



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé :

Etude de la formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae*

Présenté et soutenu par :

Le : 25/06/2018

AMAMRIA Asma

ABED Chaima

Jury d'évaluation :

Président du jury : *LEGHLIMI Hind* (MCB - UFM Constantine).

Rapporteur : *BOUCHLOUKH Warda* (MAA - UFM Constantine).

Examinatrice : *MERIANE Ilhem* (MAA - UFM Constantine).

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries.

*En seconde lieu je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements au Mlle **bouchloukh Warda** qui fut pour moi une Directrice de mémoire attentive et disponible malgré ses nombreuses charges et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. Sa compétence, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront les moteurs de mon travail.*

*J'exprime tous mes remerciements à l'ensemble des membres du jury : Mme **leghlimihind** et Mlle **Mirianeilhem***

Je ne saurais terminer sans remercier toutes ces personnes qui sont dans l'ombre et dont la contribution à mon travail est non négligeable notamment tout le personnel de laboratoire, de la bibliothèque, de l'administration.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma très cher mère « Fahima »

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon très cher père « Djamel »

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et de le respect que j'ai toujours eu pour toi, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mon cher frère « Aymen »

Mon ange gardien Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mes cher Sœurs

meissa, son marie Lakhder, et les petits beau garçons Mouad et mouhamed Amine Ikram et khadidja.

Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mon fiancé « Aissa »

*la source de grand courage tout le moment de travail et toujours à coté de moi merci .
A tout la famille Abed et Bouzidi.*

A mes cher ami (e)s

Chaima

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail, en premier lieu à mes chers
parents pour toutes ces années de sacrifices,*

*A toi papa, qui m'a toujours fait confiance et ma poussée à
donner le meilleur de moi-même,*

*A toi maman, qui a toujours cru en moi et m'a offert la meilleure des
éducations,*

A mes frères Skandar et Bilel pour leur amour,

A mes sœurs Sarah et Aya la source de tendresse et de courage.

A mon fiancé Moukrane

A mon poussin Daousser

*A tous mes oncles, tantes, cousins, cousines et tous les
membres de ma famille,*

*A mes très chères neveux et nièces qui ont su arroser dans mon coeur
la joie et le bonheur ;Siradj ,Raïd ,Rinaïd ,Roudayna*

Asma

Liste des abréviations

ATP : Adénosine-TriPhosphate.

CV : Cristal Violet.

DO : Densité Optique .

ED : Eau Distillée.

FADH₂ : Flavine Adénine Di nucléotide.

FLO11 : FLOculation protéine 11.

GN : Gélose Nutritive.

NADH : le Nicotinamide Adénine Di nucléotide (NAD) Le potentiel standard du couple redox NAD⁺/NADH.

PDA : Potato Dextrose Agar..

QS : Quorum Sensing.

S. cerevisiae : *Saccharomyces cerevisiae*

SAB : Bouillon de Sabouraud

YPD : Yeast Peptone Dextrose

Table des matières

INTRODUCTION	1
Partie I. Synthèse bibliographique	2
Chapitre 1 : <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2
1. Introduction.....	2
2. Définition.....	3
3. Habitat	4
4. Classification.....	4
5. Morphologie et structure	5
6. Le génome de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
7. Reproduction	6
7.1. La reproduction sexuée.....	6
7.2. La reproduction asexuée.....	7
8. Les besoins nutritionnels de la levure.....	7
8.1 L'eau	7
8.2 Le carbone	7
8.3 L'oxygène	7
8.4 Source d'azote	7
8.5 Vitamine.....	7
8.6 Oligoélément et facteur de croissance	8
9. Besoins physico-chimiques.....	8
9.1. Température	8
9.2. PH.....	8
9.3. Aération.....	8
9.4. La pression osmotique	8
10. Métabolisme	9
10.1.Métabolisme oxydatif	9
10.2.Métabolisme fermentaire	9
10.3.Métabolisme oxydo-réductif au métabolisme respiro-fermentaire.....	9
11. Domaine d'applications de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
11.1.Fabrication de pâtes levées et de pain.....	11
11.2.Fabrication de boissons alcoolisées	11
11.3.Production de probiotiques	12
11.4.Fabrication d'éthanol-carburant.....	13
Chapitre 2: Généralités sur les biofilms fongiques	14
1. Introduction	14

2. Historique.....	15
3. Définition	15
4. Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures et les champignons filamenteux.....	16
4.1 Les étapes de formation d'un biofilms chez les moisissures.....	17
a) L'adsorption.....	17
b) L'attachement actif.....	17
c) Formation de micro-colonies par germination et/ou développement de monocouche	17
d) Développement de mycélien	17
e) La maturation du biofilm	17
f) La dispersion des conidies et/ou des arthroconidies.....	17
4.2 Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures.....	17
a) L'adsorption	17
b) L'adhésion	17
c) Formation de micro-colonies	18
d) Maturation	18
e) La dispersion cellulaire	18
5. Formation de biofilm chez les levures d'intérêt industriel.....	19
6. Le Quorum sensing.....	20
Partie II. Partie pratique.....	21
I .Matériel et Méthodes.....	21
Microorganisme.....	21
1. Mise en culture	21
2. Tests de formation de biofilm en tubes.....	21
2.1.Préparation des cultures.....	21
II .Résultats et discussion.....	24
1.Formation de biofilms en bouillon de Sabouraud.....	25
1.1.Formation de biofilms sur tubes à hémolyses en verre et en polystyrène.....	25
1.2.Formation de biofilms sur tubes en verre (hémolyse et essai).....	26
2. Formation de biofilms en bouillon YPD.....	29
2.1 Formation de biofilms après 24 heures d'incubation.....	30
2.2 Formation de biofilms après 48 heures d'incubation.....	31
2.3 Formation de biofilms après 72 heures d'incubation.....	32
3. Formation de biofilms en bouillons Sabouraud et YPD à 2 % de glucose.....	33
CONCLUSION.....	36
Référence bibliographiques.....	37

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau 1 : Tests de formation de biofilms chez *S. cerevisiae* 22

Table des matières

INTRODUCTION	1
Partie I. Synthèse bibliographique	2
Chapitre 1 : <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2
1. Introduction.....	2
2. Définition.....	3
3. Habitat	4
4. Classification.....	4
5. Morphologie et structure	5
6. Le génome de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
7. Reproduction	6
7.1. La reproduction sexuée.....	6
7.2. La reproduction asexuée.....	7
8. Les besoins nutritionnels de la levure.....	7
8.1 L'eau	7
8.2 Le carbone	7
8.3 L'oxygène	7
8.4 Source d'azote	7
8.5 Vitamine.....	7
8.6 Oligoélément et facteur de croissance	8
9. Besoins physico-chimiques.....	8
9.1. Température	8
9.2. PH.....	8
9.3. Aération.....	8
9.4. La pression osmotique	8
10. Métabolisme	9
10.1.Métabolisme oxydatif	9
10.2.Métabolisme fermentaire	9
10.3.Métabolisme oxydo-réductif au métabolisme respiro-fermentaire.....	9
11. Domaine d'applications de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
11.1.Fabrication de pâtes levées et de pain.....	11
11.2.Fabrication de boissons alcoolisées	11
11.3.Production de probiotiques	12
11.4.Fabrication d'éthanol-carburant.....	13
Chapitre 2: Généralités sur les biofilms fongiques	14
1. Introduction	14

2. Historique.....	15
3. Définition	15
4. Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures et les champignons filamenteux.....	16
4.1 Les étapes de formation d'un biofilms chez les moisissures.....	17
a) L'adsorption.....	17
b) L'attachement actif.....	17
c) Formation de micro-colonies par germination et/ou développement de monocouche	17
d) Développement de mycélien	17
e) La maturation du biofilm	17
f) La dispersion des conidies et/ou des arthroconidies.....	17
4.2 Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures.....	17
a) L'adsorption	17
b) L'adhésion	17
c) Formation de micro-colonies	18
d) Maturation	18
e) La dispersion cellulaire	18
5. Formation de biofilm chez les levures d'intérêt industriel.....	19
6. Le Quorum sensing.....	20
Partie II. Partie pratique.....	21
I .Matériel et Méthodes.....	21
Microorganisme.....	21
1. Mise en culture	21
2. Tests de formation de biofilm en tubes.....	21
2.1.Préparation des cultures.....	21
II .Résultats et discussion.....	24
1.Formation de biofilms en bouillon de Sabouraud.....	25
1.1.Formation de biofilms sur tubes à hémolyses en verre et en polystyrène.....	25
1.2.Formation de biofilms sur tubes en verre (hémolyse et essai).....	26
2. Formation de biofilms en bouillon YPD.....	29
2.1 Formation de biofilms après 24 heures d'incubation.....	30
2.2 Formation de biofilms après 48 heures d'incubation.....	31
2.3 Formation de biofilms après 72 heures d'incubation.....	32
3. Formation de biofilms en bouillons Sabouraud et YPD à 2 % de glucose.....	33
CONCLUSION.....	36
Référence bibliographiques.....	37

Annexes

Résumés

Référence bibliographiques :
A

- **AguilarUscanga, B.R., (2003).** Influence des paramètres de croissance et des conditions de mise en oeuvre sur la composition et l'architecture de la paroi cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse INSA Toulouse
 - **Adewara A.O. &Ogunbanwo S.T. (2013).** Effects of processing variables on the production of "Burukutu". aNigerianfermentedbeverage. Nat. Sci.11:16-28.
 - Atlas of food microbiologie LAB ,University of Baghdad –college of science – department of biology ;1.Electronic Edition –for limited use only ;2012 -2013.
-

B

- **Bumgarner SL, Dowell RD, Grisafi P, Gifford DK & Fink GR (2009)**Toggleinvolving cis-interferingnoncodingRNAscontrolsvariegatedgene expression in yeast. Proc NatlAcadSci U S A 106: 1832118326
- **Bassler BL, Wright M, Showalter RE &Silverman MR (1993)**Intercellularsignalling in *Vibrioharveyi*: sequence and function of genesregulating expression of luminescence. Mol Microbiol 9: 773–786.
- **Bauer F. F., Govender P., Bester M. C., 2010** Yeastflocculation and itsbiotechnological relevance. Appl. Microbiol. Biotechnol. 88: 31–39.
- **Bernard, D. (1996)** The yeastgenomeproject: whatdidwelearn? *Trends in Genetics*12 (7), 263
- **Blankenship, J.R.; Mitchell, A.P. (2006),** How to build a biofilm: A fungal perspective. Curr. Opin. Microbiol. **9**, 588–594.
- **Blin, C.P., (2002).** Etude comparative du catabolisme de l'acide ricinoléique chez les levuresdu genre *Sporidiobolus*: mise en évidence et caractérisation du système bêta-oxydase impliqué.Thèse de doctorat. *Ecole Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation*. Université de Bourgogne, France
- **Blom, J., Mattos, M.J.T.D., et Grivell, L.A., (2000).** Redirection of the Respiratory Fermentative Flux Distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by Overexpression of the Transcription Factor Hap4p. Appl. Environ. *Microbiol.* 66, pp 1970 - 1973.

- **Bouix M., Leveau J .Y. (1991).** Les levures dans : Bourgeois C. M., Leveau J.Y., techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3: 206-229
- **Bourgeois, C. M., Larpent, J., (1996).** Microbiologie alimentaire. Vol II: Aliments fermentés et fermentation alimentaire. (Ed) Lavoisier. Paris, pp 523.
- **Branyik T Vicent AA Dostalek P Teixeira JA (2005)** Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. *biotechnol Prog* 21 :653-663.
- **Bruckner S. and Mosch H-U.(2012)** Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 36 25–58.

C

- **Celton, M. (2011).** *Etude de la réponse de Saccharomyces cerevisiae à une perturbation NADPH par une approche de biologie des systèmes. Thèse.* inra centre international d'études supérieures en sciences agronomiques de montpellier supagro.
- **Chen H & Fink GR (2006)** Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes Dev* 20: 1150-1161.
- **Costa-Orlandi, C.B.; Sardi, J.C.; Santos, C.T.; Fusco-Almeida, A.M.; Mendes-Giannini, M.J. (2014)** In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. *Biofouling*
- **Costerton JW, Chaenng KJ, Geesey GG, Ladd Ti, Nickel JC, Dasgupta M & Marrie TJ(1987)** bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 14 :435-464.
- **Costerton JW, Stewart PS G Reenberg EP(1999)** Bacterial biofilms : a common cause of persistent of infections. *Science* 284 :1318-1322.
- **Crabtree, H.G. (1929).** Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. *Biochem. J.* 23, 536–545.
- **Cubillos, F.A., E.J. Louis, et G. Liti. (2009).** Generation of a large set of genetically tractable haploid and diploid *Saccharomyces* strains. *FEMS yeast research.* 9:1217-1225.
- **Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J & Fink GR (2004)** Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *P Natl Acad Sci USA* 101: 5048–5052.
- **Chen H & Fink GR (2006)** Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes Dev* 20: 1150–1161.

- **Costa-Orlandi, (2014),** C.B.; Sardi, J.C.; Santos, C.T.; Fusco-Almeida, A.M.; Mendes-Giannini, M.J. In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. *Biofouling* 2014, 30, 719–727.
 - **Caroline B. Costa-Orlandi 1, Janaina C. O. Sardi 2, Nayla S. Pitangui 1, Haroldo C. de Oliveira 1, Liliana Scorzoni 1, Mariana C. Galeane 1, Kaila P. Medina-Alarcón 1, Wanessa C. M. A. Melo 1, Mônica Y. Marcelino 1, Jaqueline D. Braz 1, Ana Marisa Fusco-Almeida 1 and Maria José S. Mendes-Giannini 1(2017),** *Fungal Biofilms and Polymicrobial Diseases* 3 :24.
-

D

- **Desai C, Mavrianos J & Chauhan N (2011)** *Candida glabrata* Pwp7p and Aed1p are
 - **Deken, R. H. (1966).** The Crabtree effect: a regulatory system in yeast. *Journal of General Microbiology*, 44(2), 149–156. <http://doi.org/10.1099/00221287-44-2-149>
 - **Djordjevic D., Wiedmann M. And Mccland's borough L.A. (2002).** Microtiter Plate Assay for Assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*; **Vol. 68, No. 6: 2950– 2958.**
 - **Dujon, Bernard. (2010).** “Yeast Evolutionary Genomics.” *Nature Reviews Genetics* 11 (7):512–24. doi:10.1038/nrg2811.
-

E

- **EDonlan R.M. (2001).** Biofilms and Device-Associated Infections. *Emerging Infectious Diseases*; Vol. 7, No. 2: 277– 281.
 - **Ehsani, M., Fernández, M. R., Biosca, J. A., & Dequin, S. (2009).** Reversal of coenzyme specificity of 2,3-butanediol dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae* and in vivo functional analysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 104(2), 381–389. <http://doi.org/10.1002/bit.22391>
 - **Donlan, R.M.; Costerton,(2002)** J.W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002.
-

F

- **Fanning S. and Mitchell A.P. (2012).** Fungal Biofilms. *PLoS Pathogens*, 8(4): 1-4.

- **Fiechter, A., and Seghezzi, W. (1992).** Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells. *J. Biotechnol.* 27, 27–45
- **Finkel JS, Mitchell AP. (2011).** Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat Rev Microbiol* 9: 109–118
- **Filloux A. et Vallet I. (2003).** Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecine / Sciences* ; 19 : 77– 83.
- **Fux A.C., Stoodley P., Hall-Stoodley L. and Costerton J.W. (2003).** Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti-infect. Ther*; 1, 4: 667– 683.
- **Flikweert, M.T., Kuyper, M., van Maris, A.J., Kötter, P., van Dijken, J.P., and Pronk, J.T. (1999).** Steady-state and transient-state analysis of growth and metabolite production in a *Saccharomyces cerevisiae* strain with reduced pyruvate-decarboxylase activity. *Biotechnol. Bioeng.* 66, 42–50.
- **Fritsche, W. (1972).** The Yeasts, Vol. 2. Physiology and Biochemistry of Yeasts. *Z. Für Allg. Mikrobiol.* 12, 349–349.

G

- **Goffeau, A., B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin and S. G. Oliver (1996)** Life with 6000 Genes, *Science* 274 (5287), 546.
- **Goossens K. and Willaert R. (2010).** Flocculation protein structure and cell–cell adhesion mechanism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Lett*
- **Greppi A. et al (2013).** Yeast dynamics during spontaneous fermentation of mawè and tchoukoutou, two traditional products from Benin. *Int. J. Food microbiol.* 165 : 200–207
- **Guiraud, J.P., (1996).** Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, pp 9 - 320
- **GUIRAUD J., (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed Dunod, Paris. 310p

H

- **Hall-Stoodley L, Costerton JW & Stoodley P (2004)** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2: 95-108.
- **Harding, M.W.; Marques, L.L.; Howard, R.J.; Olson, M.E. (2009)**, Can filamentous fungiform biofilms? *Trends Microbiol.* 17, 475–480
- **Hawser SP & Douglas LJ (1994)** Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun* 62: 915-921.
- **Hill J. A., Ammar R., Torti D., Nislow C., Cowen L. E., (2013)**. Genetic and genomic architecture of the evolution of resistance to antifungal drug combinations. *PLoS Genet.* 9: 1–22
- **Hope E.A. and Dunham M.J. (2014)**. Ploidy-Regulated Variation in Biofilm-Related Phenotypes in Natural Isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes* 4: 1773-1786.

