



Caractérisation partielle et distribution des activités osidasiques de l'extrait brut enzymatique de la blatte *Periplaneta americana*

Edmond Ahipo DUE^{*}, Jean Parfait E.N. KOUADIO et Lucien Patrice KOUAME

Laboratoire de Biochimie et Technologie des Aliments, Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Technologie des Aliments, Université d'Abobo-Adjamé, 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

^{*} Auteur correspondant, E-mail: Ahipoedmond@yahoo.fr, Fax: (225) 20 37 81 18, Tel: (225) 05 62 02 61.

RESUME

L'objectif de ce travail était d'utiliser la blatte *Periplaneta americana* comme source de glycosidases à activités originales pouvant intervenir dans la valorisation des molécules alimentaires et non alimentaires des ressources agricoles et comprendre la dégradation des macromolécules alimentaires chez cette espèce de blatte. Cette étude a été réalisée à l'aide de l'extrait brut enzymatique total et des différentes portions du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Il ressort de ce travail que l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana* possède un équipement glycosidasique dont l'action s'exerce aussi bien sur les polyholosides, les hétérosides que sur les oligosides. De façon générale, ces activités osidasiques obtenues à des pH optimums acides sont mésophiles avec des températures optimales comprises entre 45 et 60 °C dans le tampon acétate. Cependant, les activités α -galactosidasique, α -mannosidasique, β -glucosaminidasique et α -xylosidasique sont thermophiles. L'étude de l'inactivation thermique montre que certaines de ces activités sont stables (activités xylanasiq, lichnanasiq, amylasiq, α -glucosidasique et invertasiq). La comparaison des activités enzymatiques obtenues dans les différentes parties du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana* montre que la majorité des enzymes étudiées sont surtout distribuées au niveau des intestins moyen (mésenteron) et antérieur et dans une moindre mesure au niveau de la panse. Ce qui nous fait penser que la dégradation des macromolécules en sucres simples chez cette blatte a lieu principalement dans ces portions. Ces résultats montrent que la blatte *Periplaneta americana* possède une richesse en diverses glycosidases qui pourraient constituer après purification des outils enzymatiques indispensables dans les industries agro-alimentaire, pharmaceutique et du textile.

© 2008 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: Blatte, *Periplaneta americana*, activités osidasiques, distribution, tube digestif.

INTRODUCTION

La blatte *Periplaneta americana* comme la plupart des blattes est un insecte omnivore qui fait partie du grand groupe des insectes xylophages (Rouland et Lenoir-Labe, 1998 ; Kruden et Markovetz, 1987). De nombreux travaux ont été réalisés sur cette espèce de blatte. Si la plupart des travaux portent sur les domaines médicaux et pharmaceutiques, généralement en neurophysiologie (Bernard et Thomas, 1988 ; Bidat et al., 1993 ; Iraneta et al., 1999 ; Jahagirdar et al., 1990), l'aspect biochimique n'est pas

suffisamment exploré. En effet, la richesse enzymatique, notamment les glycosidases de la blatte *Periplaneta americana* sont peu valorisées, (Lima et al. 2003 ; Kouamé et al, 2004, 2005). Ces glycosidases, enzymes catalysant des réactions biochimiques et indispensables en nutrition, sont d'une grande importance dans les industries pharmaceutiques et agroalimentaires. Ces enzymes, largement utilisées en glycobiologie notamment dans la production du sirop de glucose à partir de l'amidon, des arômes olfactifs intéressants, ..., sont indispensables

© 2008 International Formulae Group. All rights reserved.

en brasserie, biscuiterie, panification etc. (Pandey et al., 2000; Jens et Torben, 2000).

Afin de rechercher de nouvelles sources enzymatiques à activité originale capables de valoriser les molécules alimentaires et non alimentaires des ressources agricoles d'une part et d'autre part de mieux appréhender la nutrition chez cette blatte, nous avons entrepris l'étude des osidases de l'extrait brut enzymatique de la blatte *Periplaneta americana* et la distribution des activités osidasiques les plus significatives quantitativement le long de son tube digestif.

MATERIEL ET METHODES

Produits chimiques

Les produits chimiques suivants proviennent de Sigma Chemical Company : amidon soluble, glucose oxydase, catalase, para-nitrophényl (*p*NP) - α - et β -D-xylopyranoside, *p*NP- α -L et *p*NP- β -D-fucopyranoside, *p*NP- α - et β -D-galactopyranoside, *p*NP- α - et β -D-glucopyranoside, *p*NP- α - et β -D-mannopyranoside, *p*NP- α -L-arabinopyranoside, *p*NP- β -N-acétyl-glucosaminide ; *p*NP- β -N-acétyl-galactosaminide, carboxyméthylcellulose (CMC), pullulane, arabinogalactane, lactose et saccharose. Tous les autres produits chimiques utilisés sont de qualité analytique.

Origine du matériel biologique

La blatte *Periplaneta americana* provient des habitations et des entrepôts des quartiers de la ville d'Abidjan en Côte d'Ivoire.

Préparation de l'extrait brut enzymatique total de la blatte

Trente (30) grammes de blatte entière *Periplaneta americana* sont lavés à l'eau distillée, essorés sur papier filtre puis placés dans un récipient disposé dans un bac à glace. Elles sont ensuite broyées dans 100 ml de NaCl 0,9 % (p/v) à l'aide d'un microbroyeur Ultraturrax (type TP 10/18). Le broyat obtenu est centrifugé pendant 20 minutes à 5000 t/min à 4 °C dans une centrifugeuse ALRESA. Le surnageant obtenu constitue l'extrait brut enzymatique total.

