

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abderrahmane Mira de Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée



Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Thème :

Etude de quelques propriétés probiotiques de *Saccharomyces*

Cerevisiae.

Présenté par :

L'étudiante Ait Bara Sabrina

En présence du jury :

M^{me} Iders N. Présidente MCA

M^r Belhadi D. Examineur MCA

M^{me} Tetili F. Encadreur MCA

2023/2024

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu ma promotrice Mme Tetili pour son encadrement et ses précieux conseils durant toute ma période de stage.

Je remercie Mme Iders qui me fait l'honneur de présider le jury et d'évaluer mon travail.

Je tiens à remercier très chaleureusement Mr Belhadi d'avoir accepté et consacré du temps pour examiner notre travail.

Merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à mon succès académique.

S. Ait Bara

Dédicace

*A mes chers parents, pour leur amour
inconditionnel et leur soutien indéfectible. Merci
de m'avoir encouragé à poursuivre mes rêves.*

*A toute ma famille et amis pour tout le soutien
et encouragement.*

*A tous les lecteurs, présents et futurs, qui
trouveront ce travail comme référence. Ce mémoire
est pour vous.*

S. Ait Bara

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Synthèse bibliographique

| | |
|--|----|
| <u>I. Généralité sur <i>S. cerevisiae</i></u> | 2 |
| <u>I.1. Historique</u> | 2 |
| <u>I.2. Définition</u> | 2 |
| <u>I.3. Classification</u> | 2 |
| <u>I.4. Caractéristiques</u> | 3 |
| <u>I.5. Génome de <i>S. cerevisiae</i> et reproduction</u> | 4 |
| <u>I.6. Besoins nutritionnels de la levure</u> | 5 |
| <u>I.7. Besoins physico-chimiques</u> | 6 |
| <u>II. Métabolisme</u> | 6 |
| <u>II.1. Métabolisme oxydatif</u> | 6 |
| <u>II.2. Métabolisme fermentaire</u> | 7 |
| <u>II.3. Métabolisme oxydo-réductif ou Métabolisme respiro-fermentaire</u> | 7 |
| <u>III. Domaines d'application de <i>S. cerevisiae</i></u> | 7 |
| <u>IV. Propriétés probiotiques de <i>S. cerevisiae</i></u> | 8 |
| <u>IV.1. Critères probiotiques de <i>S. cerevisiae</i></u> | 8 |
| <u>IV.1.1. Critères de sécurité</u> | 8 |
| <u>IV.1.2. Critères fonctionnels</u> | 9 |
| <u>IV.1.3. Critères technologiques</u> | 9 |
| <u>IV.2. Substances antimicrobiennes produites par <i>S. cerevisiae</i></u> | 10 |
| <u>IV.2.1. Saccharomycine</u> | 10 |
| <u>IV.2.2 Peptides</u> | 10 |
| <u>IV.2.3 Acides gras volatils (AGV)</u> | 11 |
| <u>V. Les différents mécanismes antimicrobiens des levures sont résumés dans la figure 03 suivante</u> | • |

Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| I. Origine des souches | 12 |
| II. Revivification et vérification de la pureté des souches | 12 |
| III. Standardisation des souches | 12 |
| IV. Etude du potentiel probiotique de <i>S. cerevisiae</i> | 13 |
| IV.1. Résistance à l'acidité..... | 13 |
| IV.2. Résistance aux sels biliaires..... | 13 |
| IV.4. Auto-agrégation | 14 |
| IV.5. Activité antioxydante | 14 |
| IV.6. Activité de la gélatinase | 15 |
| IV.7. Etude de l'activité antibactérienne..... | 15 |
| IV.7.1. Préparation des cultures fraîches..... | 15 |
| IV.7.2. Méthode directe (Tests de spots) | 15 |
| IV.7.2. Méthode indirecte (Tests des puits) | 15 |

Résultat et discussion

| | |
|--|-----------|
| I. Revivification et vérification de la pureté des souches..... | 17 |
| I.1. Souches de <i>S. cerevisiae</i> | 17 |
| I.2. Souches de <i>S. aureus</i> et d' <i>E. coli</i> | 18 |
| II. Standardisation des souches | 19 |
| III. Etude des propriétés probiotiques des souches de <i>S. cerevisiae</i> | 20 |
| III.1. Tolérance au pH gastrique simulé..... | 20 |
| III.2. Tolérance aux sels biliaires | 21 |
| III.3. Hydrophobicité de la surface cellulaire..... | 22 |
| III.4. Test de l'auto-agrégation..... | 23 |
| III.5. Activité antioxydante | 24 |
| III.6. Activité gélatinase | 25 |
| III.7. Tests des spots | 26 |
| III.8. Tests des puits | 26 |
| Conclusion | 27 |

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Liste des abréviations

AGV: Acide gras volatile.

AMP: Antimicrobial peptide.

BN: Bouillon Nutritif.

DPPH: Diphenyl Picryl Hydrazyle Hydrazyle-Idem

E. coli: *Escherichia coli*.

EMB: Eosine Méthylene Bleu.

HCL: Acide chlorhydrique.

J.C: Jesus –Christ.

Kb: kilobases.

MH: Mueller-Hinton.

OGA: oxytétracycline-glucose Agar.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PH: Potentiel Hydrogène.

S. aureus: *Staphylococcus aureus*.

S. cerevisiae: *Saccharomyces cerevisiae*.

YPD: Yeast, Peptone, Dextrose.

FAO: Food Agriculture organisation.

Liste des tableaux

| N du tableau | Tire | Page |
|---------------------|--|-------------|
| I | Souches utilisées dans cette étude. | 12 |
| II | Nombre de cellules dans chaque souche après 18 h d'incubation. | 20 |

Liste des tableaux en annexe

| N du tableau | Titre |
|---------------------|---|
| I | Pourcentage de viabilités de <i>S. cerevisiae</i> a différents pH |
| II | Pourcentage de viabilité de <i>S. cerevisiae</i> S1er S2 a différentes concentrations de sels biliaries |
| III | Pourcentage hydrophobicité de S1 et S2. |
| IV | Pourcentage auto-agrégation de S1 et S2 |
| V | Pourcentage d'inhibition du DPPH par S1et S2 |
| VI | Composition de l'eau physiologique |
| VII | Composition du bouillon nutritif |
| VIII | Composition de la gélose Mueller-Hinton |
| IX | Composition de la gélose OGA |
| X | Composition de la gélose Sabouraud |
| XI | Composition de la Gélose Chapman |
| XII | compotions de gélose EMB |

Liste des figures

| Figure N° | Titre | Page |
|------------------|--|-------------|
| Figure 01 | Structure cellulaire des levures. | 03 |
| Figure 02 | <i>S. cerevisiae</i> en bourgeonnement. | 04 |
| Figure 03 | Résumé des différents aspects des propriétés antagonistes des levures. | 11 |
| Figure04 | Aspects de la culture de <i>S. cerevisiae</i> dans le bouillon YPD. | 17 |
| Figure05 | Aspects microscopique et macroscopique de <i>S. cerevisiae</i> sur gélose OGA. | 18 |
| Figure06 | Aspects macroscopique et microscopique de <i>Escherichia coli</i> sur gélose EMB. | 19 |
| Figure 07 | Aspect macroscopique et microscopique <i>S. aureus</i> . | 19 |
| Figure 08 | Résultats du test de suivi de <i>S. cerevisiae</i> S1 et S2 dans des conditions acides. | 21 |
| Figure 09 | Pourcentage de survie de <i>S. cerevisiae</i> S1 et S2 à des différentes concentrations de sels biliaires. | 22 |
| Figure 10 | Test d'hydrophobicité avec le chloroforme et le xylène. | 22 |
| Figure 11 | Pourcentage d'hydrophobicité de <i>S. cerevisiae</i> S1 et S2 | 23 |
| Figure 12 | Pourcentage d'autoagrégation de <i>S. cerevisiae</i> de S1 et S2 | 24 |
| Figure 13 | Pourcentage d'inhibition du DPHH par <i>S. cerevisiae</i> S1 et S2 | 25 |
| Figure 14 | L'activité gélatinase de <i>S. cerevisiae</i> S1 et S2 | 25 |
| Figure 15 | Exemple de résultats obtenus par test des spots vis –vis de <i>S. aureus</i> | 26 |

Introduction

Saccharomyces cerevisiae a joué un rôle essentiel dans le développement de la civilisation humaine en raison de son utilisation généralisée dans la fermentation des aliments et des boissons, ce qui lui confère une grande valeur commerciale. Chaque année, environ 1 million de tonnes de levure sont produites dans l'industrie européenne, avec environ 30% de cette production exportée à l'échelle mondiale. Le marché mondial de la levure a connu un taux de croissance annuel de 8,8% entre 2013 et 2018 (**Parapouli et al., 2020**). *S. cerevisiae*, également connue sous le nom de levure de boulanger ou simplement "la levure" est considérée comme le meilleur exemple d'organisme unicellulaire utile qui possède une activité antimicrobienne (**Hatoum et al., 2012**).

Au milieu du XIX^{ème} siècle, le monde de la microbiologie a connu une avancée majeure avec la découverte, l'isolement et l'identification de *Saccharomyces cerevisiae*. Ce champignon microscopique, capable de transformer les sucres (d'où le préfixe "saccharo") en d'autres composés grâce à la fermentation, a été surnommé *Saccharomyces cerevisiae* par Meyen en 1837 (**Thuriaux, 2004**).

La levure *S. cerevisiae* est également très utilisée comme organisme modèle en biologie moléculaire, génétique classique, biochimie et génomique comparative. Ses propriétés, notamment la petite taille de son génome, son cycle cellulaire rapide, sa facilité de culture et la simplicité de la délétion de ses gènes, en font l'organisme eucaryote le mieux caractérisé et l'un des plus employés dans ces disciplines (**Bernard et al., 1996 ; Goffeau et al., 1996 ; Thuriaux 2004 ; Cubillos et al., 2009**).

S. cerevisiae joue un rôle crucial en tant que levure probiotique et prébiotique. Cette levure peut être utilisée comme une alternative aux antibiotiques pour contrôler les maladies et améliorer les performances. Contrairement aux antibiotiques, *S. cerevisiae* ne pose pas de risque de développement de bactéries résistantes aux antibiotiques, ce qui est un avantage majeur pour la santé animale et humaine (**Ahiwe et al., 2021**).

Compte tenu de tout ce qui précède, le but de ce travail est d'évaluer quelques propriétés probiotiques de deux souches (S1et S2) de *S. cerevisiae*.

Ce document est composé de deux parties : une partie bibliographique traitant des généralités sur *S. cerevisiae* et une partie pratique où les tests effectués sont décrits. Enfin les résultats obtenus sont discutés, suivis d'une conclusion et des perspectives.

Synthèse bibliographique

I. Généralité sur *S. cerevisiae*

I.1. Historique

Pendant des millénaires, les humains ont utilisé *S. cerevisiae* à travers le monde pour brasser de la bière et cuire du pain. Des preuves de production de vin ou de boissons similaires au vin remontent à environ 7000 av. J.-C. en Chine, 6000 av. J.-C. en Iran, de 4000 à 3100 av. J.-C. en Mésopotamie, et en 3150 av. J.-C. en Égypte. Les premières études en microscopie, microbiologie, enzymologie et biochimie, réalisées il y a environ un siècle et demi par des scientifiques pionniers tels qu'Antonie van Leeuwenhoek, Joseph Gay-Lussac et Louis Pasteur, ont permis la découverte de *S. cerevisiae* en tant qu'agent de fermentation. L'isolement de cultures de levure pure en 1888 par Emil Hansen, qui a perfectionné la méthode de Louis Pasteur, a ouvert la voie à une utilisation étendue de *S. cerevisiae* dans la recherche biologique. Depuis lors, *S. cerevisiae* est devenue l'un des modèles eucaryotes les plus puissants dans pratiquement toutes les disciplines de la biologie. En 1996, *S. cerevisiae* est devenue le premier eucaryote dont le génome a été entièrement séquencé (Bai et al., 2022).