J

- **Jacques M, Aragon V & Tremblay YD (2010)** Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. *Anim Health Res Rev* 11: 97-121.
- **Jimoh S.O., Ado S.A., Ameh J.B. & Whong C.M.Z. (2012)**. Characteristics and diversity of yeast in locally fermented beverages sold in Nigeria. *World J. Eng. Pure Appl. Sci.* 2 : 40-44.

K

- **käppeli, O. (1986)**. Regulation of Carbon Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* and Related Yeasts. *Advances in Microbial Physiology*, 28, 181–209. [http://doi.org/10.1016/S0065-2911\(08\)60239-8](http://doi.org/10.1016/S0065-2911(08)60239-8)
- **Käppeli, O., & Sonnleitner, B. (1986)**. Regulation of sugar metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*-type yeast: experimental and **conceptual** considerations. *Critical Reviews in Biotechnology*, 4(3), 299–325. <http://doi.org/10.3109/07388558609150798>

L

- **Lallemand , (2016).** Lallemand web page. Retrieved February 3, 2014, from www.lallemandwine.com.
- **LARPENT J P., 1990.** Biotechnologie des levures masson, Paris. P 132-315
- **Landry, C.R., J.P. Townsend, D.L. Hartl, et D. Cavalieri. (2006).** Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular ecology*. 15:575-591
- **Larpent, J.P., (1991).** Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris, pp 426.
- **Larpent, J.P., Gourgoud, M., (1985).** Elément de microbiologie. Ed.Herman. Paris, pp 464
- **Lemon KP, Earl AM, Vlamakis HC, Aguilar C & Kolter R (2008)** Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Curr Top Microbiol Immunol* 322: 1-16.
- **Leveau J.Y, Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier TEC et DOC, Paris. 08 : 2-92.

M

- **Meijer, M. M. C., Boonstra, J., Verkleij, A. J., and Verrips, C. T. (1998).** Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae* is related to glucose concentration rather than the glucose flux. *The Journal of Biological Chemistry*, 273 (37): 24102-24107.
- **Mercier, C., (1997).** Transgènes et modification quantitative et/ou qualitative de la composition de lait à des fins nutritionnelles. *In* : Frenet G. (Ed), intérêts nutritionnels et diététique du lait de chèvre. Nord-France, pp 169 - 177.
- **Musk D.J., Banko D.A., and Hergenrother P.J. (2005).** Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry & Biology*; Vol. 12: 789– 796.

N

- **Nealson KH, Platt T & Hastings JW (1970)** Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104: 313–322

- **NGUTYEN Thanh Dat., (2016)** .protection de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système biopolymérique multicouche : effets sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l'environnement. Doctorat de l'université de Bourgogne Agrosud Dijon p : 8-10.
 - **NOUI Y., (2001)**. Optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur institut d'agronomie, Batna .p 3...5-6-12-14-17-20-40-58.
-

O

- **Oteng-Gyang K(1984)**. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Edition Technique et documentation, Paris
 - **O'Toole G, Kaplan HB & Kolter R(2000)** Biofilm formation as microbial developments. *Annu Rev Microbiol* 54: 49-79.
-

P

- **Parrou, J.L., Teste, M.A., et François, M., (1997)**. Effect of various types of stress on the metabolism of reserve carbohydrates in *Saccharomyces cerevisiae*: genetic evidence for a stress-induced recycling of glycogen and trehalose. *Microbiology*, 143; pp 1891 - 1900
- **Parry, J. M., D. Sharp, R. S. Tippins and E. M. Parry (1979)** Radiation-induced mitotic and meiotic aneuploidy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 61 (1), 37.
- **Phaff, H.G., Miller, M.W., et Mrak, E.K., (1968)**. The life of yeasts. In: Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. *Technique & Documentation Lavoisier*, Paris. 8; pp 43
- **Pires, R.H.; Montanari, L.B.; Martins, C.H.; Zaia, J.E.; Almeida, A.M.; Matsumoto, M.T.; Mendes-Giannini, M.J. (2011)**; Anticandidal efficacy of cinnamon oil against planktonic and biofilm cultures of *Candida parapsilosis* and *Candida orthopsilosis*. *Mycopathologia*, 172, 453–464.
- **Purevdorj-Gage B., Orr M.E., Stoodley P., Sheehan K.B. and Hyman L.E.(2007)** The role of FLO11 in *Saccharomyces cerevisiae* biofilm development in a laboratory based flow-cell system. *FEMS Yeast Res* 7; 372–379.

R

- **Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. (2005).** Candida biofilms: An update. *EukaryotCell* 4: 633–638
- **Ratledge, C. (1991).** Yeast physiology -a micro-synopsis. *Bioprocess Eng.* 6, 195–203
- **Replansky, T., V. Koufopanou, D. Greig, et G. Bell. (2008).** *Saccharomyces sensu stricto* as a model system for evolution and ecology. *Trends in ecology&evolution.* 23:494-501
- **Reynolds T. B., Fink G. R., (2001)** ;Bakers'yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science* 291: 878–881.
- **Rose, A. H. and J. S. Harrison (1971),** "The Yeast. Vol. 2: Physiology and biochemistry of yeasts,"in, AcademicPress
- **Russell, I. (2003),** "Understandingyeastfundamentals," in "The AlcoholText Book 4th Edition,"NottinghamUniversityPress, K. A. Jacques, T. P. Lyons and D. R. Kelsall: 85-119.
- **RamageG, SavilleSP,WickesBL&Lopez-RibotJL(2002)**Inhibition of *Candidaalbicans*biofilmformationbyfarnesol,aquorumsensingmolecule. *ApplEnvironMicrobiol*68:5459–5463.

S

- **Sabouraud R. (1892).** *Ann. Dermatol. Syphil.* 3: 1061-1087.
- **Smukalla S, Caldara M, Pochet N et al. (2008)** FLO1 is a variable green beardgenethat drives biofilm-likecooperation in buddingyeast. *Cell* 135: 726–737.
- **Salvado, Z., F.N. Arroyo-Lopez, J.M. Guillamon, G. Salazar, A. Querol, et E. Barrio. (2011)**Temperature adaptation markedlydeterminesevolutionwithin the genus*Saccharomyces*. *Applied and environmentalmicrobiology.* 77:2292-2302
- **Sanchez Gonzalez, Y. (2008).***Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur biétagé: intensification de la production d'éthanol.* Université de Toulouse. INSA de Toulouse. Retrievedfromhttp://eprint.insatoulouse.fr/archive/00000247/01/Sanchez_Gonzalez.pdf
- **Sherman F. (1991).** *Meths. Enzymol.* 194, 3

- **Sivakumar G., Vail D. R., Xu J., Burner D. M., Lay J. O., et al.(2010)**Bioethanol and biodiesel: Alternative liquid fuels for future generations. *Eng. Life Sci.* 10: 8–18
 - **Skjevrak I, Lund V, Ormerod K & Herikstad H (2005)** Volatile organic compounds in natural biofilm in polyethylene pipes supplied with lake water and treated water from the distribution network. *Water Res* 39: 4133-4141.
 - **Stovicek V., Vachova L., Kuthan M., Palkova Z., (2010).** General factors important for the formation of structured biofilm-like yeast colonies. *Fungal Genet. Biol.* 47: 1012–1022.
 - **Stoodley P, Sauer K, Davies DG & Costerton J W (2002)** Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 56 :187 -209.
 - **Suarit, R., Gopal, P.K., et Sherped, M.G., (1988).** Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in the cell wall of *Candida albicans*. *J. Gen. Microbiol*, 134, pp 2359 - 2368.
-

T

- **Thanh Vu Nguyen. (2006).** *Lipomyces orientalis* sp. Nov., a yeast species isolated from soil in Vietnam. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56: 2009-2013
 - **Thuriaux, P. (2004)** La levure: les organismes modèles, Coll. Belin sup sciences
 - **Torregrossa M, Di Bella G & Di Trapani D (2012)** Comparison between ozonation and the OSA process: analysis of excess sludge reduction and biomass activity in two different pilot plants. *Water Sci Technol* 66: 185-192. *Life reef from the Early Archaean era of Australia. Nature* 441: 714-718
 - **Tortora, G.J., et Anagnostakos, N.P., (1987).** Principes d'anatomie et de physiologie. Ed. INC, 5^{ème} édition, pp 688 - 693.
-

V

- **Vachova L., Stovicek V., Hlavacek O., Chernyavskiy O., Stepanek L., et al. (2011)** Flo11p, drug efflux pumps, and the extracellular matrix cooperate to form biofilm yeast colonies. *J. Cell Biol.* 194: 679–687

- **Van Hoek, van Dijken JP, and Pronk (2000).** Regulation of fermentative capacity and levels of glycolytic enzymes in chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb. Technol.* 26, 724–736
- **Verstrepen K. J., Klis F. M., (2006)** Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Mol. Microbiol.* 60: 5–15
- **Verstrepen K. J., Reynolds T. B., Fink G. R., (2004)** Origins of variation in the fungal cell surface. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 533–540
- **Verstrepen K. J., Derdelinckx G., Verachtert H., Delvaux F. R., (2003)** Yeast flocculation: what brewers should know. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 197–205
- **Viudes A, Peman J, Canton E, Ubeda P, Lopez-Ribot JL & Gobernado M (2002)** Candidemia at a tertiary-care hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21: 767-774.
- **Verstrepen, K.J.; Klis, (2006)** F.M. Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Mol. Microbiol.* 2006, 60, 5–15.

W

- **Wosten, H.A. (2001),** Hydrophobins: Multipurpose proteins. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 625–646. ²Nealson KH, Platt T & Hastings JW (1970) Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104: 313–322

Partie I : Synthèse bibliographique**Chapitre 1 : *Saccharomyces cerevisiae*****1. Introduction**

Les levures du genre *Saccharomyces* sont très connues pour leur utilisation en industrie agroalimentaire. Elles sont utilisées pour la fabrication du pain, du vin et de la bière (Salvado *et al.*, 2011).

La levure *Saccharomyces cerevisiae* occupe une place privilégiée dans les activités de l'homme. Elle a été utilisée par l'homme dans le cadre de productions alimentaires depuis des millénaires. L'homme l'a utilisée sans le savoir, puis peu à peu ont appris à s'en servir pour la production de boissons et produits fermentés (Larpent, 1990).

Cette levure a été découverte, isolée et identifiée au milieu du XIX^{ème} siècle. Ce champignon, capable de métaboliser des sucres, (saccharo-) responsable de la fermentation fut appelé *Saccharomyces cerevisiae* par Meyen en 1837 (Thuriaux 2004).

De nos jours, cette levure est également largement utilisée comme usine cellulaire pour la production de molécules d'intérêt pour la pharmacie et l'industrie chimique (Lallemand, 2016).

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

De même, ces organismes tendent à être de plus en plus utilisés au niveau de la recherche en écologie et en évolution. Les thèmes comme la génétique des populations, la biogéographie des microorganismes, l'écologie des communautés ou bien la spéciation peuvent être étudiés avec ces levures (Landry *et al.*, 2006 ; Replansky *et al.*, 2008).

2. Définition de *Saccharomyces cerevisiae*

Le mot levure, selon **Phaff et al. (1968)**, provient du mot latin « levare » qui se traduit par lever. Ce mot a été appliqué aux levures en raison de l'aptitude de ces microorganismes à produire du CO₂ pendant la fermentation et à lever la surface mousseuse d'un milieu liquide de fermentation (**Oteng-Gyang, 1984**).

Les levures sont des eucaryotes hétérotrophes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue pour leurs caractères unicellulaires et l'absence d'un vrai mycélium (au moins dans la plus grande partie de leur cycle biologique). Elles présentent un grand intérêt dans la ration alimentaire de l'homme, c'est pour cela qu'elles ont un grand nombre d'applications dans les industries agroalimentaires (**Larpent, 1990 ; Guiraud, 1998**).

S. cerevisiae vient du mot saccharose qui signifie « sucre », mycès « champignon », tandis que *cerevisiae* fait référence à « cervoise », c'est un terme utilisé pour désigner le petit champignon microscopique qui compose les différentes sortes de levures qu'on utilise pour la fermentation (**Larpent et Gourgoud, 1985**).

S. cerevisiae, un organisme eucaryote unicellulaire, est de forme ronde à ovoïde ou allongée de taille très variable de 3-14 µm (**Figure 1**). Certaines cellules sont cylindriques et de grande taille se reproduisant par bourgeonnement (**Larpent, 1991 ; Russell 2003**).



Figure 1 : La levure *Saccharomyces cerevisiae* au moment de bourgeonnement (**Atlas of Foodmicrobiologie LAB, 2012-2013**).

3. Habitat

Les levures sont des espèces ubiquitaires. Elles se rencontrent sur les végétaux riches en sucre directement assimilables. En effet, les milieux fortement concentrés en sucre représentent un de leur environnements préférés (sirops, bière, miel, fleurs et de nombreux fruits) (Oteng-Gyang, 1984 ; Bouix et Leveau, 1991 ; Jimoh *et al.*, 2012; Greppi *et al.*, 2013; Adewara *et al.*, 2013).

D'autres écosystèmes où se développent des levures : à la surface ou à l'intérieur d'autres êtres vivants, dans les eaux, dans l'atmosphère et dans le sol (Leveau et Bouix, 1993 ; Thanh, 2006).

4. Classification

Reed (1981) et Repler (1983) ont regroupés les levures en sept catégories selon leurs utilisations:

- La levure de boulangeries et produits de panification.
- Levures de brasseries.
- Levures de vinification.
- Levures de distillerie et spiritueux.
- Levures aliments.
- Produits dérivés des levures (autolysats ...etc.).
- Alcool industriel et carburant.

Actuellement, les levures de boulangerie produites par voie industrielle et universellement employées dans tout les procédés de fabrication dit " à la levure" par opposition aux procédés sur levains, sont des souches issues de *S. cerevisiae* et continuellement améliorés par hybridation somatique, fusion cellulaire et screening divers (Larpen, 1990).

Selon (Dujon, 2010), la classification de la levure *S. cerevisiae* est la suivante :

- **Règne** : Fungi.
- **Embranchement** : Ascomycètes.
- **Classe** : Saccharomycetes.
- **Ordre** : Saccharomycetales.
- **Famille** : Saccharomycetaceae.
- **Genre** : Saccharomyces.
- **Espèce**: *Saccharomyces cerevisiae*

5. Morphologie et structure

Les levures sont des eucaryotes unicellulaires et présentent une structure plus complexe que celle des bactéries notamment par la présence d'un noyau, de mitochondrie, d'un appareil de Golgi et de plus d'un chromosome (**Figure 2**)(Larpent, 1990).

Les cellules végétatives sont généralement ovoïdes ou sphériques, mais il existe d'autres formes spécifiques: triangulaires, ogivales, en forme de citron ou même en forme de bouteille. Leur taille cellulaire varie de quelques microns jusqu'à 25 à 30 microns. Certaines peuvent former des associations cellulaires ou se présenter sous forme filamenteuse à un certain stade de leur vie (**Bouix et Leveau, 1991 ; Larpent, 1991; Bourgeois et Larpent, 1996**).

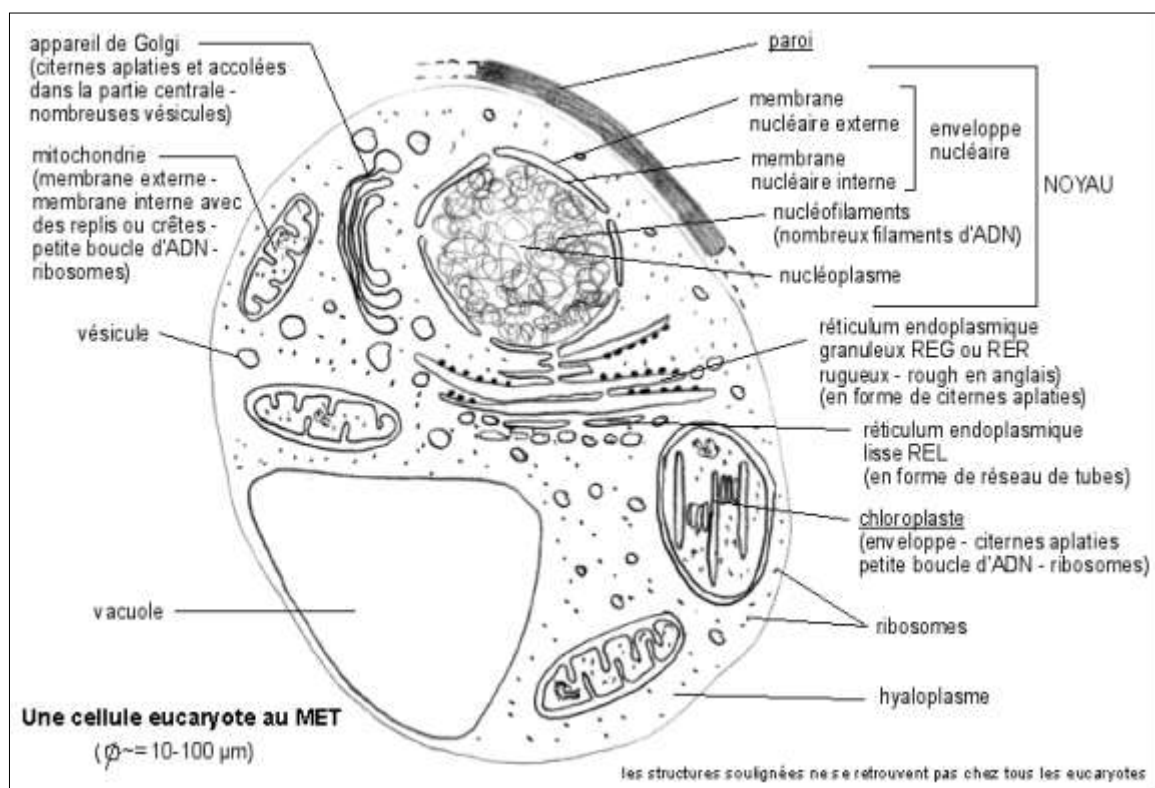


Figure 2 : Structure cellulaire des levures (Thuriaux, 2004).

