revers a une couleur rose foncée à marron brique avec des marges blanchâtres (photo 21). L'exsudat et les pigments solubles sont absents. Le mycélium a un diamètre de 2.2 cm.

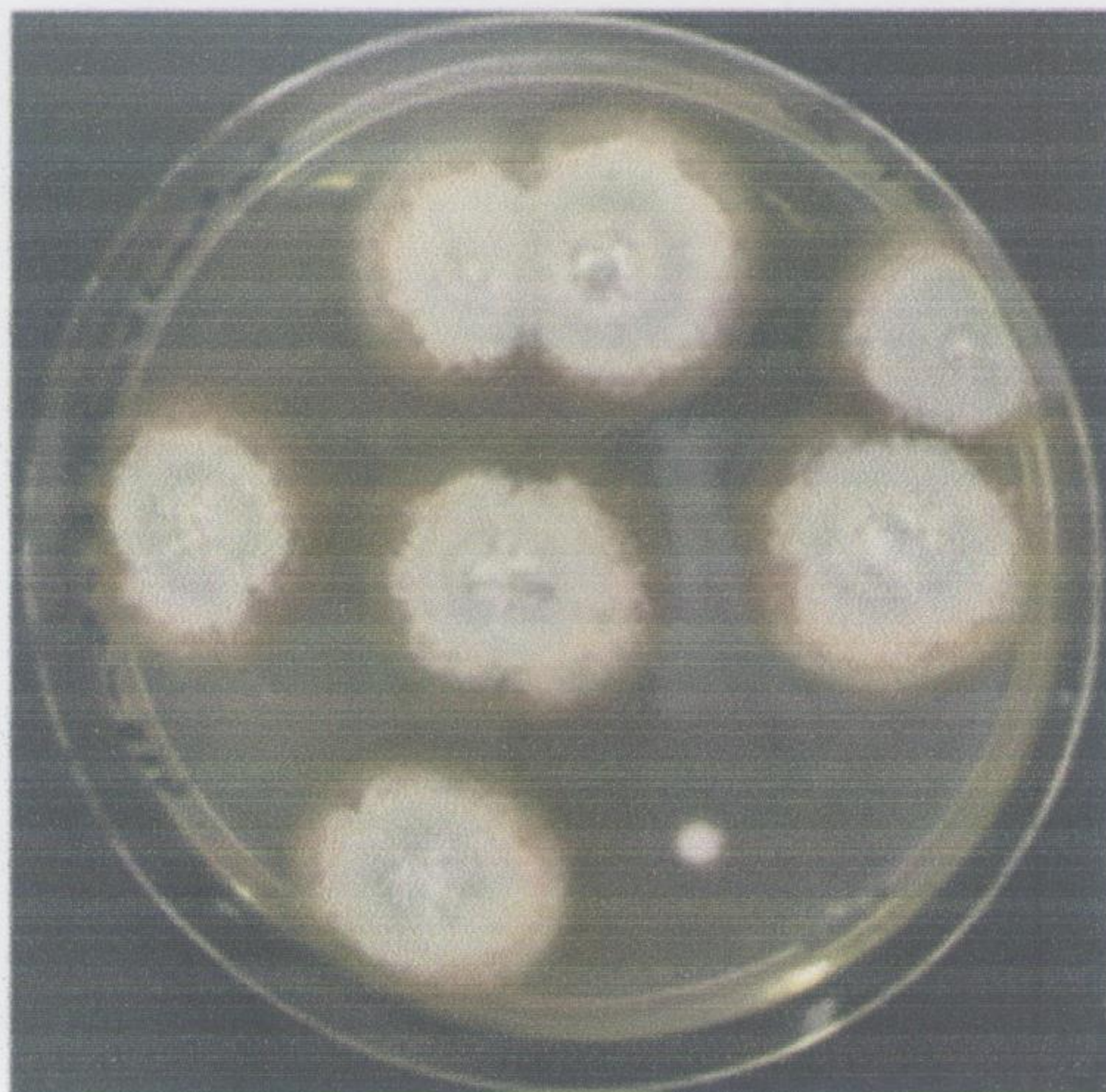


Photo 20 : Recto de la boîte

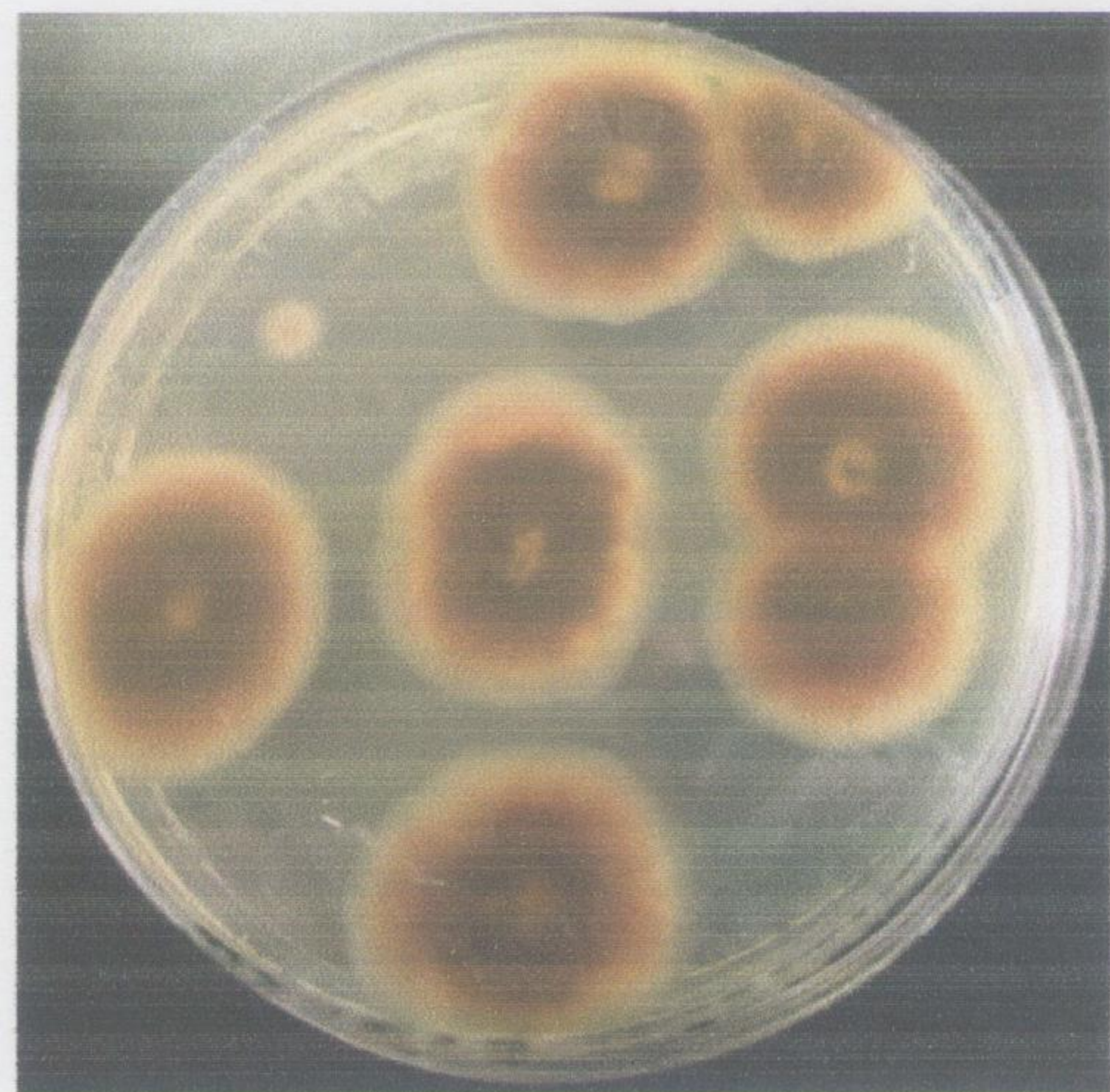


Photo 21 : Verso de la boîte

Photos 20,21 : Culture de l'espèce 6 après 7 jours de croissance sur le milieu Sabouraud

I.2. Caractéristiques microscopiques

Toutes les espèces se présentent sous l'aspect d'un mycélium septé, relativement large et avec une paroi simple. Quand ce dernier est coloré, nous faisons une observation sur l'échantillon tel quel, par contre quand il est hyalin nous ajoutons une goutte de fuschine ce qui donne l'aspect rose de certaines photographies réalisées. Les détails structuraux des pénicilles et des conidies nous permettent de différencier les espèces entre elles et de les identifier.

Espèce 1

Le mycélium est septé et de couleur verte. Les pénicilles sont bien visibles, asymétriques, triverticillés et quadriverticillés. Les conidiophores sont isolés ou faiblement fasciculés et lisses. Les métules sont groupées de 2 à 3 en verticille. Les phialides sont cylindriques, groupées de 3 à 5 (photo 22). Les conidies sont verdâtres, d'abord cylindriques puis elliptiques, avec une texture lisse et sont disposées en très longues chaînettes (photo23). Cette espèce est identifiée comme étant *P. italicum*.

