

UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE MEDECINE



ANNEE 2010

THESE N°.....<sup>3134/1</sup>

**PORTAGE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DANS LA  
POPULATION DE PATIENTS DIALYSES DU CHU DE  
LIMOGES ET DE L'ALURAD**

**MEMOIRE  
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE**

Tenant lieu de

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement le 11 Octobre 2010

PAR

Elodie COUVE-DEACON

Née le 19 juillet 1981 à Poissy (78)

SCD UNIV.LIMOGES



D 035 238887 8

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur DENIS  
Madame le Professeur ESSIG  
Mademoiselle le Professeur PLOY  
Madame le Professeur ROGEZ  
Madame le Docteur HIDRI

- Président  
- Juge  
- Juge, Directeur de Thèse  
- Juge  
- Membre Invité

**UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE MEDECINE**

---

**DOYEN DE LA FACULTE :**

Monsieur le Professeur **VALLEIX** Denis

**ASSESEURS :**

Monsieur le Professeur **LASKAR** Marc  
Monsieur le Professeur **MOREAU** Jean-Jacques  
Monsieur le Professeur **PREUX** Pierre-Marie

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS :** \* C.S = Chef de Service

<b>ACHARD</b> Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
<b>ADENIS</b> Jean-Paul * (C.S)	OPHTALMOLOGIE
<b>ALAIN</b> Sophie	BACTERIOLOGIE, VIROLOGIE
<b>ALDIGIER</b> Jean-Claude (C.S)	NEPHROLOGIE
<b>ARCHAMBEAUD-MOUVEROUX</b> Françoise (C.S)	MEDECINE INTERNE
<b>ARNAUD</b> Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
<b>AUBARD</b> Yves (C.S)	GYNECOLOGIE – OBSTETRIQUE
<b>BEAULIEU</b> Pierre	ANESTHESIOLOGIE et REANIMATION CHIRURGICALE
<b>BEDANE</b> Christophe (C.S)	DERMATOLOGIE – VENEREOLOGIE
<b>BERTIN</b> Philippe	THERAPEUTIQUE
<b>BESSEDE</b> Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
<b>BONNAUD</b> François (C.S)	PNEUMOLOGIE
<b>BONNETBLANC</b> Jean-Marie	DERMATOLOGIE – VENEREOLOGIE
<b>BORDESSOULE</b> Dominique (C.S)	HEMATOLOGIE
<b>CHARISSOUX</b> Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
<b>CLAVERE</b> Pierre (C.S)	RADIOTHERAPIE
<b>CLEMENT</b> Jean-Pierre (C.S)	PSYCHIATRIE ADULTES
<b>COGNE</b> Michel (C.S)	IMMUNOLOGIE
<b>COLOMBEAU</b> Pierre	UROLOGIE
<b>CORNU</b> Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
<b>COURATIER</b> Philippe	NEUROLOGIE
<b>DANTOINE</b> Thierry	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT
<b>DARDE</b> Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
<b>DAVIET</b> Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION
<b>DE LUMLEY WOODYEAR</b> Lionel (C.S)	PEDIATRIE
<b>DENIS</b> François	BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE-HYGIENE
<b>DESSPORT</b> Jean-Claude	NUTRITION
<b>DRUET-CABANAC</b> Michel (C.S)	MEDECINE ET SANTE DU TRAVAIL
<b>DUMAS</b> Jean-Philippe (C.S)	UROLOGIE
<b>DUMONT</b> Daniel (C.S)	MEDECINE ET SANTE DU TRAVAIL
<b>ESSIG</b> Marie	NEPHROLOGIE
<b>FEISS</b> Pierre	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
<b>FEUILLARD</b> Jean (C.S)	HEMATOLOGIE
<b>GAINANT</b> Alain (C.S)	CHIRURGIE DIGESTIVE
<b>GAROUX</b> Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
<b>GASTINNE</b> Hervé (C.S)	REANIMATION MEDICALE
<b>GUIGONIS</b> Vincent	PEDIATRIE
<b>JACCARD</b> Arnaud	HEMATOLOGIE
<b>JAUBERTEAU-MARCHAN</b> Marie-Odile	IMMUNOLOGIE
<b>LABROUSSE</b> François (C.S)	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE
<b>LACROIX</b> Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
<b>LASKAR</b> Marc (C.S)	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
<b>LIENHARDT-ROUSSIE</b> Anne (C.S)	PEDIATRIE
<b>MABIT</b> Christian	ANATOMIE
<b>MAGY</b> Laurent	NEUROLOGIE
<b>MARQUET</b> Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE
<b>MATHONNET</b> Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
<b>MAUBON</b> Antoine	RADIOLOGIE
<b>MELLONI</b> Boris	PNEUMOLOGIE
<b>MERLE</b> Louis (C.S)	PHARMACOLOGIE CLINIQUE

MOREAU Jean-Jacques (C.S)  
MOULIES Dominique (C.S)  
MOUNAYER Charbel  
NATHAN-DENIZOT Nathalie (C.S)  
PARAF François  
PLOY Marie-Cécile (C.S)  
PREUX Pierre-Marie  
ROBERT Pierre-Yves  
SALLE Jean-Yves  
SAUTEREAU Denis (C.S)  
SAUVAGE Jean-Pierre  
STURTZ Franck (C.S)  
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre  
TREVES Richard  
TUBIANA-MATHIEU Nicole (C.S)  
VALLAT Jean-Michel (C.S)  
VALLEIX Denis  
VANDROUX Jean-Claude (C.S)  
VERGNENEGRE Alain (C.S)  
VIDAL Elisabeth (C.S)  
VIGNON Philippe  
VIROT Patrice (C.S)  
WEINBRECK Pierre (C.S)  
YARDIN Catherine (C.S)

NEUROCHIRURGIE  
CHIRURGIE INFANTILE  
RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE  
ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE  
ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUE  
BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE  
EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE ET PREVENTION  
OPHTALMOLOGIE  
MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION  
HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE  
OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE  
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE  
ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES  
RHUMATOLOGIE  
CANCEROLOGIE  
NEUROLOGIE  
ANATOMIE – CHIRURGIE GENERALE  
BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE  
EPIDEMIOLOGIE-ECONOMIE DE LA SANTE et PREVENTION  
MEDECINE INTERNE  
REANIMATION MEDICALE  
CARDIOLOGIE  
MALADIES INFECTIEUSES  
CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE

**MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS :**

AJZENBERG Daniel  
ANTONINI Marie-Thérèse  
BOURTHOMIEU Sylvie  
BOUTEILLE Bernard  
CHABLE Hélène  
DURAND-FONTANIER Sylvaine  
ESCLAIRE Françoise  
FUNALOT Benoît  
HANTZ Sébastien  
LAROCHE Marie-Laure  
LEGUYADER Alexandre  
MOUNIER Marcelle  
PICARD Nicolas  
QUELVEN-BERTIN Isabelle  
TERRO Faraj  
VERGNE-SALLE Pascale  
VINCENT François  
WEINBECK Nicolas

PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE  
EXPLORATIONS FONCTIONNELLES PHYSIOLOGIQUES  
CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE  
PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE  
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE  
ANATOMIE – CHIRURGIE DIGESTIVE  
BIOLOGIE CELLULAIRE  
BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE  
BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE  
PHARMACOLOGIE CLINIQUE  
CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE  
BACTERIOLOGIE – VIROLOGIE – HYGIENE HOSPITALIERE  
PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE  
BIOPHYSIQUE ET MEDECINE NUCLEAIRE  
BIOLOGIE CELLULAIRE  
THERAPEUTIQUE  
PHYSIOLOGIE  
ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

**PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE :**

CAIRE François

NEUROCHIRURGIE

**P.R.A.G. :**

GAUTIER Sylvie

ANGLAIS

**PROFESSEUR ASSOCIE A MI-TEMPS :**

BUCHON Daniel  
BUISSON Jean-Gabriel

MEDECINE GENERALE  
MEDECINE GENERALE

**MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS :**

DUMOITIER Daniel  
PREVOST Martine

MEDECINE GENERALE  
MEDECINE GENERALE

## Remerciements

---

A **Monsieur le Professeur François Denis**, Professeur des Universités de Bactériologie – Virologie – Hygiène, Biologiste des Hôpitaux, Membre de l'Académie de Médecine, de nous faire l'honneur de présider ce jury, travailler dans votre service et vous côtoyer m'a permis d'ouvrir les yeux sur l'intérêt et la carrière passionnante que la microbiologie peut offrir. Veuillez recevoir ici l'expression de mon admiration et de mon profond respect.

A **Madame le Professeur Marie Essig**, Professeur des Universités de Néphrologie, Praticien Hospitalier, de nous faire l'honneur de juger ce travail. Votre intérêt et votre aide précieuse auront été essentiels dans l'entreprise de ce projet. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma sincère reconnaissance.

A **Madame le Docteur Nadia Hidri**, Praticien Hospitalier, d'avoir accepté de siéger dans ce jury. Ce travail n'aurait pas vu le jour sans ton soutien et ton aide. Ton dynamisme et ta passion ont grandement contribué à ma spécialisation en microbiologie. Trouve ici l'expression de ma reconnaissance et de ma profonde sympathie.

A **Madame le Professeur Sylvie Rogez**, Professeur des Universités de Bactériologie – Virologie – Hygiène, Praticien Hospitalier, d'avoir accepté de juger ce travail. Vos conseils et votre compétence ont été décisifs dans mon cursus d'interne. Veuillez recevoir ici l'expression de toute ma gratitude.

A **Mademoiselle le Professeur Marie-Cécile Ploy**, Professeur des Universités de Bactériologie – Virologie – Hygiène, Chef de Service, d'avoir accepté de diriger cette thèse. Vous m'avez fait confiance, orientée, encouragé, je ne pourrai jamais assez vous remercier pour votre infinie patience, votre disponibilité et pour vos conseils avisés. Vous m'avez appris énormément. Veuillez recevoir l'expression de ma plus sincère admiration et de ma plus haute estime.

**Je tiens à remercier les personnes qui ont contribuées à ce travail :**

Les services cliniques qui m'ont accueillie pour effectuer ce travail. L'équipe infirmière et le Docteur Vincent Allot du service d'Hémodialyse pour m'avoir accueillie et aidée dans la réalisation des prélèvements. L'équipe infirmière d'hémodialyse et de dialyse péritonéale ainsi le Docteur Béatrice Champtiaux-Dechamp de l'ALURAD, pour m'avoir accueillie et aidée si gentiment. Mais aussi toute l'équipe médicale de l'ALURAD, pour votre intérêt et votre aide dans la réalisation de ce projet.

A l'équipe d'accueil EA 3175, pour leur soutien amical et leurs conseils, notamment Thomas, Thibault, Emilie et Sandra.

A l'équipe les techniciennes de biologie moléculaire, Carole, Nadège, Julie et Emilie, pour votre patience, pour m'avoir appris et pour m'avoir aidée et soutenue tout au long de mes manipulations. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous.

Au Docteur Fabien Garnier, pour ton aide et tes conseils tout au long de ce projet.

Au Docteur Olivier Barraud, pour ta disponibilité, tes conseils et l'aide immense que tu m'as apportée pour la réalisation de ma thèse.

A Tony Penault pour avoir su éclaircir l'obscur brouillard qui règne sur les biostatistiques dans mon esprit.

**Je tiens également à remercier ceux et celles qui ont contribué à ma formation médicale, durant toute ma faculté de médecine et mon internat :**

Aux docteurs Christian Martin, Marcelle Mounier et Sophie Alain, pour votre aide dans la compréhension du monde complexe de la microbiologie.

A mes co-internes, les premiers de « bactério » : Axel, Nathalie, Aurélie, Hélène, Stéphanie et Pamela, pour les très bon moments passés ensemble, pour votre amitié et votre soutien infaillible. Mais aussi Anne, Alisson, Marie-Laurence, Angélique et Germain, pour être là quand il faut et pour votre amitié.

A tous les membres du laboratoire de Bactériologie – Virologie – Hygiène, pour la formation, les conseils mais aussi la bonne humeur que vous m'avez apportés. C'est une joie de travailler avec vous.

A Marion et Manu, pour les années de fac et pour tout ce qui a suivi.

A mes amis, qui ont su me remotiver quand ça me semblait trop long.

Je tiens enfin à remercier ma famille, Michael, Pierre-Yves, Marie-Christine, Pierre-Olivier, Maud, Gwendoline, Jo, la petite Enoa, Mathilde, Colette et tous les autres, parce que vous êtes toujours là et que sans vous je ne serai pas arrivée ou j'en suis, avec toute mon affection, merci infiniment.

*A Michael et à notre enfant qui pousse bien au chaud  
Avec tout mon amour pour vous deux*

## Plan

---

Introduction .....	9
Rappels bibliographiques.....	11
1. <i>Staphylococcus aureus</i> (SA).....	12
2.    Leucotoxine de Panton Valentine .....	14
3.    Evolution de la sensibilité aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
4. <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i> .....	17
5.    Différence entre SAMRM-C et SARM-H .....	20
6.    Pathogénicité et épidémiologie des SARM-C.....	22
7.    Typage biologique moléculaire de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
8.    Dialyse et <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
Introduction à l'étude expérimentale.....	35
1.    Hypothèse de recherche et résultats attendus.....	36
2.    Justification des choix méthodologiques .....	37
3.    Rapport bénéfice / risque.....	38
4.    Retombées attendues .....	38
5.    Objectifs.....	38
6.    Schéma de l'étude .....	39
Matériel et méthodes .....	41
1.    Matériel .....	42
2.    Méthodes .....	45
Résultats .....	53
1.    Population .....	54
2.    Approche bactériologique.....	56
3.    Prévalence du portage .....	57
4.    Typage par électrophorèse en champs pulsés .....	71
5.    Détection du gène de la leucotoxine de Panton-Valentine .....	75
6.    Données cliniques .....	75
Discussion .....	80
Conclusion.....	89
Références bibliographiques .....	91

## Liste des abréviations

---

ALURAD : Association Limousine pour l'Utilisation du Rein Artificiel à Domicile

BHI : Brain-Heart Infusion

DP : Dialyse Péritonéale

ECP : Electrophorèse sur gel, en Champ Pulsés

HD : Hémodialyse

KTDP : Cathéter de Dialyse Péritonéale

LPV : Leucotoxine de Panton-Valentine

MLST : Multilocus Sequence Typing

SA : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SARM-C : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline communautaire

SARM-H : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline hospitalier

SASM : *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline

SCC*mec* : Staphylococcal Chromosome Cassette *mec*

## Introduction

---

*Staphylococcus aureus* est un microorganisme ubiquitaire que l'on isole à la fois chez les individus sains et fragilisés. Il peut être responsable de colonisation pérenne des muqueuses et tissus humains, ou encore s'incorporer dans un biofilm sur des surfaces inertes. Mais, il peut aussi être responsable d'infections invasives et fulminantes de localisations et symptomatologies variées. *Staphylococcus aureus* résiste à des conditions extrêmes de survie, tant chez son hôte humain que chez l'animal ou dans l'environnement.

Les souches de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) apparues dans les années 1960 n'ont concerné pendant longtemps que le milieu hospitalier. Elles n'étaient alors retrouvées en dehors de l'hôpital que chez certains patients ayant des facteurs de risque établis. Depuis 1990, on assiste à l'émergence de nouvelles souches de SARM détectées en dehors de l'hôpital chez des sujets jeunes, sans facteur de risque particulier. Ces SARM communautaires (SARM-C) sont souvent porteurs de la leucocidine de Pantone-Valentine (LPV) et occasionnent des infections cutanées suppuratives et nécrosantes sévères. Ces nouvelles souches sont hautement épidémiques et constituent un problème de santé publique émergeant au niveau mondial. Ces données nouvelles bouleversent l'épidémiologie de *S. aureus* et la prise en charge des infections cutanées.

*Staphylococcus aureus* est actuellement le pathogène le plus fréquemment responsable d'infection chez les patients hospitalisés. Les patients en cours de dialyse sont particulièrement exposés aux infections staphylococciques, l'accès vasculaire ou péritonéal étant la porte d'entrée majeure de ce pathogène auquel se surajoute un terrain immunodéprimé.

## Rappels bibliographiques

## 1. *Staphylococcus aureus* (SA)

*Staphylococcus aureus* est un cocci à Gram positif de la famille des *Staphylococcaceae*. C'est une bactérie aéro-anaérobie, commensale de la peau et des muqueuses. Il existe de nombreuses espèces au sein du genre *Staphylococcus* parmi lesquelles SA occupe une place importante. La transmission se fait essentiellement par contact direct (manuportage) ou par contact indirect à partir de matériel souillé.

### 1.1. Le portage de *Staphylococcus aureus*

SA peut survivre pendant des mois sur n'importe quelle surface. Les mains sont le principal vecteur pour la transmission de SA vers le nez, le risque de cette transmission est augmentée par le « nose picking » (1). La définition du portage varie d'une étude à l'autre, beaucoup classent les individus en porteurs et non porteurs à l'aide d'un seul prélèvement nasal. Chez les individus sains on peut décrire 3 modèles de portage nasal :

- Les porteurs permanents, environ 20% de la population (12-30%) : le plus souvent, ces patients sont colonisés par une seule souche de SA sur une longue période. La charge bactérienne est plus importante ainsi que le risque de dissémination et d'infection.
- Les porteurs intermittents, environ 30% de la population, mais la proportion peut aller de 16% jusqu'à 70% dans certaines études : ils pourront être colonisés par différentes souches de SA au cours du temps
- Les non porteurs, environ 50% de la population (16-69%) : ces patients éliminent rapidement les souches de SA au cours d'essai d'inoculation volontaire (2,3).

Il a été montré que les porteurs permanents présentent un risque plus grand de développer des infections staphylococciques que les porteurs intermittents ou les non-porteurs permanents (4). Dans leur étude sur les facteurs humains déterminant le portage nasal de SA, Nouwen *et al.* définissent une « règle de culture » : les résultats de 2 écouvillonnages nasaux à 1 semaine d'intervalle permettent de déterminer si le sujet est porteur ou non, mais plus de 7 prélèvements sont nécessaires pour dire si le sujet est non porteur ou porteur intermittent (3).

Les fosses nasales antérieures sont le site de portage le plus fréquent de SA. Chez les porteurs, les autres sites de portage retrouvés sont la peau : main 80 %, périnée 60 % et aisselles 20 %. Le tractus digestif, l'oropharynx (15 à 50 %), les lésions cutanées chroniques et le vagin étant les autres sites fréquemment colonisés (5). Il est mis en évidence un portage intestinal de 20 % et nasal de 40 % dans la population générale. On définit le portage intestinal par la mise en culture de

prélèvement de selles, l'écouvillonnage rectal ou anal. L'écouvillonnage périnéal (du périnée, de l'aîne ou de la région inguinale) est admis comme reflet du portage intestinal, mais ces sites reflètent aussi le portage cutané. Le portage intestinal seul est de 8 % dans la population générale mais il correspond à 37 % du total des porteurs intestinaux (6). Ce portage bien que moins fréquent que le portage nasal a un intérêt clinique dans le dépistage des sujets colonisés.

Le portage oropharyngé est lui aussi important, et semble être la cause d'échappements à la décontamination nasale de SA (7). Dans les études où le portage de SARM est déterminé en nasal, en oropharyngé et sur d'autres sites, l'oropharynx est la deuxième localisation, après les fosses nasales, qui isole le plus de SARM. Leur conclusion est que l'oropharynx est une localisation cruciale pour le portage de SARM et qu'il est important d'associer différentes localisations pour dépister les porteurs de SARM de façon exhaustive (8,9).

Les prélèvements à la recherche d'un portage doivent en conséquent comprendre au moins les fosses nasales, mais il est préférable d'y associer 1 ou 2 autres localisations : l'oropharynx au moins puis, les effractions cutanées (dispositifs transcutanés, lésions...) ou d'autres localisations cutanées comme les aisselles ou encore le périnée renseignant alors aussi sur le portage digestif.

## 1.2. Clinique

SA est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires. Plusieurs facteurs expliquent la fréquence et la gravité des infections à SA : le caractère ubiquitaire de la bactérie, la multi-résistance de certaines souches aux antibiotiques, notamment en milieu hospitalier, ainsi qu'une diminution des défenses immunitaires des patients hospitalisés. Mais la pathogénicité de SA est surtout à relier à l'expression de facteurs de virulence. SA a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes. SA est impliqué dans la survenue d'infections nosocomiales et représente le deuxième agent pathogène responsable de ce type d'infections après *E. coli*, mais son isolement en milieu communautaire est de plus en plus fréquent.

La symptomatologie de SA est très polymorphe :

- Infections suppuratives

Comme toute bactérie pyogène, SA est à l'origine d'infections suppuratives. Il s'agit le plus souvent d'auto-infections à partir de la flore endogène, mais l'origine peut aussi être exogène.

Les infections suppuratives impliquent une prolifération bactérienne, une invasion, une destruction des tissus de l'hôte et une réponse inflammatoire locale et systémique. Elles sont à l'origine :

- De staphylococcies cutanées, sous-cutanées et muqueuses qui peuvent être superficielles (impétigos, otites, sinusites, onyxix et folliculites) ou profondes (furoncles, abcès et hydrosadénite) ;
- De septicémies ;
- De staphylococcies viscérales à partir de bactériémies, avec des localisations osseuses (ostéomyélites), pleuropulmonaires (abcès bulleux), urinaires (phlégon péri-néphrétique), génitales, neuroméningées ou cardiaques (endocardites).

- Les infections non suppuratives d'origine toxinique appelées toxémies staphylococciques. Elles sont, elles, dues à la diffusion de toxines à partir d'un foyer infectieux ou à l'ingestion d'une toxine préformée dans un aliment contaminé. Ces toxémies regroupent les syndromes cutanés staphylococciques, le choc toxinique staphylococcique et les intoxications alimentaires.

Ces toxémies staphylococciques sont associées à la production des toxines suivantes :

- La leucotoxine de Panton-Valentine au cours des pneumonies nécrosantes ou d'abcès invasifs cutanés et des tissus mous ;
- Les exfoliatines A et B lors du syndrome d'exfoliation généralisée ;
- La toxine du choc staphylococcique TSST-1 lors du syndrome de choc toxique

- Les entérotoxines responsables de toxi-infections alimentaires et impliquées aussi dans des chocs staphylococciques en raison de leurs propriétés superantigéniques (10).

## 2. Leucotoxine de Panton Valentine

Les leucotoxines regroupent les toxines dont les cibles principales sont les globules blancs. Elles regroupent l'alpha-toxine et les toxines formées de 2 composants dont la LPV (11).

La LPV a été découverte en 1894 par Van de Velde, Panton et Valentine qui ont mis en évidence son activité leucotoxique en 1932 ainsi que son implication dans certaines infections cutanées (furoncles) (12). La LPV est une toxine synergohyménotrope. Cette famille de toxine agit directement sur la paroi membranaire des cellules cibles pour ouvrir des canaux calciques et créer

des pores transmembranaires. Ces pores entraînent une libération d'enzymes et de médiateurs de l'inflammation via un afflux calcique intracellulaire. Ils conduisent également à la lyse cellulaire. La LPV a pour principale cible les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et les macrophages. En revanche, la LPV n'induit pas d'hémolyse.

Moins de 5 % des SA sont sécréteurs de la LPV, mais l'incidence semble en augmentation et elle varie énormément selon les zones géographiques. Ainsi 47 % des souches isolées des hôpitaux du Nigeria sont sécrétrices (13). Ou encore, Au Cap-Vert, 35 % des souches de SA sont sécrétrices (14). Un certain nombre de clones LPV positifs émergent dans différentes régions du monde. Le plus connu est le clone USA300 très présent aux États-Unis. La grande majorité de ces souches est résistante à la méticilline. Une tendance à la dissémination des clones en dehors de leur continent d'origine est observée. Cependant en Europe, bien qu'il existe des souches résistantes à la méticilline produisant la LPV, la majorité des souches reste sensible. Enfin des infections nosocomiales avec des souches LPV+ ont été décrites (15,16).

Cette toxine est impliquée principalement dans des infections cutanées nécrosantes, essentiellement des furoncles (des souches LPV+ sont isolées dans plus de 90% des cas), en France comme à l'étranger. La production de LPV est également retrouvée dans d'autres infections : abcès profonds, fasciites nécrosantes, infections ostéoarticulaires. Plus anecdotiques mais témoignant de la virulence, ces souches ont été impliquées dans des tableaux de chocs septiques compliqués. Enfin la LPV est associée à certaines pneumopathies communautaires de l'adulte jeune immunocompétent en bonne santé : les pneumopathies nécrosantes. Si les pneumopathies à SA sont rares, l'implication des souches sécrétrices de LPV est de 80-85% dans certaines études (17,18) et le tableau clinique est caractérisé par l'association de fièvre, d'hémoptysies, d'infiltrats alvéolaires multilobaires, d'une leucopénie et d'une aggravation extrêmement rapide. L'évolution se fait le plus souvent vers un choc ou une hypoxémie réfractaire.

### 3. Evolution de la sensibilité aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* (SA) fut isolé pour la première fois dans les années 1880. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses de l'homme.

Au début des années 1940, avant l'introduction de la pénicilline, le taux de mortalité des patients infectés à SA était environ de 80% (19). En se basant sur les observations d'Alexander Fleming en 1929 qui rapportait une action bactéricide sur SA d'un contaminant fongique qui produisait de la pénicilline et face aux dégâts importants causés par les infections pendant la deuxième guerre mondiale, les alliés sponsorisèrent la production de masse de pénicilline (20). Il en

a résulté une chute importante du taux de mortalité due aux pneumopathies et aux méningites bactériennes par rapport aux taux de mortalité de la première guerre mondiale (21,22).

En 1940, une enzyme capable d'hydrolyser l'anneau bêta-lactame de la pénicilline fut décrite pour la première fois chez *Escherichia coli*. Cette enzyme fut appelée « pénicillinase » (23). En 1944, 4 ans après l'introduction de la pénicilline, la production de pénicillinase par *Staphylococcus aureus* fut décrite (24). Quatre ans après, plus de 50% des souches de SA isolées chez les patients du London Hospital étaient résistantes à la pénicilline (25). Plus tard, des SA résistants à la pénicilline furent isolés en dehors des hôpitaux. Depuis 1960, plus de 80% des souches de SA sont résistantes à la pénicilline.

En 1961, 2 ans après l'introduction de la méticilline, une pénicilline résistante à la pénicillinase, la première souche de SA résistante à la méticilline (SARM) a été décrite dans un hôpital britannique (26). SA a développé une résistance à la méticilline par acquisition du gène *mecA*. Pendant les 45 dernières années, différents clones hospitaliers de SA résistants à la méticilline (SARM-H) disséminèrent mondialement. Ces souches sont caractérisées par une résistance à toutes les bêta-lactamines mais aussi par des résistances associées à de nombreux autres antibiotiques (aminosides, quinolones, macrolides). En 2004, aux Etats-unis, 60% des souches de SA isolées au cours d'infections chez des patients d'unités de soins intensifs, étaient résistantes à la méticilline (27). Le Center for Disease Control and Prevention estime actuellement qu'il y a près de 100 000 cas d'infections à SARM mettant en jeu le pronostic vital par an au Etats-Unis et environ 19 000 décès par an, soit plus que le nombre de décès dus au virus HIV (28).

Depuis les années 1990, s'ajoute aux SARM-H, des clones virulents de SARM communautaires (SARM-C). Ces SARM-C, qui sont caractérisés par la présence de la leucotoxine de Pantone-Valentine (LPV), ont disséminé mondialement, d'abord au sein de la communauté et par la suite au sein des réseaux de soins.

Une étude sur la prévalence mondiale de SARM dans les hôpitaux a été menée au cours du SENTRY Antimicrobial Surveillance Program entre 1997 et 1999. Il a été observé une prévalence de 26% en Europe, 23% en Australie, 67% au Japon, 35% en Amérique latine, 40% en Afrique du Sud, et 32% aux États-Unis (29,30). En outre, il a été montré que la prévalence au sein de l'Europe est hétérogène, allant approximativement de 1% dans les pays du Nord de l'Europe jusqu'à 45% dans les pays du Sud (31).

D'après les données de l'InVS (Institut de Veille Sanitaire), en 2005, l'EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System, <http://www.rivm.nl/earss/>) a classé la France au sein de l'Europe en fonction de la proportion de SARM. La moyenne des pays Européens était de 25% (de 0 à 61%), la France était en neuvième position avec une proportion de SARM de 27% en 2005. Mais il faut noter que cette proportion de SARM a diminué de 33% en 2001 à 27% en 2005.

#### 4. *mecA* et *SCCmec*

Chez SA, le gène *mecA* code pour la protéine liant la pénicilline (PLP)2a (ou PLP2') qui fait 78 kDA et qui est responsable de la résistance à la méticilline et aux autres bêta-lactamines. Chez les souches de SA sensibles à la méticilline, les bêta-lactamines se lient aux PLPs natives, enzymes de synthèse du peptidoglycane, qui sont présentes dans la paroi cellulaire du *Staphylococcus* et conduisent à l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane et la mort du *Staphylococcus*. Cependant, chez le SARM, la PLP2a qui est présente ne lie pas les bêta-lactamines, ainsi il n'y a pas d'arrêt de synthèse du peptidoglycane et le *Staphylococcus* peut croître (32).

Le gène *mecA* est régulé par le represser *MecI* et le transducteur de signal bêta-lactam-sensing transmembranaire *MecR1*, qui sont transcrits tout deux de façon divergente. *MecI* réprime à la fois la transcription de *mecA* et du couple *mecR1-mecI* en l'absence de bêta-lactamines. Cependant, en présence de bêta-lactamines, *MecR1* est automatiquement clivé et le domaine métalloprotease, localisé sur la partie intra-cytoplasmique de *MecR1*, devient actif. Cette métalloprotease clive *MecI*, permettant ainsi la transcription de *mecA* ainsi que la production de PLP2a (32).

Le gène *mecA* fait 2,1 kb de long, est situé sur un îlot génomique mobile, appelée Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (*SCCmec*) (33) qui s'insère à l'extrémité 3' d'*orfX* et qui est situé près de l'origine de réplication de SA (34,35). Le gène *ccr* (cassette chromosome recombinase) est retrouvé sur tous les types de *SCCmec*. Sa fonction est l'intégration et l'excision de *SCCmec* au sein du génome de SA, il rend ainsi possible la diffusion rapide et large de *mecA* au sein de différentes populations de Staphylocoques. *SCCmec* ou certains de ses éléments ont ainsi été rapportés chez les SA mais aussi chez certains *Staphylococcus* à coagulase négative (33,36-38). Peu après la description initiale de *SCCmec*, plusieurs *SCCmec* de structures différentes ont été décrits. Ces éléments partagent tous les caractéristiques suivantes : la présence de *mecA* dans le complexe de gène *mec*, la présence de *ccrAB* ou *ccrC* dans le complexe de gène *ccr*, l'intégration dans le chromosome staphylococcique se fait au niveau d'un site spécifique référencé comme le site d'intégration de séquence (ou ISS pour Integration Site Sequence) de *SCC*, qui sert de cible pour la recombinaison médiée par *ccr* et est localisé au niveau d'un cadre de lecture ouvert, *orfX*, de fonction inconnue (39,40)(39)(39)(39)(39). Les régions qui ne font pas partie du complexe *ccr* ni du complexe *mec* sont appelées régions J de jonction. Chaque élément *SCCmec* porte 3 régions J et *SCCmec* selon la structure suivante : J3 - complexe *mec* - J2 - complexe *ccr* - J1 (40,41).