Dissection de la blatte

La dissection du tube digestif est effectuée sur la blatte vivante par observation à la loupe binoculaire, dans un bac à glace déposé dans un récipient contenant de la

glace. Les différentes parties [intestin antérieur, intestin moyen (mésenteron), panse, colon et rectum] sont séparées. Les portions du tube digestif sont conservées à 0 °C au fur et à mesure qu'elles sont prélevées.

Préparation des extraits bruts enzymatiques des différentes parties du tube digestif

Cent (100) à deux cents (200) portions des différentes parties du tube digestif de plusieurs blattes adultes sont broyées dans 20 ml d'une solution de NaCl 0,9 % (p/v) placée dans un bac à glace à l'aide d'un microbroyeur Ultraturrax TP 25. Les broyats sont ensuite centrifugés à 5000 t/min à 4 °C pendant 20 minutes dans une centrifugeuse ALRESA. Le surnageant obtenu constitue l'extrait brut enzymatique.

Dosage des activités polysaccharidasiques

L'hydrolyse enzymatique des polysaccharides libère des sucres réducteurs qui peuvent être dosés par la méthode de Bernfeld (1955) utilisant le DNS (acide 3,5 Dinitrosalicylique).

Le milieu réactionnel est composé de :
-500 μ l de tampon acétate 100 mM, pH 5,0 ;
-200 μ l de polysaccharide 1% (p/v)
-100 μ l d'extrait brut enzymatique.

Ce milieu est incubé à 37 °C pendant 30 minutes dans un bain marie. Ensuite, 500 μ l de DNS y sont ajoutés. Le nouveau mélange est homogénéisé et chauffé au bain marie bouillant pendant 5 minutes. La densité optique est mesurée au spectrophotomètre (Spectronic 20 D+) à 540 nm. Les activités sont exprimées en μ g de sucres réducteurs libérés par minute et par mg de protéine grâce à une droite d'étalonnage obtenue à partir du glucose à 1 mg/ml.

Dosage des activités oligosaccharidasiques

Les oligosaccharides sous l'action des enzymes fournissent du glucose. La quantité de glucose libéré peut être dosée par la méthode de Kunst et al. (1984) utilisant la glucose oxydase-peroxydase.

L'activité oligosaccharidasique est mesurée dans un volume final de 250 μ l contenant 125 μ l de tampon acétate (20 mM) pH 5,0, 75 μ l d'oligosaccharide (33,4 mM) et 50 μ l d'extrait brut enzymatique après incubation pendant 10 min à 37 °C.

Dosage des activités *p*NP-glycosidasiques

Le milieu réactionnel constitué de:
- 150 μ l de tampon acétate ou phosphate 100 mM, pH 5,0;
- 75 μ l de *p*NP-glycoside 5 mM;
- et 50 μ l d'extrait brut enzymatique est incubé dans un bain-marie à 37 °C pendant 10 minutes. La réaction est arrêtée en alcalinisant le milieu avec 3 ml de carbonate de sodium 1 M. La quantité de para-nitrophénol (*p*NP) libéré est mesurée au spectrophotomètre (Spectronic 20 D+) à 410 nm contre un témoin ne contenant pas d'enzyme. L'activité spécifique est exprimée en μ mole de *p*NP libéré par minute et par mg de protéine.

Dosage des protéines

Les protéines sont dosées par la méthode de Lowry et al. (1951).

Traitement des données

Les données obtenues ont été traitées statistiquement par l'analyse des variances et le test de comparaison multiple de Duncan utilisant le système SAS 8e version. Le seuil de significativité du test statistique est atteint à $p < 0.05$.

RESULTATS

Dégradation des osides par l'extrait brut enzymatique total de *Periplaneta americana*

Activités endoglycosidasiques

Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut enzymatique total contient des activités endoglycosidasiques (Tableau 1). L'activité amylasique (1,98 \pm 0,45 UI/mg) est la plus élevée et représente à elle seule 40,28% de l'activité totale. L'activité lichenanasique est tout aussi importante (1,27 \pm 0,35 UI/mg). En ce qui concerne les activités pullulanasique et xylanasique, elles représentent chacune environ le quart de l'activité amylasique. Les activités cellulasiqque et arabinogalactanasique sont les plus faibles. L'analyse des variances montre une différence significative au seuil de 5% entre les deux activités polysaccharidasiques les plus élevées (activités amylasique et lichenanasique). En revanche, il n'y a pas de différence significative entre les activités pullulanasique et xylanasique au seuil de 5%.

Activités exoglycosidasiques

Cette étude révèle que l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana* contient des activités exoglycosidasiques dont la plus élevée est l'activité invertasique (1,09 \pm 0,10 UI/mg), (Tableau 2). En ce qui concerne les hétérosides, les trois activités majeures sont les activités α -glucosidasique, β -glucosidasique et β -fucosidasique. Les activités β -glucosaminidasique, β -galactosaminidasique et dans une moindre mesure l'activité α -fucosidasique ne sont pas négligeables. Quant aux autres activités, elles sont faibles. De plus l'analyse des variances entre l'activité oligosaccharidasique la plus élevée (invertasique) et toutes les autres montre une différence significative au seuil de 5%. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les activités α -glucosidasique, β -glucosidasique et β -fucosidasique de l'extrait brut de la blatte *Periplaneta americana* à ce même seuil.