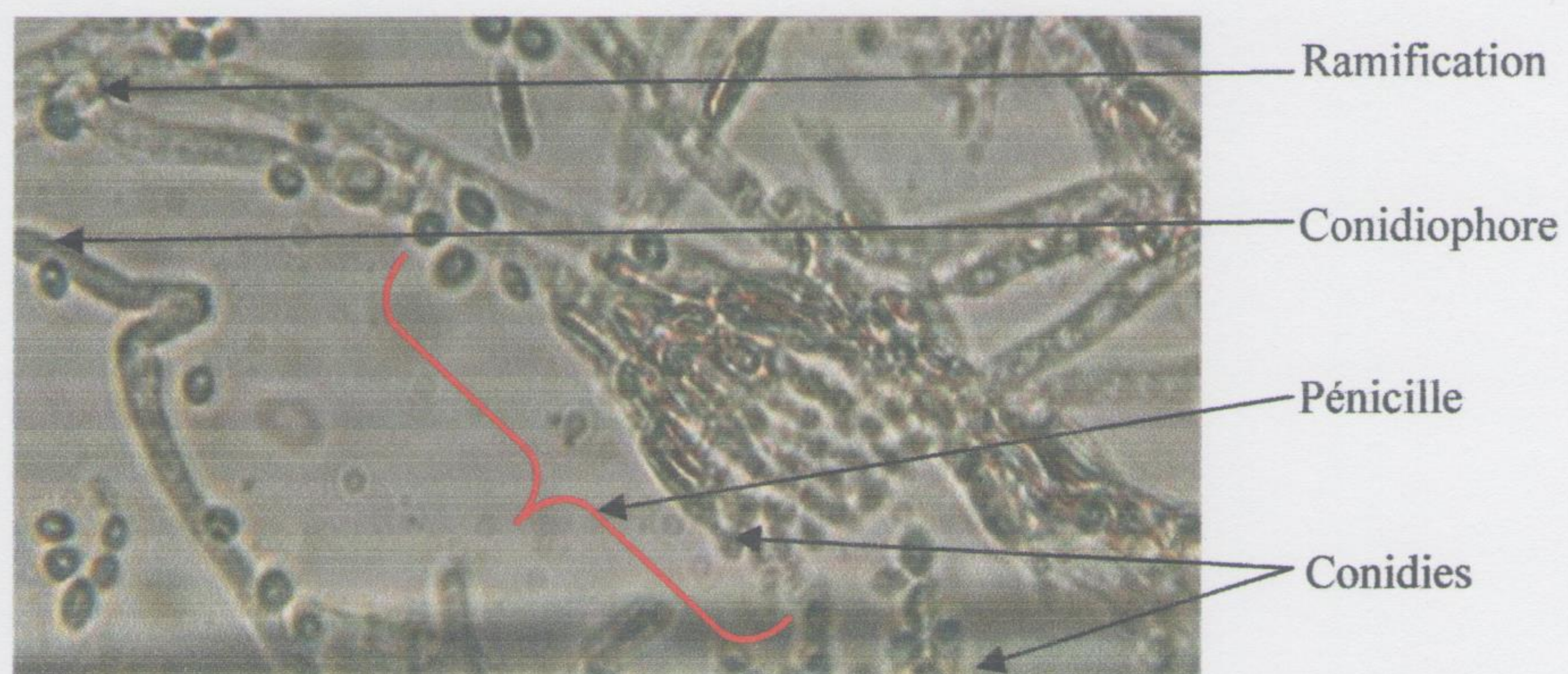
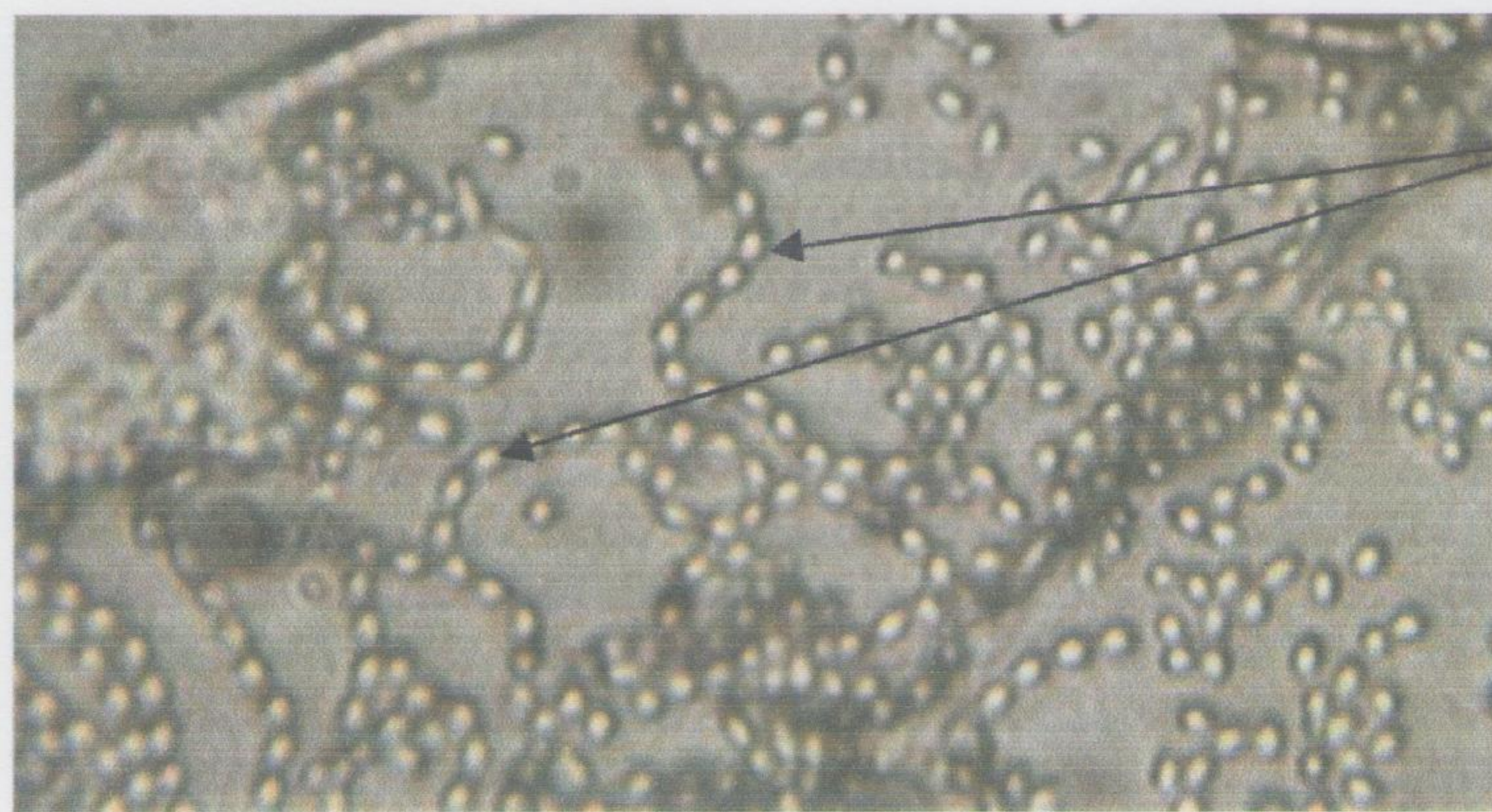


Photo 22 : Observation microscopique de *P. italicum* au grossissement x 40.



Conidies on
longues chaînettes

Photo 23 : Observation microscopique des conidies de *P. italicum* au grossissement x 40.

Espèce 2

Le mycélium est septé et de couleur vert terne. Les pénicilles sont asymétriques, complexes et irréguliers, comportant 3 à 4 ramifications divergentes. Les conidiophores sont isolés, sinueux et lisses. Les conidies sont elliptiques à sub-globuleuses, elles sont lisses et séparées les unes des autres ou restent en très courts chaînettes (2 à 3 conidies). Cette moisissure est donc *P. griseofulvum*.

Espèce 3

Le mycélium est septé et de couleur verte. Les pénicilles sont verdâtres, triverticillés et asymétriques (photos 24,25). Les conidiophores sont granuleux et ramifiés. Les métules sont groupées en grand nombre par verticille, et de même pour les phialides. Les métules sont cylindriques et les phialides ampulliformes. Les conidies sont globuleuses, verdâtres, lisses, relativement grosses et disposées en chaînettes plus ou moins longues (photo 26). Cette espèce représente *P. roquefortii*.

Triverticillé

Conidie

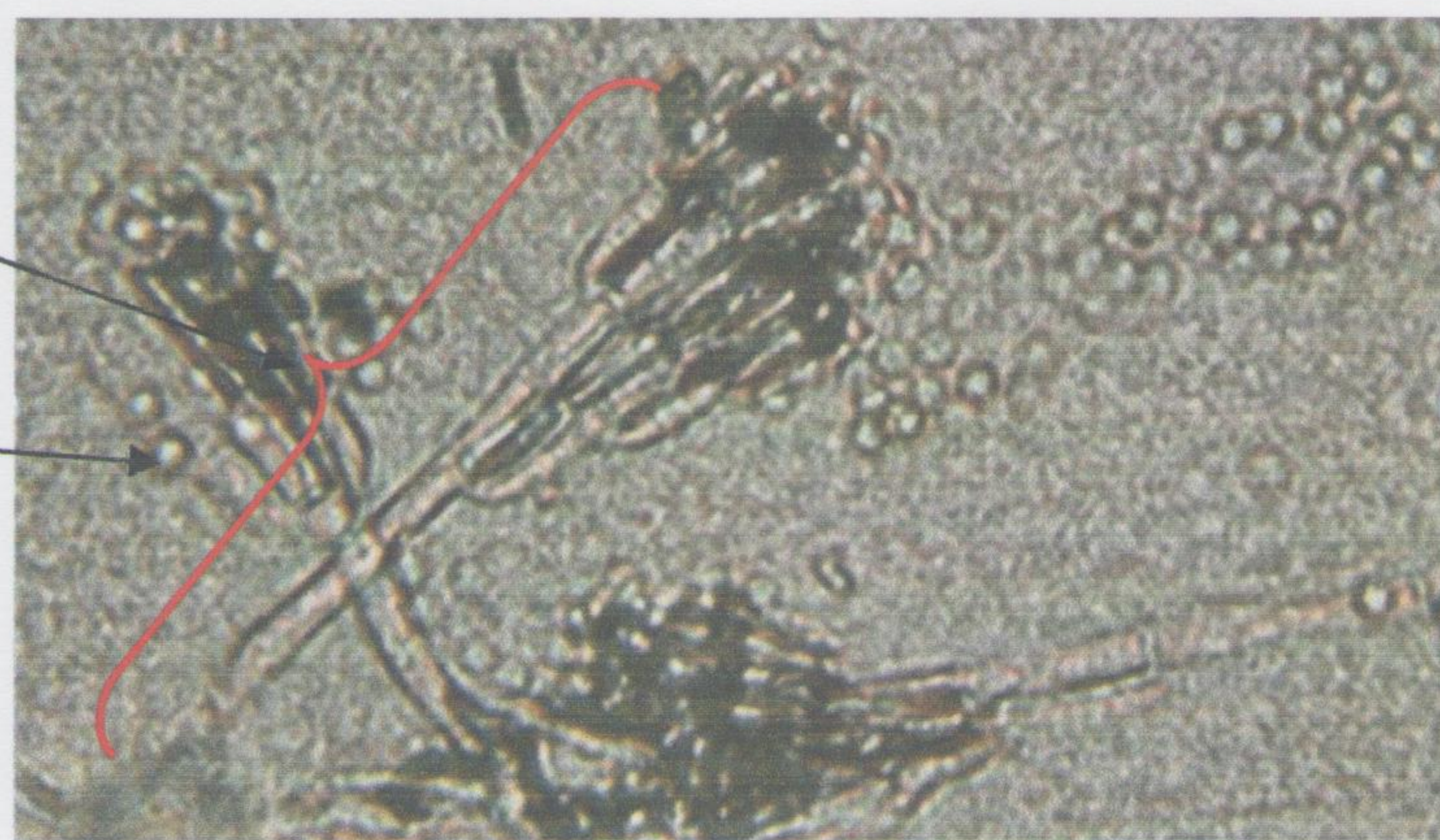


Photo 24 : Observation microscopique de *P. roquefortii* au grossissement x40.

Espèce 5

Les pénicilles sont biverticillés, triverticillés, quadriverticillés, asymétriques et très ramifiés. Les conidiophores sont longs, granuleux, sinueux et terminés par un verticille de 2 à 3 métules. Les phialides sont ampulliformes. Les conidies sont de couleur vert-jaune, globuleuses, à paroi épaisse, présentent en courte chaînettes (la plus long de 3 à 4 conidies (photo 28)). Cette espèce représente *P. simplicissimum*.

