

Corrélation des variations morphologiques de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 avec la prise du glucose

Mustapha MEZIANE¹□, Anne LAGRANGE² & Patrice BRACQUART²

(Reçu le 17/11/1997 Révisé le 01/04/1998 ; Accepté le 14/05/1998)

تتأسق بين التشكيلات البنيوية عند "ستريبتوكوكيس ساليفارييس" ونسبة أخذ الكليكون

تناولت هذه الدراسة تحديد نسبة استيعاب الكليكون عند ثلاث أشكال الجذمة "تريموفيليس، thermophilus" وذلك حسب نوعية السكر المتواجد في وسط النمو ومدة الحضانة بالإضافة إلى الكليكون المرسوم بـ "C14"، أظهرت النتائج أن استيعاب الكليكون يتغير حسب نوعية الجذمة وحسب مبعث الطاقة الموجودة في الوسط، كما أظهرت أن تأثير الموانع الإستقلابية وفعالية أخذ الكليكون و المنافسين الإستقلابيين له يوضح أن نسق أخذ الكليكون لا علاقة له ببنيوية الجذمة، وهذا النسق حيوي من نوع - PEP-PTS.

الكلمات المفتاحية : ستريبتوكوكيس - الجذمة - أخذ الكليكون - PEP-PTS

Corrélation des variations morphologiques de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 avec la prise du glucose

La présente étude a porté sur la détermination du taux de prise du glucose chez trois variants morphologiques de la souche CNRZ 368 de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368, en fonction du glucide de culture et du temps d'incubation en présence du glucose marqué au ¹⁴C. Ceci a permis de mettre en évidence une variabilité de la prise du glucose en fonction à la fois de la source d'énergie préalable et du variant. Par contre, les résultats de l'effet de l'action des inhibiteurs et les compétiteurs métaboliques du glucose démontrent que le système de prise du glucose n'est pas en relation avec le type du variant. Il s'agit d'un système actif de type phosphoenolpyruvate phosphotransférase PEP-PTS.

Mots clés : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* - Variant - Prise du glucose - PEP-PTS

Correlation between morphological variability in *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 and glucose uptake

The present study examines the effect of the source energy and the time of incubation on glucose¹⁴C uptake by different variants of species CNRZ 368 of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Evidence variability has been observed with glucose uptake, energy source and different variants. No correlation was obtained by studies with energy poisons and competitor uptake between its system uptake and the morphological variants. The glucose was taken by phosphoenolpyruvate phosphotransferase (PEP-PTS) system.

Key words : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* - Variant - Glucose uptake - PEP-PTS

¹ Université Mohammed Premier, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Oujda

² Université de Nancy I, Laboratoire de Biochimie Appliquée (Associé à l'INRA) 54 506 Vandoeuvre les Nancy Cedex France

INTRODUCTION

Le passage d'un substrat à travers la membrane cellulaire est une condition nécessaire pour son métabolisme. De nombreuses auxotrophies sont dues à des déficiences des mécanismes de transport. Les mécanismes mis en jeu sont complexes et variables. Les phénomènes impliqués dans le transport, en particulier énergétique, sont mal élucidés. La clarification des mécanismes de transport chez différents genres bactériens a occupé, dans les années récentes, une place importante (Driessen *et al.*, 1987 ; 1989 ; Poolman *et al.*, 1987 ; Konings *et al.*, 1989). Le transport du lactose chez les lactocoques est, en général, assuré par le système phosphotransférase phospho-énolpyruvate dépendant (PEP-PTS) (Mc Kay *et al.*, 1969 ; Thomas *et al.*, 1980 ; Benthin *et al.*, 1993).

Contrairement aux lactocoques, les données bibliographiques concernant le métabolisme et le transport du lactose par *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* sont peu nombreuses et contradictoires. Hemme *et al.* (1980) par la mise en évidence d'une phospho- β -galactosidase et d'une β -galactosidase chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ont suggéré que la prise du lactose chez cette espèce fait intervenir deux types de systèmes : un type perméasique et l'autre type PEP-PTS. Tinson *et al.* (1982) et Greenberg & Mahoney (1982) n'ont pas retrouvé d'activité phospho- β -galactosidase chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* et ont suggéré que le transport du diholoside ne fait intervenir qu'un seul système de type perméasique. Tinson *et al.* (1982) assimilent l'activité phospho- β -galactosidase suggérée par Hemme *et al.* (1980) à une activité phosphatasique. Meziane *et al.* (1997a) ont adopté une autre stratégie pour l'étude de la perméation du lactose chez des variants morphologiques de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus*.

