

UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

MEMOIRE PRESENTE A

UNIVERSITE DU QUEBEC A TROIS-RIVIERES

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAITRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR

JOHANNE DIONNE

ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES

A STAPHYLOCOCCUS AUREUS

AOUT 1984

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

Résumé

Les infections nosocomiales sont devenues avec le modernisme hospitalier, un des problèmes de santé publique les plus préoccupants du monde occidental. On évalue qu'environ 5 à 8% des patients acquièrent une infection au cours de leur hospitalisation. De ce nombre, au moins 10% sont dues au Staphylococcus aureus. Cette prévalence des infections nosocomiales à S. aureus dépend en partie des attributs de cette bactérie. En effet, le S. aureus fait partie de la flore bactérienne normale du nez chez presque la moitié de la population. De plus il produit un vaste éventail d'enzymes et de toxines et possède une adaptation remarquable aux antibiotiques, leur facilitant l'invasion infectieuse. Le risque d'infections nosocomiales est aussi accru par la proximité humaine prévalant dans un hôpital et par certaines conditions retrouvées chez plusieurs patients. Devant l'importance de ce problème, nous avons entrepris au Centre Hospitalier Ste-Marie une étude sur l'épidémiologie et l'étiologie des infections nosocomiales à S. aureus, dans le but de préciser les orientations d'un éventuel programme de prévention. Les principaux outils de ce travail étaient le typage par les bactériophages, la détermination de la résistance aux antibiotiques et la détection de l'entérotoxigénicité des souches de S. aureus isolées chez les patients, le personnel hospitalier et sur les lieux physiques ainsi que la consultation des dossiers médicaux des patients concernés. Nous avons pu déterminer tout d'abord que les souches de S. aureus isolées au CHSM ne possédaient aucun caractère indicateur d'une pathogénicité accrue, que ce soit

au niveau des types phagiques, de l'entérotoxigénicité ou de la résistance aux antibiotiques. Une situation identique prévalait au CH Cloutier. Ceci nous a amené à suggérer comme seule mesure de surveillance bactériologique, l'établissement d'un système informatisé de compilation des antibiotypes. Ce système faciliterait grandement le travail du Comité d'infection. Ensuite on a observé qu'environ la moitié des patients étudiés souffraient d'auto-infection causée par leur propre souche nasale de S. aureus et qu'on retrouvait chez la plupart d'entre eux des conditions les rendant plus sensibles aux infections. Les principaux facteurs favorisants étaient l'âge avancé ou le très jeune âge et le fait de subir une opération surtout de nature orthopédique ou neurologique. Il nous semblerait donc approprié d'identifier les patients à risque avant qu'ils contractent une infection et d'établir des règles plus strictes dans les soins à leur donner. Finalement on a appris que le personnel hospitalier joue un rôle dans la propagation directe ou indirecte des infections nosocomiales et qu'il est porteur de souches de S. aureus plus résistantes aux antibiotiques que celles des patients. Il serait donc important d'établir pour le personnel hospitalier, un programme d'information sur les infections nosocomiales et sur les règles d'hygiène hospitalière. Toutes ces mesures dirigées contre les infections nosocomiales à S. aureus pourraient facilement s'appliquer contre les infections causées par d'autres agents pathogènes comme les entérobactéries. Ces mesures placeraient le CHSM au même diapason que la plupart des grands centres hospitaliers dans la prévention des infections nosocomiales.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui de près ou de loin ont collaboré à l'accomplissement de mon travail.

Mes premiers remerciements vont à mes directeurs de recherche, le Docteur Jacques Boisvert et le Docteur André Desrosiers. Ils ont manifesté à mon égard une disponibilité et une patience remarquables, tout au cours de ces longues années de travail. Je les remercie également pour la confiance qu'ils m'ont témoignée.

Je remercie aussi le personnel du laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Ste-Marie pour leur collaboration et le bon climat de travail qui régnait parmi nous.

Enfin je voudrais rendre un hommage particulier à Yves Trudel, mon compagnon de toujours, sans qui ce mémoire n'aurait pas vu le jour.

Cette recherche a été réalisée grâce à une bourse du Conseil de la Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada.

Table des matières

Résumé	i
Remerciements	iii
Table des matières	iv
Liste des tableaux	viii
Listes des figures	x
Liste des abréviations	xi
I. Introduction	1
1.1 Le <u>Staphylococcus aureus</u> comme agent d'infection nosocomiale	3
1.1.1 Les porteurs sains de <u>Staphylococcus aureus</u>	3
1.1.2 Le potentiel pathogène du <u>Staphylococcus aureus</u> .	5
1.1.3 La résistance aux antibiotiques	7
1.2 Les infections nosocomiales	11
1.2.1 Définition	11
1.2.2 Taux de prévalence et coûts	11
1.2.3 Réervoirs et voies de transmission	15
1.2.4 Facteurs favorisants	18
1.3 Etude épidémiologique des infections nosocomiales à <u>Staphylococcus aureus</u>	19
2. Matériel et méthodes	21
2.1 Prélèvements et isolation des souches de <u>Staphylococcus aureus</u>	22
2.1.1 Choix des sites de prélèvements	22

2.1.2	Techniques de prélèvements et d'isolation chez les patients et le personnel	23
2.1.3	Techniques de prélèvements et d'isolation pour les lieux physiques.	24
2.2	Identification biochimique	25
2.2.1	Observation de la pigmentation et de l'hémolyse et conservation des souches	25
2.2.2	Détection de la coagulase	26
2.2.3	Détection de la nucléase thermostable et de la Dnase	27
2.2.4	Croissance sur le milieu mannitol-sel et utili- sation aérobie du mannitol	30
2.3	Lysotypie.	30
2.3.1	Bactériophages utilisés	31
2.3.2	Milieux de culture	31
2.3.3	Propagation des bactériophages	33
2.3.3.1	Souches propagatrices	33
2.3.3.2	Titration des bactériophages	33
2.3.3.3	Propagation en bouillon	35
2.3.3.4	Propagation en couche d'agar mou	35
2.3.3.5	Filtration, conservation et vérification des lysats	36
2.3.4	Technique de lysotypie	37
2.3.4.1	Typage	37
2.3.4.2	Lecture des résultats	38
2.3.4.3	Interprétation des résultats	39

2.4	Antibiogramme	40
2.4.1	Milieux et antibiotiques utilisés	41
2.4.2	Méthode	41
2.4.3	Lecture des résultats	42
2.5	Détermination des concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques	43
2.5.1	Milieux et antibiotiques utilisés	43
2.5.2	Méthode	45
2.6	Détection de la production d'entérotoxines	46
2.6.1	Production des entérotoxines	47
2.6.2	Détection par immuno-diffusion	48
2.6.2.1	Préparation des entérotoxines purifiées et des antisera	48
2.6.2.2	Immunodiffusion par <u>Optimal Sensitivity Plate</u>	50
2.7	Consultation des dossiers médicaux	51
3.	Résultats	53
3.1	Caractéristiques bactériologiques des souches de <u>Staphylococcus aureus</u>	54
3.1.1	Données générales	54
3.1.2	Types phagiques	56
3.1.3	Résistance aux antibiotiques	64
3.1.4	Entérotoxigénicité	75
3.2	Données sur les infections nosocomiales à <u>Staphylococcus aureus</u> observées au Centre Hospitalier Sainte-Marie	80
4.	Discussion	93

4.1 Caractéristiques bactériologiques des souches de <u>Staphylococcus aureus</u>	94
4.1.1 Données générales	94
4.1.2 Types phagiques	95
4.1.3 Résistance aux antibiotiques	100
4.1.4 Entérotoxigénicité	106
4.2 Etude des infections nosocomiales à <u>Staphylococcus</u> <u>aureus</u> observées au Centre Hospitalier Sainte-Marie	108
Conclusion	117
Références	121
Annexe I	130
Annexe II	132

Liste des tableaux

Tableau 1.	Liste des bactériophages utilisés pour la lysotypie du <u>S. aureus</u>	32
Tableau 2.	Table d'interprétation de la susceptibilité de <u>S. aureus</u> aux disques d'antibiotiques Pfizer	44
Tableau 3.	Protocole de dilution des entérotoxines purifiées et de leurs antisera (Bergdoll, 1980) . . .	49
Tableau 4.	Nombre total de prélèvements effectués et nombre final de souches de <u>S. aureus</u> retenues pour étude	55
Tableau 5.	Caractéristiques biochimiques des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM et au CH Cloutier . . .	57
Tableau 6.	Résultats de la lysotypie des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM	58
Tableau 7.	Résultats de la lysotypie des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CH Cloutier	59
Tableau 8.	Distribution des groupes phagiques chez les souches de <u>S. aureus</u> isolées des patients, du personnel ou sur les lieux physiques	60
Tableau 9.	Distribution des groupes phagiques chez les souches de <u>S. aureus</u> pathogènes, nasales et environnementales	62
Tableau 10.	Distribution des groupes phagiques selon le département d'isolation des souches de <u>S. aureus</u>	63
Tableau 11.	Antibiotypes des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM	66
Tableau 12.	Antibiotypes des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CH Cloutier	67
Tableau 13.	Entérotoxigénicité des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM et au CH Cloutier	76
Tableau 14.	Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des souches de <u>S. aureus</u> isolées chez les patients, le personnel et sur les lieux physiques	77

Liste des tableaux (suite)

Tableau 15.	Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des souches de <u>S. aureus</u> pathogènes, nasales et environnementales	78
Tableau 16.	Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des souches de <u>S. aureus</u> selon leur dépar- tement d'isolation	79
Tableau 17.	Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des différents groupes phagiques de <u>S. aureus</u> . . .	81
Tableau 18.	Pourcentages d'infections nosocomiales à <u>S. aureus</u> observées au CHSM	83
Tableau 19.	Principales manifestations cliniques des infec- tions nosocomiales à <u>S. aureus</u> observées au CHSM . .	85
Tableau 20.	Caractéristiques détaillées des souches de <u>S. aureus</u> responsables des infections nosocomia- les observées au CHSM	86
Tableau 21.	Sommaire des caractéristiques des souches de <u>S. aureus</u> responsables des infections nosoco- miales observées au CHSM	87
Tableau 22.	Relations entre les souches de <u>S. aureus</u> respon- sables d'infections nosocomiales et le portage nasal	89
Tableau 23.	Principaux facteurs favorisants des infections nosocomiales à <u>S. aureus</u> observées au CHSM . . .	91
Tableau 24.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques de nos souches de <u>S. aureus</u> avec celles de diverses études	101

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Interprétation de l'épreuve de la coagulase telle que proposée par Turner et Schwartz	28
Figure 2.	Dimensions du gabarit de plexiglass utilisé pour l'OSP (Robbins, Gould et Bergdoll, 1974)	51
Figure 3.	Pourcentage de résistance aux antibiotiques de l'ensemble des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM	65
Figure 4.	Concentrations minimales inhibitrices d'antibio- tiques des souches de <u>S. aureus</u> isolées au CHSM	68
Figure 5.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de <u>S. aureus</u> isolées chez les patients le personnel et sur les lieux physiques	70
Figure 6.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de <u>S. aureus</u> pathogènes, nasales et environnementales	72
Figure 7.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de <u>S. aureus</u> selon leur département d'isolation	73
Figure 8.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques des différents groupes phagiques de <u>S. aureus</u>	74
Figure 9.	Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de <u>S. aureus</u> entérotoxigéniques et non entérotoxigéniques	82

Liste des abréviations

ANTIBIOTIQUE

AM	: ampicilline
CL	: céphalosporines
C	: chloramphénicol
CX	: cloxacilline
E	: érythromycine
GM	: gentamycine
K	: kanamycine
L	: lincomycine
N	: néomycine
Pg	: pénicilline G
STR	: streptomycine
TE	: tétracycline

DIVERS

ADN	: acide déoxyribonucléique
ATCC	: <u>American Type Culture Collection</u>
BHI	: <u>brain heart infusion</u>
CDC	: <u>Center for Diseases Control</u>
CFU	: <u>colony forming unit</u>
CHSM	: Centre Hospitalier Ste-Marie
cm	: centimètre
cm ²	: centimètre carré
CMI	: concentration minimale inhibitrice
°C	: degré Celsius
EDTA	: acide éthylènediaminetétraacétique
g	: gramme
inf.	: infection
jrs	: jours
M	: molaire
ml	: millilitre
mm	: millimètre
µm	: micromètre
NA	: non assigné
nb.	: nombre
nm	: nanomètre
NNIS	: <u>National Nosocomial Infection Study</u>
NT	: non typable
OSP	: <u>optimal sensitivity plate</u>
PBS	: <u>phosphate buffer sodium</u>
RTD	: <u>routine test dilution</u>
<u>S. aureus</u>	: <u>Staphylococcus aureus</u>

Introduction

Notre siècle a amené en Occident une très grande amélioration des conditions et de l'espérance de vie. Les progrès pharmacologiques, en particulier l'avènement des antibiotiques et les grandes innovations dans les procédés de diagnostic et de thérapie tels les cathétérismes, les transfusions, les dialyses, la chirurgie, la respiration assistée et l'immunosuppression ont révolutionné le monde hospitalier. Cependant l'utilisation ou la surutilisation de ces techniques a augmenté la probabilité que les patients développent une infection nosocomiale (de nosos, maladie et komizein, soigner donc qui est relatif aux hôpitaux) c'est-à-dire qu'ils contractent une infection au cours de leur hospitalisation. En effet, durant leur séjour hospitalier ces patients, généralement affaiblis par la maladie, sont mis en contact avec un réservoir de souches bactériennes résistantes à plusieurs antibiotiques et introduites souvent au delà des barrières naturelles de protection de l'organisme par les procédés médicaux modernes.

Les infections hospitalières étaient déjà bien connues au début du siècle surtout par la très grande mortalité qu'elles entraînaient. Le modernisme hospitalier n'a donc pas amené au cours de ce siècle une diminution marquée du nombre de ces infections, comme cela était escompté. Bien sûr, on a diminué énormément la mortalité qui s'ensuivait mais pour de nombreuses personnes ce résultat n'est pas acceptable. Les infections nosocomiales sont devenues actuellement un des problèmes de santé publique les plus importants du monde occidental.

C'est pour faire prendre conscience de toute l'ampleur de ce problème aux gens concernés que nous entreprenons cette étude au Centre Hospitalier Ste-Marie (CHSM) de Trois-Rivières. Comme c'est un domaine très vaste, il faut nous limiter à une étude plutôt descriptive des infections nosocomiales causées par le Staphylococcus aureus (S. aureus) seulement. Cette limitation nous permettra d'approfondir le lysotypage épidémiologique très élaboré de cette bactérie.

1.1 Le Staphylococcus aureus comme agent d'infection nosocomiale

Au cours des décennies 1940 et 1950, le S. aureus était responsable de la majorité des infections nosocomiales surtout à cause de sa très grande résistance à la pénicilline. Au cours des années 1960, les bacilles gram-négatifs et en particulier les Enterobacteriaceae et les Pseudomonas sont devenus prédominants, suite à l'augmentation des manipulations urinaires et aux changements dans l'antibiothérapie. Malgré tout, le S. aureus persiste encore à causer bien des problèmes. Trois facteurs principaux sont responsables de cette prévalence hospitalière du S. aureus, soit le fort pourcentage de porteurs sains, sa pathogénicité potentielle et sa résistance rapide aux antibiotiques, due en grande partie à des plasmides.

1.1.1 Les porteurs sains de Staphylococcus aureus

On retrouve le S. aureus chez beaucoup de gens principalement dans les fosses nasales, sans qu'il y cause des problèmes particuliers. Selon une étude imposante de Noble (1964) et diverses études citées par Williams (1963), 30 à 50% des gens sont porteurs sains de S. aureus au niveau

des fosses nasales et ce taux peut augmenter jusqu'à 70% en milieu hospitalier. Le nez est le principal site de multiplication et de dispersion de S. aureus. White en 1964 a obtenu une réduction très marquée des staphylocoques sur la peau et dans l'air après avoir éliminé les staphylocoques nasaux par un traitement d'oxacilline en onguent.

L'état de non-porteur, porteur temporaire ou porteur permanent de S. aureus semble lié en partie, à la plus ou moins grande quantité d'acides gras sur la peau et dans le mucus respiratoire. Heczko et Kasprowicz (1976) et Aly et al. (1976) ont démontré que les acides gras à courtes chaînes, fréquents dans le sébum et le mucus, présentent une activité antistaphylococcale et que les extraits lipidiques de peau chez les non porteurs de S. aureus sont plus antimicrobiens que chez les porteurs. Les caractéristiques particulières de chaque souche de S. aureus influencent aussi leur capacité de colonisation.

On reconnaît que le fait d'être porteur sain de S. aureus dans le nez augmente les risques d'infections nosocomiales au niveau de la peau, des plaies opératoires et du système respiratoire, surtout pour la personne porteuse mais aussi pour les gens qui la côtoient (Williams, 1963; Bengtsson et al., 1979). Par contre, cela protège contre l'acquisition de nouvelles souches hospitalières plus virulentes.

Il existe aussi un autre état de porteur de S. aureus qui n'est pas sain, sans pour autant être considéré comme infectieux. Il s'agit des gens souffrant de dermatite atopique, d'eczéma et de psoriasis. Ces gens

sont reconnus comme des grands porteurs de S. aureus sans qu'il y ait signe d'infection et sans que cette bactéries soit responsable de leur état dermatique (Selwyn et Chalmers, 1965). Aly, Maiback et Shinefield (1977) ont observé des taux de colonisation par le S. aureus de 79% dans le nez, de 76% sur la peau normale et de 93% sur la peau lésée, chez des patients souffrant de dermatite atopique sans signes infectieux. Ce groupe de personnes forme donc un réservoir important de S. aureus dont la dispersion est favorisée par la desquamation exagérée provoquée par leur état. Il va sans dire que le risque d'infection nosocomiale est très grand dans l'entourage de ces gens.

1.1.2 Le potentiel pathogène du Staphylococcus aureus

Le S. aureus est un parasite de l'homme qui cause rarement des méfaits à son site primaire de colonisation. La production d'une infection à un site secondaire ne lui apporte pas de grands avantages et semble plutôt liée à l'opportunité, c'est-à-dire à une brèche dans les défenses de l'hôte. En effet, il est bien reconnu qu'une personne en bonne santé est rarement infectée par le S. aureus, même si elle est porteuse d'une souche virulente. Selon Fekety (1964), il faut environ 5×10^6 staphylocoques virulents pour induire un petit abcès cutané chez des volontaires humains normaux. De même, Marples et Kligman (1976) ont mis au point une méthode pour induire une infection sur une peau saine qui illustre bien la grande résistance de la peau normale au S. aureus. A cette fin, il faut nettoyer la peau avec de l'alcool pour réduire le nombre de compétiteurs et enlever les

substances lipidiques antimicrobiennes, l'inoculer avec 1×10^6 bactéries par centimètre carré (cm^2) et couvrir le site pendant plusieurs jours pour le protéger de la dessication. De cette façon, 95% des sujets ont présenté après plusieurs jours, des pustules généralement stériles, les staphyloques demeurant à la surface de la peau. Les lésions apparaissaient plutôt être induites par l'absorption des toxines bactériennes.

Par contre, les risques d'infections augmentent beaucoup si les défenses de l'hôte sont déficientes, le S. aureus étant une bactérie très opportuniste. Un bon exemple de ces dires est fourni encore par Marples et Kligman (1976). Ces derniers ont obtenu en vingt-quatre heures des infections très sévères de la peau, tout simplement en enlevant la couche cornée du derme avec un papier adhésif avant l'inoculation. L'inoculum requis n'était que de mille bactéries/ cm^2 et ils ont même obtenu quelques infections avec dix bactéries/ cm^2 .

L'opportunisme du S. aureus semble lié à la production de nombreuses toxines et enzymes qui augmenteraient sa virulence. Les enzymes produites sont des coagulases, nucléases thermostables, fibrinolysines, phosphatases, protéases, lipases et des hyaluronidases. Parmi les diverses toxines sécrétées, les plus importantes sont les hémolysines α , β , δ et γ leucocidine et les entérotoxines A, B, C, D et E. Ces dernières sont bien connues comme responsables d'empoisonnements alimentaires mais jusqu'à maintenant, on ne peut relier leur sécrétion à aucune autre maladie (Sourek et al., 1979). On connaît bien les mécanismes d'action de certains de ces produits.

La coagulase se lie stoechiométriquement avec la prothrombine pour former un complexe actif, la staphylothrombine qui convertit le fibrinogène soluble en fibrine insoluble (Wegrzynowicz et al., 1979). La fibrine se dépose alors autour des staphylocoques, les protégeant ainsi des phagoctyes de l'hôte. Les hémolysines, en détruisant les globules rouges, créent une anoxie locale favorable à l'implantation des staphylocoques dans les tissus, bien que la production d'hémolysines ne corresponde pas à la pathogénicité chez tous les microorganismes. L'hémolysine α ou α -toxine est aussi responsable chez le lapin et la souris, de dermonécrose en injection sous-cutanée et de létalité par voie veineuse (Rogolsky, 1979). La leucocidine est toxique pour les leucocytes polynucléaires et les macrophages. Enfin, l'hyaluronidase aide le S. aureus à pénétrer dans les tissus de l'hôte en hydrolysant l'acide hyaluronique, sorte de ciment intercellulaire.

Ainsi cette vaste production extracellulaire semble agir en commun, pour augmenter la pathogénicité du S. aureus, car en général, les microorganismes moins pathogènes ne sécrètent pas autant de toxines et d'enzymes. Cependant, on ne connaît pas encore le schéma global d'action de ces composés staphylococcaux conduisant à l'établissement d'un foyer infectueux.

1.1.3 La résistance aux antibiotiques

On considère qu'il existe deux modes d'acquisition de la résistance aux antibiotiques chez le S. aureus. La résistance peut s'établir

graduellement, en réponse à la présence d'un antibiotique. Ceci survient par une sélection lente de mutants de plus en plus résistants, jusqu'à ce que la concentration de médicament nécessaire pour inhiber le microorganisme soit plus grande que la dose thérapeutique généralement utilisée. Les gènes gouvernant cette résistance sont localisés sur le chromosome bactérien. D'un autre côté, la résistance aux antibiotiques peut être déterminée par des éléments extra-chromosomaux, qu'on nomme plasmides. L'acquisition de la résistance se fait alors en une seule étape, les staphylocoques changeant directement de sensibles à résistants suite au transfert d'un plasmide.

L'idée que les plasmides seraient aussi importants chez le S. aureus que chez les Enterobacteriaceae, dans l'acquisition de la résistance aux antibiotiques in vivo se répand de plus en plus. Cette affirmation assez révolutionnaire est basée sur plusieurs faits: tout d'abord on a réussi en laboratoire, le transfert de plasmides entre des souches de S. aureus, par transduction; ensuite on a observé par diverses études épidémiologiques qu'après l'apparition d'une souche résistante à un antibiotique, cette résistance se transmettait rapidement à d'autres souches de lysotypes différents (Lacey, 1975 et Greenhood et al., 1979); de même si on cesse complètement l'emploi d'un antibiotique, la proportion des staphylocoques y étant résistants décline rapidement, par perte du plasmide devenu inutile (Finland, 1979); enfin la plupart des souches de S. aureus rencontrées en milieu clinique possèdent les mêmes taux de croissance qu'elles soient sensibles ou résistantes aux antibiotiques, différant ainsi des mutants chromosomiques à croissance lente (Noble et Naidoo, 1978). En fait, parce que les

plasmides ne sont pas essentiels à un microorganisme dans la plupart des conditions in vivo, ils fournissent à la cellule un grand potentiel d'évolution rapide sans affecter sa vitalité, comme cela survient lors de plusieurs mutations chromosomiques (Lacey, 1975).

Les plasmides staphylococcaux ne codent généralement qu'une seule résistance et sont présents dans la bactérie en plusieurs copies. Ils sont environ dix fois plus petits que les plasmides R des entérobactéries. Les staphylocoques multirésistants transportent donc sauf exception, plusieurs plasmides différents (Mitsuhashi et al., 1974).

Jusqu'à maintenant, on a isolé les plasmides codant la résistance à la pénicilline, à la tétracycline, au chloramphénicol et à la néomycine; les plasmides de la pénicilline codant aussi la résistance à certains métaux lourds. Les résistances à la méthicilline, l'erythromycine, la streptomycine et la gentamycine semblent aussi être déterminées par des plasmides. Toutes les études épidémiologiques nous le laissent croire, mais aucun de ces plasmides n'a été isolé (Lacey, 1975 et Greenhood et al., 1979). Il est à noter qu'il peut aussi exister une résistance chromosomale à tous ces antibiotiques.

Les mécanismes de transfert des plasmides staphylococcaux sont mal connus. In vitro, on obtient une transduction à partir de lysats très concentrés en phages et exempts de bactéries. En culture mixte, on sait que le transfert a lieu aussi par l'intermédiaire de phages, à cause d'un très grand besoin en ions calcium et de l'absence de transfert en présence d'un donneur non lysogénique ou d'un receveur résistant aux phages. Cependant,

Lacey (1975, 1980) a été amené à croire que le vecteur de transfert est probablement un phage défectueux sur lequel une partie du génome est remplacée par le plasmide, parce qu'on ne retrouve pas de particules virales actives dans le surnageant et que le receveur ne devient pas lysogénique. De plus, comme le contact entre les bactéries augmente la fréquence des échanges plasmidiques, un mécanisme probable in vivo serait une conjugaison avec un intermédiaire phagique (Lacey, 1980). Il y a alors transfert de plasmide sans causer la mort du donneur comme cela survient au cours d'une transduction. Les staphylocoques transportant plusieurs copies du même plasmide pourraient ainsi augmenter le nombre total de bactéries résistantes. Dernièrement, on a aussi présenté l'évidence de l'existence chez le S. aureus du transfert de plasmides par conjugaison pure comme chez les entérobactéries. Ce mécanisme ne semble pas dominant dans la nature (Fouace, 1981).