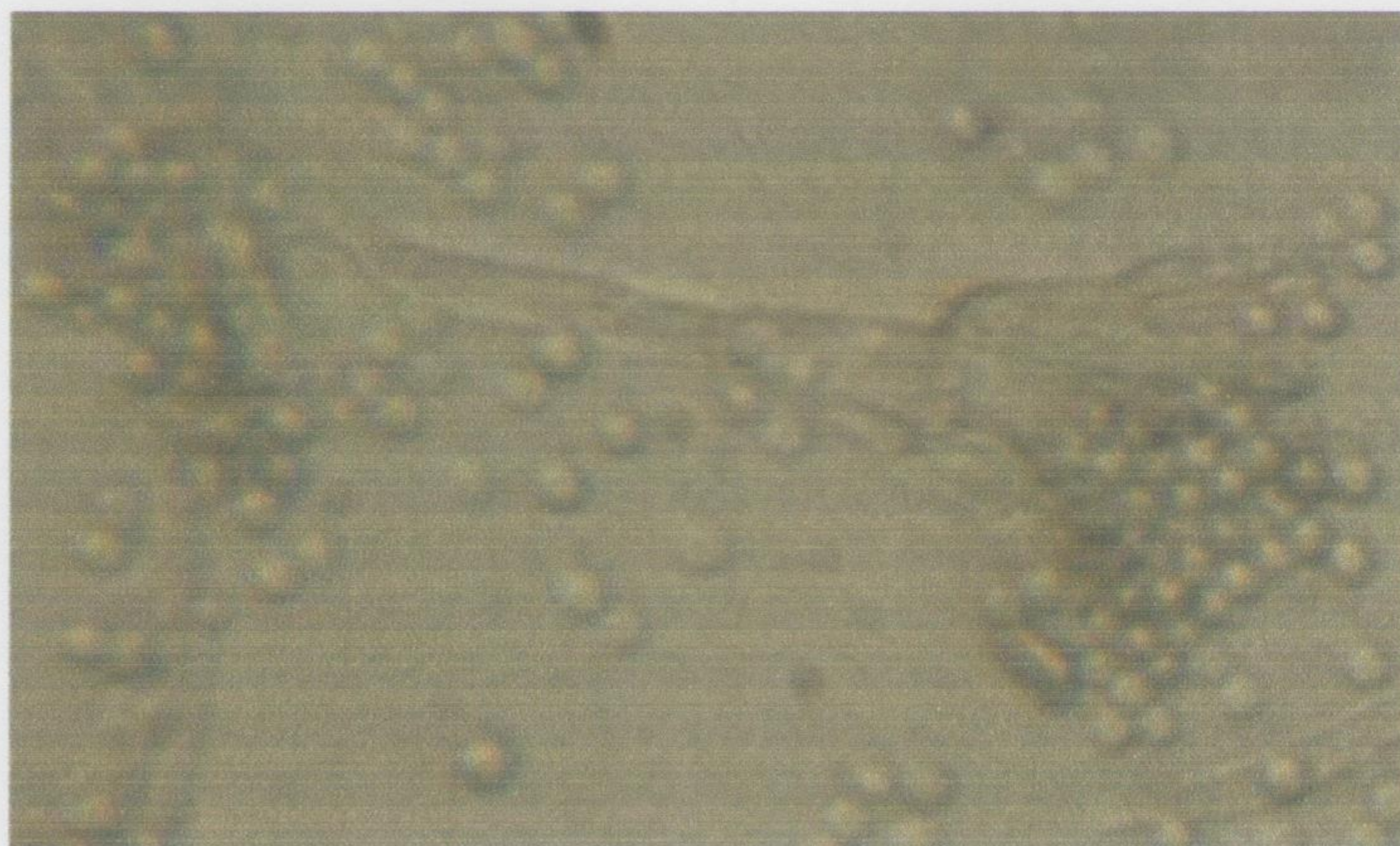


Photo 28 : Observation microscopique de *P. simplicissimum* au grossissement x 40.

Espèce 6

Le mycélium est hyalin à vert-jaunâtre. Les pénicilles sont compacts, triverticillés et asymétriques (photo 29). Les conidiophores sont isolés ou fasciculés et granuleux. Les métules sont de nombre de 2 à 3. Les phialides sont au nombre de 3 à 4 par verticille, elles ont une forme ampulliforme. Les conidies sont globuleuses rigoureuses à échinulées et se séparent les unes des autres (photo 30,31). Cette espèce est donc *P. cyclopium*.



Photo 29 : Observation microscopique de *P. cyclopium* au grossissement x 10.



Photo 30

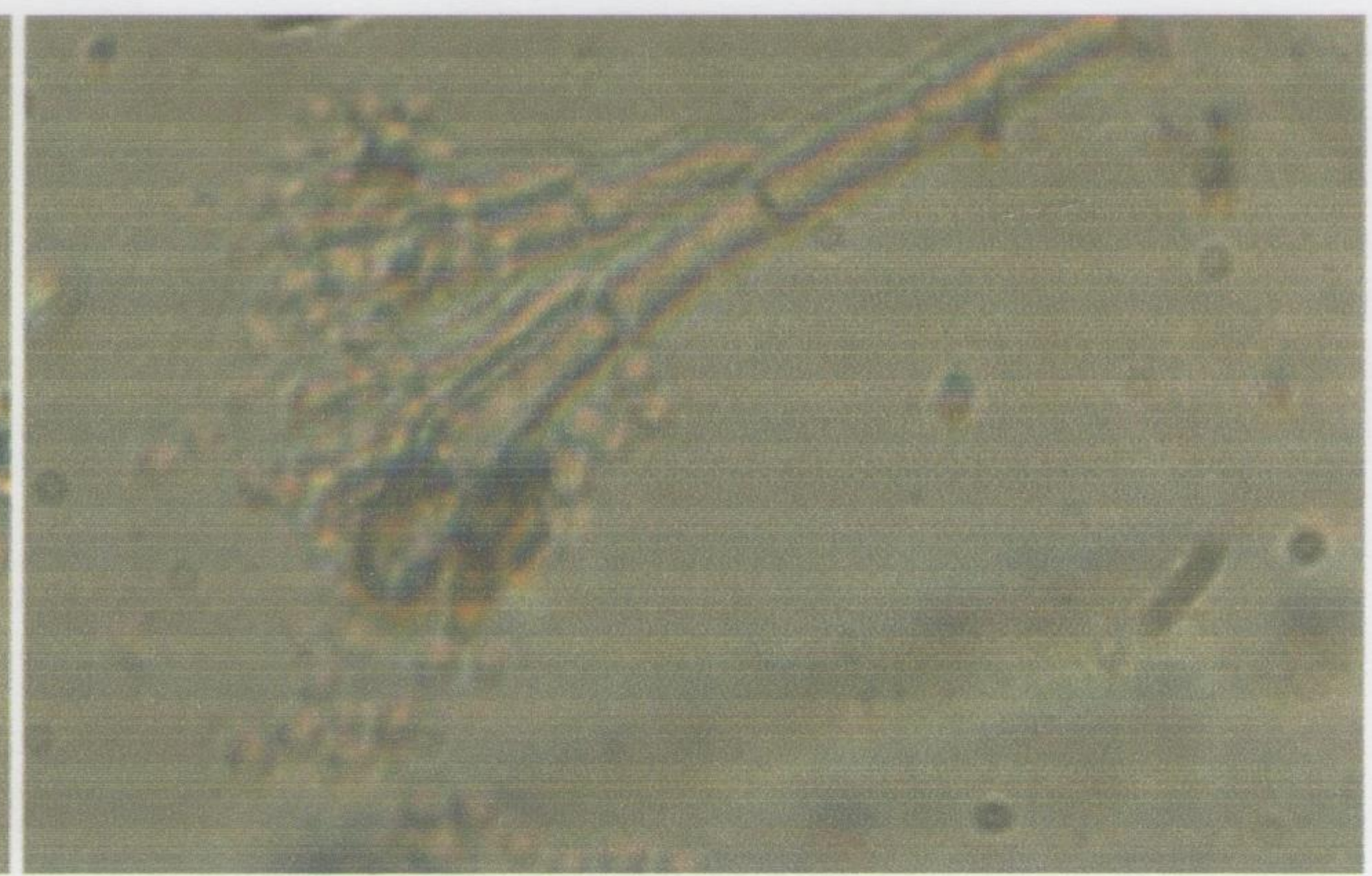


Photo 31

Photos 30,31 : Observation microscopique de *P. cyclopium* au grossissement x 40.

II. Production des substances antibactériennes

Le test de l'activité antibactérienne donne les résultats présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats de l'activité antibactérienne des moisissures (exprimés en centimètre).

Espèces	Zone d'inhibition (cm)					
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>L.monocytogenes</i>
<i>P. italicum</i>	0.7	-	0.9	-	-	1.45
<i>P. griseofulvum</i>	-	-	0.8	-	-	1.2
<i>P. roquefortii</i>	-	-	1.75	-	-	1.6
<i>P. camembertii</i>	-	-	1.9	1.45	-	-
<i>P. simplicissimum</i>	1	-	1.3	-	-	-
<i>P. cyclopium</i>	-	-	1	1.1	-	1.5
Disque de pénicilline	1	-	1	1.2	-	0.9

*Les chiffres indiquent le diamètre des zones d'inhibition exprimé en cm.

* (-) indique l'absence d'une zone d'inhibition notable.

Les résultats du tableau (1) démontrent que *Ps. aeruginosa* est l'espèce la plus sensible aux moisissures utilisées. En effet, cette bactérie donne une zone d'inhibition pour chaque test. Néanmoins les moisissures qui ont donné les plus grandes zones d'inhibition sur elles sont *P italicum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii* et *P. cyclopium*.

Les espèces *E. coli* et *B. subtilis* ne montrent aucune sensibilité vis-à-vis des moisissures testées et se révèlent de ce fait comme étant les bactéries les plus résistantes.

Activité antibactérienne de *P. italicum*

Les résultats montrent que le mycélium de *P. italicum* présente une activité antibactérienne contre *L. monocytogenes* et *Ps. aeruginosa* mais pas contre *S. typhimurium*, *B. subtilis* et *E. coli*. L'activité la plus importante de cette moisissure est contre *L. monocytogenes*.

Activité antibactérienne de *P. griseofulvum*

P. griseofulvum présente une activité antibactérienne faible contre *Ps. aeruginosa* et moyenne contre *L. monocytogenes* (photos 32,33). Par contre, cette moisissure n'a aucune activité contre *S. typhimurium*, *B. subtilis*, *S. aureus* et *E. coli*.