Cette méthode a porté sur l'inhibition sélective des systèmes qui peuvent intervenir dans le transport du lactose. On a abouti à la même conclusion que Poolman *et al.* (1989 ; 1990), qui ont étudié le gène *lac S* du transport du lactose chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* A147, concernant le mécanisme de transport du diholoside chez ce micro-organisme.

Si le métabolisme du lactose chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* a été peu étudié, celui du glucose l'a été encore moins. Une faible activité PEP-PTS pour le transport de cet ose a été mise en

évidence chez la souche CNRZ 302 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* (Benateya *et al.*, 1986). Tinson *et al.* (1982) ont observé une inhibition de la synthèse de la β -galactosidase quand le glucose est additionné à des cellules de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* en culture sur milieu lactosé. Par contre, Hemme *et al.* (1980) ont suggéré que le glucose entraîne une synthèse accrue des enzymes métabolisant le lactose. De même, Poolman *et al.* (1989) ont montré que la présence du glucose chez des cellules d'*E. coli* transformées par le gène responsable du transport du lactose chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, stimule la prise du diholoside. Meziane *et al.* (1997a) ont montré qu'une culture préalable sur milieu glucosé stimule la prise du lactose.

Dans ce travail, on se propose de vérifier l'existence d'une corrélation entre la morphologie cellulaire de trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* et le système de prise du glucose ou son catabolisme, d'une part, et d'élucider le potentiel énergétique de la prise du glucose chez les trois variants, d'autre part.

MATÉRIEL & MÉTHODES

• Souches

Trois variants morphologiques ont été isolés à partir de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 (Pebay *et al.*, 1987 ; Meziane *et al.*, 1997b).

- le variant D12 présente des colonies transparentes à bord irrégulier. Les cellules de ce variant sont sous forme de batonnets à bords pointus ;
- le variant OM présente des colonies à centre opaque et à bord transparent. Les cellules de ce variant se présentent sous forme de chaînes, chaque élément a la forme d'une sphère ovoïde ;
- le variant D31 montre des colonies circulaires d'opacité constante, les cellules de ce variant ressemblent à celles de D31 avec des chaînes beaucoup plus longues.

• Culture

Les cultures sont réalisées dans le milieu TPPY liquide composé de 7 g de tryptose (T), 7 g de protéose peptone (PP), 2 g d'extrait de levure (Y), 20 g de lactose ou de glucose, 1 litre d'eau distillée (Bracquart, 1981). La culture est inoculée avec 1% d'une préculture d'une nuit dans le lait reconstitué à 10% incubée à 42°C.

• Prise du glucose

Le glucose marqué au ^{14}C a été aimablement fourni par Amersham (Angleterre). La radioactivité du glucose a été de $2,06 \text{ Bq.mmol}^{-1}$. Les dilutions ont été réalisées à $0,2 \text{ mM}$ dans des solutions aqueuses de glucose non marqué. Pour la détermination des constantes de Michaelis, une gamme de concentration comprise entre $0,02$ et $0,3 \text{ mM}$ a été effectuée.

Pour l'essai de prise du glucose, la croissance est arrêtée au cours de la phase exponentielle, les cellules sont centrifugées à $5000g$ à 4°C puis lavées deux fois avec un tampon $\text{Tris-H}_2\text{SO}_4$ 50 mM , $\text{pH } 7$. Le culot est remis en suspension dans un volume de tampon à une concentration finale de 1 mg de cellules (poids sec) par ml. 1 ml de suspension cellulaire est mélangée à $100 \mu\text{l}$ de tampon $\text{Tris-H}_2\text{SO}_4$ 50 mM , $\text{pH } 7$, et incubé à 42°C pendant 10 min . La réaction démarre dès l'addition de $100 \mu\text{l}$ de la solution du glucose marqué. Après l'incubation, $400 \mu\text{l}$ du milieu réactionnel sont prélevées et filtrées sur filtre Millipore, de porosité $0,45 \mu\text{m}$. Le filtre est lavé deux fois rapidement avec 5 ml de tampon $\text{Tris-H}_2\text{SO}_4$ 50 mM , $\text{pH } 7$, séché sommairement et mis dans une fiole à compter. Un volume de 10 ml de liquide à scintillation ACS (Aqueous Counting Scintillant Amersham) est ajouté.

Pour chaque essai, une aliquot de $400 \mu\text{l}$ du milieu réactionnel est prélevé pour déterminer la quantité exacte de radioactivité présente initialement. Le comptage est effectué deux fois pendant 5 min . dans un compteur à Scintillation (BEMATIC V, Kontron). La quantité de glucose absorbé est déterminée par le nombre de coups par minute rapporté à la quantité de radioactivité totale.