Actuellement, huit principaux types de SCCmec sont connus et leurs tailles varient de 21 à 67 kb (voir Figure 1). Les trois premiers types de SCCmec ont été désignés type I, II et III (42,43) et furent suivis par la publication des types I à VIII (44-48). SCCmec type I, IV, V, VI et VII sont responsables des résistances aux bêta-lactamines seulement. SCCmec type II et III sont associés en plus à des résistances à de multiples classes d'antibiotiques en raison de l'intégration dans SCCmec de gènes de résistance aux antibiotiques additionnel, d'intégration de plasmides et de transposons (49). SCCmec type VIII a récemment été décrit au cours d'une épidémie hospitalière au Canada (48).

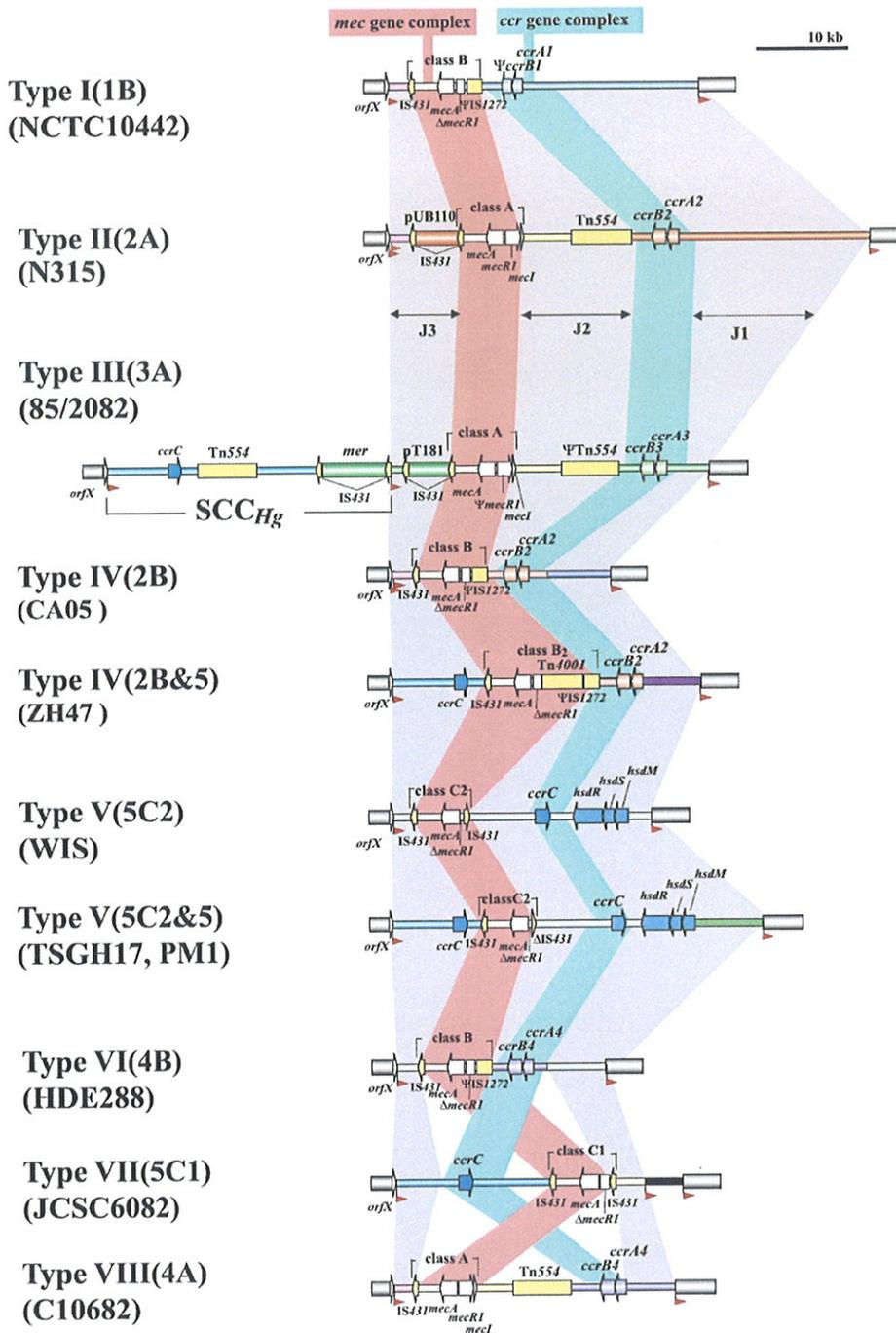


Figure 1 : Représentation schématique des type SCCmec I à VIII (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) 2009).

La nomenclature proposée par l'International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) en 2009 est la suivante : type I (1B), type II (2A), type III (3A), type IV (2B), type V (5C2), type VI (4B), type VII (5C1) et type VIII (4A). Le chiffre romain correspond à l'ordre dans lequel ils ont été découverts et l'association entre parenthèses désigne pour le premier chiffre le complexe *ccr* et la lettre ou lettre + chiffre désigne le complexe *mec* associé au type (voir Figure 1 et Tableau 1).

### Types SCCmec identifiés chez *S. aureus*

Type SCCmec	Complexe <i>ccr</i> <sup>a</sup>	Complexe <i>mec</i>
I	1 (A1B1)	B
II	2 (A2B2)	A
III	3 (A3B3)	A
IV	2 (A2B2)	B
V	5 (C)	C2
VI	4 (A4B4)	B
VII	5 (C)	C1
VIII	4 (A4B4) <sup>b</sup>	A

<sup>a</sup> Les gènes du complexe *ccr* sont indiqués entre parenthèse

Tableau 1: Tableau récapitulatif des complexes *ccr* et *mec* constituant les types SCCmec I à VIII (International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC) 2009).

#### 5. Différence entre SAMRM-C et SARM-H

Jusqu'aux années 1990, les SARM étaient tous dérivés d'un clone hospitalier responsable d'infections nosocomiales (SARM d'origine hospitalière ou SARM-H). Des SARM-H étaient occasionnellement isolés à l'arrivée à l'hôpital chez des sujets colonisés au cours d'une hospitalisation ou d'un acte de soins antérieurs. Ces sujets avaient généralement des facteurs de risque bien établis : hospitalisation ou chirurgie récente, pathologie chronique, âge élevé, membre de l'entourage travaillant dans un système de soins, utilisation d'antibiotiques au long cours (50). Quelques souches de ce clone hospitalier étaient parfois retrouvées hors de l'hôpital et les infirmières à domicile pouvaient jouer un rôle dans la propagation de ces souches hors de l'hôpital (51).

Dans les années 1980, les premiers cas d'infections à SARM dans la communauté furent décrites et concernaient des utilisateurs de drogues intra-veineuses, les résidents de services de long séjour et des patients atteints d'affection chronique et en contact fréquent avec les réseaux de soins. Ces infections étaient considérées comme associées aux réseaux de soins (51-54).

Cependant, depuis la fin des années 1990, des souches de SARM sont régulièrement isolées hors de l'hôpital chez des patients en bonne santé ne présentant pas ces facteurs de risque. La fréquence de ces infections est en augmentation et devient même la forme prédominante dans certaines régions du monde.

Dans la littérature, ces nouveaux SARM ou SARM d'origine communautaire (SARM-C) ont parfois été confondus ou rattachés aux SARM-H isolés dans la communauté chez les sujets à risque.

Or, les SARM-C diffèrent, par certaines de leurs caractéristiques, des SARM-H. Les patients infectés n'appartiennent pas aux mêmes groupes sociaux que les porteurs de SARM-H. L'étude américaine de Naimi et al, comparant les patients porteurs de SARM-C aux porteurs de SARM-H met en évidence des différences significatives entre les 2 groupes. Les SARM-C ne sont pas associés aux facteurs de risque connus et sont beaucoup plus à risque d'infections de la peau et des tissus mous que les SARM-H. La moyenne d'âge est différente entre SARM-C : 23 ans et SARM-H : 68 ans, le niveau socio-économique des patients infectés a SARM-C est aussi différent : plus pauvre et appartenant à des minorités ethniques (55,56).

On peut définir un SARM-C de différentes façons : le CDC (Center for Disease Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/>) les définit comme des souches de SARM mises en évidence chez un patient :

- Moins de 48h après son admission à l'hôpital
- Sans antécédent médical d'infection ou de colonisation à SARM
- Sans antécédents dans l'année passée d'hospitalisation, d'admission dans un centre de soins médicaux ou infirmiers, d'hospice, de dialyse ou de chirurgie
- Ne portant pas de cathéter, ni dispositif médical transcutané

Par ailleurs, les SARM-C diffèrent des souches de SARM-H par leur grande sensibilité aux antibiotiques et parfois ils sont seulement résistants aux bêtalactamines alors que chez les SARM-H, la multirésistance aux antibiotiques est très fréquente. De plus l'élément génétique qui contient le gène de résistance à la méticilline, *SCCmec* (Staphylococcal chromosomal cassette *mec*) est différent chez les SARM-C, le plus souvent de type IV, V ou VII, alors que de type I à III chez les SARM-H. Enfin ces souches de SARM-C hébergent très souvent le gène de la LPV, facteur de virulence qui peut être responsable d'une augmentation de morbidité et de mortalité associé aux infections des SARM-C (50,52,57,58). Le typage *SCCmec* et la LPV semblent être des marqueurs stables des SARM-C (50).

On utilise souvent ces caractéristiques pour distinguer SARM-C et SARM-H qui sont résumées dans le tableau suivant (Tableau 2) :

caractéristiques	SARM-H	SARM-C
Population atteinte	Hospitalisés, fréquentation des réseaux de soins, personnes âgées, prématurés, immunodéprimés	Sujet jeune et sain, sans facteurs de risque de SARM-H, prisonniers, militaires, sportifs (surtout sport de combat et de balle), homosexuels et populations ethniques
Association avec l'utilisation au long cours d'antibiotiques et avec des comorbidités	oui	non
Association avec l'exposition aux réseaux de soins dans l'année précédente	oui	oui
Habituellement responsable de bactériémies, surinfections de lésions, colonisation et infections symptomatiques des tractus respiratoire et urinaire	oui	non
Habituellement responsable d'infections sévères cutanées, des tissus mous et de pneumopathies	non	oui
Résistance aux bêta-lactamines	oui	oui
Résistance à la clindamycine et aux fluoroquinolones	oui	oui/non
SCCmec Types I-III	oui	non
SCCmec Types IV, V, VII	non	oui
LPV	non	oui

Tableau 2 : Tableau résumant les caractéristiques qui différencient SARM-C et SARM-H (59,60).

Il est à noter que dans le tableau ci-dessus, l'association avec l'exposition aux réseaux de soins est un critère positif pour les SARM-H et les SARM-C, ce qui semble en contradiction avec la définition initiale du CDC des SARM-C. Ceci s'explique par la tendance récente du SARM-C à remplacer au sein des hôpitaux américains le SARM-H traditionnel (61).

## 6. Pathogénicité et épidémiologie des SARM-C

Durant la dernière décennie, l'émergence des SARM-C a concerné le monde entier. En général, le SARM-C est plus virulent que le SARM-H par la présence de divers facteurs de virulence. La première souche de SARM-C à été rapportée en 1993 et provenait de l'ouest de l'Australie, il était

décrit un SARM-C chez un patient aborigène qui appartenait à une communauté en marge de la société (62).

Les infections à SARM-C sont majoritairement des infections suppuratives de la peau et des tissus mous (55), parfois graves. Depuis 2002, la littérature médicale rapporte de nombreux cas de furoncles, d'abcès, de dermohypodermes infectieuses à SARM-C chez des sujets jeunes (50,55,63-65). La présentation clinique est inhabituelle avec un aspect initial pouvant simuler des piqûres d'araignée (66-68). Ces infections sont généralement nécrotiques et collectées et le traitement antibiotique seul est souvent insuffisant. Le recours à la chirurgie est fréquent : incision et drainage évacuateur pour les furoncles et abcès, débridement chirurgical large, souvent délabrant, parfois complété d'une greffe de peau pour les dermohypodermes (69,70). Certaines infections se compliquent d'infections systémiques : bactériémies, endocardites, ostéomyélites. Les SARM-C sécréteurs de LPV ont été également impliqués dans des cas de pneumopathies nécrosantes sévères dont le taux de mortalité est voisin de 80% (17).

Le manque d'hygiène semble associé à l'acquisition d'une infection à SARM-C. Des études chez les militaires, les sportifs ou les prisonniers ont montré que les difficultés d'accès aux douches et au savon étaient associées aux épidémies de SARM-C.

Actuellement on peut considérer les infections à SARM-C comme une épidémie mondiale et les lésions de la peau sont les plus fréquentes. Les sportifs, certaines population ethniques, les enfants, les sans domicile fixe, les hommes homosexuels, les personnes habitant avec un sujet porteur d'une infection à SARM-C, les sujets porteurs du virus HIV, les utilisateurs de drogue intra-veineuse, le personnel militaire, les nouveaux-nés, les femmes enceinte ou en post-partum, les sujets tatoués et les personnes de condition socio-économique basse et vivant en ville sont les catégories de population à risque de développer une infection à SARM-C (71).

De nombreux clones de SARM-C ont émergé depuis les années 1990 et ont disséminé à travers le monde. La prévalence mondiale de SARM-C est encore basse, mais une augmentation a été notée récemment. Salgado *et al.* ont analysé 57 études de la littérature anglophone de la base de donnée MEDLINE au cours d'une méta-analyse sur la prévalence des SARM-C, comparant des patients hospitalisés à des individus de la communauté. Cette étude concluait que la majorité des individus ayant un SARM-C avaient au moins 1 facteur de risque lié aux réseaux de soins et que la prévalence de SARM-C au sein des individus qui n'avaient pas de facteurs de risque était de 0,24%. Depuis quelques années, le SARM-C a même tendance à remplacer le SARM-H dans les réseaux de soins principalement aux USA et à Taiwan où la prévalence est élevée (61,72,73).

Aux États-Unis, la prévalence des SARM-C au cours des infections communautaires à staphylocoques est devenue plus importante que celle des SA sensibles à la méticilline (SAMS). La

plupart des infections à SARM-C sont dues à un clone caractérisé par une séquence MLST de type ST8 et appelé USA300. Ce clone présente 2 évolutions récentes majeures.

La première est qu'il tend à remplacer au sein des hôpitaux américains le SARM-H traditionnel. Entre 2000 et 2006, la proportion de souches de SARM isolées à partir de bactériémies d'un hôpital américain, présentant un phénotype de résistance de SARM-C a augmenté de 24% à 49% (61). Le nombre de bactériémies restait stable, suggérant qu'il s'agissait réellement d'un remplacement des souches traditionnelles par les souches émergentes. La dissémination des SARM-C au sein des hôpitaux est inquiétante d'une part par son tropisme cutané favorisant la transmission manuportée, d'autre part par la population concernée qui est plus âgée et présente un terrain fragilisé, ceci porte à croire que l'impact global des infections staphylococciques serait augmenté par un changement de l'écologie des souches de SARM.

La seconde est que des variants d'USA300 résistants à la clindamycine, ciprofloxacine et mupirocine sont devenus communs au sein de la population homosexuelle. La notion d'infection sexuellement transmissible à SARM est même discutée.

Une étude réalisée aux urgences de 11 villes des USA a conclu que 78% des isolats de SA étaient SARM, au sein desquels 98% étaient des SARM-C liés au clone USA300 (74). Une autre étude réalisée dans un centre médical de Houston montre que 60% des SARM isolés des infections nosocomiales sont associés au clone USA300 (75). De plus le SARM-C est partiellement responsable de l'augmentation de la prévalence de SARM dans les pays qui avaient habituellement une prévalence de SARM-H basse comme le Danemark, la Norvège et la Hollande. Dans ces pays, une diversité de clones (dont USA300) a été mise en évidence (76-79).

La situation en Europe est différente de celle des États-Unis, les SARM-C isolés appartiennent majoritairement au groupe clonal ST80 qui est LPV positif (58). Un gradient d'incidence de la LPV est observé du nord au sud de l'Europe : 1,6% de SARM sont LPV+ en Angleterre (80), contre 45% en Grèce et 72% en Algérie (81,82). En France le clone majoritairement isolé est le clone Lyon ST8-IV (69,4-80,6%), le clone ST80 européen est isolé dans quelques cas (1-3,6%) (83,84).

Jusqu'à présent, on pensait que chaque clone de SARM-C LPV+ était spécifique à un continent, mais des études récentes montrent qu'actuellement les 5 clones de SARM-C LPV+ disséminent à travers le monde (49). En Europe, même si le clone ST80 est prédominant, la proportion de clone USA300 augmente. De plus on observe une plus grande diversité de clones dans les pays où les échanges internationaux sont nombreux (50).

La possibilité que le clone USA300 remplace le clone ST80 en Europe doit être considérée, pouvant conduire à une situation similaire à l'épidémie actuelle aux États-Unis.

Les études sur la relation entre SCCmec de type IV et V et LPV ne sont pas homogènes. Dans certaines études il est observé que SCCmec IV ou V et que LPV sont des marqueurs génétiques stables pour les SARM-C (50,58). Cette relation a été confirmée au États-Unis (85). Cependant, d'autres études sont venues contredire ces données (82,86-91). D'une manière générale, il semble que 40 à 90% des souches SARM qui portent SCCmec type IV sont LPV+, alors que LPV est porté dans moins de 5% des souches de SARM qui sont SCCmec I à III (53). Ces données montrent que la génétique de ces souches de SARM-C est complexe et que les échanges de cassettes SCCmec ont probablement eu lieu entre des souches de SA communautaires et hospitalières.

## 7. Typage biologique moléculaire de *Staphylococcus aureus*

Les méthodes de typage moléculaire les plus performantes pour différencier les SARM-C des SARM-H sont: le MLST (MultiLocus Sequence Typing), le typage SCCmec (Staphylococcal Chromosomal cassette mec), le typage *spa* (séquençage de la région répétée codant pour la protéine A du *Staphylococcus aureus*) et le profil d'électrophorèse en champs pulsés. Ces différentes méthodes peuvent être combinées pour caractériser les clones de SARM-C internationalement (92,93).

### 7.1. Multilocus Sequence Typing (MLST)

Il s'agit d'une méthode de typage de souches bactériennes basée sur le séquençage de fragments internes d'environ 450 pb, de 7 gènes de ménage (94). Pour chaque fragment de gène, les différentes séquences sont assignées à un allèle distinct, et chaque isolat est défini par la combinaison d'allèle constituée par chacun des 7 gènes de ménage, on parle alors de profil allélique ou de séquence type [ST]. Le site internet [www.mlst.net](http://www.mlst.net) propose une application qui effectue la comparaison aux différents allèles connus et donne le profil allélique, après transfert des séquençages obtenus. Il existe de nombreux allèles pour chacun des locus des gènes de ménage et il est peu probable que 2 isolats aient un profil allélique identique par hasard. Des isolats présentant le même profil allélique peuvent être considérés comme un même clone (94,95). Les séquences obtenues peuvent être directement comparées entre laboratoires et un des avantages majeurs de la technique est de pouvoir comparer directement les résultats de différentes études via internet. La technique de référence MLST a été développée et publiée par l'équipe de Enright *et al.* (96)

## 7.2. Electrophorèse sur gel, en champs pulsés

C'est la technique de référence par ses différents avantages :

- grande résolution
- pouvoir discriminant supérieur à celui des autres marqueurs
- applicable à de nombreuses espèces bactériennes
- très bonne reproductibilité

L'électrophorèse en champs pulsés est une technique de séparation des fragments d'ADN. En appliquant de façon alternée des champs électriques d'orientations différentes, grâce à des électrodes fonctionnant par paires et disposées dans l'espace. Les fragments d'ADN de poids moléculaire de l'ordre du mégabase sont capables de se réorienter puis de se déplacer à des vitesses variables au travers des pores d'un gel d'agarose. L'intérêt de la technique de l'électrophorèse en champs pulsés réside dans la séparation de grandes molécules d'ADN qu'il faut le moins possible endommager lors de la préparation de l'échantillon. La préparation de l'ADN se fait par lyse in situ des cellules dans une matrice semi-solide d'agarose à faible point de fusion (appelée plug), pour garder les molécules intactes et éviter les forces de cisaillement qui sont très importantes en milieu liquide (voir Figure 2).

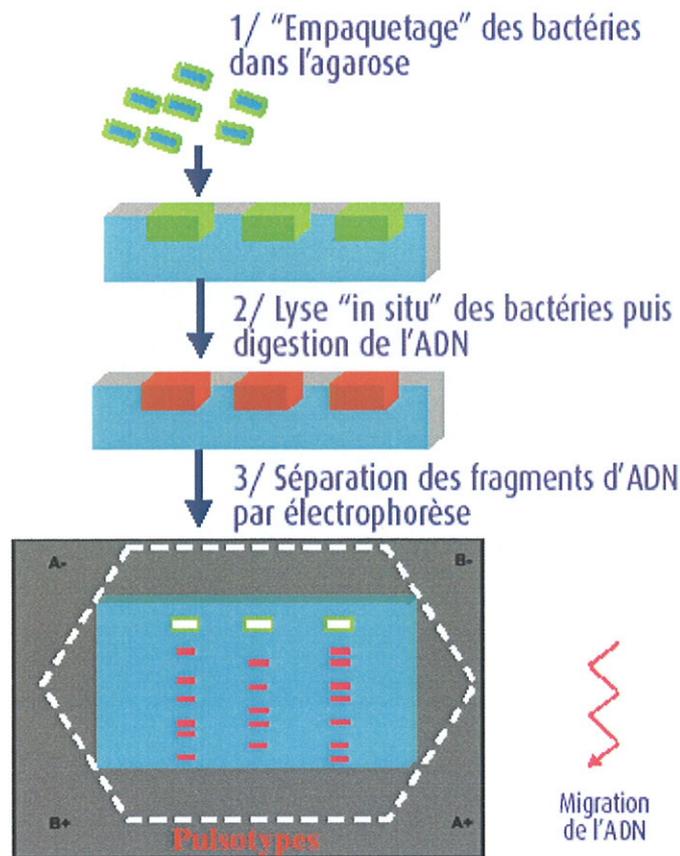


Figure 2 : Schéma représentant les étapes de la technique de l'électrophorèse en champs pulsés.

L'interprétation se fait selon les critères décrits par Tenover *et al.* (97). On compare visuellement ou à l'aide d'un logiciel informatique logiciel (ex : Taxotron® sur MAC, Gelcompar® sur PC) les profils de migration des fragments d'ADN des souches étudiées ou profils de restriction. La première étape est d'examen des profils de restriction et la détermination de la souche la plus commune ou épidémique. S'il n'y a pas de profil commun, alors il est peu probable que les souches aient un lien de clonalité. Ensuite, la taille et le nombre de fragments de la souche commune sont comparés à ceux des autres souches. Sur la base de cette comparaison, on détermine ainsi le lien avec la souche commune. Les profils qui sont distincts de la souche commune (moins de 50% des fragments en communs) ne sont pas liés génétiquement. Les profils qui diffèrent de la souche commune par 2 ou 3 fragments sont considérés comme des sous-types du clone.

Ces différences de nombre ou de taille de fragment sont expliquées par l'apparition d'événements génétiques. Les profils sur lesquels il manque un fragment présent dans le profil de la souche commune avec apparition de 2 nouveaux fragments de taille inférieure dont la somme des poids moléculaires équivaut au poids moléculaire de la bande originale de la souche commune, résultent d'une mutation ponctuelle ayant entraîné l'apparition d'un nouveau site de restriction. Cet événement entraîne une différence de 3 fragments avec le profil de la souche commune (profil B dans la Figure 3). Les profils qui présentent la perte de 2 petits fragments avec l'apparition d'un

nouveau fragment, plus grand, non présent dans le profil de la souche commune résultent d'une mutation ponctuelle ayant entraîné la disparition d'un site de restriction. Cet événement entraîne une différence de 3 fragments avec le profil de la souche commune (profil C dans la Figure 3). Les profils qui présentent la perte d'1 petit fragment avec l'apparition d'un nouveau fragment, plus grand, non présent dans le profil de la souche commune résultent d'une insertion d'ADN à l'intérieur d'un fragment de restriction existant. Cet événement entraîne une différence de 2 fragments avec le profil de la souche commune (profil D dans la Figure 3). Les profils qui présentent la perte d'1 grand fragment avec l'apparition d'un nouveau fragment, plus petit, non présent dans le profil de la souche commune résultent d'une délétion d'ADN à l'intérieur d'un fragment de restriction existant. Cet événement entraîne une différence de 2 fragments avec le profil de la souche commune (profil E dans la Figure 3).

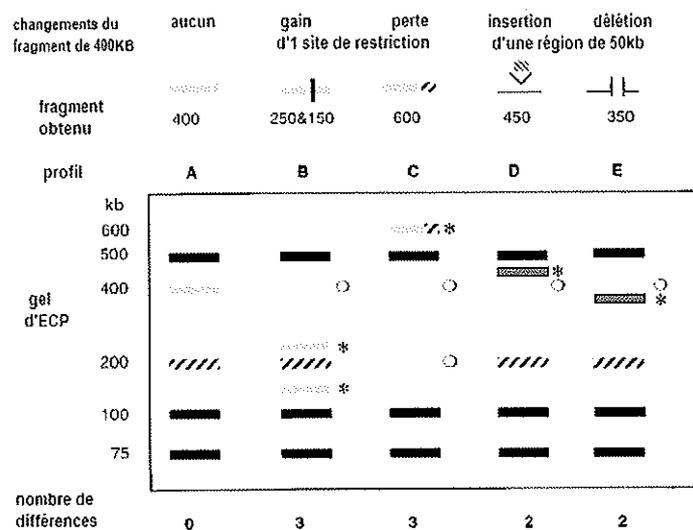


Figure 3 : Diagramme schématique représentant les changements de profil de migration d'une souche résultant de l'apparition de différents événements génétiques. Le profil A est la souche commune, le profil B correspond à une souche qui a gagné un site de restriction, le profil C correspond à une souche qui a perdu un site de restriction, le profil D correspond à une insertion d'ADN sur un fragment déjà existant, le profil E correspond à une délétion d'ADN sur un fragment déjà existant. Les ronds indiquent les fragments présents dans le profil de la souche commune et manquants chez la souche concernée, les astérisques indiquent les fragments présents dans le profil de la souche concernée qui n'existaient pas dans celui de la souche commune.

Différentes catégories de relations génétiques ou épidémiologiques sont définies :

- Profil identiques : les profils de restriction ont le même nombre de bandes et les bandes correspondantes ont visuellement la même taille. Epidémiologiquement, il s'agit du même clone.
- Parenté probable : les profils de restriction ne diffèrent que d'un événement génétique soit 2 à 3 bandes de différence. Il s'agit d'un sous-type du clone commun.

- Parenté possible : les profils de restriction diffèrent de deux événements génétiques soit 4 à 6 bandes de différence. Cette souche fait peut-être partie du même lignage génétique que celui du clone commun, mais n'est pas aussi proche génétiquement et a moins de chance d'être épidémiologiquement liée. Ce type de relation se rencontre lors de prélèvements étendus dans le temps (plus de 6 mois) ou effectués sur un nombre important de patients en cas d'épidémie étendue. Il est probable que ces souches diffèrent avec d'autres méthodes de typage.
- Souches non reliées : Les profils de restriction diffèrent de plus de 3 événements génétiques, soit 7 bandes ou plus. Typiquement, moins de 50% des fragments correspondent au clone commun.

Habituellement les résultats sont rendus en nommant le clone commun A, les souches identiques sont rendues comme étant le clone commun. Les profils de restriction qui sont de parenté probable ou possible sont des sous-clones et sont nommés type A1, type A2, etc. Les souches qui sont de parenté probable ou possible sont rendues respectivement probablement ou possiblement reliées sur le plan épidémiologique. Les profils de restriction qui ne sont pas reliés à la souche commune sont nommés type B, type C, etc. Ces souches sont considérées comme non reliées épidémiologiquement.

Ces critères d'interprétation sont utilisables sur un ensemble de souches recueillies pour des études épidémiologique ou au cours d'épidémies, sur une période relativement courte (1 à 3 mois), en utilisant une même enzyme de restriction. Ils ne sont pas appropriés s'il s'agit d'une population trop importante, ou les organismes sont collectés sur une période étendue (1 an ou plus).

## 8. Dialyse et *Staphylococcus aureus*

### 8.1. Généralités (98)

La dialyse chronique est l'un des traitements de suppléance de l'insuffisance rénale chronique terminale. La dialyse permet d'éliminer les toxines qui s'accumulent dans l'organisme et de maintenir l'équilibre de l'eau et la composition du sang. Il existe deux techniques de dialyses basées sur les échanges entre le sang et le dialysat (liquide de dialyse préparé pendant la séance pour l'hémodialyse ou liquide de dialyse contenu dans les poches à infuser dans la cavité péritonéale pour la dialyse péritonéale) :

- La première est la dialyse péritonéale. Elle utilise le péritoine. Un liquide, le « dialysat », est injecté dans la cavité abdominale grâce au cathéter péritonéal, implanté chirurgicalement dans la cavité abdominale qui est laissé à demeure. Plusieurs techniques pourront être proposées : la DPCA (dialyse péritonéale continue ambulatoire) qui nécessite trois à quatre changements manuels quotidiens de poches de dialysat, ou la DPA (dialyse péritonéale automatisée) nécessitant une machine. Ces techniques se font à domicile, par le patient qui peut, si nécessaire, être assisté par une infirmière.
- La seconde est l'hémodialyse. Elle utilise une circulation sanguine extracorporelle au travers d'une membrane artificielle (dialyseur), assurée par une machine (générateur d'hémodialyse). Cette technique nécessite d'avoir un abord vasculaire. Il s'agit d'une fistule artérioveineuse : une veine de l'avant-bras ou du bras est reliée à une artère, permettant à la veine d'augmenter de calibre et d'être facilement ponctionnable. En l'absence de fistule, il est nécessaire de mettre en place un cathéter dans une veine centrale (veine jugulaire interne ou veine fémorale). Les séances d'hémodialyse sont réalisées le plus souvent trois fois par semaine et durent alors quatre heures au minimum. Cette technique se fait dans des structures et lieux appropriés, éventuellement à domicile.

