

Variations morphologiques et métabolisme glucidique chez *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368

Mustapha MEZIANE ¹✧, Abdelmajid BELABED ¹, Anne LAGRANGE ²,
Abdeslam ASEHRAOUI ¹ & Patrice BRACQUART ²

(Reçu le 07/06/1996 ; Accepté le 28/06/1996)

علاقة الفوارق المورفولوجية مع استعمال السكر عند ستريبتوكوكيس ساليفارييس تيرموفيليس

تمت دراسة الفوارق المورفولوجية الماكروسكوبية لمستعمرات ثلاث جذمات البكتيريا CNRZ368 أظهر تقدير بروفيل استعمال السكريات ومنحى الألكترولفوركرام البروتينات الذائبة وأتباع الحركة الخاصة كلاكتوزيداز ودراسة النمو عن طريقة تقدير DO ودرجة تحميض الوسط وإنتاج الطاقة (ATP) وذلك بوجود اللاكتوز أو الكلوكون عند الجذمات الثلاث ، على أن هناك قرابة فيزيولوجية فيما بينها. زيادة على الاختلافات المورفولوجية للمستعمرات فإن خلايا الجذمات OM و D31 و D12 تختلف حسب شكل وطول العناقيد التي تكونها. وقد أظهر تتبع DO ودرجة تحميض الوسط وإنتاج الطاقة على أن الحركة الاستقلالية للاكتوز أكبر عند الجذمة OM منها عند الجذمتين D12 و D13. على العكس، فإن الحركة الاستقلالية للكليكون عند الجذمة OM أصغر من حركة الجذمتين الأخرتين.

الكلمات المفتاحية : الجذمة - أخذ السكريات - التغيرات المورفولوجية *Streptococcus salivarius thermophilus* CNRZ368

Variations morphologiques et métabolisme glucidique chez *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368

La présente étude a porté sur trois variants de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 distincts par la morphologie macroscopique des colonies. Au niveau microscopique les cellules des variants OM, D31 et D12 se distinguent par la forme et la longueur des chaînes qu'elles constituent. De point de vue métabolisme et physiologie, l'étude du métabolisme glucidique, de la croissance bactérienne et le profil électrophorétique des protéines solubles démontre que les trois variants étudiés sont apparentés. Le suivi de l'évolution de la DO, de l'acidification du milieu de culture et de la production de l'ATP confirme que le variant OM a une activité métabolique du lactose plus importante que celles des variants D12 et D31. À l'inverse, le variant OM possède une activité métabolique du glucose plus faible que celles des deux autres variants.

Mots clés : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, Variant - Morphologie - Métabolisme glucidique

Morphological variations and carbohydrates metabolism by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368

Three variants of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 different by morphological colonies were characterized. Cells of the variants OM, D31 and D12 differed by their shape and the length of the chains. Determination of carbohydrate utilization, bacterial growth, and electrophoregram of soluble protein showed that the variants share important physiological characteristics. The evolution of OD, acidification and ATP production showed that the metabolic activity of OM is more important than that of D12 and D31. Conversely, the variant OM has less glucose metabolic activity than the other variants.

Key words : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* - Variant - Morphology - Carbohydrate metabolism

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

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

✧ Auteur correspondant

INTRODUCTION

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus* est une bactérie à Gram positif particulièrement exigeante au plan nutritionnel. Dans le lait, le lactose constitue la seule source de carbone et d'énergie qui détermine l'activité fermentaire de ce micro-organisme. Par rapport aux diholosides (lactose et saccharose), *S. salivarius* subsp. *thermophilus* est moins actif en présence du glucose. Il ne métabolise pas le galactose, produit d'hydrolyse intracellulaire du lactose par la β -galactosidase. Une mol de galactose est excrétée dans le milieu de culture par mol de substrat consommée (Benateya *et al.*, 1986a ; O'leary & Woychik, 1976 ; Thomas & Crow, 1983). Le profil d'utilisation des glucides chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* est pauvre. De ce fait, il est facilement identifiable sur galerie API 50CH (Delarras *et al.*, 1977 ; Schleifer *et al.*, 1985). Cette méthode associée aux profils électrophorétiques des protéines solubles figurent parmi les anciennes techniques utilisées en taxonomie. En effet, Dicks & Vuuren (1988) ont noté une bonne corrélation positive entre les résultats de ces deux méthodes lors de l'établissement d'une identification des caractéristiques physiologiques de 19 souches de *Lactobacillus* isolées du vin rouge sud-africain.

Les études de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ont porté essentiellement sur la physiologie, notamment le métabolisme du lactose (Herman & McKay, 1986 ; De vos & Simons, 1988 ; Poolman *et al.*, 1989 ; Smart, 1991), et le transport du glucose, du lactose et du galactose (Benateya *et al.*, 1986a ; 1986b ; Poolman *et al.*, 1989 ; 1990a ; 1990b ; Ponne & Hutkins, 1990). Peu de travaux, à notre connaissance, ont porté sur la génétique de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* si on exclut les manipulations génétiques de cette bactérie (Mercenier & Lemoine, 1990). Pebay (1987) a isolé des colonies différant par leurs aspect morphologique à partir de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 et a suggéré une relation entre l'instabilité morphologique qui affecte les colonies avec des réarrangements génétiques. Morice *et al.* (1991) ont mis en évidence une corrélation entre la morphologie macroscopique des colonies et la sensibilité aux sels. Très peu de travaux ont été publiés, jusqu'à nos jours, mettant en relation l'aspect morphologique des colonies avec le métabolisme glucidique (Meziane *et al.*, 1990a ; 1990b ; Meziane, 1991).

Dans le présent travail, on tente de vérifier la morphologie de trois variants de *S. salivarius*

subsp. *thermophilus* CNRZ 368 au niveau cellulaire ainsi que les grandes caractéristiques métaboliques du lactose et du glucose.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Souches

Trois variants morphologiques de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 sont étudiés dans le présent travail ; il s'agit du variant D12 qui se présente à la loupe binoculaire sous forme de colonies transparentes à bord irrégulier, du variant D31 qui forme des colonies opaques, d'une opacité importante et constante du centre de la colonie vers la périphérie, et du variant OM dont les colonies ont un centre opaque et un bord transparent sur le milieu Tryptose Protéose-Peptide Extrait de levure (TPPY) décrit par Bracquart (1981).

2. Culture

Les cultures sont réalisées dans le bouillon TPPY à 2% de glucide et où le tween est omis. Le milieu est stérilisé par autoclavage à 120°C pendant 20 min. La culture est inoculée à 1% à partir d'une préculture de 14 h sur lait reconstitué à 10% incubée à 42°C.

La croissance a été suivie par la détermination de l'absorbance (DO) à 650 nm, du pH et de la production d'ATP.

3. Caractérisation biochimique

Une suspension cellulaire dans le milieu d'inoculation CHS, fourni avec la galerie API, est répartie à l'aide d'une pipette Pasteur stérile dans les 50 tubes capillaires de la galerie API 50 CH puis incubée à 42°C pendant 48 h. La formation d'acides révélée par le virage de l'indicateur coloré est enregistrée à 3, 6, 24, et 48 h. d'incubation.