Conditions optimales d'hydrolyse endoglycosidasiques : Influence du pH et de la température

Les activités amylasique, arabinogalactanasique et lichenanasique sont maximales dans une zone de pH compris entre 5,0 et 5,6. Quant aux activités cellulasiqque, xylanasique et pullulanasique, elles montrent des zones de pH optimums un peu plus large comprise entre 4,0 et 5,6 (Tableau 1).

Les températures optimales d'hydrolyse des activités amylasique, lichenanasique, pullulanasique et xylanasique se situent dans une zone de valeurs comprises entre 45 et 55 °C, alors que celle de l'activité cellulasiqque présente un domaine de températures plus large (45-60 °C). La température optimale d'hydrolyse la plus élevée (70 °C) est celle de l'activité arabinogalactanasique (Tableau 1). Cette activité présente de ce fait un caractère thermophile.

L'étude de l'inactivation thermique réalisée en 6 h de préincubation montre qu'à 50°C, les activités amylasique, lichenanasique et pullulanasique sont conservées à plus de 50%. L'activité résiduelle est de 61 % à 70 °C pour l'arabinogalactanase. Cependant, une perte d'environ 30 % des activités xylanasique et cellulasiqque est observée après une préincubation à 55 °C (Figure 1).

Tableau 1: Activités et conditions optimales d'hydrolyse endoglycosidasiques de l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana*.

Substrat	Enzyme	Activité spécifique (UI/mg)	pH	Température optimale (°C)
Amidon	Amylase	1,98±0,45 ^a	5 - 5,6	45 - 55
Pullulane	Pullulanase	0,587±0,05 ^c	4 - 5	50
C.M.C	Cellulase	0,33±0,21 ^d	4 - 5	45 - 60
Xylane	Xylanase	0,478±0,11 ^c	4 - 5,6	55
Arabinogalactane	Arabinogalactanase	0,27±0,15 ^d	5,6	70
Lichenane	Lichenanase	1,27±0,35 ^b	5 - 5,6	50

Les valeurs données en UI/mg ont été obtenues après trois essais; Les valeurs ayant les mêmes lettres en exposant sur la même colonne ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Tableau 2: Activités et conditions optimales d'hydrolyse exoglycosidasiques de l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana*.

Substrat	Enzyme	Activité spécifique (UI/mg)	pH	Température optimale (°C)
pNP- α -Glc	α -glucosidase	0,57±0,40 ^b	5-5,6	50
pNP- α -Gal	α -galactosidase	0,042±0,11 ^c	5-5,6	65
pNP- α -Fuc	α -fucosidase	0,108±0,06 ^d	5,6-6	55 - 65
pNP- α -Man	α -mannosidase	0,125±0,01 ^d	5-6	65
pNP- α -Ara	α -arabinosidase	0,05±0,31 ^e	5,4	55 - 60
pNP- α -Xyl	α -xylosidase	0,027±0,15 ^g	3,6-5,6	80
pNP- β -Glc	β -glucosidase	0,51±0,02 ^b	4,6-5	50 - 60
pNP- β -Gal	β -galactosidase	0,057±0,06 ^e	3,6-5	60
pNP- β -Fuc	β -fucosidase	0,48±0,03 ^b	3,6-5,6	50 - 60
pNP- β -Man	β -mannosidase	0,08±0,01 ^f	4,6-5	60
pNP- β -Xyl	β -xylosidase	0,075±0,28 ^f	3,6-5	60
pNP- β -GlcAc	β -glucosaminidase	0,34±0,10 ^c	5-5,6	65 - 70
pNP- β -Gal Ac	β -galactosaminidase	0,277±0,08 ^c	5,6-6	65
Saccharose	Invertase	1,09±0,10 ^a	5-5,6	45 - 50

Les valeurs données en UI/mg ont été obtenues après trois essais; Les valeurs ayant les mêmes lettres en exposant sur la même colonne ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Conditions optimales d'hydrolyse exoglycosidasiques : Influence du pH et de la température

Cette étude révèle une zone de pH d'activités maximales comprises entre 3,6 et 6,0 pour l'ensemble des activités exoglycosidasiques testées au niveau de l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana* (Tableau 2).

Les températures optimales d'hydrolyse sont comprises dans une zone de 45 et 65 °C pour l'ensemble des activités exoglycosidasiques testées. Cependant, il est à souligner la valeur très élevée de la

température optimale de l'activité α -xylosidasique avoisinant 80 °C et lui conférant un caractère d'enzyme thermophile (Tableau 2).

Il ressort de l'étude de l'inactivation thermique, que certaines activités osidasiques les plus significatives, de l'extrait brut enzymatique total, en l'occurrence les activités β -glucosidasique et β -fucosidasique perdent plus de 80 % de leur pouvoir catalytique après 6h de préincubation à 60 °C. Les activités α -glucosidasique et invertasique sont conservées à environ 70 % à 50 °C. Quant aux activités β -galactosaminidasique et β -glucosaminida-

sique, leurs activités résiduelles sont respectivement de 28,42 et 50% à 65 °C (Figure 2).

Distribution des activités osidasiques les plus significatives au niveau du tractus digestif de la blatte *Periplaneta americana*

Activités endoglycosidasiques

- L'activité amylasique est fortement présente dans toutes les portions du tube digestif surtout au niveau de l'intestin antérieur et de la panse (respectivement 1,07 et 1,08 UI/mg de protéine) (Figure 3).