I.2. Définition

S. cerevisiae est composée de deux parties: La première partie "Saccharo" signifie "Sucre" en grec latinisé, tandis que la deuxième partie "cerevisiae" signifie "de la bière".

S. cerevisiae est un organisme unicellulaire eucaryote. Elle a une forme ronde à ovoïde et se reproduit par un mécanisme de bourgeonnement. Les cellules de levure peuvent croître sous forme haploïde et diploïde. Elle est utilisée comme organisme eucaryote modèle dans les études biologiques, également connu comme l'une des levures les plus utilisées dans la fabrication du pain et d'autres industries (Salari, 2017).

I.3. Classification

La place de la levure de boulangerie *S. cerevisiae* dans la classification de levure est donnée par (Defose et al., 2018).

Règne : Champignons, **Embranchement**: Ascomycètes, **Classe** : Saccharomycetes, **Sous classe** : Hemiascomycetes, **Ordre** : Saccharomycetales, **Famille** : Saccharomycetaceae, **Sous famille** : Saccharomycetoideae, **Genre** : Saccharomyces, **Espèce** : Saccharomyces *cerevisiae*.

I.4. Caractéristiques

La **paroi cellulaire** de *S. cerevisiae* a une largeur de 110 à 200 nm (Aguilar- Uscanga et François, 2003). Elle représente 15 à 20 % de la matière sèche de la cellule. Sa composition chimique est sujette à des variations importantes suivant les espèces, le cycle cellulaire et les conditions de culture (Aguilar- Uscanga et François, 2003). La paroi cellulaire de *S. cerevisiae* est composée de trois couches: une couche externe composée de mannanes et de protéines, une couche moyenne composée de glucane, et une couche interne composée de mannanes et chitine (Nakashima et al., 2011).

L'**espace périplasmique** est un espace qui est délimité par la membrane plasmique et la couche interne de la paroi et représente le seul site de localisation cellulaire des enzymes telles que l'invertase (Neumann et Lampen, 1967).

La **membrane cytoplasmique** est une membrane biologique simple et fragile située sous la paroi cellulaire, ayant une épaisseur de 7,5 nm. Elle retient tous les constituants intracellulaires et résiste aux pH acides, mais elle est altérée par les pH alcalins (Bayley et Parks, 1975).

Le **noyau** contient l'ADN de la levure et responsable de la régulation de l'expression des gènes. Il est entouré d'une enveloppe nucléaire double et contient des structures telles que le nucléole et les chromosomes. Le noyau est essentiel pour la division cellulaire et la reproduction (Nakashima et al., 2011).

Dans une cellule de *S. cerevisiae* il existe aussi le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, des mitochondries, et des vacuoles (Visser et al., 1995 ; Nakashima et al., 2011). La figure 1 représente la structure cellulaire de la levure.

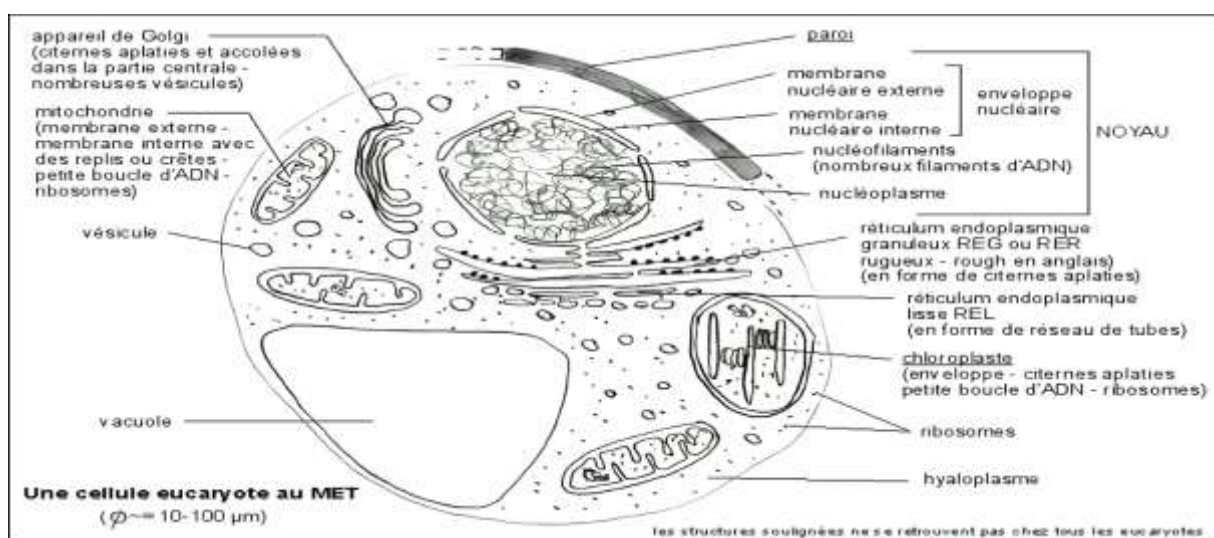


Figure 1 : Structure cellulaire des levures (Thuriaux, 2004).

I.5. Génome de *S. cerevisiae* et reproduction

La levure *S. cerevisiae* a été le premier organisme eucaryote dont le génome a été entièrement séquencé, en 1996. Le génome de *S. cerevisiae* mesure 12 068 kb et comprend 6275 gènes répartis sur 16 chromosomes (**Goffeau et al., 1996**).

Au cours de la reproduction asexuée, les cellules de levure se divisent rapidement, avec un cycle de division pouvant aller jusqu'à toutes les 90 minutes. Ce processus de division se fait par bourgeonnement (figure 2), où de plus petites cellules filles émergent de la cellule mère en se détachant (**Miller et keeny , 2014**). En effet, le bourgeon est plus petit que la cellule mère à l'issue de la division, d'où une période de croissance plus longue qu'il ne produise lui-même un nouveau bourgeon, faute de quoi les cellules deviendraient plus petites à chaque division (**Thuriaux,2004**).



Figure 2 : *S. cerevisiae* en bourgeonnement (Kreger-Van, 1984).

En reproduction sexuée, les spores issues de la méiose germent pour donner des cellules haploïdes qui, en milieu riche, produisent en permanence la phéromone sexuelle correspondant aux haplotypes MATa et MATa. Ces cellules s'engagent donc spontanément dans un processus de fécondation qui produit un zygote ou les deux noyaux fusionnent immédiatement formant un diploïde MATa /MATa qui est compétent pour la méiose, mais où celle-ci ne se produit que dans des conditions de carence sévère, et pour autant que les cellules soient compétentes pour la respiration, la présence d'acétate favorise la méiose pour des raisons inconnues (**Thuriaux, 2004**).

1.6. Besoins nutritionnels de la levure

Les besoins des levures pour leur croissance sont les suivants :

- **L'oxygène**

La levure *S. cerevisiae* est l'une des rares levures ayant la capacité de se développer rapidement sous condition anaérobie (**Ishtar Snoek et Yde Steensma, 2006**).

- **Le carbone**

La source de carbone joue un rôle crucial dans la production de biomasse et de métabolites par *S. cerevisiae*. Cette dernière possède la capacité d'utiliser les sucres comme source de carbone pour produire ses métabolites, et la fermentation des disaccharides et des oligosaccharides (**Botstein et al., 1988**).

- **Source d'azote**

L'azote est un nutriment essentiel à toutes les formes de vie (**Godard et al., 2007**). Le métabolisme de l'azote est un processus complexe qui permet à la levure d'assimiler et d'utiliser l'azote pour sa croissance et son développement (**Cheny et al., 2022**).

- **Vitamines**

Les vitamines sont des composés organiques essentiels à la croissance et au fonctionnement normal de l'organisme, mais qui ne peuvent pas être produits par celui-ci et doivent donc être obtenus à partir de l'alimentation. Les vitamines de la classe B stimulent la croissance accélérée de *S. cerevisiae* (**Kessi-Pérez et al., 2022**).

Une étude a été conduite pour examiner l'impact des vitamines (biotine, thiamine, acide pantothénique) ainsi que des déficiences en micronutriments (zinc, bore, manganèse et fer) sur l'augmentation de la production d'alcool lors de la fermentation alcoolique utilisant la levure *S. cerevisiae* (**Guinet et Godon, 1994**).

- **Oligoéléments et facteurs de croissance**

Les oligo-éléments jouent un rôle essentiel pour les cellules en agissant comme cofacteurs pour diverses enzymes impliquées dans le métabolisme microbien. Bien que nécessaires en quantités très petites, un excès de ces éléments peut entraîner la dénaturation des enzymes, perturber la morphologie et la physiologie cellulaire, ainsi que ralentir la vitesse de croissance (**Metos et Girell al., 2000**).

I.7. Besoins physico-chimiques

• Température

En règle générale, la température courante de culture des levures se situe entre 25 et 35°C, pour assurer la croissance adéquate de la plupart des levures. En effet, la température de croissance de *S. cerevisiae* est située entre 27 et 39°C (**Bouix et Leveau, 1993**).

• Le pH

Les levures se développent mieux dans des conditions relativement acides, avec un pH compris entre 3 et 6. L'optimum de croissance de *S. cerevisiae* est situé souvent entre 4 et 5 (**Noui, 2001**).

• La pression osmotique

La pression osmotique favorise la croissance de *S. cerevisiae*. Cette levure, en réponse à une augmentation de la pression osmotique externe, dégrade le glucose en glycérol, ainsi que sa pression osmotique interne ce qui favorise sa croissance (**Mounir et al., 2016**).

II. Métabolisme

II.1. Métabolisme oxydatif

Le métabolisme oxydatif chez *S. cerevisiae* utilise l'oxygène comme accepteur final d'électrons lors de la dégradation du glucose, ce qui génère de l'énergie via la glycolyse, le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative. Ce processus produit de la biomasse, du dioxyde de carbone et de l'eau comme principaux sous-produits de la consommation de glucose et d'oxygène. Le métabolisme oxydatif se caractérise par la réoxydation des cofacteurs NADH, H⁺ et FADH, H⁺ dans la chaîne respiratoire, démontrant ainsi l'efficacité du mécanisme de production d'énergie de *S. cerevisiae* en conditions aérobies (**Nilsson., 2014**).

II.2. Métabolisme fermentaire

Le métabolisme fermentaire chez *S. cerevisiae* est crucial et peut être aérobie ou fermentatif, selon les conditions environnementales telles que la présence de sucres comme le glucose, le fructose ou le saccharose. En présence de concentrations élevées de ces sucres, *S. cerevisiae* opte principalement pour un métabolisme fermentatif, passant ensuite à un métabolisme respiratoire une fois les réserves de sucres épuisées. Pendant la fermentation alcoolique, la levure décompose le glucose en éthanol via le pyruvate décarboxylase et l'éthanol déshydrogénase, produisant de l'éthanol comme produit final de fermentation. Bien que l'éthanol soit toxique à des concentrations élevées, il est également un sous-produit du

métabolisme énergétique de la levure. Ce processus de fermentation alcoolique est crucial pour la production d'éthanol et de CO₂, produits simples issus du métabolisme de *S. cerevisiae* (Jouhten et al., 2016).

II.3. Métabolisme oxydo-réductif ou Métabolisme respiro-fermentaire

Le métabolisme oxydo-réductif et le métabolisme respiro-fermentaire chez *S. cerevisiae* sont deux processus métaboliques distincts. Le métabolisme oxydo-réductif est caractérisé par un rendement en biomasse maximal et l'absence de formation de co-produits, ce qui se produit en présence d'oxygène et pour des concentrations limitées en glucose. En revanche, le métabolisme respiro-fermentaire survient lorsque la concentration résiduelle en glucose ou le flux de consommation de glucose augmentent, entraînant une transition vers un métabolisme oxydoréductif où le rendement en biomasse diminue et des co-produits de fermentation tels que l'éthanol, le glycérol et l'acétate sont excrétés. Cette transition entre les deux métabolismes en présence d'oxygène correspond à l'effet Crabtree (Lannig, 2014).