4. Microscopie électronique à balayage

Une culture sur TPPY lactosé des différents variants est arrêtée en cours de la phase de croissance exponentielle (DO=0,4). Les variants sont alors récupérés par centrifugation à 1600 x g pendant 5 min à 4°C. Le culot bactérien est fixé dans une solution de glutaraldéhyde 2,5% (en tampon cacodylate de sodium 0,1N pH 7,2) pendant une journée à 4°C puis rincé dans le même tampon additionné de 7% de saccharose. L'échantillon est déshydraté sur filtre nucléopore

par immersion pendant 5 min dans des bains d'alcool de degré croissant (30, 50, 70, 90 et 100°). Avant séchage à l'air et métallisation à l'or, les échantillons ont été immergés 5 min dans un bain d'hexaméthyl-disilazane. Les observations ont été réalisées à l'aide d'un microscope électronique à balayage Cambridge S 240.

5. Electrophorèse des protéines solubles

Les cellules bactériennes sont broyées à l'aide d'un générateur d'ultra-sons pendant 4 min à puissance fournie de 20 W et à un cycle utile de 68% (Sonicateur Heat Systems-Ultrasonic). Cette fraction est centrifugée à 350 x g par pendant 10 min. Le taux de protéines solubles dans le surnageant est dosé par la méthode de Lowry *et al.* (1951) avec l'albumine sérique bovine comme protéine étalon (0 à 100 mg/ml). L'échantillon est dilué à la concentration de 1 mg de protéines solubles par ml dans un tampon tris 0,166M pH 6,8 contenant du SDS 7% (P/V), du 2-mercaptoéthanol 5% (V/V) et 10% glycérol 10% (à 50% dans l'eau) puis coloré avec du bleu de bromophénol 0,01% (P/V). L'ensemble est chauffé 5 min à 100°C.

L'électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS (PAGE-SDS) en tampons discontinus a été utilisée pour séparer les protéines (Ito *et al.*, 1987). Le gel de séparation est formé d'un gradient d'acrylamide 10%-28% et le gel de concentration (T : 4,5 ; C : 2,7) est coulé sur le précédent. La migration est effectuée en utilisant un tampon d'électrodes tris 0,3M-glycine 0,38M pH 8,3 pendant 2h avec un courant de 60 mA et une tension de 500 V. Les protéines sont fixées par le TCA 12% durant 45 min et sont révélées pendant 2 h par le Bleu de Coomassie R 250 à 0,1% dissous dans un mélange de TCA 2% + méthanol 30%. La décoloration est ensuite effectuée par le mélange d'acide acétique/méthanol/eau (7,5/30/62,5 ; V/V).

6. Dosage de l'activité β -galactosidase

Elle est mesurée dans un tampon phosphate de potassium 50 mM pH 6,8 contenant le substrat ortho-nitrophényl- β -D-galactopyrannoside (ONPG) 30 mM et du MgCl₂ (1mM). La suspension cellulaire est préalablement perméabilisée selon la méthode de Miozzari *et al.* (1978). La cinétique est suivie à 42°C pendant 10 min. Le résultat est exprimé en μ mol d'ONP libérées (calculé à partir d'une courbe étalon) par min et par mg de poids sec cellulaire.

7. Dosage de l'ATP

La méthode au DMSO pour l'extraction de l'ATP bactérien a été utilisée. Le dosage de l'ATP a été effectué par bioluminescence. 50 μ l d'échantillon ont été additionnés au mélange composé de 350 μ l de tampon Tris-acétate 0,1 mM (pH 7,75) et 3 mM d'EDTA. Après agitation douce à la main, le mélange est inséré dans le bioluminomètre (LKB, 1250 DISPLAY). Un dispositif de micropipetage automatique injecte 100 μ l du mélange luciférine-luciférase (ATP monitoring reagent, LKB) au contenu de la cuvette. La lumière est mesurée au maximum d'émission évitant ainsi l'interférence des autres nucléotides (ADP, GTP) (Prydz & Froholm, 1964 ; Pradet, 1967).

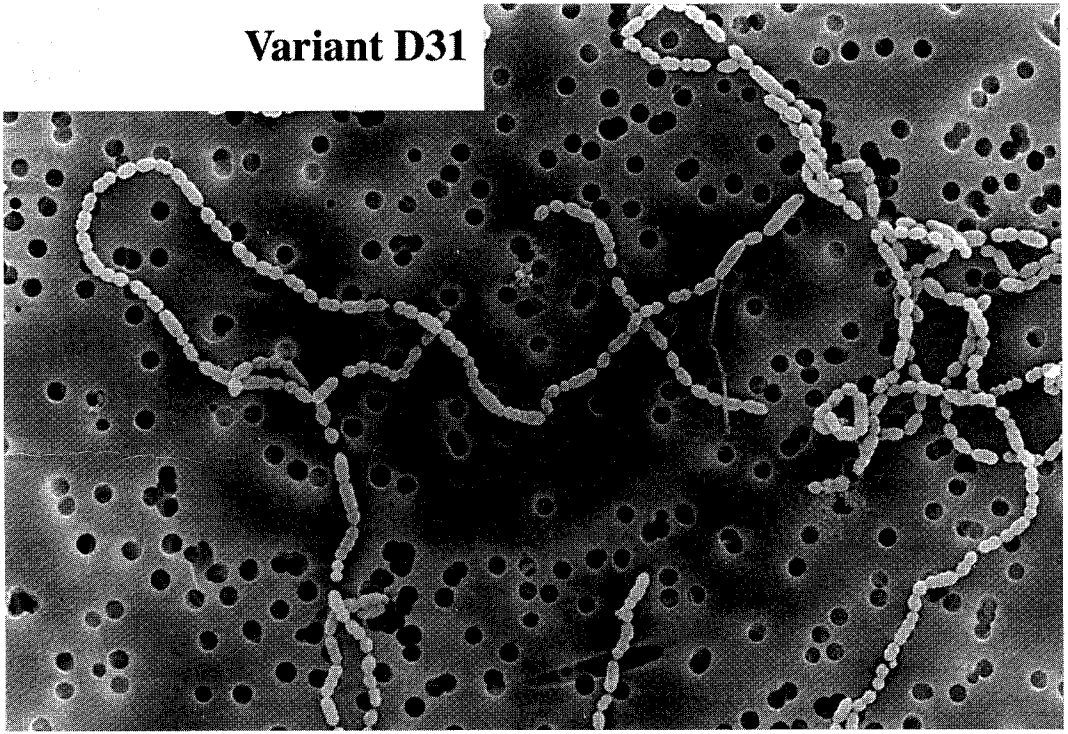
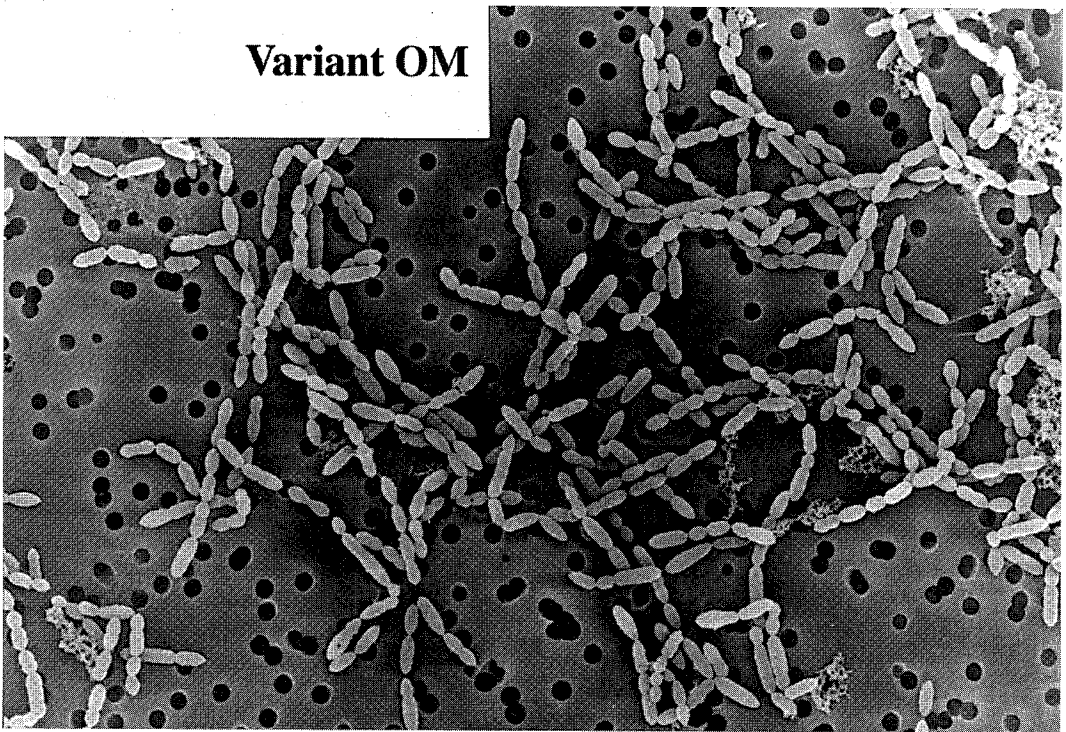
RÉSULTATS