Photo 32 : *L. monocytogenes*

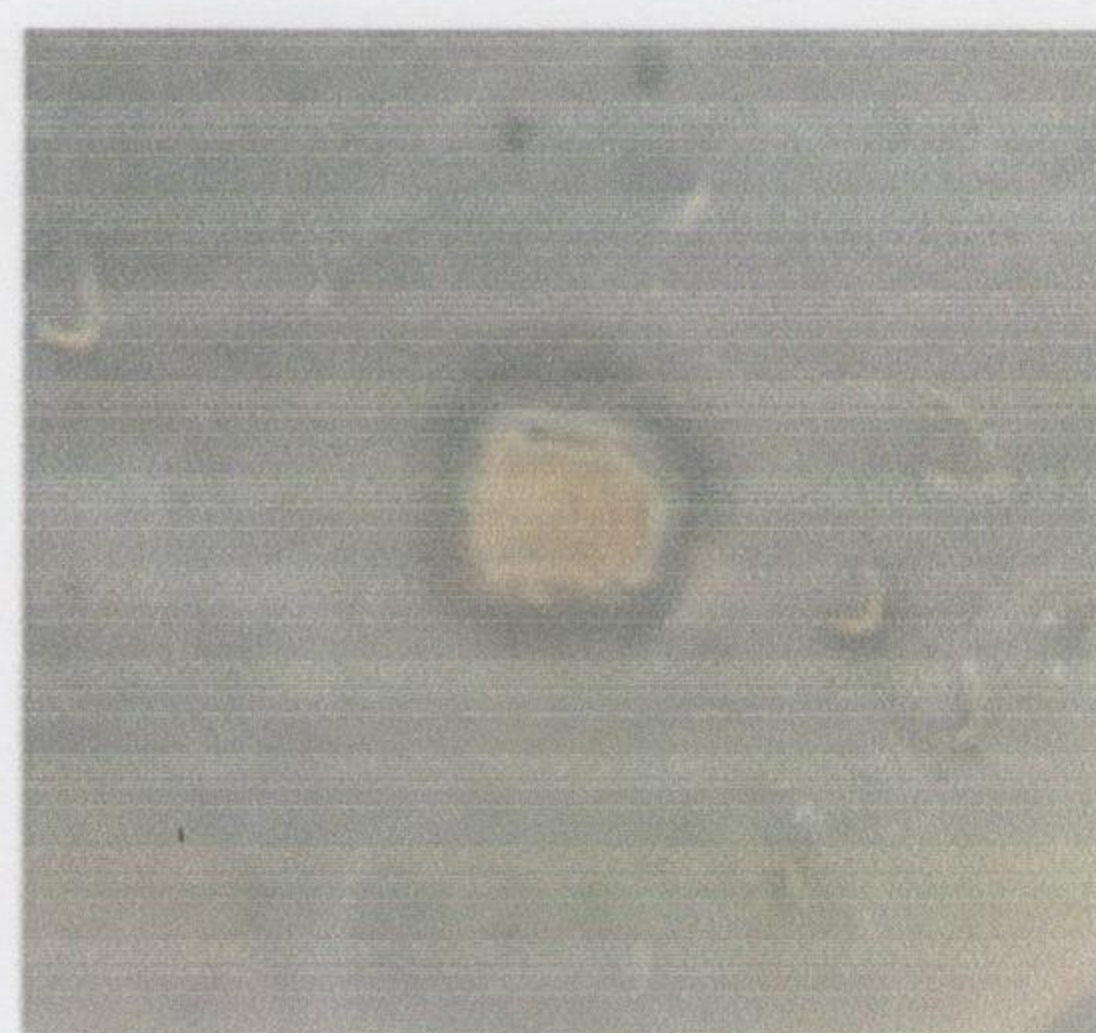


Photo 33 : *Ps. aeruginosa*

Photos 32,33 : Activité antibactérienne de *P. griseofulvum* contre *L. monocytogenes* et *Ps. aeruginosa*.

Activité antibactérienne de *P. roquefortii*

Tout comme *P. griseofulvum*, *P. roquefortii* montre une activité seulement contre *Ps. aeruginosa* et *L. monocytogenes* (photos 34,35). Néanmoins les diamètres des zones d'inhibition sont beaucoup plus grands pour *P. roquefortii* et ce sur les deux bactéries. Ce qui indique que cette espèce a une forte activité antibactérienne.

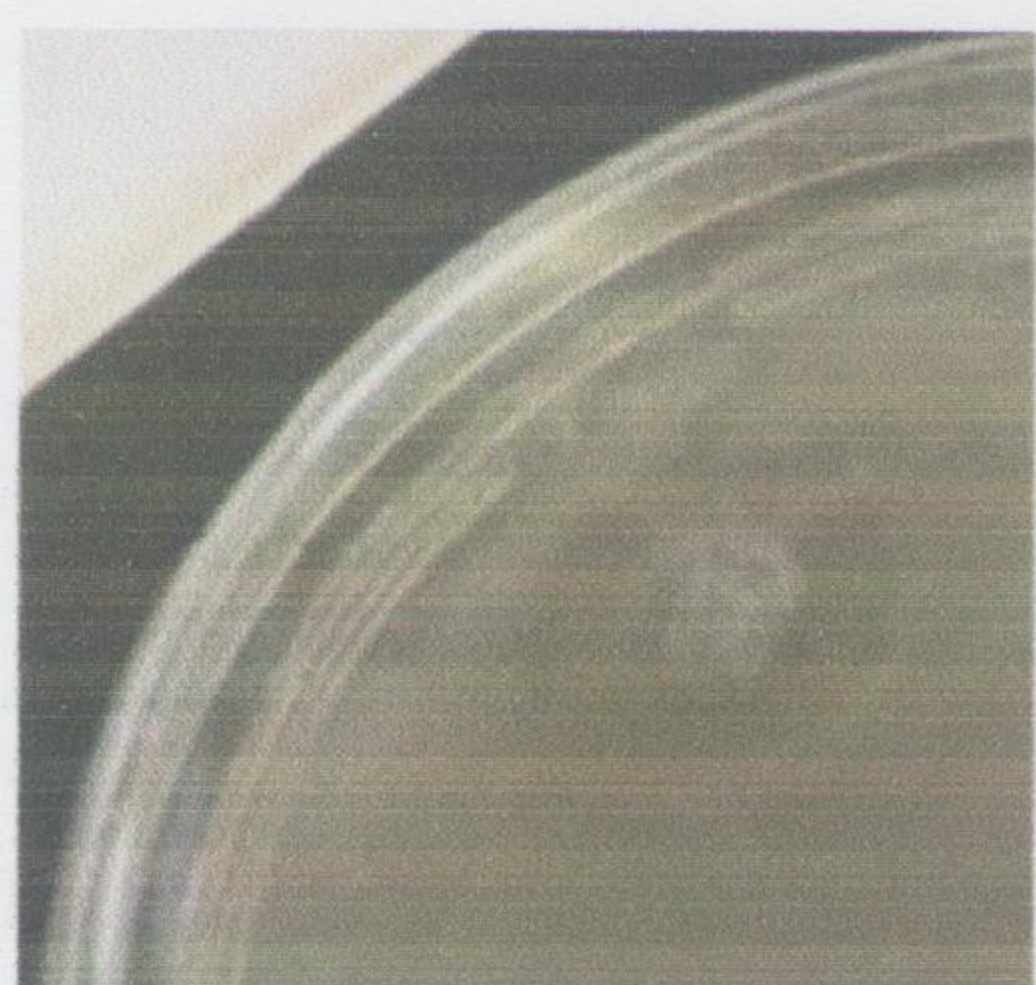


Photo 34 : *L. monocytogenes*

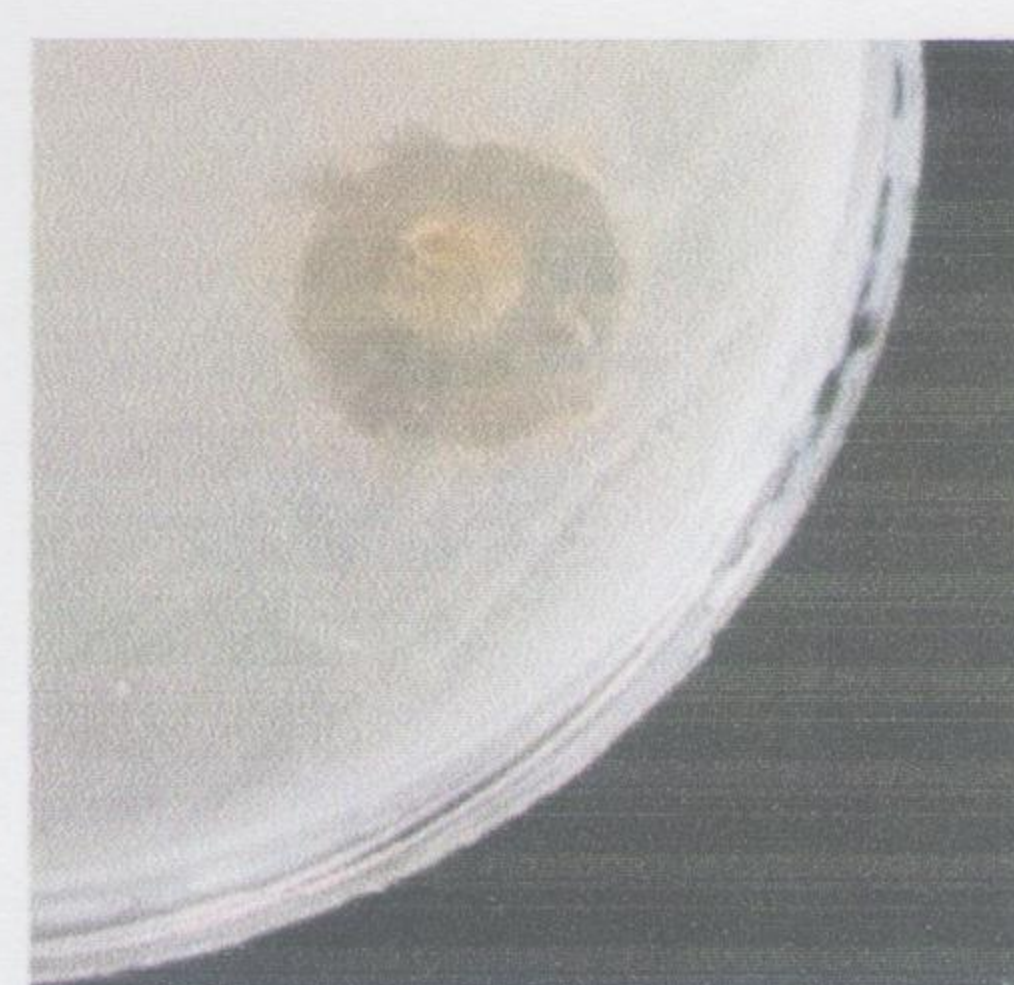


Photo 35 : *Ps. aeruginosa*

Photos 34,35 : Activité antibactérienne de *P. roquefortii* contre *L. monocytogenes* et *Ps. aeruginosa*.

Contre les bactéries *S. typhimurium*, *E. coli*, *B. subtilis* et *S. aureus*, cette moisissure ne révèle aucune activité mais nous remarquons une croissance du mycélium sur la culture bactérienne (photo 36).