III. Domaines d'application de *S. cerevisiae*

S. cerevisiae est d'une grande importance pour diverses applications biotechnologiques, certaines ayant une longue histoire remontant à plusieurs milliers d'années. Son utilité biotechnologique repose sur ses caractéristiques biologiques distinctives, notamment sa capacité de fermentation. Parmi les applications les plus importantes impliquant l'utilisation de *S. cerevisiae* sont celles des industries de production d'aliments, de boissons, en particulier de vin, et de biocarburants, du pain (Nguyen Thanhdat, 2016 ; Parapouli et al., 2020).

IV. Propriétés probiotiques de *S. cerevisiae*

Les probiotiques sont définis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, peuvent conférer des bienfaits à la santé humaine et animale, entraînant ainsi des effets bénéfiques sur l'hôte (Vieira et al., 2013). *S. cerevisiae var boulardii* (désignée désormais par *S. boulardii*), la seule levure approuvée en tant que probiotique pour l'homme, a été isolée pour la première fois en Indochine pendant une épidémie de choléra en 1923 par un scientifique français Henri Boulard. *S. boulardii* est la souche de levure probiotique la plus étudiée, et ses mécanismes d'action contre les microorganismes entéropathogènes et les troubles du tractus gastro-intestinal sont les mieux compris parmi toutes les souches probiotiques de *S. cerevisiae*. Des études ont

montré que *S. boulardii* est capable de se lier et de neutraliser les bactéries pathogènes du tractus intestinal telles que *Clostridium difficile*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Salmonella* et *Shigella*, ainsi que leurs toxines (Palma et al., 2015 ; Abid et al., 2022). *S. cerevisiae* peut également aider à améliorer la digestion de plusieurs manières. Elle favorise la croissance des cellules caliciformes de l'intestin, ce qui contribue à la production de mucus protecteur et à la régulation de la muqueuse intestinale (Xia, 2022).

IV.1. Critères probiotiques de *S. cerevisiae*

IV.1.1. Critères de sécurité

Généralement, *S. cerevisiae* est considérée comme un microorganisme non pathogène, ce qui en fait une candidate appropriée pour être utilisée comme probiotique (Capece et al., 2019). Parmi les critères de sécurité et d'innocuité, on peut citer :

- **L'origine de la souche**

L'origine d'une souche a été considérée comme un critère de sécurité important lors de la sélection des probiotiques. Généralement, *S. cerevisiae* est considérée comme un microorganisme viable et capable d'exercer des effets bénéfiques sur l'hôte par sa croissance et reste viable dans le site cible (FAO\WHO, 2002, Pereira et al., 2018).

IV.1.2. Critères fonctionnels

- **Résistance aux conditions gastriques et intestinales**

Les souches probiotiques doivent être vivantes à leur site d'action généralement l'intestin. *S. cerevisiae* se caractérise par sa résistance aux conditions gastriques (le pH acide de l'estomac pH= 1 à 3) (Gedek, 1991). Elle possède aussi une résistance aux conditions intestinales (sels biliaires) (Romero-Luna et al., 2019).

- **L'adhésion et colonisation du tissu épithélial intestinal**

La sélection des levures probiotiques repose en grande partie sur leur capacité à adhérer aux surfaces intestinales, une propriété fondamentale pour leur colonisation et les bienfaits subséquents sur la santé (Kumura et al., 2004).

L'adhésion de *S. cerevisiae* aux cellules épithéliales dépend à la fois de leur capacité d'autoagrégation et de leurs propriétés hydrophobes de surface. L'Auto-agrégation des cellules microbiennes assure une haute densité cellulaire du probiotiques dans l'intestin, facilitant ainsi le mécanisme d'adhésion. En parallèle, l'hydrophobicité de la surface cellulaire améliore

l'interaction entre le microbe et les cellules épithéliales humaines (**Ogunremi et al., 2015 ; De Lima et al., 2017**).

- **L'effet bénéfique de probiotiques sur l'homme**

L'une des principales caractéristiques que doit avoir une souche probiotique est sa capacité à apporter des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. *S. cerevisiae* possède des caractéristiques bénéfiques telles que: la compétitivité pour les nutriments, une meilleure capacité d'adhésion cellulaire (en raison de leur taille), la production de composés antagonistes, l'immunomodulation, l'assimilation du cholestérol, l'élimination des toxines et la neutralisation des bactéries pathogènes (**Seddik et al., 2016 ; De Lima et al., 2017**).

IV.1.3. Critères technologiques

Les espèces de levures telles que *S. cerevisiae*, peuvent être employées comme probiotiques en raison de leurs caractéristiques technologiques, telles que la résistance aux phages, bonnes propriétés sensorielles, viabilité pendant le traitement et stabilité dans le produit et pendant le stockage (**Dessalegn et Andualem, 2023**).

IV.1.4. Activité antimicrobienne de *S. cerevisiae*

L'activité antimicrobienne contre les germes pathogènes est considérée comme l'un des critères essentiels pour la sélection des souches probiotiques. Les souches de *S. cerevisiae* peuvent agir comme des barrières microbiennes contre les pathogènes gastro-intestinaux par plusieurs mécanismes : empêchement de la fixation des pathogènes par compétition, modulation du système immunitaire de l'hôte, production des substances antimicrobiennes, antioxydantes et anti-cholestérol. Cette activité antimicrobienne de *S. cerevisiae* est aussi due à la production d'acides organiques, d'antibiotiques, d'acides volatils, de peptides, de peroxyde d'hydrogène, et d'autres molécules antioxydantes (**Fakruddin et al., 2017**).

Il a été rapporté que *S. cerevisiae* produit des peptides bioactifs qui possèdent une large activité antimicrobienne et inhibitrice contre divers microorganismes tels que les bactéries, les moisissures, les parasites, les virus et certaines levures telles que *Hanseniaspora guilliermondii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Kluyveromyces marxianus* et *Lachancea thermotolerans*. Ces peptides utilisent des toxines tueuses pour inhiber ces microorganismes. De plus, la levure *S. cerevisiae* présente une activité antibactérienne contre *E. coli*, *Pseudomonas sp.*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* et *Vibrio cholera*. En outre, cette souche de levure montre une

activité antimicrobienne contre d'autres espèces de bactéries pathogènes (**Al-sahlany et al., 2020**).

IV.2. Substances antimicrobiennes produites par *S. cerevisiae*

IV.2.1. Saccharomycine

La saccharomycine est un peptide antimicrobien (AMP) qui peut tuer d'autres levures en perturbant leur membrane cellulaire, provoquant la fuite de leur contenu et leur mort (**Branco et al., 2017**).

IV.2.2. Peptides

Les peptides antimicrobiens (AMP) sont de petites protéines qui tuent ou inhibent la croissance des bactéries. Les AMP produits par les levures agissent par divers mécanismes, notamment la perforation de la membrane cellulaire, l'inhibition de la synthèse des protéines et la perturbation de la fonction des acides nucléiques (**Albergaria et al., 2010**).

IV.2.3. Acides gras volatils (AGV)

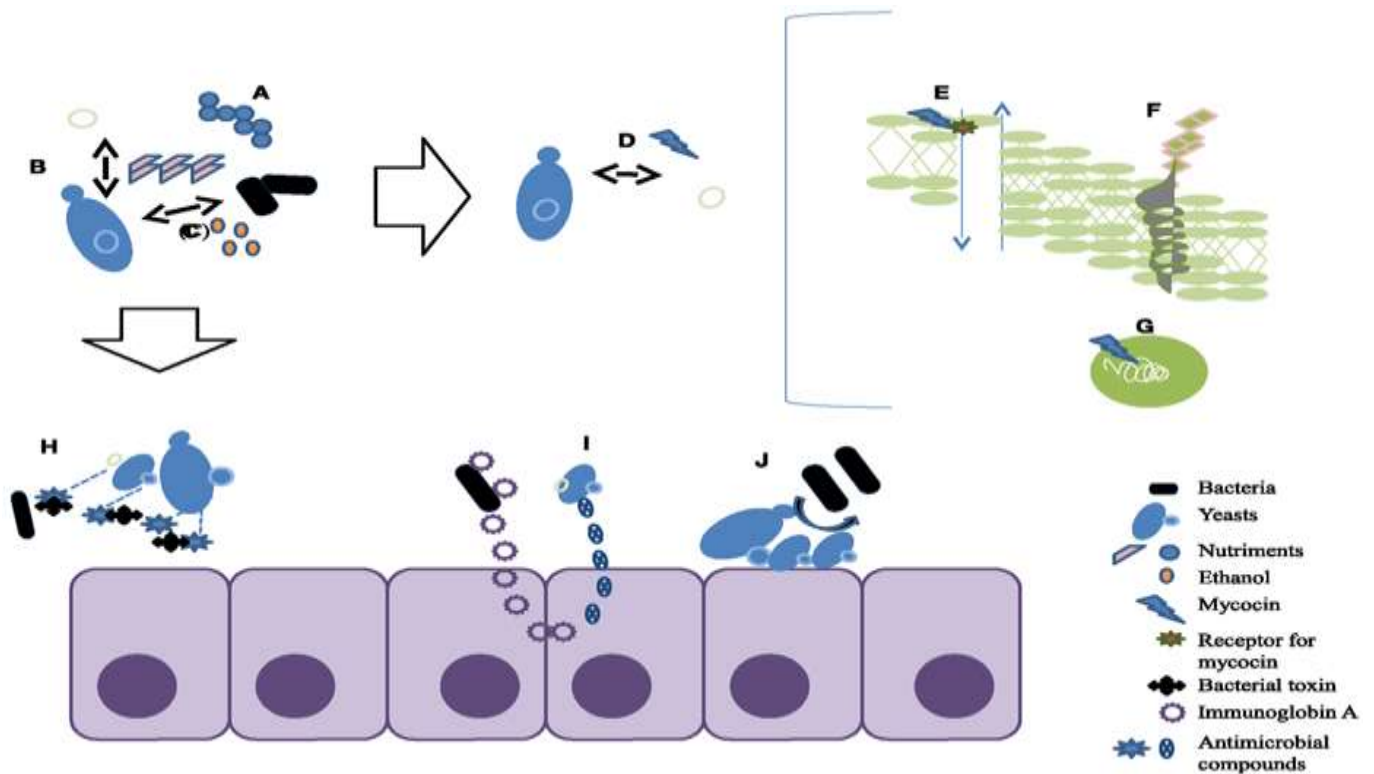
Les AGV sont des acides gras à chaîne courte ou moyenne qui perturbent la membrane cellulaire des bactéries. Les AGV les plus couramment produits par les levures antimicrobiennes sont l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide caprique (**Golubev et al., 2006**).

IV.2.4. Alcools

Les alcools tels que l'éthanol et le méthanol peuvent perturber la membrane cellulaire des bactéries et inhiber leur croissance (Parapouli et al., 2020). Les différents mécanismes antimicrobiens des levures sont résumés dans la figure suivante.

Figure 3: Résumé des différents aspects des propriétés antagonistes des levures (Hatoum et al., 2012).

(A) Compétition pour les nutriments ; (B) Changements de pH ; (C) La production de fortes concentrations d'éthanol ; (D) Les toxines ou mycocines tueuses ; (E) La mycocine provoque des fuites d'ions par la formation de canaux sur la membrane cytoplasmique ; (F) La mycocine inhibe la synthèse du composant de la paroi cellulaire β -1,3-glucane ; (G) La mycocine interrompt la division cellulaire en bloquant la synthèse de l'ADN ; (H) Les protéases dégradent



les toxines bactériennes; (I) Stimulation de la réponse immunitaire ; (J) Les levures inhibent l'attachement aux cellules intestinales .

Matériel et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire Microbiologie 01 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université de Bejaïa durant 14 Avril au 13 Juin 2024.

