

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaia



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par :

- DJAIDIR Meriem

Thème

Recherche et application des levures en tant que probiotiques, revue.

Soutenu publiquement, le / / , devant le jury composé de :

M/DJLLID Youssef
M/IDER Soufiane
M/BAKELI Aissa

Maitre-Assistant B
Maitre-Assistant A
Maitre de conférences A

Univ. Ghardaia
Univ. Ghardaia
Univ. Ghardaia

Président
Directeur de mémoire
Examineur

Année universitaire : 2021- 2022

Remerciement

Avant tout, nous remercierons ALLAH le tout puissant, de nous avoir donnée la force et la patience pour mener à terme ce travail.

Ma reconnaissance va a monsieur IDER Sofiane Maitre-Assistant-A à l'université de Ghardaia pour ses conseils et ses orientation et sa patience. Et nous remercierons aussi les membres du jury pour ses révisions et observations.

Dédicaces

*Je dédie cette graduation a l'âme de mon chère père, que dieux lui fasse
miséricorde,*

*à ma chère mère, à mes distingués professeurs depuis le début du voyage
jusqu'a ce beau moments*

Grâce a dieu qu'aujourd'hui, je vais cueillir le fruit de mes études

A mon cher frère : Abdelkader

**A mes très chères sœurs : Nakhla ,Mebarka , Fatima , Zohra , Kheira
,Halima ,et leur époux .**

A mes chères sœurs : Amra, Hadda, et Imane.

**A tous les membres de ma famille qui mont tant encouragée et soutenue
tout au long de mon cursus scolaire et universitaire.**

**A tous mes amis(e) et mes collègues, je leur exprime ma profonde
sympathie et leur souhaite beaucoup de bien.**

A tous ceux qui me sont chers et a ceux qui ont cru en moi

المخلص :

لا تزال المجالات الرئيسية لاستخدام الخمائر على نطاق تجاري مقصورة على ثلاثة مجالات: المشروبات الكحولية وإنتاج الإيثانول والخبز. في هذه الدراسة ، سوف نسلط الضوء على فوائد بعض الخمائر ، مثل استخدام الخميرة الحية في الوقاية من الأمراض أو علاجها. نظرًا لأن صحة الإنسان وحيويته ترتبط ارتباطًا وثيقًا بالميكروبات المعوية ، وإذا حدث اختلال التوازن أو انخفضت أعدادها في الأمعاء ، يجب استعادة التوازن من خلال توفير العدد المناسب والتنوع المرغوبة من الكائنات الحية الدقيقة المفيدة التي تسمى البروبيوتيك. تحتل الخمائر حاليًا جزءًا مهمًا في هذه المجموعة من الكائنات الحية الدقيقة بروبيوتيك وأشهر الخميرة المعروفة هي *Saccharomyces cerevisia*. بالإضافة إلى ذلك ، فإن اكتشاف البروبيوتيك الجديد *non-saccharomyces* يمثل تحديًا سيزيد في نطاق هذه الخمائر المفيدة للمضيف.

الكلمات المفتاحية :

صناعة الخبز ، الجراثيم المعوية ، اختلال التوازن ، البروبيوتيك ، *saccharomyces cerevisia*

Résumé :

Les principaux domaines d'utilisation des levures à l'échelle commerciale se limitent encore à trois domaines : les boissons alcoolisées, la production d'éthanol et panification. Dans cette étude, nous soulignerons les avantages de certaines levures, tels que l'utilisation de levures vivantes dans la prévention ou le traitement de maladies. Étant donné que la santé et la vitalité humaines sont étroitement liées au microbiote intestinal, et si le dysbiose se produit ou si leur nombre diminue dans l'intestin, l'équilibre doit être rétabli en fournissant le nombre approprié et la qualité souhaitée de micro-organismes bénéfiques appelés probiotiques. Actuellement les levures occupent une part importante dans ce groupe de micro-organismes probiotiques et la levure la plus connue est *saccharomyces cerevisia*. De plus, la découverte de nouvelles probiotiques non-saccharomyces est un enjeu qui va augmenter dans la gamme de ces levures bénéfiques pour l'hôte.

Les mots clés:

panification, microbiote intestinal, dysbiose, probiotiques, *saccharomyces cerevisia* .

Abstract :

The main areas of use of yeasts on a commercial scale are still limited to three areas: alcoholic beverages, ethanol production and baking. In this study, we will highlight the benefits of certain yeasts, such as the use of live yeast in the prevention or treatment of disease. Since human health and vitality are closely linked to the intestinal microbiota, and if dysbiosis occurs or their numbers decrease in the intestine, the balance must be restored by providing the appropriate number and desired quality of micro-beneficial organisms called probiotics. Currently yeasts occupy an important part in this group of probiotic microorganisms and the best known yeast is *Saccharomyces cerevisia*. In addition, the discovery of new non-saccharomyces probiotics is a challenge that will increase in the range of these host-beneficial yeasts.

Key words:

breadmaking, intestinal microbiota, dysbiosis, probiotics, *saccharomyces cerevisia*,

TABLE DES MATIERES

Contenu	page
Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Tableau des matières	
Introduction	2
CHAPITRE 1 Généralité sur les probiotiques	4
1. Historique et définition des probiotiques	5
2. Critères de sélection des souches probiotiques	5
2.1. Critères de sélectivité	5
2.2. Critères fonctionnels	6
2.2.1. Survie au cours du transit digestif	6
2.2.2. Activité antimicrobienne	7
2.2.3. colonisation	7
2.2.4. Adhésion aux cellules intestinales et /ou au mucus	8
2.3. Critères technologiques	9
2.3.1. Aptitude à la production industrielle	9
2.3.2. Présentation du probiotique et ses condition de stockage	9
3. Mécanismes d'actions des probiotiques	9
3.1. Inhibition de l'adhésion des pathogènes	9
3.2. Production de substances antimicrobiennes	11
3.2.1. Les bactériocines	11
3.2.2. Les acides organiques	11
3.2.3. Le peroxyde d'hydrogène	11
3.3. Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale	12
3.4. Renforcement de l'effet barrière de l'épithélium intestinal	12
4. Les principales espèces probiotiques	13
4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	13
4.2. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	13
4.3. Le genre <i>Bacillus</i>	14
5. Réglementation des probiotiques	14
5.1. Médicaments probiotiques	15
5.2. Aliments probiotiques	15
5.3. Compléments alimentaires contenant des probiotiques	15
5.4. Préparations pour nourrissons et préparations de suite	16
CHAPITRE 2 Les levures probiotiques	
1. Le genre <i>Saccharomyces</i>	18
1.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
1.1.1. Définition	18
1.1.2. Propriétés biologiques	18
1.1.3. Les origines des souches	19
1.2. <i>Saccharomyces boulardii</i>	20

1.2.1. Historique et définition	20
1.2. 2. Propriétés biologiques	21
2. Les levures dites non-Saccharomyces	23
2.1. Kluyveromyces	24
2.1.1. Définition	24
2.1 .2. Propriétés biologiques	24
2. 1. 3. Applications dans les produits biotechnologiques	26
2.2. Debaryomyces hansenii	29
2.2.1. Phylogénie	29
2.2.2.Écologie	30
2.2.3. Applications en biotechnologie processus	31
2.3. Pichia spp	33
2.4. Yarrowia lipolytica	34
2.4.1. Définition	34
2.4.2. Écologie	34
2.4.3. Applications potentielles dans l'industrie agro-alimentaire	35
3. Effet thérapeutique des levures probiotiques	36
3.1. Mycocine	36
3.2. Diarrhées associées aux antibiotiques	37
3.3. Infection par Clostridium difficile	38
3.4. La diarrhée du voyageur	39
3.5. Diarrhées au cours du sida	41
3.6. Maladies intestinales inflammatoires	41
3.7. Côlon irritable	42
3.8. Modification de la signalisation de la cellule hôte	42
4. Effet sur les facteurs immunitaires intestinaux	43
5. Effet trophique de S. boulardii sur la muqueuse intestinale	43
6. Effet anti-inflammatoire de S. boulardii	44
7. Effet sur les fonctions physiologiques et métaboliques	45
Conclusion	48
Références Bibliographiques	50

Liste des figures

Figure 1: Mécanismes d'actions des probiotiques.....	12
Figure 2 : <i>Lactobacillus casei</i>	13
Figure 3: <i>Bifidobacterium spp.</i>	14
Figure 4 : Image de microscopie à transmission montrant <i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 sur une culture de cellules épithéliales humaines (lignées T84).....	20
Figure 5 : La phylogénie de <i>K. marxianus</i> au sein de genre <i>Kluyveromyces</i> et l'ordre Saccharomycetales basé sur 6 locus différents est montré.....	24
Figure 6 : Photographie de <i>Kluyveromyces lactis</i> au microscope à contraste interférentiel...	25
Figure 7 : Trois souches différentes de <i>K. marxianus</i> poussant sur un milieu identique montrent que ce champignon peut se développer dans les levures (CBS 712), les pseudophyphes (CBS 7858) et les hyphes (CBS 608). La capacité de certaines souches à changer de morphologie est démontrée par la croissance de CBS 397 dans deux conditions environnementales différentes (images avec l'aimable autorisation de Niall Burke, UCC)...	26
Figure 8 : Asques de <i>Debaryomyces hansenii</i> H158 avec une ascospore après 6 semaines sur gélose YEPD à 30 °C. Grossissement ×1125. Barre = 2,5 µm.....	29
Figure 9 : Voie métabolique de la dégradation du méthanol dans <i>Pichia pastoris</i> . 1) enzyme AOX, 2) catalase, 3) foxmaidéhyde deshydrogénase	33

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux effets trophiques de <i>Saccharomyces boulardii</i>	22
Tableau 2 : Principales espèces de levures d'importantes utilisations en biotechnologie.....	23
Tableau 3 : Résultats de plusieurs essais contrôlés randomisés en double aveugle, évaluant l'efficacité <i>S. boulardii</i> dans la prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques (DAA).....	37
Tableau 4 : Résultats de certaines études issues de la méta-analyse portant sur l'efficacité des probiotiques dans la prévention de la diarrhée du voyageur.....	40
Tableau 5 : Posologie de probiotiques du <i>Saccharomyces boulardii</i> , et la durée du traitement. Selon le nouveau guide des probiotique.....	41

INTRODUCTION

Introduction :

Le microbiote intestinal, ou bien flore intestinale, est un ensemble de micro-organismes répartis le long du tractus intestinal et dont la composition globale est variable selon la localisation, les individus, l'âge et les périodes de la vie d'un même individu. Cet écosystème pesant environ 2kg, possède les caractéristiques d'un véritable « organe » au sein de notre ventre qui fonctionne en étroite symbiose avec notre organisme et communique via ses propres moyens avec ce dernier. Le tube digestif humain abrite plus de 10^{14} bactéries (majoritairement anaérobies), ainsi que des virus, des levures et des champignons. En effet, il y a 10 fois plus de cellules procaryotes que de cellules eucaryotes dans l'organisme humain (Turroni, Ribbera et al. 2008).

D'une manière générale, les probiotiques sont considérés comme des agents protecteurs vis-à-vis des risques d'apparitions de pathologies digestives. Parmi les effets les mieux documentés figurent l'effet antidiarrhéique dans le cadre d'une antibiothérapie et aux entérocolophies à *clostridium difficile* (Faure, Pubert et al. 2013); et l'effet dans la prévention de la diarrhée du voyageur (McFarland 2007). Ou encore l'amélioration des troubles intestinaux associés à l'intolérance au lactose. Plus récemment ; étude clinique portant sur d'autre affection.

Compte tenu de tout ce que précède ; ce travail a permis de suivre les recherches effectuées sur la levure en tant que probiotique. Quelles recherches et application ont-elles menées sur la levure en tant que probiotique ? Surtout effet thérapeutique,

Le travail s'appuie sur une introduction qui définit le sujet ; limite son cadre de recherche et expose probiotique : concepts ; les principales espèces probiotiques ; mécanismes d'action, et critères de sélection des souches probiotiques et levures probiotiques et les effets thérapeutiques, et la conclusion qui représente les observations et les conséquences de ce travail . Puis présentation de la levure en tant que probiotique, levure *saccharomyces cerevisiae* et non *saccharomyces (kluveromyces ; Debaryomyces hansenii ; pichia spp ; yarrowia lipolytica)* et où nous avons fait la recherche de ses effets thérapeutiques ; et où nous avons conclu en basant sur les résultats des travaux antérieurs et les résultats qui traitent des travaux de recherche et des travaux antérieurs sur le sujet. De plus, on a utilisé la méthode descriptive de la plupart de mémoire, en utilisant aussi la méthode statistique quand c'était nécessaire, parce que le travail exige ces deux méthodes en tant que revue

Introduction

On outre, il y a eu des travaux antérieures qui ont traités ce thème tels que :Flore microbienne intestinale, Le nouveau guide des probiotiques et Yeast Diversity in Human Welfare. Mais notre approche est différente, car ce n'est pas expérimental ou de laboratoire, c'est purement théorique à cause de la nature de Revue.

Dans cette recherche, nous avons rencontré de nombreuses difficultés pour répertorier toutes les recherches qui traitaient ce sujet, et la plupart d'entre elles étaient en anglais, ce qui faisait de la traduction un travail supplémentaire et difficile.

Nous espérons que le travail a en général abordé ce thème et contribué à donner une image générale pour les chercheurs qui veulent faire des prochaines études dans ce thème, connaissant que ce travail reste en principe humain.

**CHAPITRE 01 : Généralité sur
Les probiotiques**

1. Historique et définition des probiotiques :

Metchnikoff et Tissier ont été les premiers à faire des suggestions au sujet de l'utilisation scientifique des bactéries. en 1954 , Ferdinand Vergin a introduit le terme de "probiotique" comparant dans un écrit intitulé "Anti-und Probiotika" les effets délétères des antibiotiques et autres substances antimicrobiennes sur la flore, avec les effets favorables ("Probiotika") des bactéries bénéfiques (Malbezin 2017).

En 1965, Lilly et Stillwell utilisent le terme de probiotique pour désigner des "facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes"(Hotel and Cordoba 2001). En 1974, Parker choisit d'élargir la définition à des "organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore". Cependant en 1991, Richard Fuller reprocha à cette nouvelle définition d'inclure potentiellement les antibiotiques et proposa : "des microorganismes ajoutés à l'alimentation et influençant de manière bénéfique l'animal hôte en améliorant l'équilibre de sa flore intestinale" (Fuller 1991) .

Selon l'OMS et FAO , les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu' administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice sanitaire à leur hôte (Food 2001).

2. Critères de sélection des souches probiotiques :

2.1. Critères de sélectivité :

Il faut également pour obtenir le label probiotique que les microbes répondent aux critères suivants :

- Identification précise de la souche (Genre, espèce), caractérisation phénotypique et géotypique. Cette identification est réalisée à l'aide de l'hybridation ADN/ADN, ou du séquençage de l'ADN qui code pour l'ARNr16S ribosomal ;
- Origine humaine pour être utilisé chez l'homme ;
- Innocuité (non invasif, non pathogène, non carcinogène), absence d'effet indésirable métabolique, immunologique, de transfert de gènes ou d'infection ;
- Résistance à l'acidité gastrique, aux acides biliaries et aux enzymes digestives;
- Adhérence au mucus ou aux cellules épithéliales intestinales, et exclusion de pathogènes en empêchant leur adhésion. Plus l'adhésion d'une bactérie probiotique sera importante, plus son temps de rétention au niveau intestinal sera augmenté, et plus elle pourra exercer des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte ;
- Persistance et multiplication dans le tractus intestinal ;

Production de substances antimicrobiennes (bactériocines, peroxyde d'hydrogène, acides organiques...);

- Pouvoir d'immunomodulation ;
- Effets bénéfiques sur la santé de l'hôte, prouvés et notion de dose efficace ;
- Culture facile des souches probiotiques ;

Stabilité des propriétés propres à la souche lors des étapes de production et dans le produit final, ainsi que des caractères organoleptiques. Les souches probiotiques doivent être viables jusqu'au site d'action, le choix des souches ayant une bonne stabilité est important (CHIGUER 2019).