6. Le génome de *Saccharomyces cerevisiae*

Cette levure est le premier organisme eucaryote dont le génome ait été intégralement séquencé, en 1996. Le génome de *S. cerevisiae* a une taille de 12 068 kb et est constitué de 6275 gènes répartis sur 16 chromosomes (**Goffeau et al., 1996**).

Les différents chromosomes peuvent être présents en un seul ou plusieurs exemplaires dans la cellule. Le nombre d'exemplaires définit la ploïdie : les levures haploïdes possèdent un seul exemplaire de chaque chromosome ($1n = 16$ chromosomes), les levures diploïdes

disposent de 2 exemplaires ($2n = 32$ chromosomes), les levures de ploïdie supérieure à $2n$ (triploïdes $3n$, tétraploïdes $4n$, ...) sont dites polyploïdes. Des erreurs d'appariement de chromosomes pendant la mitose ou la méiose peuvent provoquer des mutations chromosomiques, qui conduisent à des cellules ne contenant plus un multiple exact du nombre de chromosomes haploïdes ($2n+1$ ou $2n-1$ chromosomes), elles sont alors dites aneuploïdes (Parry *et al*, 1979).

La disponibilité des outils génétiques nécessaires à la manipulation de son génome et l'importance de la communauté scientifique qui s'y consacre ont fait de cet organisme un modèle pour les études fonctionnelles post-séquençage aussi bien qu'une plate-forme expérimentale pour développer et valider de nouvelles approches et stratégies génomiques (Dujon, 1996).

7. Reproduction

Les cellules vieillissent, puis meurent après 30 à 40 bourgeonnements. Dans certaines conditions, elle est capable de fusionner pour donner une cellule diploïde qui peut se multiplier par voie végétative. Ces cellules peuvent également sporuler pour donner quatre spores haploïdes (Bourgeois et Leveau, 1991).

7.1. La reproduction sexuée

Les levures ascomycètes présentent des phénomènes de reproduction sexuée par formation d'un asque renfermant des ascospores issues de la méiose. La diploïdisation s'effectue entre deux cellules indépendantes en donnant un zygote (Figure 3). Chez *S. cerevisiae*, la conjugaison se produit en 6 à 8 heures après la mise en présence des deux types sexuels (Larpent, 1991 ; Bouix et Leveau, 1993).

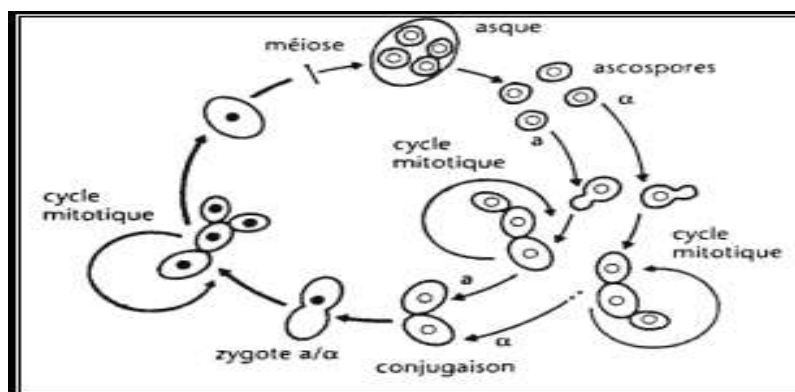


Figure 3 : Cycle biologique de la levure *S. cerevisiae* (Bourgeois et Larpent, 1996)

7.2. La reproduction asexuée

Le bourgeonnement représente le mode de reproduction végétatif le plus courant chez la levure *S. cerevisiae*. Pendant la formation du bourgeon, son cytoplasme reste réuni au cytoplasme de la levure mère, le noyau de celui-ci grossit et se déplace vers le bourgeon. La membrane nucléaire étrangle le noyau de telle manière que la moitié de celui-ci demeure dans la cellule mère et l'autre passe dans la cellule fille, tandis que la membrane cellulaire se referme autour de chaque noyau en donnant ainsi deux levures semblables, il est possible d'observer une cicatrice à l'endroit de la formation du bourgeon (**Guiraud et Galzy, 1980**).

8. Les besoins nutritionnels de la levure

Les besoins des levures pour leur croissance sont les suivants :

- **L'eau :**

Constituant essentiel des organismes vivants. Les levures sont constituées de 75% d'eau et 25% de matière sèche (**Russell, 2003**).

- **Le carbone :**

Le carbone représente environ 50% du poids sec de la levure. Les glucides simples (monosaccharides, disaccharides et trisaccharides) sont fermentescibles par les levures (**Leveau and Bouix 1993**).

- **L'oxygène :**

En anaérobiose stricte, le milieu doit être complété avec des stérols et des acides gras insaturés, qui entrent dans la composition de la membrane et ne peuvent être synthétisés par la levure qu'en présence d'une source d'atome d'oxygène (**Käppeli and Sonnleitner, 1986; Russell, 2003**).

- **Source d'azote :**

Les levures contiennent 10% environ d'azote, entrant dans la composition des acides aminés, des acides nucléiques et de certaines vitamines. Il est apporté par le milieu de culture sous la forme de sels d'ammonium (phosphate, sulfate, chlorure et nitrate) (**Leveau and Bouix, 1993**).

- **Vitamines :**

Ce sont des régulateurs et des cofacteurs importants des voies métaboliques. Elles agissent généralement comme coenzymes ou précurseurs d'enzymes. *S. cerevisiae* est auxotrophe pour les vitamines suivantes qui seront ajoutées au milieu de culture: acide pantothénique, acide nicotinique, pyridoxine, myo-inositol, thiamine et biotine (**Rose and Harrison, 1971; Russell, 2003**).

- **Oligoéléments et facteurs de croissance :**

Les levures ont besoin d'éléments nutritifs pour assurer un développement adéquat. Il s'agit de sels minéraux et d'oligoéléments nécessaires à de très faibles concentrations (**Suarit et al., 1988**).

Les oligo-éléments sont essentiels pour la cellule, puisqu'ils réagissent commecofacteurs de divers enzymes impliquées dans le métabolisme microbien. Ils sont nécessaires en très petites quantités mais un excès provoquera la dénaturation d'enzymes et une perturbation de la morphologie et de la physiologie cellulaire et de la vitesse de croissance (**Blomet et al., 2000**).

Les oligo-éléments augmentent la production de l'éthanol de 20% par *S. cerevisiae*. De plus, d'autres facteurs sont essentiels comme les vitamines (la biotine, la thiamine et l'acide pantothénique), qui interviennent lors des réactions enzymatiques, comme des coenzymes (**Guiraud, 1996 ; Aguilar Uscanga, 2003**).

9. Besoins physico-chimiques

- **Température :**

En général, la température de croissance optimale des levures est comprise entre 25-35 °C (**Larpen, 1990**).

- **pH :**

Le pH joue un rôle primordial dans la production de métabolites. Les levures poussent mieux à des pH relativement acides (3-6). L'optimum de croissance de *S. cerevisiae* est situé souvent entre 4-4,5 (**Larpen, 1990 ; Noui, 2001**).

- **Aération :**

Elle a pour but d'une part d'apporter l'oxygène nécessaire à la croissance des levures et d'autre part d'homogénéiser et d'assurer la circulation du moût dans le fermenteur. Cependant, il est intéressant de rappeler que la levure boulangère s'adapte à deux modes de vie, en présence ou en absence d'oxygène (**Noui, 2001**).

- **La pression osmotique :**

S. cerevisiae est une espèce osmophile qui se développe sur des milieux à forte concentration en sucres et en sel mais avec un métabolisme lent au contraire de certaines espèces (**Noui, 2001**).

10. Métabolisme

10.1. Le métabolisme oxydatif

Ce métabolisme permet la multiplication par bourgeonnement ; il s'agit de l'un des métabolismes apportant le plus d'énergie sous forme d'ATP, avec un rendement cellulaire important. Il repose sur la production de biomasse et de dioxyde de carbone grâce à l'oxydation complète du glucose via les voies métaboliques de la glycolyse du cycle de Krebs et de la phosphorylation oxydative. Pour cela, la concentration en oxygène disponible doit être la plus élevée possible tandis que la concentration en substrat doit être constante, mais plutôt faible (50 à 150 mg/L environ) (**Larpent, 1990; Sanchez Gonzalez, 2008**).

En métabolisme oxydatif, le rendement de production de biomasse théorique est, à son maximum, de l'ordre de 0,5 g de matière sèche/gramme de glucose consommé, le quotient respiratoire ($QR = \text{quantité de dioxyde de carbone} / \text{quantité de dioxygène}$) est voisin de l'unité et l'éthanol n'est détecté qu'à l'état de traces (**Käppeli, 1986; Käppeli et Sonnleitner, 1986; Larpent, 1990**).

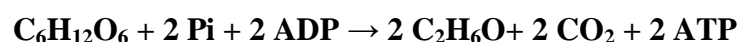
Dans ces conditions, les cofacteurs réduits NADH et FADH₂ produits par la glycolyse et le cycle de Krebs sont réoxydés au niveau de la chaîne respiratoire (**Celton, 2011; Ehsanietal., 2009**).

10.2. Métabolisme fermentaire

Ce métabolisme se caractérise généralement par un ensemble de réactions qui se produisent en absence d'oxygène comme accepteur final d'électron. Dans ces conditions, le pouvoir cellulaire à réoxyder les coenzymes réduits (NADH et FADH₂) est fortement diminué (**Fritsche, 1972**).

De plus dans cette situation, la biochimie cellulaire est modifiée de telle sorte que le pyruvate est réduit en acétaldéhyde puis en éthanol (fermentation), dont la dernière étape nécessite la présence du NADH.

Le bilan énergétique de la réaction est:



10.3. Métabolisme oxydo-réductif ou Métabolisme respiro-fermentaire

En présence d'oxygène la levure *S. cerevisiae* a la particularité de présenter un métabolisme mixte: fermentation (production fermentaire d'éthanol) et respiration (production oxydative de biomasse). Cependant en aérobiose, le métabolisme de la levure *S. cerevisiae* est purement oxydatif lorsque l'apport en glucose est faible. Dans ces conditions, la biomasse et le CO₂ sont les seuls produits synthétisés par la levure; le rendement en biomasse est alors maximum et égal à 0,5 g de biomasse par gramme de glucose (**Blom et al., 2000; Flikweert et al., 1999; VanHoek et al., 2000**).

Par contre le métabolisme cellulaire devient oxydo-réductif une fois que l'apport de glucose dépasse un certain seuil. Dans ce cas-là, les produits synthétisés sont la biomasse, le CO₂, le glycérol, l'acétate, l'éthanol et le rendement en biomasse est fortement réduit. De plus, le NADH générée à partir de la glycolyse est réoxydé par la production d'éthanol (fermentation) plutôt que par les voies combinées au métabolisme oxydatif (glycolyse, cycle de Krebs et phosphorylation oxydative) (**Fritsche, 1972**).

Cette bascule métabolique est appelée transition respiro-fermentaire ou effet Crabtree qui est du point de vue œnologique très important car cet effet Crabtree permet de réaliser la fermentation en présence d'une faible concentration d'oxygène (**Crabtree, 1929; Deken, 1966; Fiechter et Seghezzi, 1992**).

Certaines levures sont fortement Crabtree positives et leur production d'éthanol dépend de la concentration en glucose; chez certaines, comme *S. cerevisiae*, la synthèse d'éthanol débute au-delà de 2.5 g.L⁻¹ de glucose tandis que chez d'autres, il faut 20 à 50 g.L⁻¹ de glucose (**Ratledge, 1991 ; Meijer et al., 1998**).

11. Domaine d'applications de *Saccharomyces cerevisiae*

La levure *S. cerevisiae* occupe une place privilégiée dans les activités industrielles. Elle est utilisée pour la production de boissons et produits fermentés (vin, bière, pain) et joue un rôle très important dans l'industrie agroalimentaire comme agent de fermentation et pour l'élaboration de produits dérivés (**Tortora et Anagnostakos, 1987**).

La levure est également largement utilisée comme usine cellulaire pour la production de molécules d'intérêt. Dans le domaine pharmaceutique et médical, elle est utilisée pour la production de vaccins et de probiotiques (**Rose et Harrison, 1971 ; Mercier, 1997 ; Blin, 2002**).

Elle joue également un rôle clé dans l'industrie chimique pour la synthèse de produits de commodité comme l'acide lactique pour la production des plastiques et dans le domaine des énergies renouvelables et des biocarburants (bioéthanol) (Parrou *et al.*, 1997).

Depuis l'Antiquité, les Babyloniens, les Égyptiens et Celtes ont utilisé la levure pour la préparation de boissons alcoolisées. Vers 370 ans avant J.-C, Hippocrate, le célèbre médecin grec, a découvert l'action diurétique de la levure de bière et l'a conseillé comme remède. Au Moyen-Âge, les moines qui soignaient les lépreux absorbaient de la levure afin de ne pas être contaminés à leur tour. De nos jours, la levure *Saccharomyces cerevisiae* est largement utilisée dans l'industrie alimentaire pour la fabrication des boissons alcoolisées, du pain, des produits de santé et du bio-carburant. (NGUYEN THANH DAT., 2016).

11.1. Fabrication de pâtes levées et de pain.

Le pain est fabriqué à partir de farine, de levure ou levain, de sel et d'eau. C'est l'activité chimique des levures qui provoque le dégagement de bulles de gaz carbonique et fait lever la pâte à pain. Les bactéries lactiques (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*) acidifient le pain. Ainsi, la qualité du pain, tel que les propriétés organoleptiques et le dégagement de CO₂ pendant le façonnage, dépend de l'activité fermentaire de la levure. Basé sur cette problématique, plusieurs types de levures et levains sont commercialisés pour faciliter et optimiser la fabrication du pain. C'est un point important à considérer pour réaliser des avantages concurrentiels. Dans le domaine des levures et de la fermentation, l'industrie dont le leader mondial est Lesaffre, offre sur le marché une large gamme de levures pour les boulangers : levure pressée, levure émietlée, levure liquide, levure sèche active, levure sèche instantanée, levure à humidité intermédiaire surgelée. En revanche, des procédés complexes doivent être parfaitement maîtrisés pour produire ces types de levure. De solides connaissances sur le comportement des levures, par exemple la compréhension de la résistance des levures pendant la déshydratation pour la production des levures sèches actives, sont requises.

11.2. Fabrication de boissons alcoolisées

La fermentation alcoolique sous l'effet des levures transforme le glucose en éthanol et en dioxyde de carbone. La fabrication de l'alcool est un processus complexe qui fait souvent intervenir plusieurs microorganismes. La levure *S. cerevisiae* est utilisée principalement pour fabriquer les deux boissons les plus consommées : le vin et la bière.

Vin

Des grappes de raisin rouge ou blanc sont écrasées pour casser la peau et récupérer le jus. Différentes espèces comme *S. cerevisiae* (levures de vinification) et *Brettanomyces*, *Dekkera*, *Kloeckera*, *Hanseniaspora* (levures d'altération ou de contamination) sont présentes dans le moût. La levure *S. cerevisiae* joue un rôle important dans la première étape (fermentation alcoolique) de la production du vin. Les levures transforment le sucre en alcool et libèrent une grande variété de produits secondaires, grâce aux enzymes qui participent aux réactions chimiques. Ces différentes substances complètent les senteurs initiales du fruit par des arômes secondaires, lesquels dépendent de la nature de la levure, de la température de fermentation et des nutriments de la levure. *Saccharomyces cerevisiae* est présente en faible quantité sur le raisin (pas plus de 10% de la population levurienne) mais quelques jours après la fermentation alcoolique, elle devient l'espèce prédominante (90%). Ce sont les conditions du milieu qui engendrent cette sélection : l'anaérobiose, le sucre et le SO₂ favorisent les différentes souches de *S.cerevisiae* au détriment des autres levures moins résistantes et moins adaptées.

Bière

Saccharomyces cerevisiae est utilisée pour produire de la bière à haute fermentation (ale) alors que *Saccharomyces carlsbergensis* est utilisée pour produire de la bière à basse fermentation (lager). Les bières de fermentation basse doivent fermenter plus longtemps et à des températures plus basses que les bières de fermentation haute. Autres boissons alcoolisées Au Japon, *Saccharomyces cerevisiae* est également utilisée après *Aspergillus oryzae*, pour produire le saké qui est une boisson fermentée à base de riz. Le même protocole que pour la fermentation du vin est appliquée pour la fabrication du cidre à partir de pommes ou du poiré à partir de poires. Pour les alcools "forts" comme le rhum issu de la fermentation de cannes à sucre, ou encore la vodka issue de la fermentation de pommes de terre, de seigle ou de betteraves à sucre, la fermentation est suivie d'une distillation afin de concentrer l'alcool.