• Caractérisations morphologiques et biochimiques

Les variants OM, D31 et D12 isolés à partir de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 sont différents par la forme des cellules et la longueur des chaînes (Figure 1a). Le variant OM se présente sous forme de chaînes de longueur moyenne (4 ± 2 éléments, $n = 16$). Chaque élément a la forme d'une sphère ovoïde de longueur moyenne ($2,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$, $n = 23$). D31 ressemble à OM mais avec des chaînes beaucoup plus longues (22 ± 5 éléments, $n = 5$) (Figure 1a). La longueur moyenne de chaque élément est de $1,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Le variant D12 (Figure 1b) est formé de chaînes courtes (2 ± 1 cellules, $n = 22$) ; les cellules se présentent sous forme de bâtonnets à bords pointus de $2,8 \pm 0,9 \mu\text{m}$ ($n = 16$) avec une constriction visible au fort grossissement.

Après repiquages successifs sur boîtes de Pétri, le phénotype parental (colonies auréolés pour le variant OM, opaques pour D31 et diffuses pour D12) est majoritaire.

Les trois variants ont une activité glycolytique avec acidification (48 h maximum) pour seulement trois (lactose, glucose et saccharose) des 49 glucides testés de la galerie API 50 CH. Le lactose et le saccharose sont bien métabolisés par OM et D31 alors que D12 ne montre une activité glycolytique avec acidification sur ces deux glucides qu'à partir de 24 h d'incubation. Le D-glucose semble être un bon substrat pour D31 tandis que D12 et OM n'ont une activité glycolytique avec acidification qu'à partir de 24 et 48 h respectivement. Aucun des trois variants de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 ne métabolise le galactose.

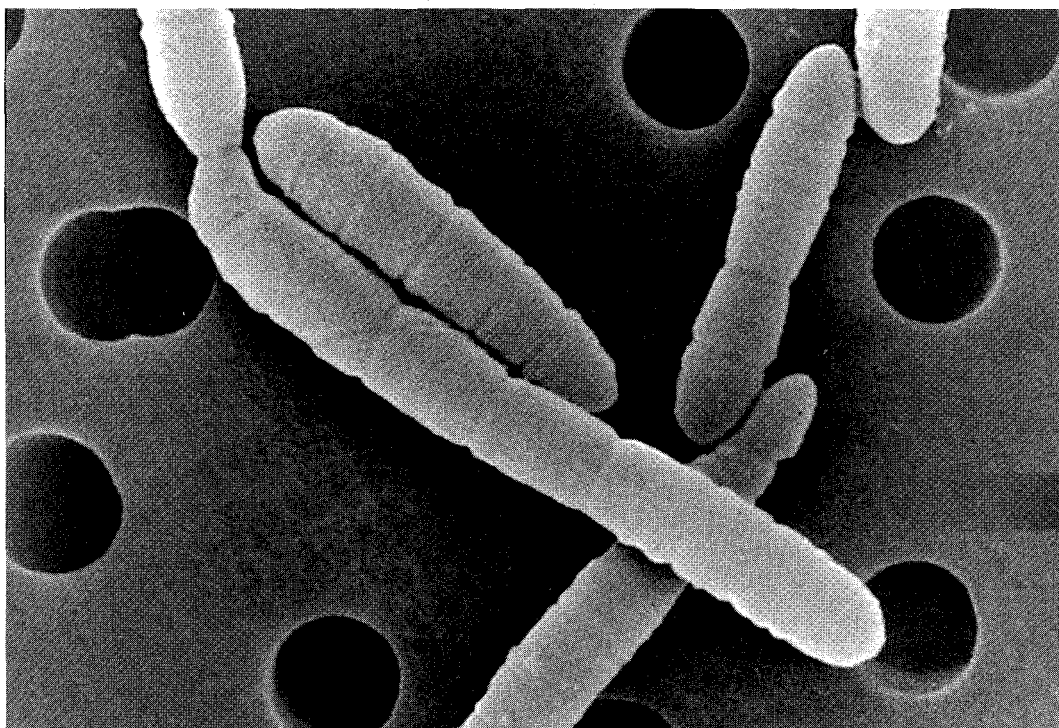
Variant D3120 μ m**Variant OM**20 μ m**Figure 1a. Microphotographies en microscopie électronique à balayage des variants OM et D31**

Conditions de préparation :