- Les activités pullulanasique et xylanasique sont essentiellement rencontrées au niveau de l'intestin antérieur (0,49 et 0,46 UI/mg de protéine) (Figure 3).

- Les activités arabinogalactanasique et cellulasique sont fortes uniquement dans l'intestin antérieur (0,40 et 0,46 UI/mg) et faibles dans le mesenteron (0,10 et 0,12 UI/mg) et la panse. Aucune de ces activités n'est observée au niveau du colon et du rectum (Figure 4).

L'activité lichenanasique est plus forte dans l'intestin antérieur (0,63 UI/mg). Cette activité représente environ une fois et demi

celles rencontrées au niveau du mésentéron et de la panse. Cependant, elle est faible au niveau du colon (0,18 UI/mg) (Figure 4).

Activités exoglycosidasiques

- Les activités α et β -glucosidasique et invertasique sont révélées dans tous les organes du tractus digestif. Cependant, elles sont intenses dans l'intestin antérieur, le mésentéron et la panse avec des activités spécifiques comprises entre 3,25 et 8,16 UI/mg de protéine) (Figure 5).

- L'activité β -fucosidasique est fortement présente au niveau de l'intestin antérieur, du mésentéron et de la panse (respectivement 2,76 ; 3,21 et 2,79 UI/mg). Cette activité est faiblement représentée dans le colon et surtout dans le rectum (0,64 et 0,26 UI/mg) (Figure 6).

- Les activités β -glucosaminidasique et β -galactosaminidasique, similaires, sont plus élevées au niveau de l'intestin antérieur (2,42 et 2,33 UI/mg de protéine) et représentent environ 1,5 fois celles obtenues au niveau du mésentéron. Ces activités sont par contre faibles au niveau de la panse (0,81 et 0,33 UI/mg) et inexistantes au niveau du rectum et du colon (Figure 6).

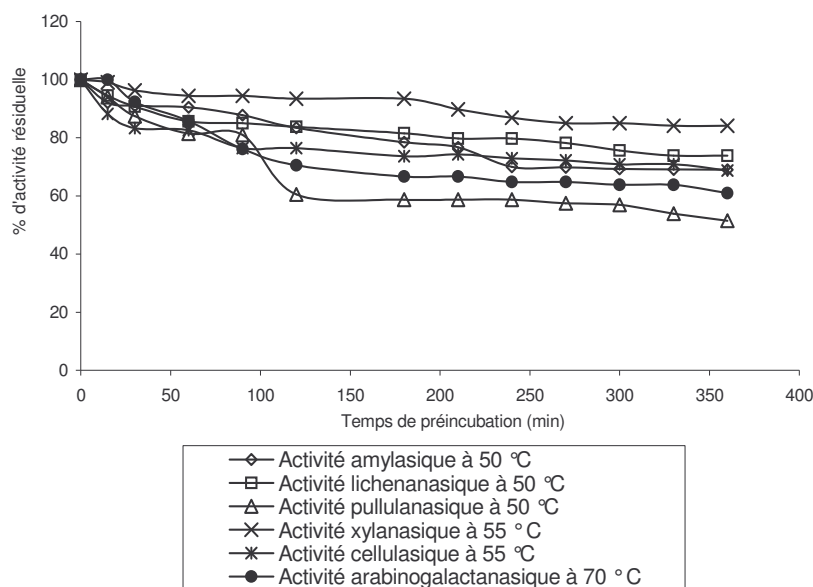


Figure 1: Inactivation thermique des activités endoglycosidasiques de la blatte *Periplaneta americana* aux températures optimales d'hydrolyse. La préincubation est faite à la température optimale d'hydrolyse pour chaque enzyme pendant des temps allant de 0 à 360 min et l'activité résiduelle est mesurée à 37 °C en prélevant des aliquotes à intervalle de temps indiqué.

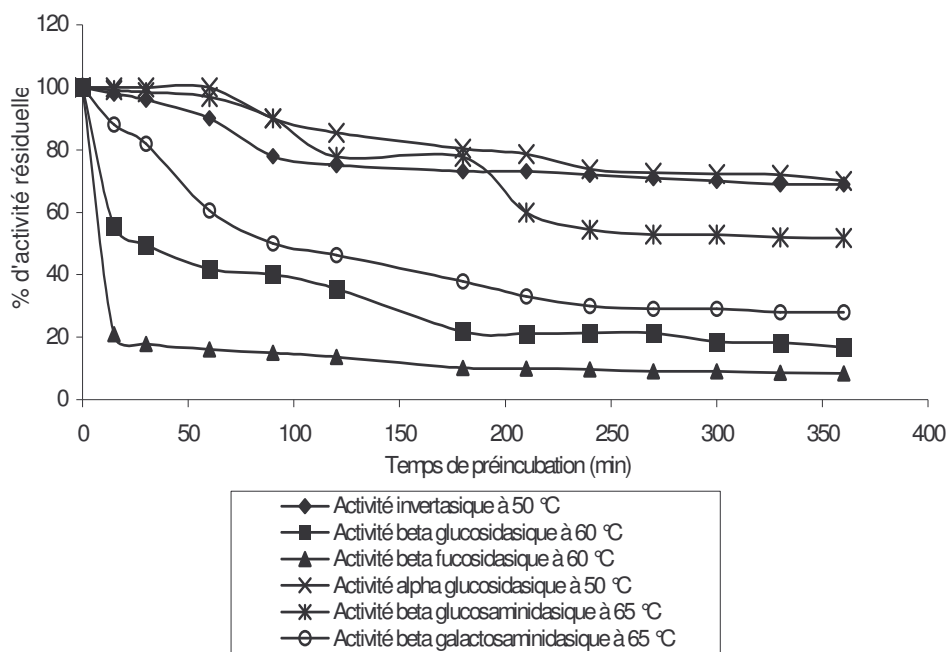


Figure 2: Inactivation thermique des activités exoglycosidasiques de la blatte *Periplaneta americana* aux températures optimales d'hydrolyse. La préincubation est faite à la température optimale d'hydrolyse pour chaque enzyme pendant des temps allant de 0 à 360 min et l'activité résiduelle est mesurée à 37 °C en prélevant des aliquotes à intervalle de temps indiqué.

