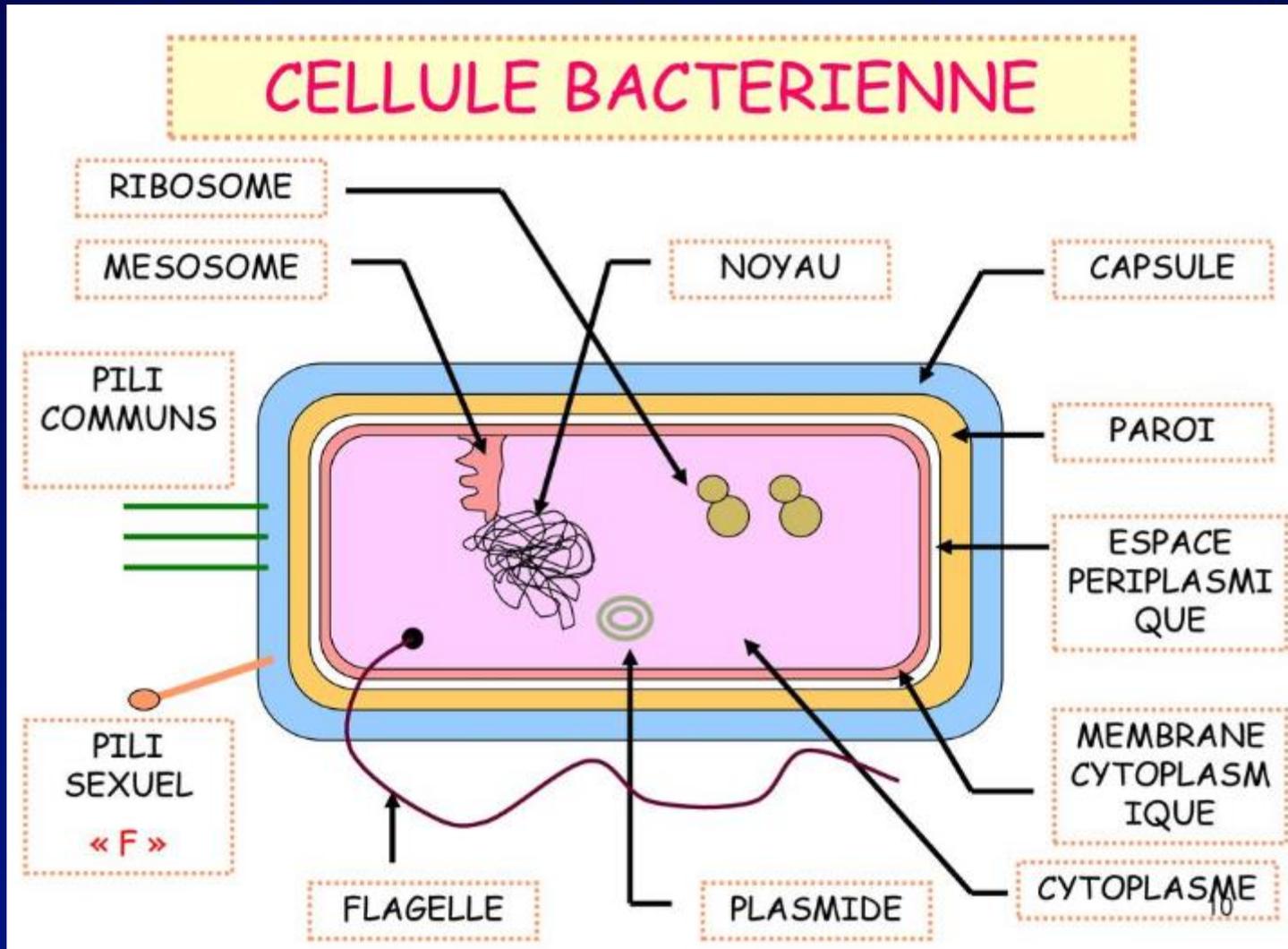


# Cours M1 : Physiologie des Microorganismes

## La paroi bactérienne

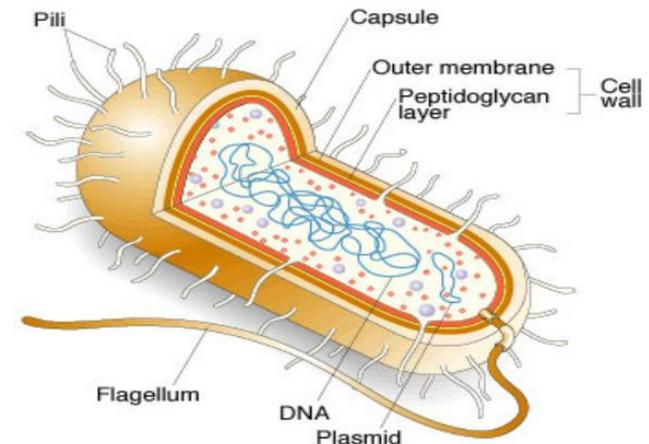
# Qu'est ce qu'une bactérie?

Une bactérie est un microorganisme procaryote unicellulaire constitué d'une paroi rigide et d'un chromosome circulaire



- **La cellule bactérienne**

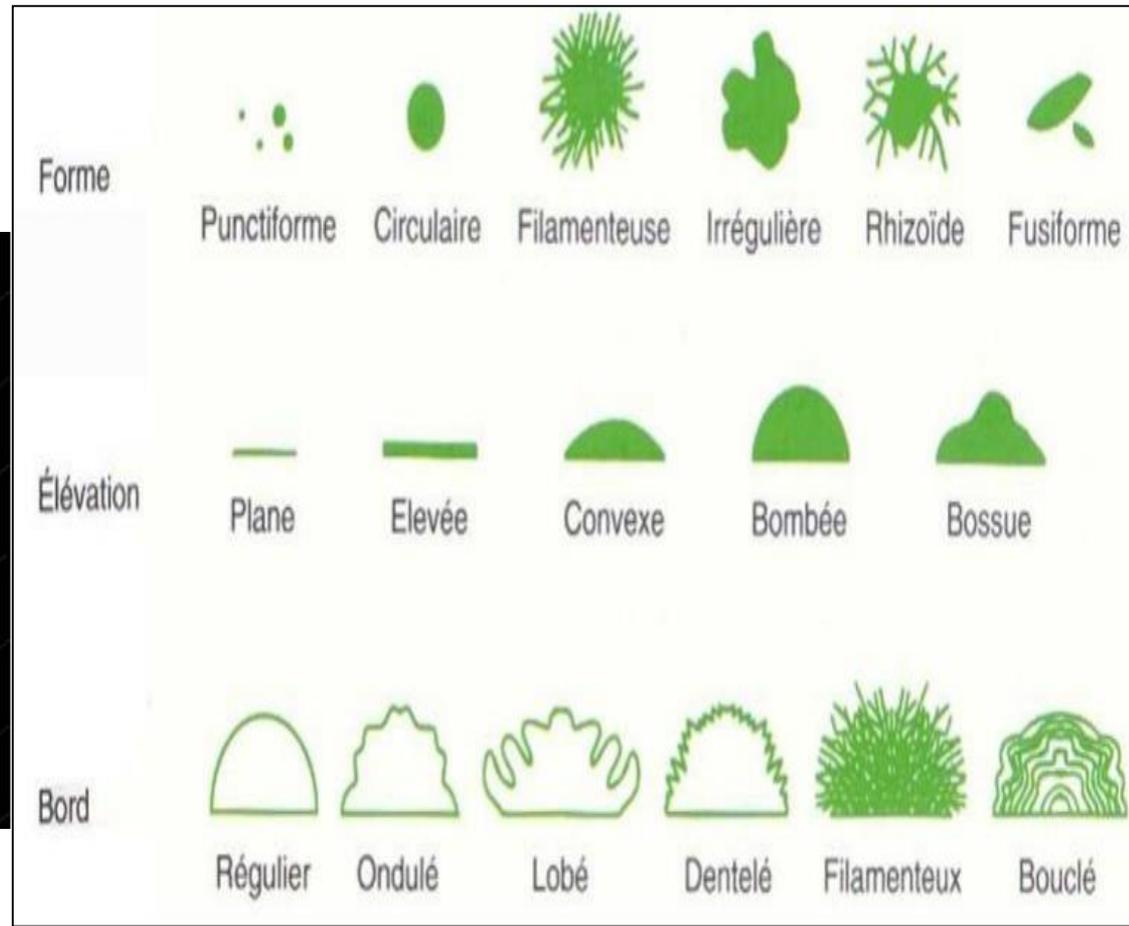
- procaryote, unicellulaire, simple et autonome.
- se caractérise par :
- a- l'absence de noyau : l'ADN est libre dans le cytoplasme.
- b- Sa taille moyenne: varie de 0.2 à 15  $\mu\text{m}$ .
- c- un seul chromosome circulaire.
- d- l'absence de mitochondries.
- e- Son mode de reproduction : par scissiparité : donc il n'y a ni mitose, ni méiose.



# I. Observation macroscopique et forme des colonies

**Une colonie** : est l'amas, **visible à l'œil nu**, constitué par des milliards de descendants d'une seule cellule bactérienne.

- Chaque espèce a **une colonie spécifique** de: taille, forme, couleur, consistance et odeur, caractéristiques



## II. Observation microscopique de la cellule bactérienne

• **A. Examen a l'état frais** : C'est l'examen **microscopique de bactéries vivantes**, en milieu liquide. Il permet **d'apprécier leur mobilité** (ou immobilité).

• Homogénéiser la culture liquide à prélever.



• Prélèvement: prélever une goutte de culture liquide (à la pipette Pasteur ou à l'anse de platine) **et la** déposer sur une lame propre.



• Pose de la lamelle, en partant d'une position inclinée à 45°. Attention! Le liquide ne doit pas déborder.



**B- Observation d'un frottis coloré** : L'examen après coloration permet d'observer des bactéries tuées fixées sur une lame et ayant subi l'action d'un ou plusieurs colorants.

Les colorations, réalisées sur des frottis secs et fixés, sont classées en :

1- **Coloration simple (un seul colorant)**

2- **Coloration différentielle type Gram**

3- **Colorations spéciales des structures** bactériennes (capsules, spores....).

## Formes sphériques : coques

★ Forme ronde : ● Ex. : *Staphylococcus*

★ Forme ovale (ovoïde) : ● Ex. : *Streptococcus*

★ Mode de groupement :

➤ isolé ● ●

➤ par deux (diplocoques) ●●

➤ En flamme de bougie ●● ex. : *Streptococcus pneumoniae*

➤ En grain de café ●● ex. : *Neisseria*

➤ Par quatre : tétrade ●●●● ex. : *Micrococcus*

➤ En amas ●●●●●●●●

➤ En chaînette ●●●●●●●●

## Formes allongées

★ Formes droites :

court ■ Long ■

épais ■ fin —

Bouts ronds ●● bords carrés ■

Coccobaccille ● Fusiforme ●

★ Formes particulières

➤ Forme incurvée ( ) ex. : *Vibrio*

➤ Forme spiralée ( ) ex. : *Treponema*

★ Modes de groupement :

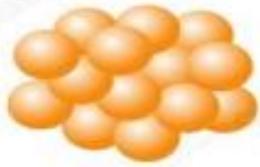
➤ isolés ■ ■ ■

➤ diplobacille ■■

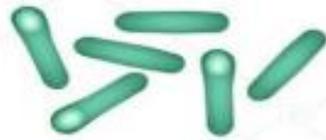
➤ En amas ■■

➤ En chaînette ■■■■

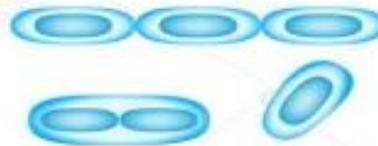
➤ En palissade ■■■  
■■■  
■■■



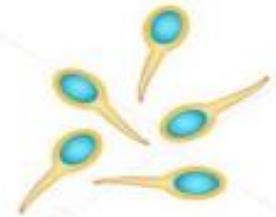
*Staphylococcus aureus*



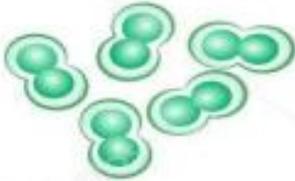
*Clostridium botulinum*



*Klebsiella pneumoniae*



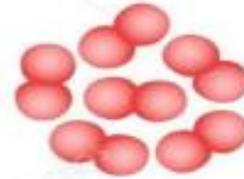
*Clostridium tetani*



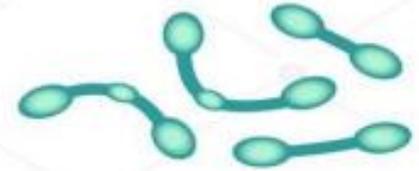
*Streptococcus pneumoniae*



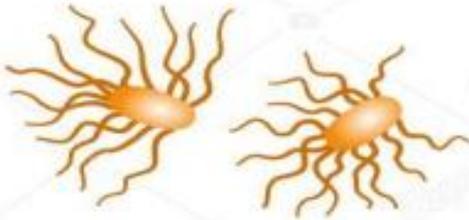
*Bordetella pertussis*



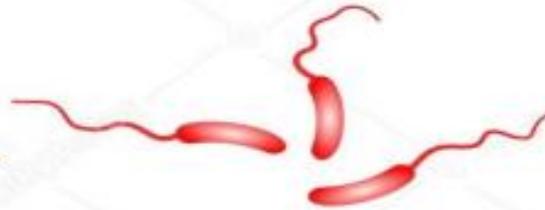
*Neisseria gonorrhoeae*



*Neisseria gonorrhoeae*



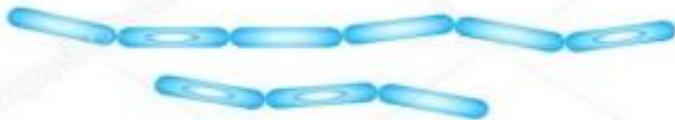
*E. coli ; Salmonella*



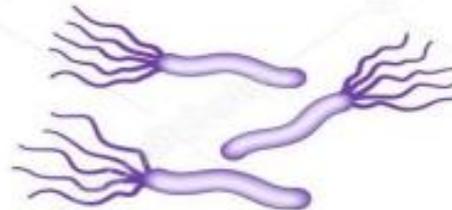
*Vibrio cholerae*



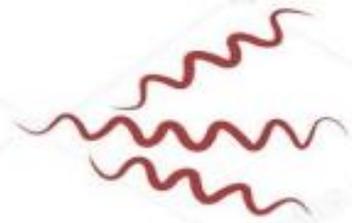
*Streptococcus pyogenes*



*Bacillus cereus*



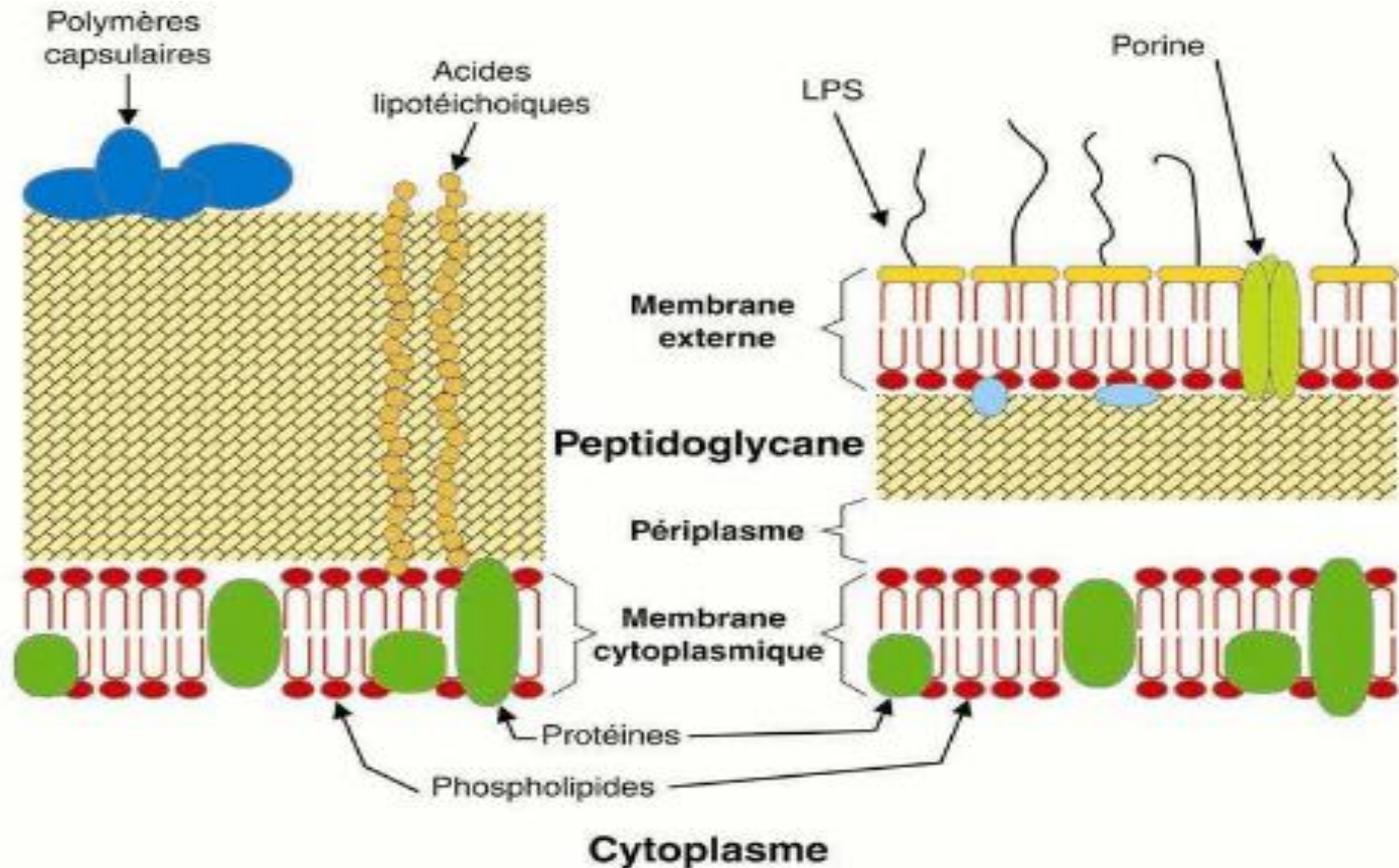
*Helicobacter pylori*



*Treponema pallidum*

**Fig : Exemple de formes couramment rencontrées dans la nature**

# Aspect de la paroi et les groupes bactériens



- ✓ Chez les bactéries à Gram positif, la paroi est caractérisée par la présence d'une épaisse couche de peptidoglycane qui entoure la membrane cytoplasmique et qui se retrouve en contact direct avec le milieu extérieur.
- ✓ Chez les bactéries à Gram négatif, la couche de peptidoglycane est beaucoup plus fine, avec une épaisseur comprise entre 3 et 6 nm

## Bactérie à Gram + :

Généralement épaisse mesurant de 200 à 800 Å (20 - 80 nm).