• Activité PEP-PTS

La méthode de Kornberg & Reeves (1972) modifiée par Vadeboncoeur & Trahan (1982) est utilisée. La culture cellulaire est arrêtée au cours de la phase de croissance exponentielle et centrifugée à $5000 g$ pendant 5 min à 4°C .

Le culot est lavé deux fois avec le tampon phosphate de potassium 50 mM , $\text{pH } 7$ contenant 5 mM de 2 mercaptoéthanol et conservé par congélation à -20°C pour un dosage ultérieur. Après décongélation, les cellules sont diluées ($0,2 \text{ g}$ de poids sec/ml) dans le tampon phosphate de sodium 25 mM , $\text{pH } 7$ puis traitées au toluène ($0,05 \%$ V/V); la suspension cellulaire est incubée 20 min à 42°C .

Le dosage enzymatique est réalisé avec $100 \mu\text{l}$ de suspension cellulaire dans le milieu réactionnel suivant : NADH (SERVA) $0,5 \text{ mM}$; tampon phosphate de sodium 50 mM $\text{pH } 7$; PEP (SERVA) 2 mM ; NaF 10 mM ; 2 mercaptoéthanol 5 mM et 3 unités de lactate déshydrogénase (SERVA).

La réaction démarre par addition de glucose (concentration finale 5 mM) et la vitesse d'oxydation du NADH à 340 nm est enregistrée pendant 10 min à 42°C à l'aide d'un spectrophotomètre Kontron.

• Compétiteurs métaboliques

Les $100 \mu\text{l}$ du tampon du milieu réactionnel, lors de la prise du glucose, sont remplacés par $100 \mu\text{l}$ de compétiteur. Ce dernier est ajouté en même temps que le glucose marqué au ^{14}C .

• Inhibiteurs métaboliques

Pour comprendre le processus énergétique qui intervient dans le transport du glucose, on a utilisé trois catégories d'inhibiteurs métaboliques:

- Ionophores : substances qui dissipent le potentiel électrochimique membranaire et provoquent un découplage du mouvement ionique des protons et du glucide (Kashket & Wilson, 1972; 1973). Les ionophores utilisés dans ce travail, le carbonylcyanide-*m*-chlorophénylhydrazone (CCCP) qui transporte les protons (Cecchini & Koch, 1975) et le 2,4-dinitrophénol (DNP).
- Inhibiteurs de la glycolyse : l'acide iodoacétique (IAA) est bien connu pour son action inhibitrice spécifique de la glyceraldéhyde déshydrogénase (EC.1.2.1.1.2), enzyme catalysant la phosphorylation du 3-phosphoglyceraldéhyde en 1,3-diphosphoglycérate (Thompson, 1978). L'inhibition de cette voie entraîne un déclin de la concentration intracellulaire en ATP. D'autre part, le fluorure de sodium, inhibiteur spécifique de l'énolase (Cimazoni, 1972 ; Belli *et al.*, 1995), bloque la synthèse du phosphoénolpyruvate (PEP) à partir du 2-phosphoglycérate.
- Inhibiteurs de l'ATPase membranaire : le N,N'-dicyclohexyl carbodiimide (DCCD) et la chlorohexidine.

L'inhibiteur métabolique est ajouté 5 min . avant l'ajout du glucose radioactif. Les $100 \mu\text{l}$ du tampon du milieu réactionnel lors de l'essai de prise du glucose sont remplacés par $100 \mu\text{l}$ d'inhibiteur métabolique.

RÉSULTATS

• Relation de la prise du glucose avec le type du variant

Une variabilité assez importante entre les trois variants pour la prise du glucose est notée (Figure 1). On observe un maximum de prise du glucose quand les cellules sont préalablement cultivées sur cet ose qui est de 0,85 μmol par mg de poids sec pour OM ; 1,76 pour D12 et 2,30 pour D31. La prise du glucose est aussi en relation avec le glucide du milieu de culture.

En effet, les cellules préalablement cultivées sur milieu glucosé montrent une prise de cet ose plus forte que celles provenant du milieu lactosé. Les variants OM et D12 ont une prise du glucose 1,5 et 1,9 fois plus élevée respectivement. Cette stimulation est nettement plus marquée chez D31 où la prise du glucide est 6,4 fois plus élevée que quand les cellules de ce variant proviennent du milieu lactosé. Les cellules préalablement cultivées en présence du glucose utilisent ce glucide avec une vitesse plus rapide que celles qui proviennent du milieu lactosé (Figure 1).

• Cinétique de la prise du glucose

Du fait de la faible prise du glucose chez les cellules recueillies à partir du milieu lactosé, les paramètres cinétiques de la prise de glucose ne sont déterminés que chez les cellules préalablement cultivées en présence de cet ose.