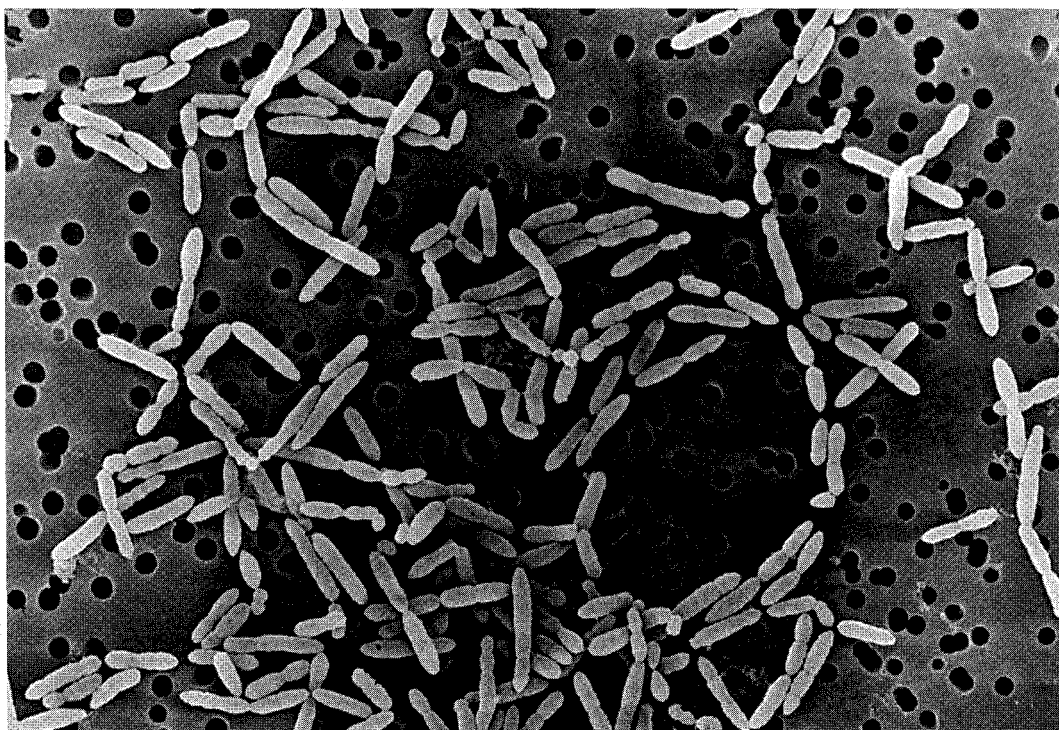
milieu de culture : TPPY lactosé

température d'incubation : 42°C

arrêt de la culture en cours de la phase de croissance exponentielle à DO = 0,4



2 μ m



20 μ m

Figure 1b. Microphotographies en microscopie électronique à balayage du variant D12
Mêmes conditions de préparation que pour les variants OM et D31

• Profils électrophorétiques des protéines solubles

Les trois variants possèdent pratiquement tous les pics importants (Figure 2) et sont caractérisés par un pic majeur (pic noirci) d'une mobilité électrophorétique indépendante du type de variant. De petites différences mineures sont observées seulement au niveau des pics 5 et 6 et le pic, deuxième en importance, après le pic majeur chez le variant OM.

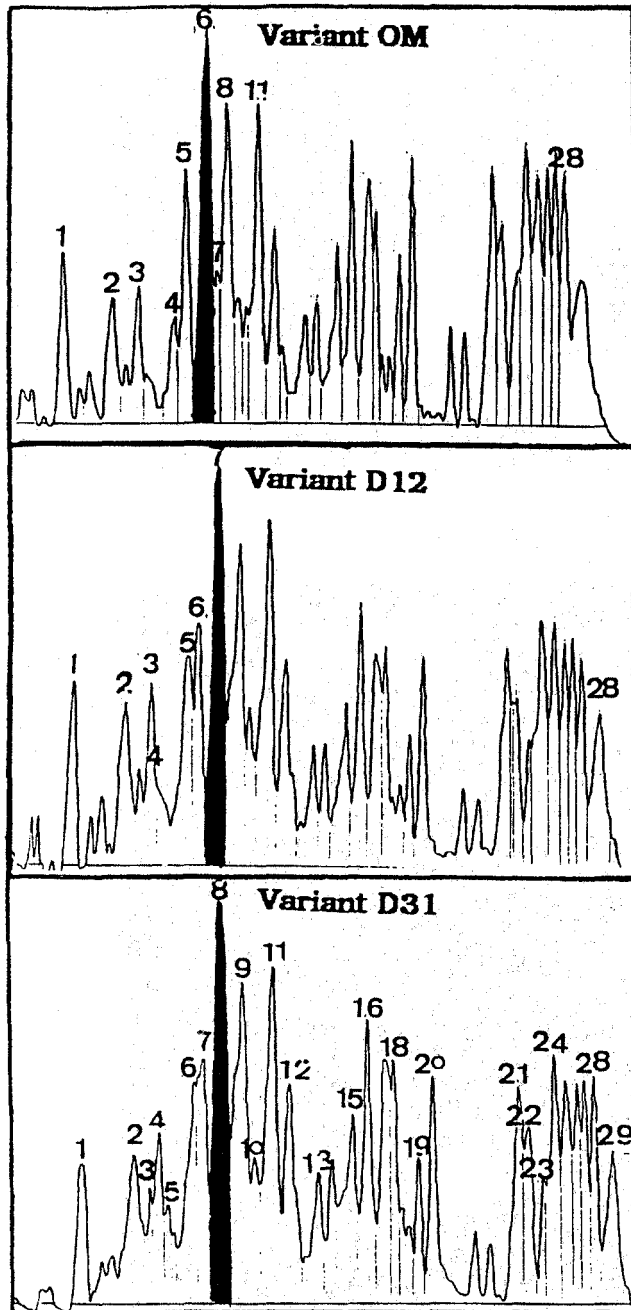


Figure 2. Densitogrammes des protéines solubles des variants OM, D31, et D12.

Conditions de culture : milieu de culture : TPPY lactosé. température d'incubation : 42°C. arrêt de la culture à pH 4,4.

• Croissance en présence de lactose

Par rapport à D31, les variants OM et D12 montrent une meilleure croissance et acidification du milieu de culture (Figure 3). Les temps de génération des variants OM (31 min) et D12 (42 min) sont inférieurs à celui de D31 (55 min). À 3 h d'incubation, OM et D12 atteignent une absorbance de 1,74 et 1,52 et acidifient le milieu de culture jusqu'à pH 4,79 et 4,72 respectivement, alors que l'absorbance de D31 n'est que de 0,83 et le pH du milieu de culture de 5,23. À ce moment là, les variants OM et D12 se trouvent en début de la phase stationnaire tandis que D31 est encore en phase exponentielle de croissance.

• Croissance en présence de glucose

L'utilisation du glucose à la place du lactose dans le milieu de culture n'a pas le même effet sur la croissance des trois variants morphologiques de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 (Figure 4). En effet, pour le variant OM, on assiste à un ralentissement de la vitesse de croissance (temps de génération de 118 min au lieu de 31 min en présence de lactose) et une forte baisse de l'absorbance finale (0,49 au lieu de 1,88 en présence de lactose), alors que pour D31 et D12, on observe principalement une baisse de l'absorbance finale mais le temps de génération varie peu. Le variant D31 continue à croître et à métaboliser le glucose à un pH extracellulaire où la croissance des variants OM et D12 cesse.