2.2. Critères fonctionnels :

Afin d'être conformes à la définition établie en 2001 par la FAO/OMS, les microorganismes utilisés comme probiotiques doivent survivre, persister temporairement dans le tractus digestif et montrer une activité qui doit se traduire par des effets positifs sur la santé de l'hôte. Les exigences fonctionnelles des probiotiques sont établies à l'aide de tests *in vitro* qui se réfèrent à des propriétés bactériennes et plus rarement à des effets probiotiques proprement dits

2.2.1. Survie au cours du transit digestif :

Plus de deux litres de suc gastrique avec un pH faible sont sécrétés par les cellules qui tapissent l'estomac chaque jour, fournissant une barrière acide contre l'entrée de bactéries viables dans le tractus gastro-intestinal. L'effet du pH gastrique sur la viabilité des bactéries en empêchant la colonisation bactérienne de l'intestin grêle est bien étudié. Par conséquent, tout organisme probiotique doit avoir une tolérance élevée à l'acide pour survivre dans l'estomac La bile est le second facteur important qui influence le pourcentage de survie des microorganismes probiotiques. Le taux d'acides biliaires synthétisés dans le foie à partir du cholestérol est estimé à 500-700 ml / jour Ces acides sont sécrétés par la vésicule biliaire dans le duodénum, après la prise alimentaire par un individu. Les sels biliaires hydrolases (BSHs) catalysent l'hydrolyse des sels biliaires. L'hydrolyse des sels biliaires est médiée par les différents genres de la microflore intestinale, y compris *Lactobacillus Bifidobacterium* (Bouchefra).2012

Un certain nombre de BSHs ont été identifiés et caractérisés chez les bactéries probiotiques, et la capacité des souches probiotiques à tolérer des concentrations de sels biliaires a souvent été parmi les critères de sélection des souches probiotiques (Bouchebra)2012 .

2.2.2. Activité antimicrobienne :

Les microorganismes probiotiques doivent essentiellement maintenir de bonnes conditions sanitaires au sein du tube digestif. Il est donc important qu'ils soient capables d'inhiber le développement des germes indésirables. Pour cela, plusieurs mécanismes d'action sont envisageables (Hotel and Cordoba 2001) :

- par la production de substances bactéricides ou bactériostatiques, notamment des bactériocines, des acides organiques ou du peroxyde d'hydrogène ;
- en stimulant le système immunitaire (modulation des réponses immunitaires innées et adaptatives) ;
- en empêchant l'adhésion des germes pathogènes aux cellules de la paroi intestinale ;
- par compétition pour les nutriments, entraînant ainsi une diminution de la quantité de substrats disponibles pour les germes indésirables. La présence d'activités antimicrobiennes peut être démontrée *in vitro* par un challenge-test. Cette technique consiste à inoculer une concentration connue de germes microbiens dans la préparation de probiotiques à tester, puis à dénombrer ces germes à différentes échéances.

Si la présence d'activités antimicrobiennes n'est pas démontrée *in vitro*, les chances de colonisation des souches probiotiques ainsi que leur efficacité *in vivo* semblent considérablement diminuées. Cependant, même si les résultats obtenus *in vitro* sont favorables, ils sont difficilement extrapolables *in vivo* car les mécanismes d'action ne sont pas totalement élucidés. Les souches probiotiques sont malgré tout sélectionnées en fonction de leur activité antimicrobienne démontrée *in vitro* (Gournier-Chateau, Larpent et al. 1994).

2.2.3. Colonisation :

La question de la colonisation intestinale par les probiotiques a longtemps fait l'objet de nombreux débats au sein de la communauté scientifique. Il est maintenant démontré que les probiotiques ne s'implantent pas, ils transitent dans le tube digestif jusque dans les selles, parfois sans avoir adhéré ou s'être multipliés. La possibilité d'une colonisation durable de l'écosystème intestinal par un microorganisme probiotique – qui correspond au maintien à un niveau constant et au développement local de celui-ci (Piquepaille 1987).

sans qu'une ré-inoculation périodique ne soit nécessaire – est considérée comme conceptuellement impossible du fait d'un grand déséquilibre de force en faveur des microorganismes du microbiote autochtone, quantitativement plus abondants (Piquepaille 1987).

Les probiotiques colonisent donc temporairement le tractus digestif et font ainsi partie du microbiote allochtone. Leur persistance est plus ou moins longue, de deux à vingt jours en moyenne selon les souches sélectionnées. Les souches ayant une durée de persistance élevée sont à privilégier (Piquepaille 1987). Une consommation régulière de probiotiques semble donc indispensable pour obtenir un effet bénéfique persistant. Le produit probiotique doit être administré en continu et massivement de façon à pouvoir entrer en compétition avec le microbiote intestinal résident. Une gamme de doses minimales effectives et optimales doit être définie pour chaque souche probiotique (Piquepaille 1987). Il est souvent considéré, mais rarement observé, que les concentrations de probiotiques doivent être supérieures à 10^6 UFC par millilitre dans l'intestin grêle et à 10^8 UFC par gramme dans les selles. De telles concentrations dans l'intestin grêle ont été proposées car ce sont celles observées chez les patients présentant une colonisation chronique pathologique de l'intestin grêle avec expression clinique (diarrhées). Quant aux concentrations proposées dans les selles, ce sont celles des microorganismes composant le microbiote résident (Piquepaille 1987).

2.2.4. Adhésion aux cellules intestinales et/ou au mucus :

L'adhésion permet d'augmenter le temps de rétention des probiotiques dans l'intestin car ils résistent mieux aux mouvements péristaltiques intestinaux. Il est généralement admis que l'effet probiotique aura d'autant plus de chance d'être maximal que le microorganisme vivant séjournera longtemps dans le tube digestif. Par ailleurs, plusieurs effets bénéfiques des probiotiques semblent directement liés à la capacité d'adhésion. En effet, l'adhésion serait importante pour l'immunomodulation car les probiotiques adhérents sont en contact direct avec les cellules immunes épithéliales. De plus, l'adhésion des probiotiques permettrait de prévenir l'implantation de pathogènes sur les cellules épithéliales intestinales par des mécanismes de compétition (Izquierdo Alegre 2009) .

2.3. Critères technologiques :

Plusieurs aspects technologiques doivent être pris en compte dans la sélection des probiotiques tels que :

2.3.1. Aptitude à la production industrielle :

Pour exercer leur effet bénéfique sur la santé, les probiotiques doivent survivre en grand nombre au procédé de fabrication. Il est généralement admis qu'un nombre minimal de 10^7 cellules viables par gramme de produit est nécessaire pour exercer un effet probiotique. Une souche qui ne peut pas atteindre une concentration minimum de 10^9 cellules/g de produit déshydraté à chaud (spray) ou de 10^{10} cellules/g de produit déshydraté à froid (lyophilisation) ne peut être utilisée industriellement car, à plus faible concentration, son prix de revient serait trop élevé et les doses de médicaments et d'additifs à ajouter aux aliments deviendraient trop importantes

2.3.2. Présentation du probiotique et ses conditions de stockage :

Les probiotiques doivent rester stables dans les conditions de stockage. Sous forme de préparations concentrées, le médicament ou l'additif alimentaire doivent pouvoir se conserver au moins pendant une année. Pour ce faire, il est impératif que leur teneur en humidité ne dépasse pas 3 %. Par contre, dans l'aliment dont l'humidité atteint normalement et légalement 13 %. La conservation peut être réduite à environ 3 mois. Tous ces facteurs doivent être connus (Bahri 2014).

3. Mécanismes d'actions des probiotiques :

Les probiotiques font actuellement l'objet d'un certain consensus dans la communauté scientifique grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. Plusieurs mécanismes par lesquels certains probiotiques exercent des effets protecteurs ou thérapeutiques ont été proposés (Figure 1). Toutefois, ces modes d'action ne sont pas encore complètement élucidés. Parmi ces principaux mécanismes d'action, on retrouve le renforcement de la barrière intestinale, l'inhibition de l'adhésion des pathogènes à la muqueuse intestinale, la production de substances antimicrobienne et la modulation du système immunitaire.

3.1. Inhibition de l'adhésion des pathogènes : phénomène de compétition / exclusion :

Les probiotiques exercent une action antimicrobienne directe en s'opposant à l'invasion des microorganismes pathogènes dans le tube digestif tout en empêchant leur adhésion aux parois intestinales (Vanderpool, Yan et al. 2008).

En effet, il existe une compétition directe entre les souches probiotiques et les germes infectieux pour occuper les sites d'adhésion aux parois de l'intestin. Certains probiotiques ont une capacité d'adhérence au tube digestif et peuvent le coloniser de manière prolongée. Cette propriété pourrait constituer un avantage écologique favorisant leur implantation au niveau des parois intestinales et par conséquent, l'inhibition de la fixation des germes pathogènes. Ainsi, les probiotiques jouent un rôle de barrière physique contre les microorganismes pathogènes. Ce phénomène a été observé chez certains lactobacilles qui adhèrent aux villosités intestinales et inhibent la fixation d'*Escherichia coli* entéropathogènes (Roselli, Finamore et al. 2006; Collado, Meriluoto et al. 2007).

3.2. Production de substances antimicrobiennes :

Les probiotiques pourraient également limiter la croissance des pathogènes en exercent une action antimicrobienne indirecte. Cette dernière se réalise grâce à la production de différents composés antimicrobiens.

2.3.1. Les bactériocines :

Ce sont des composés protéiques qui ralentissent respectivement les invasions des souches bactériennes (Klaenhammer 1993). Ces substances nocives produites par les probiotiques sont dirigées contre des bactéries phylogénétiquement proches de la souche productrice. Elles agissent principalement sur la membrane externe des bactéries cibles en formant des pores qui mènent à la libération du contenu intracellulaire et à la mort de la bactérie affectée. Les lactobacilles et les lactocoques, contrairement aux souches de bifidobactéries, sont le plus souvent associés à la production de bactériocines. La nisine, qui est produite par la bactérie *Lactococcus lactis*, est la bactériocine la plus documentée. (Fooks and Gibson 2002).

3.2.2. Les acides organiques :

Les bactéries probiotiques ont la capacité de produire des acides organiques qui contribuent à l'inhibition de la croissance des microorganismes entérovirulants. Il s'agit de l'acide lactique et l'acide acétique, qui sont produits respectivement par les lactobacilles et les bifidobactéries via la fermentation des hexoses. Ces acides organiques, produits à partir de glucides ingérés lors de la prise alimentaire, contribuent à faire baisser le pH intestinal. Leur diffusion passive à travers la membrane bactérienne sous leur forme non dissociée permet, après leur dissociation, d'acidifier le cytoplasme et donc d'inhiber la propagation, la croissance et la survie des agents pathogènes acido-sensibles. (Servin 2004).

3.2.3. Le peroxyde d'hydrogène :

Certaines bactéries lactiques produisent, en milieu humide, du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui inhibe de nombreuses souches bactériennes pathogènes. La production du peroxyde d'hydrogène accompagnée par celle d'acide lactique permet l'inhibition du développement de certaines espèces pathogènes comme certains virus tel que le virus de la fièvre aphteuse, certains champignons comme le *Candida albicans*, ou encore certaines bactéries comme *Escherichia coli*, etc. (Ouwehand and Vesterlund 2004).

3.3. Stimulation de l'activité du système immunitaire intestinale :

L'interaction des probiotiques avec le système immunitaire permet d'accroître la réponse immune de l'hôte contre les agents entéropathogènes. En effet, les probiotiques interviennent dans la stimulation de l'immunité adaptative, tel que la production des anticorps de type IgA(Shu and Gill 2002) , ainsi que l'immunité innée tel que la production des macrophages, des monocytes,...

Par conséquent, les probiotiques agissent comme des adjuvants en modulant une réponse rapide de la muqueuse intestinale et renforçant ainsi le système immunitaire intestinale..(Oelschlaeger 2010).

3.4. Renforcement de l'effet barrière de l'épithélium intestinal :

L'épithélium intestinal joue un rôle indispensable dans la défense et la protection du tube digestif. En effet, il constitue une véritable barrière continue permettant d'empêcher l'invasion de la flore entérique ainsi que les différents constituants du lumen dans l'organisme. Cependant, certains événements endogènes ou exogènes peuvent altérer les fonctions protectrices de cette barrière entraînant le passage des micro-organismes à travers la muqueuse intestinale et ainsi le déclenchement des réactions inflammatoires et des troubles intestinaux. La fonction de barrière de la muqueuse intestinale est médiée par l'augmentation de l'expression des gènes impliqués dans le fonctionnement des jonctions serrées de l'intestin. Les probiotiques augmentent également la fonction de barrière de la muqueuse intestinale en favorisant la production de mucus et de certains anticorps de type IgA (Naimi 2014).

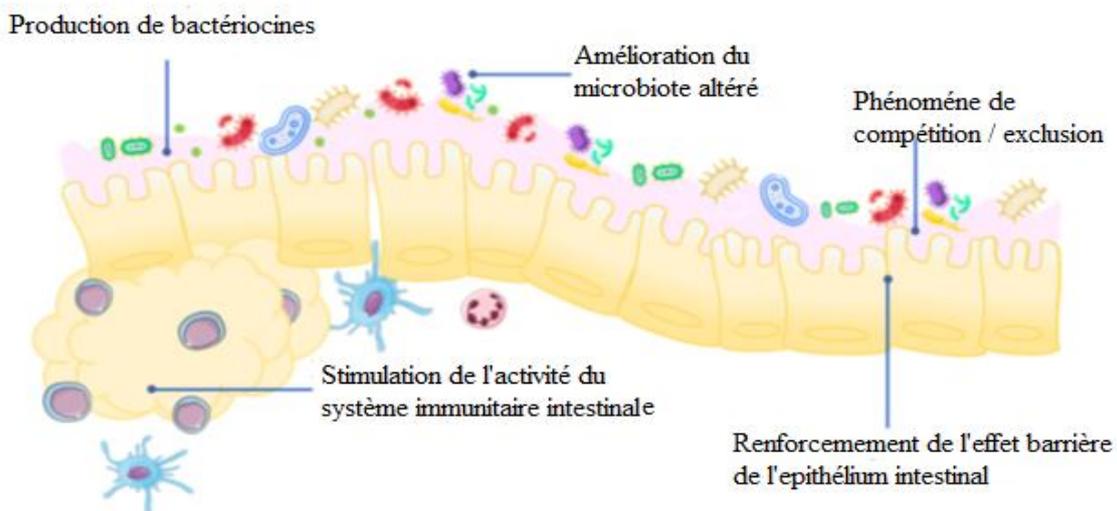


Figure 1 : Mécanismes d'actions des probiotiques (Rodríguez-Sojo, Ruiz-Malagón et al. 2021)

4. Les principales espèces probiotiques :

La plupart des souches de probiotiques reconnues sont d'origines bactériennes.

4.1. Le genre *Lactobacillus* :

Les lactobacilles sont des bacilles ou coccobacilles à Gram positif, asporulants, immobiles et se développant facilement en milieu acide. Leur croissance se fait généralement en conditions anaérobies, bien que certaines de ces bactéries soient anaérobies facultatives. Elles sont par ailleurs dépourvues de catalase et de nitrate réductase. Etant incapables de synthétiser des acides aminés à partir de sources azotés, ceux-ci doivent leur être apportés par le milieu de culture, au même titre que certains minéraux et vitamines. Leur ADN est composé de moins de 55 % de guanosine (G) et cystosine (C)(Biard 2016). (Figure 2)

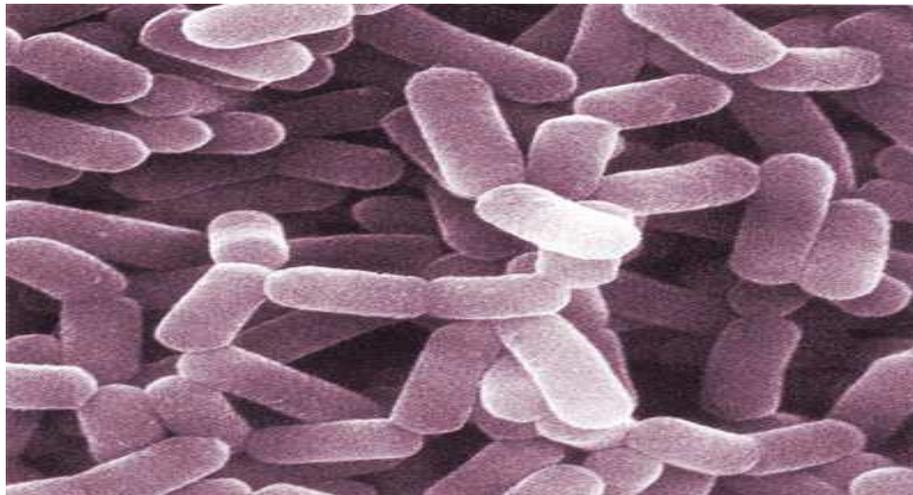


Figure 2 : *Lactobacillus casei* (EZZARIGA 2015).

4.2. Le genre *Bifidobacterium* :

Les bifidobactéries sont des bâtonnets ramifiés à Gram positif et présentant une organisation spatiale variable. En effet, elles peuvent être isolées ou s'assembler en chaînes ou amas. Immobiles et asporulantes, elles se développent en conditions anaérobies. Elles ne disposent pas de catalase, exception faite des espèces *Bifidobacterium indicum* et *Bifidobacterium asteroides* lorsqu'elles sont cultivées en présence d'oxygène. L'enzyme nitrate-réductase est également absente. Leur contenu en GC varie de 42 à 67 % (Dellaglio and Felis 2005). (Figure 3)



Figure 3: *Bifidobacterium spp*(EZZARIGA 2015).