La dialyse est organisée selon le décret n° 2002-1197 du 23 septembre 2002 dans différentes structures :

- L'hémodialyse en centre : les patients ont un état de santé nécessitant une présence médicale permanente pendant la séance ;
- L'hémodialyse en unité de dialyse médicalisées : les patients ont un état de santé ne nécessitant pas une présence médicale permanente ;
- L'hémodialyse en unité d'autodialyse assistée : les patients nécessitent l'assistance d'une infirmière spécialisée pour certains gestes ;
- L'hémodialyse en unité d'autodialyse simple : les patients sont autonomes après une période de formation et assurent tous les gestes nécessaires à leur traitement ;
- La dialyse péritonéale ou l'hémodialyse à domicile : le patient, après une période de formation, assure couramment tous les gestes nécessaires au déroulement de la dialyse à domicile. Le ou la conjoint(e) ou un membre de sa famille est formé pour assister le patient. En dialyse péritonéale, l'aide d'un(e) infirmier(ère) est possible. L'équipe médicale et paramédicale est disponible par téléphone.

Malgré un traitement bien conduit, des complications peuvent survenir. Au cours de la séance d'hémodialyse, les incidents les plus fréquents sont la baisse de la tension artérielle et les crampes.

Au cours de la dialyse péritonéale, la complication aiguë la plus fréquente est l'infection du liquide de dialyse péritonéale. La complication chronique la plus fréquente est la perte d'efficacité du péritoine, obligeant alors à un changement de technique (transfert en hémodialyse, transplantation rénale...). En hémodialyse comme en dialyse péritonéale, le risque de contracter une infection nosocomiale existe (infection de l'abord vasculaire ou du cathéter péritonéal, transmission virale ou bactérienne, autre). Tout est mis en œuvre pour réduire au maximum ces risques, en particulier par le respect des règles d'asepsie par le personnel. Le respect des règles d'hygiène par le patient est tout aussi important.

## 8.2. Les particularités de la population dialysée face aux infections à SA

Les patients hémodialysés ont un risque important de développer une infection invasive à *Staphylococcus*. Le portage de ce micro-organisme dans les fosses nasales antérieures semble avoir un rôle clé dans l'épidémiologie et la pathogénicité de ces infections (99). On considère que le point de départ des infections dues à SA et SCN est la peau du patient (100) après dissémination à partir des fosses nasales, lorsqu'il y a effraction de la peau par la mise en place de dispositifs transcutanés avec ponction veineuse (101). On prend aussi en compte la possibilité d'invasion bactérienne par translocation, de la muqueuse nasale à la circulation sanguine dans certaines populations comme les patients d'oncologie (100). Une déficience de la barrière muqueuse par immunodépression chez les patients hémodialysés peut aussi les rendre sujets à ce mode d'acquisition (101).

Les infections à SA sont responsables de plus de 8% de la mortalité. Dans cette population très vulnérable, SA est la cause principale des infections à point de départ vasculaire (102). La prise en charge actuelle réduit la mortalité, mais des complications surviennent dans plus de 40% des cas (102).

La grande adaptabilité de ces germes est une des composantes du problème qui se manifeste par l'acquisition de résistances à un large spectre d'antibiotiques comme en témoigne la dissémination mondiale de la résistance à la méticilline (100). Des études montrent que l'épidémiologie des SARM se modifie avec l'émergence de clones particuliers : les SARM-C. Ce groupe de SA a une importance clinique non négligeable par sa pathogénicité et sa capacité à développer des infections pouvant mettre en jeu le pronostic vital d'individus sains (50). L'étude de Koziol-Montewka *et al.* va dans le sens d'une modification d'épidémiologie avec une diminution de la colonisation par SA sur une population hémodialysée entre 1998 (57%) et 2004 (28%). Cette diminution du portage de SA en 2004 coïncidait avec un portage global de *Staphylococcus* associant

SA et SCN, important de 81% (103) ce qui souligne la nécessité de surveiller les changements de l'épidémiologie des Staphylocoques.

### 8.3. Hémodialysés et SARM

Dans 2 méta-analyses, les patients ayant une bactériémie à SARM avaient un risque de mortalité plus élevé que ceux qui avaient une bactériémie à SASM (104,105). Dans une population de patients hémodialysés, ces résultats se vérifient. Les patients hémodialysés ayant une bactériémie à SARM ont un taux de mortalité plus élevé, une durée d'hospitalisation plus longue avec un coût plus élevé que des patients ayant une bactériémie à SASM (106).

### 8.4. Hémodialysés et SARM-C

La capacité du SARM-C à affecter cette population en plus de la population saine habituellement décrite n'est plus à démontrer.

En ce qui concerne les États-Unis : il est mis en évidence un taux croissant d'infections à SARM-C dans la population dialysée, avec une grande proportion de clones USA300, principalement des bactériémies dont le point de départ est le cathéter de dialyse (107). Sur une étude de 2009 à Detroit, Michigan, USA, chez des patients hémodialysés ont été isolés par écouvillonnage nasal : 33% de SA, 22% pour le SARM et 8% de SARM-C et dans le personnel médical et paramédical qui sont en charge de ces patients ont été trouvés : 31% de SA, 7% de SARM et 2% de SARM-C. Il y a donc un fort taux de colonisation par SA de la population dialysée et des travailleurs de santé (108). En comparant les données cliniques des patients colonisés à SARM-C et à SARM-H on peut dégager un taux d'insuffisance cardiaque congestive plus élevé chez les patients à SARM-C (108).

Aux USA, la mortalité à 12 semaines est plus importante pour les patients ayant une bactériémie à SARM-C que ceux ayant une bactériémie à SARM-H (106). A Taiwan, a été trouvée une durée de dialyse plus longue avant une bactériémie à SARM-C qu'à SARM-H (ce dernier étant associé à un antécédent d'hospitalisation dans l'année précédente) (109).

En ce qui concerne l'Europe : le premier cas de bactériémie à SARM-C à été rapporté en 2008 chez un patient dialysé. Il s'agissait d'une bactériémie dont le point de départ était une escarre sacrée (110). Le SARM isolé était de SCC*mec* type V (habituellement trouvé en Amérique du Sud et en Australie) ce qui n'est pas classique car en Europe on a le plus souvent SCC*mec* type IV

(ST80)(110). Ce cas clinique d'une bactériémie à point de départ cutané témoigne de l'extension du spectre des infections à SARM-C classiquement responsables d'infections de la peau et des tissus mous et de pneumonies nécrosantes à SA. Mais aussi, cela met en évidence la mobilité du complexe SCCmec et les possibilités d'extension aux autres continents.

Dans l'étude de Koziol-Montewka M *et al.* en Pologne, est présentée une diminution du portage de SA entre 1998 et 2004 mais la seule souche de SARM isolée en 2004 (soit 8%) est une souche communautaire (103).

#### 8.5. Les données françaises

En 2001, 281 centres de dialyse, contre 218 en 1994 prenaient en charge des patients atteints d'IRC, complétés par 510 unités d'autodialyse. Trois millions huit cent mille séances d'hémodialyse ont été effectuées en France métropolitaine, soit une hausse annuelle moyenne de 3,8 % sur deux ans. La part des hémodialyses réalisées en centre reste majoritaire avec 69 % des patients et 68 % des séances, mais la part de l'autodialyse s'accroît rapidement, de 17 % des séances d'hémodialyse en 1995 à 29 % en 2001, d'après le rapport n°327 de la DREES (Direction de la Recherche, des études, de l'évaluation et des statistiques, <http://www.sante-sports.gouv.fr/la-prise-en-charge-de-l-insuffisance-renale-chronique.html>). Avec une prévalence brute en 2003 estimée à 513 personnes dialysées pour 1 million d'habitants en moyenne nationale avec une moyenne métropolitaine de 498 personnes dialysées pour 1 million de d'habitants et une moyenne d'âge à 63 ans (111). L'hémodialyse concerne en France un nombre croissant de malades : estimés à 20 000 en 1995, on aboutit à un total de 29 156 en France métropolitaine en juin 2003 d'après le rapport n°327 de la DREES.

Les infections sur les cathéters de dialyse sont le problème infectieux majeur. Dans leur publication, Jean *et al.* rapportent une prévalence locale variant de 6 à 63% et sur les publications de 1985 à 2001, l'incidence varie de 1 à 20% (112).

En 1998 : le staphylocoque est le germe principal des bactériémies chez les patients hémodialysés dans plus de 2/3 des cas avec une prédominance des SA (environ 60%) par rapport aux SCN (113). De 1994 à 1998, il est noté une proportion de 55% de bactériémie à SA sur l'ensemble des bactériémies dans l'étude de Jean *et al.* (114). En 2005 : le réseau DIALIN rapporte que 34% des bactériémies chez les hémodialysés étaient à SA (115).

Concernant le SARM chez les dialysés, les chiffres français semblent montrer une tendance à l'augmentation. De 1983 à 1989 on isole 11% de SARM dans les septicémies à SA chez les

hémodialysés (116), en 2005 : 20% de SARM sont isolés dans les bactériémies à SA et 50% dans les infections sur l'accès vasculaire (115).

Quelques études se sont intéressées aux facteurs de risque de bactériémie à SA. On peut distinguer des facteurs de risques liés au terrain du patient : le diabète (112,114,117,118), les antécédents de bactériémies (112,114,118), les antécédents d'infection à SA dans l'année précédente (115), l'immunodépression, l'augmentation du taux de fer sérique, l'âge, une albuminémie basse (112), HTA (118), l'athérosclérose, le portage nasal de SA (114), une mauvaise hygiène (119).

L'accès vasculaire est la principale porte d'entrée des bactériémies des hémodialysés (113). La voie d'abord de la dialyse influence beaucoup le taux d'infections à point de départ vasculaire : l'utilisation de cathéters comme voie d'abord est corrélée à un taux plus important d'infections que les fistules ou les prothèses (114,115,119). Le port d'un cathéter veineux central est un facteur de risque de bactériémie à Staphylocoque (117). Des facteurs de risque liés au cathéter sont individualisés tels que : durée d'utilisation longue, supérieure à 90 jours (112,114,118,119), les protocoles infirmiers en place, le type d'habillement du patient, la nutrition parentérale et l'expérience des infirmiers (ères) (112).

Ces facteurs de risque pour la plupart peuvent bénéficier de mesures préventives, principalement le respect des mesures d'hygiène et des règles d'asepsie strictes lors des manipulations du cathéter des patients présentant ces facteurs de risque (114,118-120).

La revue des publications de 1985 à 2001 de Jean *et al.* fait ressortir la colonisation cutanée comme un facteur de risque de colonisation du cathéter, constituant le premier pas vers la bactériémie (112). Le portage nasal chez les dialysés est estimé entre 30 et 35% autour de l'année 1995 (114,117), avec une incidence de bactériémie plus importante chez les porteurs que chez les non porteurs, mais la différence n'est pas significative (117).

L'antibioprophylaxie par mupirocine est controversée, mais un protocole de décontamination nasale comprenant : un traitement d'attaque d'une semaine suivi d'un traitement d'entretien semble efficace avec une recolonisation de la muqueuse par une flore commensale, une bonne tolérance du traitement et pas d'infection à 11 mois (120).

## Introduction à l'étude expérimentale

## 1. Hypothèse de recherche et résultats attendus

L'épidémiologie du SA dans la population hémodialysée s'est modifiée récemment dans la littérature internationale. La proportion de colonisations par SARM semble en diminution probablement grâce à la mise en place de mesures de prévention de ces souches dans cette population. Toutefois, on voit l'émergence au sein des souches de SARM, habituellement Hospitaliers de souches de SARM-Communautaires, cantonnées jusqu'à présent dans la population saine et dont l'agressivité et la virulence potentielle en font des souches qu'il est important de surveiller.

La France n'est pas épargnée par les infections à SARM-C. Des études de surveillance sont menées dans la population générale, ainsi que des études des souches isolées dans les laboratoires. De 1999 à 2002, Daube D *et al.* ont étudié les souches de SARM producteur de LPV de Côte d'Armor, le taux de SARM-C était de 61% (121). Au cours d'une étude au Centre National de Référence (CNR) des toxémies à *Staphylocoques*, Dufour P *et al.* ont collecté et étudié 14 cas d'infections à SARM-C sur une période de 18 mois, 11 étaient des infections cutanées, 2 sont décédés à la suite de pneumopathies nécrosantes et 1 cas était une pleurésie chez un enfant, toutes les souches étaient productrices de LPV (64). Deux études, l'une multicentrique et l'autre sur un réseau de laboratoires d'analyses médicales privés, centralisées au CNR *Staphylocoque* ont montré la prédominance du clone Lyon ST8-IV en France (69,4-80,6%), le clone ST80 européen étant isolé dans quelques cas (1-3,6%) (83,84).

Il n'y a pas de données françaises référencées sur le SARM-C concernant sa prévalence ou les manifestations cliniques dans la population dialysée, ni de données comparatives avec d'autres populations.

Notre projet propose d'élargir le dépistage des porteurs de SA qui est déjà mis en place dans le service d'hémodialyse du CHU de Limoges. Des prélèvements d'écouvillonnage des fosses nasales antérieures et de l'orifice de l'accès vasculaire, si des signes d'inflammation cutanée sont présents, sont réalisés chez les patients hémodialysés. S'il est isolé un SA à la mise en culture des prélèvements, alors le service met en place un protocole de décontamination nasale par mupirocine. Notre projet propose de déterminer la prévalence du portage nasal, oropharyngé et cutané de SA dans la population dialysée du CHU de Limoges et de l'association de dialyse de proximité du Limousin, l'ALURAD (Association Limousine pour l'Utilisation du Rein Artificiel à Domicile). Nous nous servons du dispositif de dépistage du SA étant déjà mis en place dans le service d'hémodialyse pour recueillir les prélèvements nécessaires à l'étude. Un entretien aura lieu

avec les patients pendant la dialyse. Cet entretien permettra d'obtenir quelques renseignements cliniques (antécédents médicaux du patient, la voie d'abord vasculaire et le type de dialyse) ainsi que d'effectuer les prélèvements de portage de SA. En accord avec les données des publications sur le portage de SA dans la population générale et dans la population dialysée, trois prélèvements seront faits : des fosses nasales antérieure, de l'oropharynx et de l'orifice de la voie d'abord de dialyse, auquel sera ajouté un prélèvement des effractions cutanées éventuelles.

Les échantillons seront recueillis par écouvillonnage superficiel et après une mise en culture à la recherche de SA, on effectuera sur les souches isolées une recherche de résistance à la méticilline (antibiogramme et recherche du gène *mecA* si résultat de l'antibiogramme douteux). Les souches seront comparées entre elles par électrophorèse en champs pulsés (ECP). Enfin pour son intérêt dans la différenciation entre les souches de SARM-C et SARM-H, une recherche du gène de la leucotoxine de Pantone-Valentine (LPV) par PCR en temps réel sera effectuée.

Ce projet permettra de déterminer une prévalence du portage de SA et de SARM-C PVL positif ou négatif au sein de notre population d'hémodialysés et de comparer les souches isolées.

## 2. Justification des choix méthodologiques

Il s'agit d'une étude d'observation, descriptive, transversale, concernant une population locale, en monocentrique, dont le but est de déterminer une prévalence du portage de SA et de SARM-C PVL positif ou négatif au sein d'une population de patients dialysés et de comparer les souches isolées afin d'en étudier la transmission. Pour cela nous proposons avec l'aide de l'équipe soignante des structures concernées (hémodialyse et ALURAD) d'organiser un entretien avec les patients au cours de leur dialyse habituelle et ainsi de prélever l'ensemble des patients dialysés. L'analyse du portage de SARM en fonction de l'unité de dialyse et des données de l'électrophorèse en champs pulsés permettra d'étudier la transmission des souches de SARM. L'entretien avec le patient permet de recueillir des informations cliniques sur les facteurs de risque de portage du SA afin d'analyser et de comparer le portage de SA en fonction de ces facteurs et de réaliser des prélèvements des fosses nasales, oropharyngé, de l'orifice de cathéter et des lésions cutanées éventuelles par écouvillonnage afin de mettre en évidence de façon la plus sûre possible un portage de SA.

Un isolement par culture sur milieu solide après enrichissement en bouillon des souches de SA sera réalisé. On déterminera la sensibilité des souches à la méticilline selon les recommandations du CA-SFM de 2010 et on effectuera une comparaison des souches par ECP ainsi qu'une recherche du portage de la LPV. Nous déterminerons ainsi le portage de SA et de SARM dans notre échantillon

et différencierons les souches communautaires des souches hospitalières en combinant les données cliniques et biologiques.

### 3. Rapport bénéfice / risque

Il n'y a pas de risque individuel prévisible du fait de la non-invasivité des prélèvements réalisés, ainsi que des faibles contraintes imposées au patient (un seul entretien au cours de sa dialyse habituelle). Les bénéfices individuels sont eux aussi limités. Cependant, les bénéfices collectifs en termes de santé publique sont importants, en effet, il s'agit de données qui sont peu étudiées en France en ce qui concerne le SARM-C et peuvent permettre de faire un point sur la situation du portage de SARM et de SARM-C dans la population d'hémodialysés du CHU de Limoges et de l'association de dialyse de proximité du limousin, l'ALURAD. On évaluera ainsi les mesures préventives médicales, d'hygiène et d'éducation des patients qui sont déjà mis en place.

### 4. Retombées attendues

Une étude statistique descriptive des informations cliniques et des données biologiques obtenues permettra de faire un état des lieux du portage de SA et SARM chez les patients dialysés du Limousin.

### 5. Objectifs

#### 5.1. Objectif principal

Déterminer la prévalence du portage nasal, oropharyngé et cutané de SA ainsi que de leur sensibilité à la méticilline, dans la population d'hémodialysés et de dialysés péritonéaux du CHU de Limoges et de l'ALURAD.

#### 5.2. Objectifs secondaires

1/ Comparer les prévalences de portage obtenues en fonction du type de dialyse effectué par le patient, du type d'abord vasculaire et des antécédents médicaux du patient.

2/ Déterminer la proportion des souches porteuses du gène de la toxine de Panton-Valentine au sein des porteurs de SARM et de SASM.

3/ Comparer génétiquement les souches de SARM afin de déterminer une clonalité.

## 6. Schéma de l'étude

Il s'agit d'une étude d'observation, descriptive, transversale, concernant une population locale, en monocentrique. Il est réalisé sur l'ensemble de la population de patients dialysés du CHU de Limoges et de l'ALURAD :

- Prélèvement des échantillons biologiques au cours de la dialyse habituelle du patient : prélèvements locaux au moyen d'écouvillonnages nasal, oropharyngé et cutané (orifice d'abord de dialyse) et si le patient est porteur de lésions cutanées, écouvillonnage de celles-ci.
- Recueil de données cliniques auprès du médecin en charge du patient dialysé.
- Analyse bactériologique effectuée au laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU de Limoges. La démarche se fait en plusieurs étapes :
  - a/ Identification par culture de SA.
  - b/ Mise en évidence de la méticillino-résistance : la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées sera testée selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). Lorsque le test phénotypique est douteux, une recherche du gène *mecA* codant la résistance à la méticilline est effectuée par PCR en temps réel.
  - c/ Une étape de biologie moléculaire sur les souches de SA permet de mettre en évidence les souches porteuses de la LPV et de typer les souches de SARM obtenues par ECP afin d'étudier leur clonalité.

La description de la procédure est détaillée sur le schéma suivant (Figure 4).

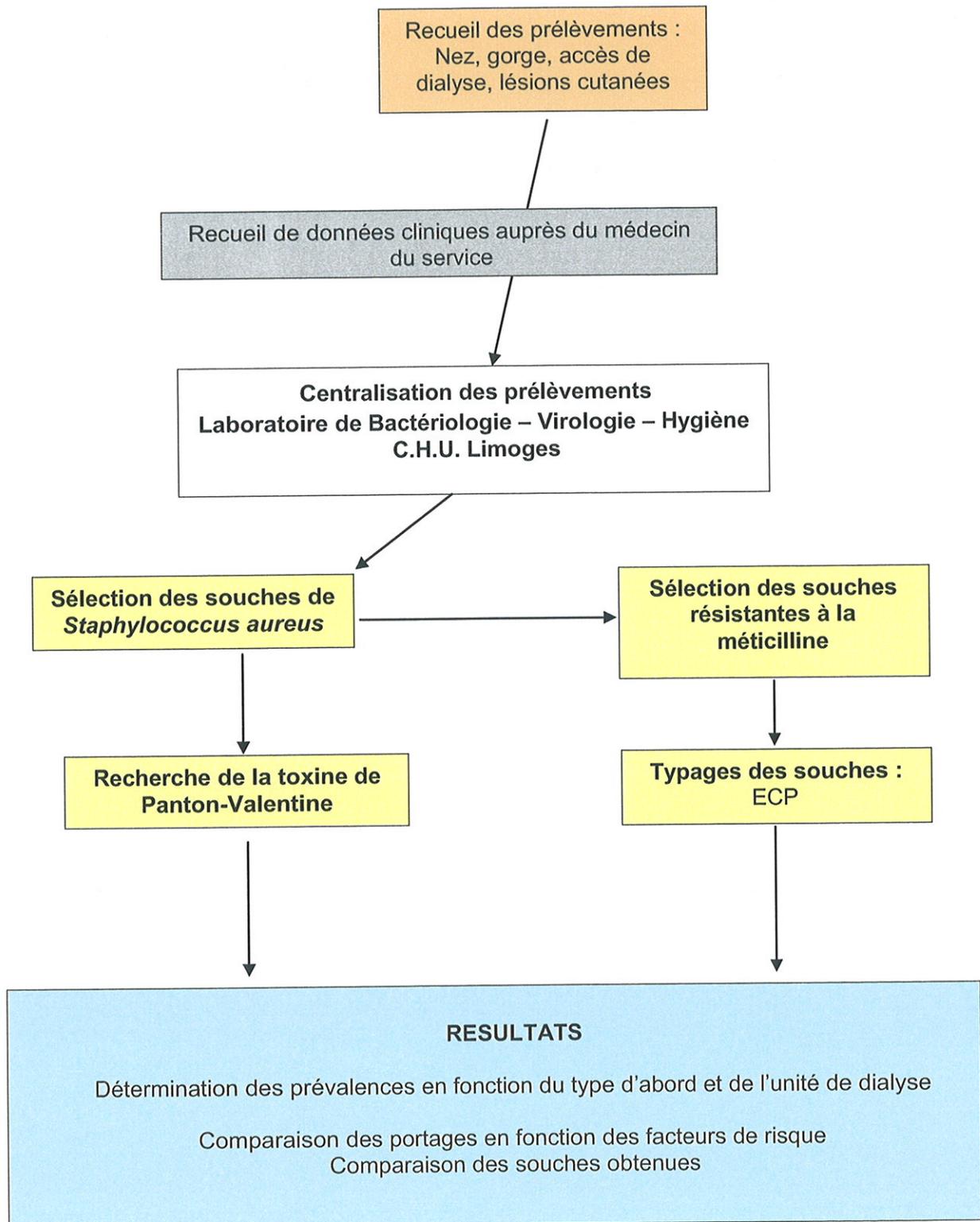


Figure 4 : Schéma général PSAD.

## Matériel et méthodes

## 1. Matériel

### 1.1. Durée de l'étude

Les patients ont été inclus sur une période de 2 mois et demi, du 2 juin 2010 au 19 août 2010.

### 1.2. Population

Le recrutement des patients a été effectué dans le service d'hémodialyse du CHU de Limoges et la structure de l'ALURAD de Limoges.

Dans ces deux structures, les patients en cours d'hémodialyse viennent plusieurs fois par semaine, et l'ensemble des patients suivis est admis dans le service sur 4 demi-journées au sein du service d'hémodialyse, des deux unités de Limoges de l'ALURAD : le centre de Buisson et l'unité de dialyse médicalisée de Schoelcher (auxquelles on a ajouté 1 soirée de prélèvement des patients dialysés la nuit à Schoelcher) et de l'unité de dialyse médicalisée de Guéret de l'ALURAD. On peut différencier les patients suivis dans le service d'Hémodialyse et au centre de Buisson de l'ALURAD qui sont des patients ayant un terrain fragilisé et nécessitant une surveillance médicale permanente au cours de la dialyse, des patients hémodialysés dans les unités de dialyse médicalisée de Schoelcher et de Guéret qui sont des patients en meilleur état général et ne nécessitant pas la présence permanente d'un médecin au cours de la dialyse.

Les patients en cours de dialyse péritonéale sont vus en consultation mensuelle au centre de Buisson de l'ALURAD. L'inclusion des patients dialysés péritonéaux a eu lieu au cours de ces consultations. La dialyse péritonéale est proposée aux patients qui sont les plus autonomes et qui sont aptes à gérer à domicile leur dialyse. Ce sont ceux qui sont le moins médicalisés.

La participation à l'étude a été proposée à tous les patients de ces structures, en cours de dialyse. A tout moment, les patients pouvaient refuser un ou plusieurs prélèvements, ou refuser de participer à l'étude.

### 1.3. Prélèvements bactériologiques et recueil de données

Cette première phase est réalisée en collaboration avec les médecins en charge des patients dialysés. Elle consiste à recruter les patients, réaliser des prélèvements et recueillir les données démographiques et cliniques.

#### 1.3.1. Echantillon

Le recueil des échantillons a été effectué sur des écouvillons stériles, au moment de la dialyse. Il a été réalisé au minimum un écouvillonnage des fosses nasales antérieures et de l'oropharynx. Si le patient était porteur d'un cathéter de dialyse au moment du prélèvement, un écouvillonnage de l'orifice de cathéter a été réalisé. Si le patient présentait au moment du prélèvement des lésions cutanées, il a été réalisé un prélèvement par écouvillonnage de chaque lésion. En raison de ses capacités de résistance au froid et à la dessiccation, SA ne nécessite pas de milieu de transport particulier.

#### 1.3.2. Questionnaire

Les données démographiques et cliniques ont été recueillies au moyen d'une fiche de renseignements, qui était complétée avec l'aide du médecin en charge des patients (voir questionnaire page suivante). Les informations recueillies portaient sur des données démographiques : âge, sexe, taille, poids ; et sur des données cliniques concernant la dialyse (type de dialyse, voie d'abord, date de début de dialyse), les antécédents infectieux dans l'année précédente et d'autres facteurs de risque associés au portage de SA.

## Surveillance du portage de *Staphylococcus aureus* dans la population de patients dialysés du CHU de Limoges

FICHE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

N° Screening :  _ _ _ _	Etiquette du patient :	N° sigma : Nom : Prenom : Né(e) le :
Date du Recueil :  _ _ / _ _ / _ _ _ _  (jj/mm/aaaa)		

Sexe : F  M       Taille : |\_|\_|\_| cm      Poids : |\_|\_|\_| Kg

### RENSEIGNEMENT SUR LA DIALYSE

- **Hémodialyse**       **dialyse péritonéale**
- Type d'abord : cathéter  fistule
- Date de début de dialyse : |\_|\_|/|\_|\_|/|\_|\_|\_|\_| (jj/mm/aaaa)

### ANTECEDENTS

- Hospitalisations dans l'année précédente (autre que dialyse):  

<1 <input type="checkbox"/>	1 à 3 <input type="checkbox"/>	3 à 5 <input type="checkbox"/>	> 5 <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--------------------------------	--------------------------------	------------------------------

 Combien de durée supérieure à 14 jours : |\_|\_|
  
- Pathologies infectieuses dans l'année précédent le questionnaire :

↪ Tunellite :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	
↪ Péritonite :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	
↪ Infection sur cathéter :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	
↪ Lésions cutanées :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	
superficielles :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	
abcès :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Si oui, localisation : .....
autre :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Si oui, précisez : .....
  
- Autres facteurs de risque :

↪ Hypertension artérielle :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
↪ Diabète :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
↪ Traitement immunosupresseur :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
↪ Autre : .....		
.....		

## 2. Méthodes

La première partie de notre travail consiste en une approche bactériologique classique avec la mise en culture des prélèvements réalisés, l'isolement des souches de SA et la détermination de leur sensibilité à la métilcilline. La deuxième partie de notre travail aborde des aspects de biologie moléculaire et d'épidémiologie avec la détection sur toutes les souches isolées du gène de la toxine de Pantone-Valentine et la recherche de relations de clonalité chez les souches de SARM par typage par électrophorèse en champs pulsés.

La méthodologie adoptée est résumée dans la Figure 5.

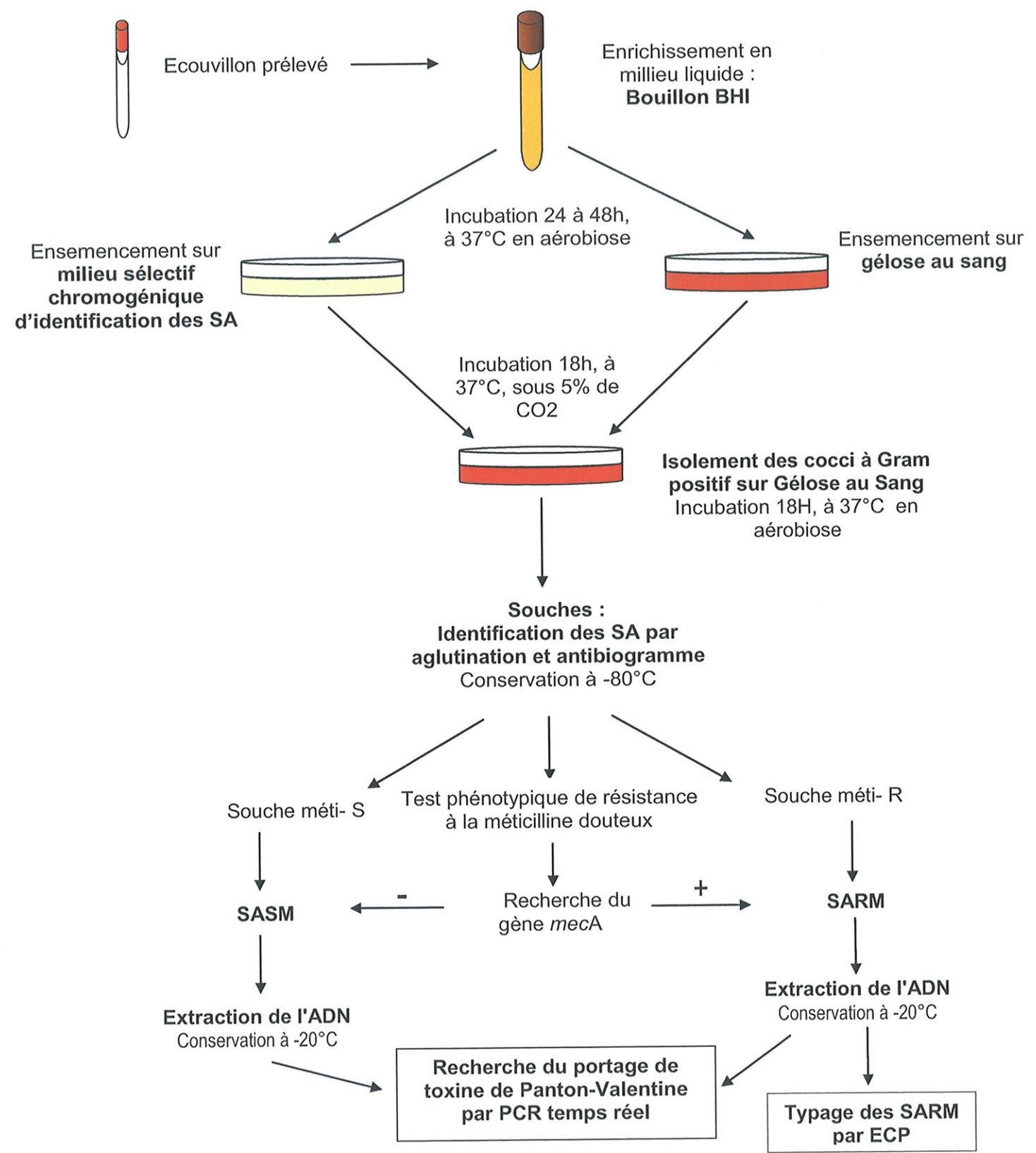


Figure 5 : Protocole de traitement des prélèvements.