• Effet de la source énergétique sur la production de l'ATP

L'évolution de l'absorbance ainsi que la production de l'ATP en fonction du temps d'incubation des trois variants sur TPPY lactosé ou glucosé (Figures 5 & 6) montrent que la teneur totale en ATP, pour les trois variants étudiés, dépend de la phase de croissance quelle que soit la source énergétique utilisée. En effet, la teneur en ATP augmente au cours de la phase de croissance exponentielle puis chute rapidement en fin de la croissance sauf pour OM en milieu glucosé où le déclin de la teneur en ATP semble lent. Les trois variants atteignent leur teneur maximale en ATP plus rapidement en

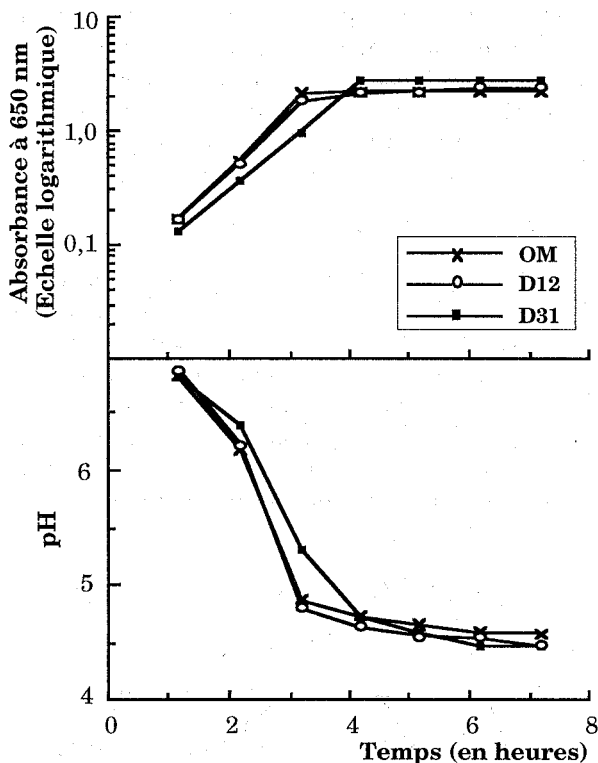


Figure 3. Croissance et variation du pH à 42°C dans le milieu TPPY lactosé (Préculture sur lait)

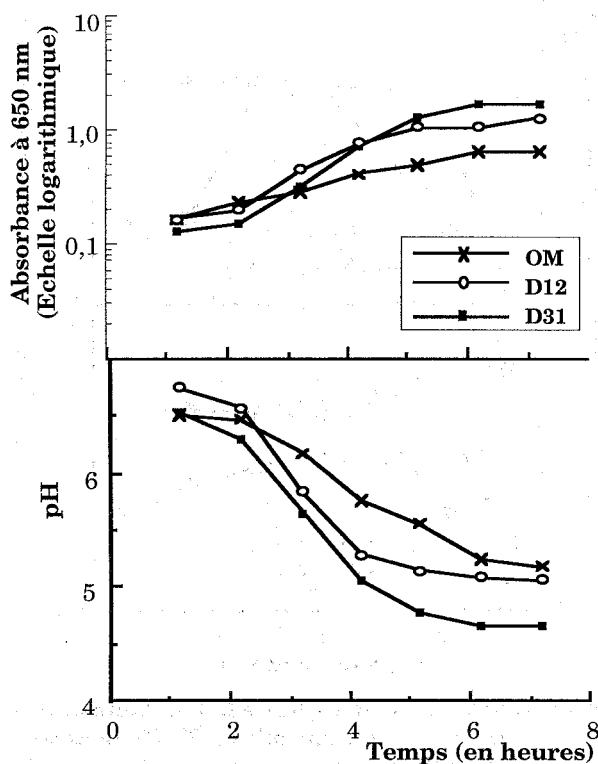


Figure 4. Croissance et variation du pH à 42°C dans le milieu TPPY glucosé (Préculture sur lait)

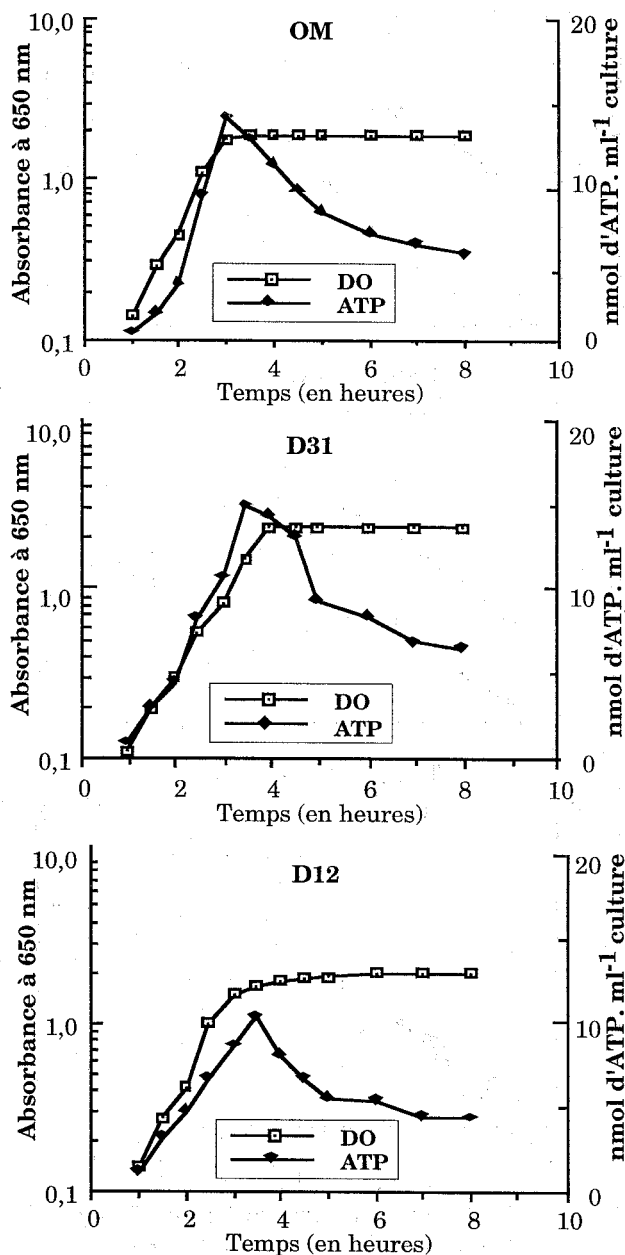


Figure 5. Croissance et production d'ATP à 42°C sur TPPY lactosé (Préculture sur lait)

présence de lactose qu'en présence de glucose (Tableau 1), ceci confirme leur préférence pour ce diholoside. Le variant OM atteint une teneur maximale en ATP plus tôt que les variants D31 et D12 en présence du diholoside. Par contre, il est plus lent quand la source carbonée est le glucose. Les variants D31 et D12 atteignent une teneur maximale d'ATP à 4 h de culture sur glucose avec une réserve énergétique en nmol d'ATP par mg de poids sec du même ordre de grandeur (Tableau 1), ceci est en corrélation avec nos résultats sur la croissance de ces deux variants sur TPPY glucosé (Figure 4).