4.3. Le genre *Bacillus* :

Les bactéries du genre *Bacillus stricto sensu* se présentent sous forme de bâtonnets isolés ou associés par paires ou en chaînettes, voire sous forme de longs filaments. Leur coloration de Gram est variable(Biard 2016).

5. Reglementation des probiotiques:

Les lois et règlements qui entourent la production et l'usage des probiotiques sont variables d'un pays à l'autre et il n'existe actuellement pas de statut particulier pour les probiotiques. Au niveau européen, ils peuvent être considérés selon plusieurs points de vue :

5.1. Médicaments probiotiques :

Selon l'article L5111-1 du Code de la Santé Publique, modifié par la loi n°2007-248 du 26 février 2007, « on entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » (Piquepaille 1987).

5.2. Aliments probiotiques :

Selon l'article L5137-1 du Code de la Santé Publique, modifié par l'Ordonnance 2007-613 du 26 avril 2007, « On entend par aliments diététiques destinés à des fins médicales spéciales les aliments destinés à une alimentation particulière qui sont spécialement traités ou formulés pour répondre aux besoins nutritionnels des patients.

Ils sont destinés à constituer l'alimentation exclusive ou partielle des patients dont les capacités d'absorption, de digestion, d'assimilation, de métabolisation ou d'excrétion des aliments ordinaires ou de certains de leurs ingrédients ou métabolites sont diminuées, limitées ou perturbées, ou dont l'état de santé appelle d'autres besoins nutritionnels particuliers qui ne peuvent être satisfaits par une modification du régime alimentaire normal ou par un régime constitué d'aliments destinés à une alimentation particulière ou par une combinaison des deux. Ils ne peuvent être utilisés que sous contrôle médical »(Piquepaille 1987) .

5.3. Compléments alimentaires contenant des probiotiques :

Selon l'article 2 du décret n°2006-352 du 20 mars 2006, « on entend par compléments alimentaires les denrées alimentaires dont le but est de compléter le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité »(Biard 2016).

Sont définis comme « nutriments », les composés vitaminiques et minéraux. Les « substances à but nutritionnel ou physiologique » rassemblent quant à elles les produits chimiquement définis qui justifient d'effets nutritionnels ou physiologiques, à l'exclusion des nutriments précédemment définis et des composés aux seules propriétés pharmacologiques. Les probiotiques entrent dans la catégorie des substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique. En sus des ingrédients actifs, l'article 4 du décret prévoit que tous les autres ingrédients, additifs, arômes et auxiliaires technologiques autorisés en alimentation humaine puissent également entrer dans la composition des compléments alimentaires.

5.4. Préparations pour nourrissons et préparations de suite :

Selon la Directive 2006/141/CE de la Commission des Communautés européennes du 22 décembre 2006, les préparations pour nourrissons correspondent aux « denrées alimentaires destinées à l'alimentation particulière des nourrissons pendant les premiers mois de leur vie et répondant à elles seules aux besoins nutritionnels de ces nourrissons jusqu'à l'introduction d'une alimentation complémentaire appropriée »(Biard 2016) .

CHAPITRE 02 : Les levures probiotiques

1. Le genre *Saccharomyces* :

Les levures *Saccharomyces* appartiennent au règne des champignons, à la division (embranchement) des *Ascomycota* (Ascomycètes), la sous-division des *Saccharomycotina*, la classe des *Saccharomycètes*, l'ordre des *Saccharomycetales* et la famille des *Saccharomycetaceae*.

1.1. *Saccharomyces cerevisiae* :

1.1.1. Définition :

Selon Larpent et Gourgaud (1985), *Saccharomyces cerevisiae* vient du mot *saccharum* qui signifie «sucre», *myces* vient du grec *mukês*, qui veut dire champignon. Tandis que *cerevisiae* fait référence à «cervoise», est un terme scientifique, qui est le nom qu'on donnait autrefois à la bière (MARWA, NABILA et al. 2020) .

Ainsi, c'est un terme utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures intervenant dans la fermentation. Donc, elle est littéralement connue comme levure du sucre. Les levures sont des eucaryotes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leurs caractères unicellulaires. Elles sont microscopiques et immobiles (Guiraud et Galzy, 1998).

1.1.2. Propriétés biologiques :

La croissance optimale de cette levure se situe à des valeurs de pH comprises entre 4,5 et 5,0 et les différentes souches sont ubiquistes, c'est-à-dire capables de se développer en milieu aérobie et en milieu anaérobie (Rose 1987). La composition biochimique de *S. cerevisiae* repose essentiellement sur les protéines, les lipides, les hydrates de carbone et les acides nucléiques (Fritsche 1972).

Selon Alix Lefief et Delcourt (2010), *Saccharomyces cerevisiae* contient tous les éléments dont l'organisme a besoin pour bien fonctionner. que sont ses principaux atouts d'une concentration extraordinaire en vitamines du groupe B.

➤ Des vitamines du groupe B :

La vitamine B1 (thiamine) intervient dans la transformation des lipides et du glucose en énergie, ainsi que dans le stockage des lipides, la vitamine B2 (riboflavine) joue un rôle essentiel dans la fabrication des globules rouges (en collaboration avec le fer) et des hormones, la vitamine B3 (niacine) facilite la digestion, intervient dans la dégradation des lipides et la production d'acides gras essentiels aux cellules, et la production du cholestérol (notamment du « bon » cholestérol), la vitamine B5 (acide panthothénique).

La vitamine B6 elle est également essentielle à un bon équilibre psychique car elle participe à la production des neurotransmetteurs (sérotonine, mélatonine...), ces messagers chimiques qui régulent l'humeur. La vitamine B8 (biotine), la vitamine B9 (acide folique) et la vitamine B12 (cobalamine)

➤ Des protéines de qualité :

La *S. cerevisiae* contient plus de 40 % voire 50 % de protéines, elle contient 16 acides aminés et notamment les huit acides aminés essentiels que l'organisme est incapable de synthétiser : isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine. La levure de bière contient plusieurs types de protéines, et parmi elles, le glutathion (antioxydant). Cette petite protéine composée de trois acides aminés (cystéine, acide glutamique et glycine) (A Lefief-Delcourt.2010).

➤ De nombreuses autres substances actives :

La *S. cerevisiae* est également une bonne source de minéraux. Elle apporte 14 sels minéraux essentiels. Parmi eux, on peut citer :

Le chrome : il permet la bonne assimilation du sucre, en optimisant les effets de l'insuline, ce qui prévient les risques d'apparition du diabète. *S. cerevisiae* est la meilleure source de chrome biologiquement actif, c'est-à-dire utilisable par l'organisme. En effet, pour être métabolisable, ce minéral doit être lié avec les acides aminés et les vitamines B : c'est exactement le cas de la *S. cerevisiae*.

Le zinc et le sélénium : ils activent de nombreuses enzymes.

Le soufre : il est un composant essentiel de nombreuses protéines, de certaines hormones comme l'insuline... Il favorise l'élimination des toxines et la respiration cellulaire.

Le calcium, Le cuivre, Le fer, Le magnésium, Le phosphore et Le potassium.

La *S. cerevisiae* est également riche en substances qui activent les défenses immunitaires, comme le glucane et le zymosane (qui boostent les défenses de l'appareil intestinal), et en substances bénéfiques pour le métabolisme, comme le glutathion, l'acide orotique, la carnitine (A Lefief-Delcourt.2010).

1.1.3. Les origines des souches :

Les souches de l'espèce *Saccharomyces cerevisiae* peuvent être isolées depuis plusieurs origines, telles que le sol, les fruits (raisins), la sève des arbres, etc., et présentent des propriétés physiologiques différentes (Dunn, Richter et al. 2012).

1.2. *Saccharomyces boulardii* :

1.2.1. Histoire et définition :

L'histoire de *Saccharomyces boulardii* est singulière à bien des égards. Elle remonte au début des années 1920 lorsque le Docteur Henri Boulard, microbiologiste de formation, se rend en Indochine, accompagné de brasseurs français qui souhaitent produire de la bière sur place. Les souches de *Saccharomyces cerevisiae* utilisées à l'époque comme levure de bière en France, avaient une température optimale de développement d'environ 4°C, donc totalement inadaptées au climat des tropiques. Il convenait dès lors de trouver une souche se développant à une température beaucoup plus élevée. Séjournant au Vietnam, le Docteur Boulard apprend qu'une population locale utilise une décoction d'écorces de litchis à des fins anti-diarrhéiques. L'analyse microbiologique de cette préparation a alors permis d'identifier une souche de *Saccharomyces* se développant à très haute température (37°C) pour une levure, soit celle du corps humain. De retour en France, le Docteur Boulard brevète sa découverte et lui associe son nom (Figure. 4) (Goulet 2009).

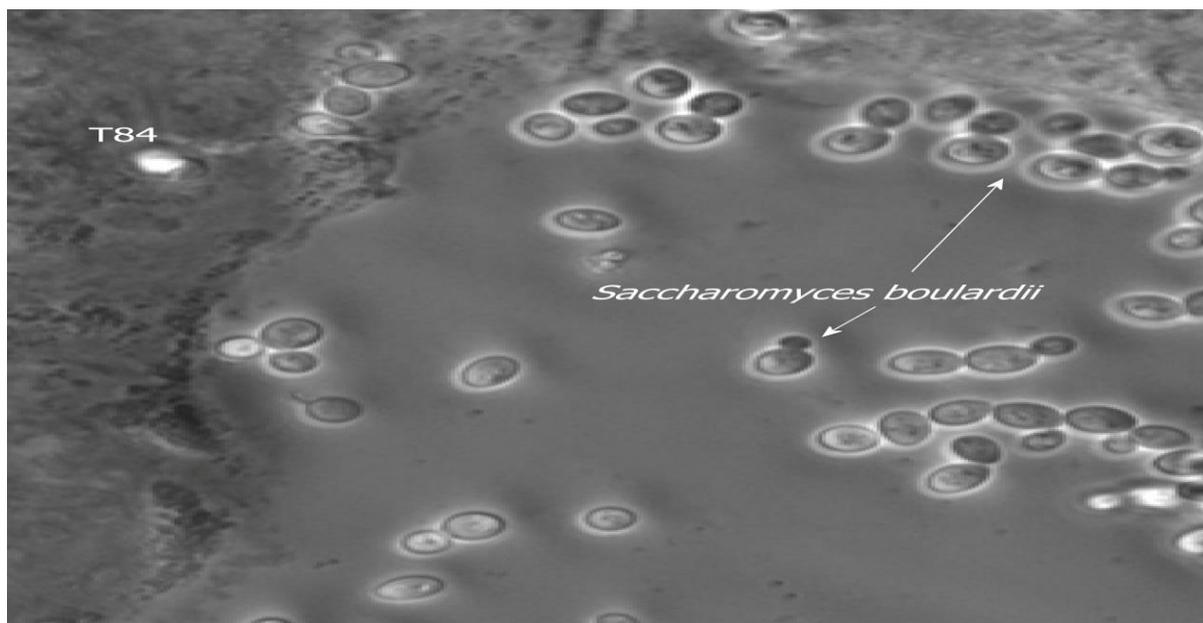


Figure 4 : Image de microscopie à transmission montrant *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 sur une culture de cellules épithéliales humaines (lignées T84) (Czerucka and Rampal 2019).

Saccharomyces boulardii est un organisme eucaryote unicellulaire. Cette levure se présente sous forme de structures isolées, ovoïdes à rondes, pouvant mesurer jusqu'à 10 µm de long. Elle ne forme pas de filaments mycéliens et se reproduit majoritairement par bourgeonnement de la cellule-mère. Sa paroi cellulaire est constituée de deux enveloppes. la couche externe est formée de mannose associé à des protéines (phosphopeptidomannanes) ou des lipides (phospholipomannanes) et la couche interne est composée de chitine et de glucane (Biard 2016).

1.2.2. Propriétés biologiques :

S. boulardii est une variété voisine mais distincte de *S. cerevisiae* dont elle se différencie par différentes caractéristiques taxonomiques, métaboliques, phylogénétiques et par *S. boulardii* sa capacité de croissance et de résistance à la température ainsi qu'au pH acide de l'estomac. Les études pharmacologiques ont montré qu'après administration aux doses thérapeutiques. *S. boulardii* est résistant aux antibiotiques et atteint une concentration d'équilibre dans le côlon en trois jours et est éliminé des selles deux à cinq jours après l'arrêt de son administration (Czerucka, Piche et al. 2007) .

Saccharomyces boulardii est résistant à l'acidité gastrique, à la protéolyse et peut atteindre très rapidement des concentrations élevées dans le tractus gastro-intestinal, puis s'y maintenir à des niveaux constants sous une forme viable. *Saccharomyces boulardii* constitue le principe actif d'un médicament commercialisé dans près de cent pays dans le monde sous différents noms de marque, formes et dosages, le plus fréquemment en gélules dosées à 50 mg. *Saccharomyces boulardii* lyophilisé est un exemple de ce que l'on dénomme un médicament probiotique : (Probiotique) puisque *Saccharomyces boulardii* lyophilisé est reviviscible dans le tube digestif après administration orale et exerce une influence positive sur la santé et la physiologie de l'hôte. (Médicament) puisque la formulation lyophilisée est préparée, conditionnée et contrôlée comme tel, et que le dossier pharmaceutique et clinique de *Saccharomyces boulardii* lyophilisé obéit aux règles de mise sur le marché d'un médicament dans les pays où le produit est disponible. *Saccharomyces boulardii* lyophilisé, médicament probiotique, se distingue donc clairement des aliments probiotiques contenant diverses souches de micro-organismes, utilisés chez l'animal pour améliorer les performances zootechniques ou chez l'homme sain (souvent sous forme de yaourts ou d'aliments lactés) pour renforcer la physiologie de l'hôte, à l'exclusion de tout contexte pathologique (Buts 2004).

Les travaux de JP Buts et de son équipe à Bruxelles ont permis de mettre en évidence les très nombreuses propriétés de *S. boulardii* liées, en particulier à son contenu (Goulet 2009). *S. boulardii* est capable d'exercer des effets trophiques sur l'intestin comme le démontre l'augmentation d'activité d'un certain nombre d'enzymes de la bordure en brosse entérocytaire (Tableau 1).

Tableau 1 : Principaux effets trophiques de *Saccharomyces boulardii* (Buts and Bernasconi 2005).

Facteur	Stimulation	Sécrétion
Sucrase	+++	+++
Maltase-glucoamylase	+++	Non
Lactase	++	Non
Aminopeptidase	++	++
Phosphatase alcaline	+++	+
Sodium-Glucose cotransporter-one	+++	Non
Récepteurs aux immunoglobulines	+++	Non
IgA sécrétoires	+++	Non

Parmi elles, la saccharase-isomaltase, la lactase ou l'aminopeptidase qui jouent un rôle essentiel dans la digestion des oligosaccharides et des oligopeptides. *S. boulardii* augmente l'expression de transporteurs comme celui du glucose (sodium glucose cotransporter SGLT1). Ces propriétés revêtent un intérêt tout particulier dans le contexte de la diarrhée aiguë et de l'utilisation des solutés de réhydratation qui contiennent du glucose ou du saccharose. Beaucoup de ces effets sont attribués à l'important contenu naturel de *S. boulardii* en polyamines (putrescine, spermine et spermidine) dont les effets trophiques sur la muqueuse intestinale sont bien démontrés (Buts and De Keyser 2006).

Cela rend compte aussi des effets antisécrétoires et de la réduction de la perméabilité intestinale observés après administration de *S. boulardii* à des animaux ou dans des modèles d'anses intestinales isolées (Goulet 2009).

Des effets immunostimulants comme la production d'IgA sécrétoires, ou anti-inflammatoires ont été démontrés laissant espérer des résultats prometteurs dans les maladies inflammatoires de l'intestin (Goulet 2009).

2. Les levures dites non-*Saccharomyces* :

La recherche est particulièrement dirigée vers les levures dites non-*Saccharomyces*. Il y a peu d'études mettant en valeur le potentiel d'application de ces levures, contrairement aux levures du genre *Saccharomyces* (*S. cerevisiae* var *boulardii*) (Tableau 2).

Tableau 2 : Principales espèces de levures d'importantes utilisation en biotechnologie (Johnson and Echavarri-Erasun 2011):

Espèces de levure :	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Scheffersomyces stipitis</i>
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	<i>Pichia</i> spp.
<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>Rhodotorula</i> spp.
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Rhodospiridium</i> spp.
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>Lipomyces</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
<i>Saccharomycopsis</i> spp.	<i>Trichosporon</i> spp.
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>Blastobotrys adeninivorans</i>
<i>Ogataea polymorpha</i>	<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i>
<i>Komagataella pastoris</i>	

2.1. *Kluyveromyces* :

2.1.1. Définition :

Parmi les levures, le genre *Kluyveromyces* est de plus étudié. Le genre *Kluyveromyces* a été décrit en 1956 par van der Walt, et a été nommé en l'honneur du microbiologiste Hollandais Albert Jan Kluyver (1888-1956). D'un point de vue cytologique, les cellules sont en formes ovoïdes, elliptiques, cylindriques ou allongées. Les levures du genre *Kluyveromyces* peuvent former des pseudohyphes (Johnson and Echavarri-Erasun 2011).

