

1- La glycolyse ou la voie *d'Embden-Meyerhof*

La glycolyse, l'oxydation du glucose à l'acide pyruvique, est habituellement la première étape dans le catabolisme des sucres. La plupart des micro-organismes utilisent cette voie ; en fait, elle se produit dans la plupart des cellules vivantes.

La glycolyse s'appelle également *la voie d'Embden-Meyerhof*. Le mot *glycolyse* signifie la dégradation du sucre, et c'est exactement ce qui se produit. Les enzymes de la glycolyse catalysent la dégradation du glucose, un sucre de six carbones, en deux sucres de trois carbones (3PGA + PDHA). Ces sucres sont alors oxydés, libérant l'énergie, et leurs atomes sont réarrangés pour former deux molécules d'acide pyruvique. La glycolyse n'exige pas l'oxygène; elle peut se produire, que l'oxygène soit présent ou pas. Cette voie est une série de dix réactions chimiques, chacune catalysée par une enzyme différente.

En résumant le processus, la glycolyse se compose de deux étapes de base, d'une étape de préparation et d'une étape de production d'énergie :

- D'abord, à l'étape préparatoire, deux molécules d'adénosine triphosphate sont utilisées pendant qu'une molécule de glucose de six carbones est phosphorylée, restructurée, et coupée en deux composés de trois carbones : glycéraldéhyde 3-phosphate (3PGA) et phospho-dihydroxy-acétone (PDHA). Le PDHA est aisément converti en 3PGA (la réaction renversée peut également se produire). La conversion du PDHA en 3PGA signifie qu'à partir de ce moment là de la glycolyse, deux molécules de 3PGA sont introduites dans les réactions chimiques restantes.
- À l'étape de production d'énergie, les deux molécules de trois-carbone sont oxydées dans plusieurs étapes à deux molécules d'acide pyruvique. Dans ces réactions, deux molécules de NAD⁺ sont réduites en NADH, et quatre molécules d'adénosine triphosphate sont constituées par phosphorylation au niveau du substrat.

2- Voies alternatives à la glycolyse

Beaucoup de bactéries ont, en plus de la glycolyse, une autre voie pour l'oxydation du glucose. L'alternative la plus commune est la voie des pentoses-phosphate, une autre alternative est la voie d'Entner- Doudoroff.

2-1- La voie des pentoses phosphate ou shunt de l'hexose monophosphate

La voie de phosphate de pentose fonctionne simultanément avec la glycolyse et fournit des solutions pour la panne des sucres de cinq carbones (pentoses) aussi

bien que le glucose. Cette voie produit des intermédiaires importants (pentoses) utilisés dans la synthèse :

- des acides nucléiques et des coenzymes à structure nucléotidique (NAD, NADP, FAD, FMN ...),
- glucose à partir du dioxyde de carbone dans la photosynthèse,
- et certains acides aminés.

Rappelons que cette voie produit du NADPH+H⁺ qui est le coenzyme de la plupart des réactions d'hydrogénation au cours des biosynthèses. Pour chaque molécule de glucose oxydée, la voie des pentoses phosphate rapporte seulement une molécule d'adénosine triphosphate.

Les microorganismes qui emploient la voie des pentoses phosphate incluent *Bacillus subtilis*, les entérobactéries (comme *E. coli*), *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas*, *Torulopsis*, *Aspergillus*...

La voie du shunt de l'hexose monophosphate emprunte le tronc commun (avec la voie d'Entner-Doudoroff) qui conduit du glucose au 6-phosphogluconate. Le 6-phosphogluconate est alors clivé en ribulose-5-P et CO₂. Le cycle fait intervenir deux autres pentoses phosphatés, le D- ribose-5-P et le D-xylulose-5-P, d'où le nom qui lui est encore attribué : cycle des pentoses phosphates. Par ce chemin, le glucose peut être totalement oxydé en glyceraldéhyde-3-P et 3 CO₂ ou servir à la synthèse de différents pentoses.

2-2- La voie d'Entner-Doudoroff ou du 2-céto-3-désoxy-6- phospho gluconate (CDPG)

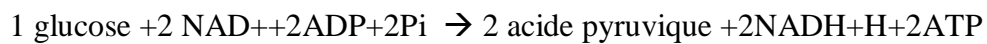
À partir de chaque molécule de glucose, la voie d'Entner-Doudoroff produit deux molécules de NADPH et une molécule d'adénosine triphosphate pour l'utilisation dans la biosynthèse cellulaire. Les bactéries qui ont les enzymes de la voie d'Entner-Doudoroff peuvent métaboliser le glucose sans avoir à passer par la glycolyse ou la voie des pentoses phosphate. La voie d'Entner-Doudoroff est remarquée chez certaines bactéries à Gram négatives, y compris *Rhizobium*, *Pseudomonas* et *Agrobacterium*. Généralement, cette voie est absente chez les bactéries à Gram positives.