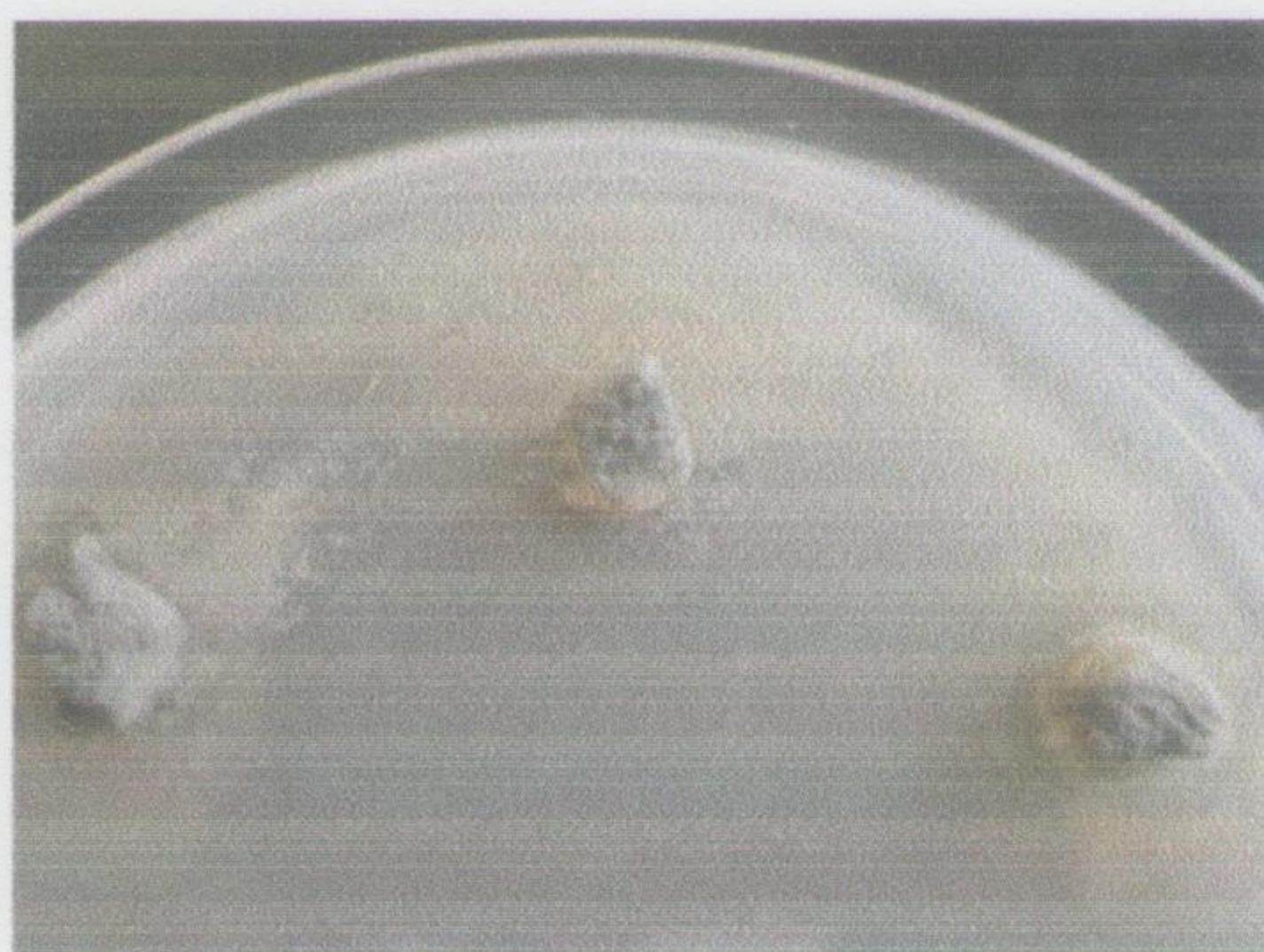
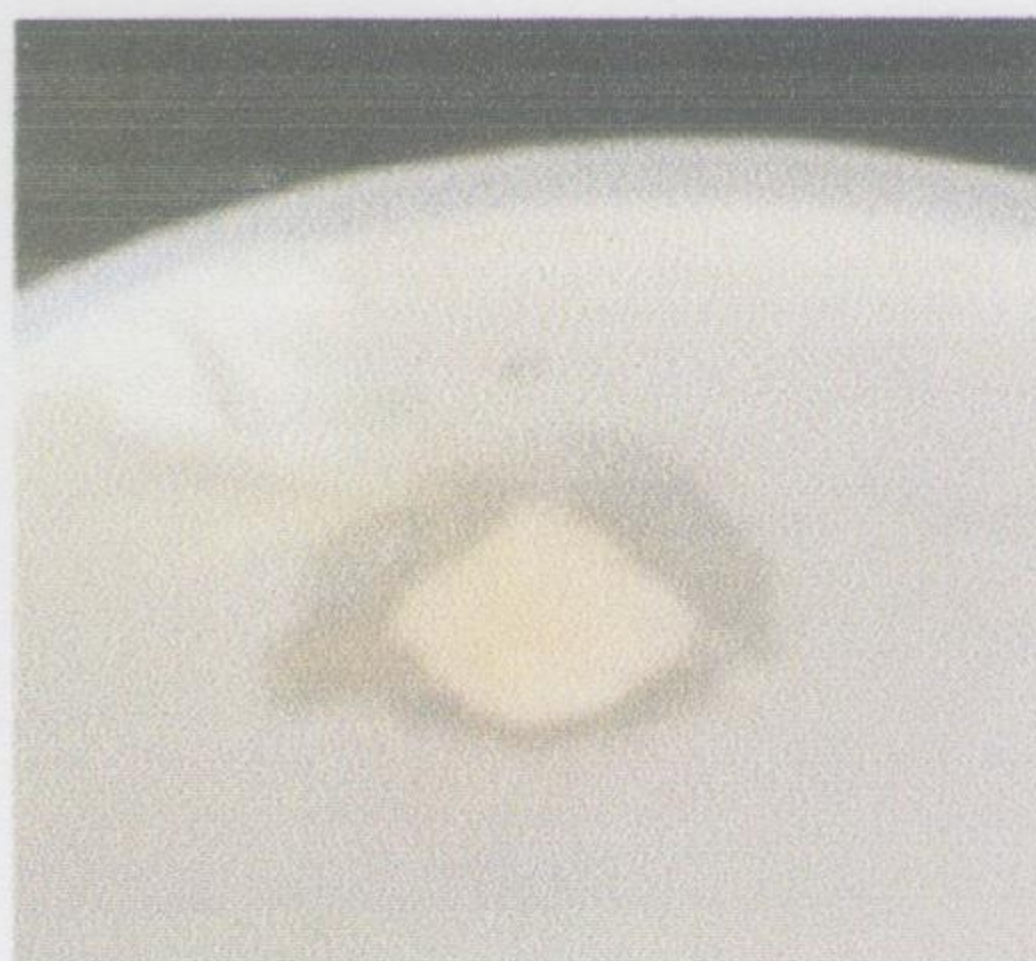


Photo 36 : La croissance du mycélium de *P. roquefortii* sur la culture de *S. typhimurium*.

Activité antibactérienne de *P. camembertii*

P. camembertii présente une activité antibactérienne moyenne seulement contre *Ps. aeruginosa* et *S. typhimurium* avec des valeurs très importantes (photos37), mais aucune activité n'est notée contre *E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*.



Photos 37 : Activité antibactérienne de *P. camembertii* contre *S. typhimurium*.

Activité antibactérienne de *P. simplicissimum*

P. simplicissimum ne montre aucune activité contre les bactéries utilisées, sauf contre *Ps. Aeruginosa* et *S. aureus* contre lesquelles elle a montré des zones d'inhibition moyennement grandes avec 1.3 cm et 1 cm de diamètre respectivement (photos 38,39).



Photo 38 : *Ps. aeruginosa*

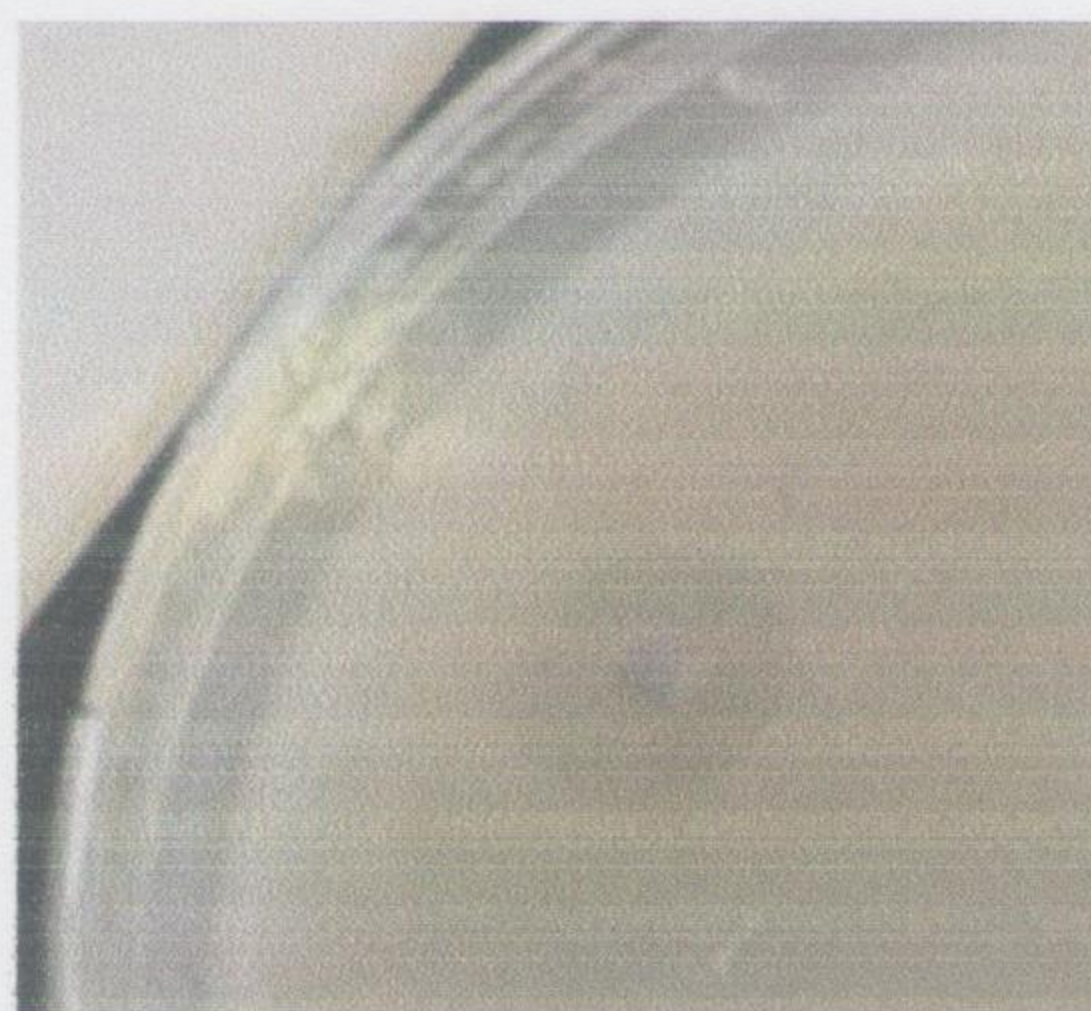


Photo 39 : *S. aureus*

Photos 38,39 : Activité antibactérienne de *P. simplicissimum* contre *Ps. aeruginosa* et *S. aureus*.

Activité antibactérienne de P. cyclopium

P. cyclopium est la seule moisissure avec *P. italicum* qui affiche l'inhibition de trois espèces bactériennes. En effet, *P. cyclopium* donne des zones d'inhibition contre *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* et *Ps. aeruginosa* (photos 40,41,42), mais le maximum d'activité est enregistré contre *L. monocytogenes* avec une zone de 1.5 cm de diamètre. Cette moisissure n'exprime aucune activité contre *E. coli*, *B. subtilis* et *S. aureus*.