D'un point de vue cytologique, les cellules sont en formes ovoïdes, elliptiques, cylindriques ou allongées. Les levures du genre *Kluyveromyces* peuvent former des pseudohyphes. Par ailleurs, d'un point de vue taxonomique, *Kluyveromyces* appartient au phylum des Ascomycota. Leurs asques sont évanescents et contiendront 4 ascospores lisses sphériques, elliptiques, cylindriques ou réniformes. Une fois libérées, les spores auront tendance à s'agglutiner avant de germer. La reproduction asexuée s'effectue par bourgeonnement multiple à partir de la base étroite de la cellule (Lachance 2011).

2.1.2. Phylogénie :

Ce genre comporte 6 espèces. L'espèce type est *Kluyveromyces marxianus*, et les autres espèces sont *K. aestuarii*, *K. dobzhanskii*, *K. lactis*, *K. nonfermentans* et *K. wickerhamii* (Lachance 2007). (Figure 05)

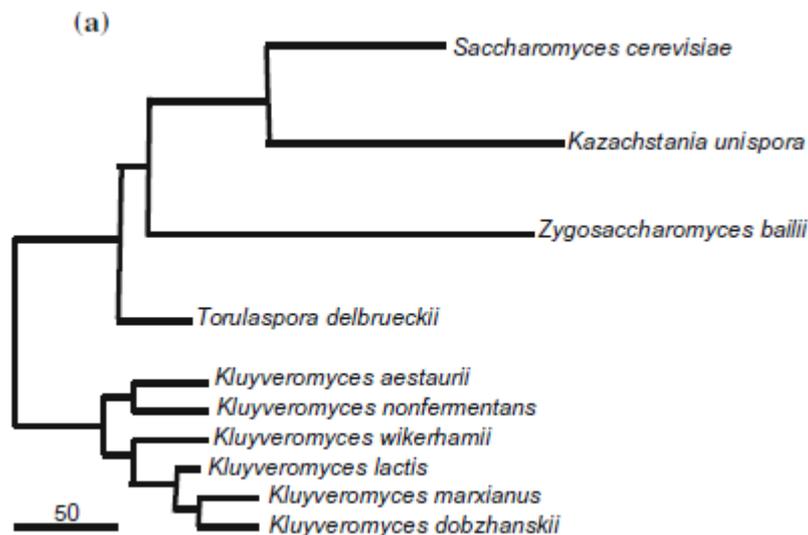


Figure 5 : La phylogénie de *K. marxianus* au sein de genre *Kluyveromyces* et l'ordre *Saccharomycetales* basé sur 6 locus différents est montré. Les six espèces de *Kluyveromyces* et d'autres espèces sélectionnées d'intérêt industriel sont incluses (modifié de Lachance 2007).

Dans le genre *Kluyveromyces*, l'espèce la plus connue et étudiée reste *K. lactis*. Cette espèce possède deux formes. La forme utilisée par l'homme, *K. lactis var lactis*, et la forme sauvage *K. lactis var drosophilarum* (Lachance 2007). La forme anamorphe de cette espèce se nomme *Candida sphaerica*. Les cellules de *K. lactis* sont de forme elliptique et sont isolées, ou associées en paires ou en chaînettes (Figure 6).

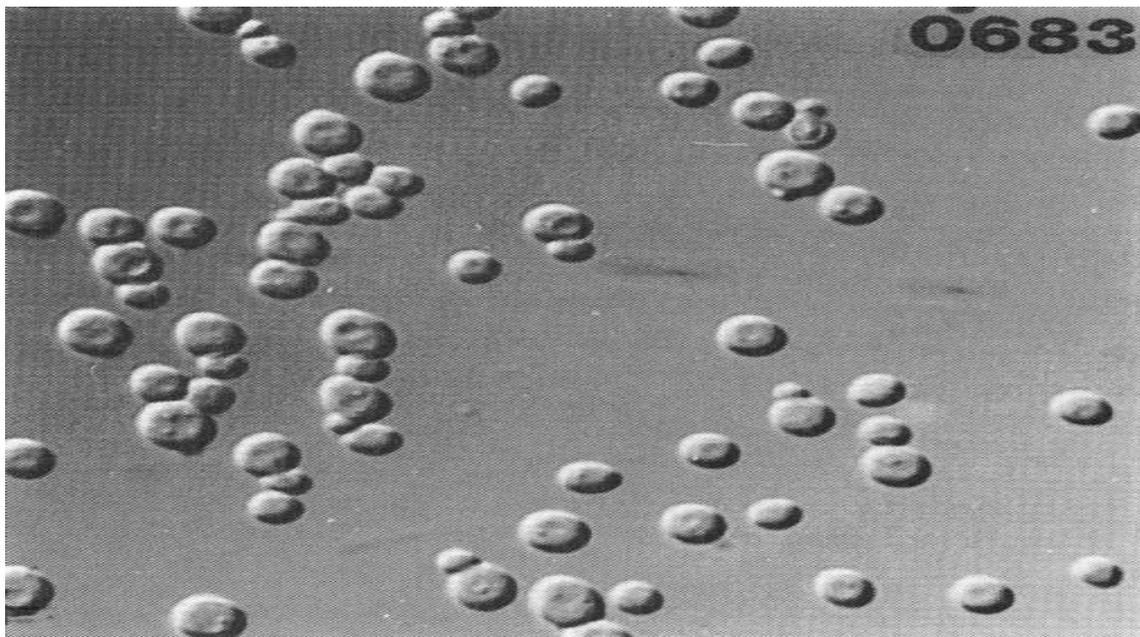


Figure 6 : Photographie de *Kluyveromyces lactis* au microscope à contraste interférentiel

K. lactis est capable de fermenter le glucose et le galactose. Seule la variété *K. lactis* est capable de fermenter le lactose. Les souches aptes à fermenter le lactose, c'est-à-dire *K. lactis var lactis*, sont exclusivement isolées de produits laitiers. L'espèce *K. marxianus* a été décrite pour la première fois en 1988 par Hansen. Le nom anamorphe de cette espèce est *C. kefyri*. Sur le plan cytologique, les cellules sont rondes, elliptiques ou cylindriques. Elles sont isolées, en paires ou en chaînettes (Figure 5). *K. marxianus* fermente le glucose, le galactose, le sucrose, le raffinose et l'inuline, mais ne fermente pas le tréhalose et le maltose. C'est la seule espèce du genre *Kluyveromyces* capable d'assimiler l'inuline. *K. marxianus* se distingue par son potentiel de production d'enzymes et d'autres composés d'intérêts. Cette levure peut se développer sur une plus grande diversité de substrats et résiste à de fortes concentrations en éthanol, et aux sels. Par ailleurs, cette levure est aussi en mesure de croître à températures élevées, jusqu'à 52 °C pour certaines souches (Ceugniz 2017).

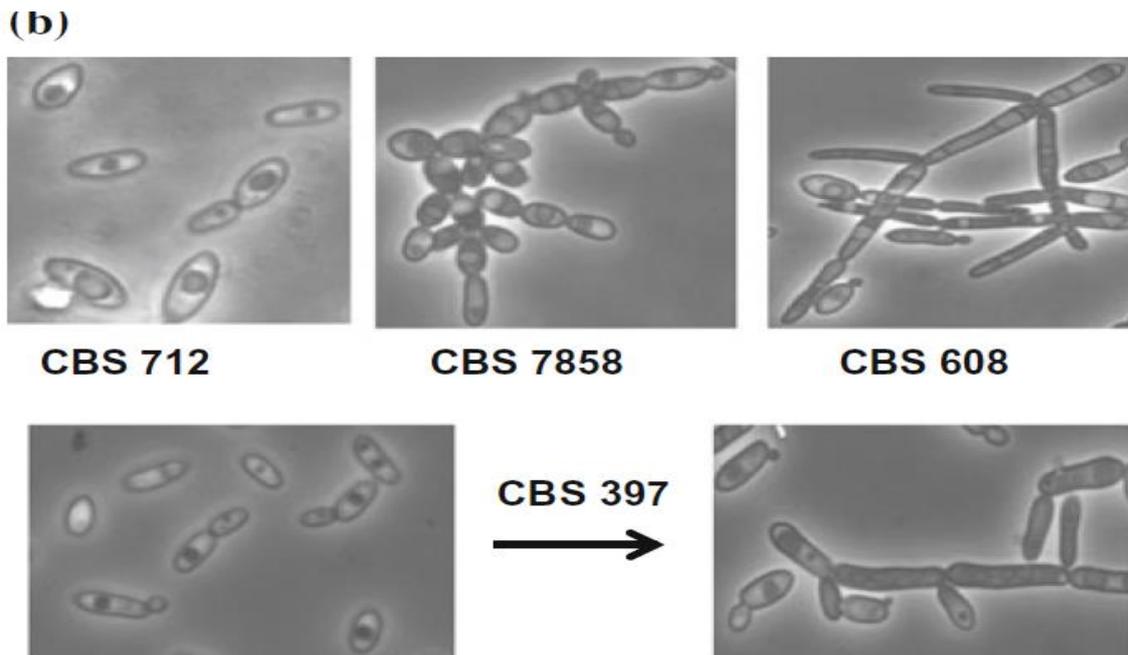


Figure 7 : Trois souches différentes de *K. marxianus* poussant sur un milieu identique montrent que ce champignon peut se développer dans les levures (CBS 712), les pseudophyphes (CBS 7858) et les hyphes (CBS 608). La capacité de certaines souches à changer de morphologie est démontrée par la croissance de CBS 397 dans deux conditions environnementales différentes (Varela, Gethins et al. 2017).

2.1.3. Applications dans les produits biotechnologiques :

➤ Production d'enzymes :

Kluyveromyces marxianus présente une capacité inhérente de produire des enzymes parce que tous les matériaux complexes mentionnés précédemment peuvent être hydrolysés extracellulairement en monomères (Chi, Zhang et al. 2011). La croissance de *K. marxianus* sur l'inuline et le saccharose se produit par l'action catalytique d'enzymes extracellulaires, principalement l'inulinase (Rouwenhorst, Visser et al. 1988).

L'inulinase est largement utilisée pour hydrolyser l'inuline afin de produire du fructose, des fructo-oligosaccharides et du bioéthanol, qui sont les ingrédients essentiels dans les industries pharmaceutiques et alimentaires. Diverses souches microbiennes, telles que la levure : *K. marxianus* (Selvakumar and Pandey 1999), champignons filamenteux : *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Penicillium sp.* (Ohta, Suetsugu et al. 2002; Moriyama and Ohta 2007) et les bactéries : *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Streptomyces sp.*, *Pseudomonas* et *Xanthomonas* (Selvakumar and Pandey 1999; Gao, Bao et al. 2009) ont été utilisés pour produire des inulinases.

Les β -galactosidases sont parmi les biocatalyseurs les plus largement utilisés dans l'industrie alimentaire. On les appelle aussi lactase impliquée dans l'hydrolyse du lactose en un mélange de glucose et de galactose. Ces enzymes ont d'énormes applications dans les industries alimentaire et pharmaceutique et peuvent être appliquées pour la saccharification du lactosérum et le traitement du lait pour réduire le lactose(SINGH 2016).

La réduction du lactose est principalement utile pour les personnes atteintes de troubles héréditaires de la dégradation du lactose (Bayless, Brown et al. 2017).

Une pléthore de souches de *Kluyveromyces* ont été décrites comme étant des producteurs à grande échelle de β -galactosidases.

Les lipases ou triacylglycérol acyl hydrolases sont une classe fascinante d'enzymes hydrolytiques, qui médient l'hydrolyse ainsi que la synthèse des esters. En général, ils catalysent la dégradation des glycérides d'acyle qui sont indispensables à la bioconversion des lipides (triacylglycérol)(Vakhlu 2006).

Les lipases sont dotées d'un ensemble d'attributs uniques, dont la régiospécificité, la stéréospécificité, la spécificité du substrat et la capacité d'effectuer des réactions à l'interface de systèmes hydrosolubles et insolubles(Sharma, Soni et al. 2002).

Tout comme les protéases ou les carbohydrases, les lipases d'origine microbienne sont d'une importance industrielle prodigieuse en raison de leur grande stabilité par rapport aux contreparties animales ou végétales et de leur production en vrac à faible coût(Vakhlu 2006). Bien que la production de lipase soit prédominante parmi les levures, seules quelques espèces sont capables de sécréter des lipases avec les caractéristiques souhaitées et une quantité insuffisante pour l'exploitation industrielle. *Y. lipolytica*, *Candida rugosa*, *Candida utilis*, *Candida antarctica*, *Saccharomyces*, et *K. marxianus* ont été trouvés comme levures ayant des capacités de synthèse de lipase élevées(Sarmah, Revathi et al. 2018).

Les endopolygalacturonases, généralement appelées pectinases, catalysent l'hydrolyse des pectines hétéropolysaccharidiques qui constituent le principal composant structural des parois cellulaires de la plante. En raison des capacités de dégradation de la paroi cellulaire, les pectinases trouvent des applications croissantes dans la fabrication du vin et du jus (Bilal, Ji et al. 2022). Parmi les pectinases extraites de plantes et de diverses souches microbiennes, y compris les champignons filamenteux, les levures et les bactéries, les pectinases de levure ont pris une importance considérable dans un passé récent. Les levures pectinolytiques peuvent synthétiser divers types d'enzymes pectinolytiques selon le contexte génétique et les conditions environnementales.

Quatre espèces de levures, *S. cerevisiae*, *S. fragilis*, *Torulopsis kefir* et *K. marxianus* ont été largement étudiées pour produire des enzymes pectinolytiques. Ces enzymes comprennent les pectines lyases (PL), la polygalacturonase (PG), la pectate lyase (PaL) et la pectinestérase (PE) en fonction du pH, de la température et de la disponibilité du substrat. Par exemple, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* et *Candida* synthétisent la PG (c'est-à-dire l'endopolygalacturonase), tandis que la PG et la PE sont les principales enzymes sécrétées par *Rhodotorula* (Bilal, Ji et al. 2022).

➤ Production de bioéthanol :

La production de bioéthanol par fermentation à des températures élevées a attiré l'attention parce que la vitesse de fermentation rapide à des températures élevées est susceptible de minimiser le coût de refroidissement, de contourner le risque de contamination et de permettre la saccharification et la fermentation simultanées (Nonklang, Abdel-Banat et al. 2008). La croissance optimale de *K. marxianus* à haute température est particulièrement séduisante pour faciliter le refroidissement lors des fermentations de niveau élevé pour lesquelles le transfert de chaleur est un facteur restrictif. La production industrielle actuelle d'éthanol emploie principalement *S. cerevisiae* en raison de son titre de production supérieur et de sa tolérabilité à des concentrations élevées d'éthanol (environ 120 g/L). Néanmoins, la température optimale de cette levure est relativement basse (25-30°C) (Qiu and Jiang 2017).

Par conséquent, beaucoup d'intérêt a été récemment visant à explorer des espèces de levures capables de produire l'éthanol à des températures plus élevées, et *K. marxianus* semble un isolat robuste à cette fin (Madeira-Jr and Gombert 2018).

➤ Protéines Monocellulaires :

Les protéines unicellulaires (SCP) sont appelées micro-organismes unicellulaires alimentaires, dont les extraits protéiques ou la biomasse sont : proviennent de cultures bactériennes mixtes ou pures, de levures, de champignons ou de microalgues.

Ces micro-organismes peuvent être utilisés comme ingrédients alimentaires, compléments alimentaires ou aliments riches en protéines pour la consommation animale et humaine (Ritala, Häkkinen et al. 2017).

Ainsi, une biosynthèse extensive des biomasses microbiennes pourrait être utile pour remplacer les protéines d'origine animale et végétale pour les denrées alimentaires ou les aliments pour animaux en raison de leur teneur élevée en protéines, de leur taux de prolifération rapide et de leur aptitude à assimiler un large éventail de déchets contenant du carbone (Karimi, Mahboobi Soofiani et al. 2018; Karim, Gerliani et al. 2020).

2.2. *Debaryomyces hansenii*:

2.2.1. Phylogénie :

Le genre *Debaryomyces* Lodder et Kreger-van Rij Nom. Les inconvénients. (Figure 8) est décrit en détail par Nakase et al. (Nakase, Suzuki et al. 1998). Toutes les espèces de *Debaryomyces* sont des levures haploïdes parfaites qui se reproduisent végétativement par bourgeonnement multilatéral. Un pseudomycélium est absent, primitif ou parfois bien développé. La reproduction sexuée procède par conjugaison hétérogame, c'est-à-dire la conjugaison de deux cellules de forme ou de taille différente, ici une cellule mère et un bourgeon. Cette conjugaison conduit généralement à une courte diplophase suivie d'une méiose et de la formation d'ascospores (González-Hernández, Cárdenas-Monroy et al. 2004).