I. Origine des souches

Les souches utilisées appartiennent à la collection des souches du Laboratoire de Microbiologie Appliquée. Deux souches de *Saccharomyces cerevisiae* et deux souches de bactéries pathogènes dont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Tableau I).

Tableau I: Souches utilisées dans cette étude.

| Les souches | Code | Origine |
|-----------------------------------|----------------------------|-----------------|
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1 | LF4 | Isolée de figes |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2 | LF10 | Isolée de figes |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>E. coli</i> ATCC 6538 | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>S. aureus</i> ATCC 8739 | / |

II. Revivification et vérification de la pureté des souches

La revivification des souches de *S. cerevisiae* et des souches bactériennes est effectuée par la réalisation des repiquages successifs dans des tubes de 9 ml de bouillon Sabouraud, et de bouillon nutritif puis incubés respectivement à 30°C et 37°C pendant 24 à 48h. Au terme de l'incubation, un repiquage de ces souches est réalisé respectivement sur la gélose Sabouraud pour *S. cerevisiae* et la gélose nutritive pour *S. aureus* et *E. coli*. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h. Après croissance, des tests sont réalisés pour vérifier la pureté de toutes les souches. Il s'agit des tests suivants :

- Observation macroscopique de l'aspect des colonies.
- Examen microscopique par coloration de Gram et coloration simple
- Test de la catalase.

III. Standardisation des inocula

A partir des cultures fraîches obtenues après 24h d'incubation dans du bouillon Sabouraud pour *S. cerevisiae* (S1 et S2), et le bouillon nutritif pour la souche de *S. aureus* et *E. coli*, un ensemencement en stries est effectué sur gélose Sabouraud pour les souches *S. cerevisiae* et la gélose nutritive pour *S. aureus* et *E. coli*. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48h et 24h respectivement. Après croissance, 1 colonie de chaque souche de *S. cerevisiae* et une colonie de chaque souche pathogène sont mises respectivement dans 9ml de bouillon Sabouraud et de bouillon nutritif respectivement, puis incubés à 37°C pendant 18 à

24h. A partir des cultures obtenues, des séries de dilutions décimales sont réalisées dans de l'eau physiologique suivie d'ensemencement en masse de 1ml des dilutions 10^{-8} , 10^{-9} à raison de deux boîtes par dilution. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h. Après croissance, un dénombrement est réalisé et le nombre de cellules bactériennes et levuriennes est exprimé en UFC/ml.

IV. Etude du potentiel probiotique de *S. cerevisiae*

IV.1. Résistance à l'acidité

Ce test a été réalisé selon le protocole décrit par **Dessalegn et Andualem, (2023)**. 1 ml d'une culture fraîche de bouillon Sabouraud contenant la suspension de *S. cerevisiae* S1 et S2 a été ajouté à 9 ml de bouillon Sabouraud dont le pH est ajusté à $\text{pH} = 2,0$; $2,5$ et $3,0$ par une solution de HCl (0,1N), puis incubés à 37°C pendant 3 h. Au terme de l'incubation, une série de dilutions décimales jusqu'à 10^{-7} a été effectuée. 1ml des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} sont ensemencées en masse sur la gélose Sabouraud. Après 48h d'incubation à 37°C , le nombre des cellules viables est déterminé par dénombrement, et le taux de viabilité est calculé selon la formule suivante :

Taux de survie (%) = $N_f/N_i \times 100$. Dont :

N_f : nombre de cellule final.

N_i : nombre de cellule initial.

IV.2. Résistance aux sels biliaries

Le protocole décrit par (**Dessalegn et Andualem, 2023**) est appliqué. Les cultures fraîches des deux souches de S1 et S2 ont été inoculées dans 9ml de bouillon Sabouraud additionné de 0,3%, 0,5 % et 1% de sels biliaries, puis incubés à 37°C . Pour déterminer le nombre de cellules viables après 4h d'incubation, une série de dilutions décimales jusqu'à 10^{-7} a été effectuée dans de l'eau physiologique, puis 1ml des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} sont ensemencés en masse sur gélose OGA. Après 48h d'incubation à 37°C , un dénombrement est effectué. Le taux de viabilité est calculé selon la formule suivante :

Taux de survie (%) = $N_f/N_i \times 100$.

N_f : nombre de cellules final.

N_i : nombre de cellules initial.

IV.3. Hydrophobicité de la surface cellulaire

Ce test a été effectué selon la méthode décrite par **Haydee et al. (2018)**. L'hydrophobicité de la surface cellulaire a été évalué en utilisant deux solvants qui sont le

chloroforme et le xylène. Trois millilitres de culture fraîches de S1 et S2 ont été mélangés avec 0,75 ml de chloroforme ou de xylène. Le mélange a été vortexé pendant 2 minutes et laissé au repos pendant 1 heure à 37 °C. Ensuite, l'absorbance de la phase aqueuse a été mesurée à 600 nm et le pourcentage d'hydrophobicité est calculé selon la formule :

$$\text{Hydrophobicité \%} = (A_i - A_f / A_i) \times 100$$

A_i : DO initiale du culot cellulaire. **A_f** : DO de la phase aqueuse à la fin de l'expérience.

IV.4. Auto-agrégation

Le test d'auto-agrégation a été réalisé selon le protocole décrit par **Gil-Rodríguez et al. (2015)**. 9 ml de S1 et S2 ont été cultivées à 37°C pendant 24 h dans le bouillon YPD. Les cellules ont été récoltées par centrifugation 3000 g/ 10 min, lavées au tampon PBS deux fois puis resuspendues dans une solution de PBS. Ensuite l'absorbance a été mesurée à 600 nm après 0h, 2h et 24 h à température ambiante. L'auto-agrégation a été exprimée par la formule :

$$\text{Auto-agrégation (\%)} = (1 - A_0 / A_T) \times 100$$

A_T : représente l'absorbance à 600 nm à chaque intervalle de temps. **A₀** : représente l'absorbance à 600 nm au temps initial (0h).

IV.5. Activité antioxydante

Le protocole décrit par **Gil-Rodríguez et al. (2015)** est appliqué. Les souches de levure S1 et S2 ont été inoculées dans bouillon YPD et incubées à 37°C pendant 24 h. Par la suite, les cellules de levure ont été collectées par centrifugation à 3000×g pendant 10 minutes, puis lavées et resuspendues dans de l'eau physiologique. Un aliquote de la suspension de levure (800 µL) a été transféré dans un nouveau tube, puis 1 mL de solution de DPPH (0,2 mM dans le méthanol) a été ajoutée. Le mélange a été vortexé et laissé à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 30 minutes, le tube a été centrifugé (3000×g/10 minutes) et l'absorbance à 517 nm a été mesurée. La réduction du DPPH a été exprimée en pourcentage, calculée selon l'équation suivante : Réduction du DPPH (%) = [1 - (A₅₁₇ échantillon / A₅₁₇ blanc)] × 100

Les résultats ont été classés comme suit : faible activité (20-30%), bonne activité (30-40%), très bonne activité (40-50%), et excellente activité (> 50%) (**Gil-Rodríguez et al., 2015**).

IV.6. Activité de la gélatinase

L'activité gélatinase des souches de levures S1 et S2 a été évaluée selon **Syal et al. (2013)**. 200 µl de cultures de levure S1 et S2 âgées de 48 heures ont été inoculées dans 10 ml de bouillon de gélatine, composé de tryptone (17,0 g/L), de peptone (3,0 g/L), de dextrose (2,5 g/L), de NaCl (5,0 g/L), de K₂HPO₄ (2,5 g/L) et de 12 % de gélatine. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 3 jours. Après cette période d'incubation, les cultures ont été placées à 4°C pendant 1 heure. À l'issue de cette incubation, les cultures qui ont formé une solidification ont été considérées comme ayant une activité gélatinase négative.

IV.7. Etude de l'activité antibactérienne

IV.7.1. Préparation des cultures fraîches

Après l'obtention des colonies de souches de *S. cerevisiae* (S1 et S2) sur gélose Sabouraud et de *S. aureus* et *E. coli* sur gélose Chapman et EMB respectivement, 1 colonie de chaque souche des souches de *S. cerevisiae* sontensemencées dans 9 ml du bouillon Sabouraud, puis incubées à 37°C pendant 24h. 1 colonie de *S. aureus* ou d'*E. coli* sont inoculées dans 9 ml de bouillon nutritif puis incubées à 37°C pendant 18h.

I.7.2. Méthode directe (Tests de spots)

Pour tester l'activité antibactérienne de souches de *S. cerevisiae* (S1 et S2) à l'égard de *S. aureus* et *E. coli*, le test des spots a été réalisé. La méthode décrite par **Dessalegnis et Berhanu (2023)** a été appliquée. 5 µl des cultures fraîches de 24h des souches *S. cerevisiae* (S1 et S2) sont déposées en spots sur la surface du milieu Sabouraud. Les boîtes sont séchées près du bec benzène pendant 30 min puis incubées à 37°C pendant 48h. Ensuite, les spots sont recouverts d'une couche de 9 ml d'une gélose Mueller-Hinton (MH) en surfusionensemencée avec 1 ml (10⁷ UFC/ml) d'une culture fraîche de 18h de *S. aureus* ou d'*E. coli*. Après solidification du milieu, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. L'apparition d'une zone claire autour des spots détermine l'inhibition par la souche *S. cerevisiae*.

IV.7.2. Méthode indirecte (Tests des puits)

La méthode décrite par **Fakruddin et al. (2017)** est appliquée. La méthode indirecte permet de mettre en contact le surnageant de la souche de *S. cerevisiae* (S1 et S2) productrice de substances antimicrobiennes avec la souche test. Les souches sont cultivées dans du bouillon Sabouraud et incubées pendant 48 h à 37°C. Après incubation, la culture fraîche est centrifugée (4000 tr/min, 20 min à 4°C). Une boîte de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton (MH) solide

et ensemencée à raison de 10^7 UFC/ml par la souche cible (*S. aureus* ou *E. coli*), puis des puits sont creusés. Les puits sont remplis avec 100µl du surnageant brut de souche à tester (S1 et S2). Les boîtes sont laissées à 4°C pendant 2h pour permettre une meilleure diffusion des substances actives puis incubées à 37°C pendant 24h. Les puits entourés d'une zone claire d'inhibition et ayant un diamètre supérieur à 2 mm sont considérés comme positifs.

Résultats et Discussion

I. Revivification et vérification de la pureté des souches

I.1. Souches de *S. cerevisiae*

Après 24h d'incubation dans le milieu liquide, le bouillon YPD apparaît dense et un trouble homogène avec un dépôt important au fond de tube caractérise *S. cerevisiae* (**Figure 04**).

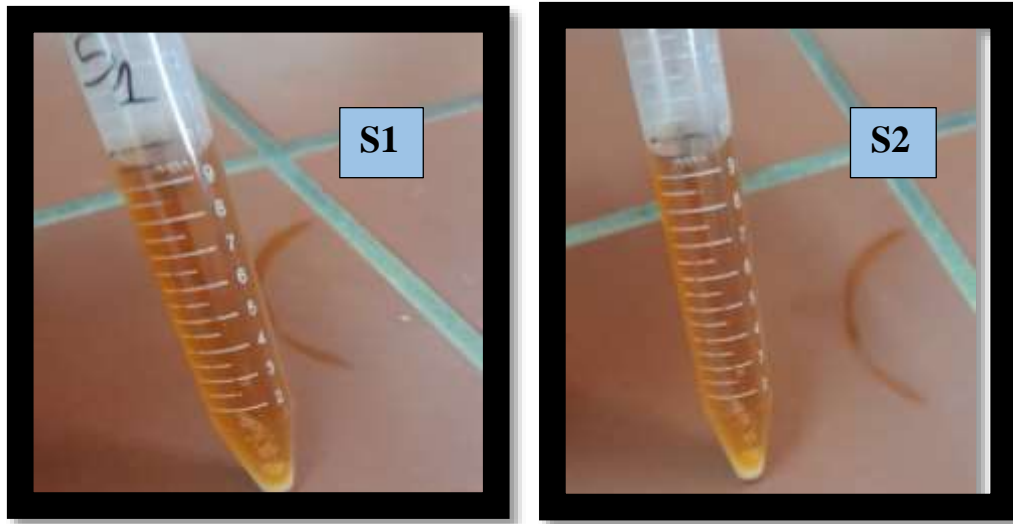


Figure 04 : Aspect de la culture de *S. cerevisiae* dans le bouillon YPD.