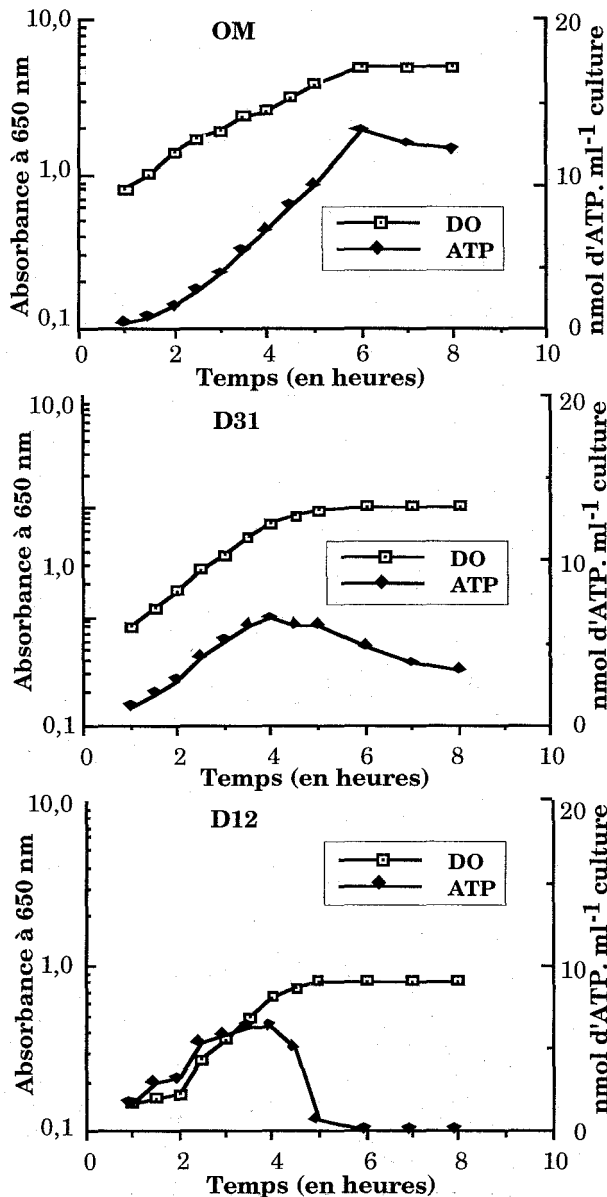


Figure 6. Croissance et production d'ATP à 42°C sur TPHY glucosé (Préculture sur lait)

Tableau 1. Production maximale d'ATP lors de la croissance des trois variants morphologiques de la souche CNRZ 368 de *S. salivarius subsp. thermophilus* sur TPHY lactosé ou glucosé

Variants	Milieu de culture					
	TPPY lactosé	TPPY glucosé				
	OM	D31	D12	OM	D31	D12
Temps de culture (en h) où la production maximale d'ATP est atteinte	3	3,5	3,5	6	4	4
Teneur maximale d'ATP (nmol d'ATP.ml ⁻¹ de culture)	13,8	14,9	10,4	12,8	8,4	6,6
Taux maximal d'ATP produit (nmol d'ATP.mg ⁻¹ de cellules)	28,1	35,2	22,2	92,7	32,5	35,7

Le taux d'ATP que peuvent atteindre les trois variants, au moment où la teneur maximale est atteinte, dépend peu du type de variant et du glucide de culture chez les variants D12 et D31. Par contre, OM a un taux d'ATP 3 fois supérieur en présence de glucose par rapport au lactose.

• Activité β -galactosidasique

Une activité β -galactosidasique du même ordre de grandeur s'observe chez les trois variants morphologiques en présence de la même source de carbone (Figures 7 & 8). Cependant, cette activité est légèrement plus forte chez le variant OM par rapport à D31 et D12 en présence du lactose. Ceci expliquerait en partie le fait que ce variant soit plus actif par rapport à D31 et D12 sur ce substrat.

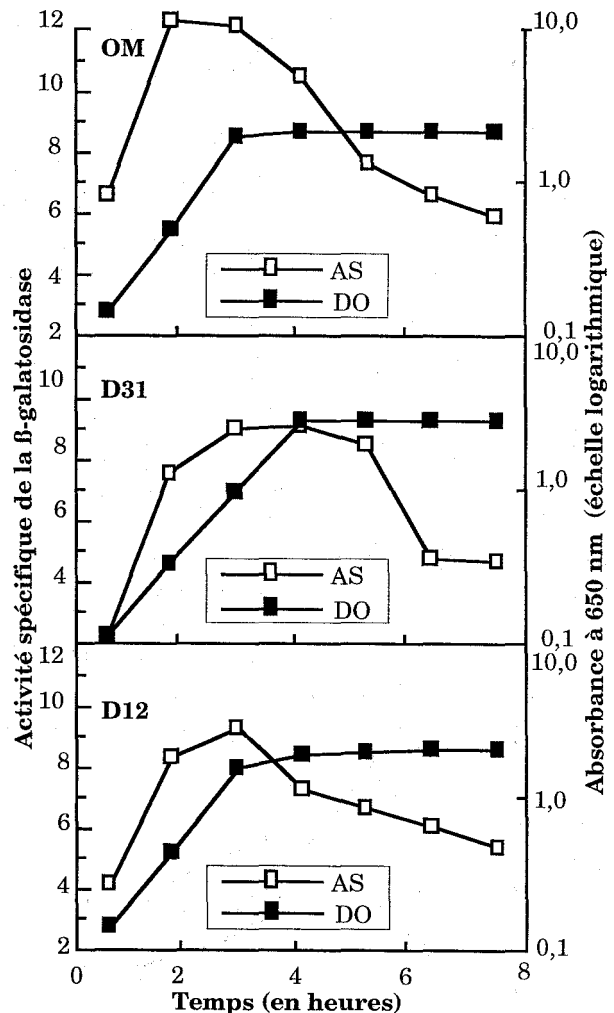


Figure 7. Activité spécifique de la β -galactosidase et croissance sur milieu TPHY lactosé Préculture sur lait ; température de croissance et du dosage de l'activité β -galactosidase : 42°C

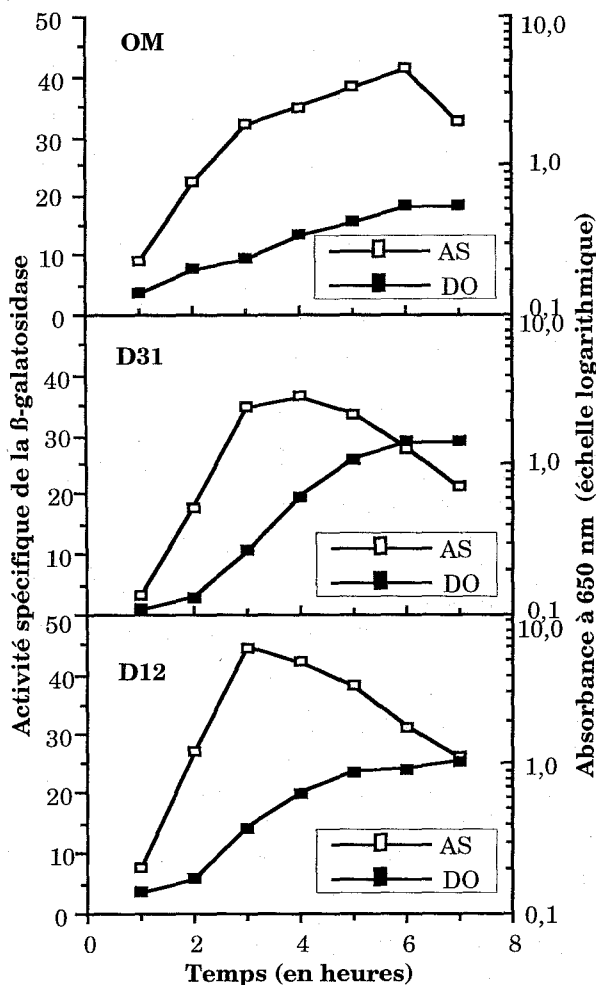


Figure 8. Activité spécifique de la β -galactosidase et croissance sur milieu TPTY glucosé Préculture sur lait ; température de croissance et du dosage de l'activité β -galactosidase : 42°C

L'activité spécifique de la β -galactosidase augmente linéairement avec la croissance, atteint un maximum au cours de la phase de croissance exponentielle puis chute à la fin de cette phase.