Les asques contiennent une à quatre ascospores sphériques, globuleuses, ovoïdes ou lenticulaires lisses ou verruqueuses. La conjugaison isogame se produit également (Nakase, Suzuki et al. 1998).

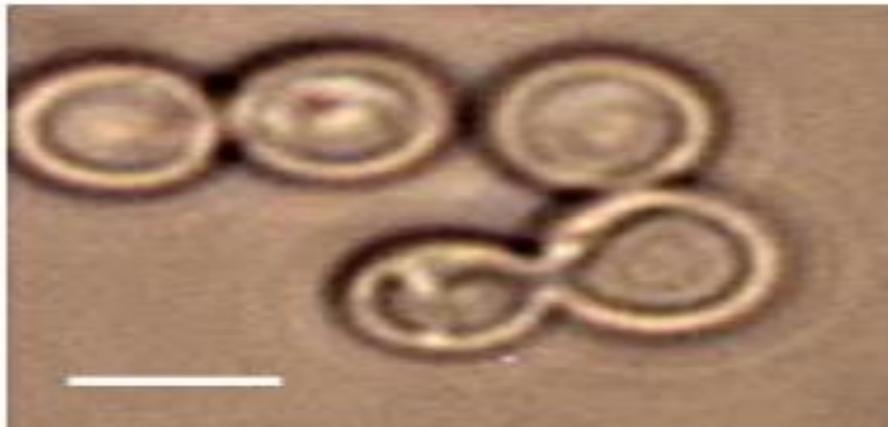


Figure 8 : Asques de *Debaryomyces hansenii* H158 avec une ascospore après 6 semaines sur gélose YEPD à 30 °C. Grossissement $\times 1125$. Barre = 2,5 μm (Breuer and Harms 2006) .

Les membres du genre *Debaryomyces* sont caractérisés physiologiquement par leurs capacités de fermentation faibles ou inexistantes, ainsi que leur incapacité à assimiler le nitrate et chimiotaxonomiquement par leur expression de la coenzyme Q-9 (Kurtzman, Fell et al. 2011).

2.2.2.Écologie :

Debaryomyces hansenii est une levure osmo-, halo- et xérotolérante. Il est connu pour être un contaminant de divers aliments à faible activité hydrique, comme le sont *Pichia guilliermondi*, *Yarrowia lipolytica* et *Candida parapsilosis*. *Debaryomyces hansenii* se trouve dans les eaux hypersalines, telles que les marais salants de la côte atlantique en Namibie et le Grand Lac Salé. Il peut être cultivé dans des milieux contenant jusqu'à 25 % de NaCl ou 18 % de glycérol(Butinar, Santos et al. 2005).

Debaryomyces hansenii produirait une toxine tueuse qui a une activité stable contre les levures pathogènes à 37 °C. Les toxines tueuses de levure ayant une activité stable à la température du corps humain pourraient avoir des applications médicales. Par exemple, l'utilisation de préparations concentrées de toxines purifiées dans les thérapies contre les levures pathogènes est tout à fait envisageable (Buzzini and Martini 2001).

L'activité létale de cette toxine tueuse a été augmentée en présence de NaCl dans le milieu utilisé pour doser l'action tueuse dans les études de Llorente et al.(Llorente, Marquina et al. 1997).

Une autre observation très intéressante est que *Debaryomyces hansenii* a une tolérance élevée au dioxyde de chlore (ClO₂), un biocide puissant (Ramírez-Orozco, Hernández-Saavedra et al. 2001). Cette résistance pourrait être utilisée pour cultiver la levure dans des milieux non stériles contenant jusqu'à 0,3 mg/l de ClO₂ pour contrôler les micro-organismes indésirables. *D. hansenii* est hautement résistant à l'agent antimicrobien pénconazole et intermédiairement résistant aux agents antimicrobiens bénomyl et cycloheximide. De plus, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) du fluconazole et de l'amphotéricine B sont plus élevées pour *Debaryomyces* que pour la levure pathogène *Candida albicans*, tandis que celles de la 5-fluorocytosine sont similaires. Ces résistances pourraient être médiées par des protéines d'efflux actives (AEP) transportant les médicaments hors de la cellule(Prudêncio, Sansonetty et al. 2000).

Debaryomyces assimile un large spectre de substrats carbonés, *D. hansenii* utilise facilement les n-alcanes(Yadav and Loper 1999) et assimile le mélibiose, le raffinose, l'amidon soluble et l'inositol. et, en présence de glucose, *D. hansenii* peut oxyder de manière co-métabolique le naphthalène et le benzo[α]pyrène(Cerniglia and Crow 1981).

La fermentation du glucose, du galactose, du saccharose, du maltose, du raffinose et du tréhalose par *D. hansenii* est faible et la fermentation du lactose n'est pas observée. Ceci est en accord avec la faible croissance anaérobie de *D. hansenii*. Bien que le nitrate ne soit pas utilisé, la levure est connue pour assimiler le nitrite(Nakase, Suzuki et al. 1998).

2.2.3. Applications en biotechnologie processus :

➤ Les produits laitiers :

Debaryomyces hansenii est une espèce commune dans tous les types de fromage, y compris les fromages à pâte molle et les saumures des fromages à pâte mi-dure et à pâte dure (Fleet 1990). Les principales propriétés du genre *Debaryomyces* comprennent sa tolérance au sel, sa capacité à produire des enzymes protéolytiques et lipolytiques qui peuvent métaboliser les protéines et les matières grasses du lait, et sa capacité à se développer à basse température et à faible activité hydrique, qui sont également des raisons proposées pour sa prévalence. De plus, il a été démontré que les activités métaboliques de *D. hansenii* modifient le microenvironnement du fromage au profit de certaines bactéries souhaitées et/ou de *Penicillium roqueforti* et protègent le fromage contre les fermentations glucidiques indésirables. *D. hansenii* et de nombreuses levures d'affinage du fromage peuvent synthétiser le S-méthylthioacétate, le composé soufré volatil le plus répandu dans le fromage, et dans une moindre mesure le méthional, que l'on trouve, par exemple, dans le cheddar et le camembert(Breuer and Harms 2006).

➤ Fermentation de la viande :

Debaryomyces hansenii était la levure la plus commune parmi 383 isolats d'échantillons de saucissons non sulfités ou sulfités, de saucissons sans peau et d'émincés boeuf examiné par Dalton et al.(Dalton, Board et al. 1984) , indiquant son importance pour les produits carnés. L'implication de *Debaryomyces* dans la fermentation de la viande a connu depuis longtemps; dès le milieu.

Années 1960 Rankine(Rankine 1964) décrit brièvement non précisé. Les souches *Debaryomyces* productrices d'hydrogène sulfite, par exemple. Dans une étude, *Debaryomyces hansenii* s'est avéré avoir peu effet sur la production de composés volatils responsable ou impliqué dans la formation des arômes en saucisses fermentées à l'ail et modèle hachis(Olesen and Stahnke 2000) , mais d'autres auteurs ont trouvé que la levure était capable de produire des composés volatils. dure et collègues (Durá, Flores et al. 2004) ont montré que *Debaryomyces* peut génèrent de l'ammoniac et plusieurs composés volatils, modifient la teneur en acides aminés libres des saucisses, et que l'ajout de *Debaryomyces sp.* comme culture de départ modifie généralement leur saveur profil(Durá, Flores et al. 2004) .

De plus, Flores et al. (Flores, Durá et al. 2004) rapporté que *Debaryomyces spp.* peut avoir des effets importants sur la génération de composés volatils au cours de la maturation des saucisses à fermentation sèche en inhibant la génération de produits d'oxydation des lipides et favorisant la génération d'esters éthyliques, procédés qui contribuent au développement d'un arôme de saucisse.

➤ Enzymes lytiques :

Debaryomyces hansenii est une source potentielle de superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1), une métalloenzyme catalysant la dismutation des radicaux superoxydes. La SOD a des applications importantes en médecine et l'industrie alimentaire, y compris l'anti-inflammation, la modulation de la réponse immunitaire, la régression des tumeurs malignes, la radioprotection et la chimiothérapie, le syndrome prémenstruel, l'arthrite et les traitements anti-âge, lors de l'utilisation de chambres hyperbares, et contre le stress oxydatif en général(Orozco, Hernández-Saavedra et al. 1998; García-González and Ochoa 1999).

La production de SOD à l'aide de *Debaryomyces hansenii* est très compétitive par rapport aux méthodes actuelles, en raison de sa capacité à se développer, en tant que levure halotolérante, dans des milieux formulés en mer ou en eau douce, avec une large gamme de paramètres de culture (Ochoa and HERNANDEZ-SAAVEDRA 1995). HernandezSaavedra et Romero-eraldo(Hernández-Saavedra and Romero-Geraldo 2001) ont d'abord décrit le clonage du gène SOD de *Debaryomyces hansenii*.

2.3. *Pichia spp.*

Pichia pastoris est une levure methylotrophe, c'est-à-dire qu'elle est capable de croître avec le méthanol comme unique source de carbone. Pour dégrader le méthanol, la levure a besoin d'une enzyme spécifique : l'oxydase d'alcool (AOX).

Cette enzyme entre dans la première étape de la voie métabolique de la dégradation du méthanol (Figure 9) qui se trouve dans les péroxisomes et permet la formation de formaldéhyde. Une partie du formaldéhyde ainsi formé quitte le péroxisome pour aller dans le cytoplasme et continuer à être dégradée en vue de stocker de l'énergie, l'autre partie est utilisée pour fabriquer des constituants cellulaires essentiels grâce à une enzyme différente (DHAs3). Notons que ces deux enzymes, AOX et DHAs, sont présentes à de très hauts niveaux lorsque la source de carbone est le méthanol et sont indétectables lorsque les sources de carbone sont autres telles que, par exemple, le glycérol, le glucose et l'éthanol (Egli, Van Dijken et al. 1980). Dans les cultures en bioréacteur, l'enzyme AOX peut constituer jusqu'à 30% de la quantité totale de protéines solubles (Couderc and Baratti 1980).

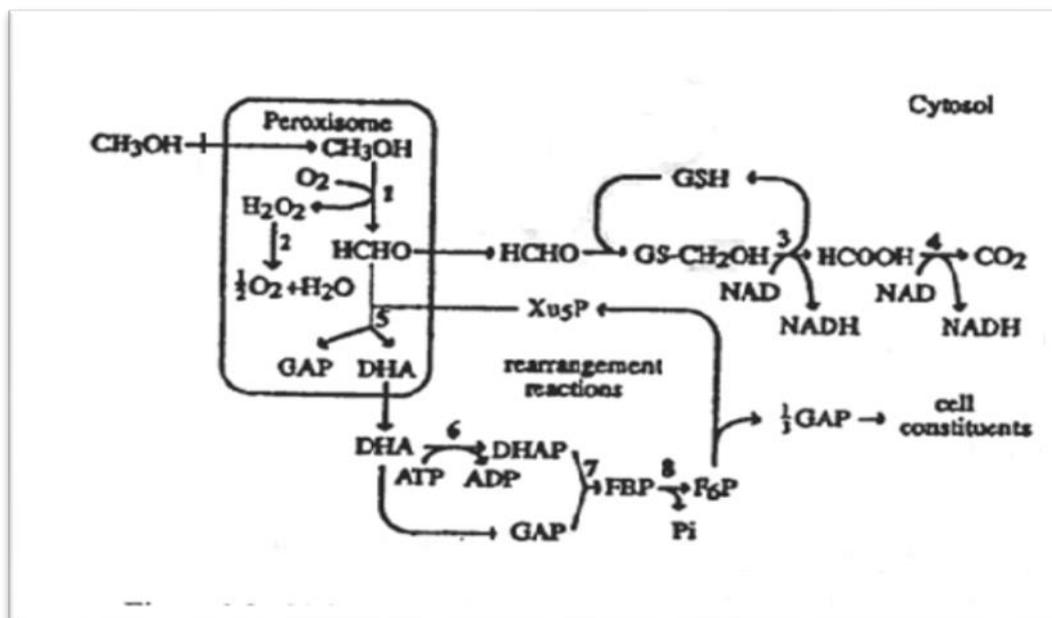


Figure 9 : Voie métabolique de la dégradation du méthanol dans *Pichia pastoris*. 1) enzyme AOX, 2) catalase, 3) formaldéhyde déshydrogénase (Couderc and Baratti 1980).

2.4. *Yarrowia lipolytica* :

2.4.1. Définition :

Yarrowia lipolytica est une levure aérobic stricte retrouvée dans les matrices alimentaires, riches en lipides et en protéines telles que les yaourts, les fromages et la charcuterie. Cette levure sécrète des protéases, des lipases, des phosphates et des estérases qui favorisent son développement sur la matrice fromagère. Les protéases et les lipases de *Yarrowia lipolytica* sont hautement régulées permettant une adaptation précise au milieu. Ceci suggère que ces activités jouent un rôle primordial dans le développement de *Yarrowia lipolytica* (Hebert 2010).

2.4.1. Propriétés biologiques :

Non seulement *Yarrowia lipolytica* ne consomme pas le lactose, mais elle utilise préférentiellement les acides aminés libres comme source de carbone par rapport à l'acide lactique (Mansour, Beckerich et al. 2008).

Du fait que dans les conditions fromagères, les acides aminés soient peu disponibles sous forme libre (caséines), *Y. lipolytica* participe activement à la protéolyse (protéases et transporteurs). Sa participation dans la désacidification du fromage pourrait donc être principalement due à la production d'ammoniac.

Les nombreuses activités enzymatiques d'*Y. lipolytica* peuvent jouer un rôle important dans les caractéristiques organoleptiques de ces fromages, grâce à la production de composés d'arôme et/ou de leurs précurseurs (Hebert 2010). L'ajout de *Yarrowia lipolytica* lors de la fabrication de fromages italiens a révélé que les qualités organoleptiques fromagères varient selon la souche utilisée. D'autre part, il a été observé que cette levure s'implante très bien dans l'écosystème fromager, sans effet négatif sur les bactéries lactiques (Lanciotti, Vannini et al. 2005).

Les fortes activités protéolytiques et lipolytiques de *Y. lipolytica* en font une levure technologique intéressante.

2.4.2. Écologie :

Y. lipolytica, contrairement à *Candida albicans* et *C. tropicalis*, est pas considéré comme pathogène. La plupart des souches sont incapables croître au-dessus de 32 C° et l'espèce est strictement aérobic. Cette levure peut être isolée à partir de substrats riches en lipides et en protéines comme les produits laitiers, le fromage ou la charcuterie. *Y. lipolytica* est l'une des espèces prédominantes dans le camembert et les fromages à pâte persillée et se trouve fréquemment à des concentrations dépassant 10⁶–10⁷ cfug⁻¹.

Cette occurrence de *Y. lipolytica* est en corrélation avec ses activités lipolytiques et protéolytiques extracellulaires, ainsi qu'avec sa forte croissance à 5–10 C°. Des souches ont également été isolées du sol, des eaux usées et des environnements pollués par les hydrocarbures (Fickers, Benetti et al. 2005).

2.4.3. Applications potentielles dans l'industrie agro-alimentaire :

Un nombre croissant d'études démontrent clairement la présence naturelle d'*Y. lipolytica* dans différents types d'aliments, soulignant l'importance de cette levure dans l'industrie agro-alimentaire. L'apparition de différentes levures, dont très souvent *Y. lipolytica*, et leur rôle dans la production, l'affinage ou l'altération des produits laitiers traditionnels (fromage, yaourt) et des charcuteries et autres produits carnés, a été étudiée au cours de la dernière décennie. La participation et l'influence d'*Y. lipolytica* sur la formation de pigments au cours de la production de fromage portugais ont été récemment étudiées. Il est actuellement reconnu que les levures contribuent à la maturation du fromage. Il a été démontré que l'ajout de *Y. lipolytica* accélère l'affinage et améliore la qualité des fromages (Fickers, Benetti et al. 2005).

Récemment, Ferriera et Viljoen ont proposé d'ajouter *Y. lipolytica* en plus de *Debaryomyces hansenii* dans le cadre de la culture starter pour la production de fromage Cheddar affiné.

Le choix de la souche de *Y. lipolytica* à utiliser est important, car une grande variation des activités lipase et protéase sont observées selon la souche (Fickers, Benetti et al. 2005).

3. Effet thérapeutique des levures probiotiques :

3.1. Mycocine :

Le phénotype tueur dans la levure a été signalé pour la première fois par Makower et Bevan en 1963. Ils ont rapporté que certaines souches de *S. cerevisiae* ont la capacité de sécréter des mycocines protéiques (toxines tueuses) qui peuvent être mortelles pour d'autres levures sensibles (Bajaj and Singh 2017).