## 2.1. Approche bactériologique classique

Dès réception, le prélèvement a été ensemencé en milieu liquide d'enrichissement et mis en incubation à 37°C en aérobiose.

Ensuite, le milieu d'enrichissement était repiqué sur des milieux solides permettant l'isolement des souches de SA. Après incubation, les SA étaient identifiés par leur aspect sur milieu chromogène avec confirmation par un test de mise en évidence de la coagulase.

Une fois les souches sélectionnées, elles étaient conservées congelées à -80°C. L'ADN de ces souches a été extrait en prévision des analyses de biologie moléculaire.

### 2.1.1. Enrichissement

Le milieu d'enrichissement utilisé était un bouillon cœur-cerveille (ou BHI pour Brain-Heart Infusion) (Brain Heart Infusion Broth, AES) de 5 mL Ce milieu non sélectif, riche, permet la croissance de germes non fermentant comme les cocci à Gram positif (Staphylocoques et Streptocoques), mais aussi de bacilles à Gram négatif de type entérobactérie ou du genre *Pseudomonas*.

### 2.1.2. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus*

Pour isoler les souches de SA à partir du bouillon BHI, nous avons dans un premier temps, ensemencé 10µL du bouillon sur gélose Columbia additionnée de 5% de sang de mouton (Oxoïd) et sur milieu sélectif chromogène pour détection de SA (SAID®, Biomérieux). Le milieu Columbia additionné de 5% de sang de mouton est un milieu non sélectif qui permet la croissance des cocci à Gram positif. Après 24h d'incubation en aérobiose, à 37°C, les colonies de SA sont de taille variable (1 à 3mm), circulaires, opaques, légèrement bombées ou aplaties, de couleur blanche ou grisâtre à jaune et peuvent être responsables d'une bêta-hémolyse de la gélose plus ou moins importante et de taille plus ou moins grande. Sur milieu chromogène SAID®, après 48h d'incubation en aérobiose, à 37°C, les colonies de SA forment des colonies de couleur vert bouteille par l'hydrolyse d'un substrat chromogénique par l' $\alpha$ -glucosidase. Les autres *Staphylococci* forment des colonies de couleur blanches ou occasionnellement rose ou mauve (d'après la notice technique de Biomérieux).

### *2.1.3. Identification des souches de Staphylococcus aureus*

La sélection des souches de cocci à Gram positif d'intérêt repose sur l'examen de la morphologie des colonies, la coloration de Gram et la positivité du test de la catalase. L'identification des souches de SA repose sur la couleur des colonies sur le milieu chromogène et la positivité du test d'agglutination de la coagulase (Pastorex®, Fumouze). S'il existe une discordance entre le milieu chromogène et le test d'agglutination, une confirmation de l'identification a été faite grâce à l'automate d'identification utilisé en routine au laboratoire de Bactériologie du CHU, Vitek II (Biomérieux), à l'aide de la carte GP 21342, utilisée selon les recommandations du fabricant.

### *2.1.4. Sensibilité des souches à la méticilline*

La détermination de la sensibilité des souches a été effectuée grâce à la technique de diffusion en milieu gélosé sur milieu de Mueller-Hinton (Mueller-Hinton 2, bioMérieux), dite « méthode des disques », selon les recommandations 2010 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM : <http://www.sfm.asso.fr/nouv/general.php?pa=2>). La sélection des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline, conformément aux recommandations 2010 du CA-SFM, a été réalisée au moyen d'un disque de moxalactam déposé sur l'antibiogramme. Les souches pour lesquelles le diamètre d'inhibition du moxalactam est < 23 mm sont considérées résistantes, celles dont le diamètre est  $\geq$  à 24 mm sont considérées sensibles. Quant aux souches comprises entre ces 2 diamètres (= 23 mm), elles sont considérées comme de sensibilité douteuse, on détermine la résistance à la méticilline par la mise en évidence par PCR en temps réel du gène *mecA*.

### *2.1.5. Conservation des souches*

Après 24 heures de culture, les souches sont conservées sur cryo-billes à -80°C (cryo-billes, AES).

## 2.2. Approche biologique moléculaire

### *2.2.1. Extraction d'ADN*

L'ADN des souches de SA isolées a été extrait grâce au coffret QIAamp® DNA Mini Kit (Quiagen), selon les recommandations du fabricant. Les ADN extraits ont été conservés à -80°C.

### 2.2.2. Contrôle de l'extraction

L'extraction d'ADN grâce au coffret QIAamp® DNA Mini Kit (Quiagen) est très fiable et pour des raisons pratiques, de rapidité et de moindre coût, nous n'avons pas effectué de contrôle d'extraction sur les ADN extraits grâce à ce coffret.

### 2.2.3. Mise en évidence des gènes *mecA* et du gène de la leucotoxine de Panton-Valentine

La mise en évidence du gène *mecA* sur les souches de SA de sensibilité douteuse à la méticilline ainsi que la présence du gène de la leucotoxine de Panton-Valentine (LPV) ont été effectuées selon les procédures de routine mises en place au laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène du CHU. Des amorces spécifiques des gènes sont utilisées pour amplifier un fragment d'ADN par PCR en temps réel, grâce à un automate SmartCycler™ II version 2.0 (Cepheid) à l'aide de la chimie SYBR™ Green I. Le SYBR™ Green I est un agent intercalant qui se lie à l'ADN bicaténaire tout en étant dénué de toute action inhibitrice sur l'amplification. Dans les réactions de PCR en temps réel, l'incorporation de cet agent dans un ADN double brin s'accompagne d'une augmentation du signal fluorescent mesuré par le SmartCycler™ II pour détecter l'amplification. Le signal fluorescent augmente proportionnellement à la quantité de produits amplifiés. L'acquisition de la fluorescence est réalisée une fois par cycle, juste après la fin de l'élongation par la polymérase.

Le mélange réactionnel utilisé est commercialisé prêt à l'emploi, sous le nom de SYBR® *Premix ex Taq*™ (TAKARA), et contient les réactifs nécessaires à la réalisation de l'amplification en temps réel (désoxyribonucléotides, MgCl<sub>2</sub>, *Hot Start*® Taq DNA polymérase®, SYBR™ Green I). Le gène d'intérêt est amplifié à partir de 5µL de l'ADN total extrait des souches de SA, dans un volume réactionnel de 25µL, en présence de 12,5µL de SYBR® *Premix ex Taq*™ (TAKARA), contenant le SYBR™ Green I et de 0,5µL de chaque amorces (sMECA1 et sMECA2) préparées à une concentration de 20µM. Les amorces utilisées sont détaillées dans le Tableau 3 et le Tableau 4. A la fin des cycles, le programme comporte la réalisation de la courbe de fusion (*melting-curve*) avec l'enregistrement du signal de fluorescence sur un gradient de température dépendant du T<sub>m</sub> des fragments amplifiés, selon une rampe de 0,2°C par seconde. La lecture des résultats se fait par analyse de la courbe de fusion des fragments amplifiés (*melting-curve analysis*) : cette courbe représente la dissociation des deux brins d'ADN selon un gradient de température. Pour tout fragment d'ADN bicaténaire, il existe une température (*melting temperature*, T<sub>m</sub>) pour laquelle 50% des fragments se dissocient. L'analyse de la courbe de fusion permet de différencier le produit d'intérêt d'éventuels dimères d'amorce et de produits non spécifiques qui ont un T<sub>m</sub> différent. Pour faciliter la lecture, on utilise la première dérivée négative de la courbe de fusion qui définit un pic (*melting peak*) correspondant au T<sub>m</sub>.

### 2.2.3.1. mecA

Nous avons amplifié un fragment de *mecA* dont le point de fusion ( $T_m$ ) est de  $79^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ$ , d'une taille attendue de 222 pb. Les amorces utilisées, sMECA1 et sMECA2 (122), sont détaillées dans le Tableau 3. L'amplification comporte une initiation de 600 secondes à  $37^\circ\text{C}$  puis 5 secondes à  $95^\circ\text{C}$ , suivie de 40 cycles incluant une dénaturation de 15 secondes à  $95^\circ\text{C}$ , une hybridation de 30 secondes à  $55^\circ\text{C}$  et une élongation de 30 secondes à  $72^\circ\text{C}$ . A la fin des cycles, la courbe de fusion (*melting-curve*) est enregistrée sur un gradient de température allant de  $70^\circ\text{C}$  à  $95^\circ\text{C}$ .

Cible	Amorce	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille	Références
<i>mecA</i>	sMECA1	5'- GCA ATC GCT AAA GAA CTA AG -3'	222 pb	Smyth <i>et al.</i>
<i>mecA</i>	sMECA2	5'- GGG ACC AAC ATA ACC TAA TA -3'		Smyth <i>et al.</i>

Tableau 3 : Amorces utilisées pour la recherche du gène *mecA* (122).

### 2.2.3.2. La Leucotoxine de Panton Valentine

Nous avons amplifié un fragment de *lukS*-PV – *lukF*-PV du gène codant pour la LPV, dont le point de fusion ( $T_m$ ) est de  $80,3^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$ , d'une taille attendue de 433 pb. Les amorces utilisées, PVL1 et NPVL2 (123), sont détaillées dans le Tableau 4. L'amplification comporte une initiation de 600 secondes à  $37^\circ\text{C}$  puis 20 secondes à  $95^\circ\text{C}$ , suivie de 40 cycles incluant une dénaturation de 10 secondes à  $95^\circ\text{C}$ , une hybridation de 20 secondes à  $56^\circ\text{C}$  et une élongation de 20 secondes à  $72^\circ\text{C}$ . A la fin des cycles, la courbe de fusion (*melting-curve*) est enregistrée sur un gradient de température allant de  $60^\circ\text{C}$  à  $95^\circ\text{C}$ .

Cible	Amorce	Séquence nucléotidique (5'-3')	Taille	Références
<i>lukS</i> -PV – <i>lukF</i> -PV	PVL1	5'- ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA -3'	433 pb	Jarraud <i>et al.</i>
<i>lukS</i> -PV – <i>lukF</i> -PV	NPVL2	5'- GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAAGC -3'		Jarraud <i>et al.</i>

Tableau 4 : Amorces utilisées pour la recherche des gènes *lukS*-PV – *lukF*-PV codant pour la LPV (123).

## 2.2.4. Typage des souches de SARM

### 2.2.4.1. Electrophorèse en champs pulsés (PGFE)

L'étude du polymorphisme de restriction de l'ADN total des souches de SARM isolées a été réalisée par la technique d'électrophorèse en champs pulsés de type CHEF DR III (contour-clamped

homogeneous electric field). Chaque colonie, isolée sur gélose Columbia additionnée de 5% de sang de mouton, a été mise en culture pendant 1 nuit dans 5 ml de bouillon cœur-cervelle (BHI pour Brain-Heart Infusion), à 37 °C. Après culture, il a été prélevé 1mL de bouillon BHI auquel a été ajouté 0,1 mL d'EDTA à 0,5M (acide éthylènediaminotétraacétique sel disodique). Après centrifugation (5 minutes à 3 500 tours/minute), le culot a été lavé dans 1 ml de tampon TNEE [10 mM Tris-base, 1M NaCl, 10 mM EDTA anhydre, 10 mM EGTA (pH 7,5)]. Après une nouvelle centrifugation (5 minutes à 3 500 tours/minute), le culot a été remis en suspension dans 100 µL de tampon de lyse EC [6 mM Tris-HCl, 1M NaCl, 100 mM EDTA anhydre, 0,5 % Brij 58, 0,2% désoxycholate de sodium, 0,5 % N-lauroylsarcosine (pH 7,6)]. Les blocs d'agarose ont été préparés à 55°C, par mélange (vol/vol) de cette suspension avec de l'agarose à 1,8 % (Incert agarose, TEBU) en tampon de lyse EC, additionné de 10µL de lysostaphine (Sigma) à 3 mg/mL. Le mélange a été transféré dans 2 moules pour préparation de plugs. Après solidification à température ambiante puis à + 4 °C des plugs, ceux-ci ont été incubés pendant 1 heure à 37°C dans le tampon de lyse EC. Puis le tampon de lyse a été remplacé par 1mL de tampon TE1 [10 mM Tris-base, 1 mM EDTA (pH 8)] additionné de 5µL de protéinase K à 20mg/mL. Le mélange a été incubé à 55°C pendant 1 heure. Les plugs ont ensuite été lavés pendant 1 nuit à 4°C dans 5 mL de tampon TE1. La digestion enzymatique de l'ADN total a alors été réalisée à l'aide de l'enzyme *Sma*I (Boehringer) par incubation des blocs à 37 °C pendant 1 heure 30 minutes dans 180 µL d'eau distillée, 20 µL de tampon de l'enzyme et 20 unités d'enzyme. Les blocs d'agarose contenant l'ADN bactérien digéré ont été lavés et conservés dans 1 ml de TE modifié [10 mM Tris-base, 20 mM EDTA (pH 8)] à 4°C. Un morceau du plug a été inséré dans des puits creusés dans un gel d'agarose à 0,8 % (FastLane agarose, TEBU) en tampon TBE 0,5X (Bio-Rad). Le marqueur de poids moléculaire (PGFE Marker I Boehringer Lambda Ladder, Boehringer) a aussi été inséré dans un des puits du gel après incubation à 50°C pendant 10 minutes. Les fragments de macrorestriction ont été séparés par électrophorèse en champs pulsés sur un appareil Genepath (BioRad), selon le programme recommandé par le fabricant pour *Staphylococcus aureus*, durant 20 heures, en tampon TBE 0,5X, à 14 °C. Les conditions de migration étaient les suivantes : temps de pulses variant de 5,3 à 34,9 secondes, angle de 120° et gradient de voltage de 6 V/cm. Après coloration avec du bromure d'éthidium, les fragments d'ADN ont été visualisés à l'aide d'un transilluminateur UV et photographiés (appareil photo numérique et logiciel d'importation et de traitement des photos sur ordinateur). L'interprétation des profils a été réalisée selon les critères de Tenover et al. (97) : nous avons considéré les souches comme identiques lorsqu'elles présentaient le même profil, proches quand il existait une différence de moins de 3 bandes et indépendantes au-delà de 3 bandes.

### 2.3. Analyses statistiques

L'analyse des liens statistiques entre les différents paramètres étudiés a été effectuée à l'aide du logiciel Stata™ 8.2 (StataCorp). Les comparaisons de moyennes ont été faites grâce au t-test de Student. Les comparaisons de proportions ont été faites grâce au test du  $\chi^2$ .

## Résultats

## 1. Population

Du 2 juin 2010 au 19 août 2010, 284 patients dialysés ont été prélevés, 97 patients du service d'Hémodialyse du CHU de Limoges et 187 patients de l'ALURAD. La population se compose de 177 hommes et 107 femmes, la moyenne d'âge est de 68,75 ans +/- 14,89 ans avec un minimum de 13 ans et un maximum de 100 ans. A l'ALURAD, nous avons prélevé 39 patients en cours de dialyse péritonéale et 148 patients en cours d'hémodialyse. Parmi les patients hémodialysés de l'ALURAD, 62 ont été prélevés au centre de Buisson, 55 dans l'unité de dialyse médicalisée de Schoelcher de jour et 7 de nuit et 24 dans l'unité de dialyse médicalisée de Guéret (voir Figure 6).

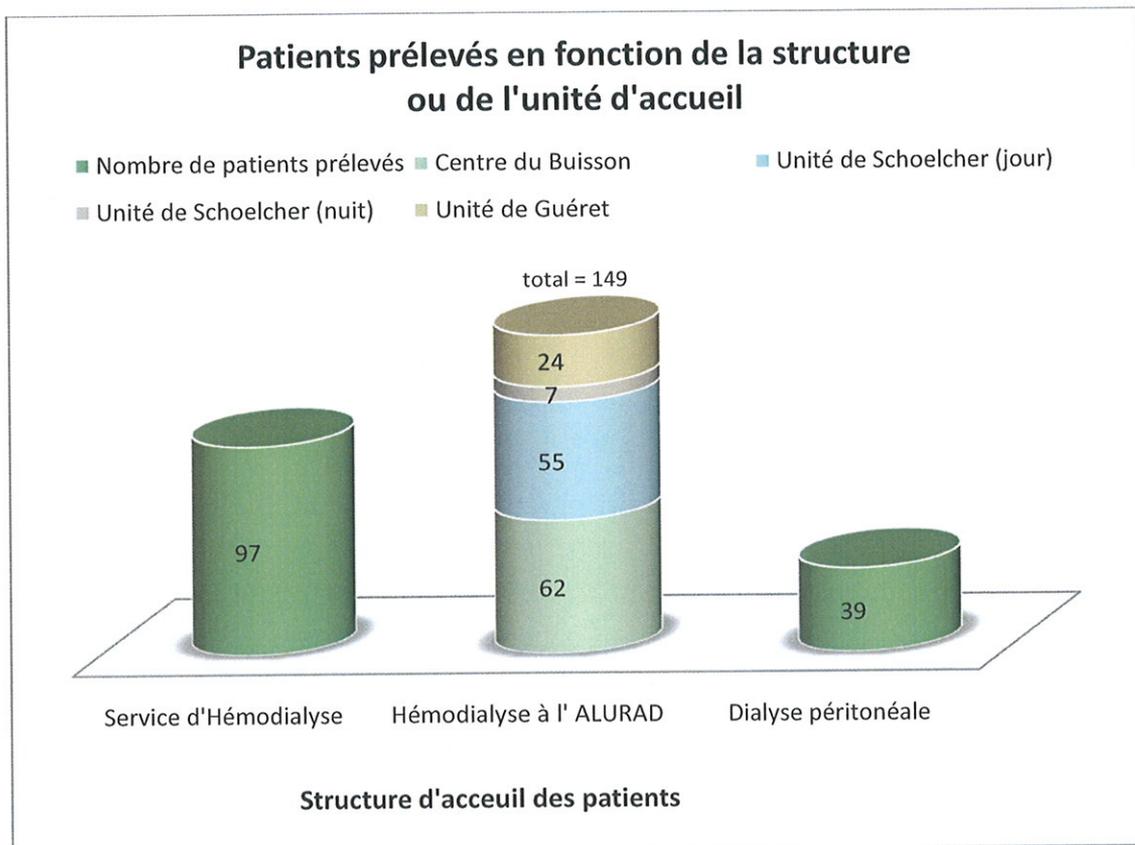


Figure 6 : Nombre de patients prélevés en fonction de l'unité ou structure d'accueil.

La répartition des voies d'abord de dialyse est représentée Figure 7. Les centres d'hémodialyse (service d'Hémodialyse et centre de Buisson de l'ALURAD) avaient une plus grande proportion de patients porteurs de cathéter (respectivement 52,6 % et 35,5 %).

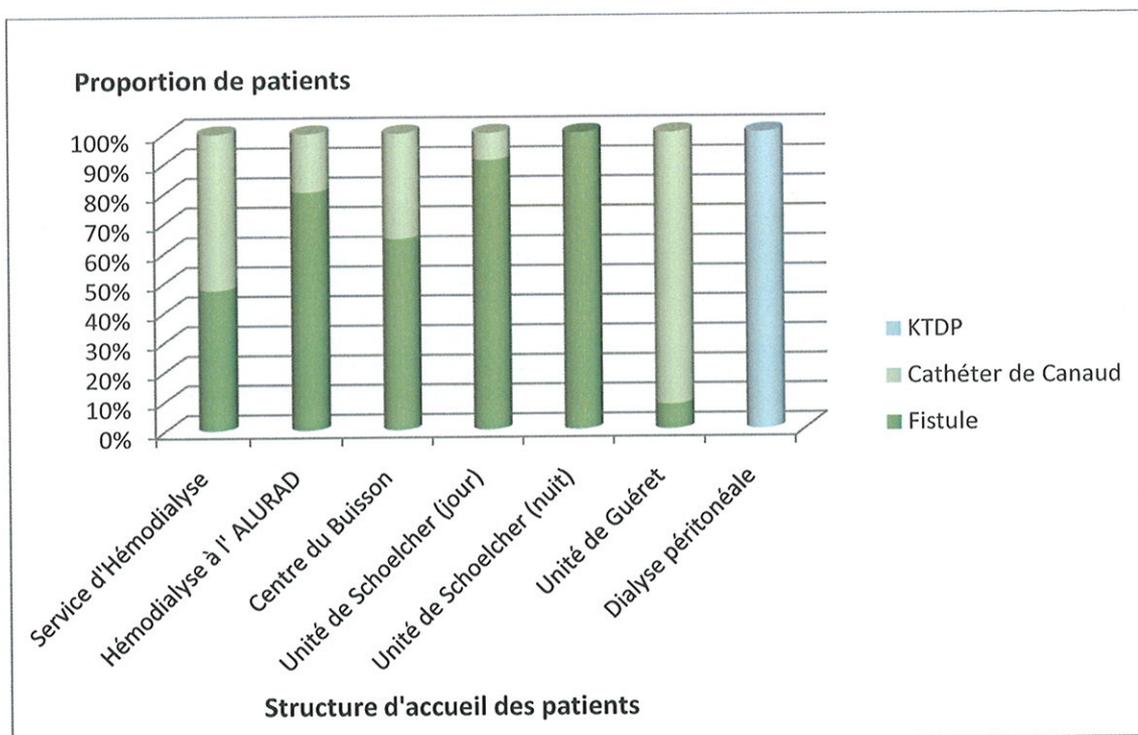


Figure 7 : Proportion des voies d'abord vasculaire des patients hémodialysés en fonction des différentes unités et structures d'accueil.

La quasi-totalité de notre population a été prélevée au moins en nasal et en oropharyngé. Nous avons réalisé :

- 283 écouvillonnages des fosses nasales (l'écouvillonnage manquant correspondant à une patiente de dialyse péritonéale dont le prélèvement est programmé au cours de sa prochaine consultation mais non encore réalisé),
- 282 écouvillonnages oropharyngés (les 2 manquants sont un refus de la part d'une patiente et un prélèvement programmé mais non encore réalisé),
- 79 écouvillonnages d'orifices de cathéter de Canaud (l'écouvillonnage manquant correspond à un refus de prélèvement),
- 37 écouvillonnages d'orifices de cathéter de dialyse péritonéale (KTDP) (les 2 manquants sont une patiente qui avait eu un retrait temporaire de son cathéter pour permettre la réalisation d'une hystérectomie et un prélèvement programmé mais non encore réalisé),
- 34 écouvillonnages de lésions cutanées chez 25 patients.
- En moyenne, il a été réalisé 2,52 prélèvements par patient (voir Figure 8).

## Prélèvements réalisés en fonction de la localisation

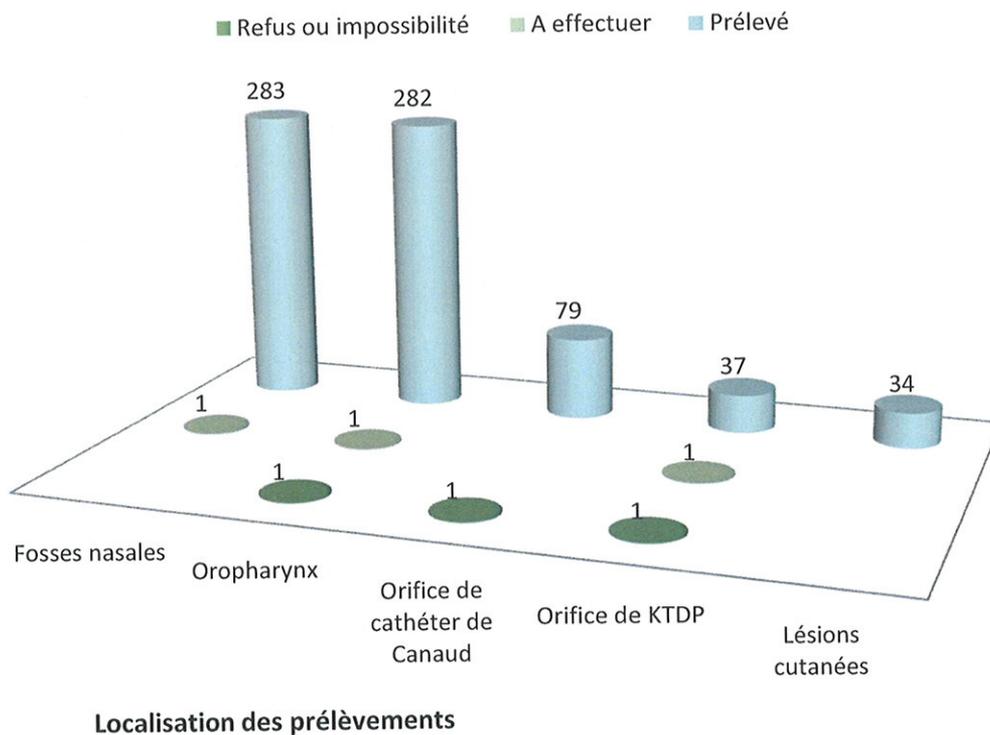


Figure 8 : Diagramme récapitulatif des prélèvements effectués en fonction de la localisation des prélèvements.

## 2. Approche bactériologique

Notre principe de sélection des souches d'intérêt a été le suivant :

- S'il a été cultivé des souches de SA ayant le même morphotype et la même sensibilité à la méticilline sur des localisations différentes pour un même patient, nous avons considéré que le patient portait une seule souche.
- S'il a été cultivé des souches de SA qui avaient soit un morphotype différent, soit une sensibilité différente à la méticilline, nous avons considéré que le patient portait plusieurs souches.

Au total nous avons réalisé 715 prélèvements chez les 284 patients. Nous avons isolé du SA dans 185 prélèvements (25,9%) chez 115 patients et nous avons cultivé 205 souches de SA (soit 1,1 souches par prélèvement) dont 41 souches de SARM.

Nous avons isolé du SA dans (voir Tableau 5) :

- 99 (35 %) prélèvements de fosses nasales (110 souches de SA, soit 1,14 souches par prélèvement dont 23 souches de SARM)
- 71 (25,2 %) prélèvements oropharyngés (74 souches de SA, 1,05 souches par prélèvement dont 11 souches de SARM)
- 7 (6 %) prélèvements d'orifices de cathéter (7 souches de SA, soit 1 souche par prélèvement dont 1 souche de SARM)
- 8 (23,5 %) prélèvements de lésions cutanées (9 souches de SA, soit 1,25 souches par prélèvement dont 6 souches de SARM)

Localisation	Prélèvements	Prélèvements + à SA	Souches de SA isolées	Prélèvements + à SARM	Souches de SARM isolées
Fosses nasales	283	99 (35 %)	110	22 (7,7 %)	23
Oropharynx	282	71 (25,2 %)	74	11 (3,9 %)	11
Orifice de cathéter	116	7 (6 %)	7	1 (0,9 %)	1
Lésions cutanées	25	8 (23,5 %)	9	5 (20 %)	6

Tableau 5 : Prélèvements effectués isolant du SA et du SARM.

### 3. Prévalence du portage

#### 3.1. Globale

Pour les 284 patients prélevés (sur au moins une localisation), nous avons cultivé du SA chez 115 patients (89 portaient du SASM et 24 portaient du SARM), soit un portage de SA de 40,5 % et de SARM de 8,4 %. Le taux de porteurs de SARM au sein des porteurs de SA était de 20,9 %.

Les portages de SA et de SARM dans le service d'Hémodialyse et à l'ALURAD sont détaillés dans la Figure 9. La différence de portage de SA ( $p = 0,2755$ ) entre ces deux structures n'est pas significative, mais la différence de portage de SARM ( $p = 0,0307$ ) est elle, statistiquement significative.

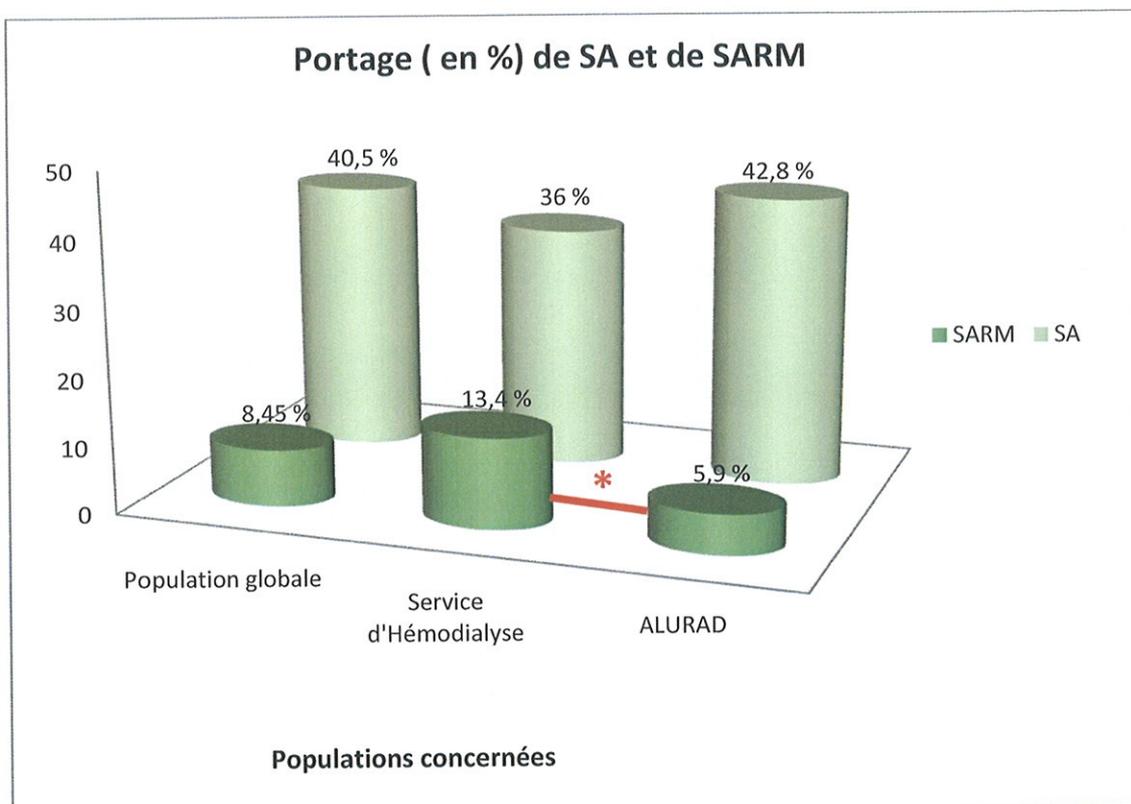


Figure 9 : Portage global de SA et de SARM, sur toute la population, dans le service d'Hémodialyse de CHU et à l'ALURAD. L'astérisque rouge indique une différence de portage statistiquement significative.