Ainsi, l'existence de plasmides chez le S. aureus est responsable de la propagation rapide de la résistance aux antibiotiques en général et aux pénicillines en particulier, qu'on a observé chez cette bactérie depuis la mise en marché de ces médicaments, au début des années 1940. Aucun antibiotique à ce jour, ne doit être considéré comme totalement efficace contre le S. aureus. Actuellement, les antibiotiques à action spécifique les plus actifs contre le S. aureus sont β -lactamase résistants. Il s'agit de l'oxacilline, la cloxacilline, la dicloxacilline, la méthicilline et la nafcilline. On devra cependant en faire un usage intelligent, si on veut que cette situation persiste.

1.2 Les infections nosocomiales

1.2.1 Définition

Pour les fins de notre étude, nous utilisons la définition d'une infection nosocomiale telle que présentée par Kislak, Eickhoff et Finland en 1964. On considère qu'un patient a acquis une infection durant son hospitalisation, s'il présente une évidence clinique et/ou bactériologique d'une infection active qui n'était pas présente ou reconnue lors de l'admission. Les infections survenant durant les soixante-douze premières heures d'hospitalisation ne sont pas considérées comme nosocomiales, à moins qu'il y ait une évidence flagrante qu'elles n'étaient pas présentes ou sous incubation lors de l'admission (Adler et Shulman, 1970).

1.2.2 Taux de prévalence et coûts

On a publié depuis vingt ans une très grande quantité d'études sur les infections nosocomiales. Malheureusement, ces études présentent une grande diversité dans les objectifs et les méthodes, ce qui rend difficile toute généralisation. On ne peut établir des comparaisons valables que si on utilise des définitions et des méthodes standardisées et qu'on tient compte de la nature et de l'équipement des services hospitaliers concernés, de la catégorie de patients observés, des procédures cliniques utilisées et des efforts de prévention (Fleurette et Brun, 1980). Ainsi, pour éviter des comparaisons et des généralisations douteuses entre diverses études de divers pays, nous allons surtout utiliser les statistiques fournies par une vaste étude nationale américaine élaborée par le Center for Diseases

Control (CDC) d'Atlanta. Cette étude, connue sous l'abréviation NNIS (National Nosocomial Infections Study), compile annuellement depuis 1970, des données provenant d'une moyenne de quatre-vingt-un hôpitaux divers. Ces hôpitaux surveillent en moyenne 1,16 millions de patients annuellement et utilisent pour obtenir leurs données des définitions standardisées. Selon la NNIS, l'incidence des infections nosocomiales en 1979 était de 3,29% pour tous les patients sortis et l'incidence moyenne pour la décennie 70-79 était de 3,41%. La fréquence relative des infections nosocomiales par sites d'infection n'a pas changé significativement durant cette période. Sur toutes les infections rapportées, 41% étaient des infections des voies urinaires, 23% des infections des plaies chirurgicales, 15% des infections des voies respiratoires, 5,9% des infections cutanées, 4,4% des septicémies primaires et 5,9% des septicémies secondaires. Le S. aureus a été isolé dans 10% de ces cas (Allen et al., 1981). Le taux global des infections nosocomiales a été réajusté à 5%, suite aux diverses études de prévalence menées de pair avec le programme de surveillance du CDC (Brachman, 1981).

Un rapport annuel du CDC pour l'année 1975 (CDC, 1979) donne plus de détails sur le rôle du S. aureus comme agent d'infections nosocomiales. Le S. aureus a été responsable en 1975 de 10,4% des infections totales. Par site, on le retrouvait dans 33,9% des infections cutanées, 16,7% des infections chirurgicales, 14,3% des septicémies primaires et 10,3% des infections des voies respiratoires. Son rôle était très faible au niveau des infections urinaires. Une autre étude du CDC sur les septicémies d'origine nosocomiale indique que de 1976 à 1978, le S. aureus a été un agent pathogène majeur, pro-

voquant 13% des septicémies endémiques et 6% des septicémies épidémiques (Maki, 1981).

Une des rares études canadiennes, soit celle de Westwood et al., (1974) entreprise à l'Hôpital Général d'Ottawa, fournit des chiffres légèrement supérieurs à ceux du CDC. On y présente un taux global d'infections nosocomiales de 7,9%, soit un patient infecté pour chaque treize patients admis. De ce nombre, 44,8% étaient des infections des voies urinaires et 18% des infections des plaies opératoires. Le S. aureus a provoqué 12,5% de ces infections nosocomiales.

Comme on peut le constater par ces chiffres, le rôle du S. aureus dans les infections hospitalières semble s'être stabilisé au cours des dernières années à un taux relativement bas si on le compare à sa prévalence massive des années 1950-1960. Cependant, il ne faut pas sous-estimer cette bactérie. Goldmann (1981) rapporte que ces dernières années, le S. aureus a continué à être une menace majeure pour les nouveaux-nés bien portants, particulièrement depuis l'arrêt des bains routiniers d'hexachlorophène en 1971. Stamm et al., (1981) nous indiquent que le S. aureus a été responsable de 13% des épidémies investiguées par le CDC en 1976-1979, chiffre somme toute assez conservateur. Par contre, ces auteurs sont inquiétés par le fait que depuis 1975, plusieurs souches de S. aureus responsables d'épidémies présentent une résistance inhabituelle à certains antibiotiques, en particulier à la méthicilline et à la gentamycine. Carney et al. (1982) notent que l'incidence des septicémies à S. aureus chez les patients souffrant de cancer a augmenté récemment. Durant les années 1960, l'incidence de ces septicémies était

d'environ 5%. Durant la décennie 70, ce taux a augmenté granduellement pour atteindre ces dernières années les proportions alarmantes de 23 à 31%, chez les patients de tous les âges et présentant tous les types de malignité. Ceci s'explique surtout par l'augmentation des plaies cutanées causées par les procédures de diagnostic ou de thérapie comme les radiations, la chimio-thérapie ou l'usage d'appareillages intra-vasculaires.

Les coûts engendrés par tous les types d'infections nosocomiales sont exorbitants bien qu'on puisse difficilement en réaliser un estimé précis. Westwood et al. (1974) ont figuré qu'au minimum, les infections hospitalières avaient coûté 800 000\$ à l'Hôpital Général d'Ottawa pour l'année 1972 soit 5,7% du budget annuel de ce centre. Brachman (1981) en utilisant un taux d'infections nosocomiales de 5%, a estimé que le coût pour la prolongation de l'hospitalisation causée par les infections nosocomiales est d'approximativement 2,38 milliards de dollars par année aux Etats-Unis. Maki (1982) a fait des projections annuelles à partir des données de la NNIS au sujet des septicémies d'origine nosocomiale. Il estime que chaque année environ 194 000 patients (5/1000) développent une septicémie nosocomiale dans les hôpitaux américains et que 75 000 en meurent. Ces infections ajoutent de 280 à 860 millions de dollars au coût de la santé publique.

Ces quelques données ne dressent pas un tableau réel du coût des infections nosocomiales, ceci étant presque impossible à réaliser. Il faudrait pour cela tenir compte non seulement des coûts directs, c'est-à-dire des coûts supplémentaires pour les soins hospitaliers, mais aussi des coûts

indirects assumés par le patient soit la perte de revenus, la perte de la productivité, les frais d'assurances, les médicaments et les honoraires du médecin, lorsqu'il y a lieu.

Et là encore, on ne considère que la perte monétaire, les dommages causés à la santé des patients ne se chiffrant pas. Une infection laisse la personne souvent plus faible et plus sensible à d'autres infections et prolonge son séjour hospitalier en moyenne de sept jours selon Brachman (1981) ou de treize à quinze jours selon Freeman et al. (1979) et Bengtsson et al. (1970). Elle peut laisser une cicatrice, à la limite une invalidité ou même causer la mort, tout ceci étant encore plus inacceptable que les augmentations de coûts.

1.2.3 Réservoirs et voies de transmission

Les réservoirs de S. aureus sont essentiellement humains. La source la plus évidente et la plus dangereuse provient des patients présentant une infection cliniquement active, surtout s'ils souffrent de pneumonie, de dermatite et de brûlures infectées ou d'une plaie très suppurante. Ceux-ci expulsent dans leur environnement immédiat une quantité extraordinaire de staphylocoques frais et virulents.

Les porteurs sains au niveau du nez et de la peau constituent la deuxième source importante de S. aureus. N'étant pas révélée par des signes cliniques, la dissémination du S. aureus par les porteurs sains est beaucoup moins évidente. Pourtant, on ne doit pas la sous-estimer. Certains porteurs sont des disséminateurs très efficaces, soit à cause de manies indésirables,

de mauvaises habitudes hygiéniques ou d'une forte tendance à la sudation (Fekety, 1964). Les personnes présentant des rhinites allergiques ou des dermatites chroniques sont à surveiller plus particulièrement.

Il existe deux voies principales de transmission des infections à S. aureus (Fleurette et Brun, 1980). La plus importante est la transmission par contact direct ou indirect à partir des personnes. Le pus ou les sécrétions respiratoires se trouvent alors à contaminer directement une autre personne ou à se déposer sur un intermédiaire, animé comme des mains ou inanimé comme le mobilier et la literie, avant d'atteindre la cible. La transmission par les mains est notable. La banalité de la routine hospitalière nous fait oublier l'importance de cette voie de transmission et par conséquent, les mesures d'hygiène qui pourraient la supprimer, tel le lavage des mains et le port de gants.

La transmission de l'infection peut aussi être aérienne. Les staphylocoques voyagent surtout sur des squames et des débris tissulaires souillés par le pus. Ces particules d'environ 15 à 25 micromètres (μ) peuvent demeurer en suspension dans l'air pendant plusieurs heures et provoquer des infections à distance. Il faut noter ici, que même si le rôle de l'air comme vecteur de transmission des infections à S. aureus est certain, son importance réelle est très discutée. D'un côté, il est très difficile d'établir un lien épidémiologique sûr entre les staphylocoques aériens et ceux trouvés dans les plaies. D'autre part, bien que le S. aureus compte parmi les bactéries non sporulées les plus résistantes, on s'interroge encore sur la capacité de quelques dizaines ou centaines de staphylocoques dessé-

chés d'induire une infection massive. La transmission aérienne devient toutefois très importante dans les unités de soins spécialisés, surtout dans les unités pour grands brûlés et les unités de soins intensifs en néonatalité.

A partir de ces quelques principes généraux, on peut distinguer trois types d'infections nosocomiales: tout d'abord l'auto-infection, qui est causée par un microorganisme faisant partie de la flore microbienne du patient, que celui-ci en soit porteur avant son hospitalisation ou qu'il le devienne durant son séjour hospitalier, avant le déclenchement de l'infection; puis l'infection croisée, causée par un microbe provenant d'une autre personne, soit par contact direct ou indirect; enfin, l'infection environnementale qui est déclenchée par un microorganisme provenant d'un objet inanimé. Dans cette dernière catégorie, les vecteurs sont plus particulièrement les aliments, les médicaments, les appareils et les instruments médicaux.

Dans le cas des infections nosocomiales à S. aureus, l'auto-infection et l'infection croisée dominent, bien qu'on ne connaisse pas de façon précise la part réelle de chaque type d'infection. Selon Fekety (1964) et Burke (1963), environ 50% des plaies opératoires infectées sont des auto-infections. Bengtsson et al. (1979) obtiennent un taux d'auto-infection de 42%. Ces chiffres ne sont pas récents car de nos jours, on s'attarde moins à déterminer l'origine précise d'une infection, c'est-à-dire à trouver un coupable à tout prix. On cherche plutôt à identifier la

victime potentielle pour mieux la protéger. On le fait par la compilation de statistiques élaborées tel que vu précédemment et par l'étude des causes favorisantes.

1.2.4 Facteurs favorisants

Il existe une grande variété de facteurs qui augmentent la sensibilité d'une personne aux infections nosocomiales. D'une façon générale, on peut dire que tous les facteurs diminuant la résistance d'un individu et/ou altérant ses mécanismes naturels de défense, en particulier s'ils endommagent la barrière cutanée, vont favoriser l'acquisition d'une infection hospitalière.

Les caractéristiques suivantes définissent l'hôte sensible: une personne très jeune ou très âgée, en particulier les bébés prématurés et les vieillards invalides; une personne souffrant d'une maladie grave et/ou à pronostic fatal tel le diabète ou le cancer; une personne ayant subi un choc, un traumatisme sévère ou des brûlures graves; une personne présentant déjà une infection communautaire ou nosocomiale; une personne dont le séjour hospitalier se prolonge; une personne se soumettant à certaines procédures thérapeutiques comme un cathétérisme urinaire, des radiations, une respiration assistée continue ou une thérapie immunosuppressive ou antimicrobienne; et enfin une personne subissant une intervention chirurgicale.

Ce dernier point mérite une attention particulière. Westwood et al. (1974), ont établi que le risque d'acquérir une infection hospitalière est triplé si on subit une opération. Là encore, bien des facteurs

vont moduler ce risque. Les plus importants sont la durée du séjour hospitalier avant l'opération, le type d'opération, la durée de l'opération et les dimensions de la plaie (Hooton et al., 1981). Ehrenkranz (1981) nous indique que le pourcentage d'infections suite à une intervention chirurgicale est de 1,5% si celle-ci dure moins de deux heures, de 2,3% si elle dure de deux à quatre heures et de 10,7% si elle se prolonge au-delà de quatre heures.

On peut retirer de cette énumération deux facteurs de risque plus spécifiques à l'acquisition d'une infection à S. aureus: une hospitalisation prolongée, augmentant les possibilités de devenir porteur nasal de souches de S. aureus multirésistantes aux antibiotiques et toutes procédures altérant ou brisant la barrière cutanée, réservoir secondaire du S. aureus.

1.3 Etude épidémiologique des infections nosocomiales à Staphylococcus aureus

Cette étude entreprise au CHSM a deux buts principaux. Tout d'abord nous voulons démontrer l'existence des infections nosocomiales à S. aureus au CHSM et si possible dans d'autres établissements hospitaliers de la région. Puis, nous tenterons de cerner l'étiologie et l'épidémiologie de ces infections, de façon à préciser les principales orientations d'un éventuel programme de prévention.

A cette fin, nous travaillerons en premier lieu au niveau bactériologique, en effectuant des prélèvements chez les patients, le personnel

hospitalier et sur les lieux physiques appropriés. Ceci nous fournira une banque de souches de S. aureus, avec laquelle nous dresserons un tableau le plus complet possible des caractéristiques de cet agent pathogène. En étudiant les liens entre ces diverses informations, nous pourrons établir s'il existe une particularité du S. aureus, qui nous renseignerait immédiatement sur la plus ou moins grande pathogénicité d'une souche donnée.

Ensuite nous analyserons les infections nosocomiales observées. Nous complèterons alors nos données bactériologiques par une consultation des dossiers médicaux des patients concernés. Nous serons ainsi en mesure de déterminer les principales caractéristiques des souches de S. aureus en cause et de préciser les manifestations cliniques et les facteurs favorisants de ces infections hospitalières. De plus, nous tenterons d'établir s'il s'agit d'auto-infections ou d'infections croisées.

Nous tenons à préciser que cette étude conservera en tout temps, un caractère confidentiel et volontaire. Les personnes approchées seront informées de la raison des prélèvements et seront libres de les refuser.

Chapitre II

Matériel et méthodes

2.1 Prélèvements et isolation des souches de *Staphylococcus aureus*

2.1.1 Choix des sites de prélèvements

Comme cette étude est effectuée sur une base volontaire et avec un budget limité, on ne peut pas procéder à l'étude systématique de tous les patients et de tout le personnel hospitalier, pendant un certain laps de temps. C'est pourquoi les sites de prélèvements pour la recherche du *S. aureus* sont établis à partir des échantillons cliniques reçus quotidiennement au laboratoire de microbiologie du CHSM. Les échantillons qui nous intéressent proviennent en général, de patients présentant des signes cliniques d'infection. Si les techniciens isolent du *S. aureus* dans ces échantillons, ils nous remettent les souches, une fois leur travail terminé. Ceci est le point de départ d'une série de prélèvements effectués dans les fosses nasales des patients concernés, puis sur les meubles et le plancher environnant leur lit et enfin si possible, dans les fosses nasales de toutes les personnes ayant pris soin de ceux-ci.

En plus, une série de prélèvements est recueillie dans tous les lieux physiques éloignés des patients avec lesquels ces derniers ont quand même un certain contact. Parmi ces lieux, on retrouve principalement les postes de garde, les cuisines, la buanderie, la physiothérapie, l' inhalothérapie, la médecine nucléaire, la radiologie, la pharmacie et les salles d'opéra-

tion. La période entière de prélèvements au CHSM s'étend de mars à décembre 1980. Dans le courant de l'année des prélèvements nous parviendront aussi de l'Hôpital Cloutier. Ils seront effectués par le personnel du laboratoire de microbiologie, suivant nos instructions et le même principe de départ.

Dans tous ces prélèvements, on recherche la présence de S. aureus sans égard au dénombrement. Une présence même minime de ces bactéries indique une possibilité d'infection nosocomiale.

2.1.2 Techniques de prélèvements et d'isolation chez les patients et le personnel

Dans le nez, on effectue le prélèvement en passant un écouvillon imbibé d'eau saline stérile (NaCl 0,9%) sur les parois des cavités nasales antérieures. Selon Evans et Stevens (1976), cette méthode constitue une façon simple et très efficace de retrouver des bactéries, surtout celles proliférant en surface comme le S. aureus.

Chaque prélèvement estensemencé le plus tôt possible sur une gélose au sang, c'est-à-dire une gélose nutritive additionnée de 5% de sang de mouton défibriné (Production de l'Institut Armand Frappier). Après quarante-huit heures d'incubation à 37 degrés Celsius ($^{\circ}\text{C}$), les colonies de S. aureus se distinguent aisément du reste de la flore bactérienne normale du nez, constituée surtout de streptocoques α -hémolytiques. Les colonies sont convexes, de 0,5 à 2,0 millimètres (mm) de diamètre, avec une margine entiè-

re et une surface lisse ou légèrement granuleuse. Le plus souvent elles produisent un pigment de couleur crème, jaune ou orange. Les colonies typiques de S. aureus sont repiquées sur une autre gélose au sang, pour l'isolation et l'identification biochimique.

2.1.3 Techniques de prélèvements et d'isolation pour les lieux physiques

On utilise aussi un écouvillon imbibé d'eau saline stérile (NaCl 0,9%) pour effectuer les prélèvements sur les meubles et les planchers. Pour chaque surface à couvrir, le même écouvillon est frotté sans le tourner sur quatre petites aires d'environ 100 cm² choisies selon le cas, près du patient ou dans les aires de circulation intense.

On ensemence rapidement ces prélèvements sur le milieu Baird-Parker (Difco). Les géloses sont incubées quarante-huit heures, à 37° C. Ce milieu est recommandé par l'Association Américaine de Santé Publique pour la détection, l'énumération et l'isolation du S. aureus dans des spécimens variés (Niskanen et Aalto, 1978). Sur le milieu Baird-Parker, le S. aureus forme des colonies noires, luisantes et convexes, de 1,0 à 1,5 mm de diamètre, avec une étroite margine translucide. Ces colonies sont entourées d'une zone d'éclaircissement de 2,0 à 5,0 mm de diamètre. La croissance des autres microorganismes est très légère. La couleur noire des colonies provient de la capacité du S. aureus de réduire les ions tellurites en tellure métallique. L'éclaircissement autour des colonies est dû à la solubilisation des protéines du jaune d'oeuf (Baird-Parker, 1962). Les colonies typiques de S. aureus sont repiquées sur des géloses au sang pour l'isolation et l'identification biochimique.

2.2 Identification biochimique

Le but premier de l'identification biochimique est de s'assurer que chaque souche de cocci gram-positif isolée est bien du S. aureus. A cette fin, on procède aux épreuves de détection de la coagulase et de la nucléase thermostable. Nous incluons aussi dans cette section, l'étude de certains caractères qui définissent généralement le S. aureus soit: l'observation de la pigmentation et de l'hémolyse, la détection de la sécrétion de Dnase et l'utilisation aérobie du mannitol. N'étant pas aussi constantes que la sécrétion de coagulase et de nucléase thermostable, ces dernières caractéristiques pourraient s'avérer des points de comparaison entre les diverses souches récoltées.

2.2.1 Observation de la pigmentation et de l'hémolyse et conservation des souches

La pigmentation crème, jaune ou orange des colonies de S. aureus est due à la sécrétion de deux caroténoides, la δ-carotène et la sarcinoxanthine (Davis *et al.*, 1973). La production de pigment est stimulée par des milieux riches en acides gras, tel le glycérol monoacétate. Pour sa part, l'hémolyse des globules rouges de mouton est provoquée par la sécrétion d'une ou plusieurs des quatre hémolysines produites par le S. aureus, soit les toxines α, β, δ et γ. L'action de chaque toxine sur les globules rouges est différente et leur identification précise n'est possible que par une neutralisation sérologique assez complexe (Elek, 1950).

Autrefois, on considérait la pigmentation et l'hémolyse comme des critères importants dans la classification des staphylocoques. Aujourd'hui, on utilise des épreuves beaucoup plus spécifiques pour identifier le S. aureus. Cependant, il demeure intéressant de noter ces caractéristiques, bien que l'utilisation de méthodes spéciales pour déterminer la production de pigment et d'hémolysines dépasse l'importance qu'on accorde à ces caractères, dans ce travail. La gélose au sang de mouton utilisée pour l'isolation des souches de S. aureus nous permet l'observation aisée de l'hémolyse. Par la suite, chaque souche pure de cocci gram-positif est ensemencée sur une gélose nutritive en pente (agar trypticase soja de BBL) pour son utilisation ultérieure dans d'autres épreuves et pour sa conservation. La pigmentation apparaît très bien sur ce milieu. De plus, comme ce type de gélose évite la dessication rapide des bactéries, un repiquage aux quatre mois est suffisant pour maintenir la souche. Il est à noter que la même colonie sert à ensemencer la première gélose en pente et le plasma pour la détection de la coagulase et qu'à chaque repiquage, on procède à un contrôle de pureté sur une gélose au sang.

2.2.2 Détection de la coagulase

La détection de la production de staphylocoagulase est la première épreuve effectuée sur les souches précédemment isolées. En effet, plusieurs auteurs conviennent que pour les besoins de la routine, cette épreuve alliée à la détection de la nucléase thermostable est suffisante pour identifier le S. aureus (Baird Parker, 1974; Rayman et al., 1975 et Zarzour et Belle, 1978).

On ne conserve que les souches positives à ce test, même s'il est reconnu qu'en de rares occasions le S. aureus perd cette caractéristique, tout en demeurant pathogène (Victor et al., 1969). Ces souches sont des exceptions nécessitant une étude particulière.

Pour cette épreuve, on suspend une partie d'une colonie prélevée sur la gélose au sang, dans 0,5 millilitre (ml) de plasma de lapin additionné d'acide éthylène-diaminetétracétique (EDTA) de BBL. Après une légère agitation, les tubes (13 par 100 mm) sont incubés dans un bain-marie à 37°C et examinés après quatre et vingt-quatre heures. L'examen après quatre heures et l'inoculation plutôt légère évitent les résultats faussement négatifs causés par la fibrinolysine. Le degré de formation du caillot est noté 1+ à 4+ selon l'interprétation de l'épreuve proposée par Turner et Schwartz et illustrée à la figure I (Sperber et Tatini, 1975). L'utilisation du plasma de lapin de Difco est évitée, en raison des réactions 2+ à 3+ non spécifiques, détectées par Sperber et Tatini (1975).

2.2.3 Détection de la nucléase thermostable et de la Dnase

On effectue en milieu clinique, l'épreuve de la Dnase comme complément à l'épreuve de la coagulase dans l'identification de S. aureus. Pour ce faire, on utilise le plus souvent l'agar ADN-vert de mythyle (Difco), sur lequel une réaction positive se manifeste par un éclaircissement du milieu, de vert pâle à jaune. Ce changement de couleur est souvent difficile à observer, même pour un oeil habitué. De plus, on a découvert avec les années, qu'environ 15% des staphylocoques à coagulase négative produisaient une Dnase (Morton et Cohn, 1972 et Menzies, 1977).

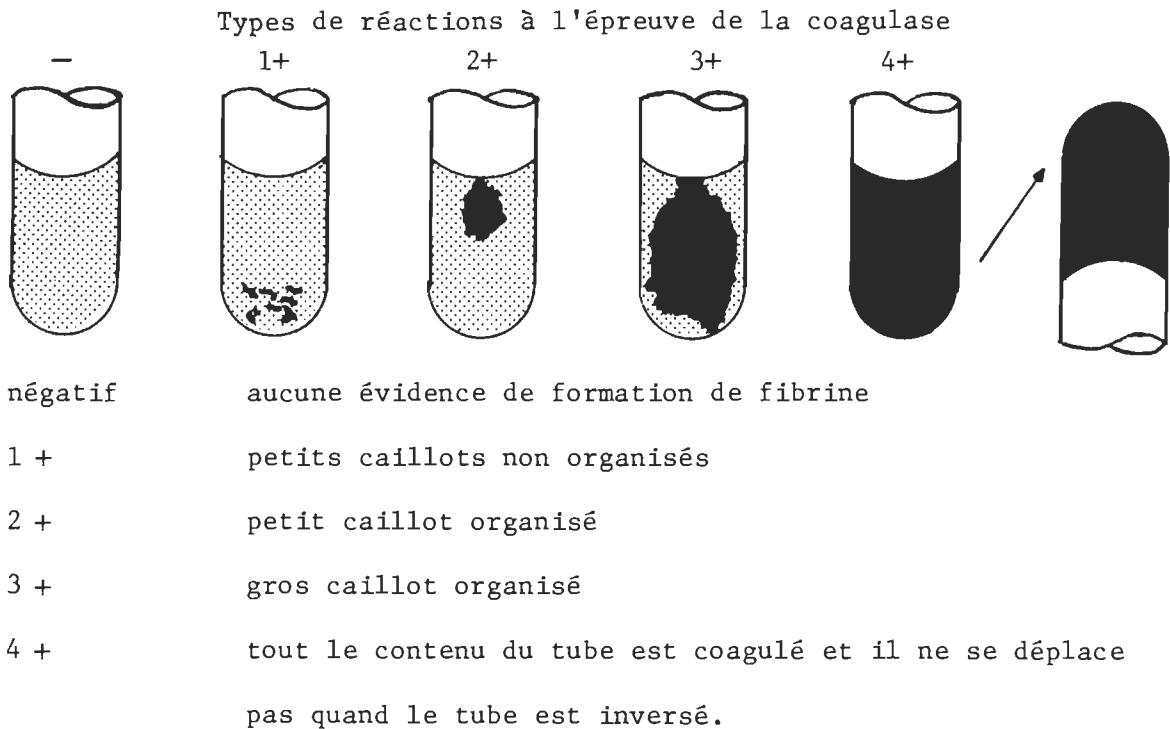


Figure 1: Interprétation de l'épreuve de la coagulase telle que proposée par Turner et Schwartz.