- Le peptidoglycane représente 40 à 95 % / épaisseur : 100 à 150 Å.
- Acides teichoïques: uniquement chez les bactéries Gram+ (20 à 60 % de la paroi), localisés à l'extérieur de la paroi et peuvent avoir un rôle antigénique
- Acides lipoteïchoïques
  - polymères de polyribitol phosphate (Staphylococcus aureus)
  - polyglycérol phosphate(Bacillus subtilis)
- **chez certaines bactéries à G+** on retrouve des polysaccharides et des protéines (ex. chez Streptocoque).
- **\*\*Les Gram (+) excrètent plutôt les enzymes hors de la cellule.**

## Bactérie à Gram -

- plus mince 100 à 150 Å (10 à 15 nm).
- Beaucoup plus complexe: sa structure est stratifiée avec une membrane externe à trois feuilletts et une couche profonde dense (peptidoglycane):

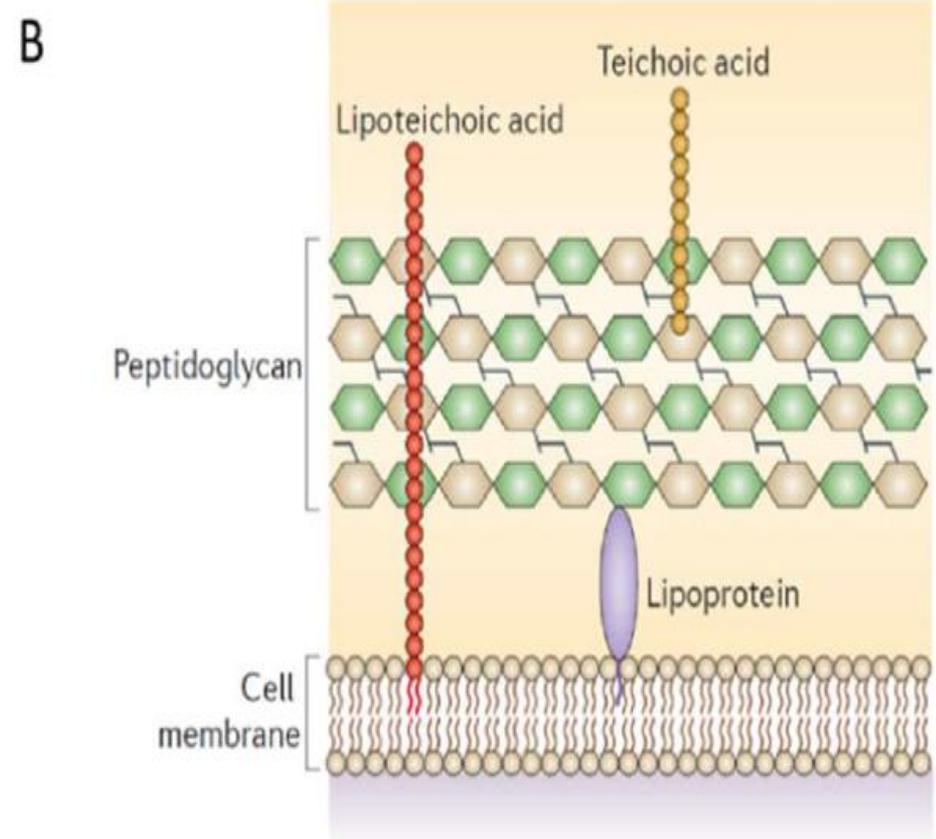
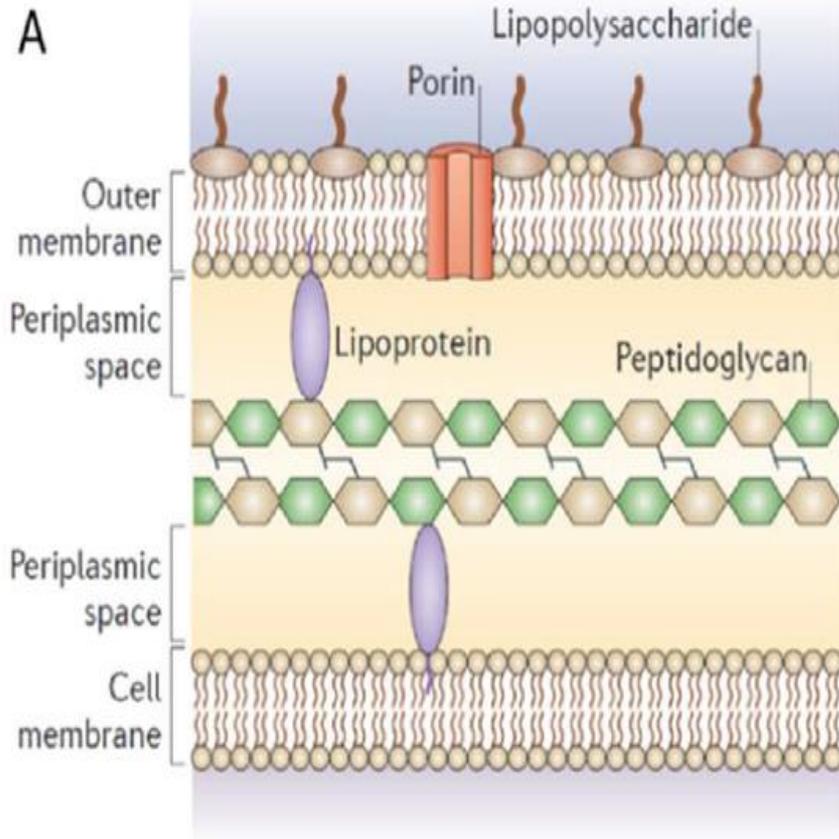
**a- le peptidoglycane :** couche mince d'environ 20 Å d'épaisseur (20 % de la paroi).

**b- l'espace périplasmique :** contient des enzymes et des protéines élaborées dans le cytoplasme. ont un rôle dans:

- ✓ **la dégradation** de certaines molécules venant de l'extérieur (nucleases, phosphatases, penicillinases).
- ✓ **Le transport** de substances nutritives à l'intérieur de la cellule (protéines de liaisons ou binding proteins)
- ✓ Certaines protéines peuvent être impliquées dans la chimiotaxie

**Figure I.11 : Représentation schématique de l'organisation de la membrane d'une bactérie à Gram négatif.** Les lipopolysaccharides (LPS) sont nombreux et ancrés dans la membrane externe. Le peptidoglycane, plus fin que chez les bactéries à gram positif est contenu dans le périplasme. (Esko, 2009) (Lipides en rouge : phosphatidylethanolamine; lipides en rose : phosphatidylglycerol ; GlcNAc : N-acetyl-D-glucosamine ; MurNAc : acide N-acetylmuramique ; GalNAc : N-acetyl-D-galactosamine ; Glc : glucose ; Gal : galactose ; Kdo : acide 3-deoxy-D-manno-octulosonique ; heptose : L-glycero-Dmanno-heptose ; (n) nombre variable de répétition d'antigène-O ; PPEtn pyrophosphoethanolamine)

# Ultrastructure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives



**Représentation schématique des différents types de parois bactériennes.**

**A : Représentation de la paroi des bactéries à Gram négatif. B : Représentation de la paroi des bactéries à Gram positif (D'après (Brown et al., 2015)).**

# Différence entre la paroi G+ et la paroi G-

**Gram positive**

**Très peu de lipides (1 à 2 %)**

**Acides teïchoïques et lipoteïchoïques**

**4 Acides aminés majeurs :  
Ala (D et L) D-Glu, L-Lys, acide  
diaminopomélique (DAP)**

**Osamines  
N-acétyl glucosamine (NAG) et Acide N-acétyl muramique (ANAM)**

**Gram négative**

**Lipides en grande quantité  
(10 à 20 %, Membrane externe)**

**Il n y a pas d'acides teïchoïques ou  
lipoteïchoïques**

**Mêmes acides aminés  
Beaucoup moins de DAP et de L-  
Lys**

# Le Rôle de paroi bactérienne

- **Rôle 1**  
**assure le maintien de la forme de la bactérie**
- **Rôle 2**  
**assure une protection contre la pression osmotique intracellulaire (car forte concentration en métabolites à l'intérieur de la cellule >> l'eau rentre).**
- **Rôle 3**  
**propriétés antigéniques**
- **Rôle 4**  
**permet la fixation des bactériophages (**lysotypie**).**
- **Rôle 5 :**  
**Participe à la mobilité.**  
**Les flagelles sont implantés dans la membrane cytoplasmique mais ne peuvent pas fonctionner en absence de peptidoglycane (d'où immobilité des protoplastes).**

## Le Rôle de paroi bactérienne

- Rôle 6 :
- **La toxicité.** Chez les Gram(-), le LPS est une endotoxine (effet toxique porté par le lipide A) qui peut donner fièvres et lésions.
- Rôle 7 :
- **La perméabilité.** La paroi laisse passer de petites molécules comme l'eau, les sels minéraux ou des métabolites simples. Par contre elle est plus ou moins perméable à certains solvants (exemple l'alcool, coloration de Gram).

# Le Rôle de paroi bactérienne

Afin d'étudier les rôles de la paroi, on utilise une enzyme lytique: le lysozyme.

- Le lysozyme coupe les liaisons  **$\beta$ 1-4 glycosidiques entre le NAG et l'ANAM.**
- Il en résulte une **destruction totale du peptidoglycane chez les bactéries Gram(+)**, et une **fragmentation de celui-ci chez les Gram(-)** car le peptidoglycane est **moins accessible à cause de la membrane externe.**

La paroi est le site d'action d'enzymes exogènes (lysozyme) ou endogènes (autolysines) ou d'antibiotiques qui inhibent la synthèse du peptidoglycane.

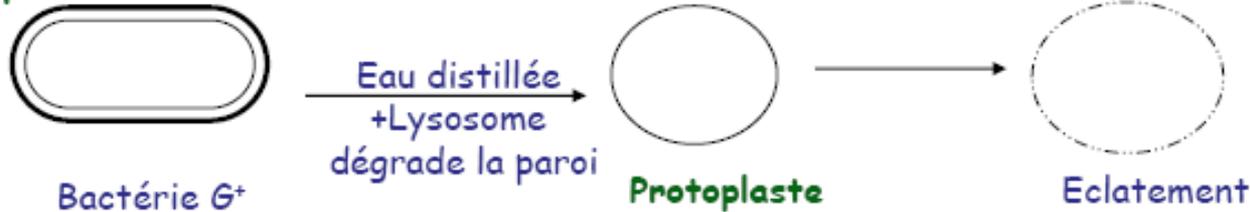
L'absence de paroi est habituellement létale pour les bactéries (à l'exception des Mollicutes).

- Les **protoplastes** sont observés chez les bactéries à **Gram positif**. L'action du lysozyme entraîne leur formation. Ils ne peuvent pas se diviser.
- Les **sphéroplast**s sont observés chez les bactéries à **Gram négatif**. Ils sont dus à l'action des antibiotiques. Une partie de la paroi cellulaire est toujours présente après traitement par une pénicilline.

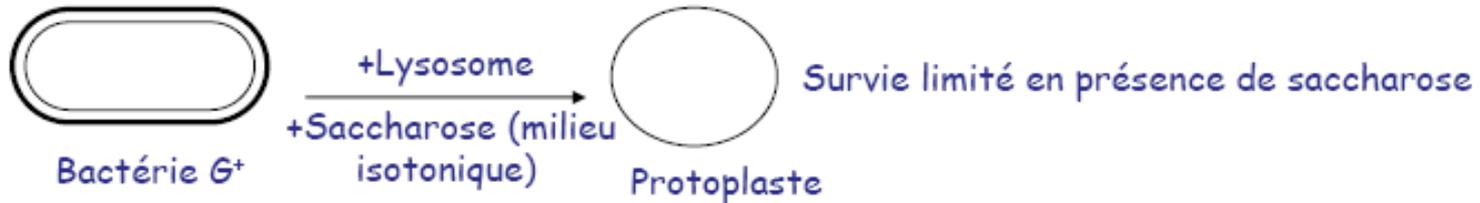
# Action des lysozymes

Le lysozyme catalyse l'**hydrolyse de la liaison osidique en B1-4** entre la N-acétylglucosamine (NAG) et l'acide N-acétylmuramique (NAM)