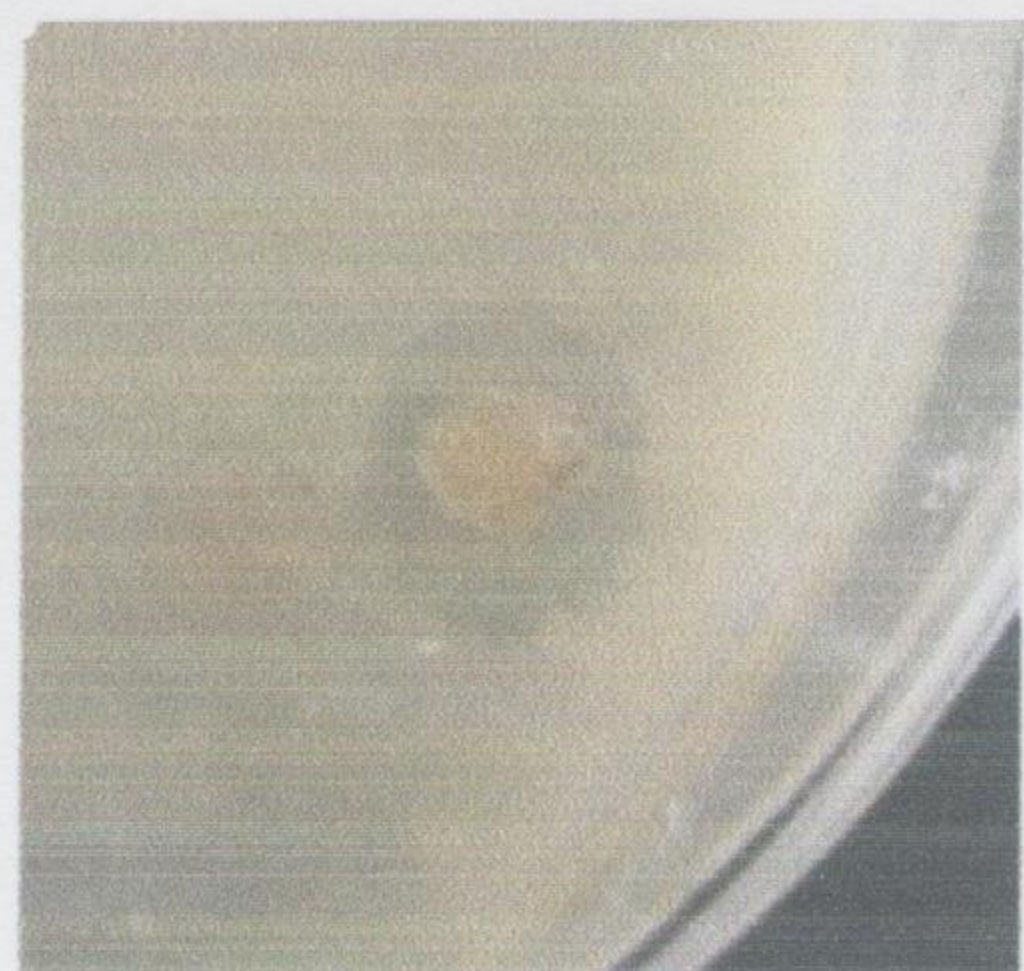


Photo 40 : *L. monocytogenes*

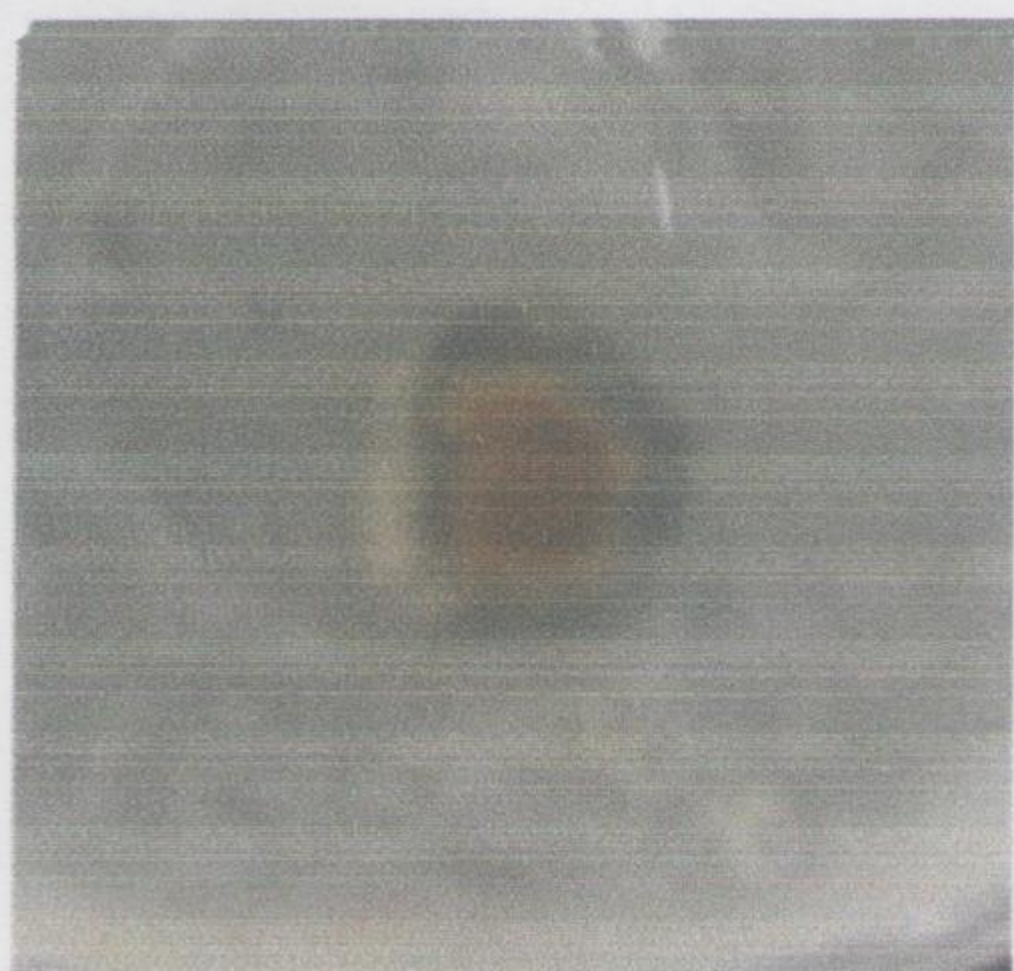


Photo 41 : *S. typhimurium*

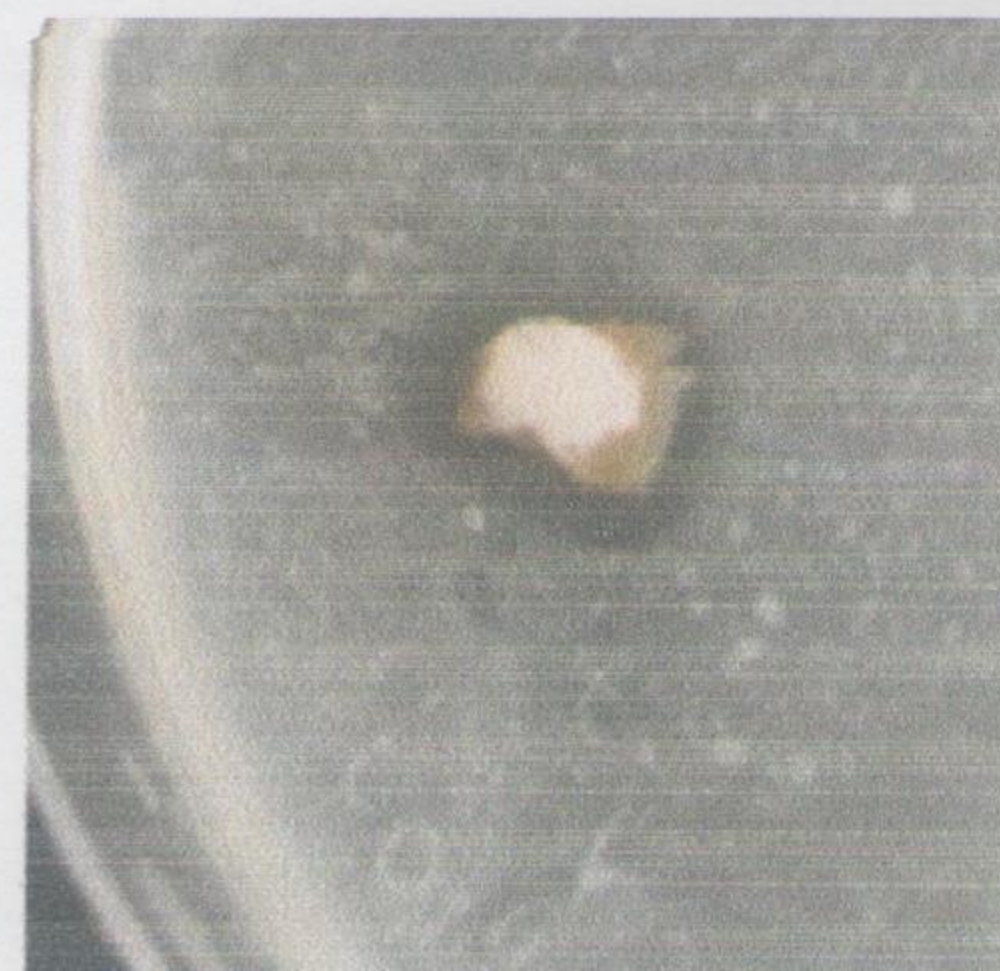


Photo 42 : *Ps. aeruginosa*

Photos 40,41,42 : Activité antibactérienne de *P. cyclopium* contre *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* et *Ps. aeruginosa*.

Discussion

Trois moisissures sont isolées à partir de l'orange, à savoir *P. italicum*, *P. griseofulvum* et *P. cyclopium*. D'autres travaux ont déjà démontré que ces espèces sont très rencontrées lors de la détérioration des fruits (Frisvad et Robert 2004 ; Intha et al. 2013 ; Moslem et al. 2010 ; Muñoz et al. 2011 ; Pitt et Hocking 2009 ; Zamani et al. 2009). *P. simplicissimum* est isolé à partir des céréales (Pitt et Hocking 2009). Quand à *P. roquefortii* et *P. camembertii*, elles sont récupérées à partir du roquefort et du camembert où elles sont couramment utilisées pour l'affinage (Laich et al. 2001 ; Lessard et al. 2014).

P. italicum montre une inhibition de *L. monocytogenes* et *Ps. aeruginosa*, mais cette moisissure s'avère incapable d'inhiber *S. typhimurium*, *B. subtilis* et *E. coli*. Aucun travail n'est trouvé sur l'activité antibactérienne de cette moisissure. Même si Frisvad et ses collaborateurs ont déjà démontré que *P. italicum* était capable de synthétiser plusieurs types des toxines, comme l'acide italinique et italicique, la verrucolone, le deoxybrevianamide E, le formylxanthocilline x et l'acide dehydrofulvique (Frisvad et Robert 2004).