Devant la confusion entourant cette épreuve, certains auteurs ont étudié la découverte faite par Cunningham *et al.* (1956) de la remarquable résistance à la chaleur de la nucléase du S. aureus. Ils sont arrivés à la conclusion que cette caractéristique est spécifique au S. aureus. Les nucléases sécrétées par le Staphylococcus epidermidis et les Micrococci ne résistent pas à une ébullition de 15 minutes (Lachica *et al.*, 1971b et Rayman *et al.*, 1975). De plus, Lachica *et al.*, (1971a) ont mis au point un milieu permettant de détecter facilement l'activité de cette nucléase, grâce à la propriété métachromatique du bleu de Toluidine. En solution aqueuse concentrée, ce colorant possède une absorption maximale à 590 nanomètre (nm)

donc apparaît bleu-violet; en présence d'une polyanion comme l'agar, l'absorption maximale se situe à 540 nm, le mélange étant alors rose brillant; si on ajoute à tout ceci de l'ADN, le pic d'absorption revient vers 600 nm et le mélange redevient bleu. En présence d'une nucléase hydrolysant l'ADN, le milieu vire du bleu au rose vif. Ce changement de couleur ne pose aucune ambiguïté dans l'interprétation de l'épreuve.

Nous utilisons ce milieu pour la détection de la Dnase et pour déterminer sa résistance à la chaleur. A 1000 ml de tampon Tris 0,05 M (pH 9,0) on ajoute 0,3 g d'ADN (Difco), 10,0 g d'agar (Difco), 1,0 ml de CaCl_2 0,01 M et 10,0 g de NaCl. On amène à ébullition pour bien dissoudre l'ADN et l'agar, on refroidit légèrement puis on ajoute 3,0 ml de bleu de Toluidine 0,1 M (Fisher C.I. No. 925). Le milieu est ensuite distribué dans des tubes stériles, à raison d'environ 15 ml par tube. Le bleu de Toluidine étant bactériostatique, le milieu n'a pas besoin de stérilisation et peut être conservé à 4°C très longtemps. Le contenu de chacun des tubes est reliquifié au besoin et coulé dans une boîte de Pétri de 100 X 15 mm. Une fois le milieu bien solidifié, on perfore seize trous de 3 mm de diamètre à l'aide d'une emporte-pièce à vide, ce qui permet d'éprouver huit souches. Pour chaque souche de S. aureus à tester, on remplit un premier trou d'un bouillon de culture de vingt-quatre heures non chauffé. Puis, on chauffe le bouillon de culture quinze minutes à 100°C, on laisse refroidir et on remplit un second trou.

L'activité de la nucléase se signale par un halo rose apparaissant autour du trou, après deux à quatre heures d'incubation à 37°C. Pour plus de commodité, on effectue la lecture après vingt-quatre heures d'incubation.

2.2.4 Croissance sur le milieu mannitol-sel et utilisation aérobique du mannitol

Il y a quelques années, on considérait l'utilisation aérobique du mannitol comme un critère important dans la classification des staphylocoques (Baird Parker, 1965). Maintenant on laisse cette réaction de côté car elle n'est pas assez spécifique (Sperber et Tatini, 1975 et Morton et Cohn, 1972). Cependant, comme le milieu mannitol-sel est encore très utilisé en microbiologie clinique, il nous semble important de pouvoir fournir ce renseignement.

La gélose mannitol-sel (Production Institut Armand Frappier) contient 7,5% de NaCl, concentration suffisante pour inhiber la croissance de plusieurs microorganismes, sans affecter celle du S. aureus. Les colonies de S. aureus oxydant le mannitol apparaissent jaunes et sont entourées d'un halo jaune vif. Ce changement de couleur est dû à l'acidification du milieu.

2.3 Lysotypie

La lysotypie ou typage par les bactériophages est utilisée internationalement comme méthode de choix pour la différentiation des souches de S. aureus. Cette identification est basée sur la susceptibilité des diverses souches à un ensemble donné de bactériophages, sélectionnés pour offrir la plus grande sensibilité possible à la méthode. Les souches de S. aureus identiques ou semblables présentent des types lytiques identiques ou très semblables, tandis que les souches non apparentées exhibent des types de lyse très différents.

Pour maintenir un haut degré de standardisation, nous suivons en général les directives fournies par le Laboratoire Canadien de Référence sur la Lysotypie des Staphylocoques (1977), pour la propagation, la titration et le contrôle des phages ainsi que pour la lysotypie. Ces directives sont adaptées au fait que nous maintenons les bactériophages au maximum deux ans.

2.3.1 Bactériophages utilisés

Nous utilisons les vingt-trois phages de l'ensemble international de base de 1974, choisis par le Sous-comité International sur la Lysotypie des Staphylocoques (1975), auxquels nous ajoutons le phage 82. Celui-ci ne fait plus partie de l'ensemble de base mais son maintien est recommandé dans la collection canadienne. Ces phages et leurs souches propagatrices sont énumérés au Tableau 1. Les solutions mères de phages et les souches propagatrices lyophilisées proviennent du Laboratoire de Lysotypie des Staphylocoques du Ministère des Affaires Sociales du Québec à Ste-Anne-de-Bellevue, par l'entremise de Mademoiselle Louise Jetté.

2.3.2 Milieux de culture

On utilise le bouillon trypticase soja et la gélose trypticase soja de BBL pour la propagation des phages et pour la lysotypie. Pour la propagation des phages en milieu liquide ou solide, on doit ajouter 0,4 g de chlorure de calcium par litre de milieu.

Chaque nouveau lot de milieu doit être comparé à l'ancien, en vérifiant l'action de chaque phage, éprouvé à sa dilution de routine (RTD), sur sa souche propagatrice. Le nouveau lot de milieu est satisfaisant, s'il donne des résultats comparables à l'ancien lot.

Tableau 1

Liste des bactériophages utilisés pour la lysotypie du S. aureus

Group	Number of phage	Propagative strain
I	29	PS29
	52	PS52
	52A	PS52A/79
	79	PS52A/79
	80	PS80
II	3A	PS3A
	3C	PS3C
	55	PS55
	71	PS71
III	6	PS6
	42E	PS42E
	47	PS47
	53	PS53
	54	PS54
	75	PS75
	77	PS77
	83A	PS83A
	84	PS84
	85	PS85
Non assigned	81	PS81
(NA)	82	PS82
	94	PS94
	95	PS95
	96	PS96

2.3.3 Propagation des bactériophages

2.3.3.1 Souches propagatrices

Les souches propagatrices lyophilisées sont réhydratées dans 1,0 ml de bouillon nutritif, puis mises en culture sur une gélose au sang pour obtenir des colonies isolées. On incube ces géloses à 37^oC, dix-huit heures ou plus si nécessaire. A partir d'une colonie isolée, onensemence six géloses nutritives en pente qu'on incube à 37^oC, dix-huit heures. Ces géloses sont conservées à 4^oC et renouvelées à intervalle de quatre semaines, toujours en réensemencant au préalable une gélose au sang. Le reste du millilitre de départ est versé dans un bouillon nutritif et conservé à 4^oC. On repique ces bouillons à tous les six mois.

Avant d'utiliser ces souches pour la propagation, on vérifie leur lysotype en utilisant tous les phages de l'ensemble de base dilués à leur dilution de routine (RTD c'est-à-dire Routine Test Dilution) et à une concentration cent fois supérieure à leur RTD (Voir les sections titration des bactériophages et technique de lysotypie). Le lysotype de chaque souche doit être conforme au lysotype standard donné en annexe I. On peut accepter de légères modifications, mais non la perte ou l'acquisition d'une réaction forte (++).

2.3.3.2 Titration des bactériophages

Les bactériophages sont reçus à l'état liquide, dans des petits vials de 1 ml conservés à 4^oC. Ils constituent le matériel de départ pour

toutes les propagations subséquentes. En effet, il faut éviter de propager les phages en série, c'est-à-dire d'un lot à l'autre. Cela augmente le danger de propager des bactériophages modifiés.

Avant la propagation, on doit titrer chaque phage afin de déterminer la quantité de bactériophages à ajouter au milieu de propagation. A cette fin, on dilue la solution mère de phages de 10 en 10 jusqu'à 10^{-6} , en utilisant une pipette différente pour chaque dilution. Ces dilutions sont conservées à 4°C pour les prochaines étapes. On applique ensuite 0,02 ml (une petite goutte) de chaque dilution sur une gélose préalablementensemencée avec une culture en bouillon de quatre heures de la souche propagatrice. La gélose est incubée à 30°C pour la nuit. Le lendemain on peut déterminer le titre du phage et la RTD.

La concentration du phage est connue en comptant le nombre de plages dans la dilution produisant environ 50 à 100 plages de lyse. Le nombre de plages multiplié par 50 et par le facteur de dilution donne le nombre de bactériophages par ml de la solution initiale. La RTD est la plus haute dilution de phage qui produit une lyse quasi confluente. On utilise cette dilution dans la plupart des étapes suivantes. On préfère la lyse quasi confluente à la lyse confluente pour fixer la RTD, parce que cette dilution est plus définie: la lyse complète peut être produite par toutes les dilutions supérieures à un certain point, tandis que la lyse presque confluente n'est causée que par une bande étroite de dilutions du phage.

Après ces étapes préliminaires, on peut procéder à la propagation des bactériophages, en observant les conditions optimales de propagation énumérées en annexe II.

2.3.3.3 Propagation en bouillon

On ajoute à 45 ml de bouillon nutritif, de 0,5 à 1,0 ml d'une culture en bouillon de dix-huit heures de la souche propagatrice. On incube à 37°C avec agitation, pendant deux à trois heures ou jusqu'à ce que le milieu devienne à peine turbide. On ajoute alors la quantité de phages nécessaire pour obtenir la concentration de propagation optimale et 10 gouttes de chlorure de calcium 0,01 M stérile. On incube six heures à 37°C avec agitation, puis on dépose la fiole au réfrigérateur à 4°C pour la nuit. Le lendemain, si le bouillon est clair, on filtre (voir la section filtration, conservation et vérification des lysats) et on détermine le titre et la RTD. Un phage doit présenter un titre d'au moins 10^8 pour être utilisable; sinon on reprend la propagation.

2.3.3.4 Propagation en couche d'agar mou

Pour cette méthode de propagation on utilise des géloses trypticase soja de 150 X 15 mm, enrichies de 0,04% de chlorure de calcium. On prépare aussi du bouillon trypticase soja contenant 0,5% d'agar granuleux (Difco) et 0,04% de chlorure de calcium qu'on répartit en fractions de 9 ml.

L'agar mou est refondu et refroidi à 45°C. À cet agar encore liquide, on ajoute 0,9 ml d'un bouillon de culture de quatre à six heures de la souche propagatrice et 0,1 ml du phage en concentration suffisante

pour obtenir la concentration finale optimale de propagation. Ce mélange est étalé rapidement sur la gélose et est laissé à solidifier. Puis on incube dix-huit heures à la température optimale. Après l'incubation, on ajoute 20 ml de bouillon sur la gélose et on brise la surface molle avec une pipette Pasteur recourbée à la flamme. On recueille ensuite le tout, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile dont on a coupé toute l'effilure. On mélange pour briser l'agar et on centrifuge à 3000 -3500 tours/minute, quinze minutes (International Centrifuge Model UV). Le surnageant est titré et conservé à 4°C. Si le titre est suffisant, on le filtre et on redétermine la RTD.

2.3.3.5 Filtration, conservation et vérification des lysats

La stérilisation du lysat est assurée par la filtration. S'ils demeurent en solution, les staphylocoques peuvent libérer leur prophage ou absorber le phage spécifique et abaisser le titre de la solution. Nous utilisons ici des filtres Nalgène avec membrane de 0,45 µm, pré-stérilisés et jetables (No Nalge 245-0045).

Si le titre est bon après la filtration, on conserve les solutions de phages non diluées, à l'état liquide à 4°C. Certains phages peuvent maintenir leur titre pendant deux à trois ans. Par contre, d'autres phages sont beaucoup moins stables. Il faut donc vérifier le titre des solutions mères assez régulièrement.

Avant d'être utilisés pour la lysotypie, chaque nouveau lot de phages doit être vérifié. La méthode standard de vérification des phages

se divise en trois étapes: 1. la titration préliminaire pour déterminer la RTD, laquelle s'effectue après chaque propagation; 2. la comparaison du spectre lytique de chaque phage avec le spectre lytique standard; 3. la vérification du titre des solutions diluées de phages utilisées pour la lysotypie.

La détermination du spectre lytique est très complexe et nécessite plusieurs souches standard de S. aureus que nous ne possédons pas. Comme nous évitons les propagations en série, nous pouvons délaisser cette vérification.

La troisième étape s'accomplit à toutes les semaines et consiste tout simplement à procéder à la lysotypie des souches propagatrices. Ainsi, on peut détecter facilement une baisse des titres des solutions diluées de phages. Si tel est le cas, une dilution fraîche est faite à partir des solutions mères.

2.3.4 Technique de lysotypie

2.3.4.1 Typage

On utilise des géloses nutritives de 100 X 15 mm sur l'endos desquelles on dessine douze carrés. Les géloses nécessaires, soit deux par souche pour le typage à la RTD et deux pour le typage à la RTD X 100, sont mises à sécher à 37°C, la veille. Le matin, on repique les souches pures de S. aureus à typer dans des bouillons nutritifs de 5 ml, qu'on incube à 37°C. Environ quatre heures plus tard, on inocule les géloses en couvrant les surfaces avec le bouillon de culture et enlevant l'ex-

cès avec une pipette Pasteur. On laisse sécher la surface des géloses en enlevant le couvercle, puis on y applique avec une pipette Pasteur effilée, une goutte de chaque phage, suivant un ordre constant. Quand les gouttes sont sèches, on incube les géloses à 30°C pendant dix-huit heures.

Toutes les souches sont typées en même temps par les vingt-quatre phages dilués à leur RTD et à 100 fois leur RTD. De plus, toutes les souches qui se révèlent non typables sont retestées après une croissance de quatre heures à 43°C. Cette méthode, développée par Ma et Mandle en 1961, n'est pas employée de façon standard (Greaves, 1977). Elle était même peu connue jusqu'à ce que Perkins et Kundsin (1976) démontrent que le traitement à la chaleur pouvait rendre typables 18% des souches de S. aureus considérées comme insensibles aux bactériophages. Cette méthode étant très simple, il nous a semblé intéressant de l'essayer.

2.3.4.2 Lecture des résultats

La lecture des résultats est grandement facilitée par l'emploi d'un compteur de colonies Québec ou de tout autre appareil, qui transmet indirectement la lumière contre un fond noir.

La susceptibilité aux bactériophages s'exprime par des degrés divers de lyse, allant des plages distinctes à la lyse confluente. A la RTD X 100, on peut aussi observer des réactions d'inhibition, qui apparaissent comme un mince film couvrant la zone de la goutte. Dans cette éventualité, il ne s'agit pas d'une sensibilité au phage, mais plutôt d'une inhibition de la croissance, due au trop grand nombre de particules virales. On note le degré de lyse de la façon suivante:

- ++ plus de 50 plages; lyse semi-confluente; lyse confluente.
- + 20 à 50 plages
- ± moins de 20 plages
- 0 inhibition.

Toutes les réactions lytiques au-dessus de cinquante plages sont considérées comme de réactions fortes. Les degrés moindres de lyse sont notés comme des réactions faibles. Les résultats sont donnés en énumérant tout d'abord les réactions fortes, puis en insérant entre parenthèses les réactions faibles. A la RTD X 100, on ne tient pas compte des réactions faibles ou de l'inhibition. Dans des cas exceptionnels, où il ne survient que des réactions d'inhibition, on peut noter le type en terme d'inhibition par les phages.

2.3.4.3 Interprétation des résultats

En lysotypie, l'interprétation des résultats est souvent délicate et tient compte de l'origine des souches étudiées. Tout d'abord, on sépare les types obtenus en quatre groupes, qui correspondent aux subdivisions des phages de l'ensemble de base. On note cependant qu'on obtient un certain pourcentage de lysotypes appartenant à deux groupes.

Ensuite, on compare les divers types isolés pour démontrer la différence entre les souches. Pour cela, on doit considérer le fait que le lysotype d'une souche est stable en culture ou si les souches sont prélevées à la même source. Le lysotype a tendance à varier si on s'éloigne de la source commune. Dans une épidémie aigüe on retrouvera donc sensiblement le même type, car les transferts de la source commune sont récents.

Dans une épidémie chronique, où la souche est transmise en série dans un laps de temps assez long, on rencontrera surtout plusieurs lysotypes reliés mais ne présentant pas une correspondance parfaite.

L'interprétation des résultats de la lysotypie effectuée à la RTD se base sur les énoncés suivants (Blair et Williams, 1961): 1. deux cultures sont considérées comme différentes quand l'une d'elles est lysée fortement par au moins deux phages, qui ne produisent aucune lyse, aussi faible soit-elle chez l'autre. Une différence d'une seule réaction forte doit toujours être interprétée avec prudence; 2. deux souches présumément reliées peuvent être considérées comme probablement identiques, quand le type de l'une d'elles présente quelques réactions faibles par des phages qui produisent une forte lyse chez l'autre.

A la RTD X 100, on ne tient compte que des réactions fortes et l'interprétation s'en trouve moins nuancée.

2.4 Antibiogramme

L'antibiogramme des staphylocoques est établi en déterminant de façon qualitative, leur sensibilité à divers antibiotiques. Nous employons à cette fin, une forme plus standardisée de la méthode en disques de Bauer et al. (1966), telle que décrite par la compagnie Pfizer (1979), productrice des disques imprégnés d'antibiotiques. Certaines étapes de cette procédure ont été modifiées pour correspondre à la méthode en usage au CHSM, de façon à ce que nos résultats soient comparables.

2.4.1 Milieux et antibiotiques utilisés

On utilise la gélose Mueller-Hinton (Difco) qu'on prépare selon le mode d'emploi du manufacturier. Ce milieu est recommandé par l'Organisation Mondiale de la Santé, en raison surtout de sa très grande réproductibilité. Malgré cela, chaque nouveau lot de milieu doit être éprouvé avant son utilisation, avec des microorganismes de contrôle, tel le S. aureus ATCC 25923 (American Type Culture Collection). On emploie des boîtes de Pétri de 150 mm de diamètre, remplies à une hauteur de 4 à 5 mm. La quantité de milieu doit être assez constante pour éviter les variations dans la diffusion des antibiotiques. Les souches de S. aureus à éprouver sont mises en culture dans des bouillons trypticase soja (BBL) de 5 ml.

On teste les mêmes antibiotiques que ceux utilisés au laboratoire de microbiologie du CHSM contre les microorganismes gram-positif, à quelques exceptions près. Ce choix est déterminé par la susceptibilité de ces microorganismes aux divers antibiotiques et par la pratique clinique. La liste de ces antibiotiques ainsi que leur concentration dans les disques est fournie au tableau 2. Les cartouches de disques sont conservées exactement comme le recommande le manufacturier.

2.4.2 Méthode

Une colonie de la culture pure à éprouver est mise dans un bouillon nutritif, qu'on incube à 37°C pendant deux à trois heures, de façon à obtenir une suspension bactérienne légèrement trouble. La densité de cette suspension peut être contrôlée en la comparant avec un standard de sulfate

de barium (0,5 ml de BaCl₂. 2H₂O 1,175% dans 99,5 ml de H₂SO₄ 0,36 M) et diluée avec de l'eau saline (NaCl 0,09%) stérile si nécessaire. Au moins trente minutes avant leur inoculation, on place les géloses Mueller-Hinton à l'étuve, le couvercle légèrement soulevé pour assécher la surface du milieu. Juste avant l'inoculation, on dilue la suspension bactérienne, en mettant une à deux gouttes de celle-ci dans 10 ml d'eau saline stérile. On verse ensuite le salin sur le milieu de culture et on enlève soigneusement le surplus avec une pipette Pasteur stérile. On laisse sécher l'inoculum près de la flamme, environ cinq minutes.

Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la gélose grâce à un distributeur mécanique. Le contact est assuré en pressant chaque disque contre la gélose avec des pinces stériles. On laisse les géloses reposer trente minutes à la température de la pièce puis on les incube en les inversant à 37°C pendant dix-huit à vingt heures. Le lendemain, l'inoculum doit apparaître sur la gélose, non pas comme un tapis continu de bactéries mais comme des colonies distinctes, très rapprochées. Un inoculum trop épais ou trop léger occasionne des variations dans les diamètres des zones d'inhibition.

2.4.3 Lecture des résultats

Les diamètres des zones d'inhibition sont évalués avec un lecteur de zones fourni par Pfizer. La lecture se fait sur l'envers de la gélose, sans enlever le couvercle. Tel que recommandé par Barry et al. (1979), les géloses sont déposées ou maintenues à moins de 8 cm d'une plaque noire mate et les zones sont mesurées à l'aide d'une lumière réfléchie. De cette façon, les résultats sont plus reproductibles.

Cette lecture nous permet de savoir si la souche de S. aureus éprouvée est résistante, plus ou moins résistante ou sensible à chacun des antibiotiques. Le lecteur de Pfizer est en fait un gabarit, qui reproduit les zones d'inhibition déterminant chaque catégorie de susceptibilité, tel qu'enumérées au Tableau 2.

2.5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques

La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) consiste à trouver, par des dilutions sérielles, les plus faibles concentrations d'antibiotiques suffisantes pour inhiber la croissance des souches de S. aureus. Cette épreuve nous fournit un estimé quantitatif de l'activité des antibiotiques et nous permet une comparaison beaucoup plus précise des susceptibilités des diverses souches de S. aureus aux antibiotiques éprouvés. A cette fin, nous utilisons une méthode courante en microbiologie clinique, que nous complétons par certaines recommandations de A.L. Barry (1976 a et b).

2.5.1 Milieux et antibiotiques utilisés

Tout comme pour l'antibiogramme, nous utilisons le milieu Mueller-Hinton de Difco, mais cette fois-ci en bouillon. Les souches à tester sont diluées aussi dans le bouillon Mueller-Hinton, mais leur croissance initiale s'effectue dans un bouillon trypticase soja (BBL) de 10 ml.

Vu le travail considérable que représente la détermination des CMI, nous n'éprouvons que sept antibiotiques, comparativement aux douze

Tableau 2

Table d'interprétation de la susceptibilité
de *S. aureus* aux disques d'antibiotiques
Pfizer (Pfizer, 1979)

Abrévia- tion	Antibiotique	Conc. dans le disque	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
			Résistant (mm ou -)	Intermédiaire	Sensible (mm ou +)
AM	Ampicilline	10 µg	20	21-- 28	29
CL	Céphalosporines	30 µg	14	15 - 17	18
C	Chloramphénicol	30 µg	12	13 - 17	18
SO	Cloxacilline	1 µg	10	11 - 12	13
E	Erythromycine	15 µg	13	14 - 17	18
GM	Gentamycine	10 µg	12	--	13
K	Kanamycine	30 µg	13	14 - 17	18
L	Lincomycine	2 µg	9	10 - 14	15
N	Néomycine	30 µg	12	13 - 16	17
Pg	Pénicilline G	10 U	20	21 - 28	29
STR	Streptomycine	10 µg	11	12 - 14	15
TE	Tétracycline	30 g	14	15 - 18	19

utilisés pour l'antibiogramme. Le choix de ces antibiotiques est basé sur les résultats des antibiogrammes. Nous conservons seulement les antibiotiques pour lesquels on retrouve un certain pourcentage de résistance. Idéalement et selon Barry (1976a), nous avons intérêt à utiliser les antibiotiques sous forme de poudre stérile, dont on connaît l'activité précise. A défaut de cela, nous avons employé des antibiotiques injectables, distribués en vials commercialisés et fournis par la pharmacie de l'hôpital. Un seul antibiotique, la kanamycine, a pu être obtenu en poudre stérile, directement de la compagnie pharmaceutique. Voici la liste de ces antibiotiques ainsi que leur provenance: ampicilline, Penbritin 250 de Ayerst; érythromycine, Erythrocin-IV 1 g de Abbott; kanamycine en poudre stérile 834 µg/mg d'activité de Bristol; néomycine, Mycifradin 500 mg/ml de Upjohn; Pénicilline G 1 000 000 de Ayerst; tétracycline, Reverin 275 mg de Hoechst; streptomycine, Streptomycin 0,5 g/ml de Allen & Hanburys.

Chaque antibiotique est dilué avec de l'eau distillée stérile pour obtenir une solution mère de 800 µg/ml. Ces solutions sont préparées selon les besoins et conservées à 4°C, selon les directives du fabricant. A partir de cette solution mère, on prépare une série de quinze dilutions, de demie en demie, allant de 200 µg/ml à 0,0125 µg/ml.

2.5.2 Méthode

Nous éprouvons au total 118 souches de S. aureus, à raison de quinze souches et de deux antibiotiques par jour, soit 30 CMI par jour. Les dilutions d'antibiotiques sont réalisées dans des tubes stériles 100 X 13 mm

fermés par des bouchons de plastique, avec une pipette automatique de 500 µl. Au départ chaque tube reçoit 0,5 ml de bouillon nutritif stérile. On ajoute ensuite au premier tube, 0,5 ml de la solution mère de 800 µg/ml, on agite, on reprend 0,5 ml qu'on met dans le deuxième tube et ainsi de suite jusqu'au dernier tube. On joint à cette série de tubes des contrôles positif et négatif.