Sur la gélose OGA, les colonies des deux souches S1 et S2 apparaissent de grande taille, de forme circulaire, de couleur blanchâtre à crémeuse (**Figure 05**).



Figure 05 : Aspect macroscopique et microscopique de *S. cerevisiae* S1 et S2 sur la gélose OGA.

I.2. Souches de *S. aureus* et d'*E. coli*

La croissance de la souche de *S. aureus* se manifeste par la présence de troubles dans les tubes de bouillon nutritif ensemencés. Sur gélose GN, *S. aureus* apparaît sous forme de colonies de petite taille, de couleur jaune avec virage de couleur du milieu vers le jaune qui est dû à la dégradation de mannitol.

La croissance de la souche d'*E. coli* se manifeste par la présence de trouble dans les tubes de bouillon nutritif ensemencés. Sur gélose EMB, *E. coli* apparaît sous forme de colonies de petite taille, de couleur vert métallique qui est dû à la dégradation de lactose (**Figure 06**).

Les résultats d'observations microscopiques révèlent que *E. coli* est un coccobacille (**figure 06**).

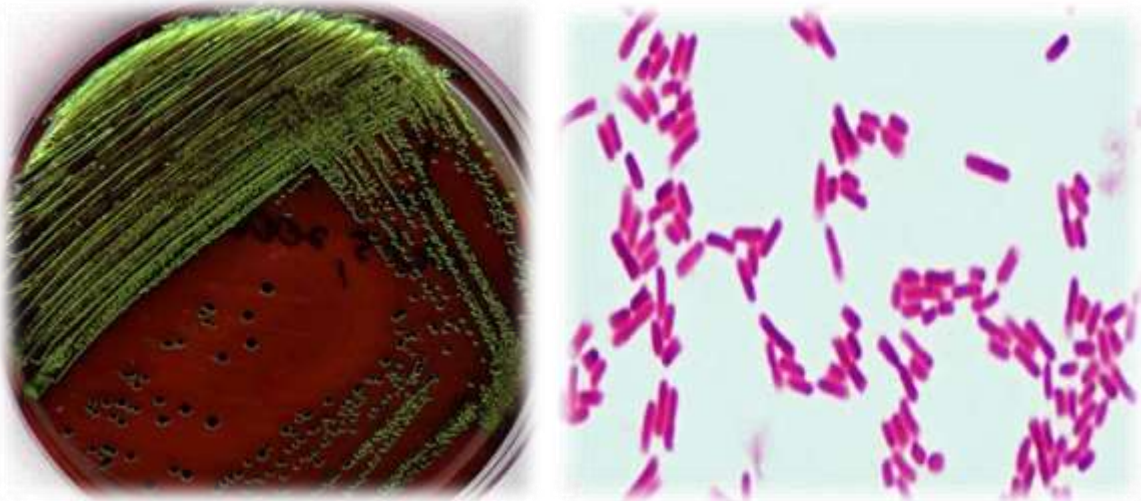


Figure 06 : Aspect macroscopique et microscopique d'*E. coli* sur la gélose EMB.

Cependant *S. aureus* sont à Gram positif sous forme de cocci disposés en amas, en grappe de raisin (**figure 07**).



Figure 07 : Aspects macroscopique et microscopique de *S. aureus*.

II. Standardisation des souches

Les résultats de la standardisation sont résumés dans le tableau II.

Tableau II : Nombre des cellules de chaque souche après 18 h d’incubation.

| Souche | Nombre | |
|----------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| <i>S. cerevisiae</i> | 7,30 x10 ¹¹ UFC/ml S1 | 6,33x10 ¹¹ UFC/ml S2 |
| <i>E. coli</i> | 1,1x 10 ⁹ UFC/ml | |
| <i>S. aureus</i> | 1.5 x 10 ⁹ UFC/ ml | |

III. Etude des propriétés probiotiques des souches de *S. cerevisiae*

III.1. Tolérance au pH gastrique simulé

Les résultats obtenus sont présentés en figure 8 (Tableau I, Annexe II). Après 3 h d'exposition aux pH (2 ; 2,5 ; 3), les résultats montrent que à pH2, les deux souches de *S. cerevisiae* testées étaient résistantes et se traduit par une survie presque de 70 % pour les deux. En revanche, entre S1 et S2, la souche S2 possède un taux de viabilité qui va de 39% à pH2 jusqu'à 63,91% à pH3 et pour S1 cela va de 30% à 58% démentant ainsi que le taux de survie de S2 et est supérieur compare S1. La variabilité des valeurs de pH a été utilisée pour étudier l'influence des composants du jus gastrique simulé en dehors de l'effet de la faible valeur de pH (Di cagno et al., 2020).

Pour être efficace comme probiotique, les souches de *S. cerevisiae* doivent résister à l'acidité de l'estomac, qui peut être très fort (pH entre 1 et 4,5) (De Paula et al., 20219).

Les études de (Dessalegn et Andualem, 2023) ont révélé que *S. cerevisiae* étudiées pour leur potentiel probiotique ont toléré a pH 2 pendant 3 heures, où le taux de *S. cerevisiae* avoisinait 10⁷UFC/ml après 3 heures d'incubation. Ces résultats sont en accord avec nos résultats où un taux de10⁷UFC/ml a été obtenu.

Selon (Romero-Luna et al., 2018) *S. cerevisiae* est capable de survivre aux pH de l'estomac indiquant qu'elle possède des mécanismes lui permettant de s'adapter aux conditions de stress rencontrées dans le tractus gastro-intestinal (pH acide, et enzymes digestives), et donc de pouvoir atteindre et rester viable sur le site d'implantation pour générer l'effet bénéfique (figure 08).

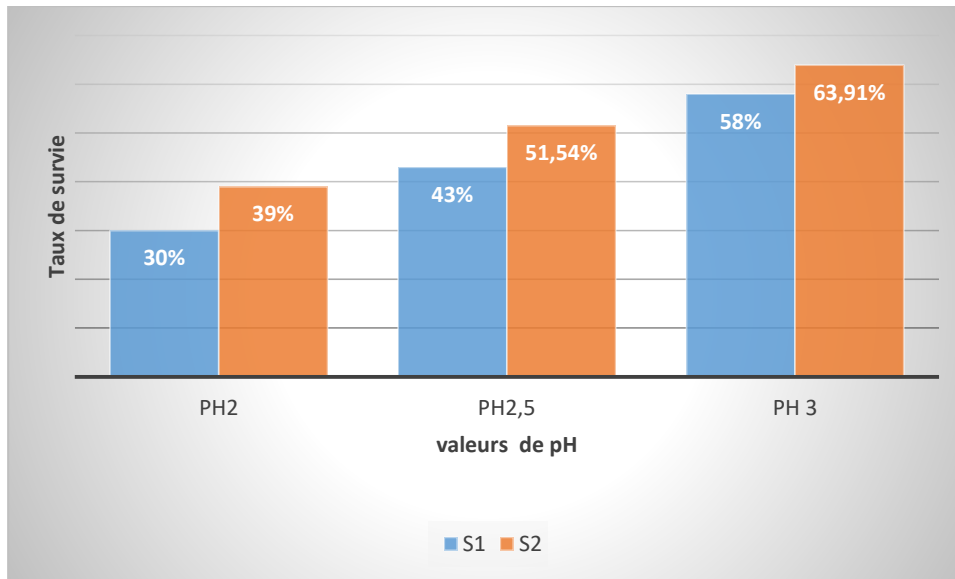


Figure 08 : Résultats du test de survie de *S. cerevisiae* S1 et S2 dans des conditions acides.

III.2. Tolérance aux sels biliaries

Les résultats obtenus (figure 09, Tableau II, annexe II) ont montré une très bonne résistance à 0,3 % de sels biliaries avec un taux de viabilité allant jusqu'à 65,57% pour la souche S2 et de 44,28% pour S1 pendant les d'incubation 4h Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Coelho et al. (2019)** qui montrent que le nombre résiduel de cellules de *S. cerevisiae* survivantes était supérieur à 10^8 UFC/mL après 24 heures d'incubation à 0,3 % de sels biliaries. **Chelliah et al. (2016)** Ont rapporté que les souches de *S. cerevisiae* testées présentaient une bonne survie de presque 50% dans l'environnement simulant les conditions du duodénum à une concentration de 0,3%. La survie de ses souches a 1%, sert le taux de survie c'est affaiblie avec un pourcentage de 30,92% pour le S2 et de 15,71% pour S1.Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenu par **Chelliah et al. (2016)** qui on trouver un pourcentage 21%. **(Figure 09)**.

La tolérance à la bile est actuellement considérée comme un critère de base pour sélectionner les souches probiotiques potentielles. Les concentrations physiologiques de la bile humaine se situent entre 0,3 % à 1 % **(Dessalegn et Andualem, 2023)**.

S. cerevisiae S1et S2 ont été cultivées à différentes concentrations de sels biliaries. Il a été observé que leur pourcentage de survie a diminué lorsque la concentration de sels biliaries est passée de 0,3 % à 0,5 %.

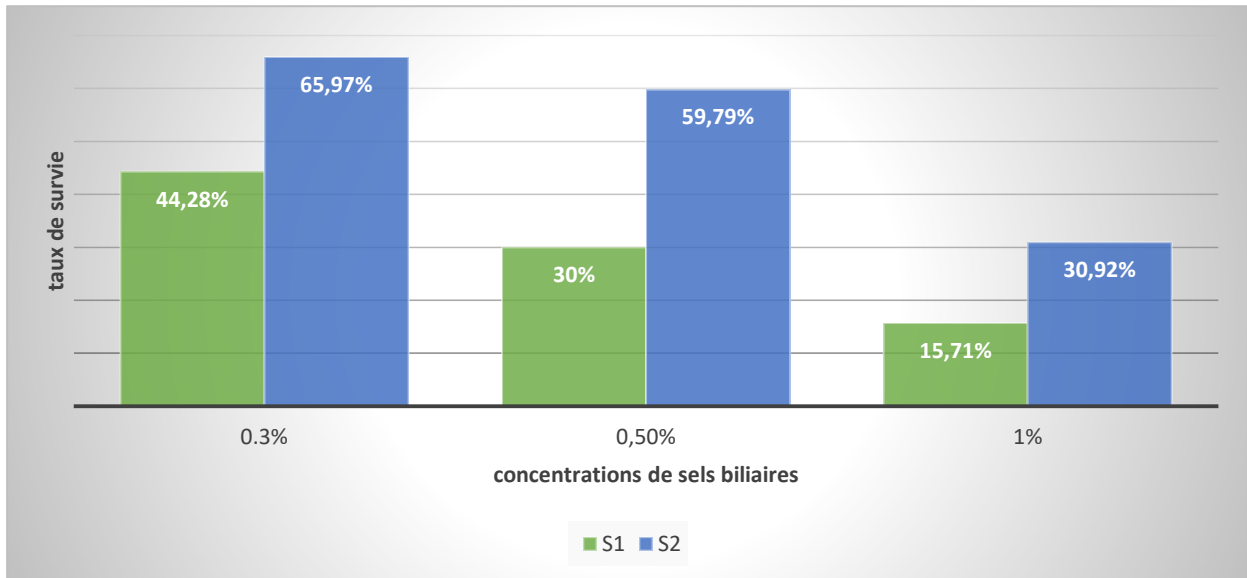


Figure 9 : Pourcentage de survie de *S. cerevisiae* S1 et S2 a des différentes concentrations de sels biliaires.