11.3. Production de probiotiques

Les probiotiques sont des concentrés de levures sèches (*Saccharomyces cerevisiae*) utilisés dans l'alimentation animale comme apports de nutriments favorables : les levures libèrent des vitamines, des acides aminés et des peptides qui permettent de renforcer la protection de la flore intestinale, de normaliser le transit et de stimuler l'immunité intestinale renforçant ainsi les défenses naturelles des animaux ; les probiotiques permettent ainsi d'obtenir un meilleur rendement de la production laitière, de réduire significativement les pertes de poids des animaux, d'augmenter significativement le taux de croissance des portées, d'améliorer la

qualité des viandes, etc. En outre, *S. cerevisiae* est une levure modèle pour les études fondamentales sur les eucaryotes. Le développement dans le domaine génétique et biologique a permis de modifier des gènes de cette levure afin de produire de nouvelles protéines et enzymes actives.

11.4.Fabrication d'éthanol-carburant.

C'est un alcool à indice d'octane élevé produit par la fermentation de sucre ou d'amidon prétraité, provenant de grains de blé ou de maïs ; l'ajout de levure entraîne la fermentation des sucres et produit l'éthanol qui est ensuite séparé du mélange par distillation. Les avantages de l'éthanol par rapport à l'essence sont diverses : baisse d'émissions de monoxyde de carbone, de dioxyde de carbone et d'hydrocarbure, et réduction globale des gaz à effet de serre, durabilité de la production d'éthanol due à l'utilisation de matières premières comme des grains et des produits du bois

Chapitre 2: Généralités sur les biofilms fongiques

1. Introduction

La capacité de levures à former des biofilms contribue à une meilleure survie dans des conditions stressantes. L'impact de ces biofilms a été observé dans la santé humaine et l'industrie, où cette formation permet à la levure d'agir comme filtre naturel dans le brassage et de former des biofilms qui restent virulents en cas d'infection fongique (Hill *et al.*, 2003 ; Bauer *et al.*, 2010 ; Siva Kumar *et al.*, 2012).

Au laboratoire, les biofilms de levure créent des défis importants pour de nombreuses expériences. En conséquence, notre connaissance sur la formation de biofilm par des levures reste incomplète (Stovicek *et al.*, 2010 ; Vachora *et al.*, 2011 ; Buckner and Mosch, 2012).

La formation de biofilm a été décrite chez des procaryotes tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et les levures eucaryotes ; *Candida albicans* et *C. glabrata*, qui sont devenus des problèmes majeurs chez les patients immunodéprimés traités avec des antibiotiques à large spectre (Hawser et Douglas, 1995 ; Stover *et al.*, 2000 ; Boles et Horswill, 2008).

Cependant, tous les biofilms ne sont pas nocifs pour les humains, et les biofilms ont été largement utilisés dans de nombreux domaines. Par exemple, dans le domaine de l'épuration des eaux usées, les biofilms qui poussent sur les fibres facilitent l'élimination des déchets organiques. Ou peut être utilisé pour biodégrader des produits chimiques toxiques (Cecie *et al.*, 2012 ; Torregrossa *et al.*, 2012).

2. Historique

En 1683, Antonie Van Leeuwenhoek, le premier qui observa des communautés microbiennes adhérentes à la surface de ces dents (**Roux et Chigo, 2006**).

En 1940, Heukalagian et Heller observent « l'effet de bouteille »: la fourniture d'un substrat solide auquel des microorganismes marins peuvent s'attacher augmente leur croissance et leur activité métabolique (**Heukelekian and Heller, 1940**).

En 1943, Zobell observe que dans le milieu marin la quantité de bactéries fixées à un substrat est largement supérieure à la quantité de bactéries libres dans la phase liquide (**Zobell, 1943**).

En 1969, Jones travaillant sur des filtres de station de traitement des eaux confirme non seulement les agrégats mono ou polymicrobiens, mais aussi l'existence d'une matrice polysidique (**Jones et al., 1969**).

En 1973, Characklis démontre que des dépôts microbiens au sein de conduites d'eau de systèmes industriels apparaissent tenaces et résistants aux désinfectants (**Characklis, 1973**).

En 1978, Costerton *et al.* ont proposé pour la première fois la théorie de « biofilms », et il sont expliqués les mécanismes par lesquels les microorganismes adhèrent aux surfaces vivantes et inertes ainsi que les avantages accumulés par cette niche écologique (**Branger et al., 2000 ; Chalvet de Rochemontreix, 2009 ; Kara terki, 2014**).

Plus récemment, les études sur les biofilms étaient développées dans les deux dernières décennies ont compté sur les outils tels que : la microscopie électronique à balayage (MEB) ou les techniques de cultures microbiologiques standards pour la caractérisation des biofilms (**Donlan, 2002**).

3. Définition

Le biofilm, dans sa définition la plus simple, est une communauté microbienne qui vit attachée à une surface biotique ou abiotique (**O'Toole et al., 2000 ; Hoyer, 2001 ; Reynolds et Fink, 2001**).

La formation de biofilm a été décrite chez les procaryotes et les eucaryotes et elle est maintenant décrite comme un attribut commun de microorganismes (**Hawser et Douglas, 1994, Reynolds et Fink, 2001 ; Hall-Stoodley et al., 2004 ; Lemon et al., 2008 ; Jacques et al., 2010**).

Aujourd'hui, nous trouvons les biofilms dans des environnements très divers tels que les racines des plantes, les dents, les cathéters et les poumons des patients atteints de fibrose

kystiques (Viudes *et al.*, 2002, Skjervak *et al.*, 2005 ; Desai *et al.*, 2011 ; Finkel et Mitchell, 2011, Torregrossa *et al.*, 2012 ; Bogino *et al.*, 2013).

Les recherches sur les champignons et les bactéries rapportent un niveau de tolérance de 1000 fois plus élevé au profit des biofilms matures en comparaison avec les cellules planctoniques (Bojsen *et al.*, 2014).

Les cellules des levures possèdent une capacité remarquable d'adhésion aux surfaces abiotiques, aux cellules et aux tissus. Ces propriétés d'adhésion sont d'intérêt médical et industriel.

Les levures pathogènes telles que *C. albicans* et *C. glabrata* adhèrent aux dispositifs médicaux et forment des biofilms résistants aux antifongiques. En revanche, l'adhésion cellules-cellule (floculation) est une propriété connue chez les souches industrielles appartenant à l'espèce *S. cerevisiae*.

L'adhésion est conférée par une classe de protéines de paroi cellulaire spéciale, appelées les adhésines. Les cellules portent différentes adhésines, chacune permet l'adhésion à un substrat donné (Verstrepen and Klis, 2006).

Les flocons et les biofilms chez la levure sont deux phénotypes apparentés, régulés par des changements environnementaux qui provoquent des réactions complexes de signalisation et d'expression génique. Un vrai biofilm nécessite que la levure forme une matrice protéique extracellulaire et adhère à une surface (Stovicek *et al.*, 2010 ; Vachora *et al.*, 2011 ; Buckner and Mosch, 2012).

4. Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures et les champignons filamenteux

La levure et les champignons filamenteux peuvent tous les deux former des biofilms. Cependant, les études sur les biofilms fongiques sont limitées par rapport à celles des levures. Ceci est dû au fait que les biofilms formés par les champignons filamenteux ne correspondaient pas aux définitions précédentes des biofilms liés aux bactéries. Ainsi, les auteurs ont proposé un modèle pour la formation de biofilm par les champignons filamenteux, suggérant que, malgré la morphologie distincte, ce modèle était similaire au développement de bactéries et de levures (Harding *et al.*, 2009 ; Blankenship and Mitchell, 2006).

Les différentes étapes de formation de biofilms chez les champignons sont représentées dans la **Figure 4**.

4.1. Les étapes de formation d'un biofilms chez les moisissures**a) L'adsorption :**

C'est l'étape préliminaire de la formation de biofilm et le résultat de contact de spores, de fragments d'hyphes ou de sporanges sur une surface(Verstrepen and Klis, 2010).

b) L'attachement actif :

Dans un deuxième temps, les adhésines sont sécrétées par les spores pendant la germination et d'autres structures reproductives(Blankenship and Mitchell, 2006).

c) Formation de micro-colonies par germination et/ou développement de monocouche :

C'est l'étape qui implique l'allongement et la ramification des hyphes, formant une monocouche avec la production de matrice extracellulaire(Wosten, 2001).

d) Développement de mycélien :

Dans cette étape, les réseaux d'hyphes compacts se forment en trois dimensions, couvrant par une matrice extracellulaire, et la formation de canaux d'eau(Blankenship and Mitchell, 2006).

e) La maturation du biofilm :

Dans lequel des corps de fructification et d'autres structures de survivants sont formés en fonction des champignons(Verstrepen and Klis, 2010).

f) La dispersion des conidies et/ou des arthroconidies :

Dans lequel des conidies et/ou des fragments d'hyphes sont libérés, débutant un nouveau cycle. Une autre particularité des champignons filamenteux est la sécrétion de petites protéines appelées hydrophobines. Ces protéines sont impliquées dans l'adhésion des hyphes à des surfaces hydrophobes et peuvent être impliquées dans la formation de biofilms(Costa-Orlandi *et al.*, 2017).

4.2. Les étapes de formation d'un biofilm chez les levures**a) L'adsorption :**

L'adsorption est suivie de l'adhésion initiale.

b) L'adhésion :

Formation de couches basales de levure avec développement précoce d'hyphes et de matrice extracellulaire.

c) **Formation de micro-colonies :**

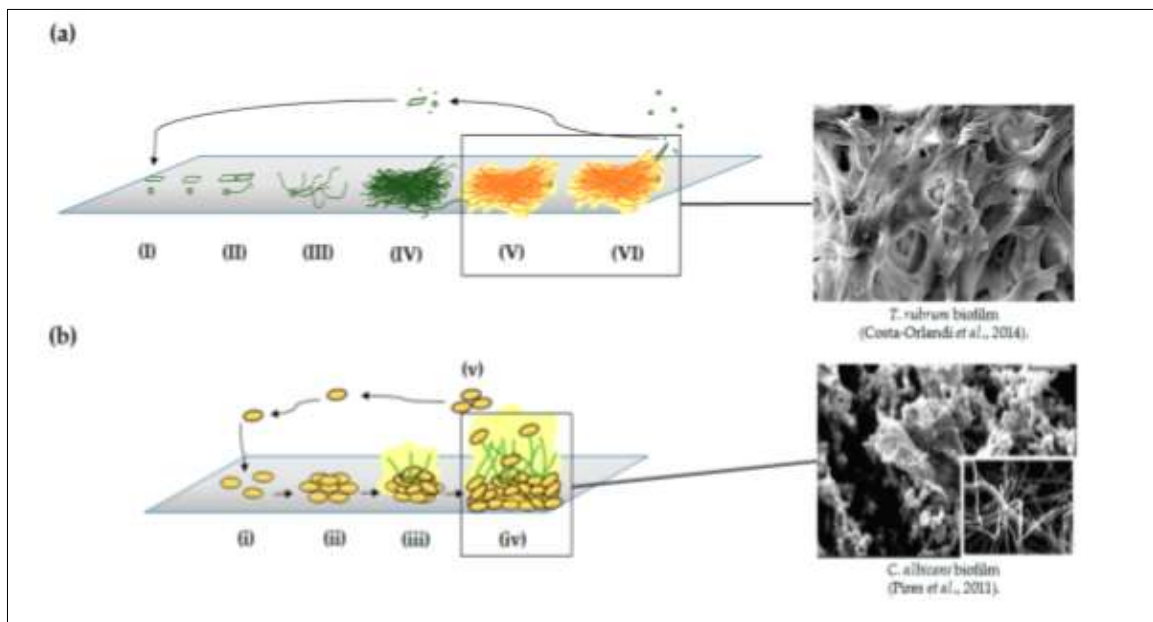
Maturation de biofilm contenant un nombre significatif de levures, hyphes, pseudonymphale, matrice extracellulaire et canaux d'eau qui permettent le mouvement des nutriments

d) **Maturation :**

C'est l'étape clés de la formation de biofilm.

e) **La dispersion cellulaire :**

Les cellules sont libérées, débutant un nouveau cycle (**Harding et al., 2009**).



Figures 4. Modèles de développement de biofilms dans les champignons filamenteux (a) et *C. albicans* (b). Les étapes de développement sont similaires, bien que la morphologie et le nombre d'étapes soient différents. En premier modèle (a), six étapes ont été proposées par (**Harding et al 2009**). (I) adsorption, (II) attachement actif, (III) première formation de microcolonie par germination et / ou développement monocouche, (IV) mycélium Développement, (V) maturation du biofilm, et (VI) dispersion des conidies et / ou des arthroconidies. Le second modèle correspond au développement classique du biofilm de *C. albicans* (b) qui comprend cinq étapes, Comme dans les bactéries: (i) l'adsorption, (ii) l'adhésion, (iii) la formation de micro colonies, (iv) le biofilm mature, et (v) dispersion. Modifié à partir de (**Harding et al 2009**). *T. rubrum* biofilm mature (**Costa-Orlandi et al .,2014**).; (**Pires et al., 2011**).

5. Formation de biofilm chez les levures d'intérêt industriel

A la fin de processus de fermentation, et lorsque tous les sucres disponibles ont été convertis en éthanol et en dioxyde de carbone, les cellules de levures commencent à adhérer les unes aux autres pour former des « floccs » macroscopiques constituées de plusieurs milliers de cellules.

L'adhésion cellule-cellule entre les cellules des levures est donc souvent appelée « floculation ». Selon les souches de levures utilisées, les flocons de levure sédimentent rapidement au fond (souches « lager ») ou flottent à la surface (souches « ale »), facilitant ainsi leur élimination du milieu (Verstrepen and Klis, 2006).

S. cerevisiae possède une capacité remarquable d'adhérer aux surfaces en plastiques (Figure 5) (Bojsen *et al.*, 2014).

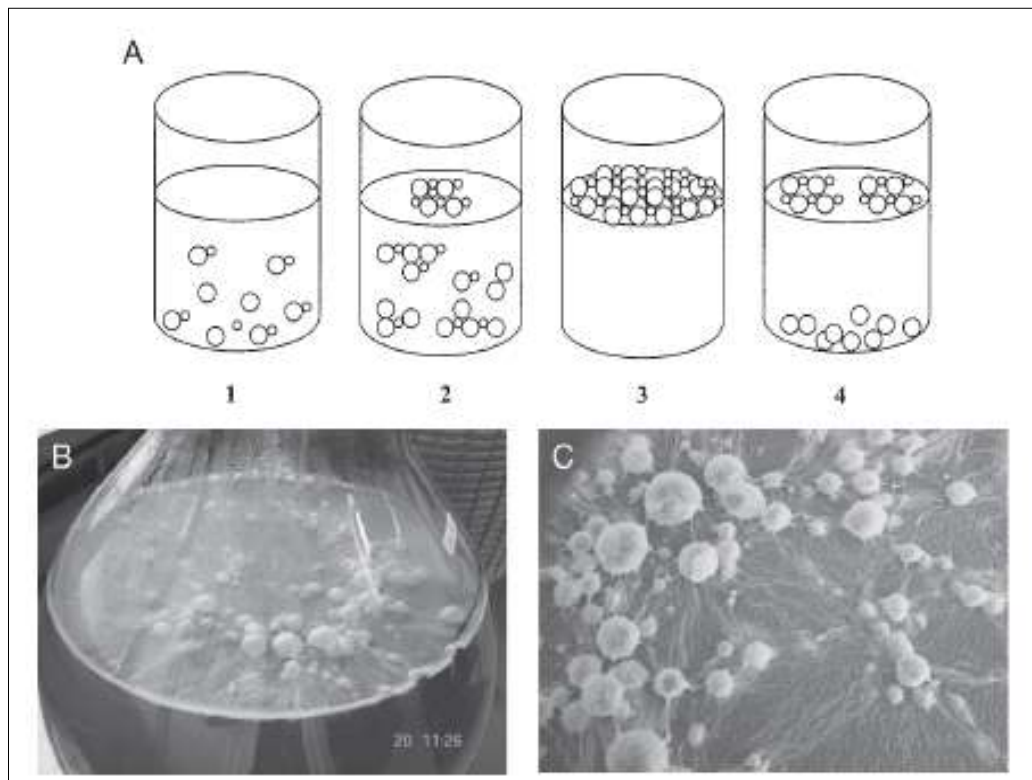


Figure 5. Formation de biofilm chez *S. cerevisiae*.

(A) : Un modèle de formation de biofilm, (1) : Les cellules sont en suspension et ne forment pas un biofilm visible. (2) : Les cellules commencent à s'agréger en floccs multicellulaires.

(3) : Un biofilm visible se forme à la surface du liquide. (4) : Le biofilm commence à se fragmenter. (B) : Bulles de dioxyde de carbone recouvertes d'un biofilm de la levure. (C) : présentation d'une partie de la fermentation (Grossissement X 24) (Zara *et al.*, 2005).

6. Le Quorum sensing

Le quorum sensing (QS) est le processus par lequel les cellules détectent la présence des autres par des QS auto-produites (auto-inducteurs). L'augmentation de la concentration d'une molécule QS à un niveau seuil induit un changement phénotypique à l'échelle de la population (Nealson *et al.*, 1970 ; Bassler *et al.*, 1993).

Cette forme de comportement social s'est révélée importante pour la formation de biofilms bactériens et de levures pathogènes (Vuong *et al.*, 2000 ; Ramage *et al.*, 2002, Chen *et al.*, 2004).