Certaines souches de levures produisent et excrètent des toxines extracellulaires, les mycocines, qui sont mortelles pour d'autres souches de levures sensibles. La production de protéines présentant une toxicité spécifique pour les organismes apparentés, associée à une immunité spécifique, est connue chez les Ustilaginales, yxomycètes, paramécies et bactéries. Les protéines bactériennes dotées d'une telle capacité sont appelées bactériocines et des composés similaires produits par des levures ont été appelés toxines "tueuses", mais sont maintenant appelés mycocines et les souches qui les produisent comme mycocinogènes. Les mycocines n'ont qu'une activité antifongique et sont inactives contre les bactéries et les protozoaires (Golubev 1998).

Certaines souches mycogéniques agissent contre les levures pathogènes, telles que *Candida albicans* et *Candida glabrata*, et les champignons filamenteux, suggérant une application potentielle contre les infections fongiques. Les mycocines ont une importance industrielle pour le contrôle microbiologique des processus de fermentation et comme modèle pour l'étude des mécanismes de sécrétion impliquant les protéines extracellulaires et les glycoprotéines. L'application des levures mycocinogènes dans l'industrie de la fermentation et des boissons s'est développée dans le but d'éliminer les souches sauvages responsables de la détérioration des produits et de la production de composés indésirables (Vital, Abranches et al. 2002).

3.2. Diarrhées associées aux antibiotiques :

Une diarrhée se définit, d’après l’Organisation mondiale de la santé (OMS), par l’émission de plus de trois selles par jour. Certains traitements antibiotiques sont réputés pour être responsables de troubles digestifs, en particulier de diarrhées. La survenue de la diarrhée s’explique par un déséquilibre de l’écosystème bactérien intestinal lié à l’antibiothérapie (Faure, Pubert et al. 2013). La prise d’un antibiotique entraîne une modification de la composition de la flore responsable de la perte de l’effet barrière. La survenue des diarrhées dépend également de l’individu : les sujets aux âges extrêmes de la vie et les personnes hospitalisées présentent un plus grand risque. Les antibiotiques sont chez l’homme une cause bien connue de diarrhée, dont la fréquence peut aller jusqu’à 25 % chez les patients ambulatoires et 39 % chez les patients hospitalisés, en fonction notamment de l’antibiotique utilisé. Les antibiotiques à large spectre, qui altèrent plus profondément la flore anaérobie, ont une probabilité plus grande de causer une diarrhée. L’amoxicilline, la clindamycine et les céphalosporines de troisième génération sont les premiers pourvoyeurs de diarrhée associée aux antibiotiques (DAA). Plusieurs études randomisées contrôlées en double aveugle ont évalué le bienfait de *S.bouardii* dans la prévention de la DAA (Tableau 3) (McFarland 2010).

Tableau 3 : Résultats de plusieurs essais contrôlés randomisés en double aveugle, évaluant l’efficacité *S. bouardii* dans la prévention de la diarrhée associée aux antibiotiques (DAA)(McFarland 2010).

Etude	Groupe de traitement	Population	Dose journalière (UFC/j ou mg /j)	Durée/j	% DAA groupe <i>S.bouardii</i>	% DAA groupe placebo
1	<i>S.bouardii</i> vs placebo	388 adultes	4.10 ⁹ (200mg)	7	4.5% (9/199)	17.5% (33/189)
2	<i>S.bouardii</i> vs placebo	193 adultes	2.10 ¹⁰ (1000mg)	14	7.2% (7/97)	14.6% (14/96)
3	<i>S.bouardii</i> vs placebo	389 adultes	2.10 ¹⁰ (1000mg)	14	6.9% (14/204)	15.6% (28/180)
4	<i>S.bouardii</i> vs placebo	124 adultes	2.10 ¹⁰ (1000mg)	14	14.5% (9/62)	30.6% (19/62)

Ces études montrent une efficacité significative de l'utilisation de *S. boulardii* en prévention de la DAA par rapport au groupe témoin recevant le traitement antibiotique et le placebo. Par exemple, les résultats du premier essai, mentionné dans le (Tableau I) montrent que l'administration par voie orale, durant 7 jours de *S. boulardii* à une dose de 200 mg/j (4×10^9 UFC/j), chez des patients adultes hospitalisés pour une DAA (tétracyclines ou bêta-lactamines), réduit de manière significative la DAA par rapport au placebo (4.5% contre 17.5%). Le groupe recevant *S. boulardii* et le groupe placebo comptait respectivement 199 et 189 adultes. L'effet protecteur de *S. boulardii* a été confirmé dans d'autres études (Tableau I).

3.3. Infection par *Clostridium difficile*:

L'infection par *Clostridium difficile* (ICD) est une forme grave de DAA causée par une bactérie anaérobie à Gram positif, productrice d'une toxine qui est la cause de la maladie. Le spectre des symptômes s'étend d'une diarrhée simple à une colite pseudomembraneuse grave, pouvant engager le pronostic vital. Elle est habituellement la conséquence d'un traitement antibiotique, mais peut avoir d'autres causes, notamment la chimiothérapie anticancéreuse et peut se produire sans traitement antibiotique préalable (Surawicz 2010).

Les symptômes apparaissent en général quatre à neuf jours après le début de l'antibiothérapie, mais peuvent être retardés de 6 à 10 semaines après l'arrêt du traitement. Tous les antibiotiques sont potentiellement responsables d'une diarrhée associée à *C. difficile*, mais les pénicillines et les céphalosporines sont le plus souvent incriminées. *Saccharomyces boulardii* prévient la survenue de diarrhées associées à d'antibiothérapie et dues aux *Clostridium difficile* chez l'homme et l'animal. *In vivo*, *Clostridium difficile* exerce son activité par l'intermédiaire de deux toxine : la toxine A et la toxine B. Le traitement préventif oral de la souris gnotobiotique par *Saccharomyces boulardii* réduit de façon significative la mortalité consécutive à une infection par *Clostridium difficile*. Aucun effet barrière n'a cependant été mis en évidence par contre le taux de toxine A et B diminuent chez les souris traitées par la levure (Rampal 1996).

S. boulardii étant naturellement résistant aux antibiotiques, il peut être prescrit aux patients recevant des antibiotiques (Bergogne-Berezin 1995).

Des recherches sur l'administration de *S. boulardii* à des patients souffrant d'infections récurrentes à *Clostridium difficile* ont montré que le nombre de levures fécales est significativement plus élevé chez les patients qui ne rechutent pas que chez les patients qui le font (Elmer, McFarland et al. 1999).

L'efficacité du traitement de *S. boulardii* apparaît ainsi corrélée à la concentration en levure fécale. Un autre facteur antitoxine produit par *Saccharomyces boulardii* a été décrit dans des cas de toxine cholérique. Des études anatomopathologiques sur l'intestin grêle de rats recevant *Vibrio cholerae* seul et de rats prétraités pendant 5 jours avec *Saccharomyces boulardii* ont montré que la levure prévient les dommages morphologiques causés par *Vibrio cholerae*. Vidon *et al.* ont démontré que l'ajout de *Saccharomyces boulardii* dans les anses intestinales de rats traités par toxine cholérique diminuait de 50 % la sécrétion de liquide et de sodium induite par toxine cholérique. Des études *in vitro* ont démontré que *Saccharomyces boulardii* produit une protéine de 120 kDa qui inhibe la sécrétion de chlorure stimulée par toxine cholérique en réduisant la formation d'AMP cyclique (Czerucka, Piche *et al.*).

3.4. La diarrhée du voyageur :

La diarrhée du voyageur, ou «turista », est classiquement définie par la survenue brutale, au cours du séjour ou dans les sept à dix jours suivant le retour, d'au moins trois selles non moulées par jour, accompagnée de symptômes tels que des douleurs abdominales, des nausées et/ou des vomissements et de la fièvre. Le plus souvent il s'agit d'un évènement bénin, spontanément résolutif en un à trois jours, mais particulièrement inconfortable et désagréable en voyage. Dans les cas de diarrhées du voyageur, plusieurs agents infectieux peuvent être en cause. Toutefois, l'origine est bactérienne dans 50 à 80 % avec des germes incriminés tel qu'*Escherichia coli*. La contamination est de type féco-oral ; les deux principaux vecteurs étant l'alimentation et l'eau de boisson (EZZARIGA 2015)

Une méta-analyse incluant 12 essais randomisés, contrôlés par placebo (soit 5171 patients) portant sur le potentiel des probiotiques dans la prévention de la diarrhée du voyageur a été réalisée en 2007. Cette méta-analyse, a révélé que 85 % des diarrhées du voyageur ont été évitées par l'administration de micro-organismes vivants. Les probiotiques les plus couramment utilisés, étaient *S.boulardii*, des bactéries appartenant au genre *Lactobacillus*, ainsi que des mélanges de différentes souches probiotiques. Les résultats les plus significatifs ont été rapportés dans (le Tableau 4)(McFarland 2007).

Tableau 4 : Résultats de certaines études issues de la méta-analyse portant sur l'efficacité des probiotiques dans la prévention de la diarrhée du voyageur (McFarland 2007).

Etude	Groupe de traitement	Population	Dose journalière UFC/j ou mg /j	Durée du traitement(j)	% de diarrhée dans le groupe probiotique	% de diarrhée dans le groupe placebo
01	<i>S.boulardii</i> vs placebo	832 touristes autrichiens se rendant climats chauds	5.10^9 (250mg)	26 jours au total dont 5 avant le début du voyage	34% (143/426)	43% (173/406)
02	<i>S.boulardii</i> vs placebo	805 touristes autrichiens se rendant climats chauds	1.10^9 (500mg)	26 jours au total dont 5 avant le début du voyage	32% (127/399)	43% (173/406)
03	<i>S.boulardii</i> vs placebo	713 touristes autrichiens se rendant climats chauds	5.10^9 (250mg)	26 jours au total dont 5 avant le début du voyage	34% (121/352)	39% (141/361)
04	<i>S.boulardii</i> vs placebo	664 touristes autrichiens se rendant climats chauds	2.10^{10} (1000mg)	26 jours au total dont 5 avant le début du voyage	29% (87/303)	39% (141/361)

L'incidence de la diarrhée était de 41 % chez les patients recevant le placebo, de 34 % chez les patients recevant *S. boulardii* 250 mg/jour et de 29 % chez les patients recevant *S. boulardii* 1000mg/jour. Dans une méta-analyse des probiotiques pour la prévention de la diarrhée du voyageur analysant 12 études différentes, McFarland a conclu que deux probiotiques, *S. boulardii* et un mélange de *L. acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum*, avaient une efficacité significative. (McFarland 2007).

Tableau 5: Posologie de probiotiques du *Saccharomyces boulardii*, et la durée du traitement. Selon le nouveau guide des probiotiques(DR.DANIEL.SINCHLLE)

Patient	L'Age	probiotiques	La dose(UFC/gélule ou g /j)	La durée de traitement
Diarrhée associée aux antibiotiques	Adule	<i>Saccharomyces boulardii</i> ,	5.10 ⁹ d'UFC par gélule, 1 à 2 gélules par jour,	pendant 3 semaines.
	Enfants	<i>Saccharomyces boulardii</i> ,	5.10 ⁹ d'UFC par sachet, 1 à 2 sachets par jour,	pendant 3 semaines.
La diarrhée du voyageur,	Adule et Enfants	<i>Saccharomyces boulardii</i> , (Ultra-Levure)	5.10 ⁹ d'UFC par jour;	commencer le traitement 3 jours avant le départ et poursuivre jusqu'à 3 semaines après le retour.

3.5. Diarrhées au cours du sida :

Un essai randomisé en double aveugle portant sur 35 patients atteints de diarrhée liée au SIDA a montré l'efficacité de *S. boulardii* 3 g/jour administré pendant 7 jours dans la résolution de la diarrhée. 61% des patients étaient sans diarrhée après 1 semaine de traitement par *S. boulardii* contre 12 % dans le groupe placebo(Saint-Marc, Rossello-Prats et al. 1991).

3.6. Maladies intestinales inflammatoires :

Trois études préliminaires ont évalué l'effet de *S. boulardii* chez les patients atteints de MICI. Une étude en double aveugle de 20 patients souffrant de la maladie de Crohn avec une activité modérée a révélé que l'ajout de *S. boulardii* au traitement conventionnel par sulfasalazine ou mésalazine (mésalamine) et corticostéroïdes réduit considérablement les selles(Plein and Hotz 1993).

De même, une étude en simple aveugle de 32 patients atteints de la maladie de Crohn de l'iléon ou du côlon qui étaient en rémission depuis ≥ 3 mois(Guslandi, Mezzi et al. 2000) a montré qu'un traitement d'entretien de 6 mois avec mésalazine 500 mg deux fois par jour plus *S. boulardii* 500 mg/jour était significativement plus efficace pour prévenir les rechutes que la mésalazine 500 mg trois fois par jour .

Enfin, une étude pilote ouverte a évalué 25 patients présentant une poussée clinique de rectocolite hémorragique légère à modérée du côté gauche recevant un traitement d'entretien de ≥ 3 mois avec de la mésalazine. L'ajout de *S. boulardii* 250 mg trois fois par jour pendant 4 semaines au régime de mésalazine a entraîné un succès thérapeutique selon l'indice d'activité clinique de Rachmilewitz (c'est-à-dire. fréquence des selles, sang dans les selles) chez 68 % des patients (Guslandi, Giollo et al. 2003). D'autres études contrôlées par placebo sont nécessaires pour étayer ces résultats préliminaires.

3.7. Côlon irritable :

Une étude clinique en double aveugle contre placebo, portant sur 34 patients atteints d'un côlon irritable avec diarrhée prédominante, a montré un effet significatif du traitement par *Saccharomyces boulardii* sur le nombre et la consistance des selles après un mois de traitement (de Vrese, Stegelmann et al. 2001).

3.8. Modification de la signalisation de la cellule hôte :

Les *E. coli* entéropathogènes (EPEC) et les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) partagent un mécanisme pathogène commun caractérisé par une adhésion bactérienne à la muqueuse intestinale et des modifications ultérieures de l'intégrité de la perméabilité des jonctions serrées et de l'activation des voies de signalisation (protéine kinase activée par les mitogènes (MAPK) et le facteur de transcription NF- κ B) qui stimulent la synthèse d'IL-8. Des études *in vitro* ont démontré que l'exposition des cellules à *S. boulardii* avant l'ajout de bactéries empêche la diminution induite par EPEC et EHEC de la résistance transépithéliale et de la sécrétion d'IL-8, suggérant que la levure exerçait un effet préventif (Czerucka, Dahan et al. 2000; Dahan, Dalmaso et al. 2003).

L'observation que la levure ne modifiait pas le nombre de bactéries adhérentes a suscité des recherches sur les effets de *S. boulardii* sur la signalisation de la cellule hôte. Il a été démontré que la levure abolit la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine (MLC) qui est associée à une protéine du cytosquelette impliquée dans le contrôle des jonctions serrées intercellulaires. *Saccharomyces boulardii* inhibe également l'activité de liaison à l'ADN de NF- κ B induite par EPEC ou EHEC et l'activation des kinases MAP (Czerucka, Dahan et al. 2000; Dahan, Dalmaso et al. 2003).

La synthèse du TNF- α est contrôlée par la MAP kinase et le NF- κ B. Récemment, Dalmasso *et al.* (Dalmasso, Loubat *et al.* 2006) ont démontré que *S. boulardii* tarde l'apoptose induite par l'EHEC ; cela peut s'expliquer en partie par la synthèse réduite de TNF- α observée en présence de levure. Ainsi, *in vitro*, *S. boulardii* a modifié les voies de signalisation impliquées dans la synthèse des cytokines pro-inflammatoires.

La production de facteurs antitoxines ainsi que la modification des réponses pro-inflammatoires de la cellule hôte par *S. boulardii* n'excluent pas la possibilité que d'autres mécanismes puissent également expliquer l'effet protecteur de *S. boulardii* dans l'infection bactérienne. Les parois cellulaires de *Saccharomyces boulardii* présentent des propriétés de liaison pour CT et EHEC (Brandão, Castro *et al.* 1998; Gedek 1999).

En cas d'infection à *C. difficile*, un effet inhibiteur de *S. boulardii* sur l'adhérence de *C. difficile* a également été rapporté (Tasteyre, Barc *et al.* 2002). ainsi que la production d'antitoxine IgA (Qamar, Aboudola *et al.* 2001).

4. Effet sur les facteurs immunitaires intestinaux :

L'ingestion orale de *S. boulardii* provoque une augmentation des IgA sécrétoires et de la composante sécrétoire dans l'intestin grêle du rat. Buts *et al.* (Buts, Bernasconi *et al.* 1990). ont constaté que des rats en croissance ayant reçu de fortes doses de *S. boulardii* (0,5 mg/g de poids corporel, trois fois par jour) avaient une augmentation de 80 % de la composante sécrétoire des cellules de la crypte et une augmentation de 69 % des cellules des villosités. Le taux moyen d'IgA sécrétoires dans la lumière intestinale a augmenté de 57 % et la concentration des récepteurs polymères d'immunoglobuline dans les cellules de la crypte a augmenté de 63 % chez les rats traités à *S. boulardii*.