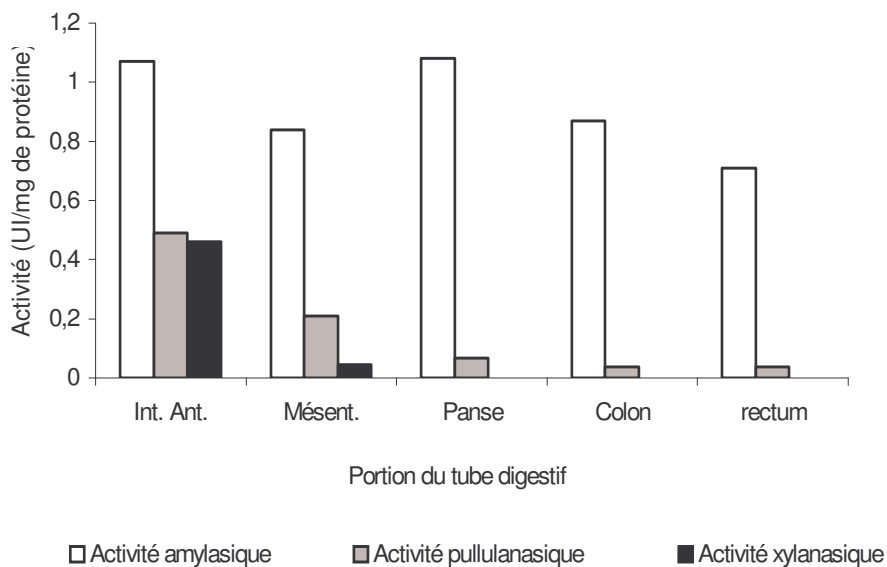


Figure 3: Distribution des activités amylasique, pullulanasique et xylanasique du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Int. Ant : Intestin antérieur ; Méésent : Méésentéron.

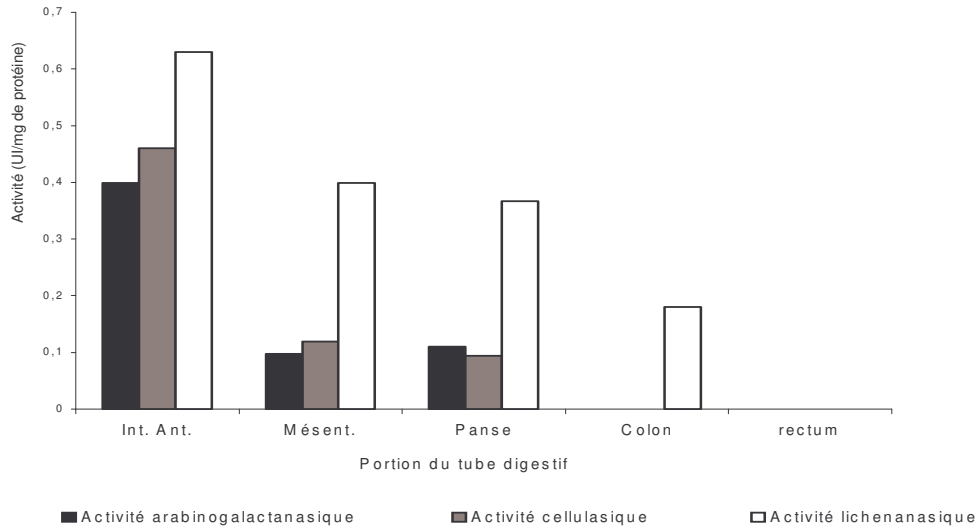


Figure 4: Distribution des activités cellulosique, lichenanasique et arabino-galactanasique du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Int. Ant : Intestin antérieur ; Mésent : Mésenteron.

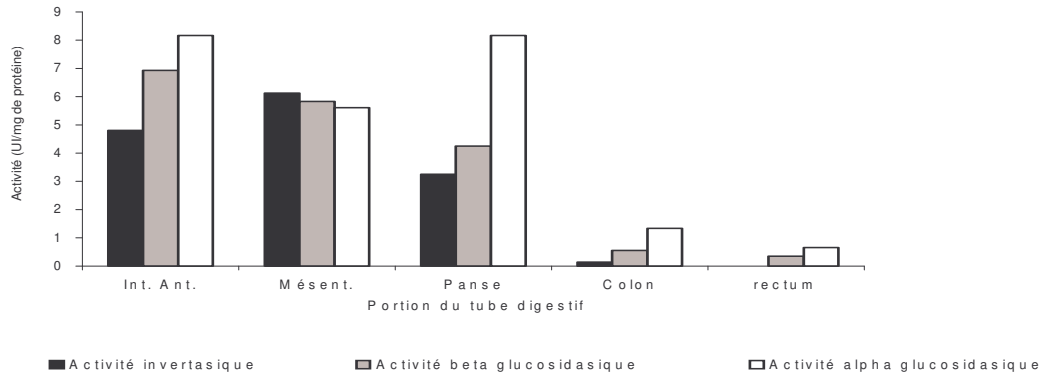


Figure 5: Distribution des activités α -glucosidasique, invertasique et β -glucosidasique du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Int. Ant: Intestin antérieur ; Mésent: Mésenteron.