Le Tableau 6 résume le portage de SA et de SARM en fonction du nombre de prélèvements réalisés. Sur ces prélèvements, une partie ou tous les prélèvements ont permis d'isoler du SA. La tendance globale va dans le sens d'une augmentation de mise en évidence du portage, plus le nombre de localisations prélevées augmente. Les 2 patients pour lesquels ont été prélevés 6 localisations n'étaient pas porteurs de SA.

Nombre de prélèvements effectués au cours de l'entretien	Nombre de patient	Portage de SA	Portage de SARM
1	2	0	0
2	159	63 (39,6 %)	10 (6,3 %)
3	107	44 (41,1 %)	11 (10,3 %)
4	9	4 (44,4 %)	1 (11,1 %)
5	5	4 (80 %)	2 (40 %)
6	2	0	0

Tableau 6 : Portage de SA et de SARM, en fonction du nombre de prélèvements réalisés au cours de l'entretien avec le patient.

### 3.2. En fonction du prélèvement

Si l'on détaille le portage en fonction du lieu de prélèvement (voir Tableau 7), les prélèvements des fosses nasales semblent les plus performants pour isoler du SA (35 %). Les prélèvements oropharyngés et de lésions cutanées sont équivalents (25,2 % et 20 % de SA respectivement). En revanche, pour le portage de SARM, les prélèvements de lésions cutanées sont les plus performants (12 % de SARM isolés), suivis des prélèvements de fosses nasales (7,8 %), puis des prélèvements oropharyngés (3,9 %). Les prélèvements d'orifices de cathéters sont les moins performants, que ce soit pour le portage du SA ou du SARM. On peut détailler plus précisément, les prélèvements d'orifices de cathéters de dialyses péritonéale sont plus performants pour l'isolement de SA : 13,5 % contre 2,5 % pour les prélèvements d'orifices de cathéters de Canaud. Le seul SARM isolé sur les prélèvements d'orifices de cathéters l'a été sur KTDP (voir Figure 10).

Localisation de prélèvement	Nombre de prélèvements	Prélèvements + à SA	Prélèvements + à SARM
<b>Fosses nasales</b>	283	99 (35 %)	22 (7,8 %)
<b>Oropharynx</b>	282	71 (25,2 %)	11 (3,9 %)
<b>Orifice de cathéter</b>	116	7 (6 %)	1 (0,9 %)
Cathéter de Canaud	80	2 (2,5 %)	0
KTDP	37	5 (13,5 %)	1 (2,7 %)
<b>Lésions cutanées</b>	25	5 (20 %)	3 (12 %)

Tableau 7 : Prélèvements dont la culture était positive à SA ou SARM en fonction de la localisation. KTDP : cathéter de dialyse péritonéale.

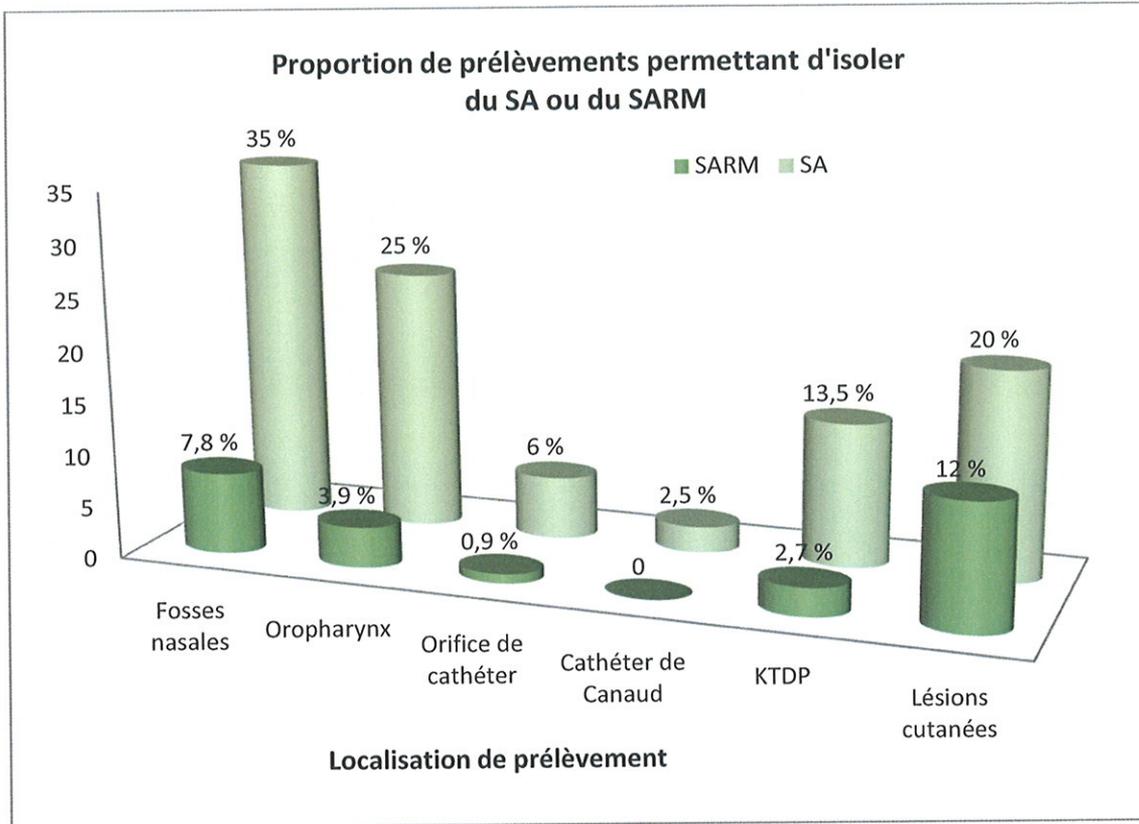


Figure 10 : Proportion de prélèvements permettant d'isoler du SA et du SARM en fonction de leur localisation.

Si l'on considère le nombre de patients porteurs de SA ou SARM (115 patients porteurs de SA et 24 de SARM), les prélèvements de fosses nasales ont mis en évidence 86 % des porteurs de SA et 91,7 % des porteurs de SARM (Figure 11). A noter que les prélèvements de lésions cutanées ont permis de dépister une proportion relativement importante de porteurs de SARM par rapport au nombre de prélèvements réalisés (25 prélèvements). En outre, l'association du portage de SA de la gorge, de l'orifice de cathéter et des lésions cutanées, non associé à un portage nasal représentait 16 patients soit 13,9 % des porteurs de SA non dépistés par les prélèvements de fosses nasales.

**Proportion des porteurs de SA et de SARM en fonction de la localisation sur l'ensemble des porteurs**

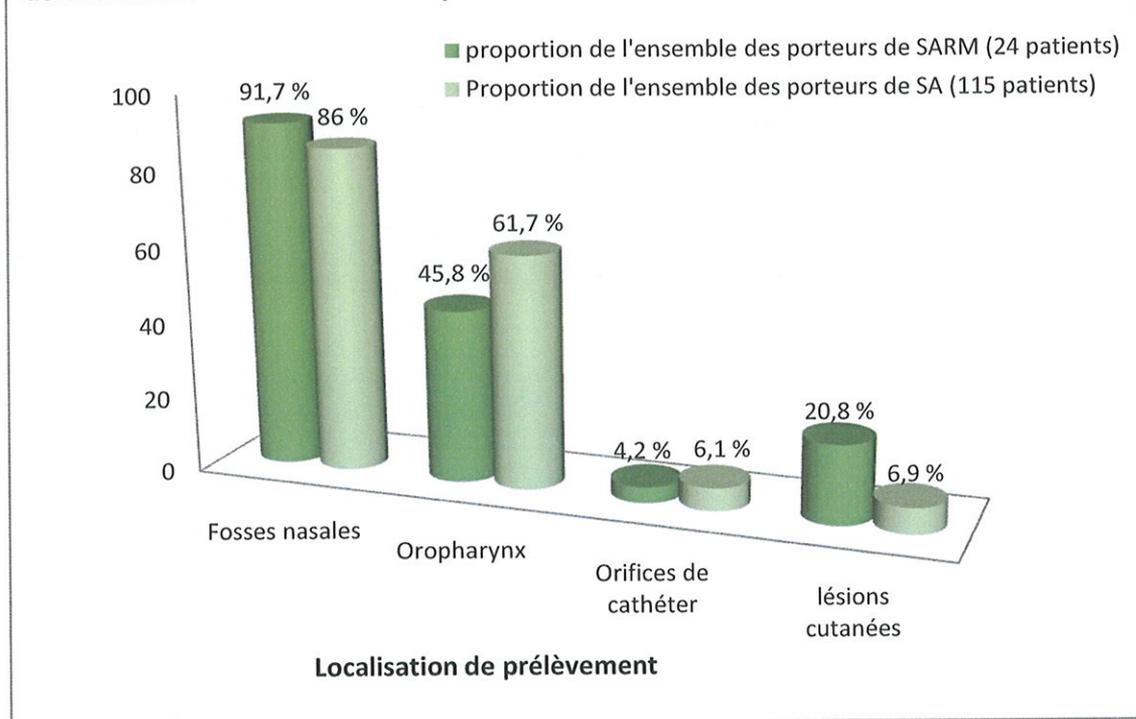


Figure 11 : Proportion des porteurs de SA et de SARM dépistés en fonction de la localisation de prélèvement.

En détaillant la proportion de portage de SA en fonction du nombre de localisation positive par patient dans notre population de porteurs de SA (115 patients) on trouve les résultats suivants :

- 44,3 % (51 patients) des patients étaient porteurs de SA sur une seule localisation (quel que soit le nombre de localisation prélevé)
- 53 % (61 patients) des patients étaient porteurs de SA sur deux localisations
- 2,6 % (3 patients) des patients étaient porteurs de SA sur trois localisations.
- Aucun patient ne portait du SA sur plus de 3 localisations parmi celles prélevées.

En détaillant maintenant dans notre population de porteurs de SARM (24 patients) :

- 41,6 % (10 patients) étaient porteurs de SARM sur une seule localisation (quel que soit le nombre de localisation prélevé)
- 54,2 % (13 patients) étaient porteurs de SARM sur deux localisations
- 4,2 % (1 patients) étaient porteurs de SARM sur trois localisations

Si l'on distingue dans notre population générale (284 patients) le portage sur localisation unique par type de localisation, on trouve les résultats suivants:

- le portage de SA uniquement dans le nez concernait : 13 % (37 patients) des patients et le portage de SARM uniquement dans le nez concernait : 3,2 % (9 patients) des patients.
- Le portage de SA uniquement dans la gorge concernait : 3,9 % (11 patients) des patients et il n'a pas été mis en évidence de portage de SARM uniquement dans la gorge.
- Le portage de SA uniquement sur l'orifice de cathéter concernait : 0,3 % (1 patient) et il n'a pas été mis en évidence de portage de SARM uniquement sur l'orifice de cathéter.
- Le portage de SA uniquement sur des lésions cutanées concernait : 0,7 % (2 patients) des patients de la population globale et le portage de SARM uniquement sur les lésions cutanées concernait : 0,3 % (1 patient) des patients (voir Figure 12 à Figure 15).

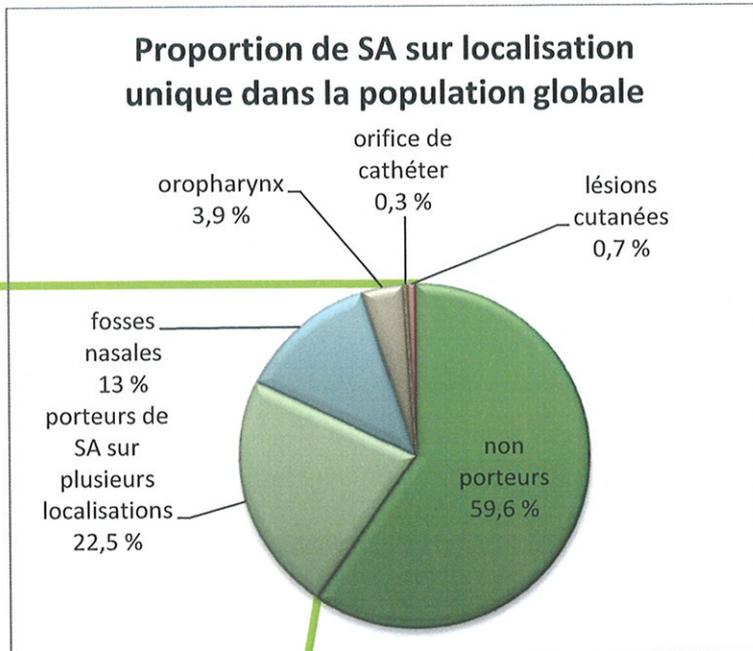


Figure 12 : Proportion du portage de SA sur localisation unique en fonction des localisations de prélèvement, dans la population générale.

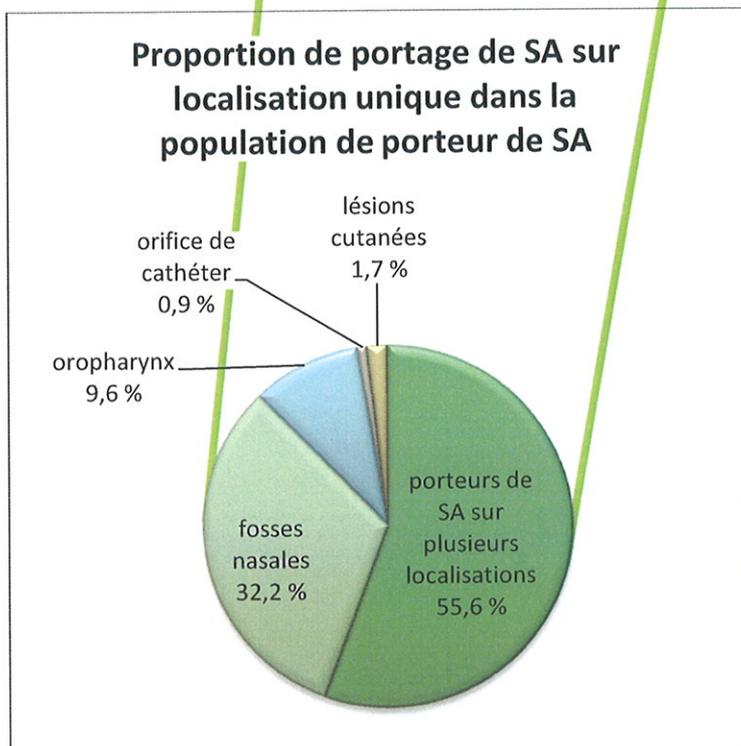


Figure 13 : Proportion du portage de SA sur localisation unique en fonction des localisations de prélèvement, dans la population de patients porteurs de SA.

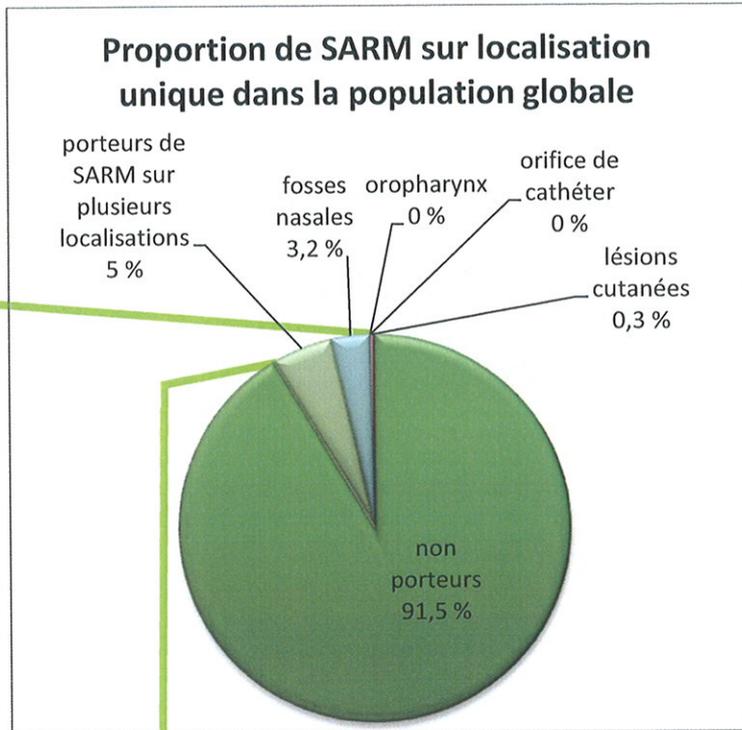


Figure 14 : Proportion du portage de SARM sur localisation unique en fonction des localisations de prélèvement, dans la population générale.

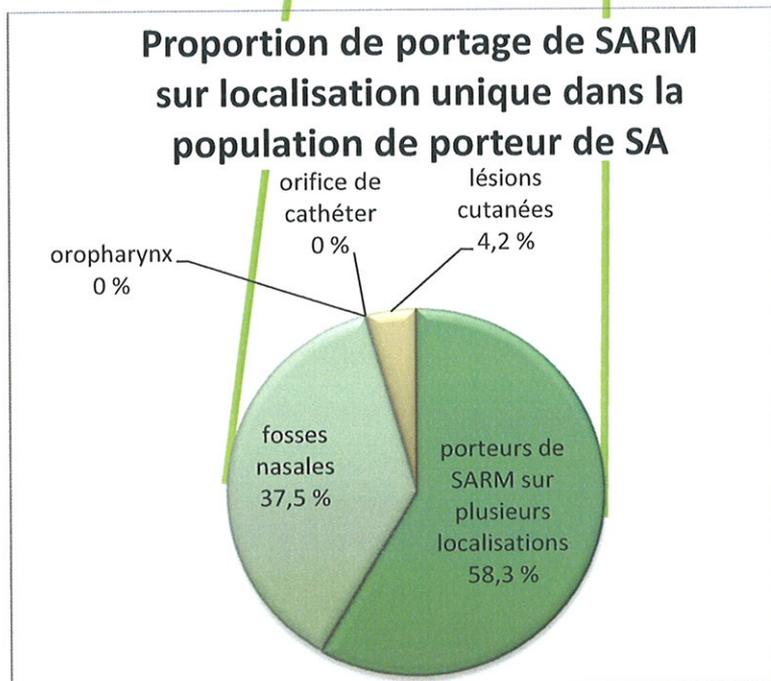


Figure 15 : Proportion du portage de SARM sur localisation unique en fonction des localisations de prélèvement, dans la population de patients porteurs de SARM.

Si on analyse cette répartition de localisation au sein des 115 patients porteurs de SA, on s'aperçoit qu'une proportion importante : 44,3 % (51 patients) étaient porteurs sur une seule localisation (quel que soit le nombre de localisations prélevées) et se répartissaient comme suit :

- 32,2 % (37 patients) étaient porteurs seulement dans le nez
- 9,6 % (11 patients) étaient porteurs seulement dans la gorge
- 0,9 % (1 patients) étaient porteurs seulement sur l'orifice de cathéter
- 1,7 % (2 patients) étaient porteurs seulement sur les lésions cutanées.

Parmi les 24 patients porteurs de SARM, 41,7 % (10 patients) étaient porteurs sur une seule localisation :

- 37,5 % (9 patients) étaient porteurs seulement dans le nez
- 4,2 % (1 patient) étaient porteurs seulement sur lésions cutanées (voir Figure 12 **Figure 16** à Figure 15).

Les prélèvements de fosses nasales sont ceux qui ont mis en évidence le plus grand portage de SA et de SARM sur localisation unique.

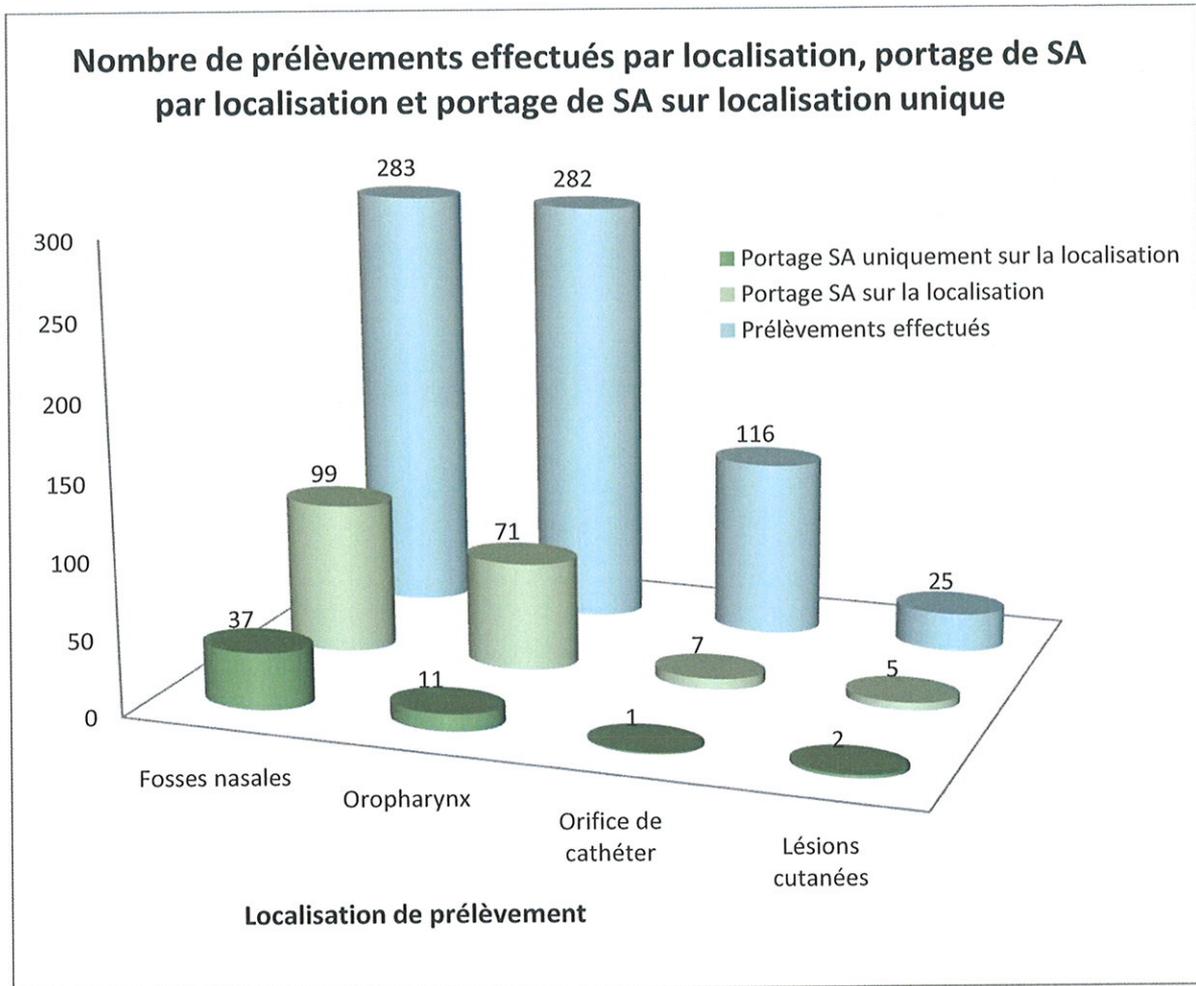


Figure 16 : Diagramme récapitulatif du nombre de prélèvements effectués par localisation avec détail du portage de SA par localisation et du portage de SA sur localisation unique.

### 3.3. En fonction du type d'abord de dialyse et du type de dialyse

Sur l'ensemble des patients qui étaient en cours d'hémodialyse (245) : 40,8 % (100) des patients portaient du SA et 8,2 % (20) de porteurs de SARM.

On peut détailler le portage quelle que soit la localisation positive en fonction du type d'abord de dialyse (voir Tableau 8 et Figure 17). Le portage de SA variait peu en fonction de la voie d'abord de dialyse, par contre, le portage de SARM était presque deux fois plus important chez les patients porteurs de cathéter de Canaud en comparaison aux patients dialysés sur fistule artério-veineuse (respectivement 11,2 % et 6,9 %,  $p = 0,2192$ ). De même, la proportion de patients porteurs de SARM parmi les porteurs de SA en fonction de la voie d'abord était presque deux fois plus importante chez les patients porteurs de cathéter de Canaud en comparaison aux patients dialysés sur fistule artério-veineuse (respectivement 29 % et 15,9 %,  $p = 0,1301$ ). Ces différences ne sont pas statistiquement significatives.

Voie d'abord de dialyse	Nombre de patients	Portage de SA	Portage de SARM	% de SARM parmi les SA
Cathéter de Canaud	80	31 (38,7 %)	9 (11,2 %)	29 %
Fistule	165	69 (41,8 %)	11 (6,9 %)	15,9 %
KTDP	39	15 (38,5 %)	4 (10,3 %)	26,7 %

Tableau 8 : Portage de SA et de SARM (quelle que soit sa localisation) en fonction de la voie d'abord de dialyse.

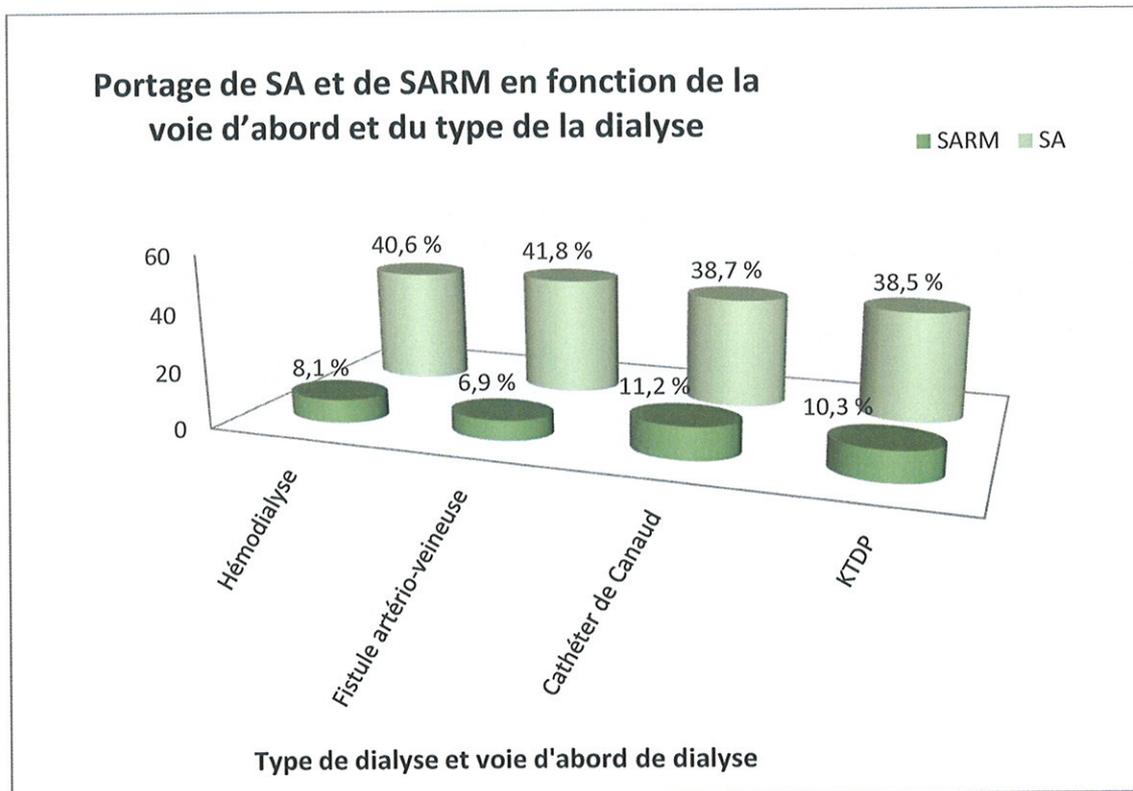


Figure 17 : Proportion de patients porteurs de SA et de SARM en fonction de la voie d'abord et du type de la dialyse.

### 3.4. En fonction de l'unité de dialyse

Le service d'hémodialyse a reçu dans la période d'étude 97 patients dont 52,6 % (51 patients) pour lesquels la voie d'abord de dialyse était un cathéter de Canaud et 47,4 % (46 patients) de patients dont la voie d'abord était une fistule artério-veineuse. La structure de l'ALURAD a reçu dans la période d'étude 187 patients dont 39 en cours de dialyse péritonéale et 148 patients en cours d'hémodialyse. Parmi ces derniers, 19,6 % (29 patients) de patients utilisaient un cathéter de Canaud comme voie d'abord de dialyse et 80,4 % (119 patients) des patients utilisaient une fistule artério-veineuse comme voie d'abord.

Les portages de SA et de SARM dans les différentes structures avec le détail des unités au sein de la structure de l'ALURAD sont rapportés dans le Tableau 9. Dans le service d'hémodialyse, les portages de SA et de SARM entre les patients dialysés sur fistule artério-veineuse et les patients dialysés sur cathéter de Canaud étaient proches (respectivement 36,9 % et 35,3 % pour SA et 13 % et 13,7 % pour SARM). Les patients dialysés sur cathéter de Canaud à l'ALURAD avaient un portage SA supérieur d'environ 10 % par rapport aux patients dialysés sur cathéter de Canaud dans le service d'Hémodialyse (respectivement 44,8 % et 35,3 %). Cependant, cette différence n'est

cependant pas statistiquement significative. Le portage du SARM était globalement deux fois moins important à l'ALURAD en comparaison au portage de SARM en Hémodialyse (respectivement 6,9 % contre 13,7 % pour les cathéters de Canaud et 4,2 % contre 13 % pour les fistules). Ces différences ne sont pas statistiquement significatives. Les patients de nuit de l'unité de Schoelcher sont ceux qui avaient le portage de SA le plus important (57,1 %), mais il s'agit d'un groupe de 7 patients et la puissance statistique est trop faible. Par ailleurs dans ce groupe il n'était pas isolé de SARM. Le même problème se pose dans le groupe des patients porteurs de cathéter de Canaud de l'unité de Guéret. Ces 2 groupes mis à part, ce sont les patients du centre de Buisson qui avaient le portage de SA et de SARM le plus important à l'ALURAD. Ce sont aussi les patients les plus fragilisés sur le plan médical. Néanmoins, malgré un portage de SA plus grand que celui du service d'Hémodialyse, le portage de SARM des patients du centre de Buisson reste inférieur au portage de SARM des patients du service d'hémodialyse (voir Tableau 9).