Il a été mis à jour que le QS régule le FLO11 (Flocculation protein) et pourrait avoir un impact sur le développement des biofilms de *S. cerevisiae*. Cette dernière utilise l'éthanol et l'alcool aromatique tryptophol et le phényléthanol comme autoinducteurs d'une manière indépendante de la densité cellulaire (Chen et Fink, 2006 ; Smukalla *et al.*, 2008).

La production d'éthanol et d'alcools aromatiques atteint un seuil, activant l'expression de FLO11. Par conséquent, le tryptophol et le phényléthanol influencent vraisemblablement le développement du biofilm de *S. cerevisiae* par la régulation des gènes FLO.

Candida albicans utilise l'alcool aromatique structurel apparenté au tyrosol comme molécule QS, tandis que le tryptophol et le phényléthanol n'induisent pas de changements phénotypiques chez *C. albicans* (Chen *et al.*, 2004 ; Chen et Fink, 2006).

Partie II :Partie pratique

I. Matériel et Méthodes

1. Microorganisme

La levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* a été sélectionnée pour cette présente étude. Il s'agit d'une souche commercialisée qui se présente sous forme de levure sèche instantanée (la levure Saf-Instant) marque Lesaffre, fabrication française.

2. Mise en culture

Une suspension de *S. cerevisiae* a été antérieurement préparée par mise en suspension de 0,1 g de la levure sèche dans 10 ml d'eau distillée stérile. Après, la suspension microbienne résultante est homogénéisée à l'aide d'un vortex.

À partir de la suspension précédente, une goutte estensemencée à la surface de la gélose Potato Dextrose Agar (PDA) (**Annexe 1.1**) préalablement coulés en boîtes de Pétri selon la méthode des quatre quadrants. Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 24 heures.

3. Tests de formation de biofilm en tubes

Afin de mettre en évidence la capacité d'adhésion et de formation de biofilm chez *S. cerevisiae*, la technique choisie est la méthode standard de coloration au cristal violet (CV). Cette technique de quantification est parmi les méthodes indirectes d'estimation de la production de biofilm sur différents types de supports (**Djordjevic et al., 2002**). La coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé, et sa solubilisation permet une quantification de celui-ci (**Musket et al., 2005**).

Dans ce travail, deux types de matériaux différents ont été employés dans le but d'étudier leur capacité à permettre ou pas l'installation et la formation sur leurs surfaces de biofilms à *S. cerevisiae*. Il s'agit d'un matériau hydrophile : le verre et d'un matériau hydrophobe : le polystyrène. Au total, trois tubes ont été utilisés soit le premier tube à essai en verre d'environ 20 ml, le deuxième tube à hémolyse en verre de 5 ml et le dernier tube à hémolyse en polystyrène de 5 ml.

3.1. Préparation des cultures

Des suspensions de levures ont préalablement préparées, à partir d'une culture de 24 heures de *S. cerevisiae* sur milieu PDA (**Annexe 1.1, 2.1**), dans les deux milieux liquides à savoir le bouillon de Sabouraud (à 2 % de glucose) (SAB) (**Annexe 1.2**) et le milieu Yeast

Peptone Dextrose (YPD) (à 2 et 0,2 % de glucose)(Annexe 1.3) (Annexe 1.4) et ajustées à une densité optique (DO) 600 nm de 0,2 cellule par ml.

Lessuspensions sont ensuite réparties dans les divers tubes à raison de 2 ml par tube. Le **tableau 1** ci-dessous récapitule les différentes conditions opératoires de formation de biofilm chez *S. cerevisiae*.

Tableau 1. Tests de formation de biofilms chez *S. cerevisiae*.

Milieu de culture	Tube utilisé	Période d'incubation
Milieu SAB (à 2 % Glucose)	Tube à essai en verre	24 heures
	Tube à hémolyse en verre	24 heures
	Tube à hémolyse en polystyrène	24 heures
Milieu YPD (à 2 % Glucose)	Tube à essai en verre	24 heures
		48 heures
		72 heures
	Tube à hémolyse en verre	24 heures
		48 heures
		72 heures
Tube à hémolyse en polystyrène	24 heures	
	48 heures	
	72 heures	
Milieu YPD (à 0,2 % Glucose)	Tube à essai en verre	24 heures
		48 heures
		72 heures
	Tube à hémolyse en verre	24 heures
		48 heures
		72 heures
Tube à hémolyse en polystyrène	24 heures	
	48 heures	
	72 heures	

Pour chaque expérience, trois tubes ont été utilisés. L'ensemble des tubes est ensuite incubé à 30 °C (sans agitation) selon les périodes mentionnées ci-dessus.

Après chaque période d'incubation et pour chaque tube, l'absorbance de la culture de levure résultante est mesurée à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Après, chaque tube est soigneusement vidé de la culture de levure, et rincés 3 fois à l'eau distillée (ED) en vue d'éliminer les cellules planctoniques non adhérentes, puis mis à sécher à l'air libre.

La biomasse attachée sur les parois du tube (adhésion et formation de biofilm) est révélée après coloration à l'aide d'une solution aqueuse de CV à 1 % (m/v)(Annexe 1.5). Après un temps de contact de 45 minutes, l'excès de colorant est éliminé suivi d'un

lavage abondant des parois du tube à l'ED (jusqu'à l'obtention des gouttes transparentes). Les tubes sont enfin égouttés et mis à sécher à l'air libre.

Le CV fixé sur les parois du tube est solubilisé à l'aide d'une solution constituée d'un mélange éthanol-acétone (75 : 25)(**Annexe 1.6**). Après 1 heure du temps, l'absorbance de la solution obtenue est mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La masse cellulaire accumulée au sein des biofilms formés est ainsi quantifiée. La quantité de colorant retenue étant alors directement proportionnelle à la quantité de levures fixées.

II .Résultat et discussion

Les biofilms sont des populations microbiennes complexes associées à une surface et enrobées dans une matrice extracellulaire, qui possèdent des phénotypes distincts par rapport à leurs homologues planctoniques. Les nutriments, les molécules du Quorum-Sensing, le contact avec la surface sont des facteurs contributifs (**Fanning and Mitchell, 2012**).

La majorité des microorganismes dans la nature, environ 80%, existe sous forme de biofilms. Ces derniers sont intrinsèquement résistants aux désinfectants et aux antibiotiques. Les levures peuvent être également des membres de ces communautés microbiennes sessiles (**Costerton et al., 1987 ; Costerton et al., 1999 ; Stoodley et al., 2002**).

Saccharomyces cerevisiae est un organisme formidable pour l'étude presque de tous les aspects moléculaires et de la biologie cellulaire chez les eucaryotes. Cela inclut également l'adhésion et la formation de biofilms. Elle représente un modèle idéal pour l'étude des biofilms fongiques, car elle possède des systèmes génétiques et biochimiques bien définies et faciles à manipuler. De ce fait, l'étude des biofilms chez *S. cerevisiae* permet de fournir des informations sur les mécanismes de développement de biofilms fongiques ainsi que ceux en relation avec les infections associées aux biofilms causées par les levures pathogènes, qui sont génétiquement plus difficiles à manipuler, telles que les *Candida* (**Brnyik, 2005 ; Bruckner and Mosch, 2012**).

Dans cette présente étude, la détection de la capacité d'adhésion et de la formation de biofilms chez la levure *S. cerevisiae* a été basée sur la technique standard de coloration de biofilms formés au cristal violet (CV). Ce dernier a été couramment utilisé pour colorer les cellules de levures sessiles après une préalable culture des levures en tubes ou en microplaques de polystyrène à 96 puits (**Reynold et Fink, 2001**).

Cette technique de quantification est parmi les méthodes indirectes d'estimation de la production de biofilm sur différents types de substrats. La coloration absorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé, et sa solubilisation permet une quantification de celui-ci (**Djordjevic et al., 2002 ; Musket et al., 2005**).

De même, la formation de biofilms a été évaluée après culture en deux milieux de composition différente à savoir le bouillon de Sabouraud et le bouillon YPD selon des conditions opératoires bien déterminées.

1. Formation de biofilms en bouillon de Sabouraud

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la capacité de *S. cerevisiae* à produire des biofilms sur surface hydrophobe (polystyrène) et surface hydrophile (verre) après culture en bouillon de SAB à une concentration de glucose de 2 %.

L'observation visuelle des tubes montre que la formation du biofilm chez *S. cerevisiae* se caractérise principalement par la présence d'un prolongement de couleur violet de la croissance cellulaire le long des tubes (Annexe 3.1).

1.1. Formation de biofilms sur tubes à hémolyse en verre et en polystyrène

La formation de biofilms chez *S. cerevisiae* a été exprimée en absorbances mesurées à 570 nm du colorant incorporé par les cellules formant des biofilms. Il apparaît que la formation la plus élevée de biofilm a été détectée sur le support en verre ($DO_{570} = 0,133$) par contre le support en polystyrène qui a présenté une formation faible ($DO_{570} = 0,118$).

Les résultats de la formation de biofilms sur tube à hémolyse (en polystyrène et en verre) en bouillon de Sabouraud et après 24 heures d'incubation sont représentés dans la figure 6.

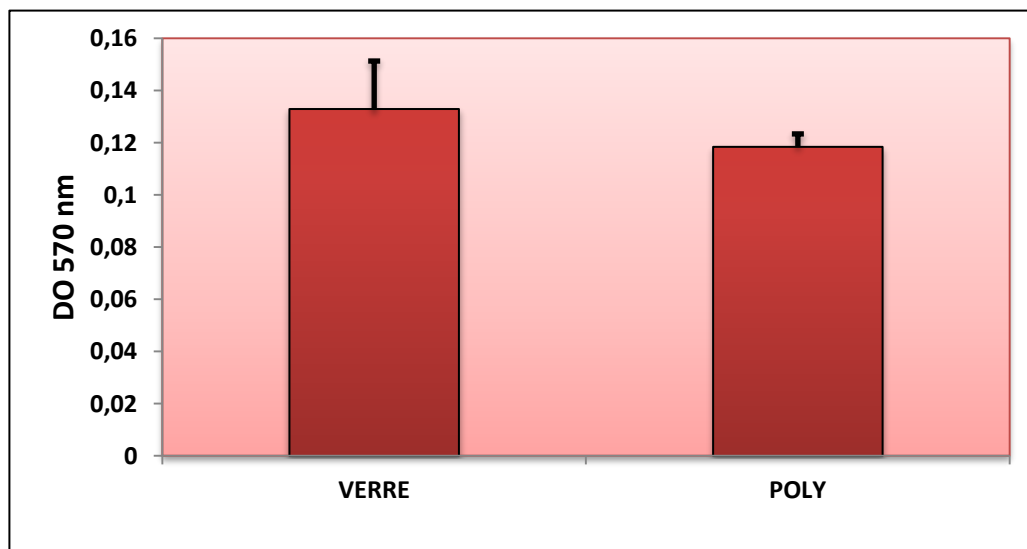


Figure 6. Formation de biofilms chez *Saccharomyces cerevisiae* sur tubes à hémolyse en verre et en polystyrène après 24 heures d'incubation en bouillon de Sabouraud.

Etant donné que la formation de biofilm est toujours en transition entre deux formes ; la forme sessile (biofilm) et la forme libre (planctonique), la proportion de cellules de *S.*

cerevisiae planctoniques, non fixées sur les supports, a été pareillement évaluée. Les valeurs de densités optiques correspondantes ont été donc mesurées à 600 nm. Cette mesure doit se faire avant l'élimination de la culture des levures, une étape nécessaire avant d'entamer la coloration au CV.

En effet, la grande valeur d'absorbance a été notée pour le polystyrène ($DO_{600} = 0,615$) à l'opposé du verre ($DO_{600} = 0,583$). Ces valeurs indiquent une relation inversement proportionnelle entre la formation de biofilm et la croissance planctonique des cellules.

Les résultats de la croissance de *S. cerevisiae* en bouillon de Sabouraud dans le verre et le polystyrène et après 24 heures d'incubation sont répertoriés dans la **figure 7**.

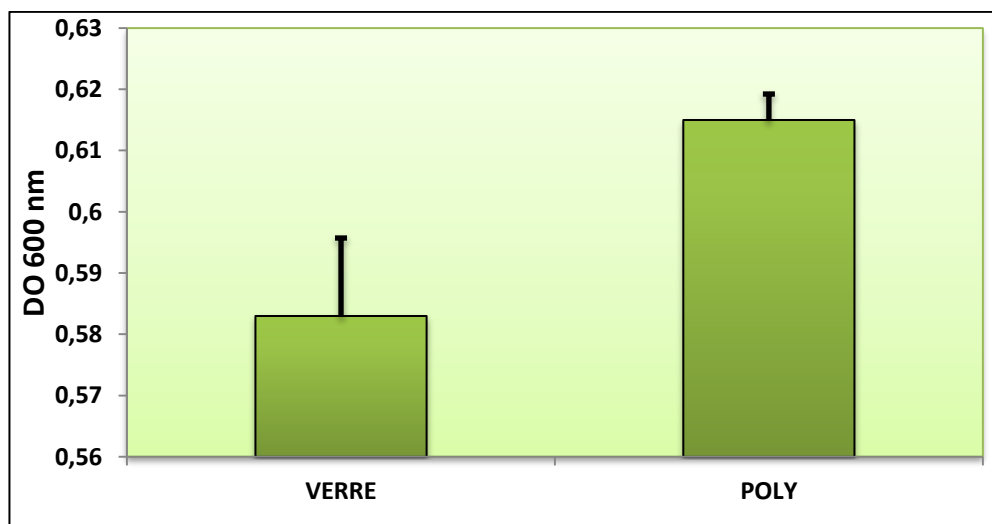


Figure 7. Croissance de *Saccharomyces cerevisiae* après 24 heures d'incubation en bouillon de Sabouraud (Tubes à hémolyse en verre et en polystyrène).

1.2. Formation de biofilms sur tubes en verre (hémolyse et essai)

S. cerevisiae a montré une capacité de production de biofilms, à la surface de tubes à essai, d'une façon importante ($DO_{570} = 0,220$) par rapport aux tubes à hémolyse en verre qui présentent une formation plus faible ($DO_{570} = 0,133$) (**Figure 8**).



Figure 8. Formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae* sur tubes à hémolyses en verre et tubes à essai après 24 heures d'incubation en milieu bouillon Sabouraud.

La valeur d'absorbance la plus élevée de croissance planctonique a été également notée pour les tubes à essai avec une $DO_{600} = 0,761$, à l'opposé des tubes à hémolyse avec une faible valeur ($DO_{600} = 0,583$). Dans ce cas, la croissance planctonique suit la formation de biofilm d'une manière proportionnelle.

Les résultats de la croissance de *S. cerevisiae* sur les deux supports en verre (tube à hémolyse et tube à essai) en bouillon de Sabouraud et après 24 heures d'incubation sont indiqués dans la **figure 9**.

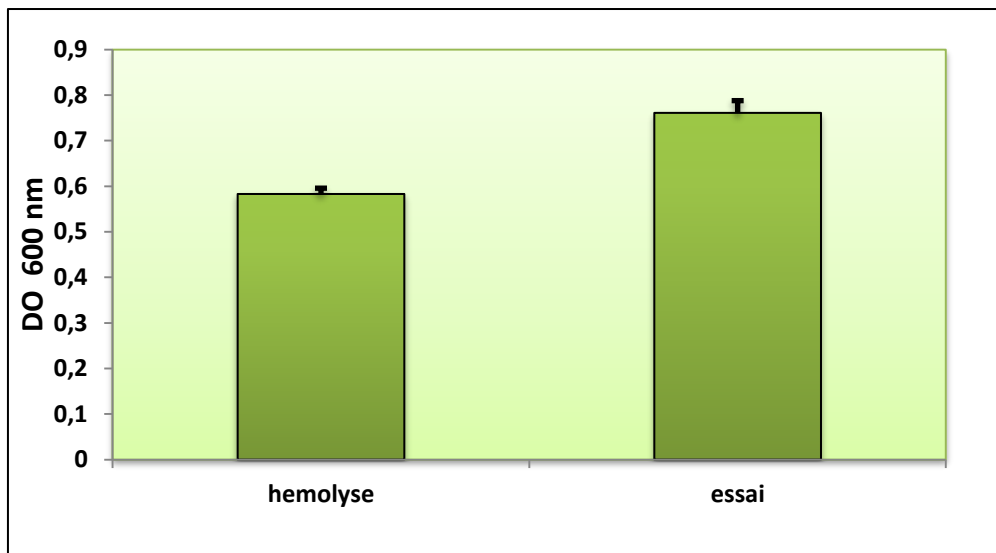


Figure 9. Croissance de *Saccharomyces cerevisiae* après 24 heures d'incubation en bouillon de Sabouraud (Tubes à hémolyse en verre et tubes à essai en verre).

D'après nos résultats, *S. cerevisiae* a réussi à adhérer et à former de biofilms après culture en bouillon de SAB à 2 % de glucose et après 24 heures d'incubation dans les différents types de matériaux testés mais avec des formations ayant des proportions variables. Ceci indique clairement que le support joue un rôle déterminant lors de l'adhésion et la formation de biofilm par cette levure. De même, *S. cerevisiae* a adhéré rapidement au verre plus que le polystyrène et que les tubes à essai en verre s'avèrent les plus préférés par cette levure. Donc, elle préfère pour l'adhésion beaucoup plus des surfaces hydrophiles qu'hydrophobes.