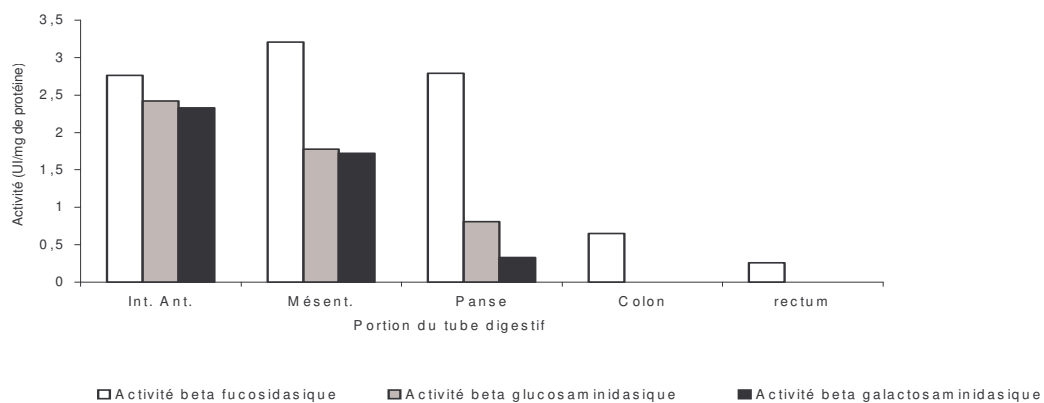


Figure 6: Distribution des activités β -fucosidasique, β -glucosaminidasique et β -galactosaminidasique du tube digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Int. Ant: Intestin antérieur ; Mésent: Mésenteron.

DISCUSSION

La dégradation des osides par l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana* montre une richesse en diverses glycosidases dont les actions s'exercent aussi bien sur les polyholosides, les hétérosides que sur les oligosides. La présence des glycosidases a été mise en évidence chez d'autres espèces d'insectes tels que les termites *Macrotermes mulleri* (Rouland, 1986), *Macrotermes bellicosus* (Matoub, 1993) et *Macrotermes subhyalinus* (Kouamé, 1994). La présence de toutes ces glycosidases suggère que la blatte *Periplaneta americana* tire une partie importante de son énergie de l'utilisation des carbohydrates tels que l'amidon, la cellulose et le xylane, présents dans la matière végétale.

Au niveau des activités polysaccharidasiques testés, l'activité amylasique est la plus élevée. L'activité lichenanasique et dans une moindre mesure l'activité pullulanasique sont aussi importantes. La relative faiblesse de l'équipement cellulastique, xylanastique et surtout arabinogalactanasique de l'extrait brut enzymatique total de la blatte *Periplaneta americana* pourrait s'expliquer par le fait que les principaux composants des végétaux ne peuvent constituer l'essentiel de son alimentation. D'autre part, étant donné que les travaux ont été effectués avec des broyats totaux, ce comportement pourrait aussi s'expliquer par la présence de certaines substances inhibitrices de ces activités dans les broyats. En effet, la carapace de la blatte *Periplaneta americana* contient des allergènes dont les majeurs sont Bla g1 et Bla g2 qui a la particularité d'inactiver la protéase aspartique. De façon générale, ces allergènes inhibent l'action de plusieurs protéines enzymatiques (Ngom et al. 1999 ; Thargam-Sudha et al. 2006 ; Sookkrung et al. 2006). Quant aux hétérosides testés, les activités α et β -glucosidasiques et dans une moindre mesure l'activité β -fucosidasique sont les plus élevées. Les autres activités hétérosidasiques testées, bien qu'existantes sont beaucoup moins importantes. Les résultats montrent qu'à une forte activité amylasique est associée une forte activité α -glucosidasique, toutes deux étant des enzymes amylolytiques intervenants dans la saccharification de l'amidon. A cette cohérence étroite entre les activités amylasique et α -glucosidasique,

s'ajoute une forte activité invertasique qui pourrait être α -glucosidasique et/ou β -fructosidasique. Une telle cohérence ne se rencontre cependant pas entre les activités cellulastique et β -glucosidasique. En effet, à une faible activité cellulastique correspond une forte activité β -glucosidasique. Pris dans leur ensemble, ces résultats nous permettent de dire que la blatte *Periplaneta americana* pourrait constituer une source intéressante d'enzymes amylolytiques nécessaire pour l'hydrolyse des produits amylicés utilisables en glycobiologie et dans les industries agroalimentaires.

Ces activités glycosidasiques, comparables à ceux d'autres sources possèdent des pH optimums d'hydrolyse très voisins. Ces valeurs se situent dans la zone générale de pH optimums d'hydrolyse des glycosidases de plusieurs insectes. Cette zone se situe entre 4,0 et 6,0 (Kouamé, 1994 ; Matoub, 1993). Par contre, cette zone est moins large que celle des xylosidases de la bactérie *Bacillus halodurans* (pH 3,5-8,5, Smaali et al., 2006) et de la pomme *Pomacea canaliculata* (pH 4,0-10, Hirata et al., 1996).