III.3. Hydrophobicité de la surface cellulaire

La propriété de l'hydrophobicité est associée à l'adhésion. En effet, l'hydrophobicité a été évaluée en mesurant l'interaction avec le xylène et le chloroforme, ce qui est liée à l'adhésion de la levure *S. cerevisiae* a l'épithélium intestinal (Hsiung et al., 2021) (figure10).



Figure 10 : Test d'hydrophobicité avec le chloroforme et le xylène.

Les résultats obtenus (figure 011, Tableau III annexe II) ont montré que les pourcentages d'hydrophobicité de S1 et S2 vis-à-vis du chloroforme et du xylène ont varié respectivement de 42%, 53,5% (S1) et de 85,1% , 32,8% (S2) Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Dessalegn et Andualem (2023), les pourcentages d'hydrophobicité des isolats varié de

33% , 51% pour le chloroforme , et de 16% , 41% pour le xylène en sachant que une hydrophobicité > 40% est considérés comme hydrophobes et peut être utilisé comme probiotiques **Dessaegn et Anduaem (2023)**. (Figure11).

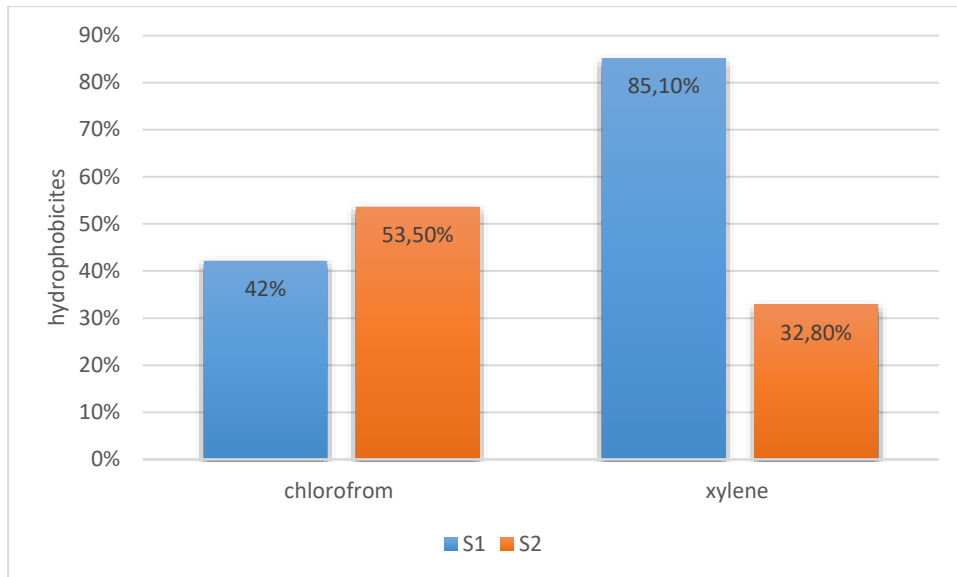


Figure 11 : Pourcentage d'hydrophobicité de la surface de *S. cerevisiae* S1et S2.

III.4. Test de l'auto-agrégation

L'auto-agrégation est la capacité des probiotiques à former des agrégats cellulaires. Cette propriété est également médiée par la surface cellulaire et a été associée à l'adhérence aux cellules épithéliales puisque lorsque les agrégats cellulaires se forment, l'adhésion à l'intestin augmente et permet la colonisation dans le tractus gastro-intestinal (**Romero-Luna et al., 2018 ; Melo Pereira et al., 2018 ; Hsiung et al., 2021**).

Les résultats obtenus (figure 12 tableaux IV annexes II) ont montré que le pourcentage d'autoagregation pour S1 est passé de 68% après 2h à 70 % après et pour S2 27% et à 24h 46%. L'Autoagregation de S1 est meilleure que celle de S2 .

Ces résultats sont en accord avec les résultats de **De lima et al. (2017)**, Dans leur étude ils ont révélé que *S. cerevisiae* possède un pourcentage d'auto- agrégation supérieur à 46% une Autoagregation > 40 % est considérée comme probiotique selon les études de ces auteur. (figure 12)

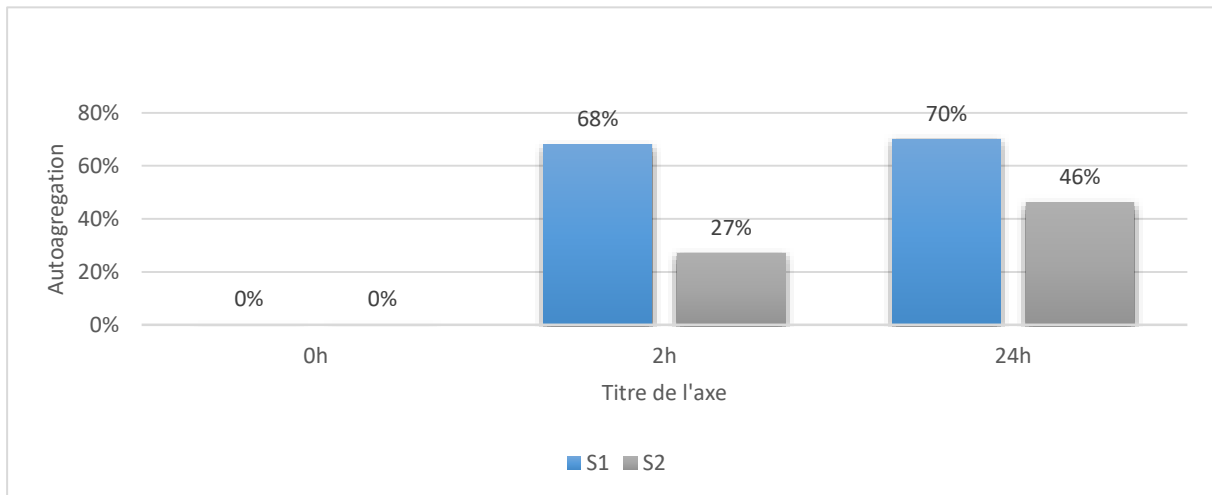


Figure12: Pourcentage d'auto- agrégation de *S. cerevisiae* S1 et S2.

III.5. Activité antioxydante

Les résultats obtenus (figure 13 tableaux annexes 04) ont montré que l'activité antioxydante pour S1 est de 41,21 % et S2 est de 50,12%. Selon **Gil-Rodríguez et al. (2015)**, *S. cerevisiae* a présenté un pourcentage de réduction de DPPH de 63,03 %, ce qui montre une excellente activité antioxydante. Ces résultats sont en accord avec nos résultats.

D'après **Gil-Rodríguez et al., (2015)**, l'activité anti radicalaire est évaluée en quatre catégories selon le pourcentage d'inhibition du DPPH: faible activité (20-30%), bonne activité (30-40%), très bonne activité (40-50%), et excellente activité (> 50%), (**Gil-Rodríguez et al., 2015**). D'après cette classification, nos souche peuvent être classée dans la catégorie des probiotique a très bonne activités antioxydants pour la S1(41%) et excellent activité antioxydants pour la S2(50,12%)

Piame et al. (2022) ont trouvé que *S. cerevisiae* ont des activités de piégeage des radicaux libres et le pourcentage d'inhibition du DPPH plus faibles. Ces résultats sont contraires à ceux de **Fakruddin et al. (2017)** qui ont démontré que les cellules de *S. cerevisiae* IFST062013 montrent une excellente inhibition des radicaux DPPH. En effet, au cours de leur croissance, les levures produisent une large gamme de métabolites (acide ascorbique, polyphénols, glutathion, thioredoxine, mélatonine...) ayant la capacité d'inhiber les radicaux libres **Vázquez et al. (2017)** (**Figure 13**).

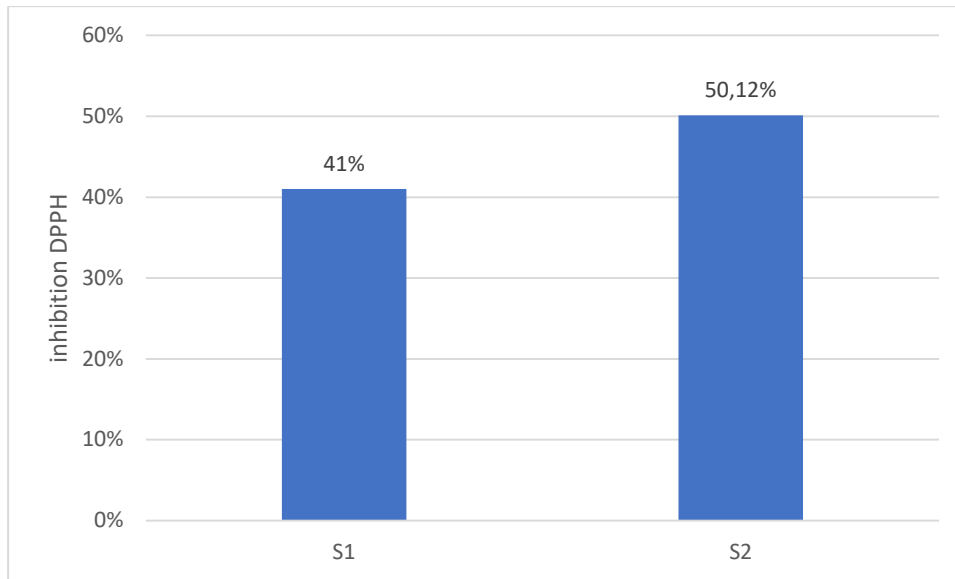


Figure13 : Pourcentage d’inhibition du *DPPH* de *S. cerevisiae* S1et S2.

III.6. Activité gélatinase

Les résultats obtenus (figure 14) ont montré que l'activité gélatinase positive pour les deux souches S1 et S2, mais ce dernier possède une activité gélatinase important par a pour a la souche S1. Les résultats obtenus par (Syal *et al.* , 2013) monter un activités gélatinase négative contrairement à nos résultats, ou ont a enregistré une activité gélatinase chez les deux souches de *S.cerevisiae* .

Selon **Dessaegn et Anduaem (2023)**, les cultures qui ont gélifié après 1 h à 4°C ont été interprétées comme ne montrant pas d'activité gélatinase. *S.cerevisiae*.(figure14)



Figure 14 : Activités gélatinase de *S.cerevisiae* (S1et S2).

Activité antibiotique

III.7. Tests des spots

Pour évaluer l'activité inhibitrice de *S. cerevisiae* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli* un test des spots a été réalisé. Les résultats obtenus ont montré que *S. cerevisiae* possède un spectre d'activité à l'égard de *S. aureus* qui se traduit par l'apparition de zones d'inhibition autour des spots. Cependant, aucune zone d'inhibition n'a été observée à l'égard de *E. coli*. (Figure 15).



Figure 15 : Activités de résultats obtenus par le test des spots vis-à-vis de *S. aureus*.

III.8. Tests des puits

Pour évaluer l'activité inhibitrice des surnageant de culture de *S. cerevisiae* à l'égard de *S. aureus* et *E. coli* un test des puits a été réalisé.

Après incubation aucune zone d'inhibition n'a été obtenus cela montre que le surnageant de *S. cerevisiae* (S1 et S2) n'a aucune activité inhibitrice. Ces résultats nous laissent penser à la nécessité de l'optimisation des conditions d'inhibition.

Conclusion

Conclusion

Lors de cette étude deux souches de *Saccharomyces cerevisiae* (S1 et S2) ont été utilisées. L'objectif principal de ce travail est l'étude de quelques propriétés probiotiques de *S. cerevisiae* telle que la résistance aux sels biliaires, aux pH gastro-intestinaux simulé et l'activité antimicrobienne vis-à-vis de *S. aureus* et *E. coli*.