L'adhésion des cellules les unes aux autres ainsi qu'aux surfaces solides représente un élément clé pour le développement multicellulaire, la colonisation et la pathogénicité. Chez de nombreux champignons, ces propriétés adhésives sont principalement conférées par une famille de glycoprotéines de surface cellulaire spécifiques, les adhésines. Ces molécules sont nécessaires lors des interactions entre cellules fongiques (**Reynolds and Fink, 2001 ; Goossens and Willaert, 2010 ; Bruckner and Mosch, 2012**).

La famille des protéines d'adhésion « Flocculation protein », chez *S. cerevisiae*, peut être subdivisée en deux groupes : le premier groupe de protéines codé par des gènes incluant FLO1, FLO5, FLO9 et FLO10, qui favorise l'adhésion cellule-cellule en interagissant avec la paroi cellulaire des cellules adjacentes. Ce phénomène conduit à la formation de flocs qui sédimentent au fond. Le second groupe inclus principalement le FLO11, qui est requis pour la formation de pseudohyphes ; cela veut dire adhésion intercellulaire après division et

formation de longues chaînes de filaments ainsi que la croissance invasive haploïde. Dans cette dernière, les cellules sont adhérentes aux surfaces semi-solides telles que l'agar ou solides comme le polystyrène et forment des structures multicellulaires complexes (biofilms) (Reynolds and Fink, 2001 ; Goossens and Willaert, 2010).

Par ailleurs, nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés par l'étude effectuée par Purevdorj-Gage *et al.* (2007), qui indiquent clairement que *S. cerevisiae* est douée d'une capacité de fixation au verre. De plus, cette étude confirme le rôle important joué par FLO11 dans l'initiation et le développement de biofilm chez cette levure. En détail, cette protéine joue un rôle dans l'adhérence de *S. cerevisiae* à une surface hydrophile comme le verre.

Nos résultats sont en harmonie avec des données précédentes qui ont déjà mentionné que *S. cerevisiae* possède la capacité d'adhérer aux surfaces abiotiques y compris le plastique, ce qui fait de ces organismes des modèles précieux pour l'étude moléculaire de la formation de biofilm (Bruckner and Mosch, 2012).

Lorsqu'elle est cultivée en milieu liquide, *S. cerevisiae* peut également adhérer à diverses surfaces de plastiques, y compris le polystyrène, le polypropylène et le polychlorure de vinyle. Cette capacité a été également attribuée à l'expression de FLO11 et aux propriétés hydrophobes conférées par cette adhésine. Une corrélation entre l'hydrophobicité de la surface cellulaire et la capacité de médiation de l'adhésion à la surface de polystyrène a été également trouvée dans le cas de FLO 1, FLO5, FLO9 et FLO10. Ceci indique que la base moléculaire pour l'adhésion au plastique pourrait être non spécifique (Bruckner and Mosch, 2012).

L'aptitude de *S. cerevisiae* à adhérer à des surfaces plastiques peut avoir également une importance médicale, car il a été constaté que diverses souches peuvent causer des infections opportunistes chez l'homme (Bruckner and Mosch, 2012).

2. Formation de biofilms en bouillon YPD

Un deuxième milieu de culture a été également utilisé à fin de mettre en évidence la capacité de formation de biofilms chez *S. cerevisiae* à savoir le bouillon YPD à deux concentrations de glucose ; à faible concentration et à forte concentration (à 0,2% et à 2%).

2.1. Formation de biofilms après 24 heures d'incubation

Les résultats obtenus après 24 heures, suite aux tests d'adhésion, illustrés dans la **figure 10**, et après culture en YPD ayant une concentration de 2 % glucose, ont permis de mettre en évidence la capacité de *S. cerevisiae* à former de biofilms importants après adhésion sur le verre contrairement au polystyrène (**Annexe 3.2**).

En détail, la valeur la plus importante a été notée pour le cas de tube à essai en verre ($DO_{570}=0,304$) suivi par le tube à hémolyse avec une $DO_{570}=0,102$ et enfin le polystyrène avec une absorbance de CV de 0,07.

Par ailleurs, la diminution de la concentration de glucose a énormément amélioré la formation de biofilm surtout dans le cas de tube à essai en verre. En effet, la valeur obtenue pour ce dernier support était de 0,488. Une légère augmentation a été notée pour le cas de polystyrène ($DO_{570}=0,092$) tandis que une légère diminution a été enregistrée pour le cas de tube à hémolyse en verre ($DO_{570}=0,088$).

Il s'avère donc que les conditions de croissance, influencent l'adhésion et la formation de biofilms chez *S. cerevisiae*. De ce fait, la concentration de glucose joue un rôle important dans la formation de biofilm de même que la nature de support et que cette levure exige seulement de faibles quantités pour fabriquer des biofilms importants essentiellement dans les premières heures de formation.

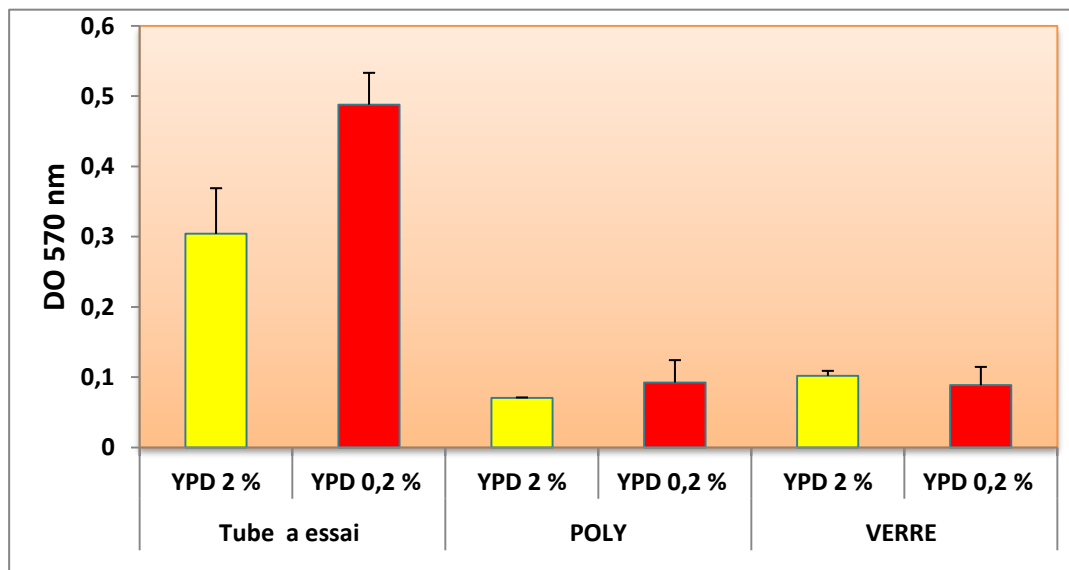


Figure 10. Formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae* en milieu YPD (à 2 et 0,2%) après 24 heures d'incubation.

2.2. Formation de biofilms après 48 heures d'incubation

Après 48 heures d'incubation, *S. cerevisiae* a exhibé un autre comportement vis-à-vis la concentration de glucose du milieu YPD (Annexe 3.3 et 3.6). Globalement, une baisse au niveau de la formation de biofilm a été observée dans les deux milieux (à 2 et 0,2 %) et dans les trois supports (Figure 11).

A 2% de glucose, le verre prend une fois de plus la première position avec une même valeur pour les deux tubes en verre ($DO_{570}=0,176$) puis le tube en polystyrène ($DO_{570}=0,050$).

A 0,2 % de glucose, les supports testés ont gardé le même ordre. Les valeurs successives de la formation de biofilms, enregistrées chez cette levure, étaient les suivantes : 0,152-0,086 et 0,061.

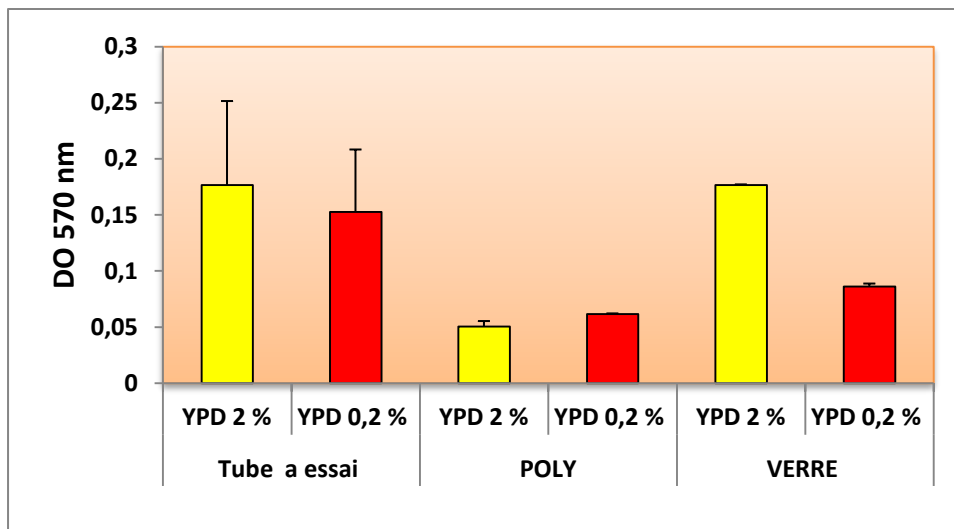


Figure 11. Formation de biofilms chez *Saccharomyces cerevisiae* en bouillon YPD (à 2 et 0,2%) après 48 heures d'incubation.

2.3. Formation de biofilms après 72 heures d'incubation

Comme l'illustre la **figure 12**, un comportement similaire de la levure a été aussi révélé après 72 heures d'incubation. Dans l'ensemble, il apparaît que la formation de biofilm chez *S. cerevisiae* tend à se stabiliser (**Annexe 3.4**) (**Annexe 3.7**).

En milieu YPD à 2% de glucose, la formation la plus élevée est encore maintenant réservée pour le verre et plus précisément pour le tube à essai avec une valeur de DO570 de 0,167. L'adhésion au tube à hémostase en verre était de l'ordre de 0,083 alors que le polystyrène de 0,072.

En milieu YPD à 0,2 % de glucose, une diminution de la production de biofilms a été constatée dans le cas de tube à essai en verre et le polystyrène à l'opposé du tube à hémostase en verre. Effectivement, les chiffres inscrits étaient respectivement ; 0,116-0,058 et 0,09.

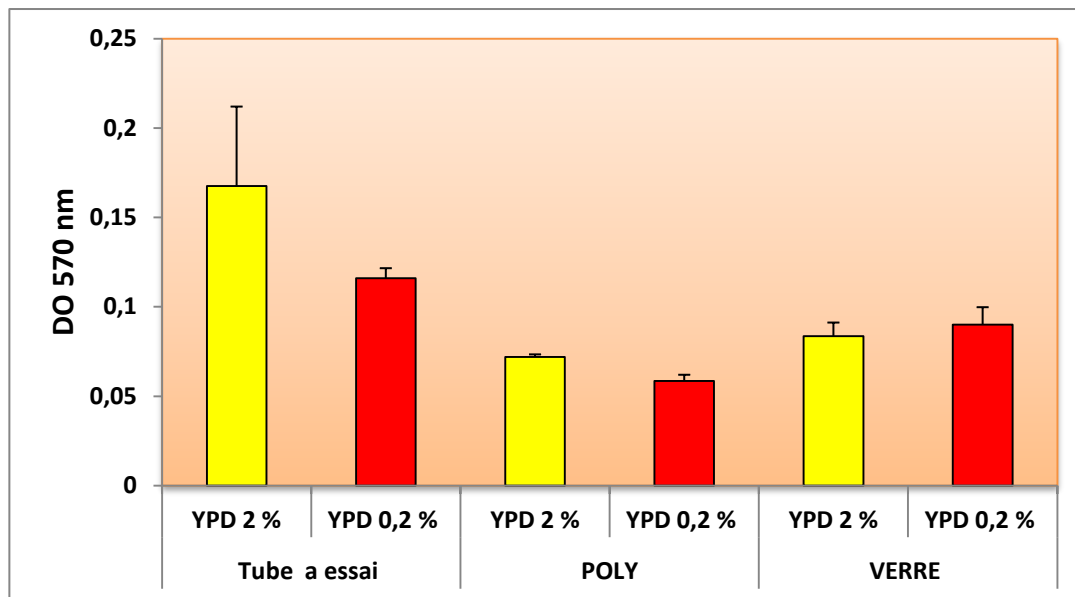


Figure 12. Formation de biofilms chez *Saccharomyces cerevisiae* en bouillon YPD (à 2 et 0,2%) après 72 heures d'incubation.

3. Formation de biofilms en bouillons Sabouraud et YPD à 2 % de glucose

La **Figure 13** montre que la formation de biofilm après 24 heures d'incubation, suivant l'effet de support, prend le même rythme pour les deux milieux de culture à savoir le bouillon de Sabouraud (SAB) et le bouillon YPD (prenant en considération chaque milieu à part). Ces derniers présentent la même concentration de glucose (2 %). En effet, la formation de biofilm la plus forte a été observée pour le cas du verre et la plus faible pour le polystyrène. A sein du verre, le tube à essai occupe tout le temps la première place.

En outre, la formation de biofilm chez *S. cerevisiae* a été beaucoup influencée par le milieu de culture utilisé (prenant en considération les deux milieux à la fois pour chaque support à part). Seulement dans le cas du tube à essai en verre, l'adhésion de *S. cerevisiae* la plus notable a été enregistrée après culture en milieu YPD ($DO_{570}=0,304$) à l'opposé du milieu SAB ($DO_{570}=0,220$). Au contraire, dans le cas du tube à hémolyse en verre et en polystyrène, la formation de biofilms la plus importante a été constatée pour le milieu SAB contre le milieu YPD. Les valeurs d'absorbance obtenues successivement pour les tubes à hémolyses en verre et en polystyrène sont respectivement : DO_{570} (SAB) = 0,133- DO_{570} (YPD) = 0,133- DO_{570} (SAB) = 0,118- DO_{570} (YPD) = 0,070.

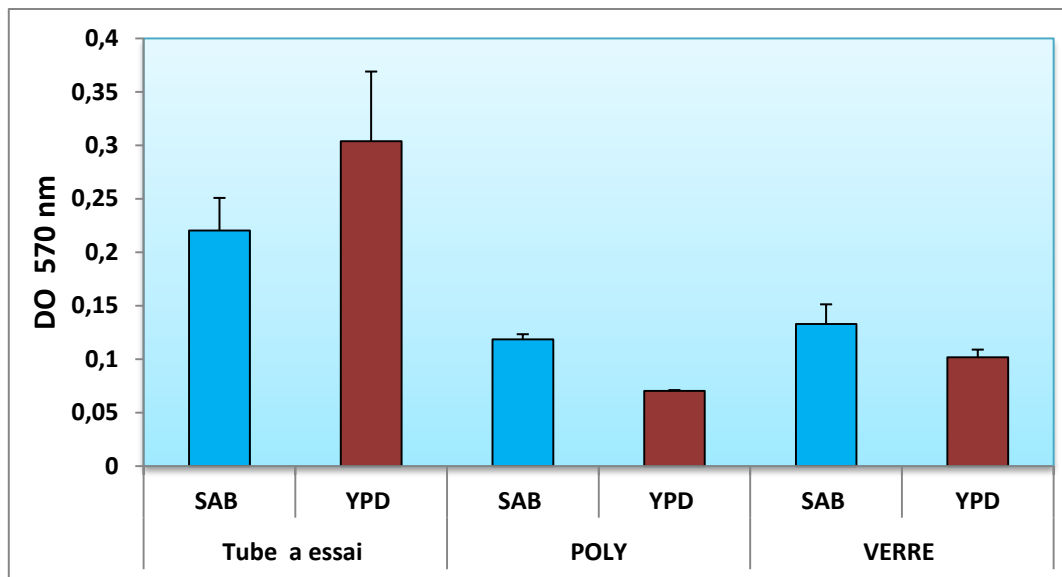


Figure 13. Formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae* en bouillon de Sabouraud (SAB) et YPD (à 2 % de glucose) après 24 heures d'incubation.

Le bouillon de Sabouraud, décrit par **Sabouraud (1892)**, est un milieu liquide qui est recommandé pour les procédures qualitatives lors de l'isolement des levures et les champignons. Il contient du tryptone, peptone de viande et le glucose.

En outre, le bouillon YPD, décrit précédemment par **Sherman (1991)**, est recommandé pour la croissance de *S. cerevisiae* à des fins de biologie moléculaire. Il contient de l'extrait de levure, peptone et le glucose. Ce milieu favorise la croissance de la plupart des microorganismes hétérotrophes mais en raison de leur composition simple, il a été adopté comme milieu de culture de routine des levures. Sa composition permet une croissance plus rapide de *S. cerevisiae*. Le peptone fournit pour cette levure des nutriments azotés, l'extrait de levure des nutriments azotés ainsi que du vitamine B et le glucose source d'hydrate de carbone et d'énergie.

Dans ce présent travail, une différence de comportement de la part de *S. cerevisiae* a été observée vis-à-vis les milieux de culture employés. En effet, elle a exprimé une adhésion importante en milieu YPD au niveau des tubes à essai en verre tandis que en bouillon de Sabouraud au niveau des tubes à hémolyses soit en verre ou en polystyrène. Ces résultats peuvent être expliqués par les besoins nutritifs exigés à chaque fois par *S. cerevisiae* lors de l'adhésion et la formation de biofilms ainsi que les interactions impliqués entre cette levure et le support à coloniser.

