
PATHOGÉNICITÉ DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN DEHORS DE LA MUCOVISCIDOSE

Raymond Ruimy

Laboratoire de Bactériologie. Groupe Hospitalier Bichat - Claude-Bernard

Pour que *Pseudomonas aeruginosa* devienne infectieux, il faut un certain nombre de conditions.

***Pseudomonas aeruginosa* bactérie ubiquitaire**

devenant pathogène pour l'homme à condition que

- ☞ son implantation soit favorisée
- ☞ le patient soit « fragilisé » : cancéreux, soins intensifs, immunodéprimé
- ☞ les souches possèdent des particularités
- ☞ les souches deviennent multirésistantes aux antibiotiques

Il faut d'abord qu'il soit implanté. Puis que le patient soit fragilisé, qu'il soit hospitalisé en soins intensifs, ou cancéreux ou immunodéprimé. On s'est récemment aperçu, aussi, que certaines souches paraissent plus virulentes que d'autres. Enfin, quand ces bactéries sont responsables d'une pathologie, particulièrement à l'hôpital, elles posent des problèmes de traitement parce qu'elles deviennent facilement résistantes aux antibiotiques.

Facteurs de risque de l'implantation de *P. aeruginosa* sur un patient fragilisé

- ☞ Rupture de la barrière cutanée : brûlés, ulcères cutanés...
 - ☞ Modification de la flore digestive : par antibiothérapie (β -lactamine non active sur *P.aeruginosa*)
 - ☞ Par matériel étranger : lentilles de contact, sonde urinaire , cathéter, sonde endotrachéale
- ☞ Infections nosocomiales le plus souvent

Quels sont les facteurs de risque de l'implantation de *P. aeruginosa* sur un patient fragilisé ? C'est d'abord la rupture de la barrière cutanée : il y a colonisation et parfois infection. C'est

ce qu'on rencontre chez les brûlés, ou les porteurs d'ulcères cutanés, ou d'intertrigos. Il peut s'agir aussi d'une altération de la muqueuse digestive souvent secondaire à une modification de la flore digestive par une antibiothérapie non active sur *P. aeruginosa*. Enfin, l'implantation d'un matériel étranger : lentilles de contact, sonde urinaire, cathéter, sonde endotrachéale favorisent grandement l'implantation de *P. aeruginosa*. Ces facteurs de risque sont souvent rencontrés à l'hôpital, d'où la fréquence des infections nosocomiales.

Place importante de *P. aeruginosa* à l'hôpital

- 🏠 3^{ème} position des **infections nosocomiales** (11.1%)*
[*Escherichia coli* (22.6%) et *Staphylococcus aureus* (19.8%)]
- 🏠 2^{ème} position dans les **pneumopathies nosocomiales** surtout en réanimation, patients ventilés avec une mortalité de 30% à 70% selon les études

* Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2001

P. aeruginosa arrive en 3^{ème} position dans les infections nosocomiales, représentant 11% de l'ensemble de ces infections après *Escherichia coli* qui en représente 23%, et *Staphylococcus aureus* 20%.

Dans les pneumopathies nosocomiales, il arrive en 2^{ème} position surtout en réanimation. Il pose un problème important chez les patients ventilés à l'origine d'une mortalité de 30% à 70% quand ils contractent une pneumopathie à *P. aeruginosa*. Ces données proviennent de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2001.

P. aeruginosa possède un arsenal moléculaire important

- 🧬 **Pour coloniser des environnements différents**
 - la peau lésée
 - la muqueuse digestive
 - la muqueuse pulmonaire
- 🧬 **Pour infecter**
 - composants cellulaires (lipopolysaccharides, pili, alginate)
 - composants extracellulaires (exotoxine A, protéases alcalines, elastase, exoenzyme S, T, U...)
- 🧬 **Pour résister aux antibiotiques**

P. aeruginosa possède un arsenal moléculaire important qui lui permet de coloniser des environnements aussi différents que la peau lésée, la muqueuse digestive et la muqueuse pulmonaire.

Cet arsenal comporte à la fois des composants cellulaires (lipopolysaccharides, pili,

flagelle, alginate) et extracellulaires (exotoxine A, protéases alcalines, elastase, exoenzymes S, T, U...).

- ☉ *P. aeruginosa*, bactérie adhérente
 - support cellulaire, ou biomatériel
 - formation de **biofilms**
- ☉ *P. aeruginosa*, bactéries communicantes entre elles
 - = Quorum sensing

Le modèle de microcolonie que constitue la formation de biofilms est la première étape pour avoir une infection à *P. aeruginosa*.