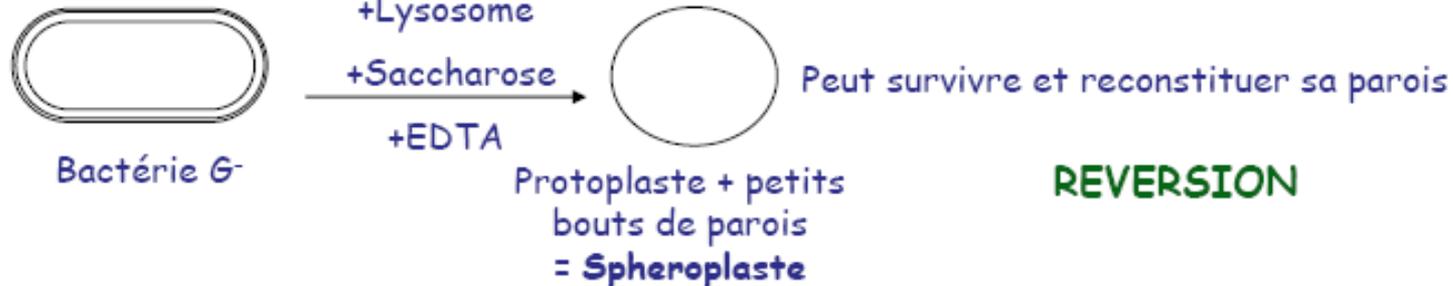
## Expérience 1



## Expérience 2

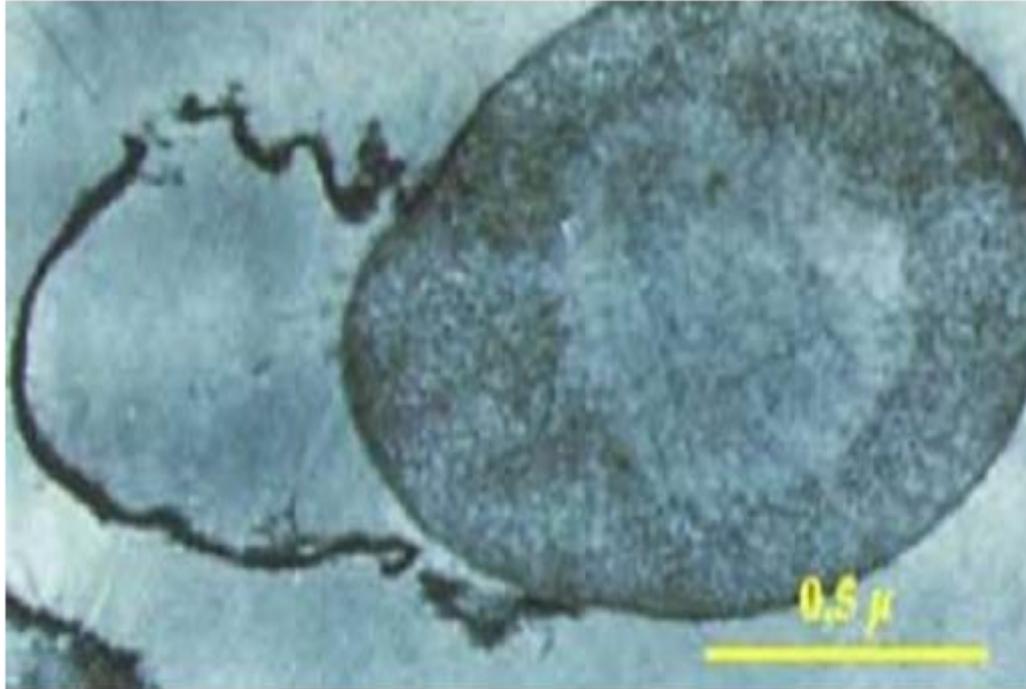


## Expérience 3

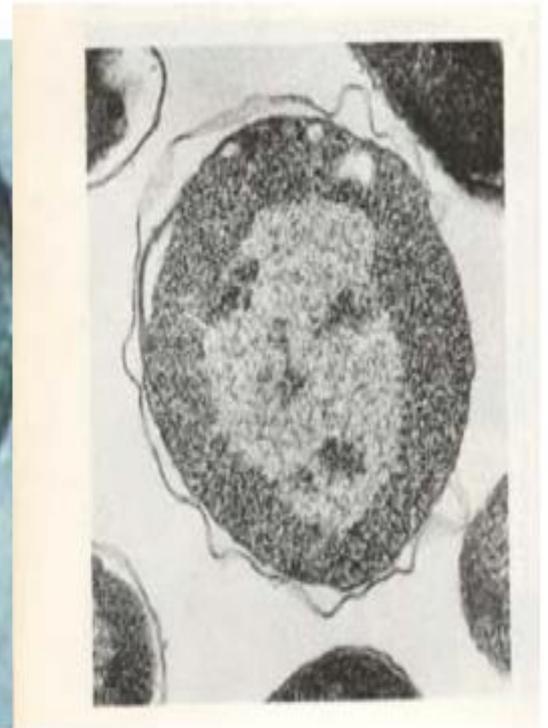


**Protoplaste:** Cellule bactérienne libérée de sa paroi mucopolysaccharidique

**Spheroplastes:** Protoplaste isolé des cellules bactériennes Gram-



**Figure : A: Protoplaste**



**B: Sphéroplaste**

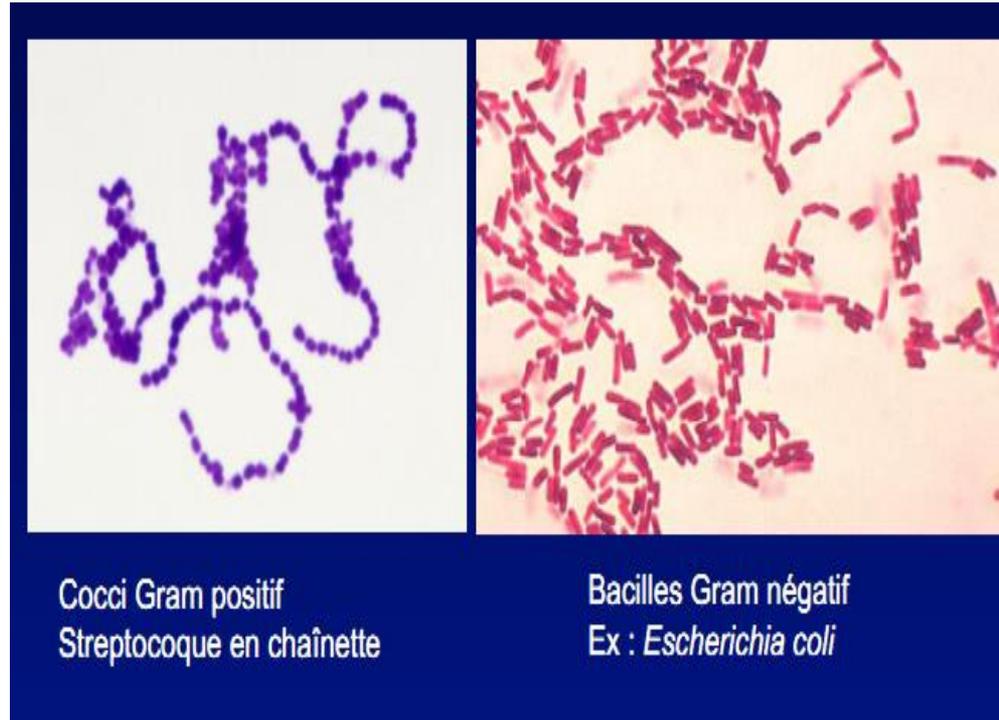
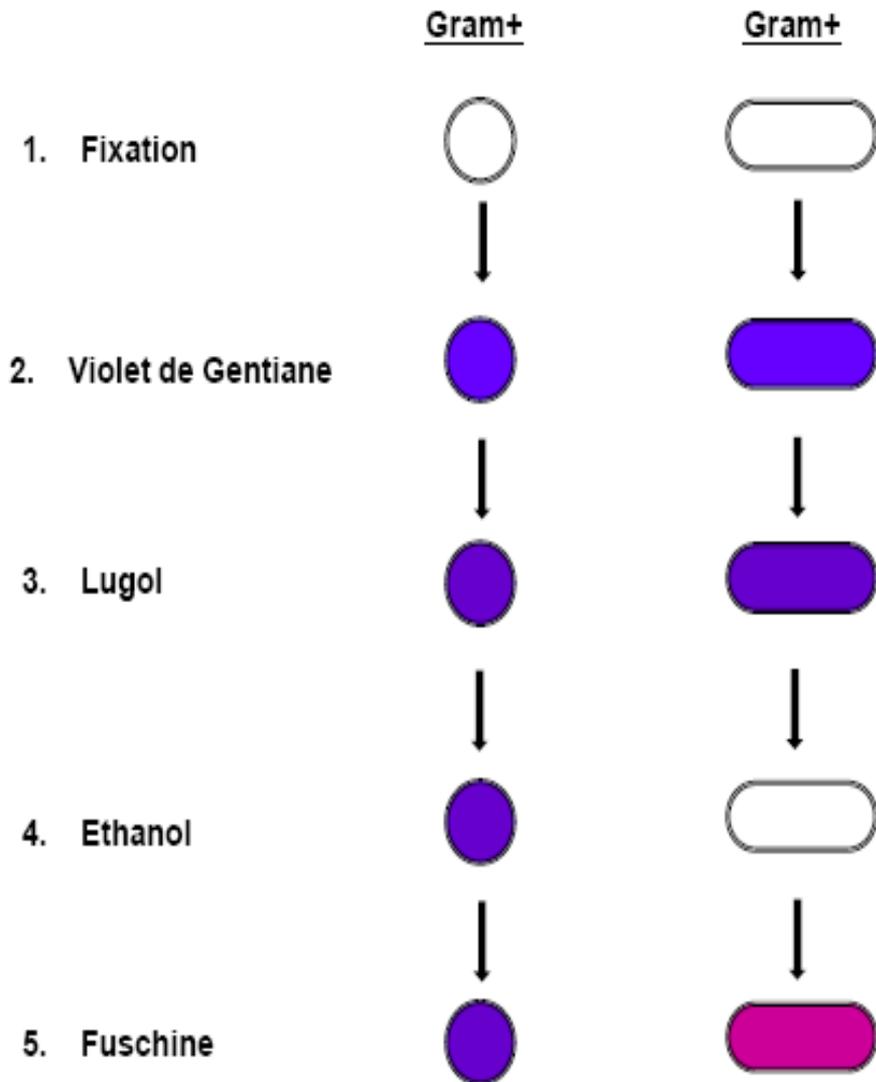
# La coloration de Gram

La coloration de Gram a été mise au point par un médecin danois (Christian Gram) en 1884.

• **Objectifs:** double intérêt 1) Morphologie (forme, taille, groupement...) 2) le type de paroi.

Étapes	mode opératoire	Qu'est ce qui se passe ?	Etat des bactéries à cette étape
Coloration au violet de Gentiane	Recouvrir la lame de violet de gentiane	Le violet de gentiane colore les bactéries qu'elles soient Gram + ou Gram -	Toutes les bactéries sont colorées en violet
Laisser agir 1 minute			
Mordançage au lugol	Recouvrir la lame de lugol	Le lugol et le violet de gentiane forment un complexe qui renforce la coloration	Toutes les bactéries sont colorées en violet
Laisser agir 20 secondes puis renouveler le mordançage 2 fois			
Essai de décoloration par l'éthanol	Incliner la lame puis laisser couler de l'éthanol (95 °GL) durant 4 secondes. Attention : cette étape est délicate !	La paroi des bactéries à Gram + ne laisse pas passer l'éthanol qui ne peut dissoudre le violet de gentiane. La paroi des bactéries à Gram - laisse passer l'alcool qui dissout le violet de gentiane.	Les bactéries à Gram + restent colorées en violet. Les bactéries à Gram - ne sont plus colorées.
Rincer à l'eau distillé			
Recoloration à la fuschine	Recouvrir la lame de d'eau et ajouter quelques gouttes de fuschine de Zeihl	La fuchsine colore alors les bactéries non colorées	Les bactéries à Gram + restent colorées en violet. Les bactéries à Gram - sont colorées en rose.
Laisser agir 30 secondes à 1 minute puis rincer à l'eau distillé .			

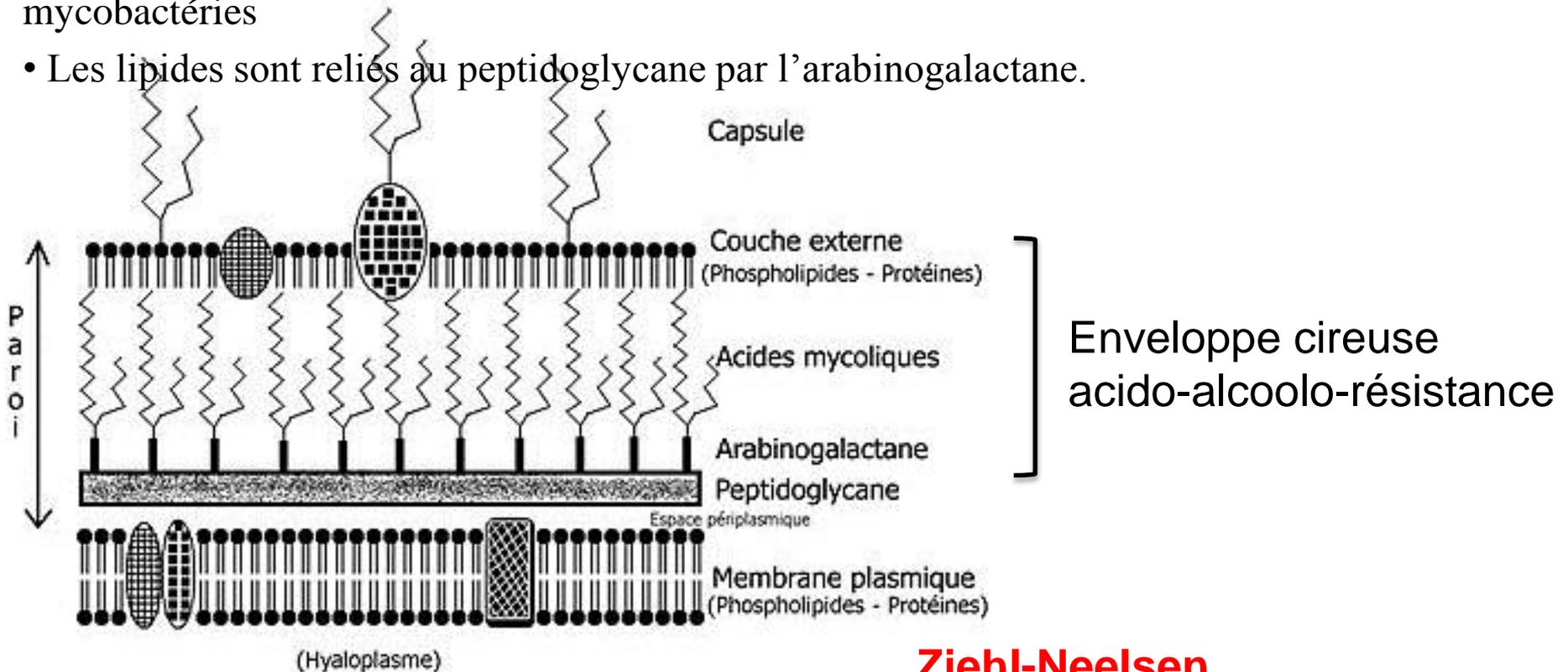
# Aspect au microscope de la coloration des Gram + et Gram-



# Composition de la paroi des mycobactéries

La **paroi des Mycobactéries** (**Gram+** sur la base de ARN ribosomique) présente une organisation tripartite, avec une membrane cytoplasmique accompagnée d'un **peptidoglycane**, d'une **couche pariétale de mycolate** transparente aux électrons et d'une **couche externe**.

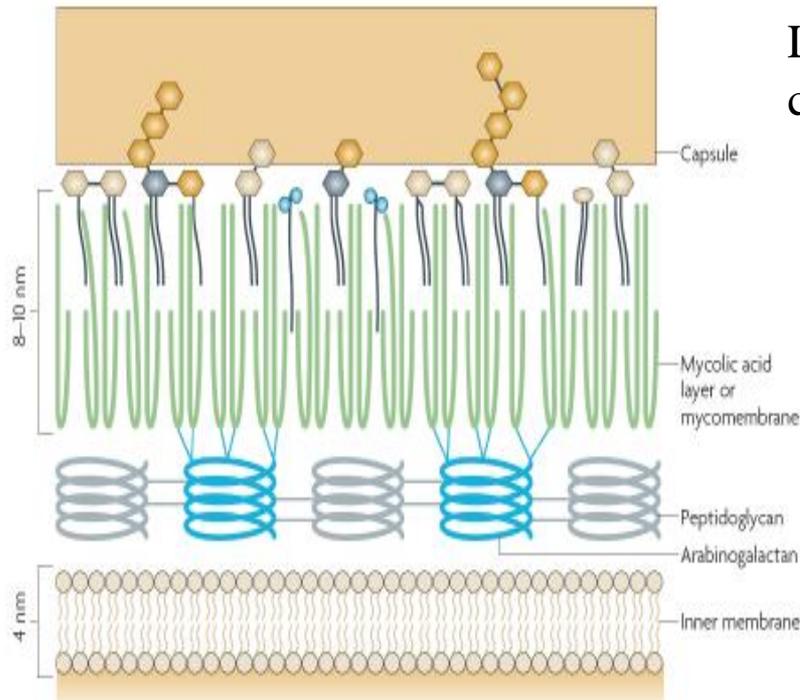
- Les composants majeurs de cette paroi sont des acides gras spécifiques appelés acides mycoliques (figure) qui représentent jusqu'à 60% du poids sec de ces organismes.
- Les différents types d'acides mycoliques servent notamment à distinguer différentes espèces de mycobactéries
- Les lipides sont reliés au peptidoglycane par l'arabinogalactane.



## Composition de la paroi des mycobactéries

- Trois composants liés covalamment constituent le noyau principal de la paroi extracellulaire de *M. tuberculosis*: le peptidoglycan (gris), l'arabinogalactan (bleu) et les acides mycoliques (vert).
- La liaison covalente des acides mycoliques avec l'arabinogalactan résulte en une couche hydrophobe de fluidité extrêmement réduite, qui est également connue sous le nom de mycomembrane.

Sa face extérieure contient plusieurs lipides spécifiques, tels que les glycolipides phénoliques, les sulfolipides, les dimycocerosates ou le dimycolyltrehalose, qui s'intercalent avec les acides mycoliques. La plupart de ces lipides sont spécifiques des mycobactéries



La couche extérieure, appelée généralement capsule, contient principalement des polysaccharides.

# Coloration des Mycobactéries

Cette couche lipidique conserve la fuschine et ne se décolore pas par l'acide dilué et l'alcool (caractère tinctorial utilisé dans la coloration de Ziehl-Neelsen)

Les acides gras, appelés acides mycoliques rendent la paroi relativement imperméable au colorant. Pour colorer les mycobactéries, il faut utiliser des colorants concentrés et on renforce quelque fois leur action par chauffage. Une fois colorées, les mycobactéries résistent à l'action décolorante des acides et de l'alcool, c'est pourquoi on les appelle des **bacilles acido-alcoolo-résistants** (B.A.A.R.).

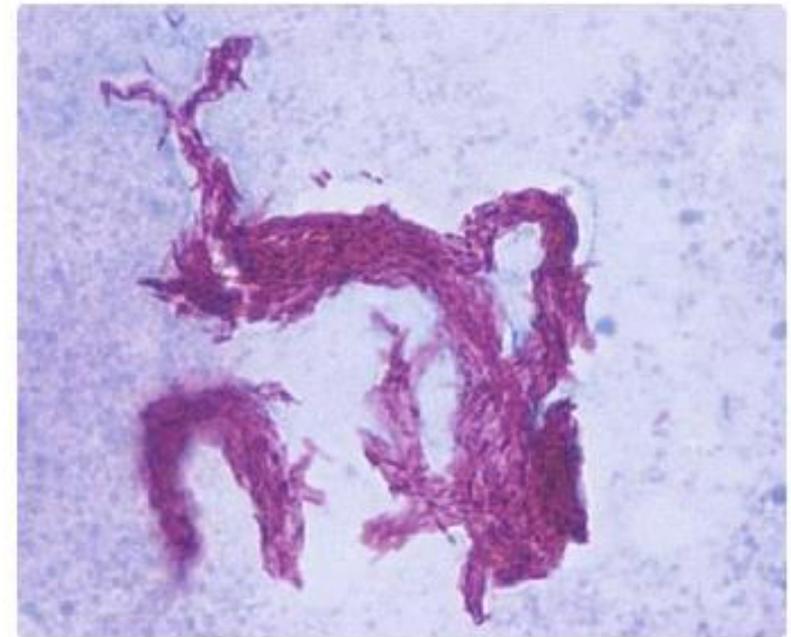
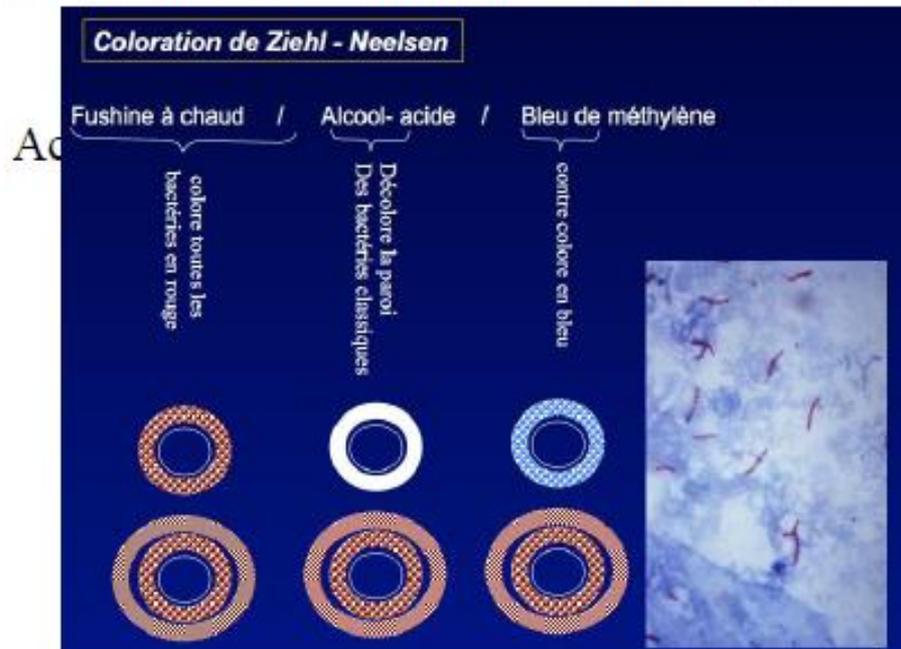


Fig 2 : Groupements dits « en cordes » (coloration de Ziehl)

# La paroi des Archéobactéries

- Aucune ne possède de peptidoglycane caractéristique des parois bactériennes.
- Ne possèdent pas d'acide muramique.
- Ne possèdent pas d'acides D-aminés.
- Résistent à l'attaque du lysozyme et des antibiotiques à noyau  $\beta$ -lactame.
- Certaines contiennent de la **pseudomuréine**.
  - Polymère ressemblant au peptidoglycane.
  - Contient des acides L-aminés.
- Peuvent contenir des polysaccharides, des protéines ou des glycoprotéines.

# Composition de la paroi bactérienne

## Peptidoglycane (muréine /mucopeptide)

- C'est un hétéropolymère complexe formé de 3 éléments différents :

**a. Des chaînes polysaccharidiques** faites de l'alternance régulière de sucres aminés et acétylés, la **N-acétyl-glucosamine (NAG)** et l'acide **N-acétyl-muramique (ANAM ou NAM)**.

**b. Des chaînes tétrapeptidiques** liées à l'acide N-acétyl-muramique.

chez *Staphylococcus aureus*, la séquence est: **L-ALA - Acide D-glutamique - L-Lysine - D-Alanine**.

**c. Des liaisons ou ponts interpeptidiques** unissant le **dernier acide aminé** d'un tétrapeptide au **troisième acide** du tétrapeptide sous-jacent.

chez *S. aureus* il s'agit d'un pont constitué de 5 molécules de **glycine** (pentapeptidique).