5. Effet trophique de *S. boulardii* sur la muqueuse intestinale :

La stimulation des enzymes de la membrane de bordure en brosse (BBM) par *S. boulardii* a été décrite pour la première fois dans des biopsies de volontaires humains (Buts, Bernasconi *et al.* 1986). Cette étude a montré des augmentations significatives de l'activité spécifique et totale de la sucrase-isomaltase (+82%), de la lactase (+77%) et de la maltase-glucoamylase (+75%) après 8 jours de traitement oral par levure par rapport aux biopsies initiales .

Ces observations ont été confirmées chez des rats en croissance (Jahn, Ullrich et al. 1996). et dans deux autres études menées chez des rats après résection partielle de l'intestin grêle (Buts, De Keyser et al. 1999; Zaouche, Loukil et al. 2000).

Enfin, l'administration orale de *S. boulardii* a amélioré les activités dissaccharidase, amélioré l'absorption de D-glucose couplé au Na⁺ par le symport glucose/Na⁺ et l'expression du cotransporteur sodium-glucose-1 (SLGT-1) dans la bordure en brosse des segments intestinaux restants. Les cellules de *Saccharomyces boulardii* contiennent des quantités substantielles de polyamines (673 nmol/100 mg de préparation lyophilisée de *S. boulardii*) ; à la lumière des effets physiologiques bien connus des polyamines sur la maturation cellulaire, l'expression enzymatique et les mécanismes de transport membranaire, Buts *et al.* impliquaient les polyamines comme médiateurs de l'effet trophique de *S. boulardii*. Récemment, Schneider *et al.* ont étudié l'effet de l'administration de *S. boulardii* sur la concentration fécale des acides gras à chaîne courte (SFCA) chez les patients sous nutrition entérale totale (TEN).

Ils ont démontré que le traitement par *S. boulardii* augmentait significativement les taux totaux d'AGFC fécaux chez les patients TEN ($150 \pm 27,2$ contre $107 \pm 18,2$ mmol/kg), alors qu'aucune modification de l'AGFC n'était observée chez les témoins. A la fin du traitement avec *S. boulardii*, ces patients TEN avaient un butyrate fécal plus élevé ($16,0 \pm 4,4$ contre $10,1 \pm 2,9$). Chez ces patients, *S. boulardii* n'a pas modifié la flore fécale.

Les AGCC totaux sont restés élevés 9 jours après l'arrêt du traitement. Les auteurs concluent de cette étude que *S. boulardii*-l'augmentation induite de la concentration en AGCC fécaux (en particulier le butyrate) peut expliquer l'effet préventif de cette levure sur la diarrhée induite par la TEN.

6. Effet anti-inflammatoire de *S. boulardii* :

Les travaux portant sur les mécanismes protecteurs de *Saccharomyces boulardii* vis-à-vis de l'infection par EPEC et EHEC ont montré que *Saccharomyces boulardii* inhibait les voies de signalisation MAP kinases et NF- κ B ainsi que la sécrétion de la cytokine pro-inflammatoire IL-8. De façon similaire, Sogioultzis a mis en évidence un facteur hydrosoluble sécrété par *Saccharomyces boulardii* qui inhibe également cette signalisation NF- κ B lors de l'exposition de cellules intestinales à la toxine A de *Clostridium difficile*.

Ces travaux ouvrent une perspective dans la mise en place d'études cliniques de *Saccharomyces boulardii* dans le traitement des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin (MICI).

En résumé, les mécanismes de l'action antidiarrhéique de *Saccharomyces boulardii* sont principalement définis par deux types de propriétés pharmacodynamiques :

- l'inhibition de certaines toxines bactériennes et/ou de leurs effets pathogènes,
- des effets directs sur la muqueuse intestinale faisant intervenir des effets trophiques, une action antisécrétoire, une stimulation de l'immunité intestinale et un effet anti-inflammatoire.

7. Effet sur les fonctions physiologiques et métaboliques :

Des concentrations élevées de lactase sont physiologiquement présent chez les nouveau-nés ; néanmoins, après le sevrage, une réduction génétiquement programmée et irréversible de son activité se produit dans la majorité de la population mondiale (Wang, Harvey et al. 1998).

La malabsorption du lactose se caractérise par un déficit en lactase, une enzyme intestinale qui hydrolyse le lactose en son composant galactose et glucose (Gilat, Russo et al. 1972). C'est une condition très courante, atteignant 70% dans le sud de l'Italie (Gudmand-Høyer 1994).

Arrigoni *et al.* ont comparé l'absorption et la tolérance d'une charge orale de 20 g de lactose administré, soit dans le lait, soit dans des yaourts, chez des malades porteurs d'un grêle court. Ces auteurs ont pu montrer que l'absorption du lactose contenu dans les yaourts était meilleure que celle du lactose contenu dans le lait. Enfin, chez de jeunes enfants porteurs d'un déficit congénital en saccharase-isomaltase, il a été montré que la tolérance à ce disaccharide était améliorée par la consommation régulière de *Saccharomyces cerevisiae*, une levure qui contient une saccharase-isomaltase (Harms, Bertele-Harms et al. 1987).

À l'échelle mondiale, jusqu'à 50 % des malabsorbants présentent des symptômes (Rosado, Solomons et al. 1984). De nos jours, le comportement habituel pour cette condition consiste à éviter le lait et les produits laitiers produits issus de l'alimentation. Cependant, cette restriction entraîne une réduction de l'apport de substances telles que le calcium, le phosphore et vitamines, et peut s'associer à une diminution de la densité osseuse densité minérale (Solomons, Guerrero et al. 1985; Di Stefano, Veneto et al. 2002).

Pour dépasser ces limites, ces dernières années, plusieurs approches ont été étudiées : médicaments augmentant les contacts temps entre l'enzyme et le substrat, soit en retardant

orocoecal transit (c'est-à-dire l'opéramide) (Szilagy, Salomon et al. 1996; Szilagy, Torchinsky et al. 2000).

K. lactis (var *lactis*) est utilisée dans l'industrie laitière pour sa capacité à fermenter le lactose. Elle peut être utilisée pour produire la β -galactosidase native, afin de produire des produits laitiers exempts de lactose, destinés à la population intolérante au lactose. Cette enzyme peut également être utilisée pour produire des prébiotiques, de type galactose oligosaccharide. Le potentiel biotechnologique de *K. marxianus* n'a été étudié que récemment, mais il semble être plus prometteur que celui de *K. lactis*. *K. marxianus* est utilisée pour produire la β -galactosidase et la lactase. D'ailleurs, la β -galactosidase produite par *K. marxianus* est utilisée à grande échelle en Chine. Cette espèce produit également de l'inulase. L'inulase permet la dégradation de l'inuline en fructose, un sucre qui possède un pouvoir sucrant plus élevé que celui du saccharose et pose moins de problèmes de type caries, athérosclérose, diabète et d'obésité. De plus, le fructose améliore l'absorption du fer, par formation de complexes de chélation fer fructose. Cette espèce produit d'autres métabolites, naturels ou recombinants comme les composés aromatiques, les esters de fruits, les acides carboxyliques, les cétones, les furannes et les alcools aromatiques divers. Parmi les acides carboxyliques produits, on retrouve l'acide hexanoïque qui a des applications industrielles très variées, notamment en parfumerie, médecine, agroalimentaire (additifs alimentaires), en industrie chimique (lubrifiants, caoutchouc ou les colorants). L'utilisation de composés produits par *K. marxianus*, dans le domaine médical, porte actuellement sur les produits ayant des propriétés anti-cholestérolémique, ou les peptides inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ACE) permettant le traitement de pathologies cardiaques (Ceugniez 2017).

Divers probiotiques apportent une amélioration lors de certains troubles des fonctions physiologiques et métaboliques humaines. Ces effets sont surtout liés aux caractéristiques enzymatiques propres à ces souches et à leur activité métabolique in situ.

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion :

L'effet antidiarrhéique de *S. boulardii* lyophilisé a été étudié dans plusieurs formes de maladies diarrhéiques. L'efficacité clinique de la levure a été clairement démontrée à la fois pour la prévention de la DAA et pour le traitement de la maladie récurrente à *C. difficile*. De plus, la supériorité des levures probiotiques sur les bactéries probiotiques dans ces indications est probablement due à la résistance naturelle des levures aux antibiotiques antibactériens, qui laisse intactes leur viabilité et leurs propriétés probiotiques.

Les données sur la gastro-entérite aiguë et sur la diarrhée du voyageur s'accumulent et la pertinence clinique de *S. boulardii* dans les maladies inflammatoires de l'intestin nécessite des recherches plus approfondies.

Des investigations visant à élucider les mécanismes d'action de *S. boulardii* ont mis en évidence l'existence de mécanismes complémentaires : libération *in vivo* de substances inhibant certaines toxines bactériennes et/ou leurs effets pathogènes ; effets trophiques; activité antisécrétoire et effets immunostimulants sur la muqueuse intestinale ; marquant que a découverte récente d'un effet anti-inflammatoire ouvre la porte à de nouvelles applications cliniques.

En conclusion, l'activité des probiotiques est souche-dépendante, et dans ce contexte *S. boulardii* est le seul probiotique de levure présentant sa propre spécificité.

Parmi les levures, on trouve des non *sacharomyces*, genres *klyveromyces* qui ont une grande importance économique, alors que leurs bénéfices pour la santé doivent encore être étudiés en profondeur, même si certains bénéfices ont été documentés, comme leur rôle dans la vie des personnes souffrant de lactose intolérance.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Alix Lefief-Delcourt. (2010). "La levure de Bière c'est Malin, Santé, Beauté, Bien-être Un ingrédient Magique Aux innombrables Vertus". Leduc édition,

Barillas, C. and N. W. Solomons (1987). "Effective reduction of lactose maldigestion in preschool children by direct addition of β -galactosidases to milk at mealtime." Pediatrics **79**(5): 766-772.

Bergogne-Berezin, E. (1995). "Impact écologique de l'antibiothérapie: place des microorganismes de substitution dans le contrôle des diarrhées et colites associées aux antibiotiques." La Presse médicale **24**(2): 145-156.

Brandão, R. L., I. M. Castro, et al. (1998). "Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*." Applied and environmental microbiology **64**(2): 564-568.

Briet, F., P. Pochart, et al. (1997). "Improved clinical tolerance to chronic lactose ingestion in subjects with lactose intolerance: a placebo effect?" Gut **41**(5): 632-635.

Buts, J.-P., P. Bernasconi, et al. (1986). "Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii*." Pediatric Research **20**(2): 192-196.

Buts, J.-P., P. Bernasconi, et al. (1990). "Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*." Digestive diseases and sciences **35**(2): 251-256.

Buts, J.-P., N. De Keyser, et al. (1999). "*Saccharomyces boulardii* upgrades cellular adaptation after proximal enterectomy in rats." Gut **45**(1): 89-96.

Corazza, G., G. Benati, et al. (1992). " β -Galactosidase from *Aspergillus niger* in adult lactose malabsorption: a double-blind crossover study." Alimentary pharmacology & therapeutics **6**(1): 61-66.

Czerucka, D., S. Dahan, et al. (2000). "*Saccharomyces boulardii* preserves the barrier function and modulates the signal transduction pathway induced in enteropathogenic *Escherichia coli*-infected T84 cells." Infection and immunity **68**(10): 5998-6004.

Czerucka, D., T. Piche, et al. Review article: yeast as probiotics—*Saccharomyces boulardii*. Aliment Pharmacol. 2007; **26** (6): 767-78.

Dahan, S., G. Dalmasso, et al. (2003). "*Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escherichia coli*-induced signaling pathways in T84 cells." Infection and immunity **71**(2): 766-773.

Références Bibliographiques

Dalmaso, G., A. Loubat, et al. (2006). "Saccharomyces boulardii prevents TNF- α -induced apoptosis in EHEC-infected T84 cells." Research in microbiology **157**(5): 456-465.

de Vrese, M., A. Stegelmann, et al. (2001). "Probiotics—compensation for lactase insufficiency." The American journal of clinical nutrition **73**(2): 421s-429s.

Di Stefano, M., G. Veneto, et al. (2002). "Lactose malabsorption and intolerance and peak bone mass." Gastroenterology **122**(7): 1793-1799.

Elmer, G., L. McFarland, et al. (1999). "Behaviour of Saccharomyces boulardii in recurrent Clostridium difficile disease patients." Alimentary pharmacology & therapeutics **13**(12): 1663-1668.

EZZARIGA, N. (2015). PROBIOTIQUES: Applications thérapeutiques et Effets secondaires.

Faure, S., C. Pubert, et al. (2013). "Intérêt des probiotiques en préventif au niveau des différentes flores de l'organisme." Actualités Pharmaceutiques **52**(528): 22-26.

Gedek, B. (1999). "Adherence of Escherichia coli serogroup O 157 and the Salmonella typhimurium mutant DT 104 to the surface of Saccharomyces boulardii." mycoses **42**(4): 261-264.

Gilat, T., S. Russo, et al. (1972). "Lactase in man: a nonadaptable enzyme." Gastroenterology **62**(6): 1125-1127.

Gudmand-Høyer, E. (1994). "The clinical significance of disaccharide maldigestion." The American journal of clinical nutrition **59**(3): 735S-741S.

Guslandi, M., P. Giollo, et al. (2003). "A pilot trial of Saccharomyces boulardii in ulcerative colitis." European journal of gastroenterology & hepatology **15**(6): 697-698.

Guslandi, M., G. Mezzi, et al. (2000). "Saccharomyces boulardii in maintenance treatment of Crohn's disease." Digestive diseases and sciences **45**(7): 1462-1464.

Jahn, H.-U., R. Ullrich, et al. (1996). "Immunological and Trophical Effects of Saccharomycesboulardii on the Small Intestine in Healthy Human Volunteers." Digestion **57**(2): 95-104.

Léonil, J., Y. Le Loir, et al. (2022). Le lait, un concentré de bienfaits?: 50 clés pour comprendre les produits laitiers.

Lin, M.-Y., J. A. Dipalma, et al. (1993). "Comparative effects of exogenous lactase (β -galactosidase) preparations on in vivo lactose digestion." Digestive diseases and sciences **38**(11): 2022-2027.

Références Bibliographiques

McFarland, L. V. (2007). "Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhea." Travel medicine and infectious disease **5**(2): 97-105.

Onwulata, C. I., D. R. Rao, et al. (1989). "Relative efficiency of yogurt, sweet acidophilus milk, hydrolyzed-lactose milk, and a commercial lactase tablet in alleviating lactose maldigestion." The American journal of clinical nutrition **49**(6): 1233-1237.

Peuhkuri, K., H. Vapaatalo, et al. (1999). "Influence of the pharmacological modification of gastric emptying on lactose digestion and gastrointestinal symptoms." Alimentary pharmacology & therapeutics **13**(1): 81-86.

Plein, K. and J. Hotz (1993). "Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea--a pilot study." Zeitschrift fur Gastroenterologie **31**(2): 129-134.

Qamar, A., S. Aboudola, et al. (2001). "Saccharomyces boulardii stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice." Infection and immunity **69**(4): 2762-2765.

Rampal, P. (1996). "les levures: classification, proprietes, utilisations technologiques et therapeutiques." Journal de pediatrie et de puericulture **3**(9): 185-186.

Rosado, J. L., N. W. Solomons, et al. (1984). "Enzyme replacement therapy for primary adult lactase deficiency: effective reduction of lactose malabsorption and milk intolerance by direct addition of β -galactosidase to milk at mealtime." Gastroenterology **87**(5): 1072-1082.

Saint-Marc, T., L. Rossello-Prats, et al. (1991). Efficacy of *Saccharomyces boulardii* in the treatment of diarrhea in AIDS. Annales de médecine interne.

Saltzman, J. R., R. M. Russell, et al. (1999). "A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance." The American journal of clinical nutrition **69**(1): 140-146.

Shaw, A. and G. Davies (1999). "Lactose intolerance: problems in diagnosis and treatment." Journal of clinical gastroenterology **28**(3): 208-216.

Solomons, N. W., A.-M. Guerrero, et al. (1985). "Dietary manipulation of postprandial colonic lactose fermentation: II. Addition of exogenous, microbial beta-galactosidases at mealtime." The American journal of clinical nutrition **41**(2): 209-221.

Solomons, N. W., A.-M. Guerrero, et al. (1985). "Effective in vivo hydrolysis of milk lactose by beta-galactosidases in the presence of solid foods." The American journal of clinical nutrition **41**(2): 222-227.

Références Bibliographiques

Surawicz, C.-M. (2010). "Le microbiote dans les diarrhées infectieuses." Gastroentérologie clinique et biologique **34**(4): 31-40.

Swagerty Jr, D. L., A. Walling, et al. (2002). "Lactose intolerance." American family physician **65**(9): 1845.