L'étude des activités en fonction de la température montre que la majorité des activités glycosidasiques identifiées et étudiées chez *Periplaneta americana* présentent des activités maximales à des températures comprises dans la gamme allant de 45 à 60 °C. Ce sont des enzymes mésophiles. Ces résultats sont comparables à ceux des activités hydrolasiques du suc digestif d'*Achatina balteata* (Colas et Attias, 1975). Cependant, les activités α -galactosidasique, α -mannosidasique, β -glucosaminidasique et α -xylosidasique présentent un caractère thermophile. Ces enzymes, extraits et purifiées de cette blatte pourraient de ce fait constituer de bons outils enzymatiques dans les industries agroalimentaires et pharmaceutiques où les réactions sont effectuées parfois à des températures élevées. En effet, les enzymes thermophiles sont plus stables que les enzymes mésophiles. Elles sont aussi résistantes aux pH acides ou basiques, ce qui permet de prolonger leur durée de vie et de mieux supporter l'action d'agents dénaturants et de solvants. De plus, les conditions de mise en œuvre des réactions biochimiques à grande échelle étant souvent limitées par les paramètres physicochimiques de l'eau,

l'utilisation des enzymes thermophiles à des fins industrielles est très attrayante (Bruins et al. 2001 ; Vieille et al. 2001 ; Satyanarayana et al. 2005 ; Polar and Reysenbach, 2006 ; Turner et al. 2007).

D'autre part, l'étude de l'inactivation thermique des activités glycosidiques de la blatte *Periplaneta americana* montre des activités plus stables dans le tampon acétate à 37 °C qu'à leurs températures optimales d'hydrolyse. Ces activités enzymatiques sont dans l'ensemble relativement stables. Ce comportement constitue un atout majeur pour la purification et l'utilisation industrielle éventuelle de ces glycosidases de la blatte *Periplaneta americana*. Avec les activités β -glucosidase et β -fucosidase, il est observé un comportement contraire. En effet, ces enzymes sont très peu stables, ce qui laisse présager des difficultés éventuelles quant à leurs purifications.

La distribution des activités glycosidiques montre que la majorité des activités étudiées se rencontrent au niveau de toutes les portions du suc digestif de la blatte *Periplaneta americana*. Ces activités sont surtout localisées au niveau des intestins moyen, antérieur et dans une moindre mesure au niveau de la panse. La distribution des activités endoglycosidiques a montré des activités particulièrement élevées avec l'amylase, la lichenanase et relativement avec la pullulanase. En ce qui concerne les activités exoglycosidiques, l'activité β -fucosidase en plus des activités α et β -glucosidases sont les plus élevées. Au vu de ces résultats, il est à remarquer que la dégradation des polysaccharides en sucres simples assimilables principalement au niveau du mésentéron se produirait dans ces portions (intestin antérieur, mésentéron, panse) en accord avec Wall et al. (1975). Par ailleurs, cette étude nous souligne également une intense activité des enzymes amylolytiques dans ces mêmes portions. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Placier (1999) sur l'appareil digestif de l'escargot *Archachatina ventricosa*. En effet, cet auteur a aussi constaté que l'activité de la β -galactosidase acide qu'il étudiait était rencontrée au niveau de toutes les portions du tube digestif de l'Achatine. Cependant, il nous est impossible de déterminer avec précision l'origine de chaque enzyme. Il aurait fallu

associer à ces travaux sur l'étude de la distribution d'activités enzymatiques, une étude immunohistochimique plus précise, qui nous aurait permis d'affiner cette étude de localisation subcellulaire comme l'ont montré récemment certains auteurs sur la localisation de l'amylase dans l'intestin moyen de la blatte *Periplaneta americana* et de la larve de l'insecte *Tenebrio molitor*. En effet, Lima et al. (2003), ont localisé l'activité amylosique dans deux zones de l'intestin moyen de la blatte *Periplaneta americana*. Cette observation a été aussi soulignée par Hokari et al. (2003) qui ont localisé l' α -amylase dans les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale du rat.

Ces résultats permettent de dire que la blatte *Periplaneta americana*, insecte omnivore mais beaucoup plus xylophage possède une variété d'activités glycosidiques qui pourraient constituer après purification des outils enzymatiques indispensables dans les industries agro-alimentaire, pharmaceutique et du textile.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bernard J, Thomas D. 1988. Distribution of glutamate decarboxylase like immunoreactivity in the sixth abdominal ganglion of the cockroach *Periplaneta americana*. *Cell. Tissue Res.*, **253**: 129-135.
- Bernfeld P. 1955. Amylase β and α (Assay Method). In *Methods in Enzymology I*, Colowick, Kaplan (eds). Academic press: New-york; 149-154.
- Bidat E, Chevalier MC, Croisier C, Guerin L, Guerin B, Scheinm P. 1993. L'apparition de la blatte dans la poussière de maison. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, **33**: 22-29.
- Bruins ME, Janssen AEM, Boom M. 2001. Thermozyms and their applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **90**: 155-186.
- Colas B, Attias J. 1975. Caractérisation de quelques activités hydrolasiques du suc digestif d'*Achatina baltéata*. *Biochimie*, **57**: 1019-1027.
- Hirata K, Nakahara Y, Kimura Y, Funatsu G. 1996. Purification and some properties of a beta-xylosidase and alpha-fucosidase from apple snails (*Pomacea canaliculata*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**: 249-254.