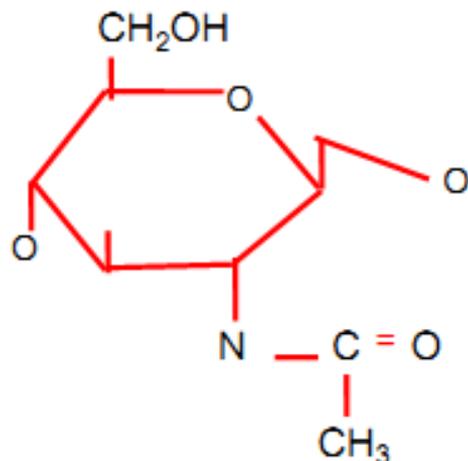
# Composition chimique

Les éléments de la paroi :

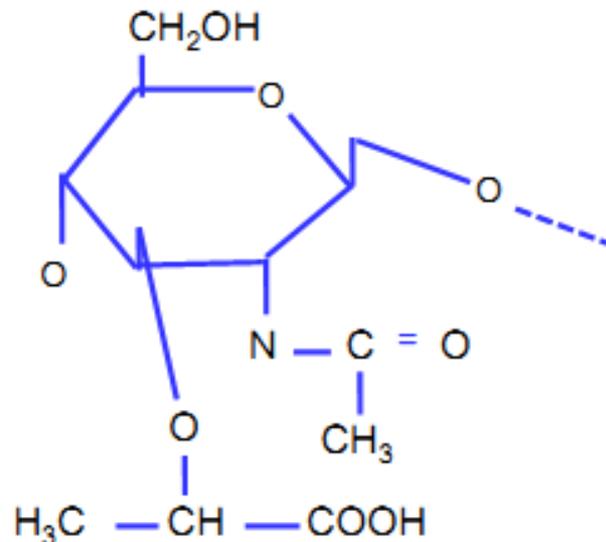
- 1) Osamines
- 2) Acides aminés
- 3) Acides technoïques
- 4) Oses
- 5) lipides

# 1. Osamines (sucres aminés)

## 1. N-acétylglucosamine : NAG

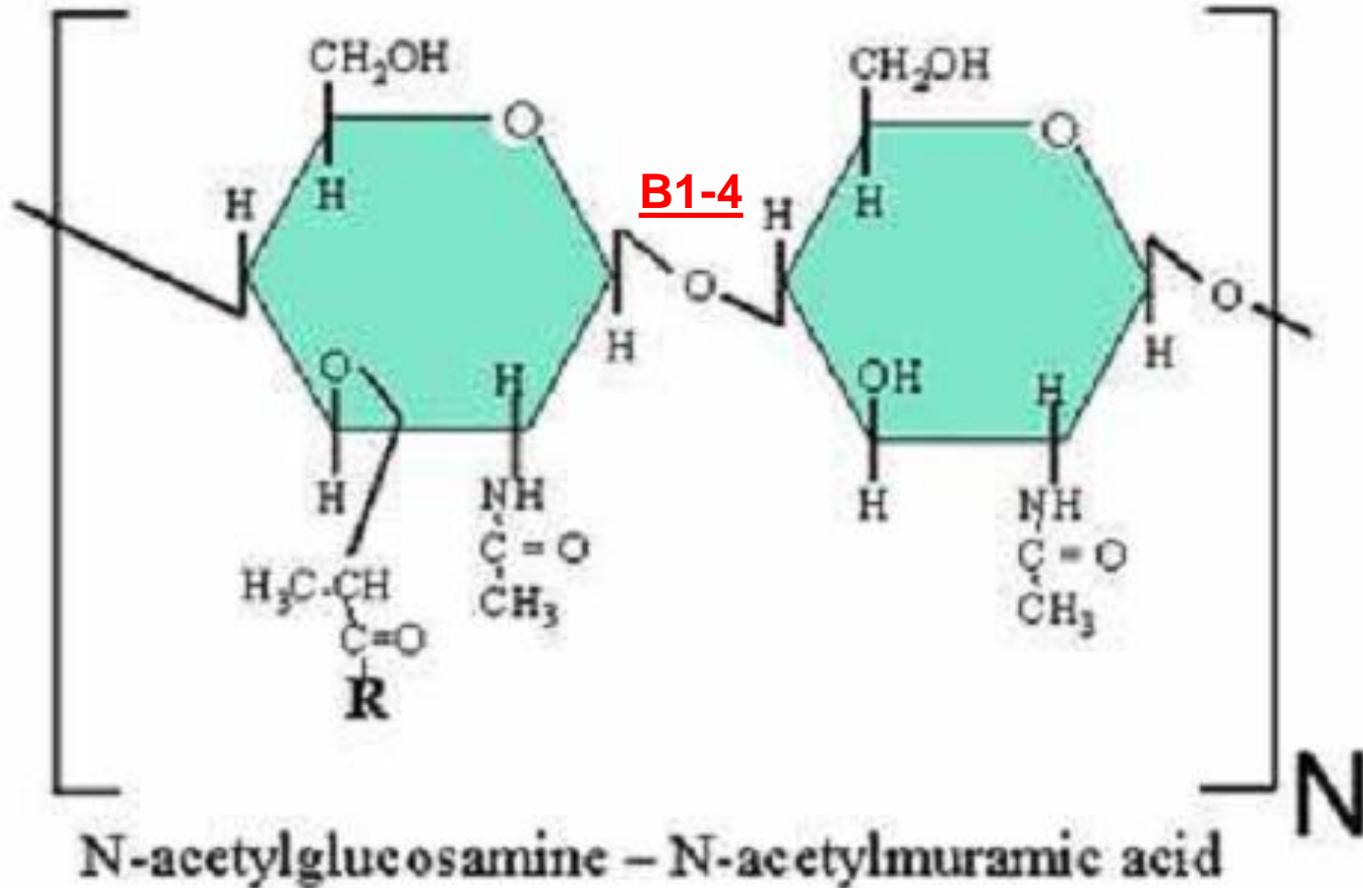


## 2. N-acétylmurannique : NAM



3. Parfois, on trouve du galactosamine.

La structure glucidique de base du peptidoglycane:  
osamines

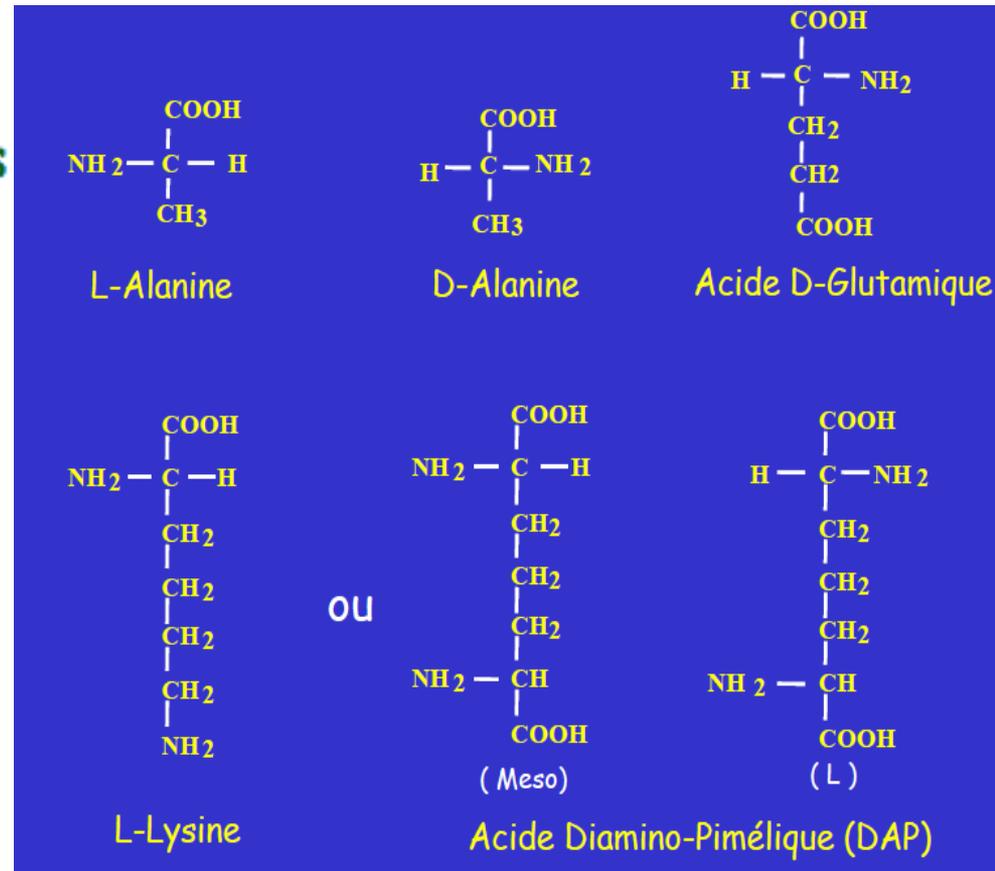


## 2. Acides aminés

### Quatre acides aminés courants

1. D-Alanine,
2. L-Alanine
3. Acide D-glutamique
4. L-Lysine

Ou



Acide diamino-pimélique (structure analogue à la lysine mais possède une fonction  $-\text{COOH}$  sur le dernier carbone).

### 3. Acides techoïques

Uniquement chez les bactéries Gram+

Ils sont inclus dans le peptidoglycane par le carbone N° 6 de la NAM.

### 4. Oses

Ils sont nombreux à être mis évidence : Glucose, Galactose, Mannose, Fucose, etc.

### 5. Lipides

Ils sont en faible quantité et quasiment absents chez les bactéries à Gram +

# Lipopolysaccharides

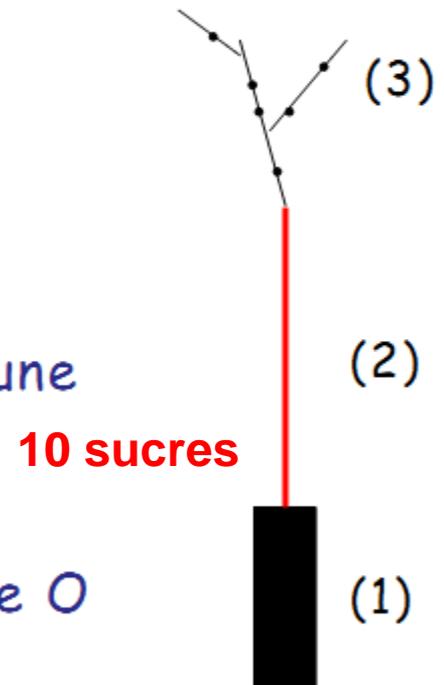
Sont des complexes macromoléculaires

LPS : trois parties

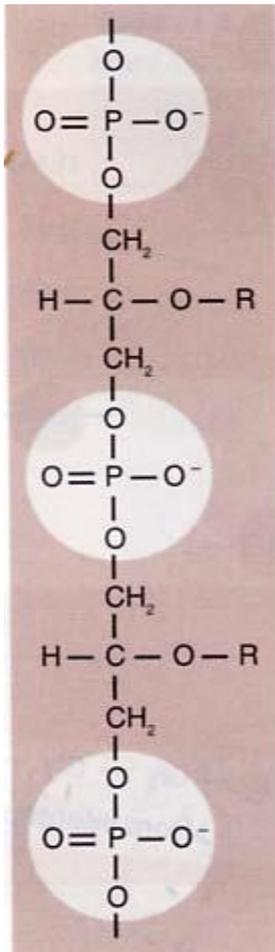
1) **lipide A** : c'est un glycophospholipide, et la partie la plus stable;

2) **Partie centrale ou core** : elle est commune à toutes les bactéries Gram - ;

3) **Partie périphérique** : appelée antigène O

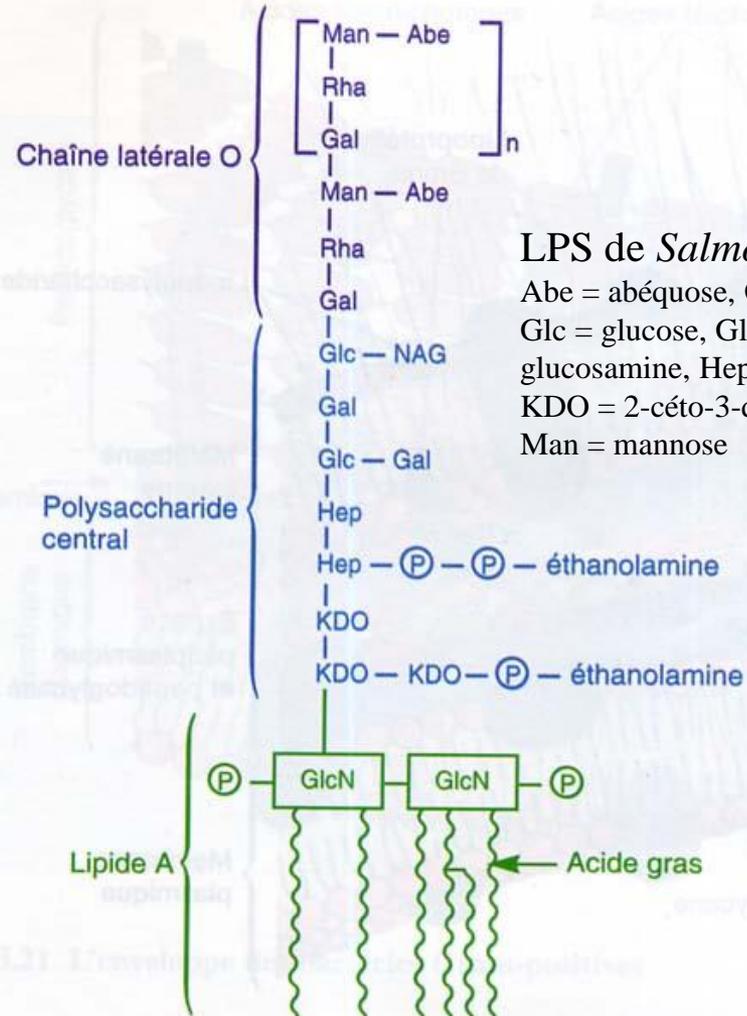


# Les acides téichoïques (Gram positives) rôle antigénique



Polyol phosphate (glycérol bacillus, ribitol, staphylocoques)  
R = D-alanine, glucose ou autre...

# Le lipopolysaccharide LPS = endotoxine(Gram-)



## LPS de *Salmonella*

Abe = abéquose, Gal = galactose,  
Glc = glucose, GlcN =  
glucosamine, Hep = heptulose,  
KDO = 2-céto-3-désoxyoctonate,  
Man = mannose

Sucre+lipide

## Comparaison de la composition chimique globale de la paroi chez les bactéries Gram+ et les bactéries Gram-

Éléments de la paroi	Gram +	Gram –
1. Osamines	++	+
2. Acides aminés	24 – 35 %	≈ 50 %
Nombre	4 à 10	16 à 17
Acide diamino-pimélique	+++ Exclut la lysine	– N'exclut pas la Lysine
3. Acides teichoïques	+++	–
4. Oses	20-60 %	20-60 %
5. Lipides	1-2.5 %	10 – 22 %

**La structure glucidique de base du peptidoglycane:**  
**osamines**

1. **Partie glucidique** : alternance de NAG et de NAM reliés par des liaisons  $\beta$  1-4 glucosidiques.

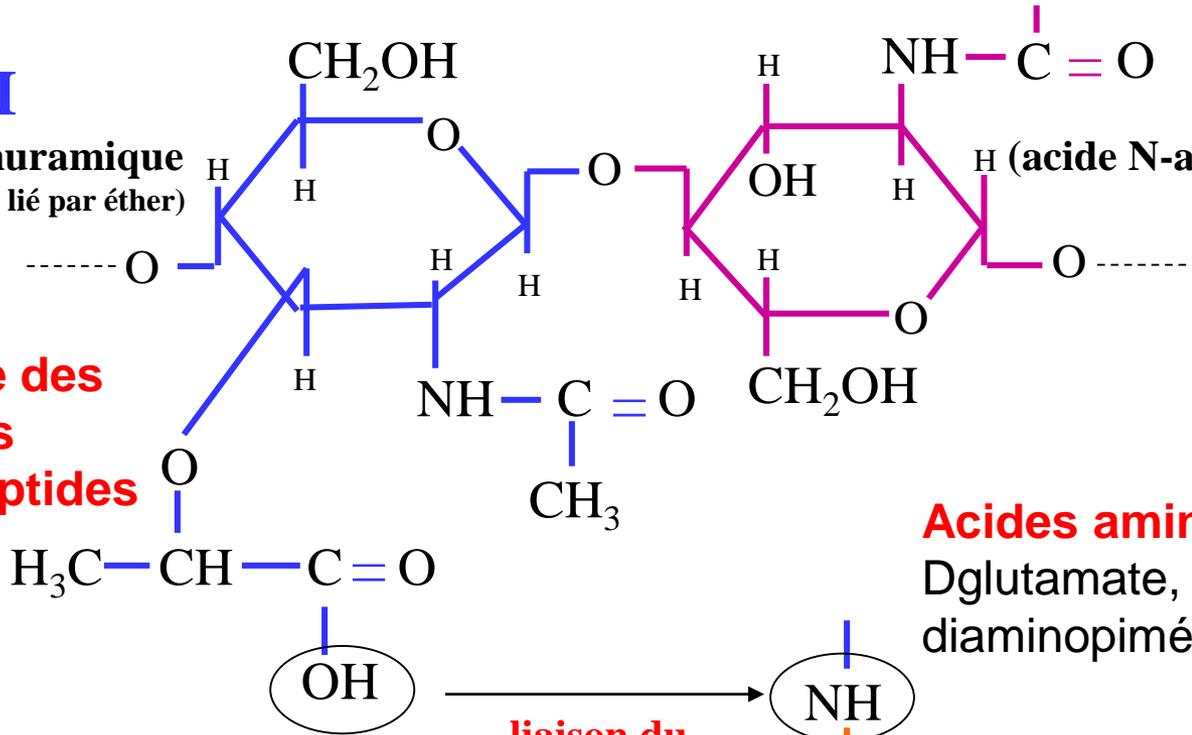
**NAM**

(acide N-acétylmuramique  
= NAG+acide lactique lié par éther)

**NAG**

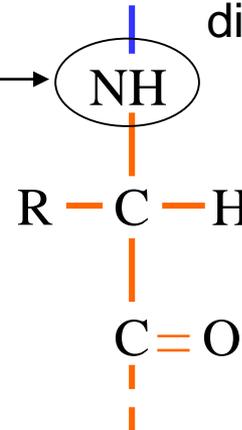
(acide N-acétylglucosamine)