Ensuite, on ajoute 0,5 ml d'inoculum à tous les tubes excepté le contrôle négatif, ce qui dilue encore l'antibiotique. L'inoculum doit être dilué à environ 1×10^5 CFU/ml (colony forming units), en considérant qu'un bouillon nutritif de dix-huit heures de S. aureus contient environ 1×10^9 CFU/ml. La dilution finale doit être utilisée dans les vingt minutes suivant sa fabrication. Après l'inoculation, les tubes sont agités puis incubés à 37°C pendant seize à dix-huit heures.

La plus faible concentration d'antibiotique qui produit une inhibition complète de la croissance constitue la CMI. On ne tient généralement pas compte d'un léger trouble ou d'un petit culot au fond du tube. Seuls une turbidité définitive et/ou un bon dépôt de bactéries dans le fond du tube représentent l'évidence que l'antibiotique ne réussit pas à inhiber complètement la croissance à cette concentration. Les résultats s'expriment en µg/ml ou en $\log_2 10 \times \text{CMI}$.

2.6 Détection de la production d'entérotoxines

La production des entérotoxines A, B, C, D et E est une caractéristique importante de S. aureus. On connaît bien leur implication dans

les empoisonnements alimentaires et on tente depuis longtemps de leur trouver un rôle dans les infections systématiques à S. aureus. Il est donc intéressant pour nous, de déceler la production d'entérotoxines chez nos souches de S. aureus. A cette fin nous devons tout d'abord stimuler les souches entérotoxigéniques à produire des quantités décelables d'entérotoxines. Ensuite, nous pourrons détecter ces dernières par immunodiffusion.

2.6.1 Production des entérotoxines

Pour concentrer les entérotoxines produites par les souches entérotoxigéniques, nous utilisons la méthode de cellophane sur agar de Hallander, décrite par Robbins, Gould et Bergdoll (1974). Dans cette méthode, le cellophane sur l'agar permet la diffusion des éléments nutritifs vers les bactéries mais empêche les entérotoxines, qui sont des protéines de poids moléculaire de 30 000 à 40 000 de se répandre dans le milieu. Des cercles de cellophane sont coupés dans un tube à dialyse de 4,4 cm de largeur présentant une barrière moléculaire de 12 000 daltons (Eisher 08-667E), en utilisant un papier filtre de 9 cm comme guide. Ces cercles de cellophane sont placés, en alternance avec des papiers filtres dans une boîte de Pétri de verre, à raison de 15 à 20 cercles par boîte. Le tout est imbibé d'eau distillée pour éviter le froissement et autoclavé à 121°C, pendant vingt minutes. Les cercles de cellophane stériles sont ensuite transférés aseptiquement sur des boîtes de Pétri de 100 X 15 mm contenant de l'agar cerveau coeur infusion (en anglais, BHI) de Difco. On applique alors sur ce cellophane 0,1 ml d'un bouillon de culture BHI de dix-huit heures,ensemencé avec la souche de S. aureus appropriée. Cet inoculum est étalé sur toute la surface

du cellophane, avec une pipette Pasteur stérile recourbée. On incube ces boîtes de Pétri à 37°C, pendant vingt-quatre heures. Le lendemain, on récolte la croissance bactérienne avec 2,5 ml de Na₂HPO₄ 0,01 M, on centrifuge la suspension cellulaire et on conserve le surnageant pour la détection des entérotoxines.

2.6.2 Détection par immunodiffusion

La détection des entérotoxines se fait par immunodiffusion double en gel, suivant une technique dite Optimal Sensitivity Plate (OSP), mise au point par Robbins, Gould et Bergdoll (1974). Si la méthode de production des entérotoxines est efficace, l'OSP peut remplacer la technique des micro-plaques, plus sensible mais beaucoup plus complexe.

Les entérotoxines purifiées et les antiséra nécessaires à l'OSP furent gracieusement fournis par M.S. Bergdoll du Food Research Institute, University of Wisconsin. L'antisérum E n'étant plus disponible, nous ne travaillons qu'avec les entérotoxines A,B,C et D.

2.6.2.1 Préparation des entérotoxines purifiées et des antisera

Pour l'OSP on doit diluer les entérotoxines purifiées et les antisera de façon à obtenir un bon équilibre entre la sensibilité de la méthode et l'intensité des bandes de précipitation. Le protocole de dilution nous est parvenu avec les antisera et nous suivons ces instructions (Bergdoll, 1980). Un résumé de celles-ci est fourni au tableau 3. Ces dilutions nécessitent les solutions suivantes: 1. tampon phosphate sodium (PBS) soit du phosphate de sodium 0,02 M, pH 7,4 dans du chlorure de sodium 0,09% et 1:10 000

Tableau 3

Protocole de dilution des entérotoxines purifiées
et de leurs antiséra

Identification	Numéro	Concentration initiale	Etape 1: Dissoudre le contenu de la fiole dans:	Etape 2: Diluer x ml de (1) à,	Etape 3: Diluer x ml de (2) à,	Concentration finale
Entérotoxine A	AT-11	850 µg/fiole	17 ml de PBS ² + 50 µg/ml	0.4 ml à 5 ml avec BHI ³ + 4 µg/ml		4 µg/ml
Antisérum A	AS-13	32	12 ml de PBS ² + 1:6	1 ml à 4 ml avec PBS ³ + 1:24		1:24
Entérotoxine B	492-BS-6	1,8 ng/fiole	18 ml de PBS ² + 100 µg/ml	1 ml à 10 ml avec BHI 0,3% ² + 10 µg/ml	1 ml à 2,5 ml avec BHI ³ + 4 µg/ml	4 µg/ml
Antisérum B	BS-11	64	10 ml de PBS ² + 1:10	1 ml à 4 ml avec PBS ³ + 1:40		1:40
Entérotoxine C	585+137	3,1 mg/fiole	31 ml de PBS ² + 100 µg/ml	1 ml à 5 ml avec PBS ² + 20 µg/ml	1 ml à 5 ml avec BHI ³ + 4 µg/ml	4 µg/ml
Antisérum C	C,HP 773	46	12 ml de PBS ² + 1:12	1 ml à 2 ml avec PBS ³ + 1:24		1:24
Entérotoxine D	DT-13	150 µg/fiole	3 ml de PBS ² + 50 µg/ml	1 ml à 5 ml avec PBS ² + 10 µg/ml	1 ml à 5 ml avec BHI ³ + 2 µg/ml	2 µg/ml
Antisérum D	DS-11	14	8 ml de PBS ² + 1:8	1 ml à 2 ml avec PBS ³ + 1:16		1:16

1. Titre Oudin standard

2. Diviser en aliquots de 1 ml et conserver lyophilisés, congelés, (stables 1 an) ou au réfrigérateur (stables plusieurs mois mais sujets à la contamination).

3. Réfrigérer.

d e merthiolate (Sigma T 5125); 2. bouillon nutritif BHI avec 1:10 000 de merthiolate; 3. bouillon nutritif BHI 0,3%, dilué avec du PBS.

Le titre standard de chaque antiserum est défini comme la réciproque de la dilution de sérum donnant une zone de précipitation de 10 mm de longueur dans des tubes à diffusion simple en gel, après sept jours d'incubation à 25°C, contre une concentration de 10 mg/ml d'entérotoxine (Lee, Robbins et Bergdoll, 1978).

2.6.2.2 Immunodiffusion par Optimal Sensitivity Plate

Cette méthode de double diffusion en gel a été développée de façon à obtenir la plus grande sensibilité possible, sans sacrifier la visibilité des bandes de précipitation. Les conditions spécifiées par les auteurs sont donc bien étudiées et doivent être respectées le plus possible.

On étale dans une petite boîte de Pétri 50 X 12 mm (Falcon Plastic), 3 ml d'agar noble 1,2% (Difco) dissous dans du PBS avec 1: 10 000 de merthiolate. On perce sept trous dans cette couche d'agar, en utilisant le gabarit illustré à la figure 2 et des perce-bouchons numéro 2 et 3. Les bouchons d'agar sont enlevés par aspiration. Le perce-bouchon No. 2 produit un trou d'une capacité de 20 µl et le No. 3, un trou de 35 µl. Ainsi la concentration d'entérotoxine requise pour produire des bandes de précipitation équivalentes peut être environ deux fois plus faible dans les inconnus que dans le contrôle.

L'antiserum est placé dans le trou central, l'entérotoxine de contrôle correspondante dans les deux petits trous et les échantillons

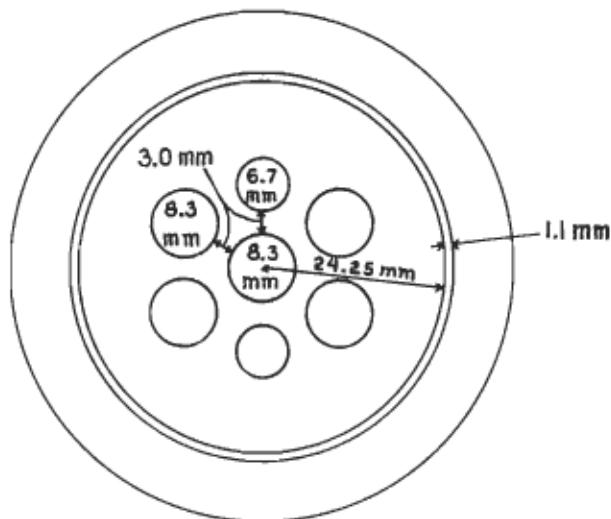


Figure 2. Dimensions du gabarit de plexiglass utilisé pour l'OSP (Robbins, Gould et Bergdoll, 1974).

inconnus dans les quatre grands puits. Cette distribution permet à chaque inconnu d'être adjacent à un contrôle, donc chaque résultat positif est confirmé par une bande de précipitation continue à celle du contrôle. Les boîtes de Pétri sont incubées dans une chambre humide, à 37°C pendant dix-huit à vingt-quatre heures.

Un résultat positif s'exprime par une bande de précipitation entre le puits d'antiserum et les puits d'inconnus et de contrôle. Avec cette méthode, des concentrations de 1 à 4 µg/ml dans les inconnus donnent des bandes de précipitation facilement observables. A 0,5 µg/ml, on observe habituellement un petit crochet continu avec la bande de précipitation du contrôle.

2.7 Consultation des dossiers médicaux

La consultation des dossiers médicaux a lieu quelques mois après la fin des prélèvements, pour permettre au personnel des archives de les

compléter. On y recherche surtout la date et la raison de l'hospitalisation, les interventions subies, les caractéristiques médicales du patient ainsi que la date et le site de l'infection. Avec ces informations, nous serons en mesure de déterminer si nous avons affaire à des infections nosocomiales ou communautaires et d'établir les principales causes favorisantes de ces infections.

Chapitre III

Résultats

Ce chapitre des résultats comprend deux grandes parties. Dans la première, nous compilons tout d'abord les caractéristiques bactériologiques de toutes nos souches de S. aureus différentes, isolées au CHSM et au CH Cloutier. Nous étudions ensuite les relations qui pourraient exister: 1- entre l'origine humaine ou physique de ces souches et leurs caractéristiques importantes soit les types phagiques, la résistance aux antibiotiques et la production d'entérotoxines et 2- entre chacune de ces trois caractéristiques.

La seconde partie concerne spécifiquement l'étude des cas d'infections nosocomiales à S. aureus rencontrés au CHSM. Nous regarderons alors les principales manifestations cliniques de ces infections, les caractéristiques des souches de S. aureus qui en sont responsables, les voies de transmission possibles, et finalement les facteurs favorisants, retrouvés chez les patients en cause.

3.1 Caractéristiques bactériologiques des souches de Staphylococcus aureus

3.1.1 Données générales

On retrouve au tableau 4, le nombre total de prélèvements effectués par site au cours de l'année 1980, ainsi que le nombre final de souches de S. aureus différentes, retenues pour l'étude des caractéristiques bactériologiques. En tenant compte de l'importance relative en superficie de chaque

Tableau 4

Nombre total de prélèvements effectués et
nombre final de souches de S. aureus
retenues pour étude

Département	Nombre de prélèvements	Nombre de souches isolées	Nombre de souches étudiées (%)
CHSM			
Pouponnière	57	36	22 (13,3)
Pédiatrie	72	57	38 (23,0)
Gynécologie et obstétrique	19	7	4 (2,4)
Médecine générale	48	22	19 (11,5)
Chirurgie	32	47	19 (11,5)
Orthopédie	51	28	27 (16,4)
Unité des soins intensifs	55	14	14 (8,5)
Lieux physiques divers	85	24	16 (9,7)
Personnel divers	20	6	6 (3,7)
Total	439	241	165 (100)
CH Cloutier	33	31	31 (100)

département, les principaux sites d'isolation du S. aureus au CHSM sont dans cette étude la pédiatrie, l'orthopédie et la pouponnière.

L'étude biochimique des souches de S. aureus révèle une corrélation presque parfaite entre les épreuves de la coagulase, de la Dnase et de la thermonucléase (tableau 5). Par ailleurs, si on considère le total des souches isolées au CHSM et au CH Cloutier, environ 5% ne produisent pas de pigment et n'utilisent pas le mannitol et 15% ne sont pas hémolytiques.

3.1.2 Types phagiques

Au CHSM, les bactériophages nous ont permis de typer 81,8% des souches de S. aureus. De ce nombre, 62,4% ont été lysotypées à la RTD, 13,3% à 100 RTD et 6% ont été rendues typables par la croissance à 43° C. Les résultats de cette lysotypie sont présentés au tableau 6. Le groupe des non assignés (NA) domine largement, surtout à cause de l'abondance des souches de type 96 qui forment 60% de ce groupe. Au CH Cloutier, on a typé la même proportion de souches de S. aureus qu'au CHSM, le chauffage à 43° C étant responsable de 10% de ce rendement (tableau 7). Ici, toutes les souches se distribuent entre les groupes III, NA et Mixtes, les types 96 et 94/96 étant dominants dans leur groupe et dans le groupe des lysotypes mixtes.

En divisant les souches selon leur origine, soit qu'elles aient été isolées chez les patients, le personnel ou sur les lieux physiques, on obtient quelques variations par rapport à la distribution totale des groupes phagiques sur l'ensemble des souches (tableau 8). Les changements les plus notables sont un plus fort pourcentage de souches NA chez le personnel, lié

Tableau 5

**Caractéristiques biochimiques des souches de
S. aureus isolées au CHSM et au CH Cloutier**

Caractéristique biochimique	CHSM (1)		CH CLOUTIER (2)	
	Nombre de réactions positives	%	Nombre de réactions positives	%
Pigment	155	93,9	31	100
Hémolyse	145	87,9	23	74,2
Mannitol (aérobie)	158	95,7	26	83,9
Coagulase	165	100	31	100
Dnase	164	99,4	31	100
Thermonucléase	164	99,4	31	100

(1) total de souches étudiées = 165

(2) total de souches étudiées = 31

Tableau 6

Résultats de la lysotypie des souches
de S. aureus isolées au
 CHSM

Types phagiques	Nombre de souches				
	RTD	100 RTD	RTD, 43°C	100 RTD, 43°C	Total (%)
Groupe I					
29	3	2	-	1	6
29 (52 et/ou 79 et/ou 80) ⁽¹⁾	2	-	2	-	4
29/52 (52A et/ou 79,80)	6	-	-	-	6
Total	11	2	2	1	16(9,7)
Groupe II					
3A (3C+, 55±)	2	-	-	-	2
3C	2	-	-	-	2
3C/55/71	2	1	-	-	3
autres	2	-	-	-	2
Total	8	1	0	0	9(5,4)
Groupe III					
42E	2	-	-	-	2
autres	8	8	2	-	18
Total	10	8	2	0	20(12,1)
Non assignés					
95 ou (95)	10	5	1	1	17
96	43	3	-	-	46
94/96	11	-	-	-	11
94 ou 81/82	3	-	-	-	3
Total	67	8	1	1	77(46,7)
Mixtes					
Groupes I et III	2	-	-	-	2
Groupes I et NA	2	1	1	-	4
Groupes III et NA	3	2	1	1	7
Total	7	3	2	1	13(7,9)
Total (%)	103(62,5)	22(13,3)	7(4,2)	3(1,8)	135(81,8)
Non typables	-	-	-	-	30(18,2)

(1) Les parenthèses indiquent les réactions mineures.

Tableau 7

Résultats de la lysotypie des souches de
S. aureus isolées au CH Cloutier

Types phagiques	Nombre de souches					Total (%)
	RTD	100	RTD	RTD 43°C	100 RTD, 43°C	
Groupe I	-	-	-	-	-	-
Groupe II	-	-	-	-	-	-
Groupe III						
53, 54, 83A, 75±	-	2	2	-	-	4
47/(83A+)(1)	-	-	-	1	1	1
47/53/83A/(42E+)	1	-	-	-	-	1
47/53/83A/(54, 75, 77)	1	-	-	-	-	1
47/53/75/77/83A	1	-	-	-	-	1
Total	3	2	2	1	8 (25,8)	
Non assignés						
95	-	1	-	-	-	1
96	7	1	-	-	-	8
94/96	3	-	-	-	-	3
Total	10	2	-	-	12 (38,7)	
Mixtes						
(71±/96±)	-	1	-	-	-	1
Groupes III et NA	3	1	-	-	-	4
Groupes I, III et NA	1	-	-	-	-	1
Total	4	2	0	0	6 (19,4)	
Total (%)	17(54,8)	6(19,4)	2(6,5)	1(3,2)	26 (83,9)	
Non typables	-	-	-	-	5 (16,1)	

(1) Les parenthèses indiquent les réactions mineures.

Tableau 8

Distribution des groupes phagiques chez les souches
de S. aureus isolées des patients, du personnel
ou sur les lieux physiques

Groupe phagique	Souches isolées chez			Total
	Patients	Personnel	Lieux	
I	6 (8,5) ⁽¹⁾	2 (6,9)	8 (12,4)	16 (9,7)
II	4 (5,6)	2 (6,9)	3 (4,6)	9 (5,4)
III	10 (14,1)	1 (3,45)	9 (13,8)	20 (12,1)
Non assignés	37 (52,1)	19 (65,5)	21 (32,3)	77 (46,7)
Mixtes	6 (8,5)	1 (3,45)	6 (9,2)	13 (7,9)
Non typables	8 (11,2)	4 (13,8)	18 (27,7)	30 (18,2)
Total	71 (100)	29 (100)	65 (100)	165 (100)

(1) Pourcentage de chaque groupe phagique pour chaque site d'isolation.

à une très faible représentation du groupe III dans cette catégorie de souches. En fait, 65,5% des souches de S. aureus isolées chez le personnel appartiennent au groupe des NA contre 3,5% au groupe III. La distribution des groupes phagiques chez les souches environnementales est un reflet de ce que l'on a isolé chez les patients sauf qu'on y retrouve beaucoup moins de NA et plus de souches non typables (NT). On remarque sensiblement les mêmes variations si on reclasse nos souches de S. aureus en souches pathogènes c'est-à-dire responsables d'infections, en souches nasales et en souches environnementales (tableau 9). Il est intéressant de noter dans ce tableau le fort pourcentage de souches pathogènes du groupe III par rapport à la faible quantité de souches nasales de ce groupe.

D'autre part, si on subdivise nos souches selon leurs sites d'isolation dans l'hôpital, on se rend compte que chaque étage est caractérisé par la présence ou l'absence de un ou deux groupes (tableau 10). Comparativement à la distribution totale, il y a prédominance des groupes III et NA à la pouponnière, I et NT à la pédiatrie, III et NA en médecine générale et en orthopédie, NA et NT en chirurgie et des groupes I et II à l'unité des soins intensifs. Dans le groupe des NA, le type 95 a été isolé seulement à la pouponnière, à la pédiatrie, en orthopédie et dans les sites divers, en quantité presqu'équivalente aux types 94/96 et 96. Par contre, on ne retrouve que les types 94, 94/96 et 96 en médecine générale et exclusivement le type 96 en chirurgie. Ces résultats nous ont amené à regarder les dates d'isolation de ces souches de S. aureus. Les groupes I, II et NT sont apparus à la pédiatrie et aux soins intensifs, en grande majorité durant les mois d'avril, mai et juin tandis que tous les autres groupes ont été isolés régulièrement tout au long de l'année 1980.

Tableau 9

Distribution des groupes phagiques chez les souches
de S. aureus pathogènes, nasales et
environnementales

Groupes phagiques	Souches pathogènes	Souches nasales	Souches environnementales	Total
I	5 (9,1) ⁽¹⁾	3 (6,7)	8 (12,3)	16 (9,7)
II	4 (7,3)	2 (4,4)	3 (4,6)	9 (5,4)
III	8 (14,5)	3 (6,7)	9 (13,8)	20 (12,1)
Non assignés	28 (50,9)	28 (62,2)	21 (32,4)	77 (46,7)
Mixtes	4 (7,3)	3 (6,7)	6 (9,2)	13 (7,9)
Non typables	6 (10,9)	6 (13,3)	18 (27,7)	30 (18,2)
Total	55 (100)	45 (100)	65 (100)	165 (100)

(1) Pourcentage de chaque groupe phagique dans chaque classe de souches
de S. aureus.

Tableau 10

**Distribution des groupes phagiques selon le département
d'isolation des souches de S. aureus**

Groupe phagique	<u>S. aureus</u> isolé en:							Divers ⁽²⁾	Total
	Pouponnière	Pédiatrie	Médecine générale	Chirurgie	Orthopédie	Unité des soins intensifs			
I	2 (9,1) ⁽¹⁾	7 (18,4)	1 (5,3)	0	0	4 (28,6)	2 (7,7)	16 (9,7)	
II	2 (9,1)	0	2 (10,5)	0	0	3 (21,4)	2 (7,7)	9 (5,4)	
III	5 (22,7)	0	4 (21,1)	2 (10,5)	6 (22,2)	1 (7,2)	2 (7,7)	20 (12,1)	
Non assignés	12 (54,5)	14 (36,9)	12 (63,1)	11 (57,9)	16 (59,3)	3 (21,4)	9 (34,6)	77 (46,7)	
Mixtes	1 (4,6)	4 (10,5)	0	2 (10,5)	3 (11,1)	0	3 (11,5)	13 (7,9)	
Non typables	0	13 (34,2)	0	4 (21,1)	2 (7,4)	3 (21,4)	8 (30,8)	30 (18,2)	
Total	22 (100)	38 (100)	19 (100)	19 (100)	27 (100)	14 (100)	26 (100)	165 (100)	

(1) Pourcentage de chaque groupe phagique dans chaque département

(2) Voir détails page 71

3.1.3 Résistance aux antibiotiques

L'antibiogramme effectué sur chacune des 165 souches de S. aureus étudiées au CHSM nous révèle un schéma de résistance aux antibiotiques bien caractéristique de cette bactérie (figure 3). Le détail de ces antibiotypes est fourni au tableau 11. On y remarque que 83,6% des souches sont résistantes à l'ampicilline et à la pénicilline G. De ce nombre 15,2% sont aussi résistantes à au moins un autre antibiotique, dont 11,5% à la streptomycine. Seulement 4,8% de nos souches de S. aureus, soit 8 souches au total, ont montré une résistance à un ou plusieurs antibiotiques différents de l'ampicilline (AM) et la pénicilline G (Pg). Cette résistance aux autres antibiotiques s'exprime surtout vis-à-vis les trois aminoglycosides, streptomycine (STR), kanamycine (K) et néomycine (N) et vis-à-vis la tétracycline (TE). Au CH Cloutier, on note une résistance à l'ampicilline et à la pénicilline G de 10% supérieure à celle observée au CHSM, associée à une très faible résistance aux autres antibiotiques et à un très faible pourcentage de souches sensibles à tous les antibiotiques (tableau 12).

La représentation graphique des CMI illustre aussi la faible résistance aux antibiotiques de nos souches du CHSM, à l'exclusion de l'ampicilline et de la pénicilline G (figure 4). Parmi ceux-ci, la tétracycline et l'érythromycine sont plus actifs in vitro que les aminoglycosides. Cependant les CMI nous ont apporté des problèmes techniques et graphiques, qui nous obligent à laisser de côté ces résultats. Tout d'abord, certaines résistances n'apparaissent pas sur cette figure, en particulier dans le cas de la néomycine, parce qu'il a été impossible de tester toutes les souches

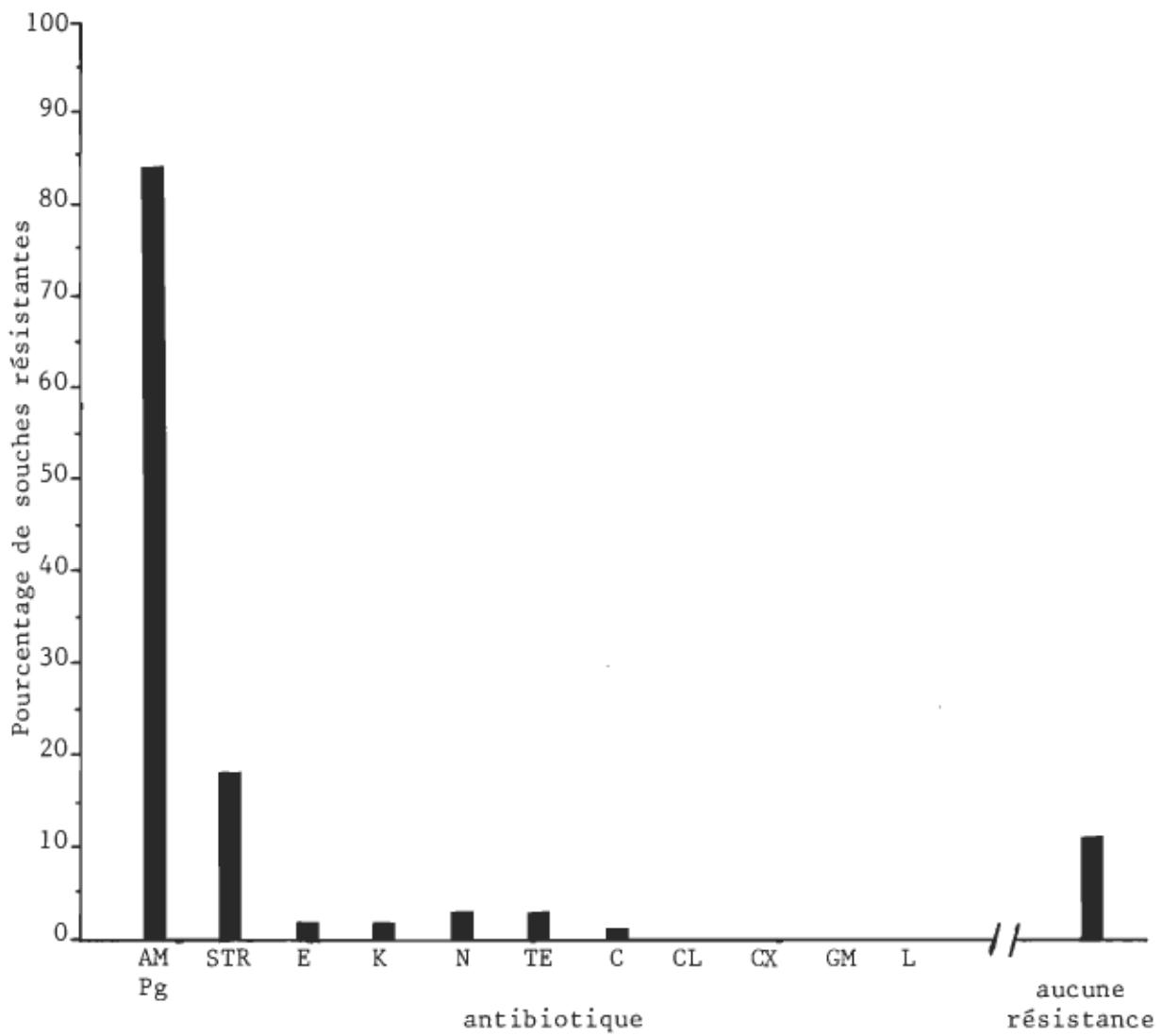


Figure 3- Pourcentage de résistance aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *S. aureus* isolées au CHSM.