En définitive, la capacité de *S. cerevisiae* à former des biofilms contribue à mieux survivre sous stress et affecte une série de processus importants en industrie et ceux liés à la santé humaine. En industrie, les flocons de levure facilitent l'élimination de la levure du produit final tandis que les biofilms peuvent compliquer la production de biocarburants et aider les levures pathogènes de persister sur les surfaces de l'hôpital et durant l'infection (**Hope and Dunham, 2014**).

Conclusion

S. cerevisiae représente un modèle simple et idéal pour l'étude de l'adhésion et la formation de biofilms fongiques.

Au terme de ce travail, portant sur l'étude de la formation de biofilms chez *S. cerevisiae* suivant la technique de coloration au CV, les résultats obtenus après culture en bouillon SAB (à 2 % de glucose) ont montré que cette levure possède la capacité d'adhérer et de produire des biofilms en surfaces inertes.

Il est généralement admis que les surfaces hydrophobes (comme le polystyrène) sont plus favorables à l'adhésion bactérienne que les surfaces hydrophiles (comme le verre). Au contraire, il s'avère que *S. cerevisiae* préfère les surfaces hydrophiles (verre) plutôt que les surfaces hydrophobes (polystyrène).

Par ailleurs, les proportions des cellules planctoniques ont indiqué des relations variables vis-à-vis les cellules sessiles. En effet, ces relations peuvent être soit de type inversement proportionnel ou proportionnel.

Le suivi de la formation de biofilm par cette levure, après culture en milieu YPD (à 2 et 0,2 % de glucose), a montré que la faible concentration de glucose a augmenté considérablement la formation de biofilm après 24 heures d'incubation. À l'opposé, après les 48 heures qui suivent, une régression de la formation de biofilm a été constatée dans les deux milieux, mais après prolongement de la durée d'incubation jusqu'à 72 heures, une stabilisation au niveau de la production de biofilm a été observée.

La comparaison entre les deux milieux liquides SAB et YPD, ayant la même concentration de glucose (2%), a révélé une différence de comportement de la part de *S. cerevisiae* vis-à-vis le milieu de culture utilisé. En effet, après 24 heures d'incubation, cette levure a exprimé une forte adhésion en milieu YPD dans les tubes à essai en verre tandis qu'en milieu de SAB, elle a donné des biofilms importants au niveau des tubes à hémolyse (verre et polystyrène).

Il devient donc essentiel d'améliorer nos connaissances sur les mécanismes impliqués dans la formation de biofilms fongiques, afin de mieux contrôler d'une part les processus industriels, comme ceux utilisant *S. cerevisiae*, et d'autre part de trouver de nouveaux moyens de prévention ou de traitement des infections associées aux biofilms fongiques.

Référence bibliographiques :
A

- **AguilarUscanga, B.R., (2003).** Influence des paramètres de croissance et des conditions de mise en oeuvre sur la composition et l'architecture de la paroi cellulaire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse INSA Toulouse
 - **Adewara A.O. &Ogunbanwo S.T. (2013).** Effects of processing variables on the production of “Burukutu”. aNigerianfermentedbeverage. Nat. Sci.11:16-28.
 - Atlas of food microbiologie LAB ,University of Baghdad –college of science – department of biology ;1.Electronic Edition –for limited use only ;2012 -2013.
-

B

- **Bumgarner SL, Dowell RD, Grisafi P, Gifford DK & Fink GR (2009)**Toggleinvolving cis-interferingnoncodingRNAscontrolsvariegatedgene expression in yeast. Proc NatlAcadSci U S A 106: 1832118326
- **Bassler BL, Wright M, Showalter RE &Silverman MR (1993)**Intercellularsignalling in *Vibrioharveyi*: sequence and function of genesregulating expression of luminescence. Mol Microbiol 9: 773–786.
- **Bauer F. F., Govender P., Bester M. C., 2010** Yeastflocculation and itsbiotechnological relevance. Appl. Microbiol. Biotechnol. 88: 31–39.
- **Bernard, D. (1996)** The yeastgenomeproject: whatdidwelearn? *Trends in Genetics*12 (7), 263
- **Blankenship, J.R.; Mitchell, A.P. (2006),** How to build a biofilm: A fungal perspective. Curr. Opin. Microbiol. **9**, 588–594.
- **Blin, C.P., (2002).** Etude comparative du catabolisme de l'acide ricinoléique chez les levuresdu genre *Sporidiobolus*: mise en évidence et caractérisation du système béta-oxydase impliqué.Thèse de doctorat. *Ecole Nationale Supérieure de Biologie Appliquée à la Nutrition et à l'Alimentation*. Université de Bourgogne, France
- **Blom, J., Mattos, M.J.T.D., et Grivell, L.A., (2000).** Redirection of the Respiratory Fermentative Flux Distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by Overexpression of the Transcription Factor Hap4p. Appl. Environ. Microbiol. 66, pp 1970 - 1973.

- **Bouix M., Leveau J .Y. (1991).** Les levures dans : Bourgeois C. M., Leveau J.Y., techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Edition 2 Lavoisier-Tec & Doc, Paris. 3: 206-229
- **Bourgeois, C. M., Larpent, J., (1996).** Microbiologie alimentaire. Vol II: Aliments fermentés et fermentation alimentaire. (Ed) Lavoisier. Paris, pp 523.
- **Branyik T Vicent AA Dostalek P Teixeira JA (2005)** Continuous beer fermentation using immobilized yeast cell bioreactor systems. *biotechnol Prog* 21 :653-663.
- **Bruckner S. and Mosch H-U.(2012)** Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 36 25–58.

C

- **Celton, M. (2011).** *Etude de la réponse de Saccharomyces cerevisiae à une perturbation NADPH par une approche de biologie des systèmes. Thèse.* inra centre international d'études supérieures en sciences agronomiques de montpellier supagro.
- **Chen H & Fink GR (2006)** Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes Dev* 20: 1150-1161.
- **Costa-Orlandi, C.B.; Sardi, J.C.; Santos, C.T.; Fusco-Almeida, A.M.; Mendes-Giannini, M.J. (2014)** In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. *Biofouling*
- **Costerton JW, Chaenng KJ, Geesey GG, Ladd Ti, Nickel JC, Dasgupta M & Marrie TJ(1987)** bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol* 14 :435-464.
- **Costerton JW, Stewart PS G Reenberg EP(1999)** Bacterial biofilms : a common cause of persistent of infections. *Science* 284 :1318-1322.
- **Crabtree, H.G. (1929).** Observations on the carbohydrate metabolism of tumours. *Biochem. J.* 23, 536–545.
- **Cubillos, F.A., E.J. Louis, et G. Liti. (2009).** Generation of a large set of genetically tractable haploid and diploid *Saccharomyces* strains. *FEMS yeast research.* 9:1217-1225.
- **Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J & Fink GR (2004)** Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. *P Natl Acad Sci USA* 101: 5048–5052.
- **Chen H & Fink GR (2006)** Feedback control of morphogenesis in fungi by aromatic alcohols. *Genes Dev* 20: 1150–1161.

- **Costa-Orlandi, (2014)**, C.B.; Sardi, J.C.; Santos, C.T.; Fusco-Almeida, A.M.; Mendes-Giannini, M.J. In vitro characterization of *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* biofilms. *Biofouling* 2014, 30, 719–727.
 - **Caroline B. Costa-Orlandi 1, Janaina C. O. Sardi 2, Nayla S. Pitangui 1, Haroldo C. de Oliveira 1, Liliana Scorzoni 1, Mariana C. Galeane 1, Kaila P. Medina-Alarcón 1, Wanessa C. M. A. Melo 1, Mônica Y. Marcelino 1, Jaqueline D. Braz 1, Ana Marisa Fusco-Almeida 1 and Maria José S. Mendes-Giannini 1(2017)**, *Fungal Biofilms and Polymicrobial Diseases* 3 :24.
-

D

- **Desai C, Mavrianos J & Chauhan N (2011)** *Candida glabrata* Pwp7p and Aed1p are
 - **Deken, R. H. (1966)**. The Crabtree effect: a regulatory system in yeast. *Journal of General Microbiology*, 44(2), 149–156. <http://doi.org/10.1099/00221287-44-2-149>
 - **Djordjevic D., Wiedmann M. And Mccland's borough L.A. (2002)**. Microtiter Plate Assay for Assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*; **Vol. 68, No. 6: 2950– 2958**.
 - **Dujon, Bernard. (2010)**. “Yeast Evolutionary Genomics.” *Nature Reviews Genetics* 11 (7):512–24. doi:10.1038/nrg2811.
-

E

- **EDonlan R.M. (2001)**. Biofilms and Device-Associated Infections. *Emerging Infectious Diseases*; Vol. 7, No. 2: 277– 281.
 - **Ehsani, M., Fernández, M. R., Biosca, J. A., & Dequin, S. (2009)**. Reversal of coenzyme specificity of 2,3-butanediol dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae* and in vivo functional analysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 104(2), 381–389. <http://doi.org/10.1002/bit.22391>
 - **Donlan, R.M.; Costerton,(2002)** J.W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002.
-

F

- **Fanning S. and Mitchell A.P. (2012)**. Fungal Biofilms. *PLoS Pathogens*, 8(4): 1-4.

- **Fiechter, A., and Seghezzi, W. (1992).** Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells. *J. Biotechnol.* 27, 27–45
- **Finkel JS, Mitchell AP. (2011).** Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nat Rev Microbiol* 9: 109 –118
- **Filloux A. et Vallet I. (2003).** Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecine / Sciences* ; 19 : 77– 83.
- **Fux A.C., Stoodley P., Hall-Stoodley L. and Costerton J.W. (2003).** Bacterial biofilms: a diagnostic and therapeutic challenge. *Expert Rev. Anti-infect. Ther*; 1, 4: 667– 683.
- **Flikweert, M.T., Kuyper, M., van Maris, A.J., Kötter, P., van Dijken, J.P., and Pronk, J.T. (1999).** Steady-state and transient-state analysis of growth and metabolite production in a *Saccharomyces cerevisiae* strain with reduced pyruvate-decarboxylase activity. *Biotechnol. Bioeng.* 66, 42–50.
- **Fritsche, W. (1972).** The Yeasts, Vol. 2. Physiology and Biochemistry of Yeasts. *Z. Für Allg. Mikrobiol.* 12, 349–349.

G

- **Goffeau, A., B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin and S. G. Oliver (1996)** Life with 6000 Genes, *Science* 274 (5287), 546.
- **Goossens K. and Willaert R. (2010).** Flocculation protein structure and cell–cell adhesion mechanism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Lett*
- **Greppi A. et al (2013).** Yeast dynamics during spontaneous fermentation of mawè and tchoukoutou, two traditional products from Benin. *Int. J. Food microbiol.* 165 : 200-207
- **Guiraud, J.P., (1996).** Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, pp 9 - 320
- **GUIRAUD J., (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed Dunod, Paris. 310p

H

- **Hall-Stoodley L, Costerton JW & Stoodley P (2004)** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2: 95-108.
- **Harding, M.W.; Marques, L.L.; Howard, R.J.; Olson, M.E. (2009)**, Can filamentous fungiform biofilms? *Trends Microbiol.* 17, 475–480
- **Hawser SP & Douglas LJ (1994)** Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infect Immun* 62: 915-921.
- **Hill J. A., Ammar R., Torti D., Nislow C., Cowen L. E., (2013)**. Genetic and genomic architecture of the evolution of resistance to antifungal drug combinations. *PLoS Genet.* 9: 1–22
- **Hope E.A. and Dunham M.J. (2014)**. Ploidy-Regulated Variation in Biofilm-Related Phenotypes in Natural Isolates of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes* 4: 1773-1786.

J

- **Jacques M, Aragon V & Tremblay YD (2010)** Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. *Anim Health Res Rev* 11: 97-121.
- **Jimoh S.O., Ado S.A., Ameh J.B. & Whong C.M.Z. (2012)**. Characteristics and diversity of yeast in locally fermented beverages sold in Nigeria. *World J. Eng. Pure Appl. Sci.* 2 : 40-44.

K

- **käppeli, O. (1986)**. Regulation of Carbon Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* and Related Yeasts. *Advances in Microbial Physiology*, 28, 181–209. [http://doi.org/10.1016/S0065-2911\(08\)60239-8](http://doi.org/10.1016/S0065-2911(08)60239-8)
- **Käppeli, O., & Sonnleitner, B. (1986)**. Regulation of sugar metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*-type yeast: experimental and **conceptual** considerations. *Critical Reviews in Biotechnology*, 4(3), 299–325. <http://doi.org/10.3109/07388558609150798>

L

- **Lallemand , (2016).** Lallemand web page. Retrieved February 3, 2014, from www.lallemandwine.com.
- **LARPENT J P., 1990.** Biotechnologie des levures masson, Paris. P 132-315
- **Landry, C.R., J.P. Townsend, D.L. Hartl, et D. Cavalieri. (2006).** Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular ecology*. 15:575-591
- **Larpent, J.P., (1991).** Biotechnologie des levures. Ed. Masson. Paris, pp 426.
- **Larpent, J.P., Gourgoud, M., (1985).** Elément de microbiologie. Ed.Herman. Paris, pp 464
- **Lemon KP, Earl AM, Vlamakis HC, Aguilar C & Kolter R (2008)** Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Curr Top Microbiol Immunol* 322: 1-16.
- **Leveau J.Y, Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Lavoisier TEC et DOC, Paris. 08 : 2-92.

M

- **Meijer, M. M. C., Boonstra, J., Verkleij, A. J., and Verrips, C. T. (1998).** Glucose repression in *Saccharomyces cerevisiae* is related to glucose concentration rather than the glucose flux. *The Journal of Biological Chemistry*, 273 (37): 24102-24107.
- **Mercier, C., (1997).** Transgènes et modification quantitative et/ou qualitative de la composition de lait à de fins nutritionnels. *In* : Frenet G. (Ed), intérêts nutritionnels et diététique du lait de chèvre. Nord-France, pp 169 - 177.
- **Musk D.J., Banko D.A., and Hergenrother P.J. (2005).** Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry & Biology*; Vol. 12: 789– 796.

N

- **Nealson KH, Platt T & Hastings JW (1970)** Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104: 313–322

- **NGUTYEN Thanh Dat., (2016)** .protection de la levure *Saccharomyces cerevisiae* par un système biopolymérique multicouche : effets sur son activité métabolique en réponse aux conditions de l'environnement. Doctorat de l'université de Bourgogne Agrosud Dijon p : 8-10.
 - **NOUI Y., (2001)**. Optimisation de la production de la biomasse *Saccharomyces cerevisiae* cultivée sur extrait de datte. Mémoire d'ingénieur institut d'agronomie, Batna .p 3...5-6-12-14-17-20-40-58.
-

O

- **Oteng-Gyang K(1984)**. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Edition Technique et documentation, Paris
 - **O'Toole G, Kaplan HB & Kolter R(2000)** Biofilm formation as microbial developments. *Annu Rev Microbiol* 54: 49-79.
-

P

- **Parrou, J.L., Teste, M.A., et François, M., (1997)**. Effect of various types of stress on the metabolism of reserve carbohydrates in *Saccharomyces cerevisiae*: genetic evidence for a stress-induced recycling of glycogen and trehalose. *Microbiology*, 143; pp 1891 - 1900
- **Parry, J. M., D. Sharp, R. S. Tippins and E. M. Parry (1979)** Radiation-induced mitotic and meiotic aneuploidy in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 61 (1), 37.
- **Phaff, H.G., Miller, M.W., et Mrak, E.K., (1968)**. The life of yeasts. In: Oteng-Gyang K. Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. *Technique & Documentation Lavoisier*, Paris. 8; pp 43
- **Pires, R.H.; Montanari, L.B.; Martins, C.H.; Zaia, J.E.; Almeida, A.M.; Matsumoto, M.T.; Mendes-Giannini, M.J. (2011)**; Anticandidal efficacy of cinnamon oil against planktonic and biofilm cultures of *Candida parapsilosis* and *Candida orthopsilosis*. *Mycopathologia*, 172, 453–464.
- **Purevdorj-Gage B., Orr M.E., Stoodley P., Sheehan K.B. and Hyman L.E.(2007)** The role of FLO11 in *Saccharomyces cerevisiae* biofilm development in a laboratory based flow-cell system. *FEMS Yeast Res* 7; 372–379.

R

- **Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. (2005).** Candida biofilms: An update. *EukaryotCell* 4: 633–638
- **Ratledge, C. (1991).** Yeast physiology -a micro-synopsis. *Bioprocess Eng.* 6, 195–203
- **Replansky, T., V. Koufopanou, D. Greig, et G. Bell. (2008).** *Saccharomyces sensu stricto* as a model system for evolution and ecology. *Trends in ecology&evolution.* 23:494-501
- **Reynolds T. B., Fink G. R., (2001) ;** Bakers' yeast, a model for fungal biofilm formation. *Science* 291: 878–881.
- **Rose, A. H. and J. S. Harrison (1971),** "The Yeast. Vol. 2: Physiology and biochemistry of yeasts," in, Academic Press
- **Russell, I. (2003),** "Understanding yeast fundamentals," in "The Alcohol Text Book 4th Edition," Nottingham University Press, K. A. Jacques, T. P. Lyons and D. R. Kelsall: 85-119.
- **Ramage G, Saville SP, Wickes BL & Lopez-Ribot JL (2002)** Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum sensing molecule. *Appl Environ Microbiol* 68:5459–5463.