Les deux autres mécanismes impliqués dans la pathogénicité de *P. aeruginosa*, sont les phénomènes du *Quorum sensing* et de la sécrétion des exoenzymes S, T, U.

Le *Quorum sensing* est un mécanisme qu'on a découvert chez une espèce de bactérie marine, *Vibrio fischeri*, responsable d'une coopération entre cette bactérie et un calamar. Les bactéries se retrouvent concentrées dans un petit organe du calamar. A une certaine concentration, le calamar devient fluorescent. Du coup, la nuit, les prédateurs ne le reconnaissent pas ; ils le confondent avec un reflet de lune. C'est une symbiose entre une bactérie et un calamar. La découverte a d'abord suscité des réactions incroyables. Puis ce mécanisme a été retrouvé chez plusieurs bacilles à Gram négatif comme *P. aeruginosa* et dans la régulation des facteurs de virulence.

Quand on met *P. aeruginosa* en culture dans un milieu liquide, on voit apparaître dans ce milieu, pendant la période de croissance, des petites molécules d'*acyl homosérine lactone* qui passent de bactérie en bactérie, d'autant plus facilement qu'elles sont liposolubles et traversent aisément les membranes, et leur permettent de communiquer. Lorsque la concentration intracellulaire de cette molécule a atteint un certain seuil, il se produit une activation génique et la production de toute une série de facteurs de virulence. Il y a donc une activation transcriptionnelle, une autoinduction, et une amplification du phénomène au cours de la croissance jusqu'à aboutir à une synthèse protéique très importante.

Le *Quorum sensing* peut se définir comme un système de régulation de la transcription de gènes (notamment ceux impliqués dans la virulence) déclenché par la densité bactérienne. En terme de physiologie et d'adaptation : les bactéries " attendent " d'être en quantité suffisante pour sécréter des protéines de virulence.

Les responsables de cette synthèse protéique sont des gènes en cours d'identification. Ils sont sous le contrôle de ce système de *Quorum sensing* avec un gène *lasR* responsable de la synthèse d'une protéine *lasR* et un gène *lasI* responsable de la synthèse des homosérines lactones. L'ensemble va devenir activateur transcriptionnel pour la production de toute une série de protéines responsables de la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*.

Ce système de *Quorum sensing* joue probablement un rôle important dans la pathogéni-

Quorum sensing chez *P. aeruginosa* (Souche PAO1)

🗄️ **gènes régulateurs** *lasR – lasI – rhlR – rhlI*

🗄️ **gènes régulés** ^{99%} protéines de virulence

exo A ^{99%} Exotoxine A

las A ^{99%} Alas

xcp ^{99%} Xcp Machinerie

las B ^{99%} Elastase LasB

apr A ^{99%} Protease alcaline

rhl ^{99%} Rhamnolipide

pycn ^{99%} Pyocyanine

citée et dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa* dans les pneumopathies. En effet, le poumon est un espace confiné qui va favoriser la production et le transfert des acyl homosérines lactones à l'intérieur, par exemple, d'un lobe pulmonaire.

Arguments en faveur du *Quorum sensing*

- 🗄️ Poumon = espace confiné
- 🗄️ Corrélation entre l'expression de *las R* et des cibles : *las A*, *las B* et *tox A* chez les patients mucoviscidiques (Storey et al. *Infect Immunity* 1998)
- 🗄️ Corrélation entre la densité bactérienne dans les prélèvements pulmonaires protégés et la mortalité (Fagon et al. *Clin Infect Dis* 1996, Chastre et al. 1995)

On a trouvé une corrélation entre ce chef d'orchestre *las R* et des cibles : *las A*, *las B* et *tox A* chez les patients mucoviscidiques, et on a une corrélation entre la densité bactérienne dans les prélèvements pulmonaires protégés et la mortalité.

Ces arguments sont en faveur de l'intervention du *Quorum sensing* dans la survenue des pneumopathies nosocomiales.

Le deuxième système est le système de sécrétion de type III qui confère la cytotoxicité à *P. aeruginosa*. Il est déclenché lorsqu'il y a contact entre *P. aeruginosa* et la cellule eucaryote. Il y a installation d'une véritable seringue faisant communiquer la bactérie et la cellule et sécrétion directe dans la cellule eucaryote de toute une série d'exoenzymes qui vont intervenir dans son métabolisme et la tuer.

Ce système a été étudié récemment dans des souches isolées de pneumopathies et de bactériémies. Les exoenzymes S, T, U, V et PcrV ne sont présentes que chez certaines souches responsables de pneumopathies ou de septicémies.