Tableau 11

**Antibiotypes des souches de
S. aureus isolées au CHSM**

Antibiotype	Nombre de souches	%
Sensibles à tous antibiotiques	19	11,5
Résistantes à un antibiotique	4	2,4
STR	2	
K	1	
E	1	
Résistantes à deux antibiotiques	115	69,7
AM - Pg	113	
E - STR	1	
TE - STR	1	
Résistantes à trois antibiotiques	21	12,8
AM - Pg - STR	19	
AM - Pg - C	1	
K - N - STR	1	
Résistantes à quatre antibiotiques	6	3,6
AM - Pg - STR - N	2	
AM - Pg - STR - TE	2	
AM - Pg - STR - E	1	
K - N - STR - TE	1	
Total	165	100

Tableau 12

Antibiotypes des souches de S. aureus
isolées au C.H. Cloutier

Antibiotype	Nombre de souches	%
Sensibles à tous antibiotiques	1	3,2
Résistantes à		
STR	1	3,2
AM - Pg	18	58,1
AM - Pg - STR	11	35,3
Total	31	100

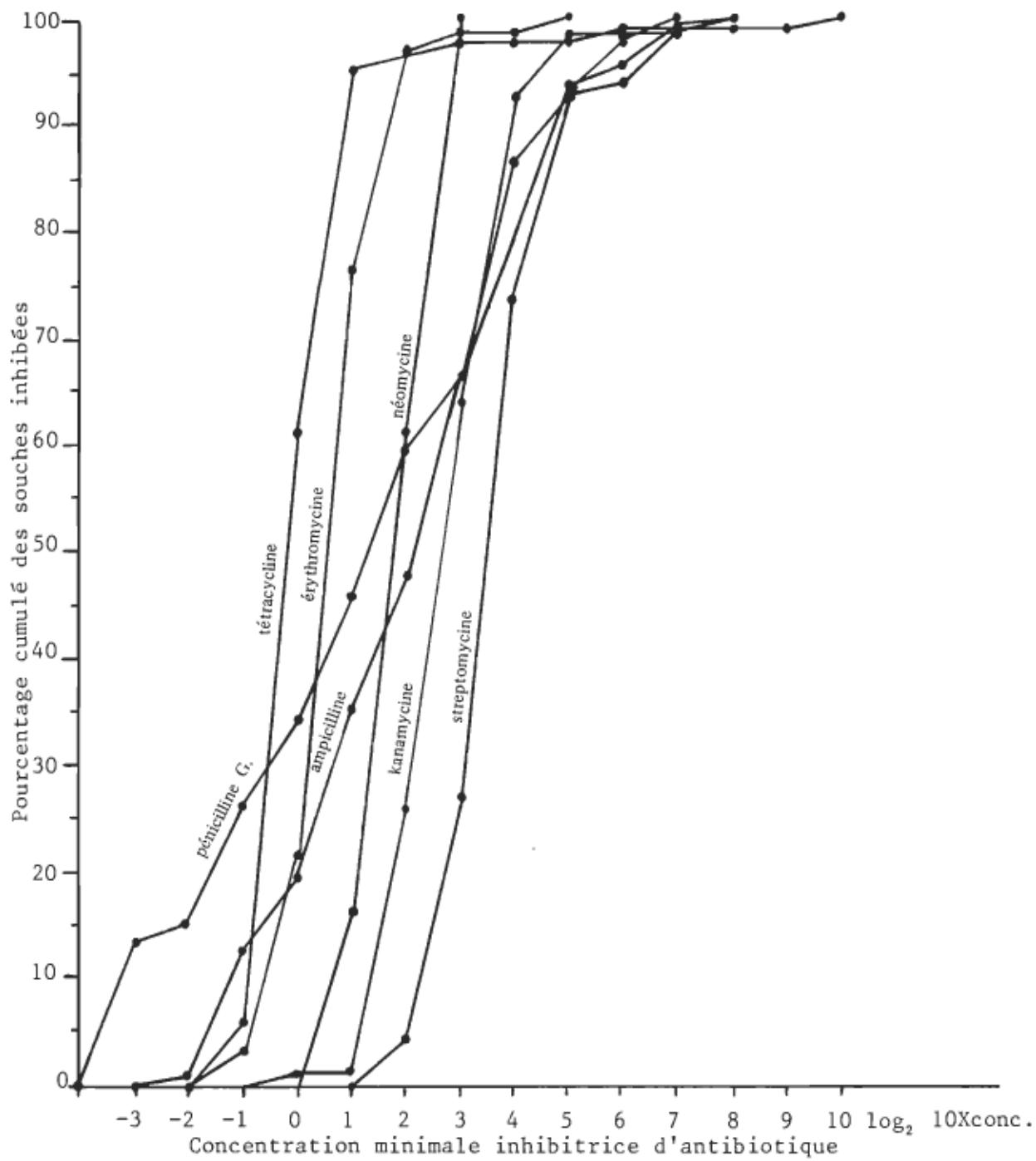


Figure 4- Concentrations minimales inhibitrices d'antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées au CHSM.

recueillies. De plus, la représentation graphique des CMI a tendance à exagerer l'image de la résistance à certains antibiotiques et ce phénomène s' amplifie en subdivisant les souches. Finalement les CMI effectuées sur les souches de S. aureus résistantes aux pénicillines se sont révélées très variables, donnant à l'occasion des résultats si faibles, qu'il était impossible de les distinguer des souches susceptibles. Ces variations à propos des CMI des pénicillines chez le S. aureus sont confirmées par Barry (1979). Pour les fins de notre étude, l'antibiogramme nous fournit une image plus fidèle et plus facilement interprétable de la résistance du S. aureus aux antibiotiques.

En subdivisant nos souches selon leur origine, soit qu'elles proviennent des patients, du personnel hospitalier ou des lieux physiques (figure 5), on observe une grande constance dans les pourcentages de résistance à l'ampicilline et à la pénicilline G et dans le nombre de souches sensibles à tous les antibiotiques. Par contre, les 14 souches présentant un antibiotype différent de AM-Pg ou AM-Pg-STR ont été isolées en grande majorité sur les lieux physiques et chez le personnel. Seulement deux de ces souches à résistance variée ont été retrouvées chez les patients contre quatre chez le personnel et huit sur les lieux physiques. Comme les souches isolées sur les lieux physiques sont le reflet d'une colonisation humaine, on a recherché l'origine de ces huit souches environnementales. On peut ainsi associer deux de ces souches aux patients et quatre au personnel.

Si on reclasse les souches de S. aureus isolées chez les patients et le personnel en souches pathogènes et nasales, la distribution des souches

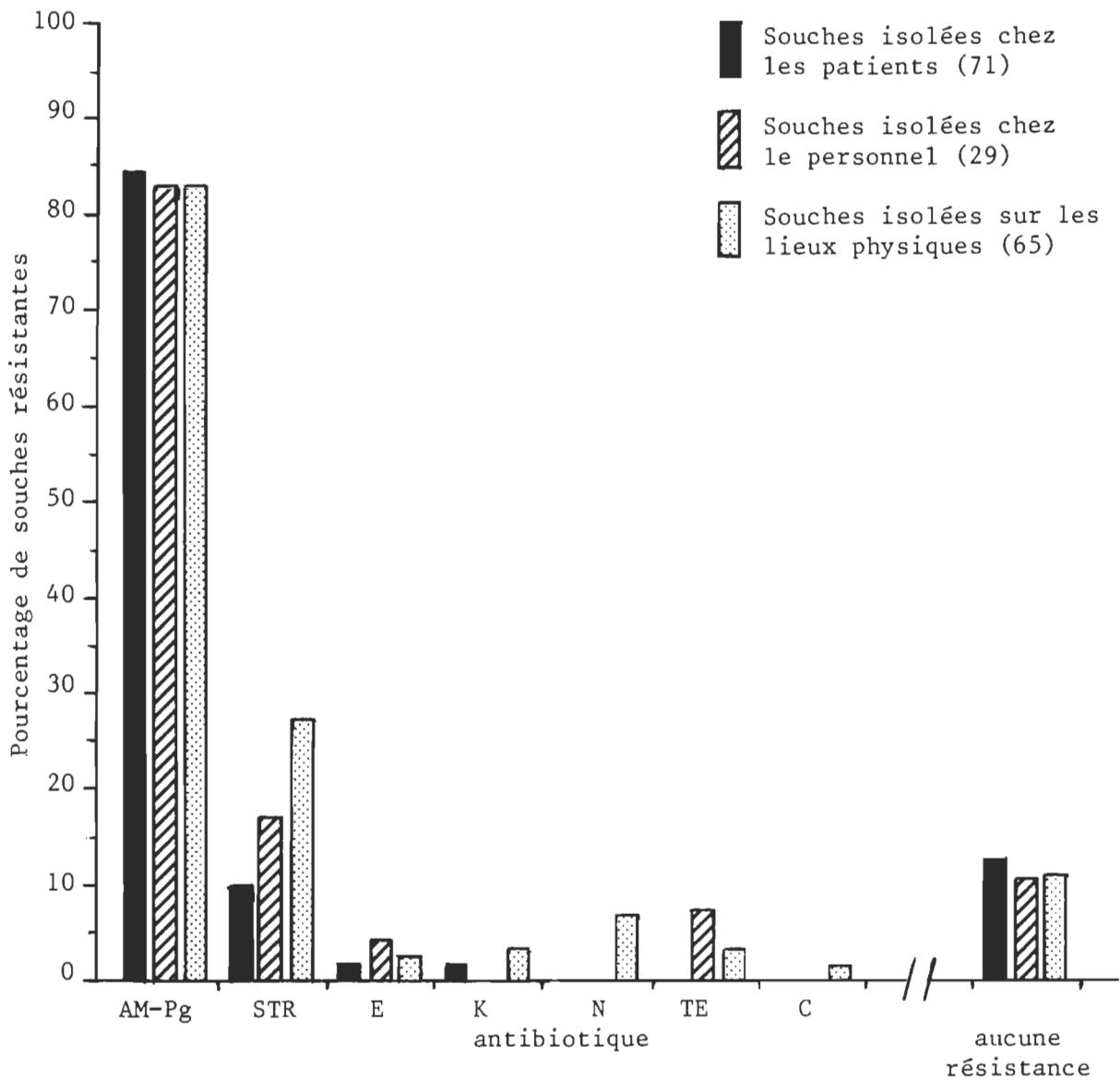


Figure 5- Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées chez les patients, le personnel et sur les lieux physiques

à résistance variée ne change pas, mais on observe chez les souches pathogènes, une faible diminution de la résistance aux pénicillines et une augmentation du pourcentage des souches sensibles à tous les antibiotiques (figure 6).

La résistance aux antibiotiques de nos souches de S. aureus varie aussi selon leurs sites d'isolation (figure 7). On a trouvé le plus fort pourcentage de souches résistantes à l'ampicilline et à la pénicilline G ainsi que le plus faible pourcentage de souches sensibles à tous les antibiotiques en orthopédie et exactement l'inverse chez les souches d'origine diverse. La résistance variée ne se rencontre qu'en pouponnière, chirurgie, orthopédie et chez les souches d'origine diverse.

Les souches d'origine diverse comprennent toutes les souches isolées chez le personnel et sur les lieux physiques des sites de service comme la radiologie, l' inhalothérapie, la physiothérapie et les cuisines ainsi que les souches isolées chez le personnel nouvellement engagé.

Finalement, on a examiné la résistance aux antibiotiques des différents groupes phagiques (figure 8). Les groupes I et II se caractérisent par aucune résistance variée et par environ 20% de souches sensibles à tous les antibiotiques. Les groupes III et Mixtes se signalent surtout par un fort pourcentage de résistance variée, tandis que le groupe des NA affiche une résistance accrue à l'ampicilline et à la pénicilline G, peu de résistance variée et par seulement 6% de souches sensibles. Enfin chez les NT, on observe beaucoup moins de résistance à l'ampicilline et à la pénicilline G, une résistance variée plus importante et 16,6% de souches sensibles.

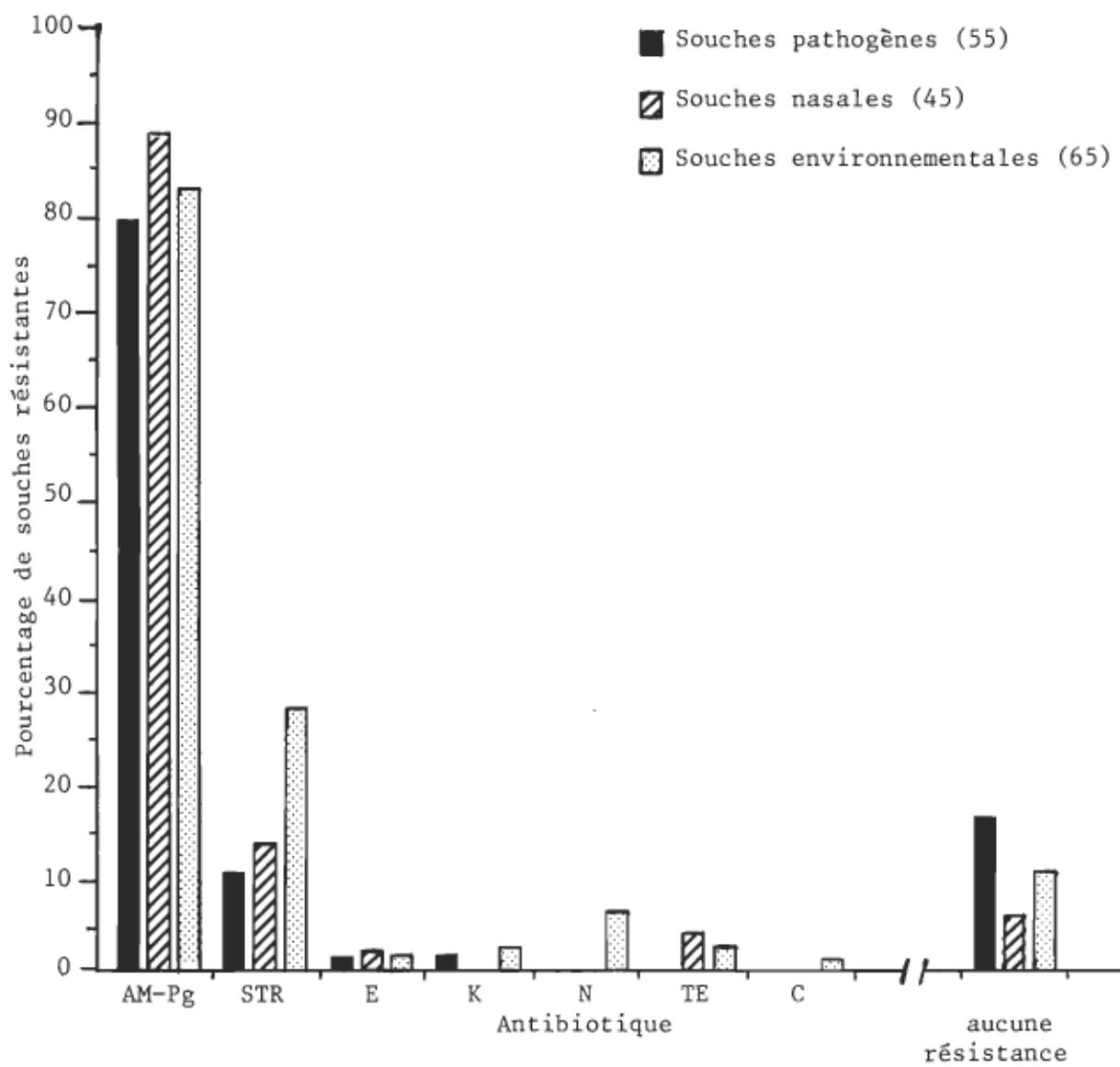


Figure 6- Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* pathogènes, nasales et environnementales

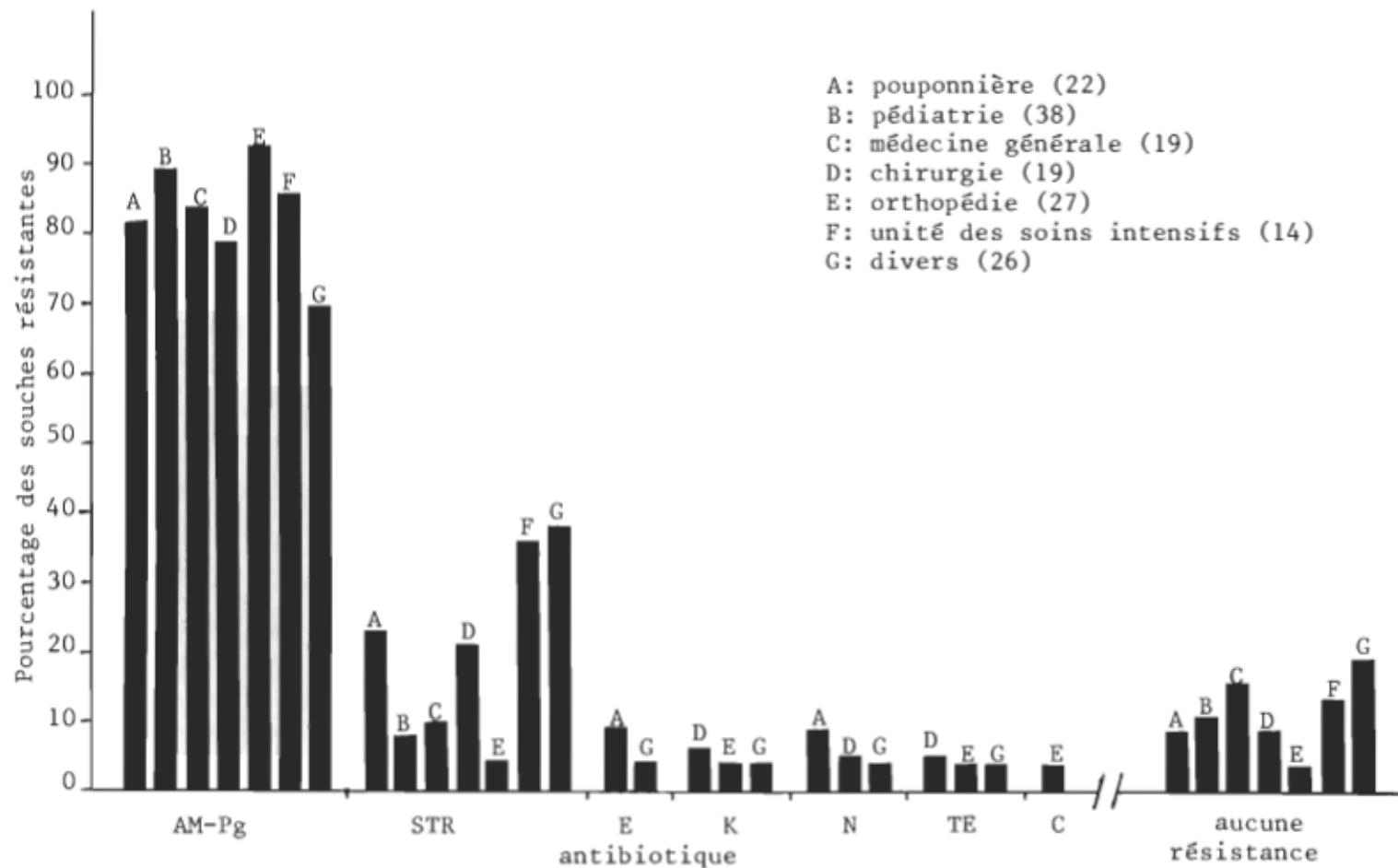


Figure 7- Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* selon leur département d'isolation

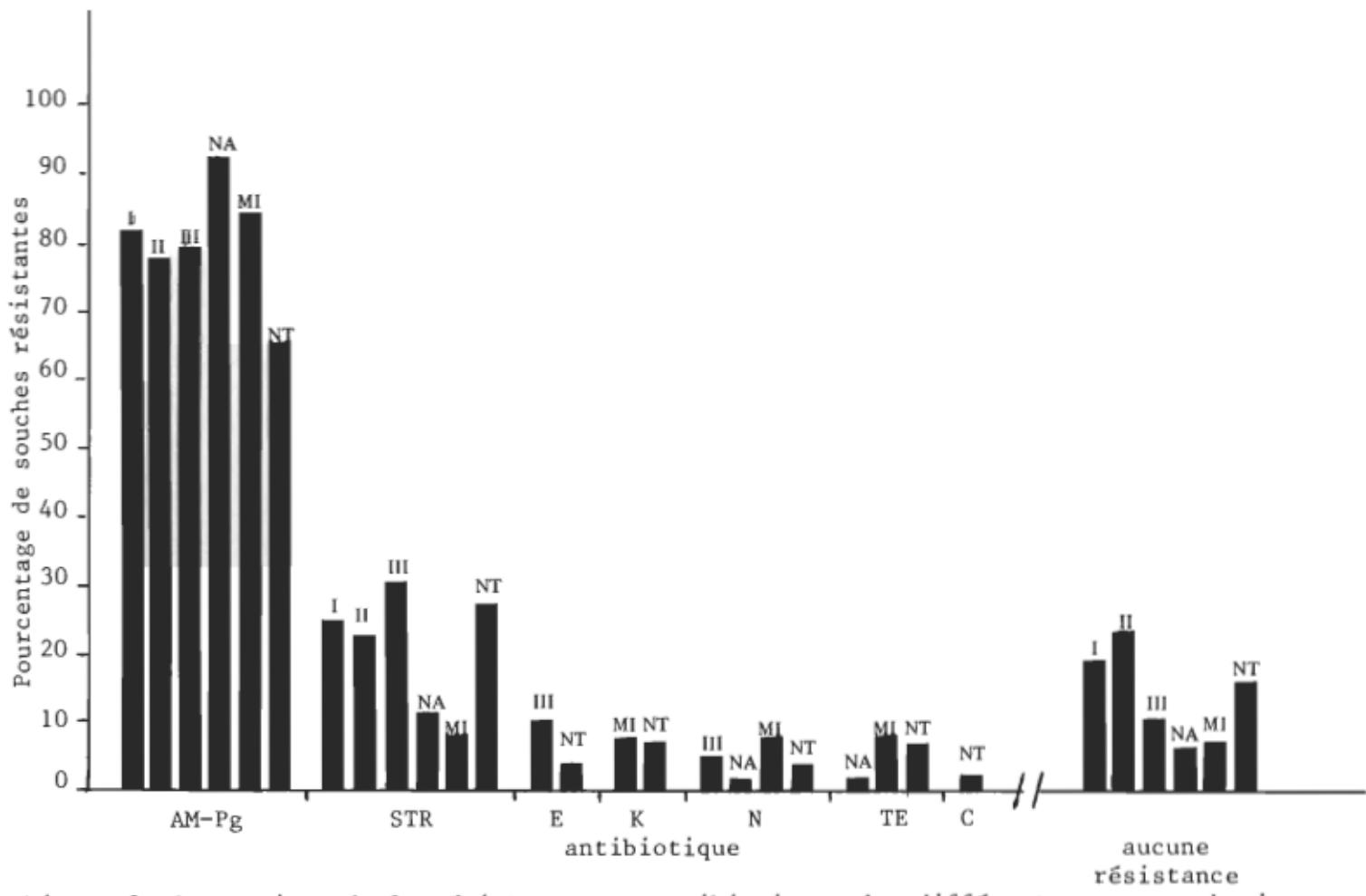


Figure 8- Comparaison de la résistance aux antibiotiques des différents groupes phagiques de *S. aureus*

3.1.4 Entérotoxigénicité

Comme on le voit au tableau 13, environ 25% des souches de S. aureus isolées au CHSM et au CH Cloutier ont exhibé la capacité de produire une ou deux entérotoxines. Ces souches sécrètent principalement les entérotoxines D ou B.

L'étude de l'entérotoxigénicité selon l'origine de nos souches (tableau 14) nous révèle que la production d'entérotoxines chez les souches environnementales est légèrement inférieure à celle des souches des patients et du personnel. La sécrétion des entérotoxines A et C ne se retrouve que chez les souches des patients. En reclassant les souches des patients et du personnel en souches pathogènes et nasales (tableau 15), on observe que la sécrétion des entérotoxines A et C se limite aux souches pathogènes et que les souches nasales sont légèrement plus productrices que les autres. Au CH Cloutier, 86% des souches entérotoxigéniques ont été isolées chez le personnel.