Structure d'accueil	Voie d'abord de dialyse	Nombre de patients (proportion dans l'unité)	Portage de SA	Portage de SARM
<b>Service d'hémodialyse</b> (97 patients)	Cathéter de Canaud	51 (52,6 %)	18 (35,3 %)	7 (13,7 %)
	Fistule	46 (47,4 %)	17 (36,9 %)	6 (13 %)
<b>ALURAD</b> (187 patients : 148 hémodialyses et 39 dialyses péritonéales)	Cathéter de Canaud	29 (15,5 %)	13 (44,8 %)	2 (6,9 %)
	Fistule	119 (63,6 %)	52 (43,7 %)	5 (4,2 %)
	KTDP	39 (20,9 %)	15 (38,5 %)	4 (10,3 %)
<b>Détails des unités de l'ALURAD</b>				
<b>Centre de Buisson</b> (62 patients)	Cathéter de Canaud	22 (35,5 %)	11 (50 %)	2 (9,1 %)
	Fistule	40 (64,5 %)	18 (45 %)	2 (5 %)
<b>Unité de Schoelcher de jour</b> (55 patients)	Cathéter de Canaud	5 (7,4 %)	1 (20 %)	0
	Fistule	50 (92,6 %)	22 (44 %)	2 (4 %)
<b>Unité de Schoelcher de nuit</b> (7 patients)	Fistule	7 (100 %)	4 (57,1 %)	0
<b>Unité de Guéret</b> (24 patients)	Cathéter de Canaud	2 (8,3 %)	1 (50 %)	0
	Fistule	22 (91,7 %)	8 (36,4 %)	1 (4,5 %)

Tableau 9 : Tableau détaillant le portage de SA et de SARM en fonction de la voie l'abord de dialyse dans les différentes structures et unités que nous avons prélevés.

Enfin, ces résultats pour les patients hémodialysés peuvent être rendus en regroupant les centres (service d'Hémodialyse et Centre du Buisson), dans lesquels sont accueillis des patients plus médicalisés et en regroupant les unités de dialyse médicalisés (unité de Schoelcher de jour et de nuit et unité de Guéret), où les patients sont en meilleur état général (voir Tableau 10). Les centres (service d'Hémodialyse et centre du Buisson de l'ALURAD) ont reçu dans la période d'étude 159 patients. Les unités de dialyse médicalisées ont reçu dans la période d'étude 86 patients.

Dans les centres de dialyse, il y a peu de différences de portage de SA en fonction de la voie d'abord de dialyse. Le portage de SARM semble un peu inférieur chez les patients dialysés sur fistule artério-veineuse que chez les patients dialysés sur cathéter (respectivement 9,3 % et 12,3 %). Dans les unités de dialyse médicalisées le portage de SA chez les patients dialysés sur cathéter de Canaud (28,6 %) est inférieur de presque 15 % en comparaison au portage de SA chez les patients dialysés sur fistule artério-veineuse (43 %). Cette différence n'est pas statistiquement significative, probablement en raison du faible nombre de patients. Le portage de SARM chez les patients dialysés sur cathéter de Canaud en centre (12,3 %) est beaucoup plus élevé que dans les unités ou aucun ne porte de SARM, mais cette différence n'est pas statistiquement significative, probablement en raison du faible nombre de patients. Si l'on compare les portages toutes voies d'abord confondues, des centres et des unités de dialyse médicalisées, il n'y a pas de différence sur le portage de SA, mais le portage de SARM est beaucoup plus important dans les centres (10,7 %) que dans les unités (3,5 %) (voir Figure 18). Cette différence est statistiquement significative avec un  $p = 0,0494$ .

Structure d'accueil	Voie d'abord de dialyse	Nombre de patients (proportion dans La structure)	Portage de SA	Portage de SARM
<b>Centres de dialyse</b> (service d'Hémodialyse et centre de Buisson de l'ALURAD) (159 patients)	toutes voies d'abord confondues	159 (100 %)	64 (40,2 %)	17 (10,7 %)
	Cathéter de Canaud	73 (45,9 %)	29 (39,7 %)	9 (12,3 %)
	Fistule	86 (54,1 %)	35 (40,7 %)	8 (9,3 %)
<b>Unité de dialyse médicalisée</b> (unité de Schoelcher jour et nuit et unité de Guétet) (86 patients)	toutes voies d'abord confondues	86 (100 %)	36 (41,8 %)	3 (3,5 %)
	Cathéter de Canaud	7 (8,1 %)	2 (28,6 %)	0
	Fistule	79 (91,9 %)	34 (43 %)	3 (3,8 %)

Tableau 10 : Tableau détaillant le portage de SA et de SARM en fonction de la voie l'abord de dialyse dans les centres et dans les unités de dialyse médicalisée.

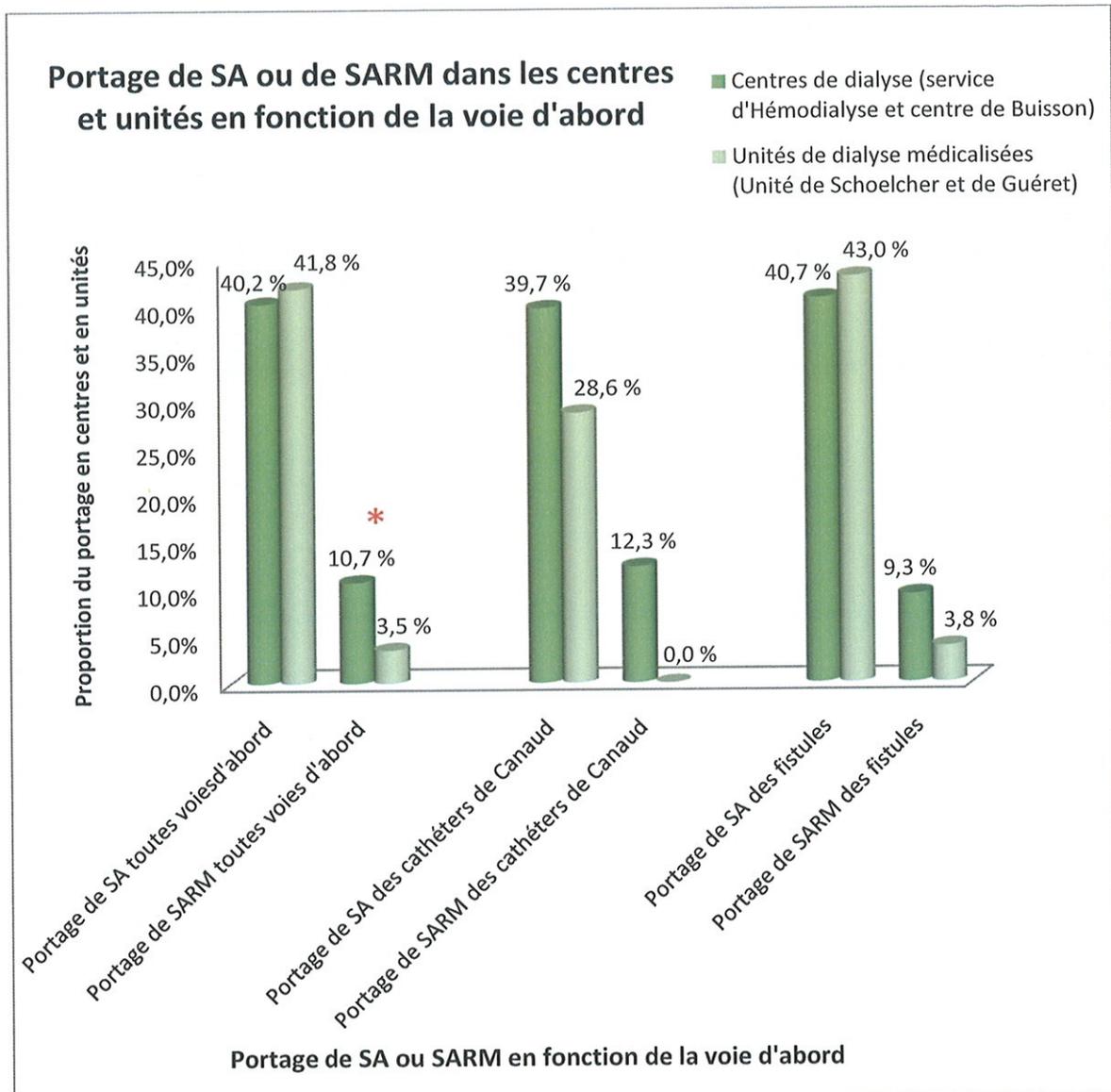
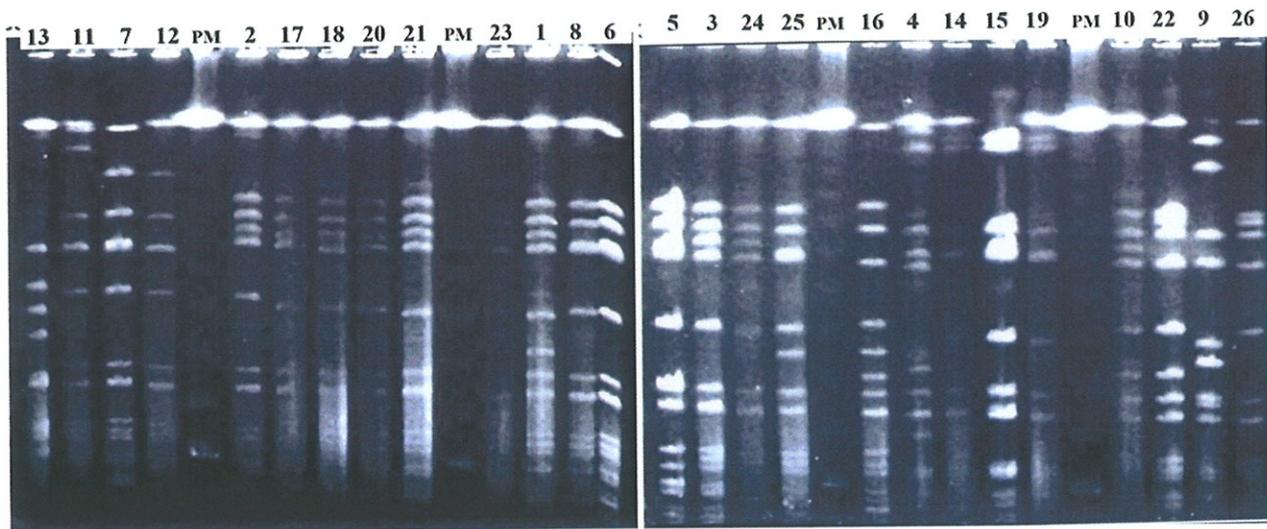


Figure 18 : Détail du portage de SA et de SARM dans les centres et dans les unités de dialyses en fonction de la voie d'abord et toute voies d'abord confondues. L'astérisque rouge signifiant une différence statistiquement significative ( $p < 0,05$ ).

#### 4. Typage par électrophorèse en champs pulsés

Les profils de restriction que nous avons obtenus à partir des 26 souches de SARM isolées chez 24 patients sont représentés ci-dessous.



Nous avons identifié 6 profils clonaux différents numérotés de A à F. A l'intérieur de certains clones, nous avons mis en évidence des sous-clones:

- Le profil A : souches 2, 3, 17, 18, 20, 21 et 24. A ce clone, sont associés 5 sous-clones, numérotés de A1 à A5.
  - Le profil A1 : souches 6 et 8. Il est probablement apparenté au clone A. Il diffère d'une bande par rapport au profil A.
    - Le profil A1.1 : souche 5. il est probablement apparenté au sous-clone A1. Il diffère d'une bande par rapport au profil A1 et de 2 bandes par rapport au profil A.
  - Le profil A2 : souches 1 et 10. Il est probablement apparenté au clone A. Il diffère d'une bande par rapport au profil A.
    - Le profil A2.1 : souche 22. Il est probablement apparenté au sous-clone A2. Il diffère de 2 bandes par rapport au profil A2 avec l'apparition d'un nouveau fragment plus grand, soit l'insertion d'une région.
  - Le profil A3 : souche 25. Il est probablement apparenté au clone A. il diffère de 2 bandes par rapport au profil A, avec l'apparition d'un nouveau fragment plus petit, soit la délétion d'une région.
    - Le profil A3.1 : souche 16. Il est probablement apparenté au sous-clone A3. Il diffère de 3 bandes par rapport profil A3, avec l'apparition de 2 nouveaux fragments plus petits, soit l'apparition d'un site de restriction.

- Le profil A4 : souche 23. Il est probablement apparenté au clone A. Il diffère de 2 bandes par rapport au profil A, avec l'apparition d'un nouveau fragment plus grand, soit l'insertion d'une région.
- Le profil A5 : souche 26. Il est probablement apparenté au clone A. Il diffère de 2 bandes par rapport au profil A, avec l'apparition d'un nouveau fragment plus grand, soit l'insertion d'une région.
- Le profil B : souches 7 et 12. Il diffère de 5 bandes par rapport au profil A. Il est possiblement apparenté au clone A.
  - Le profil B1 : souche 11. Il est probablement apparenté au clone B. Il diffère de 2 bandes par rapport au profil B, avec l'apparition d'un nouveau fragment plus grand, soit l'insertion d'une région. Les souches 11 et 12 (respectivement profil B et B1) sont deux souches de SARM de morphotypes différents isolées chez le même patient
- Le profil C : souches 14, 15 et 19. Il diffère de 6 bandes par rapport au profil A. Les souches 14 et 15 (souches C) sont deux souches de SARM de morphotypes différents isolées chez le même patient.
- Le profil D : souche 4.
- Le profil E : souche 9
- Le profil F : souche 13.

Dans le Tableau 11, nous avons récapitulé pour chaque profil clonal et souches correspondantes, la structure d'accueil du patient, et la/les localisation(s) d'isolement de la souche.

Profils clonaux	Structure d'accueil	Jour de dialyse (pour les hémodialysés)	localisation	
A	Service d'Hémodialyse	L/M/V matin	Nez, jambe droite et jambe gauche	
	Service d'Hémodialyse	L/M/V matin	Nez, gorge	
	Unité de Schoelcher	L/M/V	Nez	
	Centre de Buisson	M/J/S	Nez, gorge	
	Centre de Buisson	M/J/S	Nez	
	Dialyse péritonéale		Nez, gorge	
	Dialyse péritonéale		Nez	
	A1	Service d'Hémodialyse	L/M/V après-midi	Nez, gorge
		Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Nez
	A1.1	Service d'Hémodialyse	L/M/V matin	Jambe droite
	A2	Service d'Hémodialyse	L/M/V matin	Nez, gorge
		Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Nez, gorge
	A2.1	Unité de Guéret	L/M/V	Nez
A3	Dialyse péritonéale		Nez, gorge, KTDP	
	A3.1	Centre de Buisson	L/M/V	Nez
A4	Unité de Schoelcher	M/J/S	Nez	
A5	Dialyse péritonéale		Nez, gorge	
B	Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Nez	
	Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Bord externe pied gauche, orteil pied gauche	
	B1	Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Bord externe pied gauche
C	Service d'Hémodialyse	M/J/S après-midi	Nez	
	Service d'Hémodialyse	M/J/S après-midi	Nez	
	Centre de Buisson	M/J/S	Nez, gorge	
D	Service d'Hémodialyse	L/M/V matin	Nez	
E	Service d'Hémodialyse	M/J/S matin	Nez, gorge	
F	Service d'Hémodialyse	M/J/S après-midi	Nez, gorge	

Tableau 11 : Récapitulatif des profils clonaux et en fonction des souches qui leurs étaient associées, des localisations permettant d'isoler les souches de SARM et des unités d'accueil des patients ainsi que de leur séance de dialyse. L/J/S : patients venant aux séances de dialyse du lundi, du mercredi et du vendredi, M/J/S : patients venant aux séances de dialyse du mardi, du jeudi et du samedi. Un code de trame de couleur est attribué aux différentes structures d'accueil, en bleu : le service d'hémodialyse, en dégradé de vert : les différentes structures d'hémodialyse de l'ALURAD et en rose : la dialyse péritonéale. Les profils encadrés en rouge sont isolés chez un même patient. Les profils encadrés en vert sont isolés chez un même patient.

Le clone A était prédominant et ce sont principalement le clone A et ses sous-clones qui sont retrouvés à l'ALURAD. Le sous-clone A1.2 n'était retrouvé que dans l'unité de dialyse médicalisée

de Guéret. Les clones B, C, D, E et F ne sont présents que dans le service d'Hémodialyse, avec une exception pour le profil 19 qui correspond au clone C qui était isolé chez une patiente du centre de dialyse de Buisson. Nous avons isolé un grand nombre de clones. La transmission n'est pas évidente. Le clone commun (A) est retrouvé dans toutes les structures d'accueil de dialyse sauf dans l'unité de dialyse de Guéret. La séance de dialyse ne met pas en évidence de transmission de clone ou de sous-clone au sein d'un même groupe de dialyse.

## 5. Détection du gène de la leucotoxine de Pantone-Valentine

Aucune des souches de SA isolée n'était porteuse du gène de la LPV.

## 6. Données cliniques

### 6.1. Infections dans l'année précédant le prélèvement et portage

Globalement, 86 patients (30,3 % de la population globale) ont présenté des infections (tous germes confondus) dans l'année précédant le prélèvement, parmi eux, 39,5 % (34 patients) portaient du SA et 2,3 % (2 patients) du SARM. Nous avons isolé dans les antécédents d'infection, les patients qui avaient présenté des infections à SA, mais nos données n'ont pas pris en compte s'il s'agissait de SASM ou de SARM. Chez les patients qui ont présenté des infections à SA dans l'année précédant le prélèvement (25, soit 8,8 % de la population globale), 56 % (14 patients) portaient du SA et 8 % (2 patients) du SARM au moment de l'étude. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative avec le portage de SA et de SARM dans la population n'ayant pas eu d'infection dans l'année précédant le portage.

Les antécédents de bactériémie et de péritonite ont été associés à un portage de SASM très important, respectivement de 71,4 % et 80 %, mais à aucun portage de SARM. La différence de portage avec les groupes n'ayant pas d'antécédents de bactériémie et de péritonite est presque statistiquement significative avec respectivement  $p = 0,0878$  et  $p = 0,0666$ . Les antécédents de tunellite ont toujours été associés à un portage de SASM, la différence avec le groupe n'ayant pas d'antécédent de tunellite est statistiquement significative ( $p = 0,0348$ ), mais le groupe ayant des antécédents de tunellite ne comportait que 3 patients. Les antécédents d'infection sur cathéter étaient associées non seulement à un portage de SA élevé de 58,3 % mais aussi à un portage de

SARM élevé de 16 %, sans qu'il y ait eu de différence statistiquement significative avec le groupe sans antécédents d'infection sur cathéter (voir Tableau 12).

Type d'infection (dans l'année précédant le prélèvement)	Nombre de patient (% de la population globale)	Portage de SA	Portage de SA du reste de la population	p	Portage de SARM	Portage de SARM du reste de la population	p
<b>Tous germes confondus, tout type d'infection</b>	86 (30,3 %)	34 (39,5 %)	40,9 %	0,8284	5 (5,8 %)	9,6 %	0,2924
<b>Tout type d'infection à SA</b>	25 (8,8 %)	14 (56 %)	39 %	0,0981	2 (8 %)	8,5 %	0,9324
<b>Tunellite</b>	3 (1,1 %)	3 (100 %)	39,9 %	0,0348 *	0	8,5 %	-
<b>Infection cutanée</b>	11 (3,8 %)	3 (27,3 %)	41 %	0,3623	0	8,8 %	-
<b>Infection du cathéter</b>	12 (4,2 %)	7 (58,3 %)	39,7 %	0,1983	2 (16 %)	8,1 %	0,2958
<b>Bactériémie due au cathéter</b>	7 (2,5 %)	5 (71,4 %)	39,7 %	0,0914	0	8,7 %	-
<b>Péritonite</b>	5 (1,8 %)	4 (80 %)	39,8 %	0,0694	0	8,6 %	-

Tableau 12 : Portage su SA et du SARM chez les patients ayant eu une infection dans l'année précédant le prélèvement, avec détail du portage en fonction du type d'infection et détail du portage de SA et de SARM dans le groupe n'ayant pas eu le type d'infection étudié, avec le détail des valeurs p pour chaque portage. Les différences statistiquement significatives sont indiquées par une astérisque rouge.

## 6.2. Hospitalisation dans l'année précédant le prélèvement et portage

Dans la population de patients n'ayant pas eu d'hospitalisations dans l'année précédant le prélèvement (voir Tableau 13 et Figure 19). Dans la population n'ayant pas d'antécédent d'hospitalisation, les portages de SA (37,3 %) et de SARM (7,5 %) étaient plus faibles que les portages de SA (41,5 %) et de SARM (8,7 %) dans la population de patients ayant été hospitalisés dans l'année précédant le prélèvement. Il n'y a pas de différence statistiquement significative entre ces groupes (pour le portage de SA :  $p = 0,5442$  et pour le portage de SARM  $p = 0,7394$ ).

Antécédents dans l'année précédant le prélèvement	Nombre de patient (proportion dans la population globale)	Portage de SA	Portage de SARM
<b>Hospitalisation</b>	217 (76,4 %)	90 (41,5 %)	19 (8,7 %)
<b>Pas d'hospitalisation</b>	67 (23,6 %)	25 (37,3 %)	5 (7,5 %)

Tableau 13 : Portage de SA et de SARM en fonction de l'antécédent d'hospitalisation ou non dans l'année précédant le prélèvement.

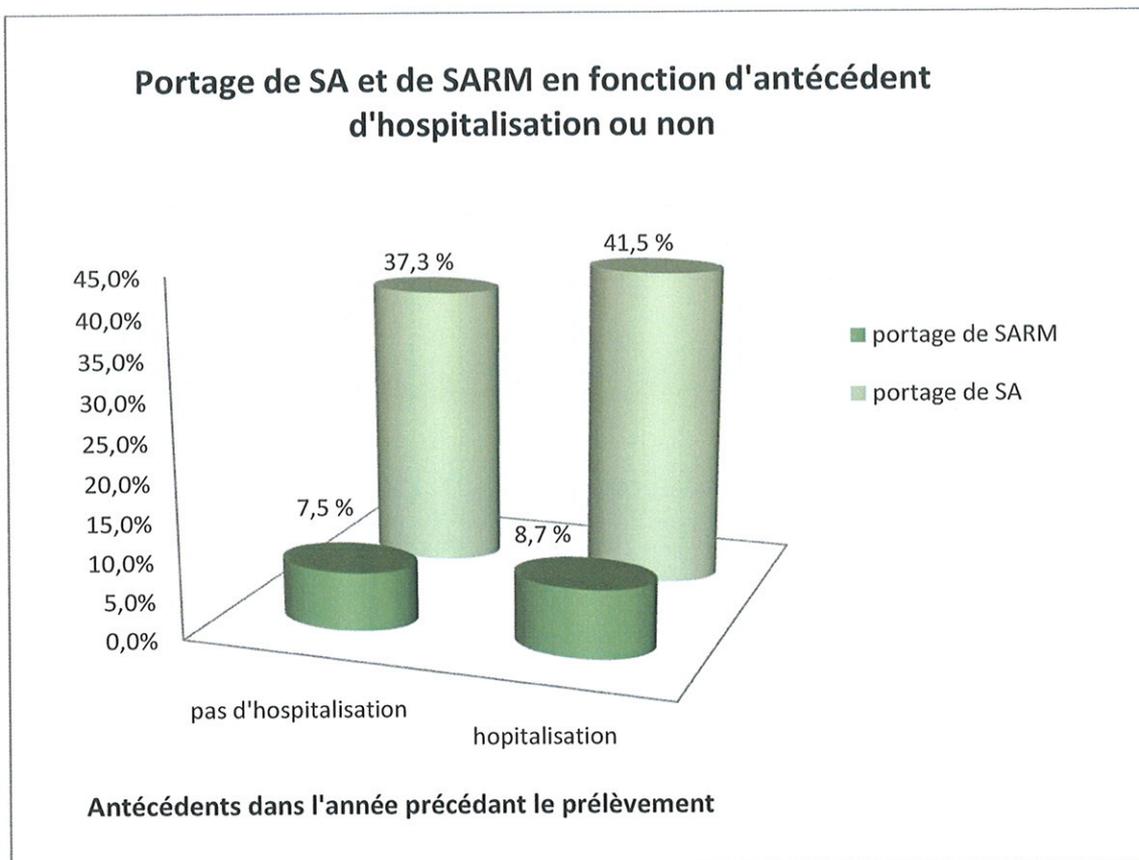


Figure 19 : Proportion du portage de SA et SARM chez les patients qui ont été hospitalisés et qui n'ont pas été hospitalisés au cours de l'année précédant le prélèvement.

En détaillant les résultats en fonction du nombre d'hospitalisation au cours de l'année précédant le prélèvement (voir Tableau 14), il n'y a pas d'évidence pour une relation entre nombre d'hospitalisations précédentes et le taux de portage. Au-delà de 8 hospitalisations, les groupes avaient un effectif très réduit, de 1 à 2 patients et concernait le plus souvent des patients nécessitant un suivi régulier en hospitalisation de jour (la durée d'hospitalisation à chaque fois était inférieure à 12 heures).

Nombre d'hospitalisation	Nombre de patients	Portage de SA	Portage de SARM
1	68	33 (48,5 %)	3 (4,4 %)
2	42	16 (38,1 %)	5 (11,9 %)
3	28	13 (46,4 %)	5 (17,8 %)
4	30	10 (33,3 %)	1 (3,3 %)
5	16	8 (50 %)	1 (6,2 %)
6	9	4 (44,4 %)	1 (11,1 %)
7	8	4 (50 %)	3 (37,5 %)
8	4	1 (25 %)	0
9	2	0	0
10	2	0	0
11	1	0	0
18	1	0	0
32	1	0	0
73	1	0	0

Tableau 14 : Portage de SA et de SARM en fonction du nombre d'hospitalisations dans l'année précédant le prélèvement.

### 6.3. Association du portage de SA et de SARM avec le diabète et l'hypertension artérielle (HTA)

Les calculs ont été faits sur les données qui ont été recueillies à partir du questionnaire rempli au cours de l'entretien avec le patient. Pour 4 patients, ces données sont manquantes. Le détail du portage de SA et de SARM est précisé dans le Tableau 15. Il n'y a pas eu de différence statistiquement significative de portage de SA ou de SARM entre les groupes ayant du diabète ou de l'hypertension artérielle (HTA) et les groupes n'en ayant pas. Les patients ayant un diabète avaient un portage de SA et surtout de SARM supérieurs au groupe sans antécédent de diabète.

Facteur de risque	Patients atteints	Portage de SA	Portage de SARM	Patients non atteints	Portage de SA	Portage de SARM
HTA	235	94 (40 %)	18 (7,6 %)	45	19 (42,2 %)	5 (11,1 %)
Diabète (90 diabètes de type 2 et 3 diabètes de type 1)	93	38 (40,8 %)	8 (8,6 %)	187	75 (40,1 %)	15 (8 %)

Tableau 15 : Détails du portage de SA et de SARM en fonction d'antécédents de diabète et d'hypertension artérielle, dans la population atteinte et dans la population non atteinte.

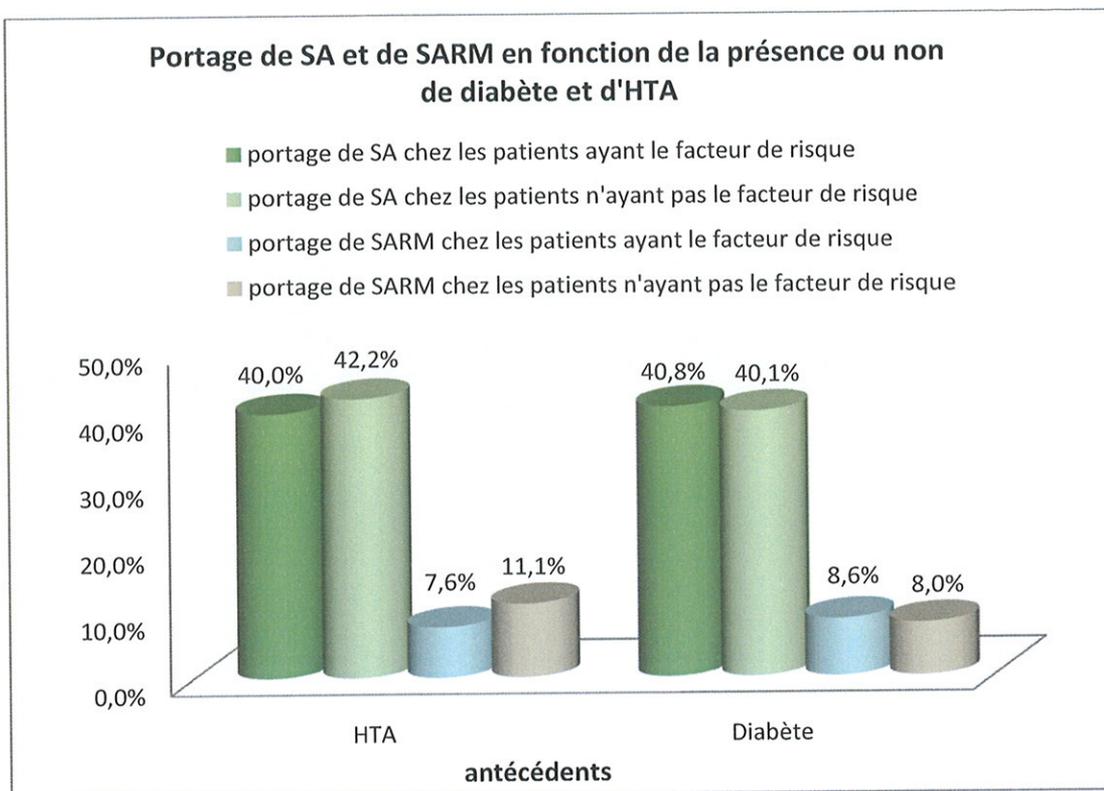


Figure 20 : Portage de SA et de SARM en fonction d'antécédents de diabète et d'HTA, dans la population atteinte et dans la population non atteinte.

#### 6.4. Durée de dialyse

Chez les patients porteurs de SA (114) la durée moyenne de dialyse est de 95,66 mois alors que chez les patients non porteurs (170), elle est de 81,10 mois. La différence entre ces deux groupes est statistiquement non significative ( $p = 0,2450$ ). Chez les patients porteurs de SARM (24), la durée moyenne de dialyse est de 121,18 alors que dans le reste de la population (non porteurs et porteurs de SARM) (260) elle est de 83,79. La différence entre ces deux groupes est statistiquement non significative ( $p = 0,1570$ ).