La représentation de Lineweaver et Burk (Figure 2) montre que le système de prise du glucose chez les trois variants a les caractéristiques d'une cinétique michaelienne et permet de déterminer les constantes K_t et V_{max} (Tableau 1).

La vitesse maximale de prise du glucose chez les trois variants est pratiquement la même et ne dépend pas du type de variant, contrairement à la constante d'affinité K_t qui en dépend.

En effet, le variant OM a une constante d'affinité pour cet ose 7 fois supérieure à celle de D31 et D12.

Cette constatation expliquerait au moins en partie pourquoi ce variant est moins actif pour le métabolisme de ce substrat (Meziane *et al.*, 1997 b). Les trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. Salivarius* subsp. *thermophilus* semblent avoir

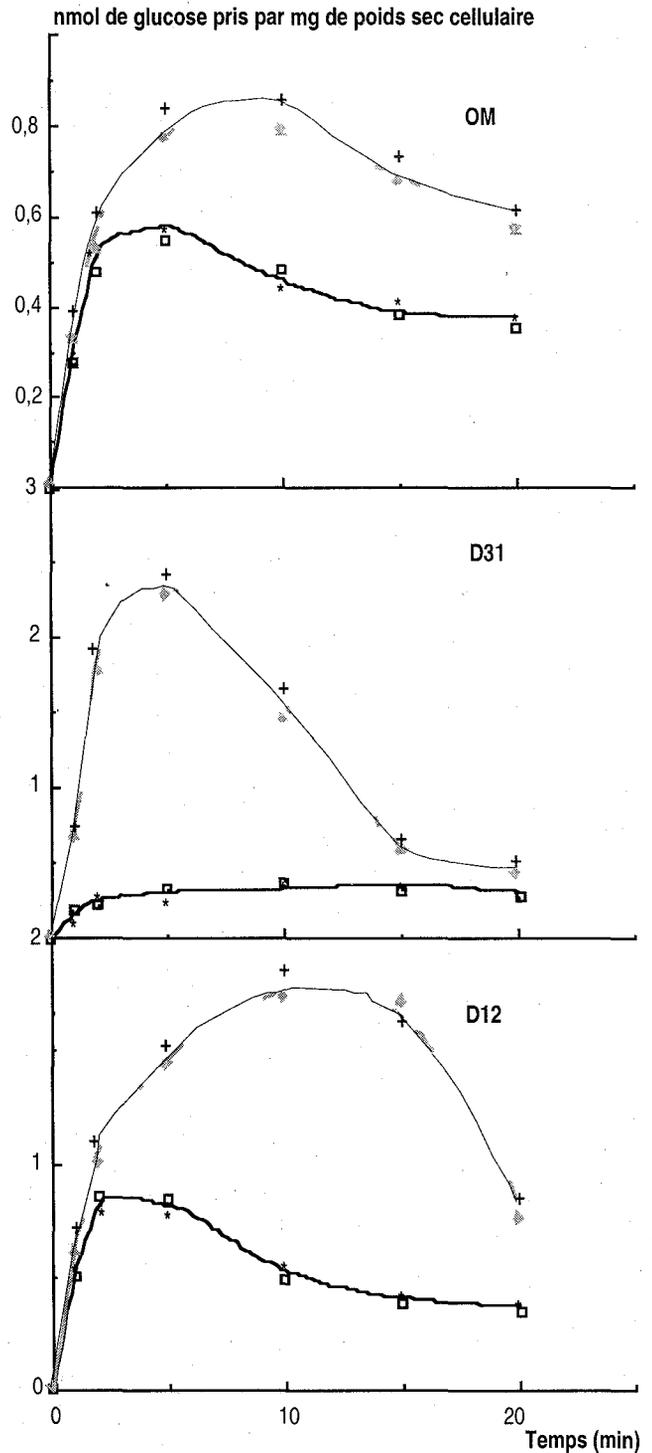


Figure 1. Prise du glucose en fonction du temps et du glucide de culture

* □ : culture sur lactose ; + ♦ : culture sur glucose

chacun un seul système de transport du glucose (coefficient de corrélation supérieur ou égal à 0,98); cependant il reste à vérifier s'ils font intervenir le même système de prise de cet ose.