Le tableau 16 nous fournit le nombre de souches de S. aureus entérotoxigéniques isolées dans chaque département. On y retrouve presque partout un pourcentage de souches productrices supérieur à 20%. En pédiatrie et chez les souches d'origine diverse, la proportion atteint 35%. Des trois souches sécrétant l'entérotoxine A, deux ont été isolées à l'unité de soins intensifs, une dans une plaie récurrente à la tête et l'autre dans une hémodéculture. Les souches produisant l'entérotoxine B se distribuent assez équitablement dans tous les départements tandis que la sécrétion d'entérotoxine D s'observe principalement en pédiatrie et chez les souches d'origine diverse.

Tableau 13

Entérotoxigénicité des souches
de S. aureus isolées au CHSM
et au CH Cloutier

Entérotoxine (s) secrétée (s)	Souches isolées au CHSM (%)	Souches isolées au CH Cloutier (%)
A	3 (1,8)	0
B	15 (9,1)	2 (6,5)
C	1 (0,6)	0
D	22 (13,3)	5 (16,1)
A et D	1 (0,6)	0
B et C	1 (0,6)	0
C et D	1 (0,6)	0
Total	44 (26,6)	7 (22,6)
Aucune	121 (73,4)	24 (77,4)

Tableau 14

Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines
des souches de S. aureus isolées chez
les patients, le personnel et
sur les lieux physiques

Entérotoxines (s) sécrétée (s)	Souches isolées chez			Total
	Patients	Personnel	Lieux	
A	3 (4,2) ⁽¹⁾	0	0	3 (1,8)
B	8 (11,3)	4 (13,8)	3 (4,6)	15 (9,1)
C	1 (1,4)	0	0	1 (0,6)
D	7 (9,9)	5 (17,2)	10 (15,4)	22 (13,3)
D et A ou B ou C	1 (1,4)	0	2 (3,1)	3 (1,8)
Total	20 (28,2)	9 (31,0)	15 (23,1)	44 (26,6)
Aucune	51 (71,8)	20 (69,0)	50 (76,9)	121 (73,4)

(1) Pourcentage de sécrétion de chaque entérotoxine dans chaque catégorie de souches de S. aureus.

Tableau 15

Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des souches de S. aureus pathogènes, nasales et environnementales

Entérotoxine (s) sécrétée (s)	Souches pathogènes	Souches nasales	Souches environnementales	Total
A	3 (5,5) ⁽¹⁾	0	0	3 (1,8)
B	6 (10,9)	6 (13,3)	3 (4,6)	15 (9,1)
C	1 (1,8)	0	0	1 (0,6)
D	4 (7,3)	8 (17,8)	10 (15,4)	22 (13,3)
D et A ou B ou C	1 (1,8)	0	2 (3,1)	3 (1,8)
 Total	15 (27,3)	14 (31,1)	15 (23,1)	44 (26,6)
 Aucune	40 (72,7)	31 (68,9)	50 (76,9)	121 (73,4)

(1) Pourcentage de sécrétion de chaque entérotoxine dans chaque classe de souches de S. aureus.

Tableau 16

Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des souches de S. aureus
selon leur département d'isolation

Entérotoxine (s) sécrétée (s)	Souches isolées en							Total
	Pouponnière	Pédiatrie	Médecine générale	Chirurgie	Orthopédie	Unité de soins intensifs	Divers	
A	0	0	1	0	0	2	0	3 (1,8)
B	3	3	2	2	3	1	1	15 (9,1)
C	0	0	0	0	1	0	0	1 (0,6)
D	0	11	2	0	2	1	6	22 (13,3)
D et A ou B ou C	1	0	0	0	0	0	2	3 (1,8)
Total	4 (18,2) ⁽¹⁾	14 (36,8)	5 (26,3)	2 (10,5)	6 (22,2)	4 (28,6)	9 (34,6)	44 (26,6)
Aucune	18 (81,8)	24 (63,2)	14 (73,7)	17 (89,5)	21 (77,8)	10 (71,4)	17 (65,4)	121 (73,4)

(1) Pourcentage de souches de S. aureus sécrétrices d'entérotoxines dans chaque département.

Si on regarde la sécrétion d'entérotoxines de nos souches de S. aureus par rapport à leurs types phagiques (tableau 17) on se rend compte qu'on ne peut pas associer la production d'une entérotoxine particulière à un groupe phagique. Par contre, on observe que les groupes phagiques II, III et Mixtes sont plus producteurs que les autres.

Finalement, la production d'entérotoxines chez nos souches de S. aureus n'est pas liée à une augmentation de la résistance aux antibiotiques (figure 9). Au contraire, la résistance variée se retrouve presqu'exclusivement chez les souches non entérotoxigéniques.

3.2 Données sur les infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* observées au Centre Hospitalier Ste-Marie

Au CHSM, nous avons étudié au total 44 patients souffrant d'infection à S. aureus (tableau 18). De ce nombre, 23 présentaient une infection d'origine hospitalière et 4 ont développé deux infections nosocomiales simultanément, ce qui nous donne un pourcentage total d'infections nosocomiales à S. aureus de 64,6%. Ce pourcentage varie selon les départements. A la pédatrie il n'est que de 22,0% mais il atteint 83,3% en orthopédie et évidemment 100,0% à la pouponnière.

Ces infections nosocomiales englobent un large éventail de manifestations cliniques dont les principales sont les infections des plaies chirurgicales et les infections cutanées. Ces infections chirurgicales sont survenues dans 6 cas sur 9 suite à des opérations de nature orthopédique et dans 2 autres cas suite à des interventions neurochirurgicales. Les infections cutanées comprenaient 4 infections de plaies de décubitus, 2 infections

Tableau 17

Comparaison de la sécrétion d'entérotoxines des différents groupes phagiques de S. aureus

Groupe phagique	Entérotoxine (s) sécrétée (s)					Total (%) ⁽²⁾
	A	B	C	D	Mixte	
I (16) ⁽¹⁾	1	0	0	2	0	3 (18,8)
II (9)	0	3	0	1	0	4 (44,4)
III (20)	1	2	0	4	1	8 (40,0)
NA (77)	0	7	0	9	0	16 (20,8)
Mixtes (13)	0	2	1	2	0	5 (38,5)
NT (30)	1	1	0	4	2	8 (26,7)
Total (165)	3	15	1	22	3	44 (26,6)

(1) Nombre de souches de S. aureus dans chaque groupe phagique

(2) Pourcentage de souches de S. aureus sécrétantes dans chaque groupe phagique.

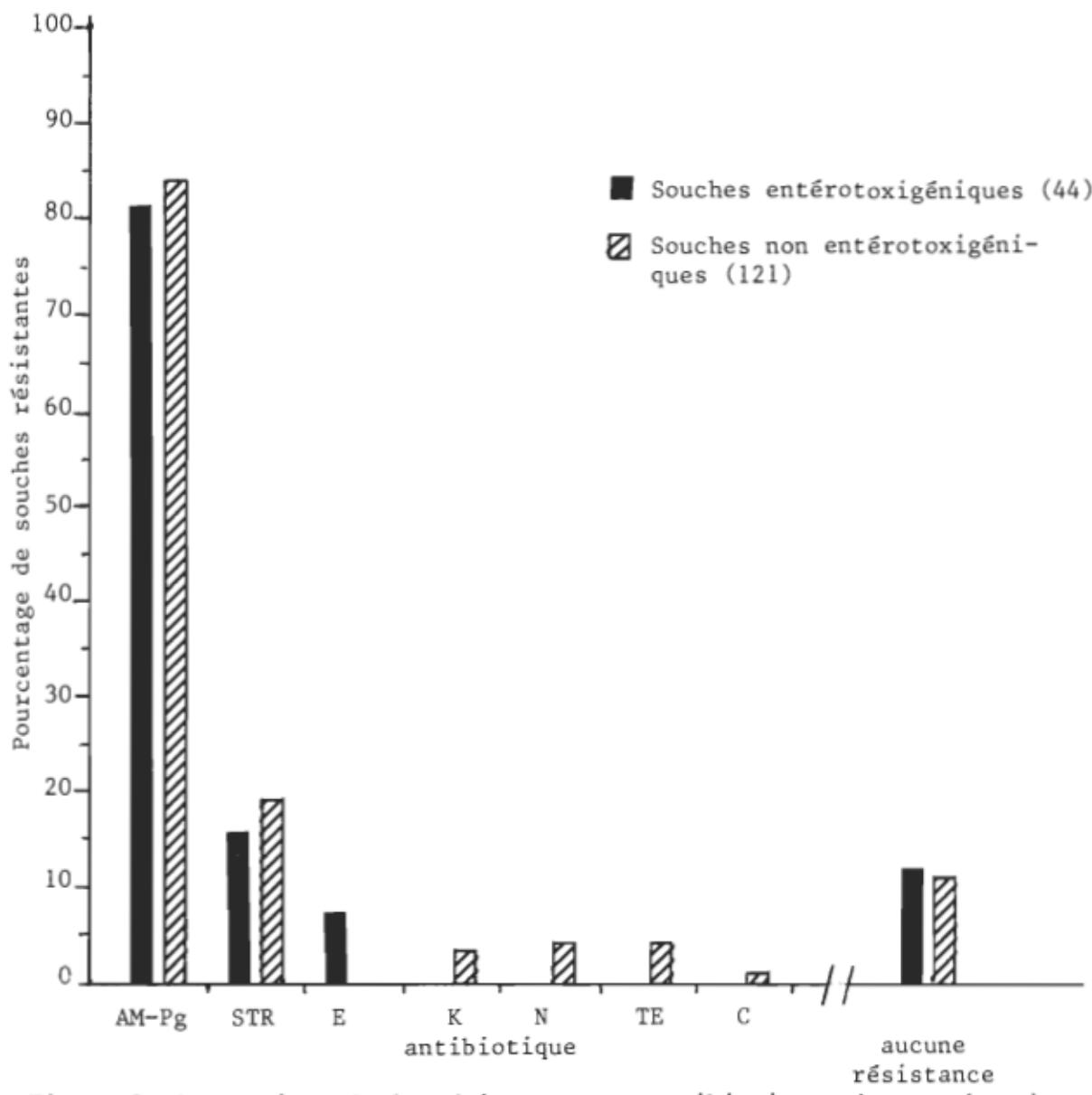


Figure 9- Comparaison de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* entérotoxigéniques et non entérotoxigéniques

Tableau 18

Pourcentages d'infections nosocomiales
à S. aureus observées au CSHM

Département	Nombre de patients étudiés	Nombre d'infections étudiées	Nombre d'infections nosocomiales (%)
Pouponnière	5	5	5 (100,0)
Pédiatrie	9	9	2 (22,2)
Médecine générale	8	8	5 (62,5)
Chirurgie	6	7	4 (57,1)
Orthopédie	10	12	10 (83,3)
Unité des soins intensifs	5	6	4 (66,7)
Obstétrique et gynécologie	1	1	1 (100,0)
Total	44	48	31 (64,6)

de brûlures et l'infection de l'ombilic chez un nouveau-né. Les infections des yeux étaient aussi assez fréquentes mais atteignaient exclusivement les enfants de moins de deux ans. Dans les deux cas d'infections urinaires rencontrés, le S. aureus était combiné à de l'Escherichia coli ou à du Citrobacter freundii, deux agents pathogènes plus communs au niveau urinaire. Dans les deux cas de septicémies, l'une était primaire c'est-à-dire sans aucune autre manifestation infectieuse précédente, tandis que la deuxième était secondaire à une infection de plaie chirurgicale à la tête. Les délais entre le début de l'hospitalisation et la prise de la première culture suite à ces manifestations infectieuses sont donnés aussi au tableau 19. Ces délais peuvent être de quelques jours à plusieurs mois selon les différents cas.

Les caractéristiques des souches de S. aureus responsables de ces infections nosocomiales sont réunies aux tableaux 20 et 21. Comme on peut le constater, on y retrouve une bonne variété de types phagiques, chaque groupe phagique étant représenté. Là encore, le groupe des NA domine grâce à la forte présence des souches de type 96, qui constituent à elles seules 66,7% de ce groupe et 32,3% de l'ensemble des souches nosocomiales. Ce type se retrouve exclusivement en médecine générale, en chirurgie et en orthopédie. Il est à noter que la souche NT isolée à l'unité des soins intensifs et provenant d'une plaie chirurgicale à la tête semble identique à la souche 29/(52+), isolée de l'hémoculture du même patient. En effet, cette dernière fut lysotypée qu'après chauffage à 43° C. Les souches de S. aureus du groupe I n'ont été rencontrées que dans trois cas d'infections nosocomiales lors de cette étude. Cependant elles ont causé dans chaque cas des infections graves, dont deux septicémies.

Tableau 19

**Principales manifestations cliniques
des infections nosocomiales à
S. aureus observées au CHSM**

Principales manifesta- tions cliniques	Nombre de cas observés (%)	Délais avant le premier prélèvement
Inf. ⁽¹⁾ plaie chirurgicale	10 (32,2)	12 à 24 jours
Inf. cutanées	7 (22,6)	3 jours à plusieurs mois
Inf. oculaires	5 (16,1)	3 à 4 jours
Inf. du système respiratoire	3 (9,7)	7 à 23 jours
Septicémies	2 (6,5)	8 et 25 jours
Inf. urinaires	2 (6,5)	8 et 30 jours
Inf. génito urinaire	1 (3,2)	23 jours
Otite	1 (3,2)	5 jours
Total	31 (100)	

(1) Inf.= infections.

Tableau 20

Caractéristiques détaillées des souches de S. aureus
responsables des infections nosocomiales
observées au CHSM

Département	Types phagiques	Entérotoxine	Antibiotype
Pouponnière	3C/55/71		AM, Pg
	83A/(53+)		sensible
	85	B-D	E
	95		AM, Pg, STR
	94/96		AM, Pg
Pédiatrie	29/52/(79+)	D	AM, Pg, STR
	95	D	AM, Pg
Médecine générale	3A+, 3C+, 55+, 71+	B	AM, Pg, STR
	6/47/54/75/77	D	AM, Pg
	3 96		AM, Pg
Chirurgie	2 96		AM, Pg
	96		sensible
	47/94/96/(54+, 75+)		AM, Pg
Orthopédie	42E		AM, Pg
	47/54/75		AM, Pg
	54+, 75+		AM, Pg
	95		AM, Pg
	2 96		AM, Pg
	2 96	B	AM, Pg
	95(52A+, 79+)	C	AM, Pg
	NT		K
Unité des soins intensifs	29/52/(52A+, 79+, 80+)		AM, Pg, STR
	29/(52+)	A	AM, Pg, STR
	94/96		AM, Pg, STR
	NT	A	AM, Pg
Obstétrique et gynécologie	83+	D	AM, Pg

Tableau 21

**Sommaire des caractéristiques des souches de S. aureus
responsables des infections nosocomiales
observées au CHSM**

Caractéristiques	Nombre de souches	%
Groupe phagique		
I	3	9,6
II	2	6,5
III	7	22,5
Non assignés	15	48,4
Mixtes	2	6,5
Non typables	2	6,5
Souches entérotoxigéniques	11	35,5
Souches non entérotoxigéniques	20	64,5
Résistance à:		
AM, Pg	27	87,1
STR	6	19,4
E	1	3,2
K	1	3,2
Sensibles antibiotiques	2	6,5

La résistance aux antibiotiques de ces souches de S. aureus responsables d'infections nosocomiales ne présente aucune particularité comparativement à celle de l'ensemble des souches isolées au CHSM. Au total, deux souches se sont révélées sensibles à tous les antibiotiques éprouvés et seulement deux autres souches ont montré une résistance variée, soit une résistante à l'érythromycine et une résistante à la kanamycine. Enfin 35,5% de ces souches nosocomiales sont entérotoxigéniques. Cette proportion est sensiblement supérieure à celle de l'ensemble des souches de S. aureus du CHSM, qui est de 26,6%.

L'épidémiologie de ces infections nosocomiales, c'est-à-dire la relation entre les souches de S. aureus pathogènes et nasales, est étudiée au tableau 22. Tout d'abord on remarque chez les patients, un taux de portage nasal près de trois fois supérieur à celui du personnel. Chez ces derniers, la proportion de porteurs sains n'atteint que 21,4%. Ensuite on a cherché le nombre de porteurs nasaux de souches de S. aureus identiques aux souches retrouvées dans les infections nosocomiales, autant chez le personnel que chez les patients. A la pouponnière, trois souches pathogènes sur les cinq rencontrées semblent provenir du personnel, de même qu'une souche sur deux à la pédiatrie. A l'unité des soins intensifs, malgré le grand nombre de prélèvements, on retrouve peu de porteurs sains de S. aureus chez le personnel et ceux-ci ne sont pas impliqués dans les cas d'infections hospitalières observées dans ce département. En médecine générale et en chirurgie on a recueilli peu de prélèvements, mais tous les porteurs sains trouvés maintenaient des souches du type 96. En orthopédie, aucun membre du personnel

Tableau 22

Relations entre les souches de S. aureus responsables
d'infections nosocomiales et le portage nasal

Département	Souches nasales du personnel			Souches nasales des patients		
	Nb. prélève- ments	Nb. porteurs	Nb. porteurs nosocomiaux ⁽¹⁾	Nb. prélève- ments	Nb. porteurs	Nb. porteurs nosocomiaux
Pouponnière	23	7	3	0	0	0
Pédiatrie	21	5	2	1	1	1
Médecine générale	7	1	1	4	2	2
Chirurgie	1	1	1	1	1	0
Orthopédie	5	2	0	8	4	3
Unité des soins intensifs	27	2	0	0	0	0
Total	84	18 (21,4%)	7	14	8 (57,1%)	6

(1) Nombre de porteurs nasaux de souches de S. aureus identiques aux souches responsables d'infections nosocomiales.

n'était porteur d'une souche de S. aureus identique aux souches nosocomiales. Dans le cas des patients, il n'était pas indiqué d'effectuer des prélevements à la pouponnière et il a été impossible d'en prendre à l'unité des soins intensifs, vu la gravité des cas rencontrés. Dans les autres départements, près de la moitié des patients chez lesquels on a effectué des prélevements nasaux, étaient porteurs d'une souche de S. aureus identique à la souche retrouvée dans leur infection. Au total, six infections nosocomiales ont un rapport direct avec le portage nasal chez les patients, dix ont un rapport indirect avec le portage nasal chez le personnel et 15 des 31 infections nosocomiales étudiées n'ont aucune correspondance avec un porteur nasal de S. aureus. Ces derniers cas s'expliquent surtout par le manque de prélevements.

Nous avons regroupé au tableau 23 les principaux facteurs qui ont pu favoriser l'apparition d'une infection nosocomiale à S. aureus, chez les 27 patients étudiés. Ceux-ci proviennent d'une revue des dossiers médicaux de ces patients. Les facteurs impliqués le plus régulièrement sont un séjour hospitalier supérieur à dix jours, l'âge soit de soixante ans et plus ou de deux ans et moins et le fait de subir une chirurgie surtout orthopédique, souvent suite à un traumatisme grave. Les cas de mauvaise antibiothérapie concernent deux patients souffrant d'infection causée par un autre micro-organisme que le S. aureus et pour lesquelles ils ont reçu un antibiotique peu efficace, ce qui a entraîné une surinfection par le S. aureus. Le facteur sexe est considéré ici, car près de 67% des infections nosocomiales étudiées sont survenues chez des hommes. Dans cette énumération, nous n'avons

Tableau 23

Principaux facteurs favorisants des infections
nosocomiales à S. aureus observées
au CHSM

Facteurs favorisants	Nombre de cas rencontrés (%) ⁽¹⁾
Séjour prolongé ≥ 10 jours	16 (59,3)
Sexe masculin	18 (66,7)
Âge avancé ≥ 60 ans	12 (44,4)
Chirurgie	10 (37,0)
Traumatisme grave	9 (33,3)
Bas âge ≤ 2 ans	7 (25,9)
Mauvais état général	7 (25,9)
Diabète	4 (14,8)
Mauvaise antibiothérapie	2 (7,4)

(1) Le total des patients souffrant d'infections nosocomiales est de 27.

pas inclus les manipulations complexes comme la respiration assistée ou les cathétérismes, parce que leur détection impliquait une lecture détaillée de chaque dossier, ce qui aurait été beaucoup trop long.

Chapitre IV

Discussion

4.1 Caractéristiques bactériologiques des souches de *Staphylococcus aureus*

Avant d'aborder cette section de la discussion, il serait utile de se remémorer les interrogations à la base de l'établissement de cette collection de souches de S. aureus recueillie au CHSM et au CH Cloutier en 1980. Tout d'abord, existe-t-il chez certaines souches de S. aureus des caractéristiques qui les rendraient plus pathogènes que d'autres et dont la détection nous indiquerait les risques d'infections nosocomiales? Ensuite, cette flore isolée au CHSM est-elle différente de celles recueillies d'en d'autres hôpitaux; varie-t-elle selon son origine humaine ou environnementale? La discussion qui suit tentera de répondre principalement à ces questions.

4.1.1 Données générales

Comme l'indique le tableau 4 (page 55), nous avons isolé au cours de cette étude 53% des souches de S. aureus étudiées dans trois départements seulement, soit à la pédiatrie, à la pouponnière et en orthopédie. La clientèle de ces départements possède des caractéristiques bien particulières, qui auraient pu favoriser l'apparition d'infection à S. aureus. A la pouponnière et à la pédiatrie, les patients sont très jeunes donc présentent une immaturité bactériologique et immunitaire. En orthopédie, les patients sont soumis à des soins très prolongés, souvent suite à une intervention chirurgicale sévère. Nous verrons dans cette section, si les caractéristiques bactériologiques des souches de S. aureus isolées dans ces trois départements expliquent plus leur forte fréquence dans ces sites que ces

quelques facteurs favorisants énumérés ci-haut. De plus, ces causes favorisantes seront étudiées en détail dans la section de la discussion traitant des infections nosocomiales.

A l'unité des soins intensifs et sur les lieux physiques divers, on a effectué beaucoup de prélèvements pour obtenir peu de souches. Ce faible rendement est dû surtout à l'essai du milieu mannitol-sel avant l'utilisation de la gélose de Baird-Parker, pour l'isolation du S. aureus sur les planchers et les meubles. Le milieu mannitol-sel est vraiment peu spécifique. Il permet une croissance abondante de plusieurs espèces de Bacillus qui changent le milieu et rendent la croissance et l'isolation du S. aureus très difficile. Suite à cet insuccès, nous avons opté pour le milieu de Baird-Parker qui est beaucoup plus spécifique. Cependant, il a été impossible de reprendre tous ces prélèvements. A l'unité des soins intensifs ce rendement peut dépendre aussi du grand effort de prévention des infections nosocomiales, qui est réalisé par le personnel.

L'identification biochimique de nos souches de S. aureus peut s'effectuer seulement par les épreuves de coagulase et de thermonucléase, les autres caractères étant beaucoup plus variables. Cela était prévu par les travaux de Lachica et al. (1971 a et b); Rayman et al. (1975) et Zarzour et Belle (1978).

4.1.2 Types phagiques

Lors de cette étude, nous avons réussi à lysotyper en moyenne 75,8% de nos souches de S. aureus avant d'utiliser le traitement à la cha-

leur (tableaux 6 et 7, pages 58 et 59). Cette efficacité est très acceptable si on considère notre faible expérience dans ce domaine et le caractère temporaire de notre installation. Elle se situe entre celles démontrées par Shayegani et al. (1978) et Altemeier et Lewis (1978), qui sont respectivement de 83,5% et de 70%. Le traitement à 43° C a permis d'augmenter le nombre de souches sensibles aux bactériophages de 6,6% si on considère le total des souches étudiées au CHSM et au CH Cloutier. Ce traitement n'a pas donné exactement les résultats escomptés. Selon Greaves (1977) et Shayegani et al. (1978), cette technique permet de lysotyper facilement au moins 10% de souches supplémentaires. Cette différence de rendement peut s'expliquer par le fait que nous avons été obligés d'incuber nos bouillons de culture dans une étuve conçue pour la croissance anaérobique. Nos souches ont crû en aérobiose mais sans ventilation. Les résultats obtenus sont quand même très utiles, car ces auteurs ainsi que Perkins et Kundsin (1976) s'entendent à dire que les lysotypes produits par le traitement à la chaleur sont assez stables pour servir à établir des liens épidémiologiques.

Cette lysotypie nous révèle une forte dominance des types lytiques 95, 96 et 94/96 purs ou mixtes (tableaux 6 et 7, pages 58 et 59). Cette prédominance hospitalière des phages 94, 95 et 96 est confirmée par Altemeier et Lewis (1978) et Shayegani et al. (1978) avec des échantillonnages de dix fois supérieurs au nôtre. Seuls Shayegani et al. précisent indirectement l'importance des autres groupes phagiques qu'ils ont rencontrés. Ils ont lysotypé 8,3% de souches du groupe I, 10,5% du groupe II, 6,0% du groupe III et 27,0% du groupe des Mixtes. Cela ressemble assez bien à nos résultats du CHSM sauf pour les groupes III et Mixtes dont les valeurs sont à l'in-

verse des nôtres.. Il faut souligner ici qu'il est très difficile de trouver des études utilisant le même ensemble de bactériophages que nous et avec lesquelles on pourrait comparer équitablement nos résultats de lysotypie. Dans les références antérieures à 1977 on n'emploie pas les phages 94, 95 et 96, car ceux-ci ne furent disponibles dans la majorité des laboratoires que durant l'année 1976. L'absence des groupes I et II au CH Cloutier ne nous semble pas significative vu le faible échantillonnage recueilli dans cet hôpital.

On observe donc au CHSM et au CH Cloutier, les mêmes tendances lysotypiques que dans certains hôpitaux américains. Cependant, il faut bien réaliser que les lysotypes prédominant certaines années ne sont pas permanents. Plusieurs études menées sur une vingtaine d'années ont mis en évidence l'apparition, la dominance et la disparition spontanée de plusieurs types lytiques de staphylocoques, certains étant responsables d'épidémies assez sévères (Altemeier et Lewis, 1978; Parker et al., 1974 et Zierdt et al., 1980). L'apparition des types 95, 96 et 94/96 se dessinait depuis plusieurs années par une augmentation importante du nombre de souches non typables, mais ces types lytiques pourront perdre leur prédominance hospitalière d'ici quelques années (Subcommittee on Phage-typing of Staphylococci, 1975 et Shayegani et al., 1978).