(Les *Pseudomonas* ne possèderaient pas la totalité des enzymes intervenant dans la voie d'Embden-Meyerhof (ou glycolyse), ce qui expliquerait pourquoi ces microorganismes ne peuvent pas fermenter le glucose).

Les enzymes caractéristiques de cette voie sont la 6-phospho déshydratase et une aldolase qui clive le 2-céto-3-désoxy-6-phospho gluconate (CDPG) en glyceraldéhyde-3-P et pyruvate. Le gluconate serait le principal inducteur de cette voie.

3- Métabolisme anaérobie du pyruvate (Fermentations utilisant la voie de la glycolyse)

Elles possèdent avec la voie aérobie un tronc commun : la glycolyse.



Les coenzymes pyridiniques réduits doivent être réoxydés pour que le processus se poursuive. Le métabolisme étant anaérobie et n'utilisant pas les chaînes cytochromiques, les accepteurs finaux d'hydrogène sont le pyruvate ou des métabolites issus de la transformation du pyruvate.

3-1- Le cas le plus simple: la fermentation homolactique

L'accepteur d'hydrogène est l'acide pyruvique; sa réduction conduit à l'acide lactique. Cette fermentation est très importante en microbiologie alimentaire. *Streptococcus lactis* et *Lactobacillus bulgaricus* pratiquent la fermentation homolactique : à partir du glucose, ils produisent un mélange de substances au sein desquelles l'acide lactique est largement prédominant. Cette fermentation est très acidifiante. D'autres espèces de *Lactobacillus* ainsi que les *Leuconostoc* donnent, dans les mêmes conditions, un mélange contenant, à côté de l'acide lactique, de quantités relativement importantes d'acide éthanoïque (acétique), d'éthanol, de glycérol et du dioxyde de carbone. Elles sont moins acidifiantes.

3-2- La fermentation alcoolique

Les NADH+H⁺ produits au cours de la glycolyse sont réoxydés par l'éthanal issu de la décarboxylation du pyruvate. La fermentation alcoolique est un exemple de fermentation s'accompagnant de production de gaz (ici le dioxyde de carbone). Elle est pratiquée par de nombreuses levures. Elle est à la base de la fabrication du pain (la

levée de la pâte est due au dégagement de CO₂) et de nombreuses boissons alcoolisées.

Il s'agit d'une fermentation très répandue chez les levures (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Brettanomyces...*). Les bactéries capables de réaliser la fermentation alcoolique sont peu nombreuses (*Zymomonas mobilis*).

3-3- D'autres fermentations plus complexes

3-3-1- Fermentations acides mixtes des entérobactéries VP-

Ces fermentations aboutissent à plusieurs acides organiques : acide lactique, acide succinique, acide acétique, à de l'éthanol, et produisent des gaz (ici CO₂ et H₂). Le milieu est fortement acidifié.

3-3-2- Fermentation butanediolique des entérobactéries VP+

La fermentation butanediolique conduit à des quantités moins importantes d'acides organiques, une proportion non négligeable du pyruvate étant transformée en un produit neutre : l'acétoïne, en général réduite en butanediol. La réaction de Voges Proskauer (VP) consiste à mettre en évidence, par une réaction colorée, le butanediol et l'acétoïne. Cette fermentation est pratiquée par les *Serratia*, les *Enterobacter* et les *Klebsiella*, mais aussi certains vibrions, quelques souches de *Proteus mirabilis*, certains streptocoques ...

Elle acidifie moins le milieu que la précédente. Elle produit aussi des gaz (CO₂ et H₂).

3-3-3- Fermentations des bactéries anaérobies strictes

Elles conduisent à des acides organiques, des alcools, des cétones en C₄ et en C₃ avec production de gaz et acidification du milieu. La diversité des produits en fonction des souches est telle que leur analyse par chromatographie en phase gazeuse est utilisée pour les identifier :

a- La fermentation butyrique

La plupart des espèces de *Clostridium* ont une activité fermentaire intense. Certaines pratiquent la fermentation butyrique avec production d'acide butyrique, de butanol, d'acétone, d'isopropanol, de dioxyde de carbone et d'hydrogène.

b- La fermentation propionique

C'est la voie métabolique principale de *Clostridium propionicum* et des corynébactéries. Elle conduit aux acides propionique, acétique et succinique.

4- Cycle de Krebs : la dégradation aérobie du pyruvate

En aérobose, les bactéries aérobies strictes ou facultatives complètent l'oxydation du glucose en CO₂ par l'intermédiaire du cycle tricarboxylique, appelé aussi cycle de Krebs ou encore cycle du citrate. Ce métabolisme, universellement répandu, a d'abord été découvert dans les tissus animaux par Krebs et Eggleston.