Capable de faire des liaisons avec les sucres et les peptides

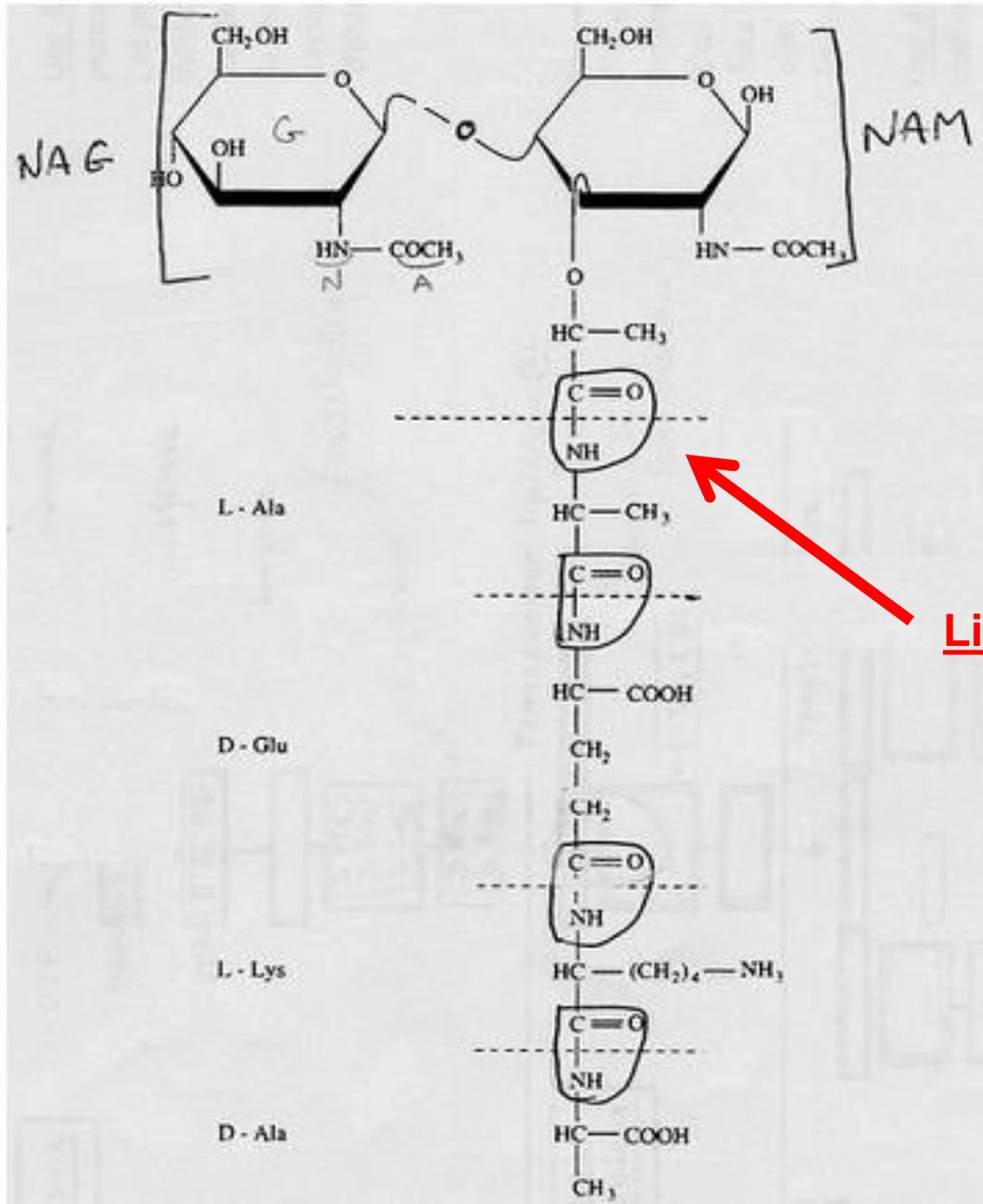


**Acides aminés:** D et L Ala, Dglutamate, lysine ou acide diaminopimélique

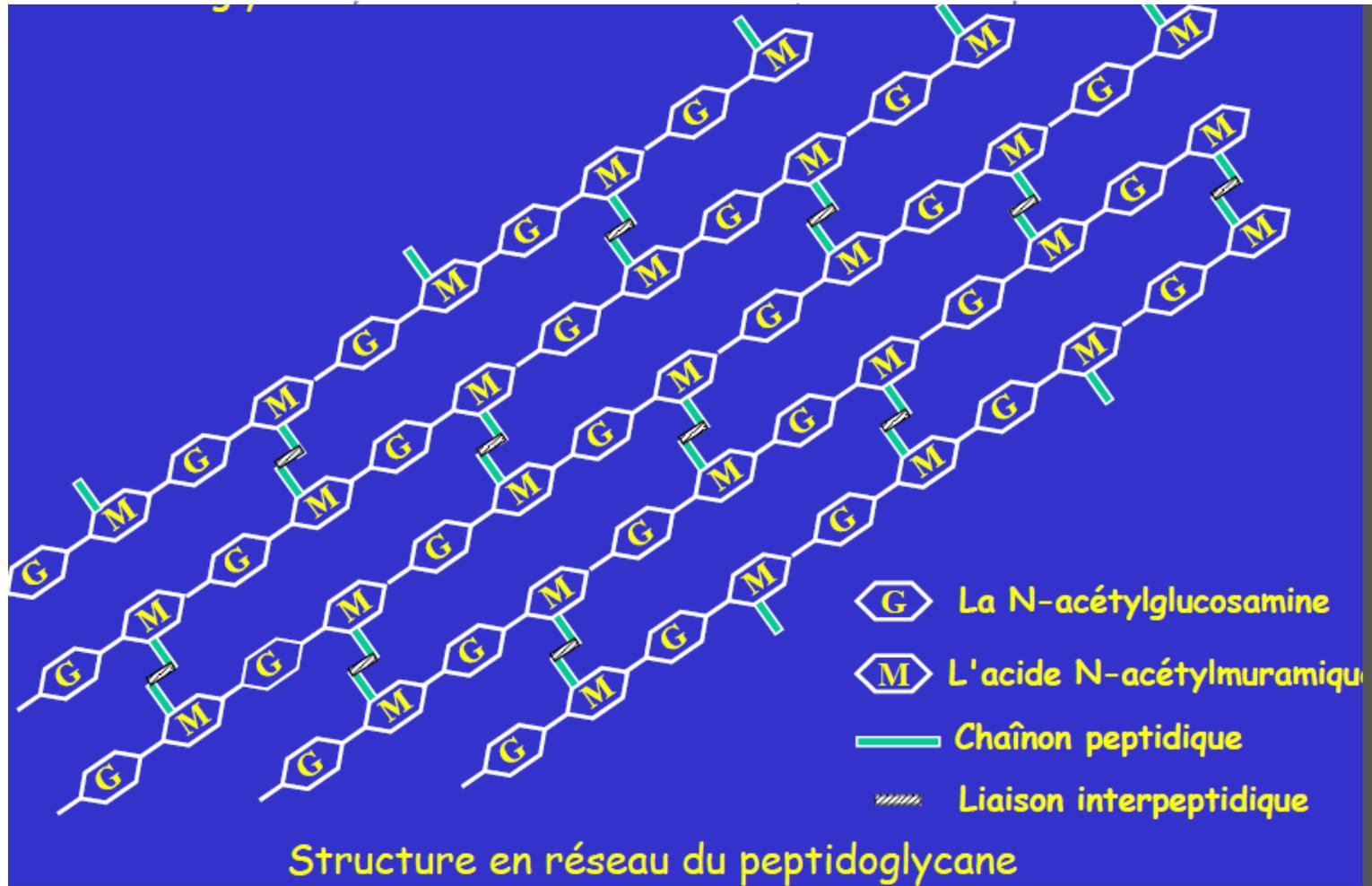
2. **partie peptidique** : 4 acides aminés qui sont reliés par une liaison amidique au niveau de la fonction acide carboxylique du résidu pyruvate du NAM.



# Formule chimique des constituants du PG de *S. aureus*

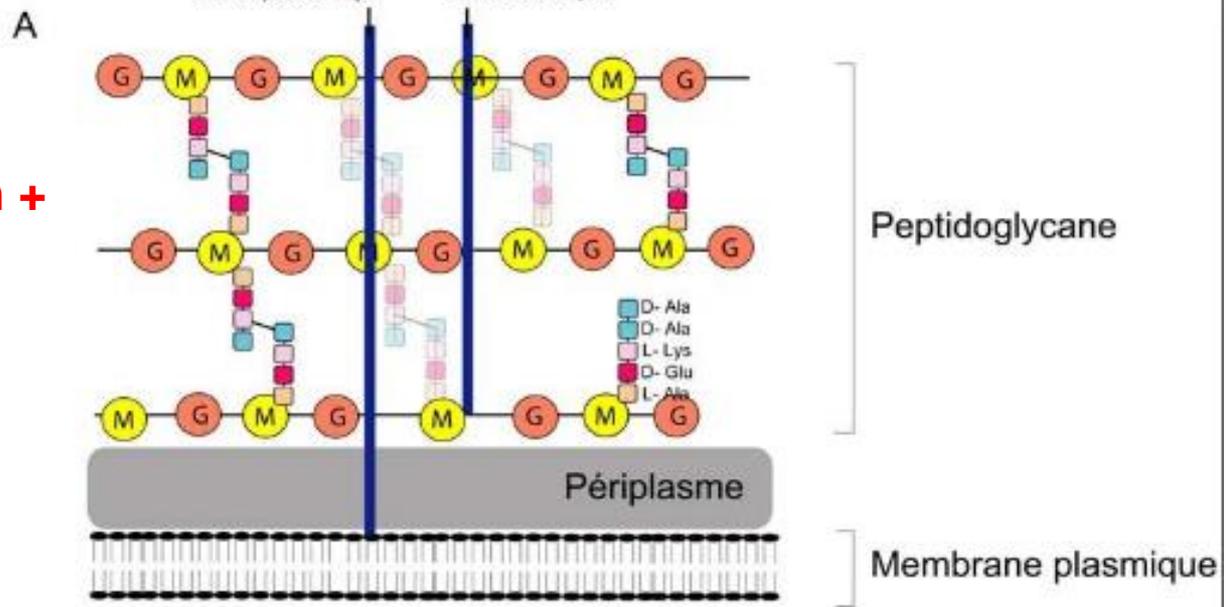


- Le peptidoglycane est formé par de longues chaînes répétitives montrant une alternance NAG-NAM
- Les macromolécules ainsi formées sont réunies au niveau des tétrapeptides pour former une structure solide

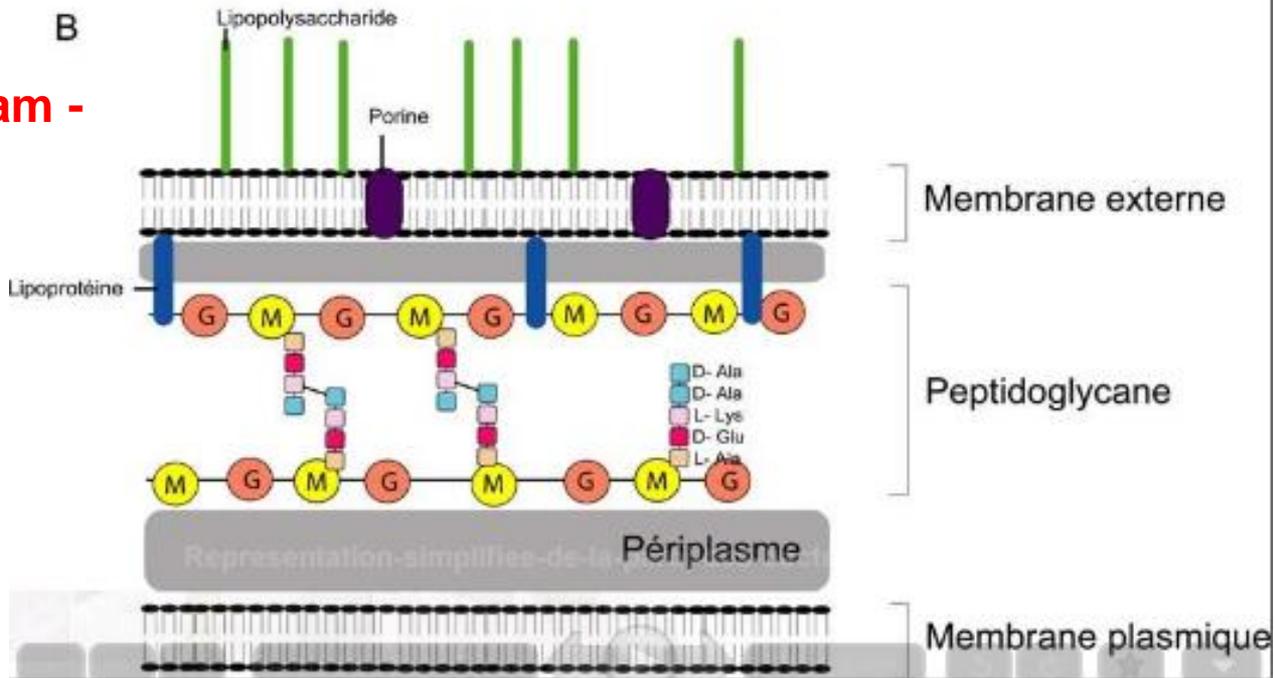


Pont interpeptidique

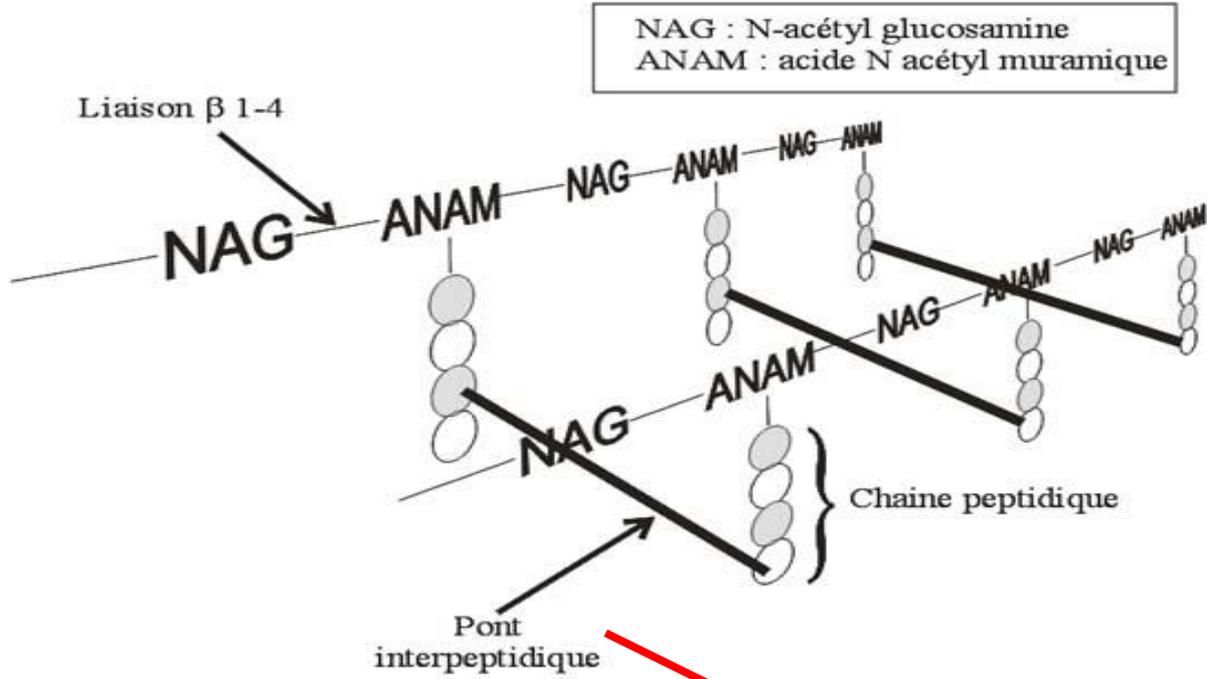
**Bactérie Gram +**



**Bactérie Gram -**



**Élément structural:** péptidoglycane = muréine = mucocomplexe = mucopeptide



Le peptidoglycane.  
R. Moreda Lycée Lacroix Narbonne

- 5 glycine *Staphylocoques aureus*
- Aspartate *Lactobacillus*
- Liaison direct

# Variation autour du modèle peptidoglycane

- ❖ Bien que la voie de biosynthèse du peptidoglycane soit globalement conservée au sein du monde bactérien, la structure du peptidoglycane présente, elle, une certaine variabilité d'une espèce à l'autre.
- ❖ Cette variabilité est également dépendante de certains facteurs comme la richesse du milieu, la phase de croissance, la présence de mutations dans certains gènes ou bien la présence d'antibiotiques dans le milieu.
- ❖ Le peptidoglycane peut alors subir de nombreuses modifications

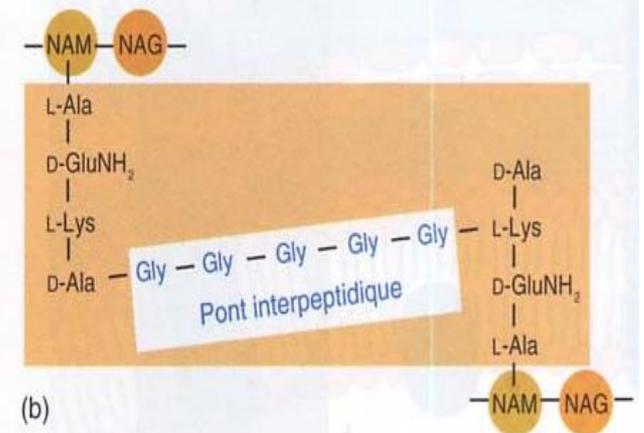
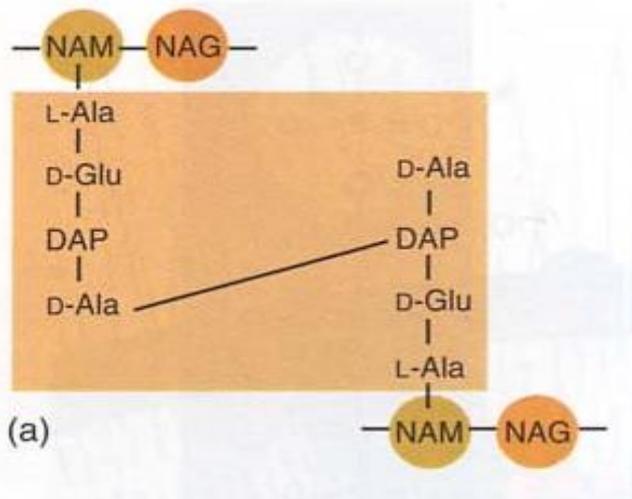
## I. Variation de la partie peptidique

La variabilité de la partie peptidique du peptidoglycane retrouvée au sein du monde bactérien est le résultat de modifications qui vont intervenir au niveau de :

- (i). la composition ou le type des ponts interpeptidiques
- (ii). le taux de pontage du peptidoglycane.
- (iii). la nature des acides aminés entrant dans la composition du pentapeptide

## i) Variation du type de pont interpeptidique

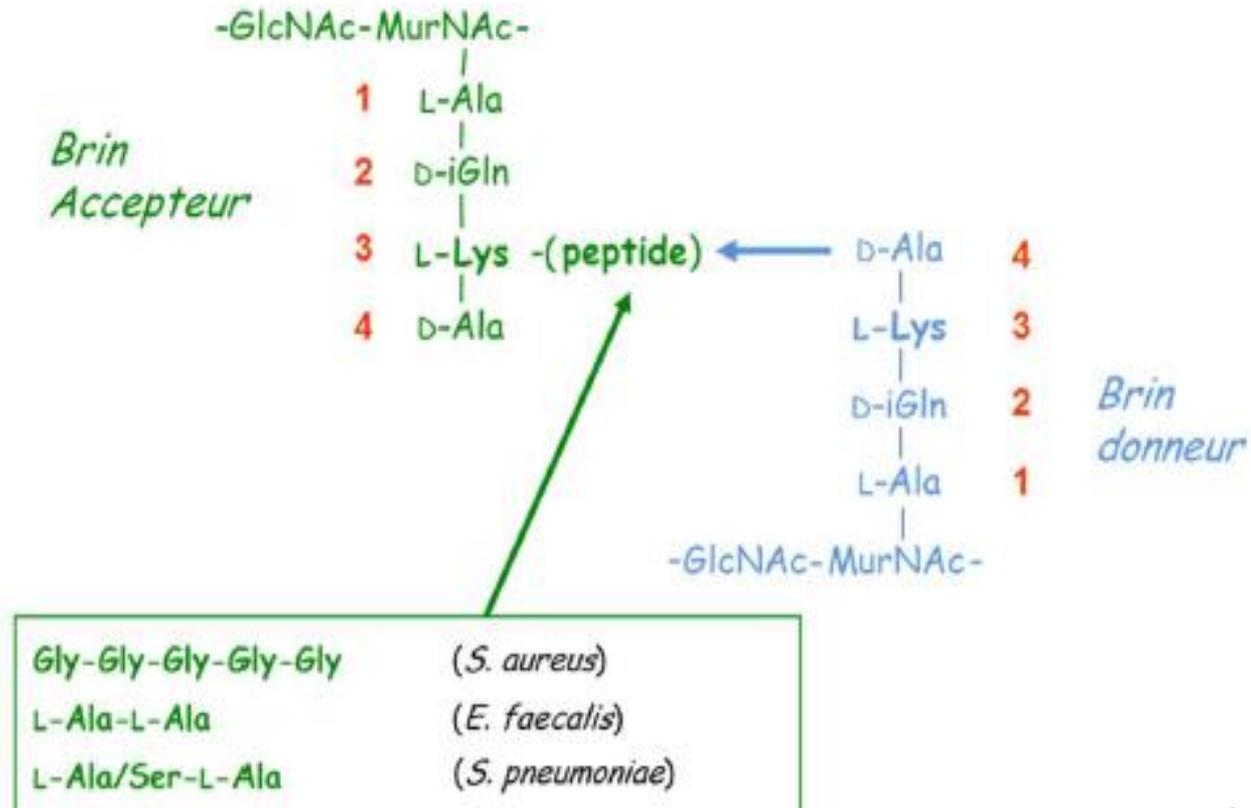
- ❖ Chez les bactéries à Gram négatif, le pontage entre deux chaînes de glycane est le plus souvent direct.
- ❖ Chez beaucoup de Bacillaceae et chez les bactéries à Gram négatif, le pont interpeptidique est une liaison D-alanyl-D-acide-meso-diaminopimélique (**liaison amidique directe**).