- Hokari S, Miura K, Koyama I, Kobayashi M, Matsunaga T, Lino N, Komoda T. 2003. Expression of alpha amylase isozymes in rat tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, **135**: 63-69.
- Iraneta SG, Duschak VG, Rodriguez SM, Seoane M.A, Albonico JF, Alonso A. 1999. Proteinase and gelatinolytic activities of house dust mite and cockroach extracts. *J. Investing. Allergol. Clin. Immunol.*, **4**: 235-240.
- Jahagirdar AP, Gole JW, Orr GH, Viswanatha T, Downer RG. 1990. Stimulation of carbohydrate metabolising enzymes by synthetic hypertrealosemic peptides in thoracic musculature of the American cockroach, *Periplaneta americana*. *Arch. Int. Physiol. Biochem.*, **98**: 231-235.
- Jens EN, Torben VB. 2000. Protein engineering of bacterial α -amylases. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1543**: 253-274.
- Kouamé LP. 1994. Purification et études physico-chimiques de deux β -glycosidases du termite *Macrotermes subhyalinus*. *Termitidae, M.* Thèse Doct. 3^e cycle ès-Sciences Naturelles, Univ. Côte d'Ivoire, 92 P.
- Kouamé LP, Due AE, Niamke LS, Kouame AF, Kamenan A. 2004. Synergism of cockroach (*Periplaneta americana*) α -amylase and α -glucosidase hydrolysis of starches. *African Journal of Biotechnology*, **3**: 529-533.
- Kouamé LP, Due AE, Niamke LS, Kouame AF, Kamenan A. 2005. Synthèses enzymatiques de néoglucoconjugués catalysées par l' α -glucosidase purifiée de la blatte *Periplaneta americana* (Linnaeus). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **9**: 35-42.
- Kruden DL, Markovetz AJ. 1987. Microbial ecology of the cockroach gut. *Ann. Rev. microbial.*, **41**: 617-643.
- Kunst A, Thomas RJ, Gibbs MD. 1984. Glycosides measurement with glucose-oxidase method. *Biochem.*, **123**: 225-236.
- Lima H, Cruz MV, Terra WR, Ribeiro AF. 2003. Immunolocalization of amylase in the midgut enterocytes of *Periplaneta americana* (Dictyoptera, Blattidae). *Acta Microscopica*, **12**: 361-362.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265-275.
- Matoub M. 1993. La symbiose termite-champignon chez *Macrotermes bellicosus* (Termitidae, Macrotermitinae). Rôle des enzymes acquises dans la xylanolyse. Thèse de Doctorat, Université Paris XII, Val-De-Marne (France). 187 P.
- Ngom AS, Koffi N, Blessey M, Aka-Danguy E. 1999. Prevalence of allergy to cockroaches in the African intertropical zone: *Allergie et Immunologie*, **31**: 351-356.
- Pandey A, Nigam P, Soccol CR, Soccol VT, Singh D, Mohan R. 2000. Advances in microbial amylases. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **31**: 135-152.
- Placier G. 1999. Caractérisation d'une β -D-galactosidase acide d'*Achatine* strictement spécifique du seul résidu β -D-galactosyle. Applications potentielles. Thèse de Doctorat de Chimie-Biologie. Université de Nantes (France), 162 p.
- Podar M, Reysenbach AL. 2006. New opportunities revealed by biotechnological explorations of extremophiles. *Current Opinion in Biotechnology*, **17**: 250-255.
- Rouland C, Lenoir-Labe F. 1998. Microflore intestinale symbiotique des insectes xylophages : mythe ou réalité ? *Cahiers Agricultures.*, **7**: 37-47.
- Rouland C. 1986. Contribution à l'étude des osidases digestives de plusieurs espèces de termites africains. Thèse Doct. Es Sc. Univ. Paris Val-De-Marne (France), 210p.
- Satyanarayana T, Raghukumar C, Shivaji S. 2005. Extremophilic microbes: Diversity and perspectives. *Current Science*, **89**: 78-90.
- Smaali I, Rémond C, O'Donohue MJ. 2006. Expression in *Escherichia coli* and characterization of beta-xylosidases GH39 and GH-43 from *Bacillus halodurans* C-125. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **73**: 582-590.
- Sookrung N, Chaicumpa W, Tungtrongchitr A, Vichyanond P, Bunnag C, Ramasoota P, Tongtawe P, Sakolvaree Y, Tapchaisri P. 2006. *Periplaneta americana* arginine kinase as a major cockroach allergen among Thai patients with major cockroach allergies. *Environ Health Perspect.*, **114**: 875-80.

- Thangam-Sudha V, Arora N, Sridhara S, Shailendra NS, Singh PB. 2007. Biopotency and identification of allergenic proteins in *Periplaneta americana* extract for clinical applications. *Biologicals*, **35**: 131-137
- Turner P, Mamo G, Karlsson EN. 2007. Potential and utilization of thermophiles and thermostable enzymes in biorefining. *Microb Cell Fact.*, **6**: 9.
- Vieille C, Zeikus GJ. 2001. Hyperthermophilic enzymes: sources, uses, and molecular mechanisms for thermostability. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **65**: 1-43.
- Wall BJ, Oschman JL, Schmidt BA. 1975. Morphology and function of malpighian tubules and associated structures in the cockroach, *Periplaneta americana*. *J. Morphol.*, **146**: 256-306.