Au CHSM, le regroupement des souches de S. aureus selon leur origine humaine nous indique que cette dominance des phages 94, 95 et plus particulièrement du phage 96 est ressentie fortement au niveau des porteurs na-saux, qu'ils soient patients ou membres du personnel (tableaux 8 et 9,

pages 60 et 62). Si on regarde plus spécialement le taux de portage du type 96, on s'aperçoit qu'on le retrouve chez 38,0% du personnel et 31,2% des patients. Le personnel hospitalier semble donc jouer un grand rôle dans le maintien d'un si grand pourcentage de souches de S. aureus de ce type au CHSM. Ces résultats des tableaux 8 et 9 (pages 60 et 62) nous suggèrent encore que malgré leur dominance, les S. aureus du groupe des NA sont moins infectieux que ceux des autres groupes lytiques, bien qu'ils puissent causer parfois des infections très graves. En effet, c'est le seul groupe dans lequel on retrouve un plus fort pourcentage de souches nasales que de souches pathogènes. De plus, les souches de ce groupe se propagent moins ou survivent moins longtemps sur les lieux physiques que les souches des autres groupes. A cela s'oppose le cas du groupe I qui s'est révélé beaucoup plus infectieux, malgré sa faible fréquence. Sur les cinq cas d'infections dues à des S. aureus de ce groupe, deux étaient des septicémies dont une mortelle et trois des infections de plaies chirurgicales à la tête dont une très disséminante. Malheureusement nous n'avons pas trouvé de références récentes pouvant confirmer ou infirmer ces dires.

Le faible pourcentage de porteurs sains de S. aureus du groupe III chez le personnel, par rapport au pourcentage observé chez les patients s'explique surtout par la faible participation du personnel hospitalier, dans certains départements où l'on a retrouvé la majorité des infections dues à des souches de ce groupe (tableaux 9 et 10, pages 62 et 63).

La répartition des groupes lytiques selon les départements a tendance à nous laisser croire que chaque département possède une population

de S. aureus qui lui est propre (tableau 10, page 63). Cette impression est probablement causée par notre faible échantillonnage et ne nous semble pas réaliste. Les quantités de souches dans les groupes I, II et Mixtes sont trop faibles pour qu'elles se répartissent équitablement dans tous les départements. Déjà la distribution des autres groupes est plus équitable, surtout pour le groupe des NA qui est beaucoup mieux représenté que les autres. Il nous semble plus juste de penser que chaque groupe lytique peut être retrouvé partout dans l'hôpital suivant son abondance relative. Une augmentation de l'échantillonnage devrait causer une uniformisation de la distribution des groupes lytiques dans les départements. Un département ne peut pas s'isoler complètement du reste de l'hôpital surtout à cause des services communs tels les cuisines, la buanderie, la radiologie, la physiothérapie et bien d'autres. Ces services provoquent un va-et-vient continu dans l'hôpital, favorisant les échanges de bactéries. Même à la pouponnière, un des départements le plus clos de l'hôpital, on obtient une distribution des groupes lytiques qui se rapproche sensiblement de la distribution totale.

Au sujet des phages 94, 95 et 96, Altemeier et Lewis (1978) et Lewis et Altemeier (1978) ont observé une prédominance du type 95 dans les services chirurgicaux et des types 96 et 94/96 dans les autres services. Ceci ne correspond pas à ce que l'on a observé au CHSM. Ici le phage 95 ne prédomine pas et a été isolé dans des départements variés tandis que les phages 94 et 96 se retrouvent partout dans l'hôpital et que le type 96 domine dans les services chirurgicaux. On ne peut donc pas associer un type lytique à un département en particulier ni par extension à un genre spécifique d'infection.

4.1.3 Résistance aux antibiotiques

L'antibiotype de l'ensemble des souches de S. aureus étudiées au CHSM et au CH Cloutier nous révèlent une résistance aux antibiotiques vraiment faible. Nos résultats se comparent très avantageusement à ceux de Altemeier et Lewis (1978) et aux résultats recueillis par les hôpitaux du NNIS pour l'année 1976 (CDC, 1979) qu'on a regroupés au tableau 24.

On peut observer, dans nos centres hospitaliers locaux, que la résistance à l'ampicilline et à la pénicilline est équivalente, que la résistance à la streptomycine est supérieure et que pour tous les autres antibiotiques excepté la néomycine, nos résultats sont inférieurs aux autres. L'absence de résistance à la gentamycine aux CHSM et CH Cloutier s'explique par le fait que l'importance restreinte de ces centres hospitaliers exerce une pression sélective beaucoup moins intense sur les souches que celle qui s'exerce sur les souches de gros centres hospitaliers avec lesquels nos résultats sont comparés.

Au niveau de la résistance du S. aureus aux antibiotiques, le CHSM et le CH Cloutier jouissent donc d'une situation très enviable. En effet ces dernières années, beaucoup d'hôpitaux ont été victimes d'épidémies à S. aureus offrant une résistance inhabituelle à certains antibiotiques. La résistance à la gentamycine est apparue en France et en Grande-Bretagne en 1975 (Soussy et al., 1975 et Porthouse et al., 1976). A la fin de 1976, on observait déjà dans plusieurs de leurs hôpitaux des épidémies à S. aureus résistant à la gentamycine, la tobramycine, la néomycine, la kanamycine, la pénicilline G, la tétracycline, l'érythromycine, la clindamycine,

Tableau 24

Comparaison de la résistance aux antibiotiques
de nos souches de S. aureus avec celles de
diverses études

Résistance à	Altemeier et Lewis, 1978 (%)	NNIS pour 1976 (%)	Cette étude pour 1980 (%)
Pénicilline-Ampicilline	89	83	83,6
Streptomycine	8	7	18,2
Erythromycine	14	7	1,8
Kanamycine	19	3	1,8
Néomycine	1	2	2,4
Tétracycline	15	12	2,4
Chloramphénicol	1	9	0,6
Cépholosporines	0	1	0
Cloxacilline	-	-	0
Gentamycine	17	1	0
Lincomycine	4	1	0

la lincomycine et à la streptomycine (Speller et al., 1976). Aux Etats-Unis, on signala les premiers cas de résistance à la gentamycine et presque simultanément des épidémies durant cette même année 1976 (Lewis et Altemeier, 1978; Vogel et al., 1978 et CDC, 1979).

Durant les années 1967-1968, un autre genre de S. aureus résistant à la méthicilline et aux aminoglycosides est réapparu dans ces pays. Cette résistance connue depuis 1960 était demeurée jusqu'alors à un niveau très bas (Parker et Hewitt, 1970 et Barret et al., 1968). Aux Etats-Unis en 1975-1976, Crossley et al. (1979) signalent une épidémie importante causée par ce S. aureus. Les souches isolées alors étaient en majorité résistantes à la méthicilline, la pénicilline G, la tobramycine, l'amikacine, la kanamycine, la clindamycine, l'érythromycine et à 25% résistantes à la gentamycine. A Melbourne en Australie, l'incidence de ce S. aureus multi-résistant a atteint des proportions épidémiques. Dans certains hôpitaux, cette incidence est de 50% de toutes les souches isolées (Lyon, May et Skurray, 1983).

Une situation encore plus dramatique a été signalée par Altemeier et Lewis (1978). Ces derniers ont isolé en 1977-1978, 109 souches de S. aureus résistantes à presque tous les antibiotiques disponibles et notamment aux pénicillines semi-synthétiques pénicillinase-résistantes et à la gentamycine. Toutes ces souches de S. aureus multi-résistantes peuvent causer des infections très sévères et créent des problèmes insurmontables de thérapie antimicrobienne. Cette situation ne s'est pas présentée au CHSM jusqu'à maintenant.

En classant nos souches de S. aureus selon leur origine humaine (figure 5, page 70) on a observé chez les patients et le personnel, une résistance équivalente à l'ampicilline et à la pénicilline G, un même pourcentage de souches sensibles, mais deux fois plus de résistance variée reliée au personnel qu'aux patients. Ceci est conforme aux écrits de Williams (1963), qui reconnaît que le personnel hospitalier est porteur d'une plus grande proportion de souches de S. aureus résistantes aux antibiotiques que la population en général. Cependant, cette résistance aux antibiotiques observée chez les souches du personnel est quand même peu exagérée, si on considère que celui-ci est en contact journalier avec des antibiotiques et avec une flore bactérienne de plus en plus résistante.

La sensibilité accrue des souches pathogènes comparativement aux souches nasales (figure 6, page 72) nous rappelle par ailleurs que la résistance aux antibiotiques n'est pas le seul facteur déterminant la virulence du S. aureus. Lacey (1975) suggère même que le maintien et la multiplication des plasmides codant la résistance aux antibiotiques tendent à rendre les staphylocoques moins pathogènes. Cette affirmation se comprend mieux en regardant ce qui se passe durant les épidémies à S. aureus multi-résistants. Ces souches ont causé jusqu'à maintenant des infections très graves et souvent mortelles, nous laissant croire que leur vaste résistance aux antibiotiques augmente leur virulence (Lyon, May et Skurray, 1983 et Crossley et al., 1979). Cependant, on note que l'acquisition de ces staphylocoques multi-résistants est très souvent précédée d'une thérapie antibactérienne composée de plusieurs antibiotiques, ou de pénicillines ou d'antibiotiques à large spectre comme la gentamycine et la tobramycine

(Lyon, May et Skurray, 1983; Parker et Hewitt, 1970; Speller et al., 1976 et Crossley et al., 1979). De plus, l'acquisition de ces souches épidémiques est accrue chez les patients souffrant de maladies graves. Ces souches de S. aureus ont été isolées surtout dans les unités de soins intensifs et en particulier dans les unités pour grands brûlés et en néonatalité. Leur propagation chez les patients relativement bien portants ou qui ne reçoivent pas les drogues mentionnées ci-haut et chez le personnel est rare et transitoire (Bauriaud et al., 1979). Ceci confère à ces souches de S. aureus multi-résistantes, une virulence spécifique et une capacité amoindrie de se répandre chez toute la population.

La résistance aux antibiotiques observée au CHSM s'est manifestée surtout dans les départements où l'on a retrouvé à la fois le plus de S. aureus et le plus fort pourcentage d'infections nosocomiales, soit à la pouponnière et en orthopédie (figure 7, page 73 et tableau 18, page 83). Ceci est logique car ces deux départements sont les endroits où la flore hospitalière peut le plus librement se manifester. A la pouponnière les nouveaux-nés, sans flore propre et immunologiquement immatures n'offrent aucune barrière à la colonisation par la flore hospitalière de S. aureus, reconnue plus résistante aux antibiotiques que la flore communautaire. En orthopédie, la population est caractérisée par des séjours prolongés souvent suite à une opération chirurgicale et/ou à un traumatisme grave. Les patients ont alors tout le temps voulu pour acquérir des souches hospitalières de S. aureus et recevoir beaucoup d'antibiotiques, ce qui favorise avec le temps la sélection de souches de plus en plus résistantes aux antibiotiques, autant chez le personnel que chez les patients. Ainsi dans ce département, la

résistance totale à tous les antibiotiques est supérieure à celle observée dans tous les autres secteurs.

En chirurgie, la proportion de résistance est aussi importante (figure 7, page 73). Ce fait aurait été intéressant à étudier, en particulier parce que toutes les infections à S. aureus observées dans ce département sont dues au type 96. Malheureusement, par manque de collaboration la situation en chirurgie demeurera obscure. La forte proportion de résistance variée chez les souches d'origine diverse, associée à une faible résistance à l'ampicilline et à la pénicilline G et à un fort pourcentage de souches sensibles s'explique par l'origine de ces souches. La résistance aux antibiotiques se manifeste chez les souches provenant de différents lieux physiques dans l'hôpital tandis que les souches sensibles proviennent en majorité du personnel nouvellement engagé, qui doit se soumettre obligatoirement à des prélèvements dans le nez et la gorge. Ces derniers exhibent une flore de S. aureus communautaire.

Au CHSM, la résistance aux antibiotiques est aussi reliée plus spécialement aux groupes phagiques III, NA, Mixtes et NT (figure 8, page 74), ce qui est confirmée par Bauriaud et al. (1979). Le schéma de résistance du groupe des NA est identique à celui fourni par Asheshov, Coe et Porthouse (1977). Pourtant il nous semble peu éclairé d'accorder une grande importance à ce fait. Klastersky, Beumer et Daneau (1971) ont nettement démontré que les souches de S. aureus multi-résistantes peuvent être retrouvées dans la plupart des groupes phagiques. De plus, il ne faudrait pas négliger les groupes I et II, car toutes les septicémies à S. aureus rencontrées au CHSM ont été causées par des souches du groupe I.

4.1.4 Entérotoxigénicité

L'entérotoxigénicité détectée au CHSM et au CH Cloutier diffère de ce qui est rapporté dans la littérature, tant au niveau du pourcentage total de production qu'au niveau des types d'entérotoxines sécrétées (tableau 13, page 76). Plusieurs études européennes, effectuées à partir de spécimens variés, font part d'une proportion de souches de S. aureus productrices oscillant entre 30 et 55%, avec une production majoritaire d'entérotoxine A atteignant parfois jusqu'à 60% du total des toxines détectées. Ces auteurs ont trouvé très peu d'entérotoxine D, qui est dans notre étude la toxine la plus fréquente (Petras et Maskova, 1980; Sourek, 1978; Sourek et al., 1979 et Sourek, 1980). Seuls Toshach et Thorsteinson (1972) du Canada ont observé une prédominance de l'entérotoxine D, mais uniquement avec des souches de S. aureus associées à des empoisonnements alimentaires. Notre faible production peut dépendre du type purement clinique de nos échantillons ou d'une différence dans l'interprétation des résultats de l'immunodiffusion par OSP. La différence dans les types d'entérotoxines détectées peut être due à une variation de la prédominance de certains types selon les régions et au fil des ans (Sourek, 1980).

La distribution des souches entérotoxigéniques selon leur origine humaine ne montre que des variations légères (tableau 14, page 75).. Les types A et C ne se distribuent pas uniformément, probablement à cause de leur rareté. La baisse de production chez les souches environnementales peut s'expliquer par le stress de la dessication occasionné par leur séjour en milieu hostile. Enfin, les souches nasales sont légèrement plus produc-

trices que les souches pathogènes et plus spécialement pour l'entérotoxine D (tableau 15, page 78). Cette dernière constatation est confirmée par Toshach et Thorsteinson (1972) et infirmée par Sourek (1979).

De même, la distribution des souches entérotoxigéniques dans les départements est assez uniforme et ne réclame que certaines remarques. L'abondance de l'entérotoxine D en pédiatrie serait peut-être en rapport avec certaines diarrhées observées dans ce département. Le type D est souvent associé aux entérointoxications (Bergdoll et al., 1974 et Toshach et Thorsteinson, 1972) et l'on sait que les enfants sont particulièrement sensibles aux entérotoxines (Sourek, 1978). Suite à cette observation, il est important de dire que la forte sécrétion d'entérotoxine D chez les souches d'origines diverses ne concerne aucune des souches de S. aureus isolées dans les cuisines du CHSM. Enfin, même si deux des trois souches productrices d'entérotoxine A sont associées à deux infections graves survenues à l'unité des soins intensifs, il serait hasardeux de généraliser en disant que les souches produisant l'entérotoxine A sont plus pathogènes que les autres. Le nombre de souches étudiées est trop faible.

En ce qui concerne la lysotypie de ces souches entérotoxigéniques, on ne peut pas établir de relation entre les groupes phagiques et les types d'entérotoxines sécrétées. Ceci est confirmé par Sourek et al. (1979) avec un groupe de 264 souches de S. aureus provenant de patients souffrant d'ostéomyélite. Cependant, sans être seuls à produire une entérotoxine donnée, certains types phagiques peuvent être caractérisés par la sécrétion d'une entérotoxine particulière. Asheshov, Coe et Porthouse (1977) mentionnent

que la production de l'entérotoxine B est une caractéristique de la majorité des souches de types 94, 96 ou 94/96. Pour notre part, nous avons observé dans le groupe des NA que toutes les souches produisant l'entérotoxine B étaient du type 96, tandis que la majorité des souches produisant l'entérotoxine D appartenaient au lysotype 95. Cependant, seulement 15% des souches de type 96 étaient entérotoxigéniques, ce qui est loin de la majorité.

Finalement, on ne note pas d'augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les souches entérotoxigéniques, bien que Osvath-Marton, Nagy-Dani et Ban (1976) démontrent le contraire. Ils notent même une corrélation entre le degré de résistance et la fréquence de production des entérotoxines, les souches multi-résistantes étant plus souvent productrices que les souches sensibles, de résistance intermédiaire ou résistantes à un ou deux antibiotiques. Nos résultats sont évidemment reliés à la faible résistance aux antibiotiques observée au CHSM.

4.2 Etude des infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* observées au Centre Hospitalier Sainte-Marie

La quantité totale d'infections nosocomiales à *S. aureus* étudiées au CHSM est faible, si on considère que notre période de prélèvements a duré neuf mois (tableau 18, page 83). Pourtant il ne faut pas se leurrer, il s'agit d'un nombre minimum, nous révélant seulement la pointe de l'iceberg du problème des infections nosocomiales en général. En effet, bien des cas de patients souffrant d'infection à *S. aureus* n'ont pas été soumis à notre attention, surtout à cause du manque d'information ou d'oublis de la part du personnel non régulier du laboratoire de microbiologie.

Il ne faut pas en outre se méprendre sur la portée de notre étude. Nous ne présentons pas de taux de prévalence globaux. Seule une étude systématique nous le permettrait. Tout ce que nous pouvons affirmer c'est que sur les quarante-huit infections à S. aureus étudiées, 31 ou 64,6% ont été acquises durant le séjour hospitalier des patients. Ce pourcentage d'infections nosocomiales est de 6% supérieur au pourcentage global pour tous les agents pathogènes, présenté par Westwood et al. de l'Hôpital Général d' Ottawa (1974). Cette légère différence peut découler de notre méthodologie ou indique que le S. aureus est une bactérie profitant vraiment bien du milieu hospitalier.

Les variations selon les départements et les principales manifestations cliniques de ces infections nosocomiales nous montrent bien les préférences infectieuses du S. aureus (tableaux 18 et 19, pages 83 et 85). Comme cela était prévu, suite au rapport du CDC pour l'année 1975 (CDC, 1979) que nous avons cité précédemment (section 1.2.2, page 11), le S. aureus s'est manifesté surtout au niveau des infections des plaies chirurgicales et des infections cutanées. Cependant, le CDC note presque deux fois plus d'infections cutanées que d'infections chirurgicales. Nos résultats s'en approche si on considère que le CDC inclus les infections oculaires avec les infections cutanées. Nulle part dans leur rapport, on ne mentionne ce type d'infections, lequel au CHSM est le troisième en importance. Ehrenkranz (1981) signale comme nous le rôle très important du S. aureus dans les infections chirurgicales suite à des interventions de nature orthopédique. Dans son étude, le S. aureus est responsable de 50% des infections chirurgicales suivant la réparation de fracture de la hanche et la pose de prothèse à la hanche.

A la pouponnière, le pourcentage d'infections nosocomiales est évidemment de 100% puisque le milieu hospitalier est le premier environnement que les nouveaux-nés connaissent. Dans ce département, on observe surtout des infections oculaires. Comme ces infections se déclarent le plus souvent quatre à cinq jours après la naissance et que la majorité des bébés obtiennent leur congé au bout de cinq jours, on peut facilement affirmer que beaucoup d'infections nosocomiales passent inaperçues dans ce département. Ces infections souvent légères peuvent amener des conséquences plus graves chez les mères qui allaitent. En effet le S. aureus est responsable de la majorité des mastites chez ces femmes (Lawrence, 1977). A la pédiatrie, le pourcentage d'infections nosocomiales à S. aureus est faible parce qu'en général les enfants sont hospitalisés pour des infections. Lorsqu'il contractent des infections à l'hôpital, il s'agit le plus souvent de gastroentérites virales ou à entérobactéries. Par contre, il faut signaler que sur les sept cas d'infections communautaires à S. aureus étudiés dans ce département, trois sont des réadmissions pour des infections récurrentes survenues suite à des interventions neurochirurgicales et orthopédiques.

Les souches de S. aureus impliquées dans toutes ces infections nosocomiales ne présentent pas de caractéristiques particulières, pouvant nous indiquer une plus grande pathogénicité de leur part (tableaux 20 et 21, pages 86 et 87). Tous les groupes phagiques sont représentés, suivant une distribution assez semblable à celle de l'ensemble des souches du CHSM. La résistance aux antibiotiques n'offre aucune particularité. On observe seulement deux souches à résistance variée dont la présence est contrebalancée par deux souches sensibles à tous les antibiotiques. On note

cependant un pourcentage plus élevé de souches entérotoxigéniques dans ce groupe par rapport à l'ensemble total des souches de S. aureus, soit 35,5% au lieu de 26,6%. Cette production d'entérotoxines n'est pas reliée à un groupe phagique en particulier. Cette propriété pourrait avantager légèrement ces souches de S. aureus dans l'implantation d'une infection nosocomiale, bien qu'avec un pourcentage d'entérotoxigénicité semblable chez des souches isolées dans des cas d'ostéomyélite chronique, Sourek et al. (1979) considèrent que la production d'entérotoxines est une caractéristique fortuite de ces souches, sans rapport avec leur pathogénicité.

L'épidémiologie de ces infections nosocomiales nous apprend par contre des faits intéressants (tableau 22, page 89). Le taux de portage nasal de S. aureus chez les patients est conforme à ce que nous laissaient prévoir Williams (1963) et Williams et al. (1959). Toutefois, le pourcentage de 21,4% de porteurs sains chez le personnel est nettement inférieur à ce que l'on escomptait. Williams (1963) cite plusieurs études qui rapportent pour ce groupe d'individus, un taux de portage nasal variant généralement de 50 à 70%. Une étude plus récente de Bauriaud et al. (1979) nous révèle une proportion de 41% de porteurs sains chez le personnel soignant. Nos résultats très faibles pourraient être dus au fait que chez le personnel, la majorité des candidats ont effectué leur prélèvement eux-mêmes, sans notre présence. Ainsi nous ne pouvions pas vérifier leur technique de prélèvement. De plus, aussi bien pour le personnel que pour les patients, il nous a été impossible de demander plusieurs prélèvements à intervalles réguliers, ce qui nous aurait confirmé vraiment leur état de non porteur. Fekety (1964)

affirme qu'il faut au moins trois cultures négatives pour conclure à un état de non porteur et Zierdt (1982) va jusqu'à quinze échantillons mensuels négatifs. Nos pourcentages de porteurs de S. aureus chez les patients et le personnel sont donc des taux minima que seule une étude élaborée pourrait confirmer.

A propos de l'origine de ces infections nosocomiales, sur les quatorze cas d'infections où il nous a été permis d'effectuer des prélèvements dans le nez des patients, six ou 44% ont été causées par la souche nasale du patient. Ces résultats sont identiques à ceux de Bengtsson et al. (1979), Burke (1963) et Williams et al. (1959), qui ont observé respectivement 42, 50 et 50% d'auto-infections. Ainsi la moitié des infections nosocomiales à S.aureus seraient causées par la flore endogène des patients. Cependant, il faut bien garder en mémoire que plusieurs de ces patients ont peut-être acquis leur S. aureus nasal durant leur séjour hospitalier, avant le début de leur infection. Williams (1963) indique que le pourcentage de porteurs naux chez les patients à l'admission est de 21 à 50% et qu'il passe à 41 à 70% après deux semaines à l'hôpital.

Dans dix autres cas d'infections, on a décelé un rapport indirect avec le portage nasal chez le personnel. Ceci sous-entend que dans ces cas, il existait dans le même département, au moins un membre du personnel porteur d'une souche identique à la souche infectieuse en cause. A la pouponnière, le rapport entre les souches est plus direct à cause de l'absence de flore microbienne chez les bébés à la naissance et de la grande proximité entre le personnel et les bébés lors des soins à donner à ces derniers. Ces résultats,

qu'on ne peut corroborés par des références, ne cherchent pas à incriminer quelqu'un mais plutôt à montrer que le personnel peut jouer un rôle dans la transmission du S. aureus. Hambraeus (1973) démontre avec une étude très élaborée dans un département pour grands brûlés, qu'une épidémie d'infections chez les patients est souvent précédée d'une forte augmentation du taux de portage nasal chez le personnel.

Dans le cas des infections où l'on n'observe aucun rapport avec le portage nasal, l'origine peut être un autre patient, un transport indirect par les vêtements ou les mains du personnel ou une contamination lors d'un déplacement dans l'hôpital soit en physiothérapie, en inhalothérapie ou en radiologie. Mortimer et al. (1962) montrent très clairement l'importance des mains du personnel dans la transmission du S. aureus. Dans cette investigation, 92% des nouveaux-nés ont acquis la souche d'un autre nouveau-né porteur après avoir été manipulés par des mains non lavées contre 53% chez les nouveaux-nés soignés par des mains lavées. Il demeure qu'à part l'autoinfection, les autres voies de transmission du S. aureus sont très difficiles à identifier. Par contre, il semble évident que le personnel hospitalier y joue un rôle.

Même si le S. aureus est nécessaire dans l'induction d'une infection staphylococcale, sa seule présence n'est pas suffisante. On a vu précédemment qu'un être humain en bonne santé est très résistant à ce type d'infection et qu'en plus les souches de S. aureus isolées au CHSM ne sont pas plus pathogènes que d'autres. Il faut donc qu'il existe chez les patients des conditions favorisant l'établissement d'une infection nosocomiale

à S. aureus. Nous avons réuni au tableau 23 (page 91) les facteurs de risques les plus évidents retrouvés chez les patients étudiés au CHSM.

L'influence du séjour prolongé est confirmée par Haley et al. (1981). Ceux-ci observent que les pourcentages d'infections augmentent presque linéairement avec la longueur du séjour, en particulier pour les infections chirurgicales et urinaires. Cet état est relié à la plus grande fréquence de contacts avec les bactéries hospitalières et à l'affaiblissement général du patient occasionné par un séjour prolongé à l'hôpital. Il faut noter que ces auteurs et tous les autres qui seront cités ultérieurement étudient les infections nosocomiales en général et non pas spécifiquement celles à S. aureus. Haley et al. (1981) reconnaissent aussi que les infections hospitalières sont plus fréquentes chez les hommes que chez les femmes, sauf au niveau urinaire. Dans leur étude, le pourcentage d'infection est de 1,54 fois plus élevé chez les hommes pour les infections chirurgicales, les pneumonies et les septicémies. Au CHSM, on observe deux fois plus d'infections nosocomiales chez les hommes. Gooch et Britt (1978) observent cette même tendance chez les nouveaux-nés mâles.