## Discussion

## Discussion

---

Notre travail proposait de déterminer la prévalence du portage nasal, oropharyngé et cutané de SA dans la population dialysée du CHU de Limoges et de l'association de dialyse de proximité du Limousin, l'ALURAD (Association Limousine pour l'Utilisation du Rein Artificiel à Domicile). Au cours d'un entretien avec les patients au cours de leur dialyse habituelle, nous avons obtenu des renseignements cliniques et des prélèvements par écouvillonnage nasal, oropharyngé, orifice de cathéter, si le patient en portait un et lésions cutanées éventuelles.

La quasi-totalité de notre population a pu être prélevée au minimum en nasal et oropharyngé. Nous avons prélevé dans différentes structures accueillant différents types de patient hémodialysés. Les centres d'hémodialyse (service d'Hémodialyse du CHU de Limoges et Centre de Buisson de l'alurad) ont une plus grande proportion de patients dialysés sur cathéter de Canaud (respectivement 52,6 % et 37,5 %) en comparaison des patients accueillis en unité de dialyse médicalisée (7,7 % dans l'unité de jour de Scoelcher, aucun la nuit et 8,3 % dans l'unité de Guéret).

Au total nous avons réalisé 715 prélèvements de 284 patients dialysés. Les prélèvements qui sont les plus contributifs dans le dépistage du portage de SA ou de SARM sont ceux des fosses nasales (35 % de positifs dépistant 86 % des porteurs de SA). Ensuite, viennent les prélèvements oropharyngés pour SA (25,2 % de positifs dépistant 61,7 % des porteurs de SA) et lésions cutanées pour SARM (20 % de positifs dépistant 12,5 % des porteurs de SARM). De plus, les fosses nasales sont le prélèvement qui mettait en évidence le plus grand portage sur localisation unique : 32,2 % des porteurs de SA et 37,5 % des porteurs de SARM l'étaient uniquement sur le nez (voir Figure 13 et Figure 15). Des publications viennent confirmer l'intérêt du prélèvement nasal dans le dépistage du portage de SA par rapport aux autres localisations que ce soit la gorge, les plis axillaires et inguinaux, le périnée, les foyers infectieux, diverses localisations cutanées (130-133) ou le portage intestinal dans une méta-analyse (6). Dans notre étude, si les autres prélèvements que ceux des fosses nasales et de l'oropharynx semblent avoir moins d'intérêt dans le dépistage du portage de SA, les prélèvements de lésions cutanées ont l'avantage d'être souvent positifs dans le portage de SA, mais surtout dans le dépistage du portage de SARM où malgré un faible nombre de prélèvements réalisés (25 prélèvements) nous mettons en évidence, sur 20 % de prélèvements positifs à SARM, 12,5 % des porteurs de SARM (voir Figure 10 et Figure 11). Les prélèvements d'orifices de cathéter sont ceux qui sont les moins performants dans le dépistage de portage, mais ils ont un intérêt clinique évident appuyé par les résultats d'études qui associent la survenue

d'infection ayant pour point de départ l'accès vasculaire avec la colonisation de l'orifice de cathéter (première étape vers l'infection) (112,134) chez les patients hémodialysés, mais aussi chez les patients dialysés péritonéaux (135).

Dans notre groupe de porteurs de SA (115 patients), 44,3 % des patients étaient porteurs de SA sur une seule localisation anatomique (indépendamment du nombre de localisation prélevées et quelle que soit la localisation positive), 53,1 % étaient porteurs de SA sur deux localisations anatomiques et 2,6 % étaient porteurs sur 3 localisations anatomiques. Pour les SARM, 41,7 % des porteurs de SARM l'étaient sur une seule localisation anatomique, 54,2 % sur 2 localisations anatomiques et 4,1 % étaient porteurs sur 3 localisations anatomiques. Ces résultats montrent l'intérêt de multiplier les localisations de prélèvement. Ces résultats sont cependant un peu différents de l'étude de Eveillard *et al.* qui mettent en évidence un portage de SARM supérieur sur une localisation anatomique (31,9 %) par rapport au portage sur 2, 3 et 4 localisations (respectivement : 29,9 %, 25,1 % et 13,1 %), mais leur population était constituée de patients prélevés à l'admission dans l'hôpital et tous avaient été prélevés sur 4 localisations anatomiques (130).

Dans notre étude, le portage nasal seul identifie 86,1 % (99 patients) des porteurs de SA. Si l'on associe au prélèvement nasal un prélèvement oropharyngé, on identifie 97,4 % (112 patients) des porteurs de SA. De plus, l'association de prélèvements oropharyngés et de prélèvements d'effractions cutanée (orifice de cathéter et lésions cutanées) permet de mettre en évidence 16 patients mais non porteurs dans le nez, soit 13,9 % des porteurs de SA. Ces résultats vont dans le sens d'autres publications mettant en évidence l'intérêt de multiplier les localisations de prélèvements pour déterminer un portage de SA exhaustif (6,136). En plus de multiplier les localisations il est intéressant d'associer plusieurs séries de prélèvements dans le temps (3,131) La discordance entre deux prélèvements dans le temps à la recherche de portage de SARM est de 57 % dans l'étude de Lim *et al.* (131). Meurman *et al.* rendent compte de la situation du portage de SARM dans les hôpitaux du sud-ouest de la Finlande, dont la prévalence est plus basse qu'ailleurs en Finlande, après la mise en place d'un dépistage extensif du SARM, à deux jours d'intervalle, chez tous les patients admis directement d'un autre hôpital ou ayant été en contact avec des patients porteurs de SARM sur les localisations suivantes : fosses nasales, oropharynx, les plis axillaires et inguinaux, le périnée et si présents, les lésions cutanées et les orifices de cathéter. Les prélèvements de nez seuls auraient identifié 66 % des porteurs de SARM seulement (132). D'autres publications vont dans le même sens, les prélèvements des fosses nasales seulement passent à côté de 27 %, jusqu'à plus de 30 %, des porteurs de SARM (130,131).

Si l'on considère les différents types de portage, dans une étude comme la nôtre déterminant le portage de SA sur une seule série de prélèvements à un seul moment, il nous est impossible de différencier les patients porteurs permanents ou intermittents (incluant une proportion de patients porteurs intermittents non dépistés le jour du prélèvement et classés en non porteurs). Hors, la distinction est importante car les porteurs permanents ont un plus grand inoculum de SA, et un risque plus important de développer une infection à SA (4,137). Cependant, des études ont montré que les non porteurs qui acquièrent des bactériémies à SA exogène ont un taux de mortalité 4 fois plus élevé comparé aux porteurs nasaux de SA (138).

Notre objectif principal était de déterminer la prévalence du portage nasal, oropharyngé et cutané de SA et de SARM, dans la population d'hémodialysés et de dialysés péritonéaux du CHU de Limoges et de l'ALURAD. Dans notre étude, le portage global de SA était de 40,5 % (115 patients), le portage de SARM était de 8,45 % (24 patients). En comparaison à d'autres publications dans la population dialysée notre taux est plutôt élevé : en France, le portage nasal de SA chez les dialysés est estimé entre 30 et 35% autour de l'année 1995 (114,117). En Pologne, l'étude de Koziol-Montewka M *et al.* va dans le sens d'une modification d'épidémiologie avec une diminution de la colonisation par SA dans une population hémodialysée entre 1998 (57%) et 2004 (28%) (103). Dans les études récentes de 2007 à 2010, le portage de SA chez les patients hémodialysés évolue entre 25 % et 38 % le plus souvent (108,139-141). Ces études portaient sur des prélèvements soit sur plusieurs localisations (nasal + rectal dans une et nasal + cutané dans une autre) (108,139) soit répétés dans le temps (au moins 2 dépistages en nasal) (141) et pour une sur un seul prélèvement nasal (140). Dans 2 études, le portage est supérieur au nôtre 41,4 % à Taiwan et 53 % en Allemagne (142,143). Dans ces deux études, la population était la même (patients en cours d'hémodialyse à l'hôpital), dans l'étude allemande, la réalisation du dépistage était similaire (2 dépistages en nasal) (143). Par contre dans l'étude de Taiwan, le dépistage était un peu plus exhaustif, en nasal uniquement, mais sur trois périodes de temps, le portage de SA de la population ayant participé aux trois prélèvements est de 53 %, mais le portage de SA retrouvé lors les trois prélèvements n'était que de 10 % (142). Le portage de SARM est plus variable de 2,3 % à 27,4 % (103,108,139-144), 3 de ces études ont un portage de SARM au dessus de 12 % (108,140,144).

Dans le service d'Hémodialyse du CHU de Limoges (97 patients) le taux de portage de SA était de 36 % (35 patients) et celui de SARM de 13,4 % (13 patients). A l'ALURAD (187 patients), le portage de SA était plus élevé 42,8 % (80 patients) mais le taux de portage de SARM était deux fois moins important (5,9 % (11 patients)) et cette différence était significative ( $p = 0,0307$ ) (voir Figure 9).

Ce sont les patients du centre de Buisson qui avaient le portage de SA et de SARM le plus important à l'ALURAD. Ce sont aussi les patients les plus fragilisés sur le plan médical. Néanmoins, malgré un portage de SA plus élevé que celui du service d'Hémodialyse, le portage de SARM des patients du centre de Buisson reste inférieur au portage de SARM des patients du service d'hémodialyse (voir Tableau 9). Si l'on compare les portages des centres de dialyse et des unités de dialyse médicalisées, il n'y a pas de différence sur le portage de SA, mais le portage de SARM est plus important dans les centres (10,7 %) que dans les unités (3,5 %) (voir Tableau 10 et Figure 18). Cette différence est statistiquement significative avec un  $p = 0,0494$ . Ceci va dans le sens d'un portage de SARM plus important lorsque la médicalisation est plus importante, en centre, mais c'est aussi le groupe dans lequel il y a le plus de patients dialysés sur cathéter de Canaud.

Dans notre étude, les patients dialysés sur fistule ont tendance à avoir un portage de SA proche de celui des patients dialysés sur cathéter. En revanche, le portage de SARM des patients dialysés sur cathéter est quasiment le double du portage de SARM chez les patients dialysés sur fistule (respectivement 11,2 % et 6,9 %). De même, la proportion de patients porteurs de SARM parmi les porteurs de SA en fonction de la voie d'abord était presque deux fois plus importante chez les patients porteurs de cathéter de Canaud en comparaison aux patients dialysés sur fistule artérioveineuse (respectivement 29 % et 15,9 %) (Tableau 8). Ces différences ne sont cependant pas statistiquement significatives. Il y a peu de publication comparant le portage de SA et de SARM en fonction de la voie d'abord de dialyse, mais il semblerait que les données aillent dans le même sens que nos résultats avec un portage de SARM deux fois plus élevé chez les patients dialysés sur cathéter tunélisé (34,6 %) par rapport aux patients dialysés sur fistule artérioveineuse (15,4 %) (108). Après insertion d'un dispositif transcutané, les patients porteurs de SA sont plus à risque de développer une bactériémie nosocomiale à SA (145). Ceci rend important la surveillance du portage de SARM dans notre population de patients dialysés sur cathéter de Canaud.

Dans la littérature, le rôle de l'accès vasculaire de dialyse est important dans le risque d'infection et de bactériémie à SARM. Les bactériémies à SA sont liées à une infection de l'accès vasculaire dans 48 à 89 % des cas (113,124-126). Le type d'accès vasculaire est le facteur prédictif le plus important du risque infectieux, le risque associé aux fistules étant moins grand que celui associé au cathéter (127-129). Les patients de notre population qui sont accueillis en centre d'hémodialyse cumulent un terrain médical fragilisé avec un portage plus fréquent de cathéter.

Si l'on compare les portages de SA et de SARM en fonction des voies d'abord vasculaire des patients hémodialysés, dans les différentes structures d'accueil, dans le service d'Hémodialyse, les portages montrent peu de différence entre fistule et cathéter (respectivement 36,9 % et 35,3 %

pour SA et 13 % et 13,7 % pour SARM). En ce qui concerne le portage de SARM, il était 2 fois plus important dans le service d'hémodialyse par rapport à l'ALURAD quelle que soit la voie d'abord considérée (respectivement 13,7 % contre 6,9 % pour les cathéters de Canaud et 13 % contre 4,2 % pour les fistules) (voir Tableau 9). La différence entre ces portages n'est pas significative, mais comme nous l'avons vu un peu plus tôt, le portage de SARM toutes voies d'abord confondues est statistiquement plus élevé dans le service d'hémodialyse par rapport à celui à l'ALURAD. Notre étude manque de puissance statistique par la petite taille de l'échantillon. Les groupes que nous avons définis avaient des effectifs un peu réduits et c'est pour cela que nous avons peu de différences de portage statistiquement significatives.

Si l'on compare les populations accueillies en centre et en unité de dialyse médicalisées, il n'y a pas de différence sur le portage de SA en fonction de la voie d'abord vasculaire. Au sein des centres de dialyse, il y a peu de différences de portage de SA en fonction de la voie d'abord de dialyse, mais il est plus important de presque 15 % chez les dialysés sur fistule par rapport aux dialysés sur cathéter, en unité de dialyse médicalisées (respectivement 43 % et 28,6 %). Le portage de SARM dans les centres de dialyse chez les dialysés sur cathéter (12,3 %) est un peu plus élevé par rapport aux dialysés sur fistule en centre (9,3 %) et il est beaucoup plus élevé que chez les dialysés sur cathéter dans les unités où aucun ne porte de SARM (voir Tableau 10 et Figure 18).

Ceci va dans le sens d'un portage de SARM plus important lorsque le patient est porteur de cathéter de Canaud. Cependant les patients étaient plus dialysés sur cathéter de Canaud dans les structures d'accueil où les patients sont le plus médicalisés.

Si l'on compare les portages toutes voies d'abord confondues, des centres et des unités de dialyse médicalisées, il n'y a pas de différence sur le portage de SA, mais le portage de SARM est beaucoup plus important dans les centres (10,7 %) que dans les unités (3,5 %) (voir Figure 18). Cette différence est statistiquement significative avec un  $p = 0,0494$ . Nous n'avons pas trouvé de données bibliographiques nous permettant de comparer nos résultats sur le portage de SARM en fonction des différentes structures d'accueil des patients dialysés.

Les patients en cours de dialyse péritonéale donc dialysés sur cathéter de dialyse péritonéale, avaient un portage de SA de 38,4 % et de SARM de 10,2 %, données proches des résultats obtenus chez les patients hémodialysés sur cathéter de Canaud. Le portage de SA dans la littérature est supérieur à celui que nous mettons en évidence dans notre étude et varie de 43,2 % à 51,2 % (142,146). Ceci est un avantage pour notre population de patients dialysés péritonéaux puisque le

portage de SA persistant est un déterminant majeur des infections liées au KTDP et la prévention des infections à SA liées au KTDP passe par la décontamination nasale (4,99,147).

Chez nos patients ayant présenté des infections à SA dans l'année précédant le prélèvement 56 % portaient du SA et 8 % du SARM au moment de l'étude. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative avec le portage de SA et de SARM dans la population n'ayant pas eu d'infection dans l'année précédant le portage.

Les antécédents de bactériémie et de péritonite ont été associés à un portage de SASM très important, respectivement de 71,4 % et 80 %, mais à aucun portage de SARM. La différence de portage avec les groupes n'ayant pas d'antécédents de bactériémie et de péritonite est presque statistiquement significative avec respectivement  $p = 0,0878$  et  $p = 0,0666$ . Les antécédents de tunellite ont toujours été associés à un portage de SASM, la différence avec le groupe n'ayant pas d'antécédent de tunellite est statistiquement significative ( $p = 0,0335$ ), mais le groupe ayant des antécédents de tunellite ne comportait que 3 patients. Les antécédents d'infection sur cathéter étaient associées non seulement à un portage de SA élevé de 58,3 % mais aussi à un portage de SARM élevé de 16 %, sans qu'il y ait eu de différence statistiquement significative avec le groupe sans antécédents d'infection sur cathéter (voir Tableau 12). Ces résultats sont concordants avec les données de la littérature. Kluytmans *et al.* dans une revue de la littérature des infections à SA conclut que les infections à SA (péritonites, infection de cathéter, tunellite, bactériémie (pour les porteurs de cathéter) et toutes infections confondues) chez les patients dialysés sont associées à un portage de SA plus important (99). Des résultats plus récents vont dans le même sens (140,142,148). Lu PL *et al.* rapportent en plus l'usage récent d'antibiotique associé à un portage de SA augmenté et dans sont étude, les porteurs de SARM avaient plus de risque de développer une infection à SARM par la suite (142).

Dans la population de patients n'ayant pas eu d'hospitalisations dans l'année précédant le prélèvement (voir Tableau 13 et Figure 19), les portages de SA et de SARM étaient plus faibles que les portages dans la population de patients ayant été hospitalisés dans l'année précédant le prélèvement : SA 37,3 % vs 41,5% et SARM 7,5 % vs 8,7% ; mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Le portage de SA et surtout celui de SARM avait tendance à augmenter avec le nombre d'hospitalisations dans l'année précédant le prélèvement. Les publications étudiant les déterminants du portage du SARM vont dans le même sens que nos résultats, l'exposition au réseau de soins ou la fréquentation de l'hôpital dans l'année précédente est un facteur de risque de portage de SARM (149-153). Le portage de SA par contre, ne peut pas être expliqué uniquement par l'exposition à la bactérie, il faut prendre en compte les facteurs de

prédisposition de l'hôte tels que la quantité et la nature des récepteurs dans les fosses nasales, la réponse immunitaire aboutissant à l'élimination ou la tolérance de SA et les autres composés solubles anti-staphylococciques dans les sécrétions nasales (2). Il faut aussi prendre en compte des facteurs d'origine bactérienne qui définissent quelle souche est portée. L'influence des facteurs bactériens se base probablement sur la compétition bactérienne, les interférences bactériennes et la présence ou l'absence d'un tropisme pour le site anatomique. L'exposition à une souche ayant une meilleure capacité à la transmission et au portage peut expliquer un taux de portage plus élevé dans certain groupes, comme les patients en cours de dialyse (2).

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative de portage de SA ou de SARM entre les groupes ayant du diabète ou de l'HTA et les groupes n'en ayant pas, bien que les taux de portage de SA soit un peu plus élevé dans le groupe ayant du diabète (voir Figure 20). Il y a peu de données sur le portage de SA et de SARM en fonction des facteurs de risque cardiovasculaires, surtout dans la population hémodialysée et celles-ci ne sont pas toujours homogènes. Plusieurs concernent le diabète et comme nos résultats semblent aller dans le sens d'un portage de SARM augmenté chez les patients diabétiques (154-156,149) alors que d'autres ne mettent pas en évidence de relation avec le diabète (157,158). Au sein des patients diabétiques, il semble que le traitement joue un rôle avec une diminution du portage de SARM suivant l'importance du traitement, les patients traités par régime seul ont un portage supérieur aux patients traités par antidiabétiques oraux qui ont un portage supérieur au patients insulino-requérants (4,156). L'hypertension artérielle semble être protectrice (156), ou n'avoir pas de relation (158). Si l'on regroupe les autres facteurs de risque : la broncho-pneumopathie chronique obstructive, un antécédent de syndrome coronarien aigu et la prise d'antibiotiques dans les 3 derniers mois semblent être associés à un portage de SARM plus élevé (156). Le tabagisme actif ou les anciens fumeurs, les antécédents de chirurgie coronaire ne semblent pas avoir de relation avec le portage de SA (154).

Chez les patients porteurs de SA ou de SARM, la durée moyenne de dialyse est plus élevée que celle des patients non porteurs, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative. Néanmoins, nos résultats se rapprochent des données de la littérature qui rapportent une durée de dialyse plus élevée chez les patients porteurs de SA (140) ainsi que chez les patients porteurs de SARM (157).

Aucune de nos souches de SA isolée n'était porteuse du gène de la LPV. Nous n'avons pas isolé de SARM-C. L'émergence des SARM-C au sein de la population dialysée est très ponctuelle en

Europe. Un cas de bactériémie à SARM-C à point de départ cutané chez un patient dialysé en Italie (110) et le seul patient porteur de SARM portait un SARM-C sur une étude de prévalence du portage nasal (103). Il n'y a pas de données publiées dans la population dialysée, pour l'instant en France. En ce qui concerne les États-Unis : il est mis en évidence un taux croissant d'infections à SARM-C dans la population dialysée, avec une grande proportion de clones USA300, principalement des bactériémies dont le point de départ est le cathéter de dialyse (107). Dans une étude de 2009 à l'hôpital de Detroit, le portage nasal de patients dialysés était de 33% de SA, 22% pour le SARM et 8% de SARM-C (108).

Nous avons isolé 41 souches de SARM chez 24 patients. Pour les patients ayant du SARM sur plusieurs prélèvements, nous avons étudié une seule souche par patient quand les souches étaient morphotypiquement identiques. Au total, nous avons analysé 26 souches chez les 24 patients porteurs de SARM. Les profils de restriction que nous avons obtenus à partir de ces 26 souches de SARM nous ont permis d'identifier 6 profils clonaux différents numérotés de A à F. A l'intérieur de certains clones, nous avons mis en évidence des sous-clones.

Le clone A était prédominant et ce sont principalement le clone A et ses sous-clones qui sont retrouvés à l'ALURAD (voir Tableau 11). Le clone A1.2 n'était retrouvé que dans l'unité de dialyse médicalisée de Guéret. Les clones B, C, D, E et F ne sont présents que dans le service d'Hémodialyse, avec une exception pour le profil 19 qui correspond au clone C qui était isolé chez une patiente du centre de dialyse de Buisson. D'après les courriers médicaux de cette patiente, il n'y a pas eu d'hospitalisation dans le service d'hémodialyse, par contre elle est suivie régulièrement en consultation au CHU et y a été opéré pour une cataracte des deux yeux au cours de l'année 2010. La souche commune (A) est retrouvée dans toutes les structures d'accueil de dialyse sauf dans l'unité de dialyse de Guéret. La séance de dialyse ne met pas en évidence de transmission de clone ou de sous-clone au sein d'un même groupe de dialyse. Il n'y avait pas de transmission localisée à une structure d'accueil ou à une séance de dialyse. La présence de 6 clones différents n'est pas en faveur d'une souche épidémique. Nous avons cependant isolé une souche commune A qui est présente dans toutes les structures et unités d'accueil de Limoges et pourrait correspondre à un clone hospitalier local.

## Conclusion

---

*Staphylococcus aureus* est une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le milieu hospitalier. Les patients en cours de dialyse sont particulièrement exposés aux infections staphylococciques, l'accès vasculaire ou péritonéal étant la porte d'entrée majeure de ce pathogène auquel se surajoute un terrain immunodéprimé.

Notre étude a permis de réaliser un état des lieux du portage de SA et de SARM au sein de la population de patients dialysés du service d'Hémodialyse du CHU de Limoges et de l'association de dialyse de proximité de l'ALURAD.

Notre travail souligne l'intérêt de prélever sur différentes localisation anatomiques pour mettre en évidence un portage de SA. Si nous n'avions réalisé que les prélèvements des fosses nasales, nous serions passés à côté de 13,9 % des porteurs de SA.

Nous avons mis en évidence un portage global relativement élevé de SA de 40,5 %, mais le portage global de SARM, à 8,5 % est moyen pour une population de patients dialysés.

Les centres de dialyse (service d'Hémodialyse du CHU et centre de Buisson de l'ALURAD) sont les services qui ont les patients les plus fragilisés et pour lesquels nous avons identifié le plus de facteurs de risque de développer une infection à SA : ils ont la plus grande proportion de patients dialysés sur cathéter de Canaud et le portage de SARM (10,7 %) est beaucoup plus important que celui des patients accueillis en unité d'hémodialyse (3,5 %) (unité de Schoelcher de jour et de nuit, unité de Guéret). Cette différence est statistiquement significative avec un  $p = 0,0494$ . Le portage de SARM était plus important dans le service d'hémodialyse (13,4 %) qu'à l'ALURAD (5,9 %). Cette différence était statistiquement significative avec un  $p = 0,0307$  et probablement liée au fait que le service d'hémodialyse n'accueille que des patients dialysés en centre et que l'ALURAD regroupe un centre de dialyse et des unités de dialyse.

Nous avons mis en évidence un portage de SARM deux fois plus important chez les patients dialysés sur cathéter de Canaud (11,2 %) par rapport aux patients dialysés sur fistule artérioveineuse (6,9 %). Les patients de dialyse péritonéale avaient des portages de SA et de SARM proches de ceux des patients dialysés sur cathéter de Canaud.

Nous n'avons pas mis en évidence de transmission épidémique bien qu'il y ait la présence dans toutes les structures d'accueil d'une souche commune qui pourrait correspondre à un clone hospitalier local.

Notre travail manque de puissance statistique. Les groupes que nous avons définis permettent de mettre en évidence peu de relations statistiquement significatives. Il pourrait être intéressant d'étendre cette étude à plusieurs centres ou encore de déterminer le portage de SA et de SARM plusieurs fois dans le temps afin d'identifier les patients qui sont porteur permanent ou intermittent.

## Références bibliographiques

---

1. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005 Déc;5(12):751-762.
2. Peacock SJ, de Silva I, Lowy FD. What determines nasal carriage of *Staphylococcus aureus*? *Trends Microbiol*. 2001 Déc;9(12):605-610.
3. Nouwen JL, Ott A, Kluytmans-Vandenberg MFG, Boelens HAM, Hofman A, van Belkum A, et al. Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state: derivation and validation of a "culture rule". *Clin. Infect. Dis*. 2004 Sep 15;39(6):806-811.
4. Nouwen JL, Fieren MWJA, Snijders S, Verbrugh HA, van Belkum A. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int*. 2005 Mar;67(3):1084-1092.
5. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005 Déc;5(12):751-762.
6. Acton DS, Plat-Sinnige MJT, van Wamel W, de Groot N, van Belkum A. Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2009 Fév;28(2):115-127.
7. van der Vorm ER, Groenendijk EH. Two hospital staff with throat carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, which had to be treated with systemic antibiotics. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 2003 Mai 31;147(22):1079-1081.
8. Lauderdale TY, Wang J, Lee W, Huang J, McDonald LC, Huang I, et al. Carriage rates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) depend on anatomic location, the number of sites cultured, culture methods, and the distribution of clonotypes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2010 Sep 4 [cité 2010 Sep 24]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/20820833>
9. Bitterman Y, Laor A, Itzhaki S, Weber G. Characterization of the best anatomical sites in screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2010 Avr;29(4):391-397.
10. Denis F, Ploy M, Martin C, Bingen E, Quentin R. Chapitre 29 : Cocci à Gram positif. Dans: *Bactériologie médicale, techniques usuelles*. Elsevier Masson; 2007. p. 251-285.
11. Prévost G, Cribier B, Couppié P, Petiau P, Supersac G, Finck-Barbançon V, et al. Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities. *Infect. Immun*. 1995 Oct;63(10):4121-4129.
12. Panton PN, Valentine FCO. Staphylococcal toxin. 1932 *Lancet* ;222:506-508;
13. Okon K, Basset P, Uba A, Lin J, Oyawoye B, Shittu A, et al. Cooccurrence of predominant Panton-Valentine leukocidin-positive sequence type (ST) 152 and multidrug-resistant ST 241

- Staphylococcus aureus* clones in Nigerian hospitals. J. Clin. Microbiol. 2009 Sep;47(9):3000-3.
14. Aires-de-Sousa M, Conceição T, de Lencastre H. Unusually high prevalence of nosocomial Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* isolates in Cape Verde Islands. J. Clin. Microbiol. 2006 Oct;44(10):3790-3793.
  15. Nagao M, Iinuma Y, Suzuki M, Matsushima A, Takakura S, Ito Y, et al. First outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 harboring the Panton-Valentine leukocidin genes among Japanese health care workers and hospitalized patients. Am J Infect Control [Internet]. 2010 Sep 3 ;Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20822831>
  16. Orendi JM, Coetzee N, Ellington MJ, Boakes E, Cookson BD, Hardy KJ, et al. Community and nosocomial transmission of Panton-Valentine leukocidin-positive community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: implications for healthcare. J. Hosp. Infect. 2010 Apr;75(4):258-264.
  17. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet J, Lina G, Bes M, et al. Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet. 2002 Mar 2;359(9308):753-759.
  18. Gillet Y, Etienne J, Lina G, Vandenesch F. Association of necrotizing pneumonia with Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus*, regardless of methicillin resistance. Clin. Infect. Dis. 2008 Oct 1;47(7):985-986.
  19. Skinner D, Keefer C. Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*. Arch. Intern. Med. 1941;68:851-875.
  20. Neushul P. Science, government, and the mass production of penicillin. J Hist Med Allied Sci. 1993 Oct;48(4):371-395.
  21. Swartz MN. Bacterial meningitis--a view of the past 90 years. N. Engl. J. Med. 2004 Oct 28;351(18):1826-1828.
  22. Kim J. Understanding the Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Clinical Microbiology Newsletter. 2009 Fév 1;31(3):17-23.
  23. Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. Rev. Infect. Dis. 1988 Apr;10(4):677-678.
  24. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. Science. 1944 Jun 2;99(2579):452-453.
  25. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. Lancet. 1948 Oct 23;2(6530):641-644.
  26. Jevons MP, Coe AW, Parker MT. Methicillin resistance in staphylococci. Lancet. 1963 Apr 27;1(7287):904-907.

27. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control*. 2004 Déc;32(8):470-485.
28. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA*. 2007 Oct 17;298(15):1763-1771.
29. Bell JM, Turnidge JD. High prevalence of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from hospitalized patients in Asia-Pacific and South Africa: results from SENTRY antimicrobial surveillance program, 1998-1999. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2002 Mar;46(3):879-881.
30. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin. Infect. Dis*. 2001 Mai 15;32 Suppl 2:S114-132.
31. Tiemersma EW, Bronzwaer SLAM, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *Emerging Infect. Dis*. 2004 Sep;10(9):1627-1634.
32. Berger-Bächli B, Rohrer S. Factors influencing methicillin resistance in *staphylococci*. *Arch. Microbiol*. 2002 Sep;178(3):165-171.
33. Ito T, Okuma K, Ma XX, Yuzawa H, Hiramatsu K. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist. Updat*. 2003 Fév;6(1):41-52.
34. Baba T, Takeuchi F, Kuroda M, Yuzawa H, Aoki K, Oguchi A, et al. Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *Lancet*. 2002 Mai 25;359(9320):1819-1827.
35. Kuroda M, Ohta T, Uchiyama I, Baba T, Yuzawa H, Kobayashi I, et al. Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet*. 2001 Avr 21;357(9264):1225-1240.
36. Fessler AT, Billerbeck C, Kadlec K, Schwarz S. Identification and characterization of methicillin-resistant coagulase-negative *staphylococci* from bovine mastitis. *J. Antimicrob. Chemother*. 2010 Aoû;65(8):1576-1582.
37. Katayama Y, Takeuchi F, Ito T, Ma XX, Ui-Mizutani Y, Kobayashi I, et al. Identification in methicillin-susceptible *Staphylococcus hominis* of an active primordial mobile genetic element for the staphylococcal cassette chromosome mec of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol*. 2003 Mai;185(9):2711-2722.
38. Luong TT, Ouyang S, Bush K, Lee CY. Type 1 capsule genes of *Staphylococcus aureus* are carried in a staphylococcal cassette chromosome genetic element. *J. Bacteriol*. 2002 Jul;184(13):3623-3629.

