
BACTERIOLOGIE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Henri Leclerc

Service de bactériologie. Centre hospitalier de Lille.

Pseudomonas aeruginosa (*PA*), ou bacille pyocyanique, est un germe Gram négatif, très répandu dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistant aux biocides et aux antibiotiques.

Nous essaierons de répondre à un certain nombre de questions :

- 1 Qu'est-ce que le *Pseudomonas aeruginosa* : identification, classification,
- 2 *PA* bactérie de l'environnement ou bactérie de l'homme ?
- 3 Un pathogène particulier,
- 4 Mode de développement de *PA*,
- 5 Résistance aux biocides de l'environnement et aux antibiotiques.

Place de *PA* dans la classification

Les pseudomonas font partie des protéobactéries à Gram négatif du groupe gamma à côté de germes comme *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia sepalia* qui sont aussi des pseudomonas et qui coopèrent aux multi-infections de la mucoviscidose à côté de *PA*.

Le genre pseudomonas, en effet, comprend de multiples espèces.

PA fait partie des espèces douées d'un pouvoir pathogène et, parmi elles, des pseudomonas à pigment fluorescent, les *Pseudomonas fluorescens*, qui sont très nombreux et très répandus dans l'environnement et, notamment, les milieux aquatiques à l'exception des eaux souterraines bien protégées.

Pour bien différencier le pyocyanique des autres pseudomonas à pigment fluorescent, l'identification se fait en recherchant le pigment pyocyanine soluble dans le chloroforme et la capacité du germe à se développer à 41°, ces deux tests suffisant à faire le diagnostic de *PA*.

Quant aux autres très nombreuses espèces de *P fluorescens* il est impossible d'en faire l'identification autrement qu'en recourant aux techniques d'hybridation des ADN pour voir si les séquences d'ADN d'une souche sont faciles à hybrider avec des espèces connues.

PA bactérie de l'environnement ou bactérie de l'homme ?

PA est une bactérie très peu exigeante en nutriments, c'est à dire les diverses sources de carbone, d'azote et de sels minéraux. Elle fait partie des bactéries capables de se développer dans les milieux pauvres, dits oligotrophes. Elle peut donc se développer dans d'innombrables environnements. Elle est présente sur les couvertures végétales, dans

tous les milieux naturels, les eaux, les canalisations d'eau d'alimentation. Leur multiplication est favorisée par la température, c'est pourquoi on les trouve dans les eaux chaudes sanitaires, dans les tours de refroidissement, dans les piscines, les bains bouillonnants (on parlera tout à l'heure des dermatites et des folliculites), ventilateurs, nébuliseurs, humidificateurs, en milieu hospitalier, et dans les solutions de désinfectants. On en trouve dans les eaux embouteillées, les eaux de rivière, les eaux usées...C'est un germe aquicole qui se multiplie dans l'eau quel que soit son contenu en matières organiques.

PA ne colonise pas les tissus sains mais les téguments des brûlés, très rapidement en quelques jours, même si le malade est isolé en milieu stérile.

Nous ingérons des *PA* par millions chaque jour avec tous les aliments consommés crus et particulièrement les légumes : tomates, carottes, céleris etc.

Le portage cutané ou nasal est peu fréquent chez les bien portants, quelques pour-cents.

De même le portage digestif ne dépasse pas 5 à 10 pour 100.

Le bacille pyocyanique est donc essentiellement un germe de l'environnement. Nous le rencontrons constamment, nous en ingérons, mais nous ne ferons pas d'infection particulière si nous ne sommes pas dans des conditions d'immunodépression ou de déficit immunitaire de façon générale.

***PA*, un pathogène opportuniste**

C'est donc un pathogène opportuniste puisqu'il va profiter de la diminution des défenses de l'organisme pour se développer, comme chez les patients atteints de mucoviscidose, ou au cours de l'hospitalisation dans des services de soins intensifs ou de brûlés.

L'atteinte clinique va dépendre du nombre de bactéries rencontrées et de la virulence des bactéries, c'est à dire de leurs facteurs de pathogénicité, activés par le micro-environnement - le biofilm -, et en fonction des défenses immunitaires de l'hôte.