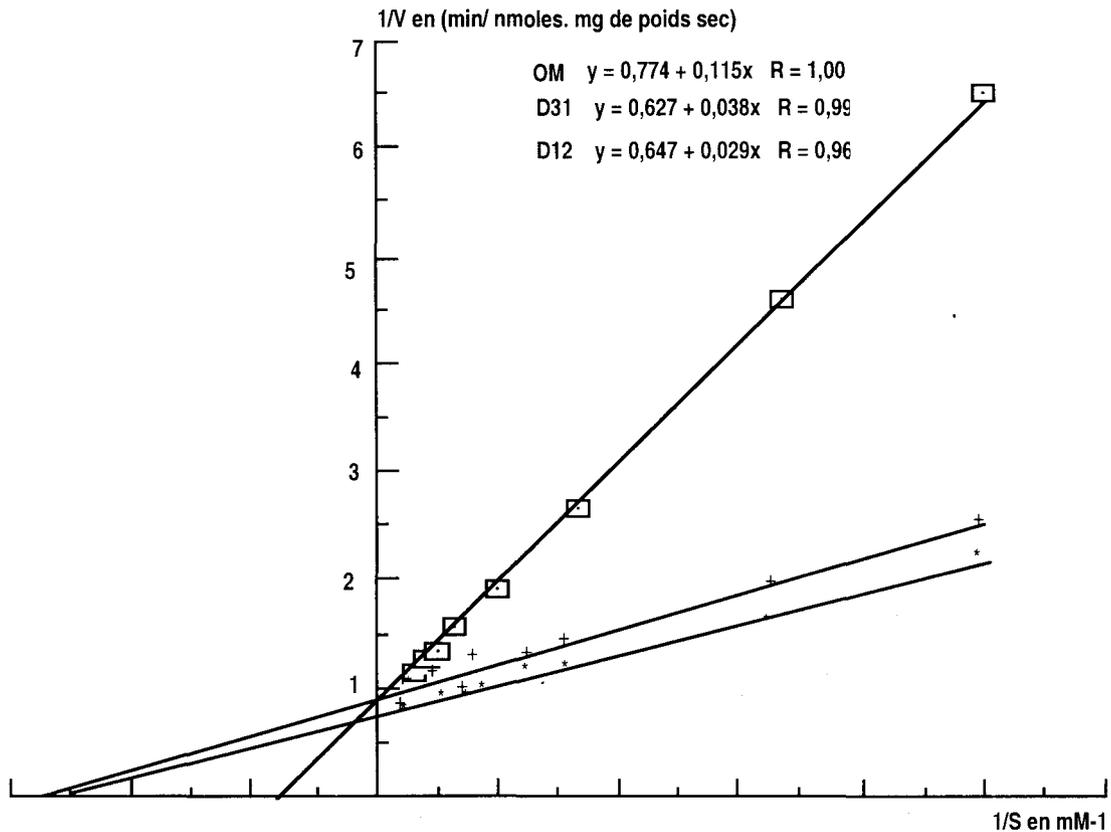


Figure 2. Cinétique de prise du glucose à 1 minute par les variants OM(□), D31(+) et D12(*) de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368. Culture préalable sur TPPY glucosé

Tableau 1. Paramètres cinétiques de prise du glucose chez les variants OM, D31 et D12 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* préalablement cultivés sur milieu TPPY glucosé

Paramètres	Variants		
	OM	D31	D12
K_i	140	20	20
V_{max}	1,29	1,59	1,54

(K_i , exprimée en μM et V_{max} en nmol de glucose pris par minute et par mg de poids sec cellulaire)

• Action des inhibiteurs

Afin de comprendre le processus énergétique qui intervient dans le transport du glucose, on a utilisé quatre catégories d'inhibiteurs métaboliques classés selon leur cible d'action :

- Ionophores (CCCP, DNP) : dans ce cas, la présence du carbonylcyanide-m-chlorophénylhydrazone (CCCP) ou du 2,4-dinitrophénol (DNP) n'interfère en rien sur la prise du glucose chez les variants OM, D31 et D12 (Tableau 2).
- Inhibiteurs de la glycolyse (IAA, NaF) : une faible action inhibitrice de l'acide iodoacétique est

observée. Elle est de 5% pour OM, 8% pour D31 et 12% pour D12. D'autre part, le fluorure de sodium montre une forte action inhibitrice de la prise du glucose. Elle est de 47% chez le variant OM, 28% chez D31 et 22% chez D12 (Tableau 2).