Le pyruvate subit une décarboxylation oxydative et une déshydrogénation pour donner l'acétylcoenzyme A « acétate actif » (car uni au coenzyme A par une liaison riche en énergie). Au cours de cette réaction est produit une molécule de NADH+H⁺. L'acétyl coenzyme A se combine à une molécule d'oxaloacétate pour donner une molécule de citrate.

Le cycle de Krebs représente l'ensemble des réactions qui, à partir du citrate, conduisent à recycler l'oxaloacétate. Chaque tour du cycle de Krebs correspond donc à la dégradation d'une molécule d'acétate, le cycle étant approvisionné en acétate par la glycolyse. Les deux carbones de l'acétate sont oxydés en CO₂, ses hydrogène passent sur des coenzymes pyridiniques ou flaviniques pour donner du NADH+H⁺, du NADPH+I-t ou du FADH₂.

Il y a quatre substrats oxydables parmi les intermédiaires du cycle de Krebs. Leur oxydation conduit à la production de paires d'hydrogène sous forme de NADH+H⁺, NADPH+H⁺, FADH₂ qui alimentent la chaîne respiratoire ou satisfont les besoins en hydrogène des chaînes de biosynthèses (cas du NADPH+H⁺). L'hydrogène transféré sur ces coenzymes provient soit de l'acétate, soit de l'eau prélevée par le cycle.

Le cycle de Krebs a une fonction double :

1. Une fonction énergétique : l'oxydation progressive du citrate en AOA génère, au total, la formation de l'équivalent de 12 ATP sous la forme de 1 GTP et de coenzymes réduits : 2 NADH+H⁺, 1 NADPH+H⁺, 1 FADH₂ ;

2. Une fonction de biosynthèse : Les métabolites intermédiaires du cycle de Krebs fournissent des précurseurs à la biosynthèse de nombreux composés cellulaires. C'est

particulièrement le cas de l'acide acétoglutarique et de l'AOA qui constituent une source majeure de précurseurs de synthèse de nombreux acides aminés, alors que le succinyl CoA est utilisé dans la formation du cycle porphyrine des cytochromes, des chlorophylles et d'autres composés aromatiques.

5- Cycle glyoxylique

Des microorganismes, dont *E. coli*, des *Pseudomonas* et des moisissures, sont capables de croître à partir de l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie, grâce à un métabolisme spécifique : le cycle du glyoxylate, parce qu'il suit les mêmes réactions que le cycle de Krebs mais en shuntant les étapes de décarboxylation.

En plus des enzymes du cycle de Krebs, les microorganismes possèdent deux enzymes spécifiques : l'isocitratase qui clive l'isocitrate (C6) en succinate (C4) et glyoxylate (C2) et la malate synthétase qui condense le glyoxylate (C2) et l'acétate (C2) pour former le malate (C4) qui, à son tour, ferme le cycle en permettant la régénération de l'AOA de départ. Le cycle du glyoxylate ne fournit aucune forme d'énergie directe puisqu'il ne produit pas d'ATP, contrairement au cycle de Krebs (GTP).

L'intégration de deux acétyl CoA au cycle du glyoxylate engendre la formation d'une nouvelle molécule de succinate, en plus de la régénération de la molécule d'AOA initiale, permettant ainsi l'entretien de l'activité du cycle.

6- Fermentations dérivées du cycle de Krebs et du shunt glyoxylique

Ce sont des fermentations aérobies essentiellement réalisées par des moisissures. Elles aboutissent à la formation de divers acides organiques (métabolites directement issus du cycle de Krebs ou du shunt glyoxylate ou des produits de leur transformation). Ces acides sont accumulés lorsque le fonctionnement du cycle est interrompu. Cette interruption peut être obtenue par variation des conditions du milieu : pH, présence d'inhibiteurs des enzymes transformant normalement le produit formé. Elle peut être également obtenue par une mutation portant sur les gènes contrôlant ces enzymes.

Le point de départ de la synthèse des acides organiques du cycle de Krebs est l'oxaloacétate, ce dernier est normalement réobtenu dans la phase finale du cycle. Une abondante formation d'acides nécessite la présence d'un apport différent d'oxaloacétate. Il peut être formé par l'intermédiaire du succinate issu du shunt

glyoxylique (2 molécules d'acétate donnent le succinate) . Il peut aussi être formé par carboxylation du pyruvate.

L'enzyme malique catalyse la réaction de carboxylation pour former le malate, lequel est transformé en oxaloacétate par la malate déshydrogénase. L'oxaloacétate peut être issu de la carboxylation du phosphoénolpyruvate (précurseur du pyruvate).

Les acides organiques obtenus par ces fermentations sont très variés (acide citrique, acide itaconique (acide méthylène succinique : $\text{CH}_2 = \text{C}(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$), acide fumarique, acide oxalique, acide malique, acide glutarique, acide succinique...