Dans la théorie des germes de Pasteur et de Koch sur le rôle des germes dans les infections, chaque germe pathogène est responsable d'une seule maladie. Par exemple, le bacille diphtérique produit la toxine responsable de la diphtérie. Cette toxine représente son facteur de pathogénicité et constitue la totalité du pouvoir pathogène du germe. Les postulats de Koch sont que le germe doit être isolé chez tous les patients porteurs de la maladie, en culture pure ; il doit reproduire la maladie chez l'animal ; et sa présence entraîne une augmentation des anticorps.

Cette théorie est remise en cause avec les infections opportunistes et les infections nosocomiales. Le *Pseudomonas aeruginosa* qui a créé une maladie chez un brûlé ou chez un patient atteint de mucoviscidose n'en produira pas chez l'animal.

Le pouvoir pathogène de la bactérie se manifeste dans ses interactions avec l'hôte.

Le premier contact de la bactérie avec l'hôte est appelé *infection*. Le mot n'est pas synonyme de maladie infectieuse puisque le premier contact peut s'orienter vers une autre éventualité, le commensalisme, qui est la cohabitation entre la bactérie et l'hôte sans produire de dommage. C'est le cas, par exemple, pour *Escherichia coli* qui prolifère dans le tube digestif où elle est retrouvée à la concentration de 10^8 par gramme de matière

fécale. Pour ce germe, l'infection a eu lieu à la naissance ou peu après. Le commensalisme peut aller jusqu'à la symbiose lorsque les deux cohabitants y trouvent un intérêt réciproque.

A partir de l'infection, il peut y avoir maladie ou simple colonisation qui se produit souvent avec *PA*, comme dans la mucoviscidose, les bronchopneumopathies, chez les brûlés etc. ou après mise en place d'un matériel à demeure : canule de trachéotomie, cathéters, sondes vésicales à demeure, valves cardiaques etc.

Le pathogène opportuniste, dont *PA* est un modèle, utilise l'opportunité que représente la baisse des défenses immunitaires de l'organisme pour provoquer des dommages chez l'hôte. Cela ne signifie pas qu'il ne peut se développer que chez l'immunodéficient ; il peut aussi créer des pathologies chez un individu sain mais ses atteintes seront plus fréquentes et plus sévères chez les immunodéficients.

Le génome de *PA* est important par rapport à celui d'autres bactéries : 6,3 millions de paires de bases, ce qui indique un grand nombre de gènes régulateurs qui vont intervenir dans la formation du biofilm et le catabolisme, dans la chimiotaxie c'est à dire la possibilité des germes de se fixer sur un support, et dans les facteurs de pathogénicité.

Ces facteurs de pathogénicité comprennent des composants de surface, en particulier l'alginate, polysaccharide synthétisé par la bactérie, qui conditionne la résistance aux antibiotiques et aux biocides et, peut-être aussi, au chlore ; des produits extra-cellulaires, les enzymes capables de détruire les enveloppes de la cellule, les exotoxines adipéribolisantes analogues à celle de la diphtérie ; la pyocyanine qui est capable en tant que sidérophore d'utiliser le fer de l'organisme quand ce fer est en très petite quantité.

Le pouvoir pathogène peut s'observer en milieu hospitalier dans le cadre des infections nosocomiales et des infections opportunistes, chez les brûlés, les neutropéniques, dans les salles de soins intensifs, la mucoviscidose, et une catégorie d'infections de la peau et des muqueuses qui peuvent être reliées aux pratiques thermales.

Le problème des entérites mérite un développement. Un certain nombre de données anciennes ont laissé entendre que *PA* était capable de donner des diarrhées chez l'enfant ou le nourrisson. Elles n'ont pas été confirmées et le pouvoir entérogène de *PA* est maintenant remis en question.

Mode de développement de *PA*

Il faut insister sur la faculté tout à fait particulière de *PA* à se développer sous forme de biofilms. La structure du biofilm est essentielle à connaître pour comprendre la pathogénicité de *PA* et sa résistance aux biocides et aux antibiotiques.

Dans la nature ou chez l'homme il y a, pour les bactéries, deux façons de se développer. La première est celle des bactéries qui se fixent sur un support et forment des biofilms. Il ne s'agit pas seulement d'un empilement de bactéries comme on l'a d'abord cru, mais d'une structure cellulaire parfaitement organisée et qui se développe grâce à des moyens de contrôle complexes et de mieux en mieux connus.