Tableau 2. Pourcentage de l'activité résiduelle de prise du glucose en présence d'inhibiteurs métaboliques pour les variants OM, D31 et D12 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* (Culture préalable sur TPPY glucosé ; Temps de prise 5 min)

Inhibiteurs	Concentration (mM)	Activité résiduelle (%)		
		OM	D31	D12
DNP ¹	0,9	105	103	107
CCCP ²	1	100	98	104
IAA ³	1	95	92	88
NaF ⁴	10	53	72	78
Chlorohexidine	0,24	102	98	104
DCCD ⁵	0,002	99	96	97

1= 2,4 dinitriphénol ; 2= carbonyl-m-chlorophénylhydrazone ; 3=acide iodoacétique ; 4=fluorure de sodium ; 5=N,N'-dicyclohexylcarbodiimide

- Inhibiteurs de l'ATPase membranaire (DCCD) : le N,N'-dicyclohexyl carbodiimide (DCCD) et la chlorohexidine n'ont pas eu d'action inhibitrice sur la prise du glucose chez les trois variants morphologiques de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ; l'ATPase n'est pas donc exigée pour le transport du glucose chez ces variants.

• Activité PEP-PTS

Chez les trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, une activité phosphoénolpyruvate phosphotransférase (PEP-PTS) glucose dépendant est détectée (Tableau 3). On note que l'activité glucose PEP-PTS ne varie pas en fonction du variant étudié et semble être indépendante du glucide de culture.

Tableau 3. Activité PEP-PTS exprimée en μmol de NADH oxydées par min par mmol de substrat et par mg de poids sec cellulaire

Glucide de culture	Variants.....		
	OM	D31	D12
Glucose	14,2	19,4	15,3
Lactose	12,2	15,1	14,1

• Action des compétiteurs métaboliques

On a étudié l'effet de l' α -méthylglucoside (α MG) et du 2-désoxyglucose (2-DG) sur la prise du glucose chez OM, D31 et D12. Ces composés n'ont pas d'effet sur la prise de cet ose (Tableau 4).

Tableau 4. Résultats de deux essais de prise du glucose en présence de compétiteurs à 2mM par les variants OM, D31 et D12 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368

Compétiteurs	Variants.....					
	----OM----		---D31---		---D12---	
α MG (%)	95	89	106	114	98	89
2DG (%)	114	110	108	116	99	91

DISCUSSION

Les voies du métabolisme des glucides par les bactéries lactiques sont connues depuis longtemps. Le mécanisme de transport des différents glucides a été identifié après (Mason *et al.*, 1981 ; Thompson & Torchia, 1984 ; Lohmeier-vogel *et al.*, 1986 ; Fordyce *et al.*, 1984 ; Sutton & Marquis, 1987).

Dans un transport actif, les glucides sont accumulés à l'intérieur de la cellule sous forme libre et séquentiellement phosphorylés par une kinase ATP dépendante ou sont phosphorylés simultanément par le biais du système phosphoénolpyruvate phosphotransférase (PEP-PTS). Dans ce dernier cas, le PEP fournit le lien décisif entre le transport et la production d'énergie par les réactions PTS. Chez les trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, une inhibition de la synthèse du phosphoénolpyruvate à partir du 2-phosphoglycérate se traduit par une forte déplétion du taux de glucose pris par la cellule. De même, On a pu constater chez les trois variants étudiés que la prise du glucose n'est pas affectée même si les cellules ne disposent pas d'ATP intracellulaire produit à partir du catabolisme du glucide transporté. Par ailleurs, la présence d'ionophores n'interfère pas avec la prise du glucose. Ceci signifie que la force motrice protonique n'intervient pas dans la prise de cet ose. En conséquence, l'inhibition sélective des systèmes énergétiques chez les variants OM, D31 et D12 conduit à supposer que la prise du glucose fait intervenir principalement un système PEP-PTS. Ce résultat corrobore la mise en évidence d'un tel système par le dosage enzymatique.

Le système PEP-PTS chez *L. lactis* joue un rôle physiologique très important. En effet, le contrôle fin du PEP est capital. Si le PEP devait entièrement être utilisé par la pyruvate kinase pour participer à la synthèse de l'ATP, alors le transport des glucides à travers le système PTS cesserait. De plus, l'utilisation incontrôlée de PEP par le système PTS pourrait entraîner l'accumulation de hauts niveaux de glucides phosphorylés partiellement toxiques qui ne pourraient pas être métabolisés ultérieurement à cause de la limitation d'ATP (Kashket, 1981 ; Konings & Otto, 1983).

L'étude des paramètres cinétiques de la prise du glucose laisse supposer que les trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ne font intervenir qu'un seul système pour la prise de cet ose. Cependant, pour s'assurer de l'inexistence d'un phénomène de diffusion facilitée, le meilleur moyen est de disposer d'abord de mutants des trois variants ayant perdu une protéine du système PEP-PTS (Enzyme EI ou protéine HPr commune du système PEP-PTS ou l'enzyme EII ou le facteur FIII spécifique au glucose chez *E. coli* (Simoni *et al.*, 1967)). Puis, en présence d'inhibiteurs de la première enzyme intervenant

dans le catabolisme du glucose (hexokinase), si un tel système de diffusion facilitée existe on devrait mettre en évidence du glucose marqué à l'intérieur de la cellule.