D'après nos résultats *P. griseofulvum* montre une inhibition faible de *Ps. aeruginosa* et moyenne de *L. monocytogenes*. Par contre aucune activité n'est remarquée contre *S. typhimurium*, *B. subtilis*, *S. aureus* et *E. coli*. D'après certains auteurs, *P. griseofulvum* agit sur les bactéries et les moisissures antagonistes par la production de la griséofulvine, la pénicilline G, la patuline, la roquefortine C et chrysogine (Laich et al. 2001 ; wang et al. 2004). Ahmed et al. ont démontré que *B. subtilis* produisait une enzyme pour dégrader la griséofulvine et contrer l'activité de la moisissure (Ahmed et al. 2014). De même, d'après Peter et al. *S. typhimurium*, *S. aureus* et *E. coli* ont une activité antifongique qui inhibe *P. griseofulvum* par la sécrétion de l'hexane. Ces bactéries ne peuvent donc pas être sensibles à *P. griseofulvum*, ce qui confirme nos résultats (Peter 2004).

P. roquefortii a une activité assez élevée contre *Ps. aeruginosa* et *L. monocytogenes* mais aucune activité contre *S. typhimurium*, *E. coli*, *B. subtilis* et *S. aureus*. Ouoba et ses collaborateurs ont déjà mis en évidence l'incapacité de cette moisissure à lutter contre *B. subtilis* (Ouoba et al. 2007). Cette moisissure a aussi été définie comme active contre *L. monocytogenes* (Larsen et Knochel 1997). Mais aucun autre travail n'a été trouvé sur l'activité antibactérienne de *P. roquefortii*. Mais cette moisissure est néanmoins connue pour sa capacité à produire des substances antimicrobiennes comme l'acide pénicillique, la pénicilline, la roquefortine et la patuline (Botton et al. 1990 ; Houbraken et al. 2010).

P. camembertii donne une bonne inhibition de *Ps. aeruginosa* et *S. typhimurium*. Larsen et Knochel ont démontré dans leurs travaux que cette moisissure avait une activité contre *S. typhimurium* et que

cette dernière était due à la production de l'acétaldéhyde et le benzaldéhyde et que ces mêmes composés étaient capables d'inhiber *L. monocytogenes* contrairement aux résultats que nous obtenons contre cette dernière bactérie (Larsen et Knochel 1997). L'activité antibactérienne de *P. camembertii* peut être attribuée à la production de l'acétaldéhyde et du benzaldéhyde comme à la production de l'acide cyclopiazonique, l'acide cyclopaldique, la rugulovasine A et B et la palitantine (Frisvad et Robert 2004).

P. simplicissimum a une activité antibactérienne moyenne contre *Ps. aeruginosa* et *S. aureus*. Et aucune activité contre les autres espèces bactériennes testées. Takahashi et ses collaborateurs ont déjà mis en évidence la capacité de cette moisissure à lutter contre *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* et *L. monocytogenes* avec des résultats significatifs. Selon ces chercheurs, l'activité de cette dernière était due principalement à la production de l'acide pénicillique (Takahashi et al. 2008) et des mycotoxines telles que la fumitremorgene B et la viridicatumtoxine (Pitt et Hocking 2009).

D'après certains auteurs, *P. cyclopium* a une activité contre *B. subtilis* et *S. typhimurium* (Khaddor et al. 2007) contrairement à nos résultats où cette moisissure s'avère inhibitrice de *S. typhimurium* et non de *B. subtilis*.

Conclusion

L'isolement des moisissures à partir des aliments détériorés et des fromages a permis l'identification de *P. italicum*, *P. griseofulvum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii*, *P. simplicissimum* et *P. cyclopium*.

La caractérisation morphologique des mycéliums a permis de préciser la structure des pénicilles d'où l'identification concrète des espèces. Le test de l'activité antibactérienne a démontré que toutes les moisissures étaient capables d'inhiber au moins une espèce bactérienne pathogène. Les plus grandes zones d'inhibition ont été données par *P. italicum* contre *L. monocytogenes*, *P. roquefortii* contre *Ps. aeruginosa* et *L. monocytogenes*, *P. cyclopium* contre *L. monocytogenes* et *P. camembertii* contre *Ps. aeruginosa* et *S. typhimurium*. D'un autre côté, nous avons remarqué que *Ps. aeruginosa* était la seule espèce bactérienne sensible à toutes les moisissures testées. A l'inverse, *E. coli* et *B. subtilis* étaient résistantes à tous les mycéliums.

La recherche bibliographique a démontré que l'activité antibactérienne des espèces du genre *Penicillium* était due à la production des antibiotiques, des mycotoxines et d'autres substances lors du métabolisme secondaire. Néanmoins des études supplémentaires sont nécessaires pour nous permettre de préciser quelles sont exactement les molécules impliquées dans notre travail.

Références bibliographiques

- Ahmed MY, Bayoum RAA.** Biodegradation of griseofulvin by *Bacillus subtilis* isolated from expired pharmaceuticals raw materials. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 2014, 2(3): 019-034.
- Anastasi A, Varese GC, Marchisio VF.** Isolation and identification of fungal communities in compost and vermincompost. *Mycologia*. 2005, 97(1): 33-44.
- Bambeke FV.** Pharmacologie et pharmacotherapy anti-infectieuse. 2008. Ed. Université catholique de Louvain (Thèse de doctorat).
- Bandh SA, Kamili AN, Ganai BA, Saleem S.** Isolation, identification and seasonal distribution of *Penicillium* and *Aspergillus* species in Dal lake, Kashmir. *International Journal of Current Research*. 2011, 3(10): 038-042.
- Barcus AL, Steven D, Herchline TE.** Intestinal invasion and disseminated Burdette disease associated with *Penicillium chrysogenum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2005, 4: 1-21.
- Brian DA, Xinyu L, Christopher TW.** Enzymatic processing of fumiquinazoline F: a tandem oxidative-acylation strategy for the generation of multicyclic scaffolds in fungal indole alkaloid biosynthesis. *Biochemistry*. 2010, 49(39): 8564-8576.
- Barrios GJ, Fernández FJ, Tomasini A.** Microbial secondary metabolites production and strain improvement. *Indian Journal Biotechnol.* 2003, 2: 322-333.
- Berrin JG, Ajandouz EH, Georis J, Arnaut F, Juge N.** Substrate and product hydrolysis specificity in family 11 glycosidases: an analysis of *Penicillium funiculosum* and *Penicillium griseofulvum* xylanases. *Applied Microbiology*. 2007, 74: 1001-1010.
- Botton B, Bretton A, Fever M, Gautier SGP, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y, Veau P.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 1990. Ed. Masson, Paris: 158-189.
- Cardoso PG, Queiroz MV, Pereira OL, Araújo EF.** Morphological and molecular differentiation of the pectinase producing fungi *Penicillium expansum* and *Penicillium griseoroseum*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2007, 38: 71-77.
- Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E.** Beta-lactam antibiotics. *EMC-Maladies Infectieuses*. 2004, 1: 129-202.
- Chabasse D, Bouchara JP, De Gentile L, Cimon B, Brun S, Penn P.** Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation*. 2002, Paris: 1-159.

- Chinedu SN, Nwinyi CO, Okochi VI.** Properties of endoglucanase of *Penicilliumchrysogenum*PCL501. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2008, 2(3): 738-746.
- Dayalan SAJ, Darwin P, Prakash S.** Comparative study on production, purification of penicillin by *Penicillium chrysogenum*isolated from soil and citrus samples. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011: 15-19.
- Dedet JPJ.** La microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes. 2007. Ed. Dunod. Pris: 201.
- Diguta CF.** Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisin. 2010. Ed. Université de Bourgogne (Thèse de doctorat).
- Freiman A, Sasseville D.** Les médicaments antifongiques en dermatologie.Dermatologie. 2006, 5(1): 1-6.
- Frisvad JC, Robert AS.** Polyphasic taxonomy of*Penicillium* subgenus *Penicillium* a guide to identification of food and air-borne terverticillate*Penicillia* and their mycotoxins. Studies in Mycology. 2004, 49: 1-174.
- Gaudy C, Buxeraud J.**Antibiotiques :harmacologie et thérapeutique. 2005. Ed. Elsevier. France : 13-52.
- Gombert AK, Veiga T, Puig-Martinez M, Lamboo F, Nijland JG, Driessen AJM, Pronk JT, Daran JM.**Functional characterization of the oxaloacetase encoding gene and eliminationof oxalate formation in the β -lactam producer *Penicillium chrysogenum*. Fungal Genetics and Biology. 2011, 48: 831-839.
- Grayson ML,Crowe SM, McCarthy JS, Mills J, Mouton JW, Norrby SR, Paterson DL, Pfaller MA.** Kucers' the use of antibiotics:a clinical review of antibacterial, antifungal, antiparasitic and antiviral drugs.2010. 6^{ème} Ed. Edward Arnold Ltd.British: 2111-2112.
- Harris DM, van der Krogt ZA, van Gulik WM, van Dijken JP, Pronk JT.** Formate as an auxiliary substrate for glucose-limited cultivation of*Penicillium chrysogenum*: impact on penicillin G production andbiomass yield. Applied and Environmental Microbiology. 2007, 73: 5020-5025.
- Houbraken J, Frisvad JC, Samson RA.** Sex in *Penicillium* series Roqueforti. Ima Fungus. 2010, 1 (2): 171-180.
- Houbraken J, Frisvad JC, Seifert KA, Overy DP, Tuthill DM, Valdez JG, Samson RA.**New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*.Persoonia. 2012, 29: 78-100.
- Houbraken J, Samson RA.** Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families.Studies in Mycology. 2011, 70: 1-51.

- Khaddor M, Saidi R, Aidoun A, Lamarti A, Tantaoui-Elaraki A, Ezziyyani M, Alain Badoc MCC.** Antibacterial effects and toxigenesis of *Penicilliumaurantiogriseum* and *P. viridicatum*. African Journal of Biotechnology. 2007, 6: 2314-2323.
- Knob A, Eleonora CC.**Xylanase production by *Penicillium sclerotiorum* and its characterization. World Applied Sciences Journal. 2008, 4(2): 277-283.
- Laich F, Fierro F, Martín JF.** Production of penicillin by fungi growing on food products: identification of a complete penicillin gene cluster in *Penicillium griseofulvum* and a truncated cluster in *Penicillium verrucosum*. Applied and Environmental Microbiology. 2002, 68(3): 1211-1219.
- Larsen AG, Knochel S.** Antimicrobial activity of food-related *Penicillium* sp. against pathogenic bacteria in laboratory media and a cheese model system. Journal of Applied Microbiology. 1997, 83: 111-119.
- Leveau JY, Boux M.** Microbiologie industrielle: Les microorganismes d'intérêt industriel. 1993. Ed. Lavoisier. Paris: 16, 32, 78, 125, 154, 307, 308, 376, 412.
- Lucas EMF, Machado Y, Ferreira AA, Dolabella LMP, Takahashi JA.** Improved production pharmacologically-active sclerotiorin by *Penicillium sclerotiorum*. Tropical Journal of Pharmaceutical. 2010, 9(4): 365-371.
- Lucas EMF, Monteiro CMC, Takahashi JA.** Antimicrobial properties of sclerotiorin, isochromophilone VI and pencolide, metabolites from a Brazilian cerrado isolate of *Penicillium sclerotiorum* var. *beyma*. Brazilian Journal of Microbiology. 2007, 38: 785-789.
- Macarisin D, Cohen L, Eick A, Rafael G, Belausov E, Wisniewski M, Droby S.** *Penicillium digitatum* suppresses production of hydrogen peroxide in host tissue during infection of citrus fruit. Phytopathology. 2007, 97: 1491-1500.
- Madigan MT, Martinko JM.** Biologie des microorganismes. 2007. 11^{ème} Ed. Pearson. France. 38: 785-789.
- Marziano F, Morra A, Nanni B, Fornataro D, Palazzo M, Matassino D.** Production of Napolisalamifrom some swine autochthonous genetic types. IV. Characteristics of the mycoflora. In: Almeida J.A. (ed.), Tirapicos Nunes J. (ed.). Tradition and innovation in Mediterranean pig production. Zaragoza: CIHEAM. 2000, 41: 245-249.
- Medeiros RG, Silva FG, Bão SN, Hanada R, Filho EXF.** Application of xylanases from Amazon forest fungal species in bleaching of eucalyptus kraft pulps. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2007, 50(2): 231-238.
- Michelon H, Sterlingot H, Arzouk N, Taburet AM, Durrbach A, Furlan V.** Interaction fumagillintacrolimus chez un patient transplanté rénal. Journal of Pharmacology and Clinical. 2006. 25(4): 248-50.