L'activité spécifique est dépendante du pH de la culture (Figure 9a, b). En présence de lactose, le taux maximal de l'activité β -galactosidasique pour les trois variants est observé à des pH du milieu de culture plus bas que sur glucose. En outre, l'activité β -galactosidase chute au dessous du pH 4.70 en moyenne pour les trois variants en présence du diholoside. Cette chute se fait plus lentement chez le variant D31. Par ailleurs, l'activité de la β -galactosidase chez le variant D31 devient supérieure à celles de OM et D12 en dessous du pH 4.5 sur milieu lactosé et pH 5 en présence du glucose.

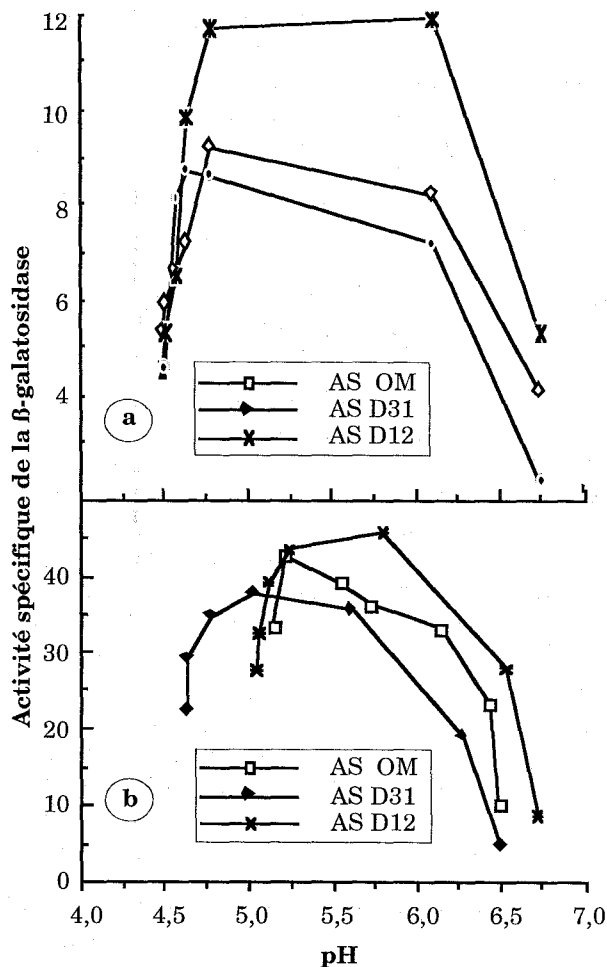


Figure 9. Évolution de l'activité spécifique de la β -galactosidase en fonction de la variation du pH du milieu de culture
a : TPTY lactosé b : TPTY glucosé

La présence du glucose dans le milieu de culture comme seule source d'énergie entraîne une augmentation de l'activité β -galactosidasique par rapport à celle mesurée en présence de lactose, soit trois fois plus pour OM et D31 et quatre fois plus pour le variant D12.

DISCUSSION

Plusieurs auteurs ont montré que *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* utilise préférentiellement les diholosidess (lactose ou saccharose) comme source d'énergie de croissance par rapport au glucose (Deibel & Seeley, 1974 ; Benateya et al., 1986a ; Amoroso et al., 1989). Ceci est corroboré par notre travail. En effet, le suivi de la croissance, de l'acidification du milieu de culture et de la production d'ATP révèle que les trois

variants ont une préférence pour le lactose par rapport au glucose. Les trois variants font intervenir le même système (β -gal) pour hydrolyser le lactose. Une activité β -galactosidase a été mise en évidence chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* (Farrow, 1980 ; Greenberg & Mahoney, 1982 ; Smart *et al.*, 1985 ; Herman & McKay, 1986 ; Morice *et al.*, 1991). On a pu constater une stimulation de l'activité de la β -galactosidase chez les trois variants en présence de glucose. Ce résultat confirme les travaux de Hemme *et al.* (1980).

Par contre, notre travail infirme les résultats de Tinson *et al.* (1982) qui ont observé une répression de la synthèse de l'enzyme quand le glucose est additionné aux cellules en culture sur lactose. Dans notre cas, il n'y a pas eu, chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus*, de phénomène d'inhibition catabolique au profit de la source de carbone la plus accessible, contrairement à ce qui a été décrit chez d'autres micro-organismes (Harvey & Collins, 1963 ; McGinnis & Paigen, 1969 ; Lawrence & Thomas, 1979). Ces résultats alliés aux profils électrophorétiques des protéines solubles indiquent une parenté physiologique entre les trois variants de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368. Cependant, la présente étude nous a permis de mettre en évidence des différences morphologiques entre les trois variants de la souche de *S. salivarius* subsp. *thermophilus* CNRZ 368 à deux niveaux, longueur des chaînes et forme cellulaire. Le phénotype parental de chaque variant est majoritaire dans la descendance ce qui démontre la nature génétique de cette variabilité morphologique.

Par conséquent, cette diversité morphologique nous amène à suggérer une différence entre les trois variants dans l'équilibre mettant en jeu les fonctions synthétisantes de l'enveloppe cellulaire et lytiques qui permettent la division et la séparation des cellules.

En effet, Ito *et al.* (1987) ont expliqué la formation de longues chaînes chez les streptocoques par l'inhibition d'une enzyme lytique. Deboer *et al.* (1988 ; 1989) ont décrit les conséquences morphologiques d'une déficience ou surproduction de certaines protéines ayant un rôle essentiel dans la division cellulaire chez *E. coli*.

D'un autre point de vue, le présent travail montre une corrélation entre la morphologie des variants et l'utilisation des glucides. Parmi cette diversité, on observe une vitesse de croissance différente au

cours de la phase de croissance exponentielle des variants OM et D12 par rapport à D31 quand le milieu de culture contient du lactose comme seule source d'énergie pour la croissance. Par contre, D31 a une activité glucolytique plus importante. Cette corrélation dans l'utilisation des glucides avec la morphologie cellulaire serait liée à une différence soit au niveau de la régulation des gènes intervenants dans le transport ou le catabolisme des glucides, soit au niveau de la modulation de l'activité des enzymes existantes.