- ❖ En revanche, il nécessite généralement l'intervention d'un pont interpeptidique chez les bactéries à Gram positif.

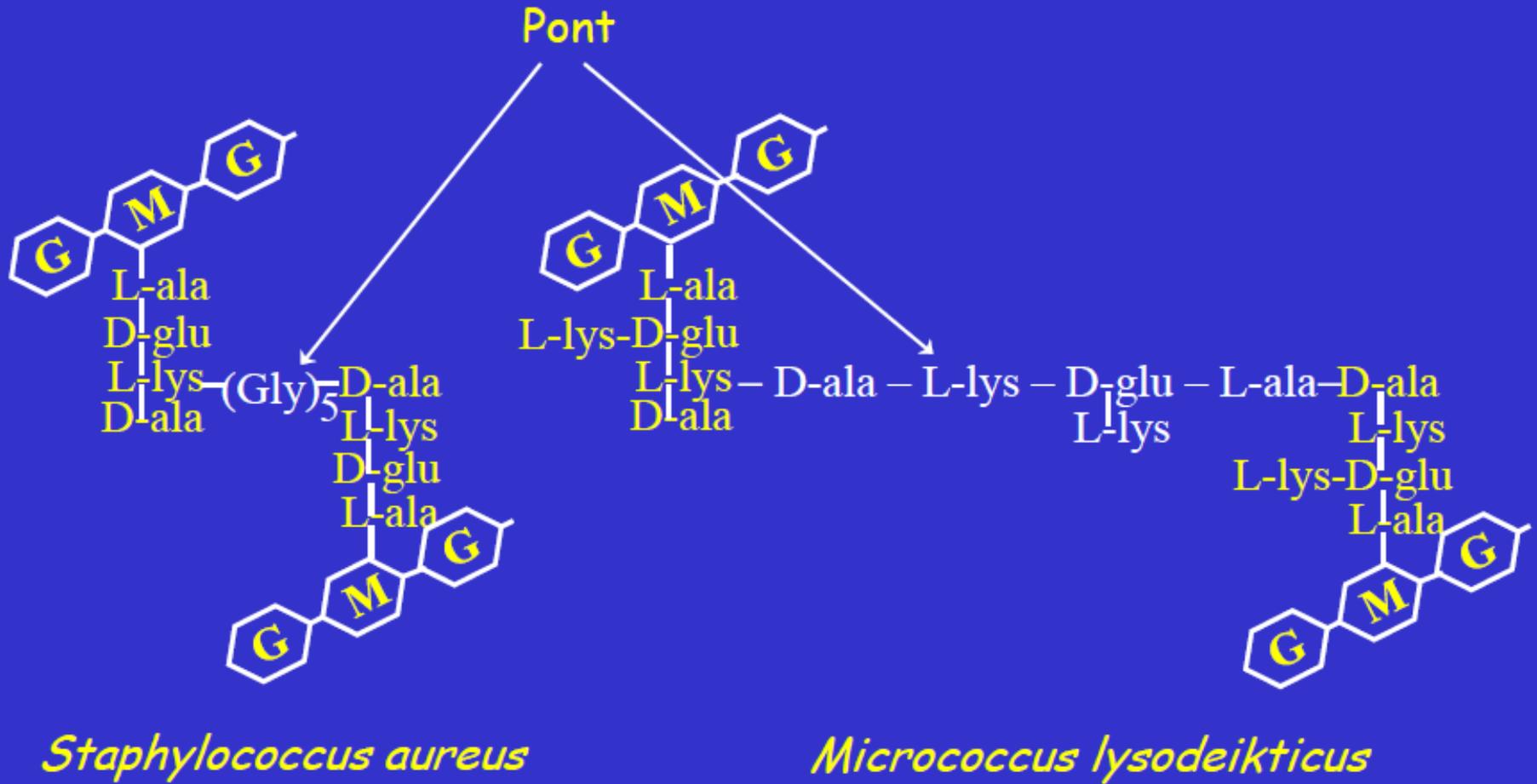
## i) Variation de la composition du pont interpeptidique

- ❖ Le pont interpeptidique est réalisé par l'intermédiaire d'un résidu supplémentaire d'acide aminé ou par une chaine peptidique. Les variations sont illimitées.
- ❖ La longueur de ce pont peut varier entre 2 et 7 résidus et la nature de ces résidus est variée : Gly, L-Ala, L ou D-ser, D-Asp, L ou D-Glu



**Gram positif**

# i) Variation de la composition du pont interpeptidique

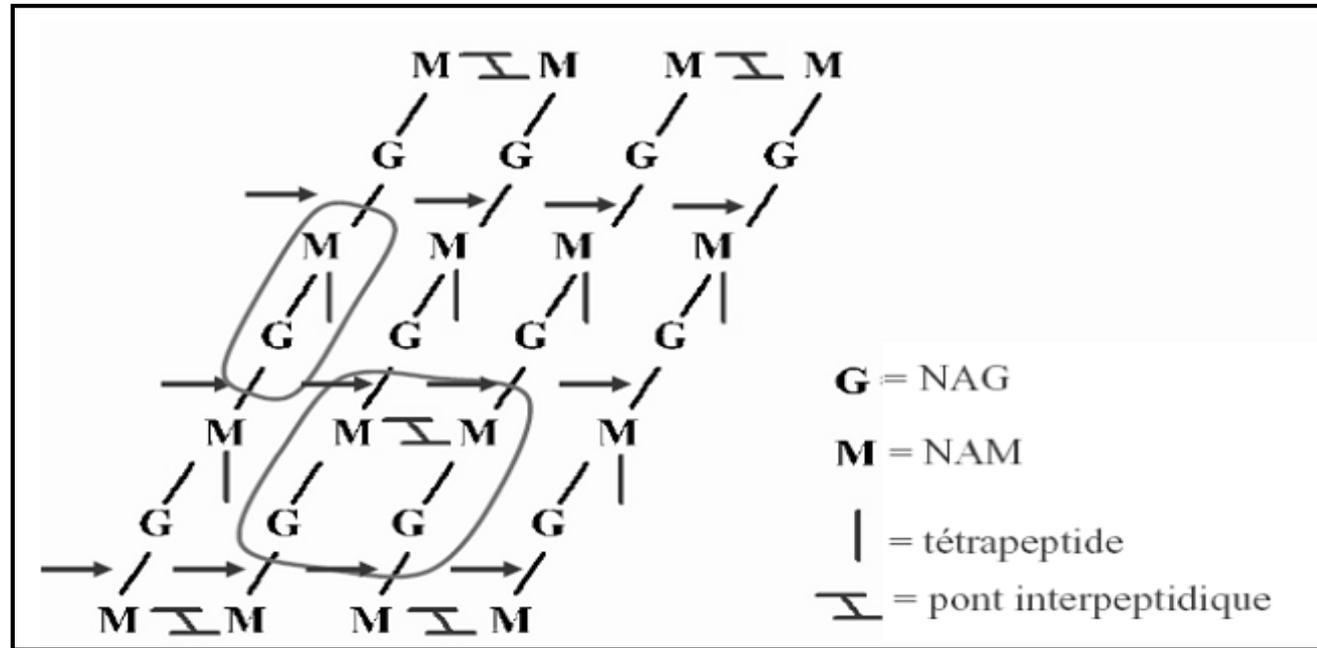


## ii) Variation au niveau du nombre de pont interpeptidique

Le pourcentage de sous-unités peptidiques impliquées dans la formation de ponts interpeptidiques peut varier d'une espèce à l'autre.

Ainsi, chez *E. coli*, le taux de pontage s'élève à 20% environ alors que chez *S. aureus*, ce taux atteint jusqu'à 95%

Variation quantitative =  
réticulation



### iii) La nature des acides aminés entrant dans la composition du pentapeptide

La composition de ce pentapeptide la plus commune est L-Ala--D-Glu-meso-A2pm-D-Ala-D-Ala.

Cependant, sa composition peut varier en fonction des espèces bactériennes. La variabilité alors observée est due à la spécificité de substrat des Mur ligases, qui diffère en fonction des espèces.

**MurC**, responsable de l'ajout de

- ✓ **L-Ala en position 1**,
- ✓ plus rarement un Gly (*Mycobacterium leprae* et *Brevibacterium imperiale*)
- ✓ ou L-Ser (*Butyribacterium rettgeri*).

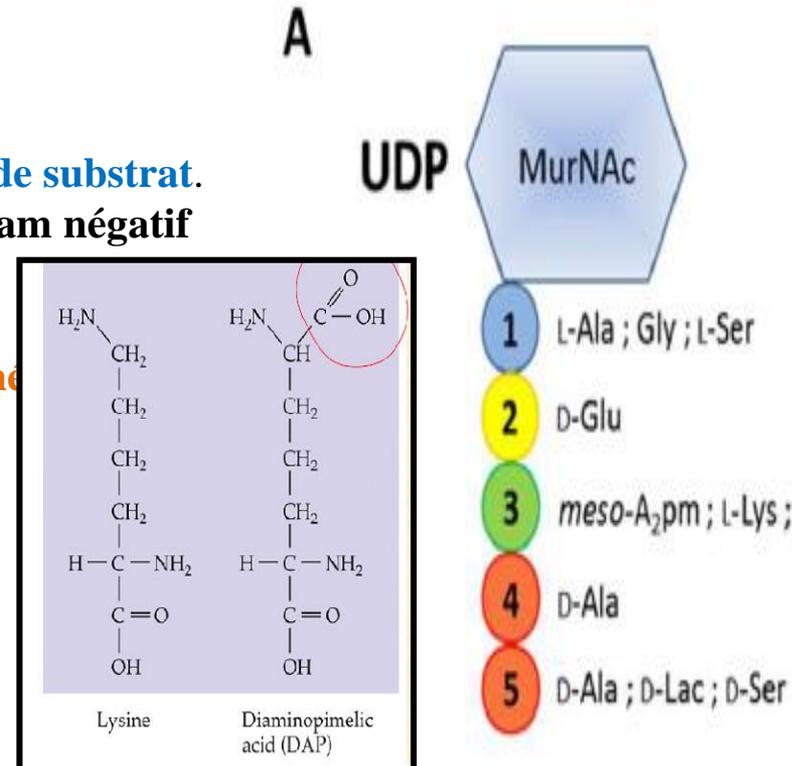
**MurD** ajoute quant à elle **uniquement du D-Glu en position 2**.

**MurE** est la Mur ligase qui possède la plus **grande variabilité de substrat**.

- ✓ ajout de meso-A2pm (**DAP**) en position 3 chez les **Gram négatif**
- ✓ de **L-Lys** chez les **bactéries à Gram positif**.

**MurF** est responsable de l'ajout des **deux derniers acides aminés**

- ✓ le plus souvent D-Ala-D-Ala.
- ✓ Le dernier AA peut être remplacé par D-Lac ou D-Ser

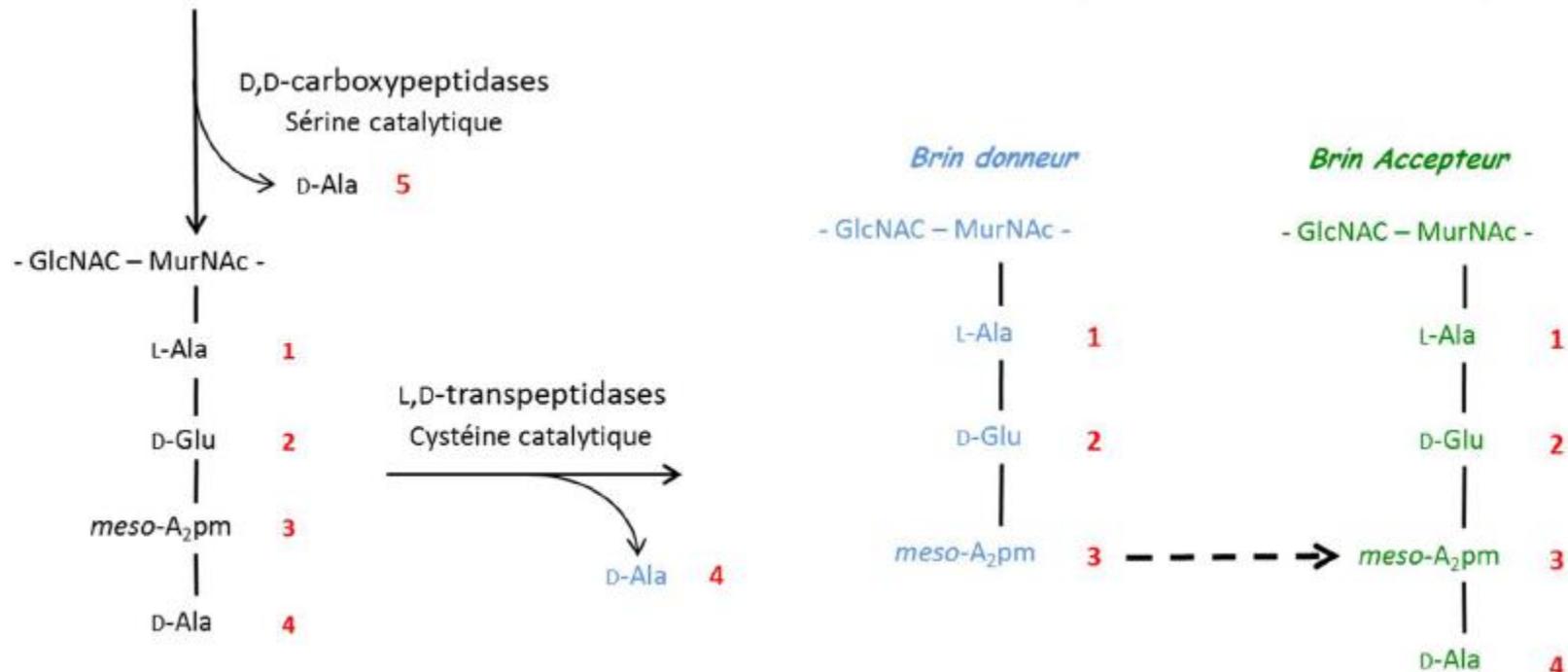


## 2. Variation dans la position du pont interpeptidique

**Au sein du peptidoglycane**, on trouve également d'autres types de pontages, notamment des pontages de type 3→3 formés par les L,D-transpeptidases.

Chez les corynébactéries, on trouve également un type de pontage particulier de type 4→2 entre le D-Ala d'un peptide donneur et le D-Glu d'un peptide accepteur.

Ce type de pontage se fait entre deux groupes carboxyles et nécessite un pont interpeptidique contenant un acide diaminé.

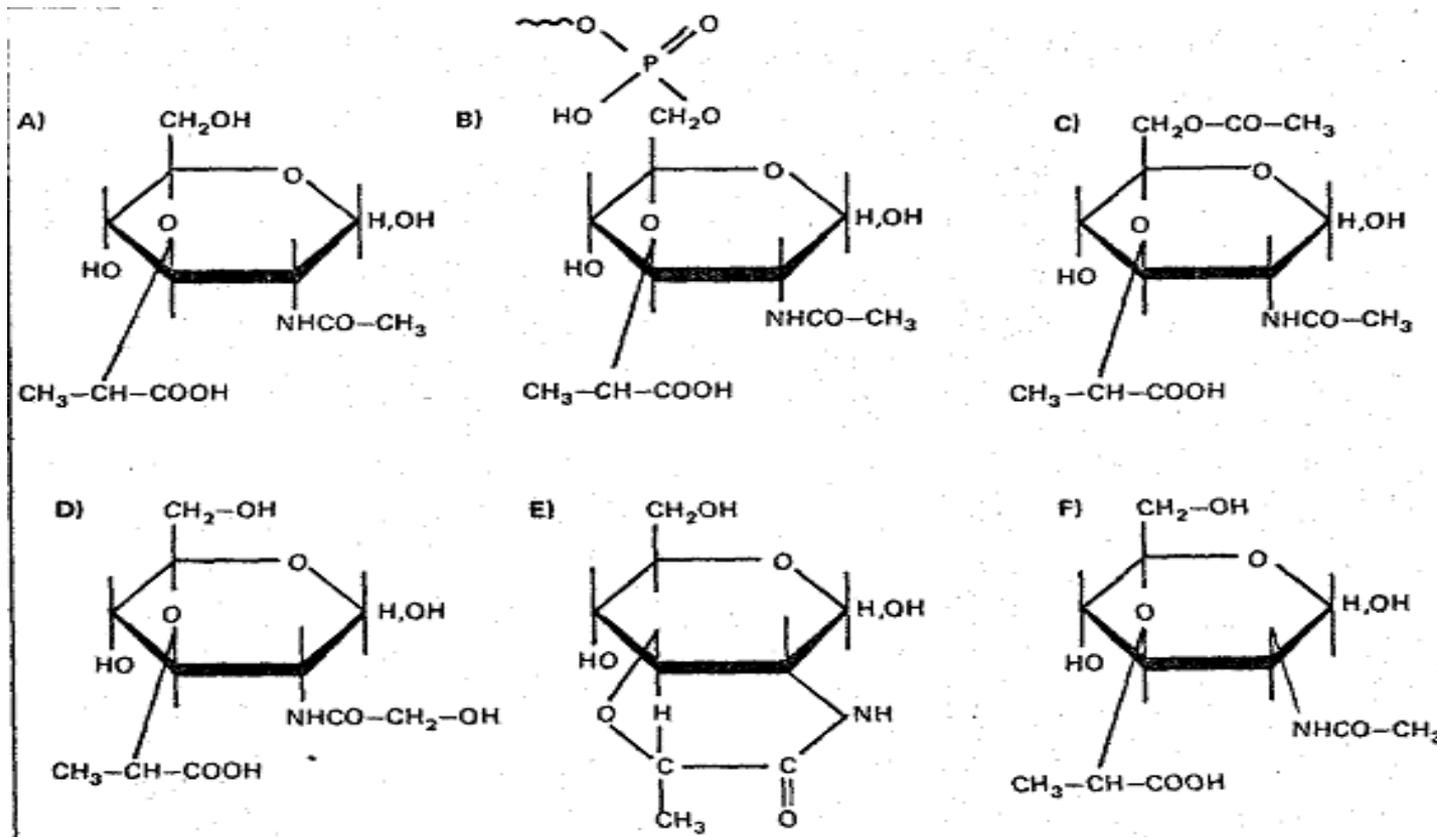


### 3. Variabilité des chaînes de glycanes

#### A. Variation de la longueur de la chaîne glycane

- ❖ Le nombre de modifications recensées au niveau des chaînes de glycanes est relativement faible et la plus grande variabilité observée concerne leur longueur.
- ❖ Des chaînes composées de 2 à 60 unités disaccharidiques ont été observées
- ❖ La longueur moyenne de ces chaînes est comprise entre 5 et 10 unités chez *E. coli* et entre 3 et 10 unités chez *S. aureus*.
- ❖ Une telle variabilité de longueur de chaîne est également observée au sein d'une même espèce puisque chez *S. aureus*, des chaînes d'une longueur supérieure à 26 unités disaccharidiques représenteraient de 10 à 15% du total des chaînes glycanes

## B. Variation dans la composition de la chaîne glycanne



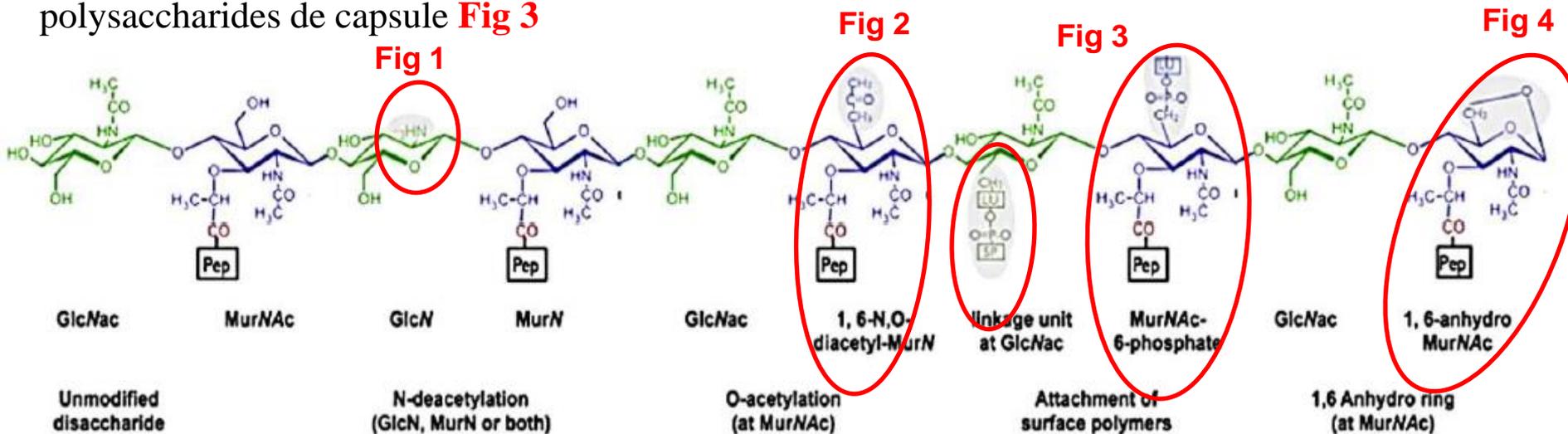
**Figure : variations des chaînes de glycane pouvant affecter certains résidus d'acide muramique.** A) acide N-acétyl-glucomuramique habituel, B) substitution en C-6 par un phospho diester, C) substitution en C-6 par un acétyle, D) acide N-glycolylmuramique, E) forme lactame, F) acide N-acétyl-manno-muramique.