Les deux souches de *S. cerevisiae* ont montré une résistance aux conditions gastriques simulées. Dans le test de la résistance à l'acidité (pH=3), la souche S2 était meilleure que la S1 avec un taux de survie de 63,91% et 58% respectivement. A 0,5% d'acides biliaires, la S2 était aussi meilleur avec un taux de survie de 59,79%. La souche S2 a montré une excellente activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition du DPPH de 50,12%.

Cependant, la souche S1 a montré une meilleure autoagregation et hydrophobicité avec des taux de 70% et 85,10%.

Les résultats des tests d'activité antibactérienne (test de spots) ont montré que la souche S1 de *S. cerevisiae* possède une activité inhibitrice vis-à-vis de *S. aureus*. Par contre, aucune activité n'a été observée à l'égard d'*E. coli*.

A travers les résultats obtenus dans cette étude on peut suggérer que les deux souches de *S. cerevisiae* montrent un grand potentiel probiotique qui les rend de bon candidates pour des applications en tant que probiotiques et bioconservateurs dans les aliments.

Ce travail mérite d'être complété et approfondi en faisant d'autre tests d'aptitude probiotique tel que :

- Test hémolytique.
- Test de la Co agrégation.
- Test d'adhésion à différentes surfaces et d'amélioration de l'absorption intestinale.
- L'optimisation de l'activité antimicrobienne

Références bibliographiques

A

- Aguilar-Uscanga, B., & Francois, J. M. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in applied microbiology*, 37(3), 268-274.
- **Ahiwe, E. U.**, Dos Santos, T. T., Graham, H., & Iji, P. A. (2021). Can probiotic or prebiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) serve as alternatives to in-feed antibiotics for healthy or disease-challenged broiler chickens?: a review. *Journal of Applied Poultry Research*, 30(3), 100164.
- Alam, T., & Godard, J. (2007). Réformes sectorielles et monstration de la modernité: les usages des savoirs managériaux dans les politiques de l'emploi et de l'alimentation. *Politix*, (3), 77-100.
- Abid, R., Waseem, H., Ali, J., Ghazanfar, S., Muhammad Ali, G., Elsbali, A. M., & Alharethi, S. H. (2022). Probiotic yeast *Saccharomyces*: Back to nature to improve human health. *Journal of Fungi*, 8(5), 444.
- Albergaria, H., Francisco, D., Gori, K., Arneborg, N., & Gírio, F. (2010). *Saccharomyces cerevisiae* CCM1 885 secretes peptides that inhibit the growth of some non-*Saccharomyces* wine-related strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86, 965-972.
- Al-Jassaci, M. J., Mohammed, G. J., & Hameed, I. H. (2016). Secondary metabolites analysis of *Saccharomyces cerevisiae* and evaluation of antibacterial activity. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(5), 304-315.

B

- Bai, F. Y., Han, D. Y., Duan, S. F., & Wang, Q. M. (2022). The ecology and evolution of the Baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes*, 13(2), 230 <https://doi.org/10.3390/genes13020230>
- Bayley R.B. and Parks L.W. 1975. Yeast sterol esters and their relationship to the growth of yeast. *J Bacterial. Journal of bacteriologie*, 124(2) : pp. 606-612.
- Bernard, D. (1996) The yeast genome project: what did we learn? *Trends in Genetics* 12 (7), 263
- Iraqui, I., Vissers, S., Bernard, F., De Craene, J. O., Boles, E., Urrestarazu, A., & André, B. (1999). Amino acid signaling in *Saccharomyces cerevisiae*: a permease-like sensor of external amino acids and F-Box protein Grr1p are required for transcriptional

induction of the AGP1 gene, which encodes a broad-specificity amino acid permease. *Molecular and cellular biology*, 19(2), 989-1001.

- Bevan, E. A., & Somers, J. M. (1969). Somatic segregation of the killer (k) and neutral (n) cytoplasmic genetic determinants in yeast. *Genetics Research*, 14(1), 71-77.
- Blom, J., Mattos, M.J.T.D., et Grivell, L.A., (2000). Redirection of the Respiratory Fermentative Flux Distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by Overexpression of the Transcription Factor Hap4p. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, pp 1970 – 1973.
- Bouix, M., Leveau, J.Y., (1993). *Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel*. Ed. Technique et documentation-Lavoisier-Apria. Paris, pp 523.
- Segev, N., Mulholland, J., & Botstein, D. (1988). The yeast GTP-binding YPT1 protein and a mammalian counterpart are associated with the secretion machinery. *Cell*, 52(6), 915-924.

C

- Capece, A., Pietrafesa, R., Siesto, G., Romaniello, R., Condelli, N., & Romano, P. (2019). Selected indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains as profitable strategy to preserve typical traits of Primitivo wine. *Fermentation*, 5(4), 87.
- Chelliah, R., Ramakrishnan, S. R., Prabhu, P. R., & Antony, U. (2016). Evaluation of antimicrobial activity and probiotic properties of wild-strain *Pichia kudriavzevii* isolated from frozen idli batter. *Yeast*, 33(8), 385-401.
- Cubillos, F.A., E.J. Louis, et G. Liti. (2009). Generation of a large set of genetically tractable haploid and diploid *Saccharomyces* strains. *FEMS yeast research*. 9:1217- 1225.
- Cavalcanti, M. T. H., & Porto, A. L. F. (2017). *Saccharomyces cerevisiae* from Brazilian kefir-fermented milk: An in vitro evaluation of probiotic properties. *Microbial pathogenesis*, 110, 670-677.
- Cheny, T., Colin, C., & Verquin, B. (2024). Experimental evaluation of binder infiltration depth and axial overlap to control properties of green parts produced by Binder Jetting. *Additive Manufacturing*, 104231.

D

- De Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060-2076. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2018.09.003](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003)
- De Lima, M. D. S. F., de Souza, K. M. S., Albuquerque, W. W. C., Teixeira, J. A. C.,

- Dessalegn, M., & Andualem, B. (2023). In vitro evaluation of probiotic properties of yeasts and lactic acid bacteria isolated from ersho samples collected from different parts of Ethiopia. *International Journal of Food Properties*, 26(2), 3048-3064.
- Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Polo, A., Celano, G., Martinovic, A., ... & Gobbetti, M. (2020). Design of potential probiotic yeast starters tailored for making a cornelian cherry (*Cornus mas* L.) functional beverage. *International journal of food microbiology*, 323, 108591.
- Duina, A. A., Miller, M. E., & Keeney, J. B. (2014). Budding yeast for budding geneticists: a primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*, 197(1), 33-48.
- Defosse, T. A., Le Govic, Y., Vandeputte, P., Courdavault, V., Clastre, M., Bouchara, J. P., ... & Papon, N. (2018). A synthetic construct for genetic engineering of the emerging pathogenic yeast *Candida auris*. *Plasmid*, 95, 7-10.

• E

- Ehrmann, A. K., Wronska, A. K., Perli, T., de Hulster, E. A., Luttik, M. A., van den Broek, M., ... & Daran, J. M. (2024). Engineering *Saccharomyces cerevisiae* for fast vitamin-independent aerobic growth. *Metabolic Engineering*, 82, 201-215.

F

- Fakruddin, M. D., Hossain, M. N., & Ahmed, M. M. (2017). Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1-11.

G

- Gedek BR (1991) Regulierung der darmflora über die nahrung. *Zbl Hyg Umweltmed* 191:277–301.
- Gil-Rodríguez, A. M., Carrascosa, A. V., & Requena, T. (2015). Yeasts in foods and beverages: In vitro characterisation of probiotic traits. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1156-1162. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.042>.
- Glubev, W .I. (2006). ‘Antagonistic Interaction Among Yeasts’, in *biodiversity and Ecophysiology of yeasts* The Yeast Handbook., eds .G.Peter and C.Rosa (Berlin, Heidelberg: Springer), 197-219.[doi:10.1007/3-540-30985-3_10](https://doi.org/10.1007/3-540-30985-3_10).
- Godard, P., Urrestarazu, A., Vissers, S., Kontos, K., Bontempi, G., Van Helden, J., & André, B. (2007). Effect of 21 different nitrogen sources on global gene expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular and cellular biology*, 27(8), 3065-3086.

- Goffeau, A., B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin and S. G. Oliver (1996) Life with 6000 Genes, *Science* 274 (5287), 546.
- Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., ... & Oliver, S. G. (1996). Life with 6000 genes. *Science*, 274(5287), 546-567.
- Golubev, W. I. (2006). Antagonistic interactions among yeasts. In *Biodiversity and ecophysiology of yeasts* (pp. 197-219). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Guinet R. et Godon B. 1994. La panification Française. Ed. Tec&Doc, p. 521.

H

- Hsiung, R. T., Fang, W. T., LePage, B. A., Hsu, S. A., Hsu, C. H., & Chou, J. Y. (2021). In vitro properties of potential probiotic indigenous yeasts originating from fermented food and beverages in Taiwan. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 113-124.
- hyab Gddoa Al-sahlany, S., Altemimi, A. B., Al-Manhel, A. J. A., Niamah, A. K., Lakhssassi, N., & Ibrahim, S. A. (2020). Purification of bioactive peptide with antimicrobial properties produced by *Saccharomyces cerevisiae*. *Foods*, 9(3), 324.
- Hatoum, R., Labrie, S., & Fliss, I. (2012). Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications. *Frontiers in microbiology*, 3, 421.

I

- Ishtar Snoek, I. S., & Yde Steensma, H. (2007). Factors involved in anaerobic growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 24(1), 1-10.

K

- Kreger –Van, Rij N.J., (1984). The yeast, a Taxonomic Study, Elsevier Biomedical.
- Kessi-Pérez, E. I., González, A., Palacios, J. L., & Martínez, C. (2022). Yeast as a biological platform for vitamin D production: A promising alternative to help reduce vitamin D deficiency in humans. *Yeast*, 39(9), 482-492.
- Kumura, H., Tanoue, Y., Tsukahara, M., Tanaka, T., & Shimazaki, K. (2004). Screening of dairy yeast strains for probiotic applications. *Journal of dairy science*, 87(12), 4050-4056.

L

- Lander, E. S., & Botstein, D. (1987). Homozygosity mapping: a way to map human recessive traits with the DNA of inbred children. *Science*, 236(4808), 1567-1570.
- Larpent J.P. 1991. Biotechnologie des levures. Ed Masson, Paris, p .426-445.
- Larpent, J. P., & Larpent-Gourgau, M. (1985). *Eléments de microbiologie*. Hermann.
- Lesage, G., & Bussey, H. (2006). Cell wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and molecular biology reviews*, 70(2), 317-343. <https://doi.org/10.1128/membr.00038-05> .

M

- Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060-2076.
- Mounir, M., Belgire, M., Lahnaoui, S., Hamouda, A., Thonart, P., Delvigne, F., & Ismaili Alaoui, M. (2016). Maîtrise de la fermentation alcoolique sous stress éthanolique, thermique et osmotique de la souche *Saccharomyces cerevisiae* YSDN1 en vue de la préparation du vinaigre de fruits. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(2). <https://hdl.handle.net/2268/202770>

N

- Nakashima, K., Yamaguchi, K., Taniguchi, N., Arai, S., Yamada, R., Katahira, S., & Kondo, A. (2011). Direct bioethanol production from cellulose by the combination of cellulase-displaying yeast and ionic liquid pretreatment. *Green Chemistry*, 13(10), 2948-2953.
- Neumann, N. P., & Lampen, J. O. (1967). Purification and properties of yeast invertase. *Biochemistry*, 6(2), 468-475.
- Noui Y. 2001. Optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur, Institut d'agronomie, Batna .p. 3...5-6-12-14-17-20-40-58.
- Nilsson, A. (2014). Predicting metabolic strategies in *Saccharomyces cerevisiae* with a kinetically constrained FBA model.
- Nguyen, T. D. (2016). *Protection de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système biopolymérique multicouche: effet sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l'environnement* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne).

- Ogunremi, O. R., Sanni, A. I., & Agrawal, R. J. J. O. A. M. (2015). Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. *Journal of Applied Microbiology*, 119(3), 797-808.