Pour appuyer cette hypothèse, McGinnis & Paigen (1969) ont montré que le pH entraîne des changements dans les systèmes de perméations chez *Enterococcus faecalis*. Ceci a été signalé aussi chez *S. salivarius* subsp. *thermophilus* par Somkuti & Steinberg (1979). Bibal *et al.* (1989) ont montré une inhibition de la croissance de *S. cremoris* par l'acide lactique sécrété dans le milieu de culture.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement le Professeur N. BENKERROUM de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, qui a bien voulu réviser ce manuscrit.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Amoroso M.J., Manca de narda M. C. & Olivier G. (1989) The growth and sugar utilization by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* isolated from market yoghurt. *Lait* 69 : 519-528
- Benateya A., Bracquart P., et Linden G. (1986a) Perméation des glucides chez *Streptococcus thermophilus* 1. Caractérisation du système de prise du lactose. Adaptation au lactose et au glucose. *M.A.N.* 4 : 253-264
- Benateya A., Bracquart P., Le deaut J.Y. & Linden G. (1986 b) Croissance et prise de l'acide glutamique par les bactéries du genre *Streptococcus* en fonction de la source d'énergie. *Lait* 66 : 298-303
- Benateya A., Bracquart P. & Linden G. (1987) Perméation des glucides chez *Streptococcus thermophilus* : Induction par adaptations et mutagenèse chimique. *Communication, Club des Bactéries Lactiques.*, Caen. France
- Bibal B., Vayssier Y., Tournou M. & Pareilleux A. (1989) Enhanced inhibitory effect of lactic acid on growth kinetics of *S. cremoris* during nutritional medium limitations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 30 : 630-635

- Bracquart P. (1981) An agar medium for the differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in yoghurt. *J. Appl. Bacteriol.* 51 : 303-305
- De boer P.A.J., Crossley R.E. & Rothfield L.I. (1988) Isolation and properties of min B, a complex genetic locus involved in correct placement of the division site in *E. coli*. *J. Bacteriol.* 170 (5) : 2106-2112
- De boer P.A.J., Crossley R.E. & Rothfield L.I. (1989) A division inhibitor and topological specificity factor coded for by the minicell locus determine proper placement of the division septum in *E. coli*. *Cell* 56 : 641-649
- De vos R.H. & Simons G. (1988) Molecular cloning of lactose genes in dairy lactic streptococci : the phospho- β -galactosidase gene and their expression products. *Biochimie* 70 : 461-473
- Delarras C., Ramet F. & Larpent J.P. (1977) Caractéristiques biochimiques comparées des micrococccaceae de produits laitiers et carnés. *Rev. Lait. Franc.* 335 : 395-397
- Dicks L.M.T. & Vuuren H.J.J.V. (1988) Identification and physiological characteristics of heterofermentative strains of *Lactobacillus* from south African red wines. *J. Appl. Bacteriol.* 64 : 505-513
- Farrow J.A.E. (1980) Lactose hydrolysing enzymes in *Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris* and also in other species of Streptococci. *J. Bacteriol.* 49 : 140-143
- Greenberg N.A. & Mahoney R.R. (1982) Production and characterization of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *J. Food Sci.* 47 : 1824-1835
- Harvey R.J. & Collins E.B. (1963) Rôle of citrate and acetoin in the metabolism of *Streptococcus diacetylactis*. *J. Bacteriol.* 87 : 1301
- Hemme D., Wahl D. & Nardi M. (1980) Variations de l'équipement enzymatique de *Streptococcus thermophilus*. *Lait* 60 : 111-129
- Herman R.E. & McKay L.L. (1986) Cloning and expression of the β -D-galactosidase gene from *Streptococcus thermophilus* in *Escherichia coli*. *Appl. Env. Microbiol.* 52 (1) : 45-50
- Ito S., Kobayashi T., Ozaki K., Morichi T. & Saitoh M. (1987) Microbial cell division and separation : Effect of citrate on the growth of group N Streptococci. *Food. Microstructure* 6 : 17-24
- Lawrence R.C. & Thomas T.D. (1979) The fermentation of milk by lactic acid bacteria. 29ème Symp. Soc. Gen. Microbiol. In microbial technology : current state, future prospects, Ed. Cambridge University Press, London
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265-275
- Meginnis J.E. & Paigen K. (1969) Catabolite inhibition : general phenomenon in the control of carbohydrate utilization. *J. Bacteriol.* 100 (2) : 902-913
- Mercenier A. & Lemoine Y. (1990) Molecular genetics of *Streptococcus thermophilus*. *FEMS Microbiol. Rev.* 87 : 61-78
- Meziane M., Bracquart P., Guimont C. & Linden G. (1990 a) Transport du lactose chez les isolats de la souche CNRZ 368 de *Streptococcus thermophilus*. *Comm. Club des bactéries lactiques*, Jouy-en Josas. France
- Meziane M., Bracquart P., Lagrange A. & Linden G. (1990 b) Transport du lactose chez trois variants morphologiques de la souche CNRZ 368 de *Streptococcus thermophilus*. *Comm. Congrès international de laiterie*, Montréal, Canada
- Meziane M. (1991) Caractérisation physiologique de trois variants de la souche CNRZ 368 de *Streptococcus thermophilus* et étude des systèmes de perméation du glucose et du lactose. Thèse de l'Université de Nancy I
- Miozzari G.F., Niederberger P. & Hutter R. (1978) Permeabilization of Microorganisms by triton X-100. *Anal. Biochem.* 90 : 220-233
- Morice M., Lagrange A., Bracquart P. & Linden G. (1991) Cation induced short chain formation of *Streptococcus thermophilus* with growth stimulation. *Agric. Biol. Chem.* 55 : 1211-1215
- O'leary V.S. & Woychik J.H. (1976) Utilization of lactose, glucose, and galactose by a mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in milk treated with lactase enzyme. *Appl. Env. Microbiol.* 32 (1) : 89-94
- Pebay M. (1987) Isolement chez *Streptococcus thermophilus* de variants différents par leur morphologie macroscopique. Étude des caractéristiques des variants obtenus chez CNRZ 368. DEA. Université de Nancy I
- Ponne C. & Hutkins (1990) Coupled transport of lactose and galactose in *Streptococcus thermophilus*. *FEMS. Microbiol. Rev.* 87 Abstract D27, p81.

- 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 (1) : 244-253.
- Poolman B., Royer T.J., Mainzer S.E. & Schmidt B.F. (1990a) Carbohydrate utilization in *Streptococcus thermophilus* : a hybrid protein with homology to the melibiose carrier and enzyme III of phosphoenolpyruvate-dependent phosphotransferase systems. *J. Bacteriol.* 171 : 4037-4047
- Poolman B., Gringhuis S.E., Mainzer S.E. & Schmidt B.F. (1990b) Carbohydrate utilization in *Streptococcus thermophilus* : Characterization of the lac and gal genes.) *FEMS Microbiol.* 87 Abstract D27 : 81
- Pradet A. (1967) Etude des adénosine-5'-mono, di et triphosphates dans les tissus végétaux. I. Dosage enzymatique. *Physiol. Vég.* 5 (3) : 209-221
- Prydz H. & Froholm L.O. (1964) The use of a recording Beckman DB spectrophotometer for the assay of ATP with luciferin-luciferase reagent. *Acta Chem. Scand.* 18 (2) : 554-556
- Schleifer K.H., Kraus J., Dvorac C., Killpar-balz R., Collins M.D. & Fischer W. (1985) Transfer of *Streptococcus lactis* and related Streptococci to the genus *Lactococcus* gen.nov. *System. Appl. Microbiol.* 6 : 183 -195
- Smart J.B. (1991) transferase reaction of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *Appl Microbiol. Biotechnol.* 34 : 495 -501
- Smart J.B., Crow V.L. & Thomas T.D. (1985) Lactose hydrolysis milk and whey using β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *New Zealand J. Dairy Sci. Tech.* 20 : 43- 56
- Somkuti G.A. & Steinberg D.H. (1979) Adaptability of *Streptococcus thermophilus* : Induction, Purification, and properties. *J. Appl. Biochem.* 1 : 357-368
- Thomas T.D. & Crow V.L. (1983) Lactose and sucrose utilization by *S. thermophilus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 17 : 13-17