## B. Variation dans la composition de la chaîne glycanique

- ❖ Chez un grand **nombre de Gram +**, certains résidus de NAM sont substitués sur leur C-6 par des groupement **phosphodiester** ;
- ❖ Chez *Nocardia et Mycobacterium* sp, les résidus muramiques se rencontrent sous la forme d'acide **N-glycolylmuramique**.
- ❖ Chez les spores de *Bacillus subtilis*, une forte proportion de NAM existe sous la forme **dérivé lactame**.
- ❖ De petite quantité de **NAM sous forme manno** existent dans les parois de *Micrococcus lysodeikticus*.
- ❖ **Remarque : Il faut noter qu'aucune de ces variations n'affecte de façon significative l'organisation tridimensionnelle des chaînes de glycane.**
- ❖ Une étude récente portant sur de nombreuses espèces de bactéries à Gram négatif et à Gram positif a montré que le **galactosamine** (au lieu du **glucosamine**) et l'acide **galactomuramique** (au lieu du **glucomuramique**) ne se **rencontrent pas dans le peptidoglycane bactériens classiques**.

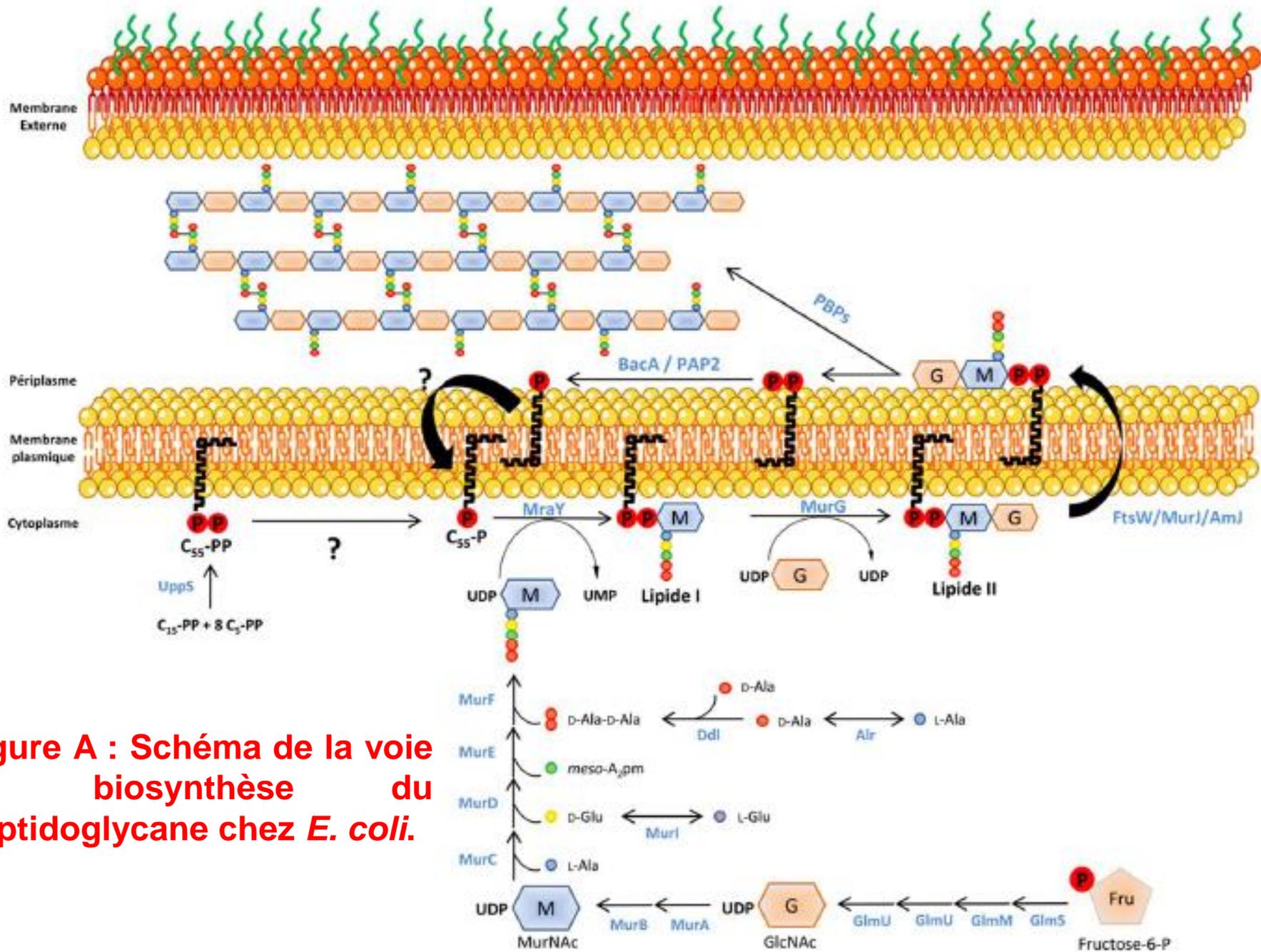
## B. Variation dans la composition de la chaîne glycanique

- ❖ Chez les **Gram négatif**, on retrouve en bout de chaîne un **résidu 1,6-anhydroMurNAc** alors que chez les Gram +, on retrouve un résidu réducteur MurNAc classique. **Fig 4**
- ❖ On retrouve également des résidus **GlcNAc et MurNAc désacétylés** pour former des résidus GlcN et MurN. **Fig 1**
- ❖ Le PG peut subir une **O-acétylation au niveau du C6** aboutissant à un sucre diacétylé. Cette modification est retrouvée chez les pathogènes à Gram + (*S. aureus*) et à Gram – (*H. pylori*). **Fig 2**
- ❖ Chez les mycobactéries et les corynébactéries, l'acide muramique **est glycolylé** au niveau de sa fonction amine.
- ❖ **Une phosphorylation du C6 des deux oses**, est uniquement retrouvée chez certaines Gram + chez lesquelles ce groupement phosphate permet de fixer au PG, via une liaison phosphodiester, des polymères de surface tels que les acides teichoïques, les arabinogalactanes ou bien les polysaccharides de capsule **Fig 3**



# Biosynthèse du PG

## Les étapes de la biosynthèse du PG



**Figure A : Schéma de la voie de biosynthèse du peptidoglycane chez *E. coli*.**

## Explication de la figure A précédente

**1- Les premières étapes de synthèse se déroulent au niveau du cytoplasme et aboutissent à la formation des deux principaux précurseurs cytoplasmiques :**

l'UDP-GlcNAc et l'UDPMurNAc porteur de sa chaîne pentapeptidique.

**2- La biosynthèse se poursuit ensuite au niveau de la membrane interne.**

Le motif phospho-MurNAc-pentapeptide est tout d'abord ajouté sur l'undécaprényl phosphate pour former le lipide I.

Le motif GlcNAc est par la suite ajouté sur le lipide I pour former le lipide II. Ce dernier est ensuite transloqué du côté périplasmique par une flippase.

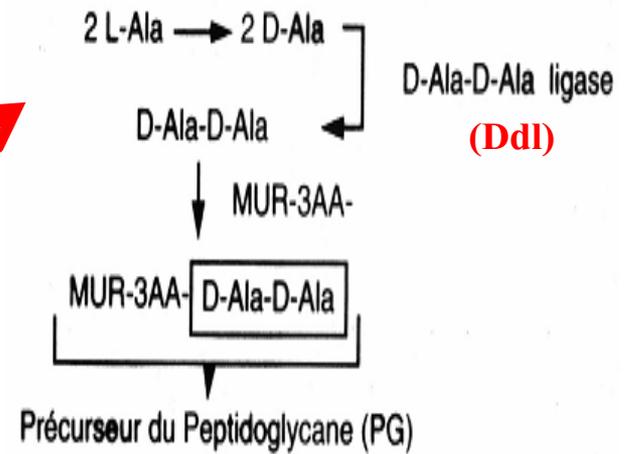
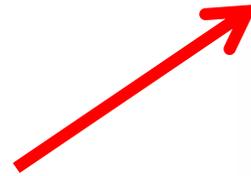
**3- La partie pariétal** ou le complexe lipide II est alors pris en charge par les « penicillin-binding proteins » (PBPs) qui sont responsables de l'ajout de l'unité disaccharide-pentapeptide au sein du peptidoglycane mature.

Le point d'interrogation désigne des enzymes encore non identifiées.

**1- Dans le cytoplasme**  
**la synthèse des précurseurs de la paroi**

**a-Synthèse de la D-Ala:** la D-Ala racémase transforme la forme L-Ala en la forme D-Ala et la D-Ala ligase (Ddl) lie entre les deux molécules dans le cytoplasme.

**Racémase**



**b-Formation du D-glutamate :** Le D-glutamate rentre dans la composition du peptidoglycane mais il est également un composant de la capsule chez certaines bactéries.

Sa formation peut être catalysée par une D-Ala:D-Glu transaminase ou par une glutamate racémase MurI

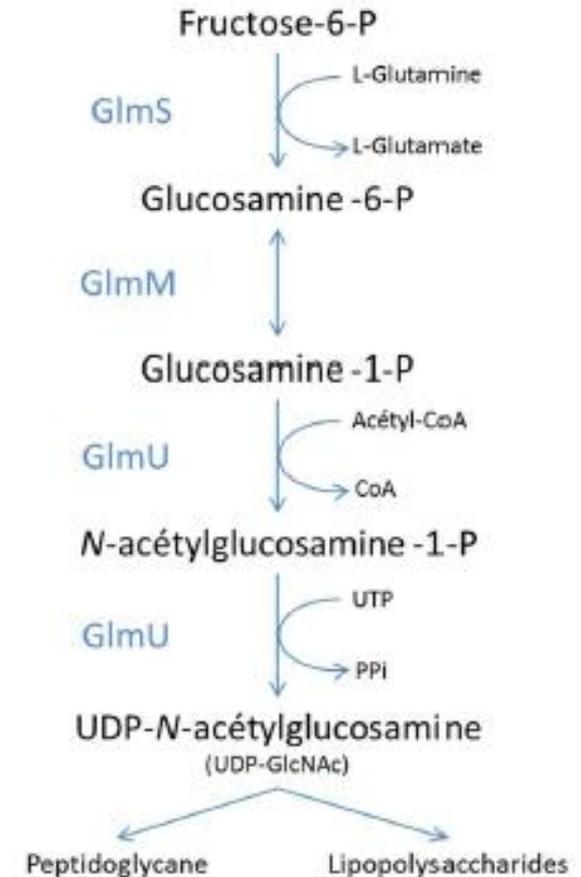
## c-Formation du NAG

L'UDP-GlcNAc est synthétisé à partir du fructose-6-phosphate en quatre étapes faisant intervenir trois enzymes différentes : GlmS, GlmM et GlmU.

**La première étape** est responsable de la transformation du fructose-6-phosphate en glucosamine-6-phosphate sous l'action de la glucosamine-6-phosphate synthase (GlmS).

**Dans la deuxième étape**, la glucosamine-6-phosphate formée est transformée en glucosamine-1-phosphate sous l'action de la phosphoglucosamine mutase (GlmM).

**La dernière étape** aboutissant à la formation de l'UDP-GlcNAc à partir de la glucosamine-1-phosphate est catalysée par la N-acétylglucosamine-1-phosphate uridylyltransférase ou GlmU.

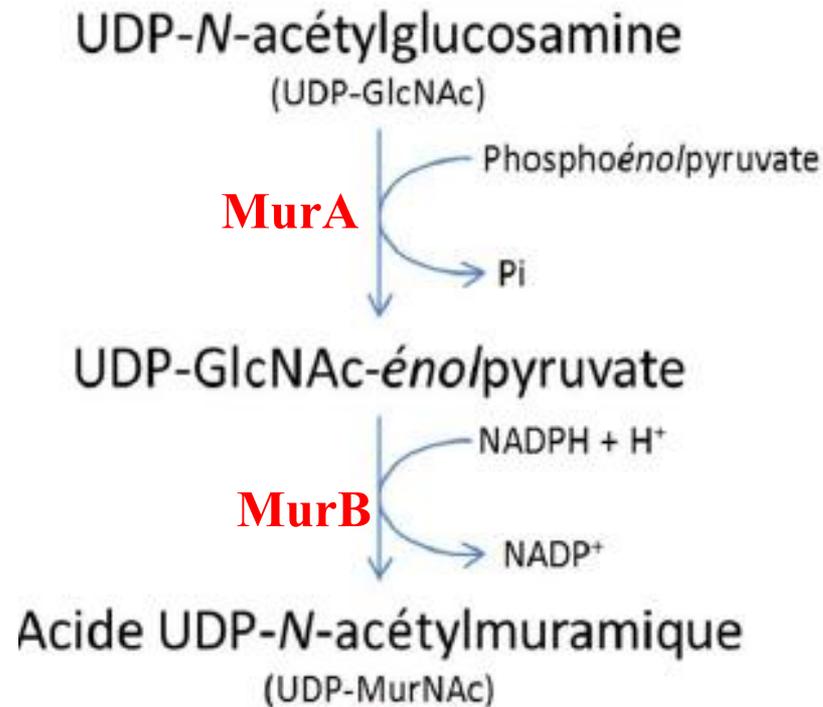


Ainsi, GlmU catalyse au niveau de son domaine C-terminal le transfert du groupement acétyl provenant de l'acétyl-CoA sur la glucosamine-1-phosphate (GlcN-1-P) pour former la Nacétylglucosamine-1-P (GlcNAc-1-P).

Enfin, l'uridylation de la GlcNAc-1-P, permettant la formation de l'UDP-GlcNAc à partir d'UTP, se fait au niveau du domaine N-terminal.

## d- Transformation du NAG en NAM dans le cytoplasme

Lors de la première étape, catalysée par MurA, un groupement énoypyruvate provenant du phosphoénolpyruvate (PEP) est transféré sur le groupement hydroxyle en position 3OH de l'UDP-GlcNAc. Cela aboutit à la formation de l'UDP-GlcNAc-énoypyruvate

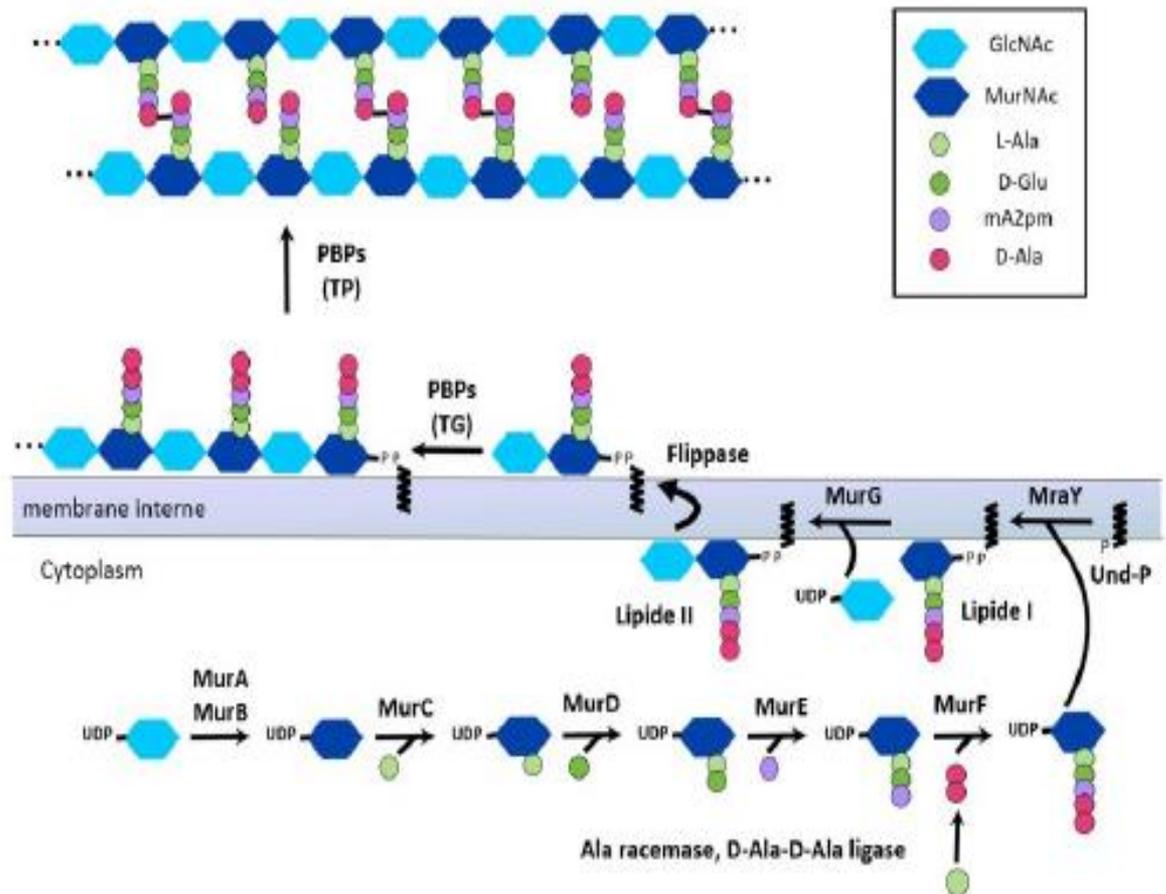


La seconde étape permettant la formation de l'UDP-MurNAc est catalysée par l'enzyme MurB qui est responsable de la réduction du groupement énoypyruvate de l'UDP-GlcNAc-énoypyruvate en résidu D-lactate et la **formation UDP-N-acétylmuramique.**