L'autre forme de croissance de la bactérie est la forme planctonique, c'est à dire isolée, cellulaire, comme celle qui se produit après ensemencement dans un milieu de culture.

C'est la croissance qu'on étudie dans les laboratoires de façon artificielle alors que le mode de développement naturel de la bactérie est la possibilité de se reproduire attachée grâce aux biofilms. Dans ces biofilms, il y a une communauté fonctionnelle, une collaboration entre les cellules, qu'il s'agisse d'une seule espèce ou de multiples espèces, tandis que la croissance planctonique correspond à un mode de dissémination.

Un autre état de la bactérie lorsque les nutriments viennent à manquer est l'état de "*starvation survival*" c'est à dire de survie en période de carence nutritionnelle. Cela modifie la physiologie et le métabolisme de la cellule qui produit des protéines de stress en relation avec la résistance de la bactérie à des biocides.

Ces biofilms sont des microcolonies entourées d'exopolysaccharides comme l'alginate qui donne une architecture particulière. Les bactéries représentent 10 à 20% de la biomasse et la croissance bactérienne est lente. Le biofilm est parcouru d'un réseau de fins canaux anastomosés ; le transport de nutriments se fait pas convection et par diffusion. Il y a tout un tissu, toute une organisation qui se forme avec communications entre les cellules à l'aide de molécules signal.

Des bactéries se détachent en surface pour adopter une forme planctonique qui assure la dissémination.

Résistance aux biocides de l'environnement et aux antibiotiques

Il arrive, dans le contexte du biofilm et de la mucoviscidose, qu'on observe une résistance à des antibiotiques cependant apparus sensibles au laboratoire, même en utilisant des concentrations jusqu'à mille fois supérieures à celle de la sensibilité en culture.

Plusieurs explications à cette résistance aux antibiotiques (AB) peuvent être avancées.

Tout d'abord, l'imperméabilité aux AB ou une diminution de la perméabilité. Le biofilm avec sa carapace de polysaccharides oppose une barrière à la pénétration des AB. En fait, ce biofilm est hydrophile et les antibiotiques peuvent quand même diffuser. Mais les AB chargés positivement, comme les aminoglycosides, peuvent être neutralisés par des substances du biofilm chargées négativement.

Ensuite, des modifications de l'environnement à l'intérieur du biofilm. Il va se produire des gradients de pH du fait de la circulation de nutriments et certains antibiotiques sont détruits par l'acidité ; des gradients de rH : en zone anaérobie, les bactéries sont beaucoup moins sensibles aux AB ; des gradients nutritionnels avec des zones mal irriguées par les nutriments entraînant le phénomène de "*starvation survival*" avec croissance ralentie et moindre sensibilité aux AB.

Le biofilm comporte une grande variété de microhabitats dont certains exaltent les capacités de résistance de la bactérie.

On ne peut pas éliminer les biofilms des canalisations quelles que soient les concentrations de chlore ou de biocides.

Conclusion

Le bacille pyocyanique est un germe de l'environnement dont la maîtrise totale est absolument impossible au même titre que *Legionella* ou que d'autres germes comme

Aeromonas ou les mycobactéries du groupe avium. Il y a des germes implantés dans l'environnement qu'on ne pourra jamais contrôler totalement.

PA n'est pas particulièrement apte à provoquer des maladies chez l'hôte en bonne santé. Concernant les pratiques thermales et l'orientation qui est prise à l'heure actuelle d'exercer une certaine pression sur le micro-organisme dans son environnement, il est bien évident qu'on ne sait pas si elle permettra de juguler définitivement ou en partie les phénomènes infectieux parce que le germe a d'extraordinaires capacités de s'adapter pour survivre à toutes sortes d'événements.

Je crois qu'il faut limiter la présence de PA pour réduire les contacts d'une part, et d'autre part aller plus loin dans les observations épidémiologiques, les statistiques infectieuses etc. pour voir si les mesures que les autorités sanitaires demandent de prendre seront efficaces dans le domaine qu'on essaie de contrôler.