***P. aeruginosa* bactérie cytotoxique**

Système de sécrétion de type III = Sécrétion directe d'exoenzymes : Exo S, T, U, V et Pcr V de *P. aeruginosa* dans la cellule eucaryote par une véritable seringue à injection cellulaire.

- ☛ Exoenzymes S, T, U et Pcr V ne sont présents que chez certaines souches
- ☛ La prévalence de ce système de sécrétion est significativement plus élevée dans les infections aiguës que dans les infections chroniques
- ☛ Les souches de *P. aeruginosa* possédant ce système de sécrétion de type III isolées de pneumopathies et de bactériémie sont associées à un risque relatif de mortalité 6 fois plus élevé (Roy-Burman et al. , *J infect Dis* 2001:1767-74)

La prévalence de ce système de type III est significativement plus élevée chez les *P. aeruginosa* provenant d'infections aiguës que chroniques. Les souches de *P. aeruginosa* possédant ce système de sécrétion de type III, isolées de pneumopathies et de bactériémies, sont associées à un risque relatif de mortalité 6 fois plus élevé par rapport à des souches qui ne possèdent pas ce système.

***P. aeruginosa* bactérie naturellement résistante à plusieurs β -lactamines**

Grâce à une céphalosporinase chromosomique inductible, de perméabilité médiocre

Résistant à	Aminopénicilline \pm acide clavulanique
	Céphalosporines 1 ^{ère} et 2 ^{ème} génération
	Céphalosporines 3 ^{ème} génération : Céfotaxime
	Moxalactam

Les problèmes posés par le traitement sont dominés par la résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques. Pour ce qui concerne les seules bétalactamines, *P. aeruginosa* a une résistance naturelle chromosomique, inductible, qui lui confère un profil de résistance naturelle aux aminopénicillines avec ou sans acide clavulanique, aux céphalosporines de 1ère et 2ème génération, aux céphalosporines de 3ème génération (Céfotaxime) et au Moxalactam.

C'est le profil type de *P. aeruginosa*. On comprend bien que si l'on donne de l'Augmentin® à un patient infecté par *P. aeruginosa*, on peut favoriser son développement en le débarrassant de toutes les autres bactéries sensibles à l'Augmentin®.

Les mécanismes de résistance sont multiples. Ils peuvent apparaître assez rapidement au

cours de l'infection à *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa peut devenir résistant à toutes les β -lactamines

Mécanismes de résistance de *P. aeruginosa*

☹ Enzymatique 80%

- Pénicillinases 62,5% - PSE ou CARB 36% - OXA 25% - TEM 11.5%
- Céphalosporinase déréprimée 27,5%
- Bêta-lactamase à spectre élargi
- Imipenemase

☹ Non enzymatique 20%

- Efflux +++
- Modification Porine
- Modification PLP

Les mécanismes de résistance peuvent être enzymatiques (80% des cas) avec acquisition de gènes de pénicillinase qui peuvent être sur des plasmides, sur des intégrons susceptibles de passer de bactérie à bactérie assez facilement et assez rapidement, ou de céphalosporinase déréprimée ; ces dernières souches deviennent plus sensibles à la céphotazidine qui est un des antibiotiques spécifiques de *Pseudomonas* qu'on peut utiliser.

Il y a aussi des mécanismes non enzymatiques (20% des cas) qui consistent surtout en systèmes d'efflux, la bactérie rejetant à l'extérieur les antibiotiques qui ont pénétré en elle, ce qui est un autre mode de résistance.

En conclusion, *P. aeruginosa* possède

- ☹ une grande capacité d'adaptation à des milieux variés : environnement, plantes, hommes, animaux
- ☹ une capacité d'adhérence et de communication qui lui permettent de coloniser l'homme
- ☹ des facteurs responsables du passage de la colonisation à l'infection qui restent encore à être élucidés : rôle du *Quorum sensing* et du système de sécrétion du type III
- ☹ le traitement des infections à *P. aeruginosa* reste difficile



Discussion

H Leclerc insiste sur l'importance du biofilm qui ajoute ses propres mécanismes de résistance aux antibiotiques et qui est également dépendant du *Quorum sensing*,

R Ruimy confirme mais relativise l'importance du biofilm en clinique en dehors de la mucoviscidose. Les souches prélevées chez les patients mucoviscidosiques sont des souches mucoïdes qui forment en cultures des masses gluantes dont il est très difficile d'apprécier la résistance aux antibiotiques. Les souches de *P. aeruginosa* en provenance des services de réanimation sont très différentes.