Si les trois variants font intervenir un système similaire pour la prise du glucose, la constante d'affinité pour cet ose dépendra du type de variant. En effet, le variant D12 et D31 ont plus d'affinité pour le glucose que le variant OM. Par conséquent, les différences entre OM, D31 et D12 pour la prise du glucose sont en corrélation avec des phénomènes de compétitivité au niveau du système de transport de cet ose (Weil *et al.*, 1990). Cette différence qui s'exerce au niveau de la modulation de l'affinité des protéines du système PTS nous amène à émettre l'hypothèse que les trois variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ont une différence dans la régulation du catabolisme du glucose. Cette différence aurait pour conséquence une variabilité dans les concentrations d'intermédiaires métaboliques entre les trois variants. Ceux-ci augmenteraient la constante d'affinité du système PTS pour le variant OM par rapport à D31 et D12.

En définitive, nos résultats montrent que les deux analogues du glucose non métabolisables, le 2-DG et l' α MG, n'ont pas d'action sur la prise du glucose. Auparavant, Vadeboncoeur & Trahan (1982) ont isolé un mutant spontané de *S. salivarius* ATCC 25975 déficient en système PEP-PTS spécifique à la fois pour la prise du glucose et du 2-désoxyglucose (2-DG). En plus, les mêmes auteurs ont mis en évidence un système PEP-PTS spécifique au glucose et à l' α -méthylglucoside (α MG) très actif chez la souche sauvage et le mutant spontané. Du fait du rapprochement de *S. salivarius* et de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* (Farrow & Collins, 1984) on a étudié l'effet de ces composés sur la prise du glucose. Le résultat obtenu permet de supposer que contrairement à *S. salivarius*, les variants de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* n'ont pas de système commun pour la prise du glucose et de l' α MG ou de glucose et de 2-DG.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Belli W.A., Buckley D.H. & Marquis R.E. (1995) Weak acid effects and fluoride inhibition of glycolysis by *Streptococcus mutans* GS-5. *Can. J. Microbiol.* 41 (9): 785 - 791
- Benateya A., Bracquart P. & Linden G. (1986) Perméation des glucides chez *Streptococcus thermophilus*. 1. Caractérisation du système de prise du lactose. Adaptation au lactose et au glucose. *Microbiol. Alim. Nut.* 4 : 253-264
- Benthin S., Nielsen J. & Willadsen J. (1993) 2 Uptake systems for fructose in *Lactococcus lactis* Subsp *Cremoris* FD1 produce glycolytic and gluconeogenic fructose phosphates and induce oscillations in growth and lactic acid formation. *Appl and Environn Microbiol.* 59 (10) : 3206 - 3211
- Bracquart P. (1981) An agar medium for the differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt. *J. Appl. Bacteriol.* 51 : 303-305
- Cecchini G. & Koch A.L. (1975) Effet of uncouplers on "Downhill" β -galactosidase transport in energy depleted cells of *E. coli*. *J. Bacteriol.* 123 : 187-195
- Cimazoni G. (1972) The inhibition of enolase by fluoride *in vivo*. *Caries Res.* 6 : 93-102
- Driessen A.J.M., De jong S. & Konings W.N. (1987) Transport of branched aminoacids in membrane vesicles of *Streptococcus cremoris*. *J. Bacteriol.* 169: 5193 - 5200
- Driessen A.J.M., Vanleeven C. & Konings W.N. (1989) Transport of basic aminoacids by membrane vesicles of *Lactococcus lactis*. *J. Bacteriol.* 171 : 1453- 1458
- Farrow J.A.E. & Collins M.D. (1984) DNA base composition, DNA-DNA homology and long chain fatty acid studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.* 130: 357-362
- Fordyce A.M., Crow V.L. & Thomas T.D. (1984) Regulation of product formation during glucose or lactose limitation in nongrowing cells of *Streptococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 332-337
- Greenberg N.A. & Mahoney R.R. (1982) Production and characterization of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.* 47 : 1824-1835
- Hemme D., Wahl D. & Nardi M. (1980) Variations de l'équipement enzymatique de *Streptococcus thermophilus*. *Lait* 60 : 111-129
- Kashket E.R. (1981) Proton motive force in growing *Streptococcus lactis* and *Streptococcus aureus* cells under aerobic and anaerobic conditions. *J. Bacteriol.* 146 : 369 - 376