Szilagyi, A., R. Salomon, et al. (1996). "Influence of loperamide on lactose handling and oral–caecal transit time." Alimentary pharmacology & therapeutics **10**(5): 765-770.

Szilagyi, A., A. Torchinsky, et al. (2000). "Possible therapeutic use of loperamide for symptoms of lactose intolerance." Canadian Journal of Gastroenterology **14**(7): 581-587.

Tasteyre, A., M.-C. Barc, et al. (2002). "Inhibition of in vitro cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*." Microbial pathogenesis **32**(5): 219-225.

Wang, Y., C. B. Harvey, et al. (1998). "The genetically programmed down-regulation of lactase in children." Gastroenterology **114**(6): 1230-1236.

Zaouche, A., C. Loukil, et al. (2000). "Effects of oral *Saccharomyces boulardii* on bacterial overgrowth, translocation, and intestinal adaptation after small-bowel resection in rats." Scandinavian journal of gastroenterology **35**(2): 160-165.

Bayless, T. M., E. Brown, et al. (2017). "Lactase non-persistence and lactose intolerance." Current gastroenterology reports **19**(5): 1-11.

Bilal, M., L. Ji, et al. (2022). "Bioprospecting *Kluyveromyces marxianus* as a Robust Host for Industrial Biotechnology." Frontiers in Bioengineering and Biotechnology **10**.

Buts, J.-P. and P. Bernasconi (2005). "*Saccharomyces boulardii*: basic science and clinical applications in gastroenterology." Gastroenterology Clinics **34**(3): 515-532.

Buts, J.-P. and N. De Keyser (2006). "Effects of *Saccharomyces boulardii* on intestinal mucosa." Digestive diseases and sciences **51**(8): 1485-1492.

Buts, J. (2004). "Exemple d'un médicament probiotique: *Saccharomyces boulardii* lyophilisé." Flore microbienne intestinale. John Libbey Eurotext, Montrouge, France: 221-244.

Ceugniz, A. (2017). Recherche de levures antagonistes, à potentiel probiotique, dans les produits du Terroir du Nord-Pas-de-Calais: étude de *Kluyveromyces marxianus* et *K. lactis*, isolées d'un fromage artisanal, la Tomme d'Orchies, Lille 1.

Références Bibliographiques

Chi, Z.-M., T. Zhang, et al. (2011). "Biotechnological potential of inulin for bioprocesses." Bioresource Technology **102**(6): 4295-4303.

Czerucka, D., T. Piche, et al. (2007). "yeast as probiotics–*Saccharomyces boulardii*." Alimentary pharmacology & therapeutics **26**(6): 767-778.

Czerucka, D. and P. Rampal (2019). "Diversity of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 mechanisms of action against intestinal infections." World Journal of Gastroenterology **25**(18): 2188.

Dunn, B., C. Richter, et al. (2012). "Analysis of the *Saccharomyces cerevisiae* pan-genome reveals a pool of copy number variants distributed in diverse yeast strains from differing industrial environments." Genome research **22**(5): 908-924.

Fritsche, W. (1972). AH Rose and JS Harrison (Editors), *The Yeasts*, Vol. 2. Physiology and Biochemistry of Yeasts. XIV+ 571 S., 73 Abb., 39 Tab. London-New York 1971: Academic Press \$24, 50, Wiley Online Library.

Gao, W., Y. Bao, et al. (2009). "Characterization of thermo-stable endoinulinase from a new strain *Bacillus smithii* T7." Applied biochemistry and biotechnology **157**(3): 498-506.

Goulet, O. (2009). "Un probiotique pas comme les autres: d'une histoire tropicale à des propriétés biologiques et des effets cliniques prouvés." Journal de pédiatrie et de puériculture **6**(22): 269-272.

Johnson, E. A. and C. Echavarri-Erasun (2011). *Yeast biotechnology. The yeasts*, Elsevier: 21-44.

Karim, A., N. Gerliani, et al. (2020). "Kluyveromyces marxianus: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology." International Journal of Food Microbiology **333**: 108818.

Karimi, S., N. Mahboobi Soofiani, et al. (2018). "Use of organic wastes and industrial by-products to produce filamentous fungi with potential as aqua-feed ingredients." Sustainability **10**(9): 3296.

Lachance, M.-A. (2007). "Current status of *Kluyveromyces* systematics." FEMS yeast research **7**(5): 642-645.

Lachance, M.-A. (2011). *Kluyveromyces van der Walt* (1971). The yeasts, Elsevier: 471-481.

Madeira-Jr, J. V. and A. K. Gombert (2018). "Towards high-temperature fuel ethanol production using *Kluyveromyces marxianus*: On the search for plug-in strains for the Brazilian sugarcane-based biorefinery." Biomass and Bioenergy **119**: 217-228.

Références Bibliographiques

MARWA, B., C. NABILA, et al. (2020). "Contribution au comportement des levures «*Saccharomyces cerevisiae*» vis-à-vis des résidus du dioxyde de titane."

Moriyama, S. and K. Ohta (2007). "Functional characterization and evolutionary implication of the internal 157-amino-acid sequence of an exoinulinase from *Penicillium* sp. strain TN-88." Journal of Bioscience and Bioengineering **103**(4): 293-297.

Nonklang, S., B. M. Abdel-Banat, et al. (2008). "High-temperature ethanol fermentation and transformation with linear DNA in the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* DMKU3-1042." Applied and environmental microbiology **74**(24): 7514-7521.

Ohta, K., N. Suetsugu, et al. (2002). "Purification and properties of an extracellular inulinase from *Rhizopus* sp. strain TN-96." Journal of Bioscience and Bioengineering **94**(1): 78-80.

Qiu, Z. and R. Jiang (2017). "Improving *Saccharomyces cerevisiae* ethanol production and tolerance via RNA polymerase II subunit Rpb7." Biotechnology for Biofuels **10**(1): 1-13.

Ritala, A., S. T. Häkkinen, et al. (2017). "Single cell protein—state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016." Frontiers in microbiology **8**: 2009.

Rose, A. (1987). "Yeast culture, a microorganism for all species: a theoretical look at its mode of action." Biotechnology in the feed industry: 113-118.

Rouwenhorst, R. J., L. E. Visser, et al. (1988). "Production, distribution, and kinetic properties of inulinase in continuous cultures of *Kluyveromyces marxianus* CBS 6556." Applied and environmental microbiology **54**(5): 1131-1137.

Sarmah, N., D. Revathi, et al. (2018). "Recent advances on sources and industrial applications of lipases." Biotechnology progress **34**(1): 5-28.

Selvakumar, P. and A. Pandey (1999). "Solid state fermentation for the synthesis of inulinase from *Staphylococcus* sp. and *Kluyveromyces marxianus*." Process Biochemistry **34**(8): 851-855.

Sharma, R., S. Soni, et al. (2002). "Purification and characterisation of a thermostable alkaline lipase from a new thermophilic *Bacillus* sp. RSJ-1." Process Biochemistry **37**(10): 1075-1084.

SINGH, R. (2016). "Anshumali MITTAL a Praveen Kumar MEHTA." Microbial enzymes: industrial progress in 21st century **3**: 1-15.

Vakhlu, J. (2006). "Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning." Electronic Journal of Biotechnology **9**(1): 0-0.

Références Bibliographiques

Bahri, F. (2014). "Isolment et caracterisation des souches de lactobacilles a caracteres probiotiques a partir de selles d'enfants."

Biard, N. (2016). Le microbiote intestinal, les probiotiques et leur place dans les pathologies digestives basses du nourrisson, Université de Lorraine.

Bouchefra, A. "Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication."

Breuer, U. and H. Harms (2006). "Debaryomyces hansenii—an extremophilic yeast with biotechnological potential." Yeast **23**(6): 415-437.

Butinar, L., S. Santos, et al. (2005). "Yeast diversity in hypersaline habitats." FEMS Microbiology Letters **244**(2): 229-234.

Buzzini, P. and A. Martini (2001). "Large-scale screening of selected *Candida maltosa*, *Debaryomyces hansenii* and *Pichia anomala* killer toxin activity against pathogenic yeasts." Sabouraudia **39**(6): 479-482.

Cerniglia, C. E. and S. A. Crow (1981). "Metabolism of aromatic hydrocarbons by yeasts." Archives of Microbiology **129**(1): 9-13.

CHIGUER, M. (2019). MICROBIOTE INTESTINAL ET RISQUE CARDIOVASCULAIRE.

Collado, M., J. Meriluoto, et al. (2007). "Role of commercial probiotic strains against human pathogen adhesion to intestinal mucus." Letters in applied microbiology **45**(4): 454-460.

Couderc, R. and J. Baratti (1980). "Oxidation of methanol by the yeast, *Pichia pastoris*. Purification and properties of the alcohol oxidase." Agricultural and biological chemistry **44**(10): 2279-2289.

Dalton, H. K., R. Board, et al. (1984). "The yeasts of British fresh sausage and minced beef." Antonie Van Leeuwenhoek **50**(3): 227-248.

de Vrese, M., A. Stegelmann, et al. (2001). "Probiotics—compensation for lactase insufficiency." The American journal of clinical nutrition **73**(2): 421s-429s.

Dellaglio, F. and G. E. Felis (2005). "Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria." Probiotics and prebiotics: scientific aspects: 25-49.

Durá, M.-A., M. Flores, et al. (2004). "Effect of growth phase and dry-cured sausage processing conditions on *Debaryomyces* spp. generation of volatile compounds from branched-chain amino acids." Food Chemistry **86**(3): 391-399.

Egli, T., J. Van Dijken, et al. (1980). "Methanol metabolism in yeasts: regulation of the synthesis of catabolic enzymes." Archives of Microbiology **124**(2): 115-121.

Références Bibliographiques

Fickers, P., P.-H. Benetti, et al. (2005). "Hydrophobic substrate utilisation by the yeast *Yarrowia lipolytica*, and its potential applications." FEMS yeast research **5**(6-7): 527-543.

Fleet, G. (1990). "Yeasts in dairy products." Journal of applied bacteriology **68**(3): 199-211.

Flores, M., M.-A. Durá, et al. (2004). "Effect of *Debaryomyces* spp. on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages." Meat Science **68**(3): 439-446.

Food, W. (2001). "agriculture organization of the united nations/world health organization (Fao/Who)." Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria [Internet].

Fooks, L. and G. R. Gibson (2002). "Probiotics as modulators of the gut flora." British Journal of Nutrition **88**(S1): s39-s49.

Fuller, R. (1991). Probiotics in human medicine Gut 32: 439–442, PMID.

García-González, A. and J. L. Ochoa (1999). "Anti-inflammatory activity of *Debaryomyces hansenii* Cu, Zn-SOD." Archives of Medical Research **30**(1): 69-73.

González-Hernández, J., C. Cárdenas-Monroy, et al. (2004). "Sodium and potassium transport in the halophilic yeast *Debaryomyces hansenii*." Yeast **21**(5): 403-412.

Goulet, O. (2009). "Un probiotique pas comme les autres: d'une histoire tropicale à des propriétés biologiques et des effets cliniques prouvés." Journal de pédiatrie et de puériculture **6**(22): 269-272.

Gournier-Chateau, N., J.-P. Larpent, et al. (1994). Les probiotiques en alimentation animale et humaine, Lavoisier Tec & Doc.

Harms, H.-K., R.-M. Bertele-Harms, et al. (1987). "Enzyme-substitution therapy with the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in congenital sucrase-isomaltase deficiency." New England Journal of Medicine **316**(21): 1306-1309.

Hebert, A. (2010). Ecosystème fromager: de l'étude du métabolisme du soufre chez *Kluyveromyces lactis* et *Yarrowia lipolytica* à l'interaction entre *Kluyveromyces lactis* et *Brevibacterium aurantiacum*, AgroParisTech.

Hernández-Saavedra, N. Y. and R. Romero-Geraldo (2001). "Cloning and sequencing the genomic encoding region of copper–zinc superoxide dismutase enzyme from several marine strains of the genus *Debaryomyces* (Lodder & Kreger-van Rij)." Yeast **18**(13): 1227-1238.

Références Bibliographiques

- Hotel, A. C. P. and A. Cordoba (2001). "Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria." Prevention **5**(1): 1-10.
- Izquierdo Alegre, E. (2009). Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique, Strasbourg.
- Klaenhammer, T. R. (1993). "Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria." FEMS microbiology reviews **12**(1-3): 39-85.
- Kurtzman, C. P., J. W. Fell, et al. (2011). The yeasts: a taxonomic study, Elsevier.
- Lanciotti, R., L. Vannini, et al. (2005). "Evaluation of the ability of *Yarrowia lipolytica* to impart strain-dependent characteristics to cheese when used as a ripening adjunct." International Journal of Dairy Technology **58**(2): 89-99.
- Llorente, P., D. Marquina, et al. (1997). "Effect of salt on the killer phenotype of yeasts from olive brines." Applied and environmental microbiology **63**(3): 1165-1167.
- Malbezin, C. (2017). Place des probiotiques dans la prise en charge des maladies humaines.
- Mansour, S., J. Beckerich, et al. (2008). "Lactate and amino acid catabolism in the cheese-ripening yeast *Yarrowia lipolytica*." Applied and environmental microbiology **74**(21): 6505-6512.
- McFarland, L. V. (2010). "Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients." World journal of gastroenterology: WJG **16**(18): 2202.
- Naimi, S. (2014). "Isolement, caractérisation et étude" in vitro" de l'activité anti-inflammatoire de différentes souches probiotiques."
- Nakase, T., M. Suzuki, et al. (1998). *Debaryomyces* Lodder & Kreger-van Rij Nom. Cons. The Yeasts, Elsevier: 157-173.
- Ochoa, J. and N. HERNANDEZ-SAAVEDRA (1995). "Halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* as an alternative source of Cu/Zn superoxide dismutase (SOD)." Journal of marine biotechnology **3**(1): 224-227.
- Oelschlaeger, T. A. (2010). "Mechanisms of probiotic actions—a review." International journal of medical microbiology **300**(1): 57-62.
- Olesen, P. T. and L. H. Stahnke (2000). "The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces." Meat Science **56**(4): 357-368.

Références Bibliographiques

Orozco, M. R., N. Y. Hernández-Saavedra, et al. (1998). "Cell yield and superoxide dismutase activity of the marine yeast *Debaryomyces hansenii* under different culture conditions." Journal of marine biotechnology **6**: 255-259.

Ouwehand, A. C. and S. Vesterlund (2004). "Antimicrobial components from lactic acid bacteria." FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER **139**: 375-396.

Piquepaille, C. (1987). "Place des probiotiques dans le traitement de diverses pathologies intestinales."

Prudêncio, C., F. Sansonetty, et al. (2000). "Rapid detection of efflux pumps and their relation with drug resistance in yeast cells." Cytometry: The Journal of the International Society for Analytical Cytology **39**(1): 26-35.

Ramírez-Orozco, M., N. Y. Hernández-Saavedra, et al. (2001). "*Debaryomyces hansenii* growth in nonsterile seawater C102-peptone-containing medium." Canadian journal of microbiology **47**(7): 676-679.

Rankine, B. C. (1964). "Hydrogen sulphide production by yeasts." Journal of the Science of Food and Agriculture **15**(12): 872-877.

Rodríguez-Sojo, M. J., A. J. Ruiz-Malagón, et al. (2021). "*Limosilactobacillus fermentum* CECT5716: Mechanisms and Therapeutic Insights." Nutrients **13**(3): 1016.

Roselli, M., A. Finamore, et al. (2006). "Probiotic bacteria *Bifidobacterium animalis* MB5 and *Lactobacillus rhamnosus* GG protect intestinal Caco-2 cells from the inflammation-associated response induced by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88." British Journal of Nutrition **95**(6): 1177-1184.

Servin, A. L. (2004). "Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens." FEMS microbiology reviews **28**(4): 405-440.

Shu, Q. and H. S. Gill (2002). "Immune protection mediated by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20™) against *Escherichia coli* O157: H7 infection in mice." FEMS Immunology & Medical Microbiology **34**(1): 59-64.

Turróni, F., A. Ribbera, et al. (2008). "Human gut microbiota and bifidobacteria: from composition to functionality." Antonie Van Leeuwenhoek **94**(1): 35-50.

Vanderpool, C., F. Yan, et al. (2008). "Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases." Inflammatory bowel diseases **14**(11): 1585-1596.

Varela, J. A., L. Gethins, et al. (2017). Applications of *Kluyveromyces marxianus* in biotechnology. Yeast diversity in human welfare, Springer: 439-453.

Références Bibliographiques

Vital, M. J. S., J. Abranches, et al. (2002). "Mycocinogenic yeasts isolated from Amazon soils of the Maracá ecological station, Roraima-Brazil." Brazilian Journal of Microbiology **33**: 230-235.

Yadav, J. S. and J. C. Loper (1999). "Multiple P450alk (cytochrome P450 alkane hydroxylase) genes from the halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii*." Gene **226**(2): 139-146.