39. Chen L, Mediavilla JR, Oliveira DC, Willey BM, de Lencastre H, Kreiswirth BN. Multiplex real-time PCR for rapid Staphylococcal cassette chromosome mec typing. *J. Clin. Microbiol.* 2009 Nov;47(11):3692-3706.
40. Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009 Déc;53(12):4961-4967.
41. Valvatne H, Rijnders MIA, Budimir A, Boumans M, de Neeling AJ, Beisser PS, et al. A rapid, 2-well, multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of SCCmec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2009 Déc;65(4):384-391.
42. Ito T, Katayama Y, Hiramatsu K. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire mec DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999 Jun;43(6):1449-1458.
43. Ito T, Katayama Y, Asada K, Mori N, Tsutsumimoto K, Tiensasitorn C, et al. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome mec integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001 Mai;45(5):1323-1336.
44. Berglund C, Ito T, Ikeda M, Ma XX, Söderquist B, Hiramatsu K. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec in a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated in Sweden. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008 Oct;52(10):3512-3516.
45. Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K. Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004 Jul;48(7):2637-2651.
46. Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C, Jamklang M, Chongtrakool P, Boyle-Vavra S, et al. Novel type of staphylococcal cassette chromosome mec identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002 Avr;46(4):1147-1152.
47. Oliveira DC, Milheiriço C, de Lencastre H. Redefining a structural variant of staphylococcal cassette chromosome mec, SCCmec type VI. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006 Oct;50(10):3457-3459.
48. Zhang K, McClure J, Elsayed S, Conly JM. Novel staphylococcal cassette chromosome mec type, tentatively designated type VIII, harboring class A mec and type 4 ccr gene complexes in a Canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009 Fév;53(2):531-540.
49. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect. Genet. Evol.* 2008 Déc;8(6):747-763.
50. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerging Infect. Dis.* 2003 Aoû;9(8):978-984.

51. Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin. Infect. Dis.* 2003 Jan 15;36(2):131-139.
52. Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerging Infect. Dis.* 2001 Avr;7(2):178-182.
53. Deresinski S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. *Clin. Infect. Dis.* 2005 Fév 15;40(4):562-573.
54. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. *N. Engl. J. Med.* 1998 Aoû 20;339(8):520-532.
55. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al. Comparison of community- and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA.* 2003 Déc 10;290(22):2976-2984.
56. Durupt F, Tristan A, Bes M, Vandenesch F, Etienne J. Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Med Mal Infect.* 2005 Jun;35 Suppl 2:S38-40.
57. Etienne J. Panton-Valentine leukocidin: a marker of severity for *Staphylococcus aureus* infection? *Clin. Infect. Dis.* 2005 Sep 1;41(5):591-593.
58. Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, et al. Global distribution of Panton-Valentine leukocidin--positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerging Infect. Dis.* 2007 Avr;13(4):594-600.
59. Aiello AE, Lowy FD, Wright LN, Larson EL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among US prisoners and military personnel: review and recommendations for future studies. *Lancet Infect Dis.* 2006 Jun;6(6):335-341.
60. Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *J. Hosp. Infect.* 2007 Oct;67(2):109-113.
61. Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. Are community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains replacing traditional nosocomial MRSA strains? *Clin. Infect. Dis.* 2008 Mar 15;46(6):787-794.
62. Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J. Hosp. Infect.* 1993 Oct;25(2):97-108.
63. Carleton HA, Diep BA, Charlebois ED, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. Community-adapted methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): population dynamics of an expanding community reservoir of MRSA. *J. Infect. Dis.* 2004 Nov 15;190(10):1730-1738.
64. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. *Clin. Infect. Dis.* 2002 Oct 1;35(7):819-824.
65. Cohen PR, Grossman ME. Management of cutaneous lesions associated with an emerging epidemic: community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2004 Jul;51(1):132-135.

66. Dominguez TJ. It's not a spider bite, it's community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Board Fam Pract*. 2004 Jun;17(3):220-226.
67. Fagan SP, Berger DH, Rahwan K, Awad SS. Spider Bites Presenting with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Soft Tissue Infection Require Early Aggressive Treatment. *Surg Infect (Larchmt)*. 2003;4(4):311-315.
68. Isbister GK, Whyte IM. Suspected white-tail spider bite and necrotic ulcers. *Intern Med J*. 2004 Fév;34(1-2):38-44.
69. Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, et al. Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Los Angeles. *N. Engl. J. Med*. 2005 Avr 7;352(14):1445-1453.
70. Ruiz ME, Yohannes S, Wladyka CG. Pyomyositis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *N. Engl. J. Med*. 2005 Avr 7;352(14):1488-1489.
71. Cohen PR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: implications for patients and practitioners. *Am J Clin Dermatol*. 2007;8(5):259-270.
72. Wang J, Wang J, Fang C, Chie W, Lai M, Lauderdale T, et al. Risk Factors for Mortality of Nosocomial Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Bloodstream Infection: With Investigation of the Potential Role of Community-associated MRSA Strains. *J Infect [Internet]*. 2010 Sep 24 [cité 2010 Oct 1]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/20875455>
73. Wang J, Wang J, Chen S, Chen Y, Chang S. Distribution of staphylococcal cassette chromosome mec Types and correlation with comorbidity and infection type in patients with MRSA bacteremia. *PLoS ONE*. 2010;5(3):e9489.
74. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N. Engl. J. Med*. 2006 Aoû 17;355(7):666-674.
75. Gonzalez BE, Rueda AM, Shelburne SA, Musher DM, Hamill RJ, Hulten KG. Community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as the cause of healthcare-associated infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2006 Oct;27(10):1051-1056.
76. Bartels MD, Nanuashvili A, Boye K, Rohde SM, Jashiashvili N, Faria NA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals in Tbilisi, the Republic of Georgia, are variants of the Brazilian clone. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2008 Aoû;27(8):757-760.
77. Stam-Bolink EM, Mithoe D, Baas WH, Arends JP, Möller AVM. Spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST80 strain in the community of the northern Netherlands. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 2007 Oct;26(10):723-727.
78. Larsen AR, Stegger M, Böcher S, Sørnum M, Monnet DL, Skov RL. Emergence and characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Denmark, 1999 to 2006. *J. Clin. Microbiol*. 2009 Jan;47(1):73-78.

79. Fang H, Hedin G, Li G, Nord CE. Genetic diversity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in southern Stockholm, 2000-2005. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008 Avr;14(4):370-376.
80. Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM. *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leucocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J. Clin. Microbiol.* 2005 Mai;43(5):2384-2390.
81. Chini V, Petinaki E, Foka A, Paratiras S, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006 Jan;12(1):29-34.
82. Ramdani-Bougnessa N, Bes M, Meugnier H, Forey F, Reverdy M, Lina G, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying the Panton-Valentine leukocidin genes in an Algiers hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006 Mar;50(3):1083-1085.
83. Maugat S, de Rougemont A, Aubry-Damon H, Reverdy M, Georges S, Vandenesch F, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among a network of French private-sector community-based-medical laboratories. *Med Mal Infect.* 2009 Mai;39(5):311-318.
84. Dauwalder O, Lina G, Durand G, Bes M, Meugnier H, Jarlier V, et al. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. *J. Clin. Microbiol.* 2008 Oct;46(10):3454-3458.
85. Shukla SK, Ramaswamy SV, Conradt J, Stemper ME, Reich R, Reed KD, et al. Novel polymorphisms in mec genes and a new mec complex type in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates obtained in rural Wisconsin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004 Aoû;48(8):3080-3085.
86. Kim ES, Song JS, Lee HJ, Choe PG, Park KH, Cho JH, et al. A survey of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007 Nov;60(5):1108-1114.
87. O'Brien FG, Lim TT, Chong FN, Coombs GW, Enright MC, Robinson DA, et al. Diversity among community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *J. Clin. Microbiol.* 2004 Jul;42(7):3185-3190.
88. Park C, Lee D, Kim SW, Choi S, Park SH, Chun H, et al. Predominance of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying staphylococcal chromosome cassette mec type IVA in South Korea. *J. Clin. Microbiol.* 2007 Déc;45(12):4021-4026.
89. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC. The emergence and importation of diverse genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) harboring the Panton-Valentine leukocidin gene (*pvl*) reveal that *pvl* is a poor marker for community-acquired MRSA strains in Ireland. *J. Clin. Microbiol.* 2007 Aoû;45(8):2554-2563.
90. Wannet WJB, Spalburg E, Heck MEOC, Pluister GN, Tiemersma E, Willems RJL, et al. Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leucocidin genes in The Netherlands. *J. Clin. Microbiol.* 2005 Jul;43(7):3341-3345.

91. Jeong H, Lee J, Choi B, Seo K, Park S, Kim Y, et al. Molecular epidemiology of community-associated antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus* in Seoul, Korea (2003): pervasiveness of multidrug-resistant SCCmec type II methicillin-resistant *S. aureus*. *Microb. Drug Resist.* 2007;13(3):178-185.
92. Cookson BD, Robinson DA, Monk AB, Murchan S, Deplano A, de Ryck R, et al. Evaluation of molecular typing methods in characterizing a European collection of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: the HARMONY collection. *J. Clin. Microbiol.* 2007 Jun;45(6):1830-1837.
93. Feil EJ, Enright MC. Analyses of clonality and the evolution of bacterial pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* 2004 Jun;7(3):308-313.
94. Maiden MC, Bygraves JA, Feil E, Morelli G, Russell JE, Urwin R, et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998 Mar 17;95(6):3140-3145.
95. Spratt BG. Multilocus sequence typing: molecular typing of bacterial pathogens in an era of rapid DNA sequencing and the internet. *Curr. Opin. Microbiol.* 1999 Jun;2(3):312-316.
96. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 2000 Mar;38(3):1008-1015.
97. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 1995 Sep;33(9):2233-2239.
98. Société de Néphrologie - commission de dialyse. Information des patients : la dialyse. *Néphrologie & Thérapeutique.* 2006 Fév;2(1):29-31.
99. Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997 Jul;10(3):505-520.
100. Costa SF, Miceli MH, Anaissie EJ. Mucosa or skin as source of coagulase-negative staphylococcal bacteraemia? *Lancet Infect Dis.* 2004 Mai;4(5):278-286.
101. Peacock SJ, Mandal S, Bowler ICJW. Preventing *Staphylococcus aureus* infection in the renal unit. *QJM.* 2002 Jun;95(6):405-410.
102. Vandecasteele SJ, Boelaert JR, De Vriese AS. *Staphylococcus aureus* infections in hemodialysis: what a nephrologist should know. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Aoû;4(8):1388-1400.
103. Kozioł-Montewka M, Szczepanik A, Baranowicz I, Józwiak L, Książek A, Kaczor D. The investigation of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci nasal carriage among patients undergoing haemodialysis. *Microbiol. Res.* 2006;161(4):281-287.
104. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2003 Jan 1;36(1):53-59.

105. Whitby M, McLaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med. J. Aust.* 2001 Sep 3;175(5):264-267.
106. Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, Griffiths RI, Anstrom KJ, Kaye KS, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2005 Fév;26(2):175-183.
107. Johnson LB, Venugopal AA, Pawlak J, Saravolatz LD. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among patients with end-stage renal disease. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006 Oct;27(10):1057-1062.
108. Johnson LB, Jose J, Yousif F, Pawlak J, Saravolatz LD. Prevalence of colonization with community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among end-stage renal disease patients and healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan;30(1):4-8.
109. Lin C, Wang J, Lin C, Chen S, Wang J, Wu K, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients with end-stage renal disease in Taiwan: distinguishing between community-associated and healthcare-associated strains. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan;30(1):89-92.
110. Giannella M, Monaco M, Nicosia R, Chiarini F, Pantosti A, Venditti M. A dialysis patient with bacteremia caused by a community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) carrying the staphylococcal chromosome cassette (SCC) mec type V. *J Chemother.* 2008 Jun;20(3):402-404.
111. Macron-Noguès F, Vernay M, Ekong E, Thiard B, Salanave B, Fender P, et al. The Prevalence of ESRD Treated With Renal Dialysis in France in 2003. *American Journal of Kidney Diseases.* 2005 Aoû;46(2):309-315.
112. Jean G. Incidence and risk factors for infections from hemodialysis catheters. *Nephrologie.* 2001;22(8):443-448.
113. Hoen B, Paul-Dauphin A, Hestin D, Kessler M. EPIBACDIAL: a multicenter prospective study of risk factors for bacteremia in chronic hemodialysis patients. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1998 Mai;9(5):869-876.
114. Jean G, Charra B, Chazot C, Vanel T, Terrat JC, Hurot JM, et al. Risk factor analysis for long-term tunneled dialysis catheter-related bacteremias. *Nephron.* 2002 Jul;91(3):399-405.
115. Ayzac L, Béruard M, Girard R, Hannoun J, Kuentz F, Marc J, et al. [Dialin: infection surveillance network for haemodialysis patients. First results]. *Nephrol. Ther.* 2009 Fév;5(1):41-51.
116. Frimat L, Hoen B, Burdin J, Cao Huu T, Chanliau J, Hestin D, et al. Principales caractéristiques épidémiologiques des septicémies à staphylocoques chez les hémodialysés chroniques. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 1991;21(6):367-370.
117. Roubicek C, Brunet P, Mallet MN, Dussol B, Gonzales A, Andrieu D, et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: prevalence in a hemodialysis center and effect on bacteremia. *Nephrologie.* 1995;16(3):229-232.

118. Lemaire X, Morena M, Leray-Moragués H, Henriët-Viprey D, Chenine L, Defez-Fougeron C, et al. Analysis of risk factors for catheter-related bacteremia in 2000 permanent dual catheters for hemodialysis. *Blood Purif.* 2009;28(1):21-28.
119. Hajjar J, Girard R, Marc JM, Ducruet L, Bérnard M, Fadel B, et al. Surveillance of infections in chronic hemodialysis patients. *Néphrologie.* 2004;25(4):133-140.
120. Cattoen C, Lemaitre V, Bouillet L, Gobert P, Berrouane Y, Chatelain C, et al. Infections à *Staphylococcus aureus* chez l'hémodialysé et portage nasal. Utilisation de la mupirocine. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 1994 Juin;24(Supplément 3):668-673.
121. Daube D, Laborie J, Schvoerer C, Lepoutre A, Quittançon F, Chaperon J, et al. Infections cutanées à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline et producteurs de leucocidine de Panton-Valentine, Côte d'Armor, octobre 1999 à août 2002. *BEH.* 2003;47:229-230.
122. Smyth RW, Kahlmeter G, Olsson Liljequist B, Hoffman B. Methods for identifying methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 2001 Jun;48(2):103-107.
123. Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* 2002 Fév;70(2):631-641.
124. Bloembergen WE, Port FK. Epidemiological perspective on infections in chronic dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther.* 1996 Jul;3(3):201-207.
125. Nassar GM, Ayus JC. Infectious complications of the hemodialysis access. *Kidney Int.* 2001 Jul;60(1):1-13.
126. Kessler M, Hoen B, Mayeux D, Hestin D, Fontenaille C. Bacteremia in patients on chronic hemodialysis. A multicenter prospective survey. *Nephron.* 1993;64(1):95-100.
127. Taylor G, Gravel D, Johnston L, Embil J, Holton D, Paton S. Incidence of bloodstream infection in multicenter inception cohorts of hemodialysis patients. *Am J Infect Control.* 2004 Mai;32(3):155-160.
128. Taylor G, Gravel D, Johnston L, Embil J, Holton D, Paton S. Prospective surveillance for primary bloodstream infections occurring in Canadian hemodialysis units. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002 Déc;23(12):716-720.
129. Stevenson KB, Hannah EL, Lowder CA, Adcox MJ, Davidson RL, Mallea MC, et al. Epidemiology of hemodialysis vascular access infections from longitudinal infection surveillance data: predicting the impact of NKF-DOQI clinical practice guidelines for vascular access. *Am. J. Kidney Dis.* 2002 Mar;39(3):549-555.
130. Eveillard M, de Lassence A, Lancien E, Barnaud G, Ricard J, Joly-Guillou M. Evaluation of a strategy of screening multiple anatomical sites for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to a teaching hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006 Fév;27(2):181-184.
131. Lim MSC, Marshall CL, Spelman D. Carriage of multiple subtypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by intensive care unit patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006 Oct;27(10):1063-1067.

132. Meurman O, Routamaa M, Peltonen R. Screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: which anatomical sites to culture? *J. Hosp. Infect.* 2005 Déc;61(4):351-353.
133. Williams RE. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev.* 1963 Mar;27:56-71.
134. Barraclough KA, Hawley CM, Playford EG, Johnson DW. Prevention of access-related infection in dialysis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009 Déc;7(10):1185-1200.
135. Twardowski ZJ, Prowant BF. Current approach to exit-site infections in patients on peritoneal dialysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997 Jun;12(6):1284-1295.
136. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005 Déc;5(12):751-762.
137. White A. Increased infection rates in heavy nasal carriers of coagulase-positive *staphylococci*. *Antimicrob Agents Chemother (Bethesda).* 1963;161:667-670.
138. Wertheim HFL, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JAJW, et al. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet.* 2004 Aoû 21;364(9435):703-705.
139. Motamedifar M, Hassanzadeh P, Ghafari N. Relative frequency of staphylococcal carriage and antibiotic sensitivity of isolated *staphylococci* in hemodialysis patients in Shiraz, Iran. *Med Princ Pract.* 2010;19(5):379-383.
140. Ghasemian R, Najafi N, Makhloogh A, Khademloo M. Frequency of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and its antimicrobial resistance pattern in patients on hemodialysis. *Iran J Kidney Dis.* 2010 Jul;4(3):218-222.
141. Saxena AK, Panhotra BR, Chopra R. Advancing age and the risk of nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among patients on long-term hospital-based hemodialysis. *Ann Saudi Med.* 2004 Oct;24(5):337-342.
142. Lu P, Tsai J, Chiu Y, Chang F, Chen Y, Hsiao C, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, infection and transmission in dialysis patients, healthcare workers and their family members. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008 Mai;23(5):1659-1665.
143. Lederer SR, Riedelsdorf G, Schiffl H. Nasal carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: the prevalence, patients at risk and the effect of elimination on outcomes among outclinic haemodialysis patients. *Eur. J. Med. Res.* 2007 Jul 26;12(7):284-288.
144. Resić H, Corić A, Dedeić-Ljubović A, Hukić M, Avdić E, Kukavica N. Prevalence of MRSA infections in patients on hemodialysis. *Med. Pregl.* 2007;60 Suppl 2:97-100.
145. Pujol M, Peña C, Pallares R, Ariza J, Ayats J, Dominguez MA, et al. Nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia among nasal carriers of methicillin-resistant and methicillin-susceptible strains. *Am. J. Med.* 1996 Mai;100(5):509-516.

146. Zimakoff J, Bangsgaard Pedersen F, Bergen L, Baagø-Nielsen J, Daldorph B, Espersen F, et al. *Staphylococcus aureus* carriage and infections among patients in four haemo- and peritoneal-dialysis centres in Denmark. The Danish Study Group of Peritonitis in Dialysis (DASPID). J. Hosp. Infect. 1996;33(4):289-300.
147. Nouwen J, Schouten J, Schneebergen P, Snijders S, Maaskant J, Koolen M, et al. *Staphylococcus aureus* carriage patterns and the risk of infections associated with continuous peritoneal dialysis. J. Clin. Microbiol. 2006 Jun;44(6):2233-2236.
148. Johnson DW, MacGinley R, Kay TD, Hawley CM, Campbell SB, Isbel NM, et al. A randomized controlled trial of topical exit site mupirocin application in patients with tunnelled, cuffed haemodialysis catheters. Nephrol. Dial. Transplant. 2002 Oct;17(10):1802-1807.
149. Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, McQuillan G, McDougal LK, Fosheim GE, et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. J. Infect. Dis. 2008 May 1;197(9):1226-1234.
150. Layton MC, Hierholzer WJ, Patterson JE. The evolving epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a university hospital. Infect Control Hosp Epidemiol. 1995 Jan;16(1):12-17.
151. Warshawsky B, Hussain Z, Gregson DB, Alder R, Austin M, Bruckschwaiger D, et al. Hospital- and community-based surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: previous hospitalization is the major risk factor. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000 Nov;21(11):724-727.
152. Eveillard M, Ernst C, Cuviller S, Lescure F, Malpoux M, Defouilloy I, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage at the time of admission in two acute geriatric wards. J. Hosp. Infect. 2002 Fév;50(2):122-126.
153. Boyce JM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Detection, epidemiology, and control measures. Infect. Dis. Clin. North Am. 1989 Déc;3(4):901-913.
154. Healy DG, Duignan E, Tolan M, Young VK, O'Connell B, McGovern E. Should cardiac surgery be delayed among carriers of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to reduce methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-related morbidity by preoperative decolonisation? Eur J Cardiothorac Surg [Internet]. 2010 Jul 19 [cité 2010 Sep 27]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gate2.inist.fr/pubmed/20663681>
155. Saxena AK, Panhotra BR, Venkateshappa CK, Sundaram DS, Naguib M, Uzzaman W, et al. The impact of nasal carriage of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MRSA & MSSA) on vascular access-related septicemia among patients with type-II diabetes on dialysis. Ren Fail. 2002 Nov;24(6):763-777.
156. Daeschlein G, Assadian O, Rangous I, Kramer A. Risk factors for *Staphylococcus aureus* nasal carriage in residents of three nursing homes in Germany. J. Hosp. Infect. 2006 Jun;63(2):216-220.
157. Duran N, Ocak S, Eskiocak AF. *Staphylococcus aureus* nasal carriage among the diabetic and non-diabetic haemodialysis patients. Int. J. Clin. Pract. 2006 Oct;60(10):1204-1209.

158. Lu P, Chin L, Peng C, Chiang Y, Chen T, Ma L, et al. Risk factors and molecular analysis of community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. J. Clin. Microbiol. 2005 Jan;43(1):132-139.

## TABLE DES MATIERES

---

Introduction .....	10
Rappels bibliographiques.....	11
1. <i>Staphylococcus aureus</i> (SA).....	12
1.1. Le portage de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
1.2. Clinique .....	13
2. Leucotoxine de Panton Valentine .....	14
3. Evolution de la sensibilité aux antibiotiques de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
4. <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i> .....	17
5. Différence entre SAMRM-C et SARM-H .....	20
6. Pathogénicité et épidémiologie des SARM-C.....	22
7. Typage biologique moléculaire de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
7.1. Multilocus Sequence Typing (MLST).....	25
7.2. Electrophorèse sur gel, en champs pulsés.....	26
8. Dialyse et <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
8.1. Généralités (98) .....	29
8.2. Les particularités de la population dialysée face aux infections à SA.....	31
8.3. Hémodialysés et SARM .....	32
8.4. Hémodialysés et SARM-C.....	32
8.5. Les données françaises .....	33
Introduction à l'étude expérimentale.....	35
1. Hypothèse de recherche et résultats attendus.....	36
2. Justification des choix méthodologiques .....	37
3. Rapport bénéfice / risque.....	38

4.	Retombées attendues .....	38
5.	Objectifs.....	38
5.1.	Objectif principal.....	38
5.2.	Objectifs secondaires.....	38
6.	Schéma de l'étude .....	39
Matériel et méthodes .....		41
1.	Matériel .....	42
1.1.	Durée de l'étude .....	42
1.2.	Population.....	42
1.3.	Prélèvements bactériologiques et recueil de données .....	43
1.3.1.	<i>Echantillon</i> .....	43
1.3.2.	<i>Questionnaire</i> .....	43
2.	Méthodes .....	45
2.1.	Approche bactériologique classique.....	47
2.1.1.	<i>Enrichissement</i> .....	47
2.1.2.	<i>Isolement des souches de Staphylococcus aureus</i> .....	47
2.1.3.	<i>Identification des souches de Staphylococcus aureus</i> .....	48
2.1.4.	<i>Sensibilité des souches à la méticilline</i> .....	48
2.1.5.	<i>Conservation des souches</i> .....	48
2.2.	Approche biologique moléculaire.....	48
2.2.1.	<i>Extraction d'ADN</i> .....	48
2.2.2.	<i>Contrôle de l'extraction</i> .....	49
2.2.3.	<i>Mise en évidence des gènes mecA et du gène de la leucotoxine de Panton-Valentine</i> .....	49
2.2.3.1.	<b>mecA</b> .....	50
2.2.3.2.	<b>La Leucotoxine de Panton Valentine</b> .....	50
2.2.4.	<i>Typage des souches de SARM</i> .....	50
2.2.4.1.	<b>Electrophorèse en champs pulsés (PGFE)</b> .....	50
2.3.	Analyses statistiques.....	52
Résultats .....		53
1.	Population .....	54

2.	Approche bactériologique .....	56
3.	Prévalence du portage .....	57
3.1.	Globale .....	57
3.2.	En fonction du prélèvement .....	59
3.3.	En fonction du type d'abord de dialyse et du type de dialyse.....	67
3.4.	En fonction de l'unité de dialyse.....	68
4.	Typage par électrophorèse en champs pulsés .....	71
5.	Détection du gène de la leucotoxine de Panton-Valentine .....	75
6.	Données cliniques .....	75
6.1.	Infections dans l'année précédant le prélèvement et portage .....	75
6.2.	Hospitalisation dans l'année précédant le prélèvement et portage .....	76
6.3.	Association du portage de SA et de SARM avec le diabète et l'hypertension artérielle (HTA) .....	78
6.4.	Durée de dialyse .....	79
	Discussion .....	80
	Conclusion.....	89
	Références bibliographiques .....	91
	TABLE DES MATIERES.....	104
	Serment d'Hippocrate.....	107

## Serment d'Hippocrate

---

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, idéologie ou situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers mes patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples ; si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

## PORTAGE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DANS LA POPULATION DE PATIENTS DIALYSES DU CHU DE LIMOGES ET DE L'ALURAD

*Staphylococcus aureus* est une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le milieu hospitalier. Les patients en cours de dialyse sont particulièrement exposés aux infections staphylococciques, l'accès vasculaire ou péritonéal étant la porte d'entrée majeure de ce pathogène auquel se surajoute un terrain immunodéprimé. Nous avons évalué le taux du portage de *Staphylococcus aureus* (SA) sur une population de patients hémodialysés et dialysés péritonéaux au CHU de Limoges et à l'ALURAD. Nous avons effectué des prélèvements sur écouvillon, au niveau nasal, oropharyngé et au niveau d'éventuelles effractions cutanées (orifice de cathéter et lésions cutanées), puis déterminé la sensibilité à la méticilline et effectué une recherche du gène de la leucotoxine de Pantone-Valentine sur les souches de SA isolées à partir des prélèvements. Un typage par électrophorèse en champs pulsés (ECP) a été réalisé sur les souches méticillino-résistantes (SARM).

284 patients ont été prélevés, 245 patients d'hémodialyse et 39 patients de dialyse péritonéale. Le portage global de SA était de 40,5 % (n=115) et celui de SARM de 8,4% (n=24). Le portage nasal seul détectait 86,1 % des porteurs de SA, les autres prélèvements permettent de rattraper 13,9 % des porteurs. Les centres de dialyse (service d'Hémodialyse du CHU et centre de Buisson de l'ALURAD) accueillant les patients les plus fragilisés, ont aussi le plus de facteurs de risque de développer une infection à SA : une plus grande proportion de patients dialysés sur cathéter de Cnaud et un portage de SARM (10,7 %) beaucoup plus important que celui des patients accueillis en unité d'hémodialyse (3,5 %) (unité de Schoelcher et de Guéret de l'ALURAD). Cette différence est statistiquement significative (p=0,0494). Aucun des SA isolés n'hébergeait le gène de la leucotoxine de Pantone-Valentine. L'analyse ECP n'a pas mis en évidence de transmission épidémique

Nous avons trouvé un taux élevé de portage de SA (40,5 %) et un taux moyen de portage de SARM (8,4 %) pour une population dialysée. Cette étude a montré le bénéfice de multiplier les sites de prélèvement pour une meilleure détection du portage et l'intérêt de la surveillance du portage de SA dans la population dialysée.

### ***Staphylococcus aureus* carriage among dialysis patient of Limoges teaching hospital and ALURAD**

*Staphylococcus aureus* (SA) contribute significantly to morbidity and mortality in the hospital. Patients on dialysis are especially exposed to SA infections, due to the vascular or peritoneal dialysis access associated with immunodepression. We performed a transversal study of SA carriage among the hemodialysis and peritoneal dialysis population of Limoges Teaching Hospital and ALURAD. We obtained nasal, throat and skin (dialysis catheter hole and skin lesion) swabs, and after isolation of SA strains from the swab, we determined the methicillin susceptibility and Pantone-Valentine leucocidin gene presence. A Pulsed Field Gel Electrophoresis (PGFE) typing was performed on methicillin-resistant SA (MRSA) strain.

A total of 284 patients were included, 245 receiving on-going hémodialysis and 39 receiving on-going peritoneal dialysis. Global SA carriage was 40.5 % and global MRSA carriage was 8.4 %. Nasal carriage detected only 86.1 % of the total SA carriers (115 patients). The other anatomical localizations allowed to detect 13.9 % additional SA carriers that otherwise would not have been found. Dialysis centers (Hemodialysis ward and Buisson center of ALURAD) which receive the most vulnerable patients also had the greatest risk factors for developing SA infections: a greater rate of catheter dialysis access and a greater rate of MRSA carriage (10.7 %) compared to dialysis units (3.5 %) (Schoelcher and Guéret ALURAD units). The difference was statistically significant (p=0.0494). All MRSA strains were negative for Pantone-Valentine leucocidin. The PGFE typing didn't show an MRSA epidemic.

We report a high rate of SA carriage (40.5 %) but an average SARM carriage (8.4 %) for a dialysis population. Our study provides evidence of the benefit of multiple anatomical localization samples in the detection of SA carriage, it also highlights the need to survey the dialysis population for SA carriage.

**DISCIPLINE : Médecine**

**MOTS CLES :** *Staphylococcus aureus*, résistant à la méticilline, portage, dialyse, accès vasculaire, surveillance

**LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE-HYGIENE  
CHRU DUPUYTREN  
2 avenue Martin Luther King  
87042 Limoges Cedex**