P

- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 6(1), 1.
- Palma, M. L., Zamith-Miranda, D., Martins, F. S., Bozza, F. A., Nimrichter, L., Montero-Lomeli, M., ... & Douradina, B. (2015). Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains as biotherapeutic tools: is there room for improvement?. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 6563-6570.
- Piame, L. T., Kaktcham, P. M., Kouam, E. M. F., Techeu, U. D. F., Ngouénam, R. J., & Ngoufack, F. Z. (2022). Technological characterisation and probiotic traits of yeasts isolated from Sha'a, a Cameroonian maize-based traditional fermented beverage. *Heliyon*, 8(10).

R

- Richard, L. (2014). *Impact du dioxyde de carbone sur la levure Saccharomyces cerevisiae: caractérisation du transfert liquide/gaz et implications sur les métabolismes énergétiques* (Doctoral dissertation, INSA de Toulouse).
- Rebeca, R., Victoria, R. M., Marcos, R. F., Leonor, C. M. C., de Frattari Susana, R., Haydee, V. A., ... & Clara, N. I. T. (2018). Beta Tubulin in Extracellular Traps and Mitochondrial Dynamics in Autologous Cultures of Human Leukocytes Stimulated With Lipopolysaccharide. *Clinical Research in Immunology*, 1(2), 1-5.
- Romero-Luna, H. E., Hernández-Sánchez, H., Ribas-Aparicio, R. M., Cauich-Sánchez, P. I., & Dávila-Ortiz, G. (2019). Evaluation of the probiotic potential of *Saccharomyces cerevisiae* Strain (C41) isolated from Tibicos by in vitro studies. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11, 794-800.
- Romero-Luna, H. E., Hernández-Sánchez, H., Ribas-Aparicio, R. M., Cauich-Sánchez, P. I., & Dávila-Ortiz, G. (2019). Evaluation of the probiotic potential of *Saccharomyces cerevisiae* Strain (C41) isolated from Tibicos by in vitro studies. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11, 794-800.

S

- Salari, R. et Salari, R. (2017). Enquête sur les meilleures conditions de croissance de *Saccharomyces cerevisiae*. *Médecin électronique*, 9 (1), 3592. [10.19082/3592](https://doi.org/10.19082/3592).
- Seddik, H. A., Ceugniez, A., Bendali, F., Cudennec, B., & Drider, D. (2016). Yeasts isolated from Algerian infants's feces revealed a burden of *Candida albicans* species, non-*albicans Candida* species and *Saccharomyces cerevisiae*. *Archives of microbiology*, 198, 71-81.
- Suvarna, S., Dsouza, J., Ragavan, M. L., & Das, N. (2018). Potential probiotic characterization and effect of encapsulation of probiotic yeast strains on survival in simulated gastrointestinal tract condition. *Food science and biotechnology*, 27, 745-753.
- Syal, P., & Vohra, A. (2013). Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. *International Journal of Microbiology Research*, 5(2), 390.

T

- Thuriaux, P. (2004). La régulation métabolique chez *Saccharomyces cerevisiae*. 81-102 p. *Les organismes modèles: La levure*.

V

- Vázquez, J., González, B., Sempere, V., Mas, A., Torija, M. J., & Beltran, G. (2017). Melatonin reduces oxidative stress damage induced by hydrogen peroxide in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in microbiology*, 8, 272323. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01066>
- Vieira, A.T., Teixeira, M.M. and Martins, F.S., 2013. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Frontiers in Immunology* 4: 445.
- Visser, W., van Spronsen, E. A., Nanninga, N., Pronk, J. T., Kuenen, J. G., & van Dijken, J. P. (1995). Effects of growth conditions on mitochondrial morphology in *Saccharomyces cerevisiae*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 67, 243-253.
- Xia, H., Kang, Y., Ma, Z., Hu, C., Yang, Q., Zhang, X., ... & Chen, X. (2022). Evolutionary and reverse engineering in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a Pdr1p mutation-dependent mechanism for 2-phenylethanol tolerance. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 269.

Y

- Younis, G., Awad, A., Dawod, R. E., & Yousef, N. E. (2017). Antimicrobial activity of yeasts against some pathogenic bacteria. *Veterinary world*, 10(8), 979.

Z

- ZAOUI, L., & DJEBAR, M. R. (2011). Le stress oxydatif comme processus inducteur d'action toxique du Cadmium sur la Levure (*Saccharomyces cerevisiae*). *Les technologies de laboratoire*, 6(23).

ANNEXES

Annexe I :

Matériel utilisé

➤ **Appareillage**

- Agitateur électrique (Hiedolphvibramax)
- Autoclave (Pbinternational)
- Bain marie (Raypa)
- Balance (Radwag)
- Centrifugeuse (Sigma)
- Etuve (Mettler)
- Pipette pasteur
- Micropipette (Accumax)
- Microscope optique
- pH-mètre (Hannainstruments)
- Réfrigérateur (Campingaz)
- Spectrophotomètre (Biotek)
- Vortex électrique
- Four Pasteur (Pol-Ekoaparatura)
- Plaque chauffante agitatrice (Velpscientifica) + lecteur microplaque

➤ **2. Réactifs, colorants et autres**

- L'eau oxygénée • Eau physiologique • Ethanol • Lugol • Fuchsine • NaCl • NaOH (1 N) • Huile à immersion • HCl (1 N) • Crystal Violet • Violet de Gentian .

Annexe II : Résultats**Tolérance au pH gastrique simulé****Tableau I :** Pourcentage de viabilités de *S.cerevisiae* à différent de pH

| pH | pH 2 | pH 2,5 | pH 3 | Témoin |
|----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| S1 | 2,1 x 10 ⁷ | 3,5x10 ⁷ | 4,1x10 ⁷ | 7x10 ⁷ |
| S2 | 1,9x10 ⁷ | 2,5x10 ⁷ | 3,1x10 ⁷ | 4,85x10 ⁷ |
| Viabilité S1 | 30% | 43% | 58% | / |
| Viabilités S2 | 39% | 51,54% | 63,91% | / |

Tolérance aux sels biliaires

Tableau II : Pourcentage de viabilité de *S.cerevisiae* S1erS2 a différents concentration de sels biliaires.

| SB | 0,3% | 0,5% | 1% | Témoin (0h) |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| S1 | $3,1 \times 10^7$ | $2,1 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^7$ | 7×10^7 |
| S2 | $3,2 \times 10^7$ | $2,9 \times 10^7$ | $1,5 \times 10^7$ | $4,85 \times 10^7$ |
| Viabilité S1 | 44,28% | 30% | 15,71% | / |
| Viabilité S2 | 65,57% | 59,79% | 30,92 % | / |

Hydrophobicité de la surface cellulaire

Tableau III : Pourcentage hydrophobicité S1 et S2.

| | Chloroforme | Xylène |
|----|-------------|--------|
| S1 | 42% | 85,1% |
| S2 | 53,5% | 32,8% |

Test de l'auto-agrégation

Tableau IV : pourcentage Auto-agregation S1 et S2

| | 0h | 2h | 24h |
|----|----|-----|-----|
| S1 | 0% | 68% | 70% |
| S2 | 0% | 27% | 46% |

Activité antioxydant

Tableau V : pourcentage d'inhibition DPPH pour S1etS2

| | Initial | Témoin (0 h) |
|----------------|---------|--------------|
| DO S1 | 0,269 | 0,484 |
| DO S2 | 0,263 | 0,484 |
| Antioxydant S1 | 42,21% | / |
| Antioxydant S2 | 50,12 % | / |

Annexe III : Composition des milieux de culture (pour 1 litre d'eau distillée)

Tableau VI : Composition de l'eau physiologique

| Composition | Quantité |
|--------------------|----------|
| Chlorure de sodium | 9g |
| Eau distillé (QSP) | 1L |

pH = 7 autoclavage à 120 °C/20min

Tableau VII : Composition du bouillon nutritif (TM MEDIA)

| Composition | Quantité |
|---------------------|----------|
| Extrait de viande | 5g |
| Peptone | 10g |
| Chlorure de sodium | 5g |
| Eau distillée (QSP) | 1L |

pH = 7,2 autoclavage à 120 °C/20min

La composition de la gélose nutritive est : bouillon nutritif plus 15g d'agar.

Tableau VIII : Composition de la gélose Mueller-Hinton (ALLIANCE BIO EXPERTISE).

| Compositions | Quantité |
|------------------------------|----------|
| Extrait de viande | 2g |
| Hydrolysate acide de caséine | 17,5g |
| Amidon | 1,5g |
| Agar | 10 g |

pH = 7 autoclavage à 120 °C/20min

Tableau IX : compositions de gélose OGA

| Compositions | Quantité |
|-------------------|----------|
| Extrait de levure | 5g |
| Glucose | 20g |
| Agar | 15g |

pH = 7 autoclavage à 120 °C/20min

Tableau X : Compositions de gélose sabouraud

| compositions | Quantités |
|--------------------|-----------|
| Peptone de caséine | 5g |
| Peptone de viande | 5g |
| glucose | 40 g |
| Agar | 15 g |

pH = 7 autoclavage à 120 °C/20min

Tableau XI : Composition de la Gélose Chapman

| Compositions | Quantités |
|---------------------------------|-----------|
| Extrait de viande | 1g |
| Chlorure de sodium | 75g |
| Peptone | 10g |
| Agar | 15g |
| Mannitol | 10g |
| Rouge de phénol | 0.025g |
| pH=7,4 Autoclaver à 120°C/20min | |

Tableau XII : Composition de la Gélose EMB.

| compositions | Quantité |
|------------------------------------|----------|
| Digeste peptidique de tissu animal | 10 |
| Phosphate dipotique | 2 |
| Lactose | 5 |
| Sucrose | 5 |
| Erosine | 0,4 |
| Bleu de méthylène | 0,065 |
| Gélose | 13,5g/l |

pH = 7 autoclavage à 120 °C/20min

Résumé

La présente étude a pour but d'évaluer quelques propriétés probiotiques de *S.cerevisia* et leurs pouvoir antagoniste à l'égard de *S.aureus* et *E.coli* . Les résultats des tests in vitro d'activité antibactérienne (tests des puits et spots) ont montré que *S.cerevisia* testées ont un pouvoir antagoniste important vis-à-vis de *S.aureus*. L'évaluation du potentiel probiotique des *S.cerevisia* comprenait la survie de deux souches S1 et S2 dans des conditions simulées du tractus gastro-intestinal. Les deux souches testées étaient résistantes à pH 2 et à une concentration de 0,3% de sels biliaires pendant les 4h d'incubation. En effet des taux de survie avoisinant 70% ont été obtenus.

Les résultats des tests hydrophobicité, antioxydant, autoagregation, activités gélatinise pour les deux souches S1 et S2 ont montré une forte capacité pour être efficace et viable. Ces résultats suggèrent l'utilisation des deux souches étudiées comme probiotiques.

Mots-clés : *S. cerevisiae*, probiotiques, antagonisme, *S. aureus*, *E. coli*.

Abstract

The aim of this study is to evaluate some probiotic properties of *S. cerevisiae* and their antagonistic against *S. aureus* and *E. coli*. The results of the in vitro antibacterial activity tests (well and spot tests) showed that the tested *S. cerevisiae* strains have significant antagonistic power against *S. aureus*. The evaluation of the probiotic potential of *S. cerevisiae* included the survival of two strains, S1 and S2, in simulated gastrointestinal tract conditions. The two tested strains were resistant to pH 2 and a concentration of 0.3% bile salts during the 4-hour incubation period. Indeed, survival rates close to 70% were obtained.

The results of the hydrophobicity, antioxidant, auto-aggregation, and gelatinase activity tests for the two strains S1 and S2 showed a strong capacity to be effective and viable. These results suggest the use of the two studied strains as probiotics.

Keywords: *S. cerevisiae*, probiotics, antagonism, *S. aureus*, *E. coli*.