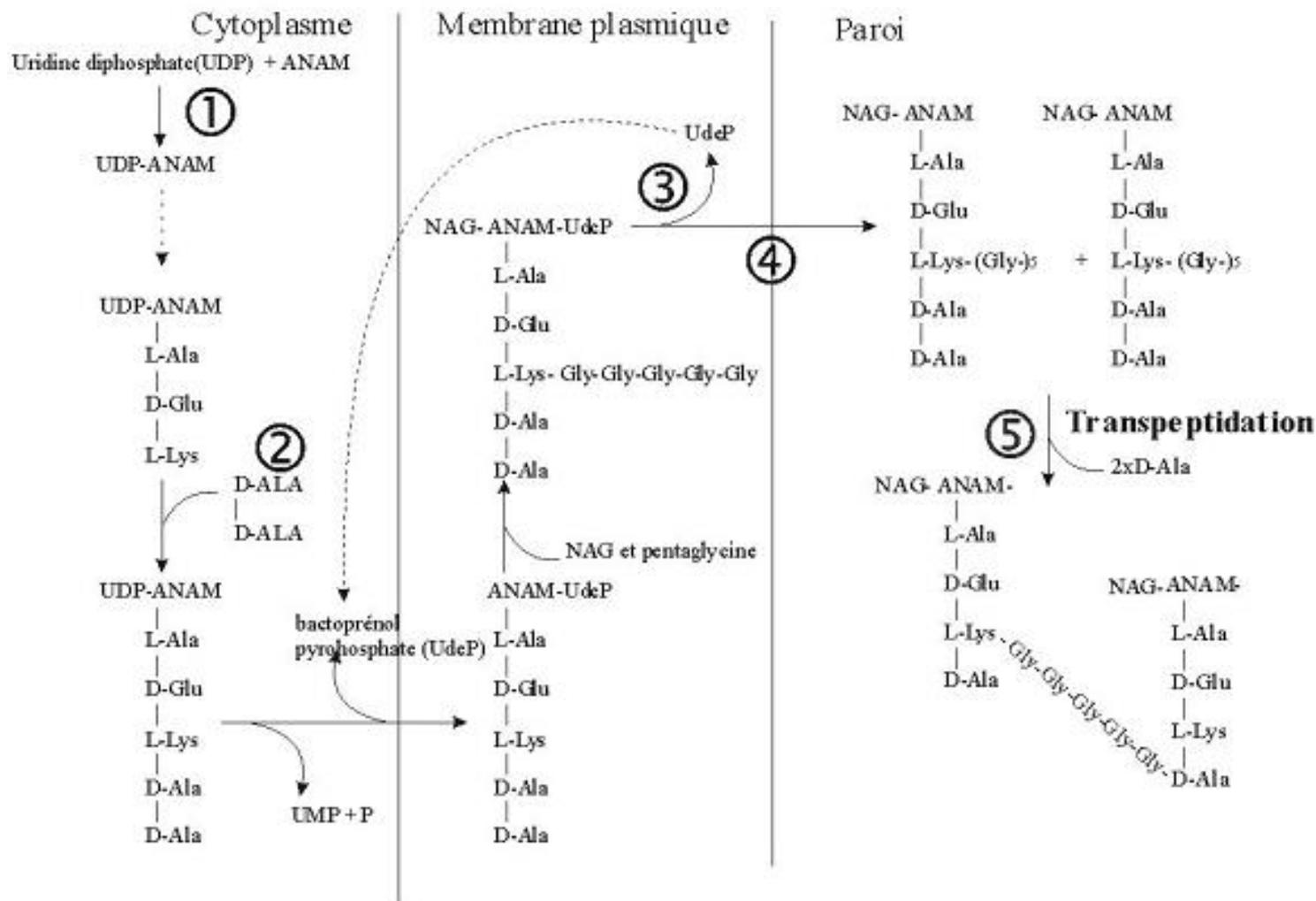
# Assemblage des précurseurs dans le cytoplasme

1. Aussitôt le nucléotide UDP-MurNAc formé, cinq acides aminés sont ajoutés de manière séquentielle par quatre muramyl ligases (MurC, MurD, MurE et MurF).
2. Les ligases, MurC, MurD et MurE ajoutent respectivement dans l'ordre les acides aminés L-alanine, D-glutamate et l'acide diaminopimélique en formant des liaisons peptidiques entre eux.

3. Enfin, le dipeptide D-alanine – D-alanine, formé par une D,D-ligase (Ddl), est ajouté au tripeptide par la ligase MurF en formant une liaison peptidique.



# Biosynthèse du peptidoglycane



## Action de certains antibiotiques :

- 1- Fosfomycine : bloque la formation de l'UDP-ANAM
- 2- Cyclosérine : bloque la formation du dipeptide d'alanine
- 3-Bacitracine : elle empêche le recyclage du bactoprénol.
- 4- Vancomycine : elle empêche la liaison des nouveaux éléments synthésés avec le peptidoglycane déjà existant (bloque transglycosylation)
- 5-  $\beta$ -lactamines et céphalosporines : elles bloquent la transpeptidation..

## 2- Etape membranaire

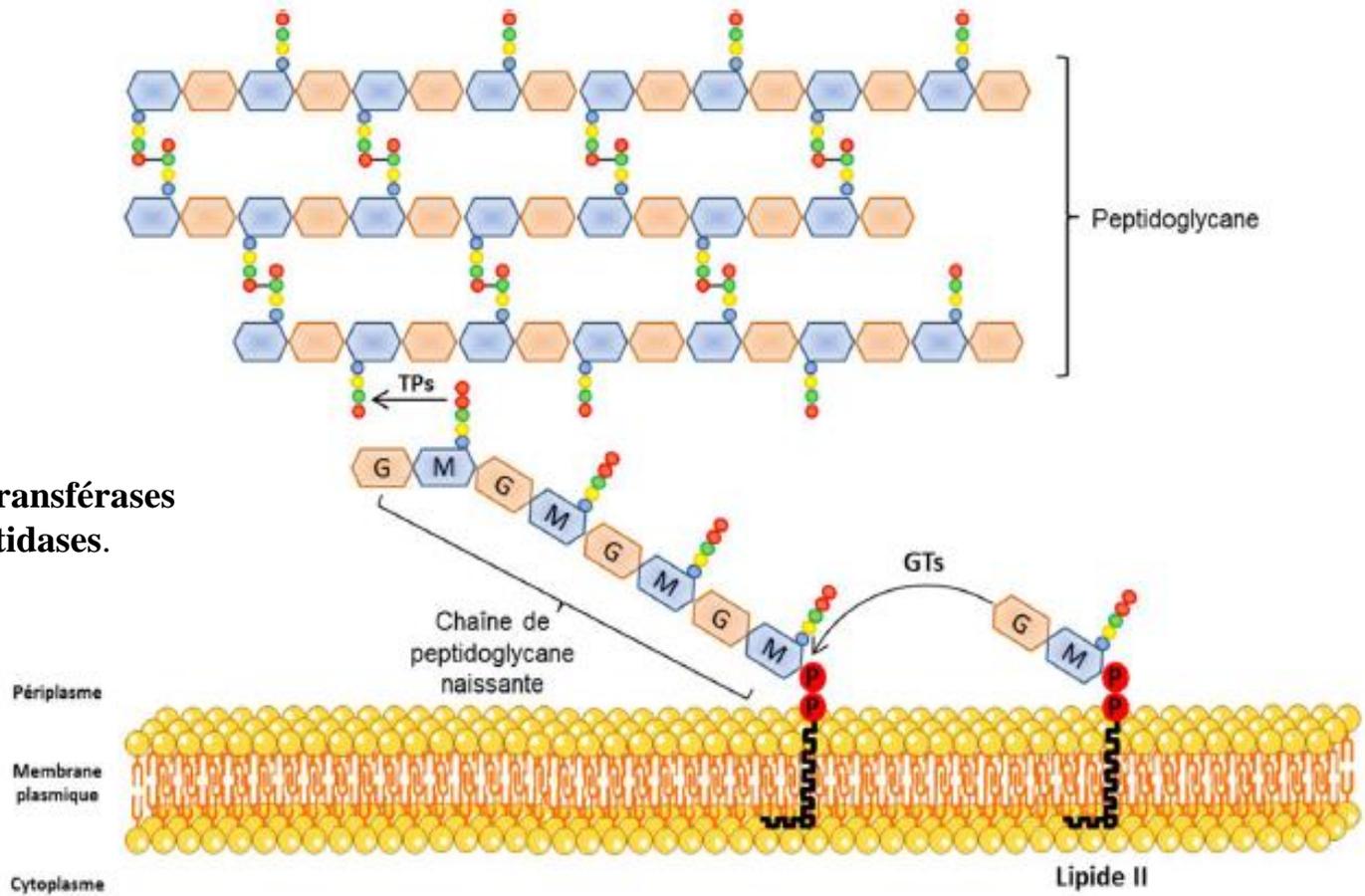
**Transporteur lipidique: Undécaprényl-Phosphate** également appelé bactoprénol, est un lipide essentiel impliqué dans la biosynthèse du peptidoglycane mais également dans celle d'autres constituants de la paroi bactérienne comme les LPS, les acides teichoïques

Ainsi, suite à la formation du précurseur **UDP-MurNAc-pentapeptide** dans le **cytoplasme**, son groupement phosphate est transféré par **la translocase MraY** au transporteur lipidique undécaprényl-phosphate situé sur la face interne de la membrane plasmique ce qui aboutit à la formation du groupement **phospho-MurNAc-pentapeptide-pyrophosphoryl-undécaprényl** appelé **lipide I**

Le motif GlcNAc est par la suite ajouté par **MurG** (glycosyltransférase) sur le lipide I pour former le **lipide II** (GlcNAc-MurNAc-pentapeptide-pyrophosphoryl-undécaprényl). Ce dernier est ensuite transloqué du côté périplasmique par une **flippase**.

## **3- Etape pariétal**

### 3- Polymérisation du peptidoglycane

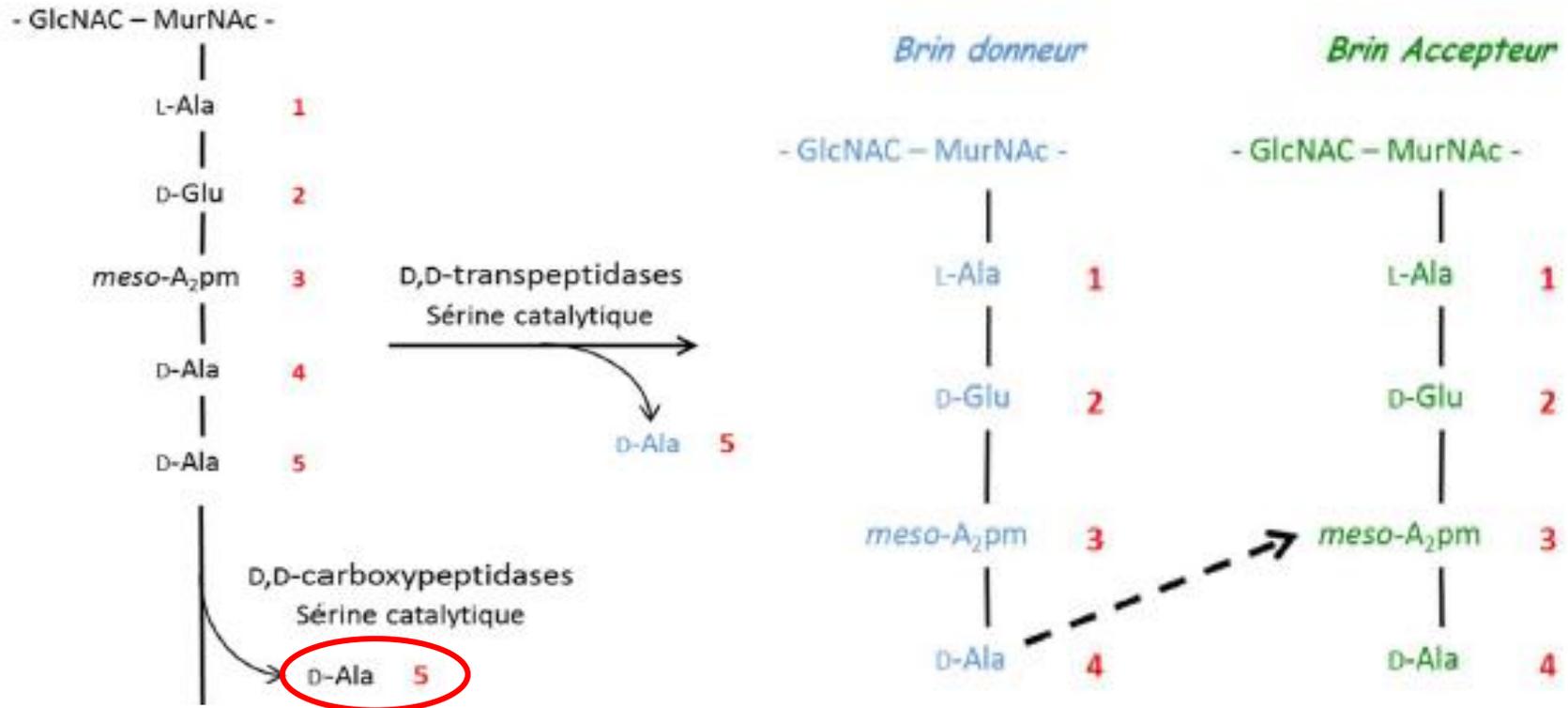


GTs : glycosyltransférases  
TPs : transpeptidases.

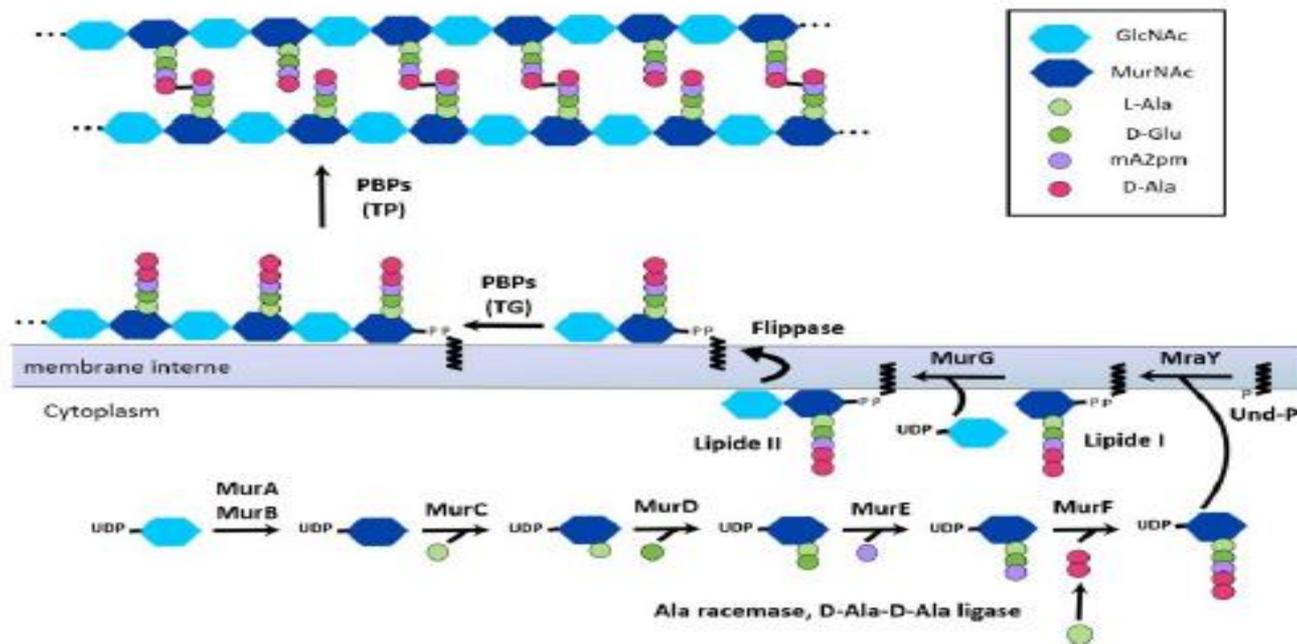
- 1- Une fois transloqué du côté périplasmique, le lipide II sert de substrat pour les étapes finales de biosynthèse du PG. Ces étapes de polymérisation et de réticulation sont assurées par les « **penicillin-binding proteins** » (PBPs)
- 2- L'unité disaccharide-pentapeptide est transférée sur une chaîne de peptidoglycane naissante à l'aide d'une **glycosyltransférase**.

3- Les **glycosyltransférases** (GTs) catalysent la synthèse des nouvelles chaînes de glycanes aboutissent ainsi à la formation de **nouvelles liaisons  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)**

4- La rupture de la liaison **D-Ala-D-Ala** du pentapeptide par une **carboxypeptidases**



5- L'étape de **transpeptidation** permet la formation d'un pont peptidique entre le résidu D-Ala en position 4 d'un pentapeptide donneur et l'acide diaminé en position 3 d'un pentapeptide accepteur (4 - 3)



La biosynthèse commence au niveau cytoplasmique avec la synthèse de MurNAc à partir de GlcNAc par les enzymes MurA et MurB. Les ligases MurC, MurD, MurE et MurF assemblent alors le pentapeptide afin de produire le précurseur cytoplasmique du PG en liant respectivement et de manière séquentielle les acides aminés L-Ala, D-Glu, mAZpm et un dipeptide D-Ala-D-Ala à MurNAc. A l'étape membranaire de la biosynthèse (membrane interne), MraY transfère le groupement phosphate du précurseur au transporteur lipidique Und-P pour former le lipide I. MurG lie alors un résidu GlcNAc au résidu MurNAc du lipide I pour former le lipide II. Ce monomère du peptidoglycane (lipide II) est alors transloqué du feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane interne par une flippase. L'assemblage du PG est réalisé dans un premier temps par l'activité de transglycosylation (TG) des PBP qui polymérisent les unités de lipide II en liant un résidu GlcNAc d'un lipide II au résidu MurNAc d'un autre lipide II pour former de longues chaînes de glycane. Dans un deuxième temps, ces chaînes de glycanes sont reliées entre elles grâce à l'activité de transpeptidation (TP) des PBP qui hydrolyse les liaisons D-Ala-D-Ala des pentapeptides et qui forment des liaisons peptidiques entre les acides aminés mAZpm d'une chaîne donneuse et les acides aminés D-Ala en position 4 d'une chaîne receveuse.