- Kashket E. R., & Wilson T.H. (1972) Galactoside accumulation associated with ions movements in *Streptococcus lactis*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 49 : 615-620
- Kashket E. R. & Wilson T.H. (1973) Proton- coupled accumulation of galactoside in *Streptococcus lactis*. *Proc. Nat. Sci.* 70 : 2866-2869
- Konings W.N., Poolman B. & Driessen A.J.M. (1989) Bioenergetics and solute transport in lactococci. *CRC Critical Rev. Microbiol.* 16 : 419-476
- Konings W.N. & Otto R. (1983) energy transduction and solute transport in streptococci. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 49 : 247 - 257
- Kornberg H.L. & Reeves R.E. (1972) Inductible phosphoenolpyruvate dependant hexose phosphotransferase activities in *E. coli*. *Biochem. J.* 128 : 1339 - 1344
- Lohmeier-vogel E.M., Han-hagerdahl B. & Vogel H.S. (1986) Phosphorus 31NMR studies of maltose and glucose metabolism in *Streptococcus lactis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25 : 43 - 51
- Mason P.W., Carbone D.P., Cushman R.A. & Waggoner A.S. (1981) The importance of inorganic phosphate in regulation of energy metabolism of *Streptococcus lactis*. *J. Biol. Chem.* 256 : 1861 - 1866.
- Mckay L.L., Walter L.A., Sandine W.E. & Elliker P.R. (1969) Involvement of phosphoenolpyruvate in lactose utilization by group *N streptococci*. *J. Bacteriol.* 99 : 603-610
- Meziane M., Lagrange A., Belabed A. & Bracquart P. (1997a) Corrélation des variations morphologiques de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 avec la prise du lactose. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 17 (1) : 27 - 36
- Meziane M., Belabed A., Lagrange A., Asehraoui A. & Bracquart P. (1997b) Variations morphologiques et métabolisme glucidique chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 17 (2) : 83 - 94
- Pebay M., Guimont C., Bracquart P. & Linden G. (1987) About morphological variability in *Streptococcus thermophilus*. Second symposium on lactic acid bacteria, *FEMS Microbiol. Reviews* 46 : p98
- Poolman B., Hellingwerf K.J. & Konings W.N. (1987) Regulation of the glutamate glutamine transport systems by intracellular pH in *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol.* 169 : 2272 - 2276
- Poolman B., Royer T.J., Mainzer S.E. & Schmidt B.F. (1989) Lactose transport system of *Streptococcus thermophilus*: a hybrid protein with homology to the melibiose carrier and enzyme III of phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase systems. *J. Bacteriol.* 171 : 244-253
- Poolman B., Royer T.J., Mainzer S.E. & Schmidt B.F. (1990) Carbohydrate utilization in *Streptococcus thermophilus*: Characterization of genes for Aldolase 1-Epimerase (Mutarotase) and UDP glucose 4-Epimerase. *J. Bacteriol.* 172 : 4037-4047
- Simoni R.D., Levinthal M., Kundig F.D., Anderson., Hartman P.E. & Roseman S. (1967) Genetic evidence for the role of bacterial phosphotransferase system in sugar transport. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 58 : 1963 - 1970
- Sutton S.V.W. & Marquis R.E. (1987) Membrane associated end solubilized ATPase of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *J. Dent Res* 66 : 1095 - 1098
- Thomas T.D., Turner R.W. & Crow V.L. (1980) Galactose fermentation by *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris* : pathway products and regulation. *J. Bacteriol.* 144,672-682.
- Thompson J. (1978) *In vivo* regulation of glycolysis and characterization of sugar:phosphotransferase systems in *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol.* 136 : 465-476
- Thompson J. & Torchia D.A. (1984) Use of 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy and 14C fluorography in studies of glycolysis and regulation of pyruvate kinase in *Streptococcus lactis*. *J. Bacteriol.* 158 : 791 - 800
- Tinson W., Hillier A.J. & Jago G.R. (1982) Metabolism of *Streptococcus thermophilus* 1. Utilization of lactose, glucose and galactose. *Austr. J. Dairy Technol.* 37 : 8-13
- Vadebonbcoeur C. & Trahan L. (1982) Glucose transport in *Streptococcus salivarius*. Evidence for the presence of a distinct PEP: Sugar PTS wich catalyses the phosphorylation of a methyl glucoside. *Can. J. Microbiol.* 28 : 190 - 199
- Weil J.H., Bonnet J., Boulanger Y., Chambon R., Dubertret D., Gautheron C., Kedingier C., Lazdunski M., Montreuil J., Patte J.C., Rebel G., Rossignol J.M. & Wright M. (1990) *Biochimie générale*. 6^e édition Masson, Paris