- Muñoz A, López-García B, Veyrat A, González-Candelas L, Marcos JF**, Comparative analysis of the sensitivity to distinct antimicrobials among *Penicillium* spp. causing fruit postharvest decay. *Phytopathol. Mediterr.* 2011, 50: 392-407.
- Oliveri C, Campisano A, Catara A, Cirvilleri G**. Characterization and faflp genotyping of *Penicillium* strains from postharvest samples and packinghouse environments. *Journal of Plant Pathology.* 2007,89: 29-40.
- Ouoba LI, Diawara B, Jespersen L, Jakobsen M**. Antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* during the fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) for Soubala production. *Journal of Applied Microbiology* 2007, 102(4): 963-70.
- Peter KV**. Handbook of herbs and spices. 2004. Wookhead Ltd. USA: 215.
- Picoul W, Bedel O, Haudrechy A, Langlois Y**. Progress in fumagillin synthesis. *Pure Applied. Chem.* 2003, 75:141-419.
- Pitt JI, Hocking AD**. Fungi and food spoilage. 2009. 3^{ème} Ed. Springer. New York: 214-220, 240-248, 261-263.
- Prescott, Harley, Klein, Willey, Sherwood, Woelverton**. Microbiologie. 2010. 3^{ème} Ed. Do Boeck University. Bruxelles: 164, 835-837, 843, 855, 1009.
- Rivera KG, Seifert KA**. A taxonomic and phylogenetic revision of the *Penicillium sclerotiorum* complex. *Studies in Mycology.* 2011, 70: 139-158.
- Sanou I**. Contribution a la recherche d'antibiotiques a partir des champignons ou Burkina Faso : recherche de microorganismes producteurs d'antibiotiques. 1994. Ed. Université d'Ouagadougou (Thèse de doctorat).
- Shafei MS, Allam RF**. Production and immobilization of partially purified lipase from *Penicillium chrysogenum*. *Malaysian Journal of Microbiology.* 2010, 6(2): 196-202.
- Silva MG, Furtado NAJC, Pupo MT, Fonseca MJ, Said S, Filho AAS, Bastos JK**. Antibacterial activity from *Penicillium corylophilum*. *Microbiological Research.* 2004, 159(4): 317-322.
- Singh RS, Jain P, Kaur HP**. Characterization and antimicrobial activity of lectins from *Penicillium* sp. *Indian Journal of Experimental Biology.* 2013, 51: 984-991.
- Sørensen JL, Giese H**. Influence of carbohydrates on secondary metabolism in *Fusarium avenaceum*. *Toxins.* 2013, 5: 1655-1663.
- Stora D**. Pharmacologie B. P. classes pharmacologiques. 2010. 4^{ème} Ed. Wolters Kluwer. France: 51.
- Takahashi JA, de Castro MCM, Souza GG, Lucas EMF, Bracarense AAP, Abreu LM, Marriel IE, Oliveira MS, Floreano MB, Oliveira TS**, Isolation and screening of fungal species isolated from Brazilian cerrado soil for antibacterial activity against

Escherichia coli, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes* and *Listeria monocytogenes*. Journal of Medical Mycology. 2008, 18(4):198-204.

Teh LY, Zakaria L. A new record of *Penicillium pimateouiense* from Beach soil in Malaysia. Mycobiology. 2013, 41(4): 256-259.

Wang L, Zhou HB, Frisvad JC, Samson RA. *Penicillium persicinum*, a new griseofulvin, chrysogine and roquefortine C producing species from Qinghai province, China. Antonie van Leeuwenhoek. 2004, 86:173-179.

Wiemann P, Keller NP. Strategies for mining fungal natural products. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 2014, 41: 301-313.

Zaharia M, Hum AM, Negur L, Artenie V. Le transport membranaire actif de l'acide phénylacétique chez *Penicillium chrysogenum* et son influence sur la vitesse spécifique de biosynthèse de la pénicilline. Journal of Biological Chemistry. 2005, 280: 12646-12654.

Zamani M, Sharifi TA, Ahmadzadeh M, Hosseinavehl V, Mostofy Y. Control of *Penicillium digitatum* on orange fruit combining pantoeaagglomerans with hot sodium bicarbonate dipping. Journal of Plant Pathology. 2009, 91: 437- 442.

Les sites

Site 1: <http://www.inspq.qc.ca/compendium-moisissures/penicillium-spp>

Site 2: <http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/espece.php?idE=106#ancre12.html>

Site 3: <file:///C:/Users/TOSHIBA/Desktop/Penicillium%20roqueforti.html>

Site 4: <http://www.drjacksonkungu.com/resources/mold-pictures.html>

Site 5: <http://www.farmamozaiek.be/farmamozaiek/?q=node/4702>

Site 6: <http://immm.univ-lemans.fr/fr/equipes/mso/synthese-de-molecules-d-interet-biologique.html>

Glossaire de mycologie

Asexué : Se dit d'un mode de reproduction qui ne comporte pas de fusion nucléaire.

Conidie : spore de reproduction asexuée.

Conidiogénèse : reproduction asexuée par formation de conidie.

Echinulées : paroi rugueuse (spores ou filaments).

Fusiforme : en forme de fuseau, effilée aux deux extrémités.

Hyalin : clair, sans mélanine.

Hyphe : Un filament mycélien tubulaire cloisonné ou non cloisonné (septé ou non septé) représentant l'élément végétatif constitutif d'un mycélium.

Métule : élément stérile disposé sur un verticille, porte les phialides.

Moisissures : espèces fongiques répandues dans la nature habituellement saprophytes parfois opportunistes, peuvent être à l'origine d'altération de matières organiques (cellulose, cuir ...), certaines sécrètent des substances toxiques pour l'homme et les animaux : les mycotoxines.

Mycélium : [Gr. mykes, Champignon]. L'ensemble des structures filamenteuses (hyphe) constituant les éléments végétatifs d'un Champignon.

Opportuniste : Microorganismes généralement non pathogène mais qui peut provoquer une maladie dans certaines conditions chez un hôte immunodéprimé.

Phialide : [Gr. phiales, fiole]. - Une fructification asexuée, en forme de bouteille, dont l'ouverture en goulot laisse échapper une succession de spores produites à l'intérieur (phialospores).

Saprophyte : microorganisme qui se développe généralement sur la matière en décomposition.

Spore : Structure de petite taille résultant d'une reproduction sexuée ou asexuée et assurant la propagation.

Thalle : [Gr. thallos, branche]. L'ensemble des éléments végétatifs d'organismes très différents (Actinobactéries, « Algues », Champignons...), formant une structure généralement filamenteuse et ramifiée. Le thalle des Champignons est nommé « mycélium ».

Production des antibiotiques par les espèces du genre Penicillium et sélection des meilleures espèces productrices.

Réalisé par : KIDER A.
YAHOUI Kh.

Résumé

Certaines moisissures ont la capacité d'inhiber la croissance des bactéries par la production de substances toxiques (mycotoxines) ou par production des antibiotiques. Dans notre travail, nous isolons différents mycéliums appartenant au genre *Penicillium*, nous les identifions puis nous testons leur capacité à inhiber la croissance de quelques bactéries pathogènes pour l'homme. D'après les résultats obtenus, six espèces sont isolées et identifiées comme étant *P. italicum*, *P. griseofulvum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii*, *P. simplicissimum* et *P. cyclopium*. L'activité d'inhibition est plus forte contre *Pseudomonas aeruginosa* qui est inhibée par toutes les moisissures isolées, suivie de *Listeria monocytogenes* qui est inhibée par quatre mycéliums. A l'inverse, *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* ne sont inhibées par aucune moisissure. Les zones d'inhibition les plus grandes sont données par *P. italicum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii* et *P. cyclopium*.

Mots clés : *Penicillium*, isolement, caractérisation, identification, activité antibactérienne.

Abstract

Some molds have the ability to inhibit the bacteria growth by producing toxic substances (mycotoxins) or antibiotics. In our work, we isolate different *Penicillium* mycelia, we identify them; then we test their antibacterial activity against some bacteria pathogen for humans. The results show that six species are isolated and identified as *P. italicum*, *P. griseofulvum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii*, *P. simplicissimum* and *P. cyclopium*. The inhibition activity is stronger against *Pseudomonas aeruginosa* which is inhibited by all the isolated moulds. *Listeria monocytogenes* is inhibited by four mycelia. But *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* are not inhibited by any mold. The biggest inhibition zones are given by *P. italicum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii* and *P. cyclopium*.

Keywords : *Penicillium*, isolation, characterization, identification, antibacterial activity.

المخلص

بعض العفائن لها القدرة على تثبيط نمو البكتيريا بإنتاج مواد سامة (سموم فطرية) أو بإنتاج مضادات حيوية. لقد قمنا في عملنا هذا بعزل مختلف العفائن التي تنتمي إلى جنس *Penicillium* وتشخيصها مع اختبار قدرتها على تثبيط نمو بعض البكتيريا الممرضة للإنسان. بناء على النتائج المتحصل عليها، ستة أنواع عزلت و شخّصت على أنها *P. italicum*, *P. griseofulvum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii*, *P. simplicissimum*, *P. cyclopium*. إذ كان النشاط التثبيطي كبيرا ضد *Pseudomonas aeruginosa* حيث تثبتت من طرف جميع الفطريات المعزولة، متبوعة بـ *Listeria monocytogenes* والتي تثبتت من طرف أربع عفائن. على عكس ذلك، *Escherichia coli* و *Bacillus subtilis* لم يتم تثبيطهما من طرف أي عفن. حيث مناطق التثبيط الأكبر أعطيت من طرف: *P. italicum*, *P. roquefortii*, *P. camembertii*, *P. cyclopium*.

الكلمات المفتاحية : *Penicillium*، عزل، توصيف، تشخيص، نشاط ضد بكتيري.