S

- **Sabouraud R. (1892).** *Ann. Dermatol. Syphil.* 3: 1061-1087.
- **Smukalla S, Caldara M, Pochet N et al. (2008)** FLO1 is a variable green beard gene that drives biofilm-like cooperation in budding yeast. *Cell* 135: 726–737.
- **Salvado, Z., F.N. Arroyo-Lopez, J.M. Guillamon, G. Salazar, A. Querol, et E. Barrio. (2011)** Temperature adaptation markedly determines evolution within the genus *Saccharomyces*. *Applied and environmental microbiology.* 77:2292-2302
- **Sanchez Gonzalez, Y. (2008).** *Etude de l'adaptation et de la gestion de l'activité cellulaire dans un bioréacteur biétagé: intensification de la production d'éthanol.* Université de Toulouse. INSA de Toulouse. Retrieved from http://eprint.insatoulouse.fr/archive/00000247/01/Sanchez_Gonzalez.pdf
- **Sherman F. (1991).** *Meths. Enzymol.* 194, 3

- **Sivakumar G., Vail D. R., Xu J., Burner D. M., Lay J. O., et al.(2010)**Bioethanol and biodiesel: Alternative liquid fuels for future generations. *Eng. Life Sci.* 10: 8–18
 - **Skjevrak I, Lund V, Ormerod K & Herikstad H (2005)** Volatile organic compounds in natural biofilm in polyethylene pipes supplied with lake water and treated water from the distribution network. *Water Res* 39: 4133-4141.
 - **Stovicek V., Vachova L., Kuthan M., Palkova Z., (2010).** General factors important for the formation of structured biofilm-like yeast colonies. *Fungal Genet. Biol.* 47: 1012–1022.
 - **Stoodley P, Sauer K, Davies DG & Costerton J W (2002)** Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 56 :187 -209.
 - **Suarit, R., Gopal, P.K., et Sherped, M.G., (1988).** Evidence for a glycosidic linkage between chitin and glucan in the cell wall of *Candida albicans*. *J. Gen. Microbiol*, 134, pp 2359 - 2368.
-

T

- **Thanh Vu Nguyen. (2006).** *Lipomyces orientalis* sp. Nov., a yeast species isolated from soil in Vietnam. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 56: 2009-2013
 - **Thuriaux, P. (2004)** La levure: les organismes modèles, Coll. Belin sup sciences
 - **Torregrossa M, Di Bella G & Di Trapani D (2012)** Comparison between ozonation and the OSA process: analysis of excess sludge reduction and biomass activity in two different pilot plants. *Water Sci Technol* 66: 185-192. *Life reef from the Early Archaean era of Australia. Nature* 441: 714-718
 - **Tortora, G.J., et Anagnostakos, N.P., (1987).** Principes d'anatomie et de physiologie. Ed. INC, 5^{ème} édition, pp 688 - 693.
-

V

- **Vachova L., Stovicek V., Hlavacek O., Chernyavskiy O., Stepanek L., et al. (2011)** Flo11p, drug efflux pumps, and the extracellular matrix cooperate to form biofilm yeast colonies. *J. Cell Biol.* 194: 679–687

- **Van Hoek, van Dijken JP, and Pronk (2000).** Regulation of fermentative capacity and levels of glycolytic enzymes in chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microb. Technol.* 26, 724–736
- **Verstrepen K. J., Klis F. M., (2006)** Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Mol. Microbiol.* 60: 5–15
- **Verstrepen K. J., Reynolds T. B., Fink G. R., (2004)** Origins of variation in the fungal cell surface. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 533–540
- **Verstrepen K. J., Derdelinckx G., Verachtert H., Delvaux F. R., (2003)** Yeast flocculation: what brewers should know. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61: 197–205
- **Viudes A, Peman J, Canton E, Ubeda P, Lopez-Ribot JL & Gobernado M (2002)** Candidemia at a tertiary-care hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 21: 767-774.
- **Verstrepen, K.J.; Klis, (2006)** F.M. Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. *Mol. Microbiol.* 2006, 60, 5–15.

W

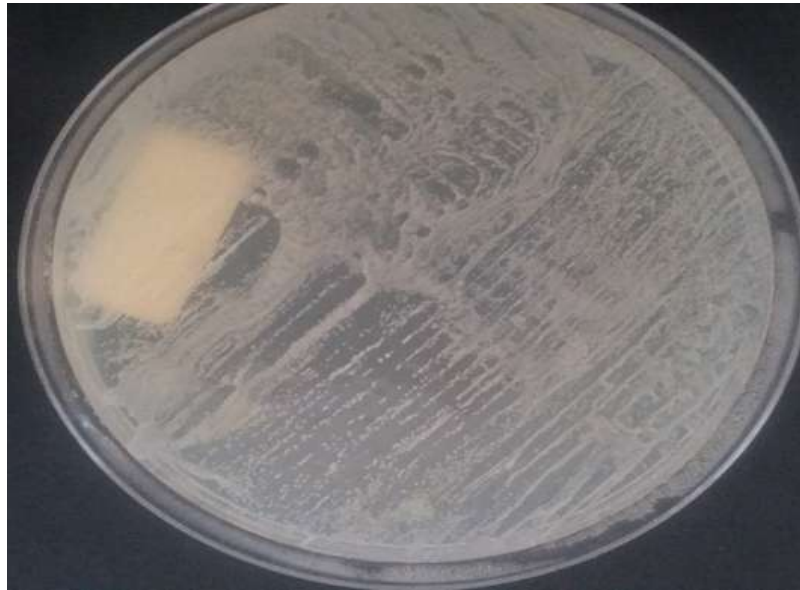
- **Wosten, H.A. (2001),** Hydrophobins: Multipurpose proteins. *Annu. Rev. Microbiol.* 55, 625–646. Neelson KH, Platt T & Hastings JW (1970) Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol* 104: 313–322

Annexes 1: Préparation de solutions et milieux de culture

Annexe 1.1 : Potato Dextrose Agar (PDA)	
• Pomme terre.....	200g
• Glucose	20g
• Agar.....	20g
• Eau distillée.....	1000ml
Annexe 1.2 : Bouillon de Sabouraud	
• Poudre Sabouraud.....	7.5 g
• Eau distillée	250 ml
Annexe 1.3 : milieu YPD (Yeast Peptone Dextrose) 2%	
• Glucose.....	4g
• Eau distillées.....	200 ml
• Peptone	4g
• Extrait de levure	2g
Annexe 1.4 : milieu YPD (Yeast Peptone Dextrose) 0.2%	
• Glucose.....	0.4g
• Eau distillées.....	200 ml
• Peptone	4g
• Extrait de levure	2g
Annexe 1.5 : Cristal violet (1%)	
• Cristal violet.....	1 g
• Eau distillée.....	100 ml
Annexe 1.6 : Solution éthanol-acétone (75 : 25)	
• Ethanol.....	75 ml
• Acétone	25 ml



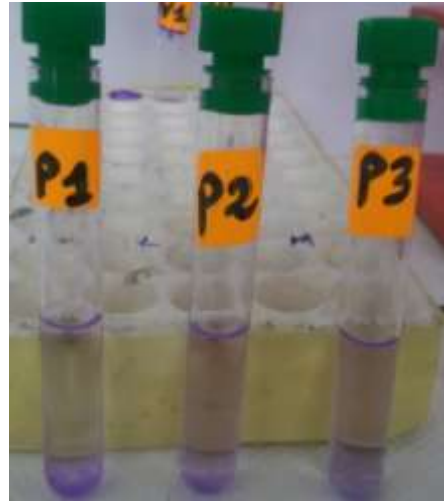
Annexes 2 : Culture de *Saccharomyces cerevisiae*

Annexe 2.1 : Culture de *Saccharomyces cerevisiae* sur PDA.






Annexes 3 : Détection de la formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae* après coloration au CV



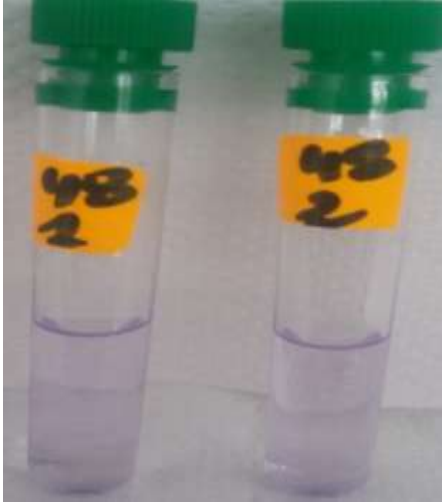
Annexe 3.1. : Culture en Bouillon de Sabouraud après 24 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		




Annexe 3.2. : Culture en Bouillon YDP à 2% de glucose après 24 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		




Annexe 3.3. : Culture en Bouillon YDP à 2% de glucose après 48 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		




Annexe 3.4. : Culture en Bouillon YDP à 2% de glucose après 72 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		

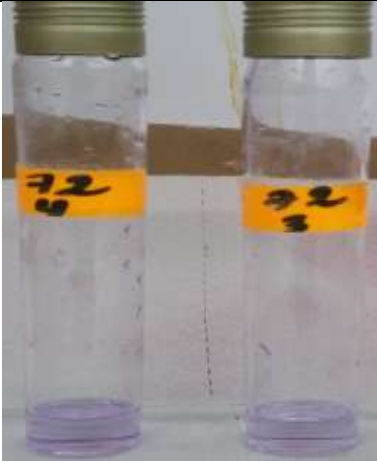


Annexe 3.5. : Culture en Bouillon YDP à 0,2% de glucose après 24 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		

Annexe 3.6. : Culture en Bouillon YDP à 0,2% de glucose après 48h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		

Annexe 3.7. : Culture en Bouillon YDP à 0,2% de glucose après 72 h d'incubation

Tube à essai en verre	Tube à hémolyse en verre	Tube à hémolyse en polystyrène
		

Résumé

Un biofilm peut se définir par deux critères ; des cellules microbiennes adhérentes à une surface inert ou vivante et production d'une matrice extracellulaire

Saccharomyces cerevisiae, eucaryote faisant partie du groupe des champignons, occupe une place privilégiée dans les activités industrielles. Elle est utilisée pour la production de boissons et produits fermentés et joue un rôle très important dans l'industrie agroalimentaire comme agent de fermentation et pour l'élaboration de produits dérivés. C'est un organisme formidable pour l'étude presque de tous les aspects moléculaires et de la biologie cellulaire chez les eucaryotes. Cela inclus également l'adhésion et la formation de biofilms fongiques.

L'objectif de ce travail vise à étudier l'adhésion de la levure *S. cerevisiae*, à deux types de supports inertes et d'évaluer la formation du biofilm selon la méthode de coloration au CV. En outre, une étude a été réalisée dans le but de mettre en évidence l'effet de milieu de culture, la concentration de glucose ainsi que la période d'incubation sur l'adhésion de *S. cerevisiae*.

Les résultats obtenus ont montré, d'un part, que cette levure adhère fortement sur le verre. D'autre part, la faible concentration de glucose a permis une augmentation significative de biofilm formés mais seulement après 24 heures d'incubation, après une diminution de la formation de biofilm a été constatée.

Il a été également observé que la formation de biofilm chez *S. cerevisiae* a été beaucoup influencée par le milieu de culture utilisé. Après 24 heures d'incubation, *S. cerevisiae* a exprimé une forte adhésion en milieu YPD dans les tubes à essai en verre alors qu'en bouillon SAB, elle a donné un biofilm important au niveau des tubes à hémolyse (verre et polystyrène).

En définitive, la capacité de *S. cerevisiae* à former des biofilms peut contribuer à mieux survivre sous conditions stressantes et peut également affecter une série de processus importants en industrie.

Mots-clés : Biofilm, *Saccharomyces cerevisiae*, bouillon SAB, bouillon YPD, glucose, verre, polystyrène.

Summary

A biofilm can be defined by two criteria : microbial cells adhering to an inert or living surface and producing matrix.

Saccharomyces cerevisiae a eukaryote belonging to the group of fungi, occupies a privileged position in industrial activities. It is used for the production of beverages and fermented products and plays a very important role in the food industry as a fermentation agent and for the study of almost all molecular aspects and cell biology in eukaryotes .

This also includes the adhesion and formation of fungal biofilms, The objective of this work is to study the adhesion of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to two types of inert carriers and evaluate the formation of the biofilm according to the CV staining method. In vitro ; a study was carried out in order to highlight the effect of culture medium ; glucose concentration and incubation period on *S. cerevisiae* adhesion.

The results obtained showed, on the one hand, that this yeast strongly adheres to the glass .on the other hand, the low glucose concentration allowed a significant increase of biofilm formation but only 24 hours of incubation, after a decrease in biofilm formation was observed.

It was also observed that *Saccharomyces cerevisiae* biofilm formation was strongly influenced by the culture medium used .After 24 hours of incubation, *Saccharomyces cerevisiae* expressed a strong adhesion in YPD medium in the glass test tubes, whereas in SAB broth, it gave an important biofilm in the hemolysis.

Ultimately, *S.cerevisiae* ability to form biofilms can contribute to better survival under stressful conditions and can also affect a variety of important processes in the industry.

Key words : Biofilm, *Saccharomyces cerevisiae*, broth SAB, broth YPD, glucose, glass, polystyrene.

يمكن تعريف البيو فيلم بمعيارين : الخلايا ميكروبية ملتصقة بسطح حامل حي او جامد و تنتج مصفوفة خارج الخلية و تحتل *Saccharomyces cerevisiae* من مجموعة الفطريات حقيقيات النواة.

ولديها مكانا متميزا في الانشطة الصناعية و تستخدم في انتاج المشروبات و المنتجات المخمرة و تلعب دورا مهما جدا في صناعة الاغذية كعامل تخمر, هي افضل كائن حيوي لدراسة جميع الجوانب الجزئية و بيولوجيا الخلية في حقيقيات النواة كما يتضمن التصاق و تشكيل الاغشية الحيوية.

الهدف من هذا العمل هو دراسة الخميرة الى نوعين من الناقلات الخاملة و تقييم تكوين الاغشية الحيوية وفقا

طريقة كريستال البنفسجي و قد تم تنفيذ الدراسة في تسليط الضوء على تأثير وسط الزرع و تركيز الجلوكوز و فترة لحضانة على التصاق الخميرة المدروسة.

و اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها , و من جهة هذه الخميرة تلتصق بشدة بالزجاج , من ناحية اخرى سمح تركيز الجلوكوز المنخفض بزيادة كبيرة في البيو فيلم المتكون.

لوحظ ايضا ان تكوين الاغشية الحيوية البيولوجية قد تتأثر بشدة بوسط الزرع المستخدم و بعد 24 ساعة من الحضانة

اكدت النتائج ان الوسط خميرة دكستروز اجار في انابيب اختبار الزجاج اعطت اكبر نسبة التصاق بينما في المحلول SAB اعطت بيو فيلم هام في انابيب انحلال الدم (الزجاج او البوليسثيرين)

و يمكن ان تؤثر ايضا على مجموعة متنوعة من العمليات الهامة في ميدان الصناعة.

الكلمات المفتاحية:

Saccharomyces cerevisiae , بيوفيلم, محلول خميرة دكستروز اجار, جلوكوز, زجاج, بوليستيرين, محلول

.SAB

Thème : Etude de la formation de biofilm chez *Saccharomyces cerevisiae***diplôme : Domaine : Science de la nature et de la vie.**

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en : Mycologie et Biotechnologie Fongique.

Résumé

Un biofilm peut se définir par deux critères ; des cellules microbiennes adhérentes à une surface inerte ou vivante et production d'une matrice extracellulaire.

Saccharomyces cerevisiae, eucaryote faisant partie du groupe des champignons, occupe une place privilégiée dans les activités industrielles. Elle est utilisée pour la production de boissons et produits fermentés et joue un rôle très important dans l'industrie agroalimentaire comme agent de fermentation et pour l'élaboration de produits dérivés. C'est un organisme formidable pour l'étude presque de tous les aspects moléculaires et de la biologie cellulaire chez les eucaryotes. Cela inclus également l'adhésion et la formation de biofilms fongiques.

L'objectif de ce travail vise à étudier l'adhésion de la levure *S. cerevisiae*, à deux types de supports inertes et d'évaluer la formation du biofilm selon la méthode de coloration au CV. En outre, une étude a été réalisée dans le but de mettre en évidence l'effet de milieu de culture, la concentration de glucose ainsi que la période d'incubation sur l'adhésion de *S. cerevisiae*.

Les résultats obtenus ont montré, d'un part, que cette levure adhère fortement sur le verre. D'autre part, la faible concentration de glucose a permis une augmentation significative de biofilm formés mais seulement après 24 heures d'incubation, après une diminution de la formation de biofilm a été constatée.

Il a été également observé que la formation de biofilm chez *S. cerevisiae* a été beaucoup influencée par le milieu de culture utilisé. Après 24 heures d'incubation, *S. cerevisiae* a exprimé une forte adhésion en milieu YPD dans les tubes à essai en verre alors qu'en bouillon SAB, elle a donné un biofilm important au niveau des tubes à hémolyse (verre et polystyrène).

En définitive, la capacité de *S. cerevisiae* à former des biofilms peut contribuer à mieux survivre sous conditions stressantes et peut également affecter une série de processus importants en industrie.

Mots clés : *Saccharomyces cerevisiae*, biofilm, bouillon SAB, bouillon YPD, glucose, verre, polystyrène**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Microbiologie (RDC), Faculté de Science de la Nature et de la Vie.**Jury d'évaluation :**

Président du jury : *LEGHLIMI Hind* (MCB - UFM Constantine).
Rapporteur : *BOUHLOUKH Warda* (MAA - UFM Constantine).
Examineur : *MERIANE Ilhem* (MAA - UFM Constantine).

Date de soutenance : 25/06/2018