L'influence de l'âge avancé, troisième facteur de risque le plus important observé au CHSM, est reconnue par Haley et al. (1981) et Egoz et Michaeli (1981). Gardner (1980) a étudié plus à fond cette prévalence accrue des infections chez la population âgée. Il tient pour responsable un ou plusieurs des facteurs suivants: 1. les facteurs environnementaux augmentant l'exposition ou la susceptibilité à un agent pathogène; 2. la sénilité physiologique souvent amenée par une mauvaise alimentation et une

mauvaise hygiène; 3. un déclin de la réponse immunitaire; et 4. une association avec une maladie commune à cet âge soit le cancer, les maladies cardio-vasculaires ou les maladies respiratoires. Le risque amené par le fait de subir une intervention chirurgicale ressort aussi dans cette étude. L'importance de ce risque a déjà été soulignée à la section 1.2.4.

Tous ces facteurs favorisants sont faciles à déceler mais il est plus difficile de les pondérer les uns par rapport aux autres, car ils sont étroitement liés. On reconnaît que l'association entre l'infection nosocomiale et la longueur de l'hospitalisation est due partiellement au fait que l'infection nosocomiale prolonge l'hospitalisation. L'âge avancé est majoritairement responsable du mauvais état général observé chez 25,9% des patients étudiés. De plus chez plusieurs patients, l'intervention chirurgicale est précédée d'un traumatisme grave et/ou associée à l'âge et au diabète. Au CHSM, ces derniers patients forment un groupe dont le risque d'acquérir une infection nosocomiale à S. aureus est élevé.

Cette pondération, bien que difficile à établir, est importante pour déterminer de façon précise les groupes de patients à haut risque infectieux. C'est pourquoi Hooton et al. (1981) dans le cadre du projet SENIC (Study on the Efficacy of Nosocomial Infection Control), ont construit un modèle statistique en forme d'arbre permettant de classer les patients par catégorie de risque. Ils ont bâti ce modèle à partir d'une analyse informatisée complexe des caractéristiques de 169 518 patients. Cette analyse prend en compte les facteurs de risque les uns par rapport aux autres et montre que leur importance relative varie selon le site de l'infection. Dans le cas

des infections de plaies chirurgicales, la durée de l'opération et son site anatomique sont les facteurs les plus influents tandis que la durée du séjour hospitalier préopératoire, la présence d'une autre infection, l'âge et le sexe sont des facteurs plus secondaires. Quand il sera accessible, ce modèle servira à identifier statistiquement les patients à haut risque, pour lesquels on pourra fournir un effort de prévention supplémentaire.

Conclusion

Le premier but de cette étude épidémiologique des infections nosocomiales à S. aureus était de prouver sans équivoque l'existence de ces infections au CHSM. Nous pensons que cet objectif élémentaire a été atteint par le nombre de cas rapportés dans ce travail. De plus, nous espérons que le fait d'avoir dévoilé les problèmes et les conséquences parfois graves encourus par les patients concernés amènera sur les infections nosocomiales toute l'attention qu'elles méritent.

Nous avions comme second objectif de préciser les principales orientations que nous donnerions à un programme de prévention des infections nosocomiales à S. aureus d'une part et aux autres types d'infections nosocomiales par extension. Au niveau de l'agent infectieux, l'étude des principales caractéristiques bactériologiques du S. aureus ne nous a pas révélé de caractère indicateur d'une pathogénicité accrue. Nous avons observé des lysotypes variés avec une dominance du groupe des non assignés. Cependant ces lysotypes dominants n'apparaissaient pas plus infectieux que les autres. Nous avons détecté peu d'entérotoxigénicité et nous n'avons pas pu relier celle-ci à un groupe particulier de souches. Cette caractéristique demeurerait fortuite et ne semblait pas conférer une plus grande pathogénicité au S. aureus. Devant ces faits, il nous paraît illogique de munir le laboratoire de microbiologie du CHSM de toutes les installations nécessaires à la lysotypie et à la détection des entérotoxines. La mise sur pied de telles épreuves de laboratoire représente beaucoup de travail et des frais assez exorbitants pour des services qui sont déjà offerts par les laboratoires provinciaux du Ministère des Affaires Sociales du Québec.

Il nous semble plus judicieux d'agir au niveau de la résistance aux antibiotiques même si, de façon générale celle-ci s'est révélée assez faible. L'expérience de plusieurs autres centres hospitaliers nous apprend que les problèmes majeurs des infections nosocomiales à S. aureus proviennent souvent de souches multi-résistantes. Comme l'antibiogramme est déjà effectué de routine sur toutes les souches infectieuses isolées au laboratoire de microbiologie, seule l'addition d'un système informatisé pour compiler les antibiotypes serait nécessaire. Ainsi toute augmentation de la résistance aux antibiotiques serait détectée, surveillée et ce pour toutes les bactéries pathogènes. De plus, si on emmagasine avec l'identification de la souche et son antibiogramme, des informations sur son site d'isolation on pourra connaître plus précisément le nombre d'infections dans chaque département. Ce système faciliterait et améliorerait grandement le travail du Comité d'infection du CHSM.

Au cours de cette étude, nous avons aussi pris conscience de l'importance du patient comme maillon dans la chaîne de transmission des infections nosocomiales. Tout d'abord environ la moitié de ceux qui ont subi des prélèvements complets souffraient d'auto-infection causée par leur propre souche nasale de S. aureus. Ensuite, nous avons retrouvé chez la plupart d'entre eux, des conditions les rendant plus sensibles aux infections. Les principaux facteurs favorisants étaient l'âge avancé ou le très jeune âge et le fait de subir une opération surtout de nature orthopédique ou neuro-chirurgicale. Le risque infectieux est d'autant accru si cette intervention est précédée d'un traumatisme grave ou associée à l'âge avancé ou au diabète.

Dans la perspective d'une prévention des infections nosocomiales à S. aureus, il devient donc nécessaire d'identifier les patients à risque avant qu'ils contractent une infection et d'établir des règles plus strictes dans les soins à leur donner. Par la suite, il sera facile d'étendre ce principe aux autres types d'infections nosocomiales.

Finalement dans le cas du personnel hospitalier, on a appris qu'il joue un certain rôle dans le maintien des groupes lytiques dominants de S. aureus et dans la propagation directe ou indirecte des infections nosocomiales. De plus le personnel hospitalier est porteur de souches de S. aureus plus résistantes aux antibiotiques que celles des patients. Il faudrait donc à l'avenir ne plus sous-estimer le rôle du personnel dans les infections nosocomiales et mettre au point pour eux, un programme d'éducation et d'information sur ces types d'infections. Il est important de rappeler régulièrement au personnel, les risques qu'ils font courir aux patients et aussi les risques qu'ils courrent eux-mêmes en soignant des gens. Il faudrait également insister sur les règles élémentaires d'hygiène hospitalière comme le simple lavage des mains avant et après les soins à un patient.

Ces trois grandes orientations d'un éventuel programme de prévention des infections nosocomiales peuvent paraître énormes à certains égards. Cependant nous croyons qu'il est temps que le CHSM et le CH Cloutier, où la situation semble identique, se placent au même diapason que les grands centres hospitaliers dans ce domaine. Nous pourrions encore procéder à beaucoup d'études sur ce sujet, en particulier sur les autres agents pathogènes comme les entérobactéries. Cependant, il nous apparaît plus urgent de se pencher sur la prévention des infections nosocomiales.

Références

- ADLER, J.L., & Shulman, J.A. Nosocomial infection and antibiotic usage at Grady Memorial Hospital: a prevalence survey. South Medicine Journal, 1970, 63, 102-105.
- ALLEN, J.R., Hightower, A.W., Martin, S.M., & Dixon, R.E. Secular trends in nosocomial infections: 1970-1979. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 389-392.
- ALTEMEIER, W.A., & Lewis, S.A. Cyclic variations in emerging phage types and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus. Surgery, 1978, 84, 534-541.
- ALY, R., Maibach, H.I., Mandel, A., & Shinefield, H.R. Factors controlling the survival of Staphylococcus aureus on human skin. In J. Jeljaszewick (Ed.), Staphylococci and staphylococcal diseases. New York: Fischer Stuttgart, 1976, pp. 941-946.
- ALY, R., Maibach, H.I., & Shinefield, H.R. Microbial flora of atopic dermatitis. Archives of Dermatology, 1977, 113, 780-782.
- ASHESHOV, E.H., Coe, A.W., & Porthouse, A. Properties of strains of Staphylococcus aureus in the 94, 96 complex. Journal of Medical Microbiology, 1977, 10, 171-178.
- BAIRD-PARKER, A.C. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. Journal of Applied Bacteriology, 1962, 25, 12-52.
- BAIRD-PARKER, A.C. Staphylococci and their classification. Annals New York Academy of Sciences, 1965, 128, 4-25.
- BAIRD-PARKER, A.C. The basis for the present classification of staphylococci and micrococc. Annals New York Academy of Sciences, 1974, 236, 7-13.
- BARRETT, F.F., McGehee, R.F. Jr., & Finland, M. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus at Boston City Hospital. Bacteriologic and epidemiologic observations. The New England Journal of Medicine, 1968, 279, 441-448.
- BARRY, A.L. Dilution test: general considerations. In The antimicrobial susceptibility test: principles and practices. Philadelphia: Lea & Febiger, 1976a, pp. 63-75.

- BARRY, A.L. Broth dilution techniques. In The antimicrobic susceptibility test: principles and practices. Philadelphia: Lea & Febiger, 1976b, pp. 92-104.
- BARRY, A.L. A system for reporting quantitative antimicrobic susceptibility test results. American Journal of Clinical Pathology, 1979, 72, 864-868.
- BARRY, A.L., Coyle, M.B., Thornsberry, C., Gerlach, E.H., & Hawkinson, R.W. Methods of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test. Journal of Clinical Microbiology, 1979, 10, 885-889.
- BAUER, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., & Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 1966, 45, 493-496.
- BAURIAUD, R., Dabernat, H., Lefevre, J.C., Lemozy, J., & Lareng, M.B. Staphylococcus aureus: étude de l'antibiotype, du sérotype et du lysotype de 1310 souches isolées au CHU Toulouse Purpan. Médecine et Maladies Infectieuses, 1979, 9, 129-134.
- BENGTSSON, S., Hambraeus, A., & Laurell, G. Wound infections after surgery in a modern operating suite: clinical, bacteriological and epidemiological findings. Journal of Hygiene, Cambridge, 1979, 83, 41-57.
- BERGDOLL, M.S. Method for dilution of crude enterotoxins and antisera. Food Research Institute, 1925 Willow Drive, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin 53706, 1980.
- BERGDOLL, M.S., Czop, J.K., & Gould, S.S. Enterotoxin synthesis by the staphylococci. Annals New York Academy of Sciences, 1974, 236, 307-316.
- BLAIR, J.E., & Williams, R.E.O. Phage typing of staphylococci. Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé, 1961, 24, 771-784.
- BRACHMAN, P.S. Nosocomial infection control: an overview. Reviews of Infectious Diseases, 1981, 3, 640-648.
- BURKE, J.F. Identification of the sources of staphylococci contaminating the surgical wound during operation. Annals of Surgery, 1963, 158, 898-904.
- CARNEY, D.N., Fossieck, B.E. Jr., Parker, R.H., & Minna, J.D. Bacteremia due to Staphylococcus aureus in patients with cancer: report on 45 cases in adults and review of the literature. Reviews of Infectious Diseases, 1982, 4, 1-12.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. National nosocomial infection study report: annual summary 1975. Archives International of Medicine, 1979, 139, 1-24.

CROSSLEY, K., Loesch, D., Landesman, B., Mead, K., Chern, M., & Strate, R. An outbreak of infections caused by strains of Staphylococcus aureus resistant to methicillin and aminoglycosides. I Clinical studies. Journal of Infectious Diseases, 1979, 139, 273-279.

CUNNINGHAM, L., Catlin, B.W., & Privat de Garilhe, M. A deoxyribonuclease of Micrococcus pyogenes. Journal of American Chemistry Society, 1956, 78, 4642-4645.

DAVIS, B.D., Dubbecco, R., Eisen, H.S., Ginsberg, H., & Wood, W.B. Microbiology (2nd ed.). New York: Hoeber Medical Division, Harper & Row Publishers, 1973, p. 729.

EGOZ, N., & Michaeli, D. A program for surveillance of hospital-acquired infections in a general hospital: a two-year experience. Reviews of Infectious Diseases, 1981, 3, 649-657.

EHRENKRANZ, N.J. Surgical wound infection occurrence in clean operations. Risk stratification for interhospital comparisons. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 909-914.

ELEK, S.D., & Levy, E. Distribution of haemolysins in pathogenic and non-pathogenic staphylococci. Journal of Pathology and Bacteriology, 1950, 62, 541-554.

EVANS, C.A., & Stevens, R.J. Differential quantitation of surface and sub-surface bacteria of normal skin by the combined use of the cotton swab and the scrub methods. Journal of Clinical Microbiology, 1976, 3, 576-581.

FEKETY, F.R. The epidemiology and prevention of staphylococcal infection. Medicine, 1964, 43, 593-613.

FINLAND, M. Emergence of antibiotic resistance in hospitals, 1935-1975. Reviews of Infectious Diseases, 1979, 1, 4-21.

FLEURETTE, J. & Brun, Y. Infections hospitalières. Encyclopédie Médicale et Chirurgicale, Paris, Maladies Infectieuses, 1980, 8016 B10 3, 1-9.

FOUACE, J. Mixed cultures of Staphylococcus aureus: some observations concerning transfer of antibiotic resistance. Annales de Microbiologie (Institut Pasteur), 1981, 132B, 375-386.

FREEMAN, J., Rosner, B.A., & McGowan, J.E. Jr. Adverse effects of nosocomial infection. Journal of Infectious Diseases, 1979, 140, 732-740.

- GARDNER, I.D. The effect of aging on susceptibility to infection. Reviews of Infectious Diseases, 1980, 2, 801-810.
- GOLDMANN, D.A. Bacterial colonization and infection in the neonate. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 417-422.
- GOOCH, J.J., & Brilt, E.M. Staphylococcus aureus colonization and infection in newborn nursery patients. American Journal of Disease of Children, 1978, 132, 893-896.
- GREAVES, P.W. Effect of growth at 43° C on phage typing of staphylococci (letter). Journal of Clinical Pathology, 1977, 30, 491.
- GREENHOOD, G.P., Hill, D.L., Dixon, R.E., Carter, M.J., & Kanto, W.P. Changing phage typing patterns of epidemic gentamicin-resistant Staphylococcus aureus. Evidence for transmission of gentamicin resistance. Lancet, 1979, i, 289-291.
- HALEY, R.W., Hooton, T.M., Culver, D.H., Stanley, R.C., Emori, T.G., Hardison, C.D., Quade, D., Shachtman, R.H., Schaberg, D.R., Shav, B.V., & Schatz, G.D. Nosocomial infections in U.S. hospitals, 1975-1976. Estimated frequency by selected characteristics of patients. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 947-959.
- HAMBRAEUS, A. Studies on transmission of Staphylococcus aureus in an isolation ward for burned patients. Journal of Hygiene, Cambridge, 1973, 71, 171-183.
- HECZKO, P.B., & Kasprowicz, A. Epidemiological and ecological studies on mechanisms of staphylococcal carriage. In J. Jeljaszewick (Ed.), Staphylococci and staphylococcal diseases. New York: Fischer Stuttgart, 1976, pp. 935-940.
- HOOTON, T.M., Haley, R.W., Culver, D.H., White, J.W., Morgan, W.M., & Carroll, R.J. The joint associations of multiple risk factors with the occurrence of nosocomial infection. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 960-970.
- KISLAK, J.W., Eickhoff, T.C., & Finland, M. Hospital-acquired infections and antibiotic usage in the Boston City Hospital - January 1964. New England Journal of Medicine, 1964, 271, 834-835.
- KLASTERSKY, J., Beumer, J., & Daneau, D. Bacteriophage types and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus. Applied Microbiology, 1971, 22, 1000-1007.
- LABORATORY CENTRE FOR DISEASE CONTROL. Canadian Staphylococcus Phage-Typing Reference Centre. Phage typing of staphylococci. Tunney's Pasture, Ottawa, Canada, 1977.

- LACEY, R.W. Antibiotic resistance plasmids of Staphylococcus aureus and their clinical importance. Bacteriological Reviews, 1975, 39, 1-32.
- LACEY, R.W. Evidence for two mechanisms of plasmid transfer in mixed cultures of Staphylococcus aureus. Journal of General Microbiology, 1980, 119, 423-435.
- LACHICA, R.V.F., Genigeorgis, C., & Hoeprich, P.D. Metachromatic agar-diffusion methods for detecting staphylococcal nuclease activity. Applied Microbiology, 1971a, 21, 585-587.
- LACHICA, R.V.F., Hoeprich, P.D., & Genigeorgis, C. Nuclease production and lysostaphin susceptibility of Staphylococcus aureus and other catalase-positive cocci. Applied Microbiology, 1971b, 21, 823-826.
- LAWRENCE, R.M. Infections of the female genital tract. In P.D. Hoeprich (Ed.), Infectious diseases (2nd ed.). Maryland: Harper & Row Publishers, 1977, p. 452.
- LEE, A.C.M., Robbins, R.N., & Bergdoll, M.S. Isolation of specific and common antibodies to staphylococcal enterotoxins A and E by affinity chromatography. Infection and Immunity, 1978, 21, 387-391.
- LEWIS, S.A., & Altemeier, W.A. Emergence of clinical isolates of Staphylococcus aureus resistant to gentamicin and correlation of resistance with bacteriophage type. Journal of Infectious Diseases, 1978, 137, 314-317.
- LYON, B.R., May, J.W., & Skurray, R.A. Analysis of plasmids in nosocomial strains of multiple-antibiotic-resistant Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1983, 23, 817-826.
- MAKI, D.G. Nosocomial bacteremia. An epidemiologic overview. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 719-732.
- MARPLES, R.R., & Kligman, A.M. Experimental staphylococcal infections of the skin in man. In J. Jeljaszewick (Ed.), Staphylococci and staphylococcal diseases. New York: Fischer Stuttgard, 1976, pp. 955-960.
- MENZIES, R.E. Comparaison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase) and heat-stable nuclease tests for identification of Staphylococcus aureus. Journal of Clinical Pathology, 1977, 30, 606-608.
- MITSUHASHI, S., Inoue, M., Oshima, H., Okubo, T., & Saito, T. Epidemiologic and genetic studies of drug resistance in staphylococci. In Staphylococci and staphylococcal diseases: proceedings of the international symposium on staphylococci and staphylococcal infection (3d ed.). New York: Fisher, 1976, pp. 255-274.

- MORTIMER, E.A. Jr., Lipsitz, P.J., M.R.C.P., Wolinsky, E., Gonzaga, A.J., & Rammelkamp, C.H. Transmission of staphylococci between newborns. American Journal of Diseases of Children, 1962, 104, 289-295.
- MORTON, H.E., & Cohn, J. Coagulase and deoxyribonuclease activities of staphylococci isolated from clinical sources. Applied Microbiology, 1972, 23, 725-733.
- NISKANEN, A., & Aalto, M. Comparaison of selective media for coagulase-positive enterotoxigenic Staphylococcus aureus. Applied and Environmental Microbiology, 1978, 35, 1233-1236.
- NOBLE, W.C., & Naidoo, J. Evolution of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus: the role of the skin. British Journal of Dermatology 1978, 98, 481-489.
- NOBLE, W.C., Williams, R.E.O., Jevons, M.P., & Shooter, R.A. Some aspects of nasal carriage of staphylococci. Journal of Clinical Pathology, 1964, 17, 79-83.
- OSVATH-MARTON, A., Nagy-Dani, E., & Ban, E. Studies on the correlation of enterotoxin production and resistance of Staphylococcus aureus strains to antibiotics. In Staphylococci and staphylococcal diseases: proceedings of the international symposium on staphylococci and staphylococcal infection (3d ed.). New York: Ficher, 1976, pp. 589-592.
- PARKER, M.T., Asheshov, E.H., Hewitt, J.H., Nakhla, L.S., & Brock, B.M. Endemic staphylococcal infections in hospitals. Annals New York Academy of Sciences, 1974, 236, 466-484.
- PARKER, M.T., & Hewitt, J.H. Methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Lancet, 1970, i, 800-804.
- PERKINS, R.E., & Kundsin, R.B. Comparison of heat shocking and acridine orange treatment in phage typing of nontypable strains of Staphylococcus aureus. Journal of Clinical Microbiology, 1976, 4, 334-337.
- PETRAS, P., & Maskova, L. Detection of staphylococcal enterotoxigenicity, II Field strains. Journal of Hygiene, Epidemiology and Microbiology and Immunology, 1980, 24, 177-182.
- PFIZER INC. DIAGNOSTICS DIVISION. Pfizer antimicrobial susceptibility disks for use in the standardized disk susceptibility test. New York: N.Y. 10017, 1979.

- RAYMAN, M.K., Park, C.E., Philpott, J., & Todd, E.C.D. Reassessment of the coagulase and thermostable nuclease tests as means of identifying Staphylococcus aureus. Applied Microbiology, 1975, 29, 451-454.
- ROBBINS, R., Gould, S., & Bergdoll, M.S. Detecting the enterotoxigenicity of Staphylococcus aureus strains. Applied Microbiology, 1974, 28, 946-950.
- ROGOLSKY, M. Nonenteric toxins of Staphylococcus aureus. Microbiological Reviews, 1979, 43, 320-360.
- SELWYN, S., & Chalmers, D. Dispersal of bacteria from skin lesions: a hospital hazard. British Journal of Dermatology, 1965, 77, 349-356.
- SHAYEGANI, M., Bobnick, M.L., & Hannett, G.E. Phage typing of nontypable isolates of Staphylococcus aureus using the new phages 94, 95 and 96 and the heat-shock treatment. American Journal of Clinical Pathology, 1978, 70, 686-688.
- SOUREK, J. Findings of enterotoxigenic Staphylococcus aureus strains in scarlet fever. Zentralblatt für Bakteriologie. Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I, Originale A), 1978, 242, 7-11.
- SOUREK, J. Circulation of enterotoxigenic strains of Staphylococcus aureus in humans and their environment. Journal of Hygiene, Epidemiology and Microbiology and Immunology, 1980, 24, 183-191.
- SOUREK, J., Vymola, F., Trojanova, M., Zelenkova, L., Matejovska, V., & Bergdoll, M.S. Enterotoxin production by Staphylococcus aureus strains isolated from cases of chronic osteomyelitis. Journal of Clinical Microbiology, 1979, 9, 266-268.
- SOUSSY, C.J., Bouanchaud, D.H., Fouace, J., Dublanchet, A., & Duval, J. A gentamicin resistance plasmid in Staphylococcus aureus. Annales de Microbiologie (Institut Pasteur), 1975, 126B, 91-94.
- SPELLER, D.C., Stephens, M., Raghunath, D., Viant, A.C., Reeves, D.S., Broughall, J.M., Wilkinson, P.J., & Hott, H.A. Epidemic infection by a gentamicin-resistant Staphylococcus aureus in three hospitals. Lancet, 1976, i, 464-466.
- SPERBER, W.H., & Tatini, S.R. Interpretation of the tube coagulase test for identification of Staphylococcus aureus. Applied Microbiology, 1975, 29, 502-505.
- STAMM, W.E., Weinstein, R.A., & Dixon, R.E. Comparaison of endemic and epidemic nosocomial infections. The American Journal of Medicine, 1981, 70, 393-397.

SUBCOMMITTEE ON PHAGE-TYPING OF STAPHYLOCOCCI REPORT (1970-1974) to the international committee on systematic bacteriology. International Journal of Systematic Bacteriology, 1975, 25, 241-242.

TOSHACH, S., & Thorsteinson, S. Detection of staphylococcal enterotoxin by the gel diffusion test. Canadian Journal of Public Health, 1972, 63, 58-66.

VICTOR, R., Lachica, F., Weiss, K.F., & Deibel, R.H. Relationships among coagulase, enterotoxin, and heat-stable deoxyribonuclease production by Staphylococcus aureus. Applied Microbiology, 1969, 18, 126-127.

VOGEL, L., Nathan, C., Sweeney, H.M., Kabins, S.A., & Cohen, S. Infections due to gentamicin-resistant Staphylococcus aureus strain in a nursery for neonatal infants. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1978, 13, 466-472.

WEGRZYNOWICZ, Z., Heczko, P.B., Jeljaszewicz, J., Neugebauer, M., & Pulverer, G. Pseudocoagulase activity of staphylococci. Journal of Clinical Microbiology, 1979, 9, 15-19.

WESTWOOD, J.C.N., Legacé, S., & Mitchell, M.A. Hospital-acquired infection: present and future impact and need for positive action. Canadian Medical Association Journal, 1974, 110, 769-774.

WHITE, A., & Smith, J. Nasal reservoir as the source of extranasal staphylococci. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1964, 679-683.

WILLIAMS, R.E.O. Healthy carriage of Staphylococcus aureus: its prevalence and importance. Bacteriological Reviews, 1963, 25, 56-71.

WILLIAMS, R.E.O., Jevons, M.P., Shooter, R.A., Hunter, C.J.W., Girling, J.A. Griffiths, J.D., & Taylor, G.W. Nasal staphylococci and sepsis in hospital patients. British Medical Journal, 1959, 2, 658-662.

ZARZOUR, J.Y., & Belle, E.A. Evaluation of three test procedures for identification of Staphylococcus aureus from clinical sources. Journal of Clinical Microbiology, 1978, 7, 133-136.

ZIERDT, C.H. Long-term Staphylococcus aureus carrier state in hospital patients. Journal of Clinical Microbiology, 1982, 16, 517-520.

ZIERDT, C.H., Robertson, E.A., Williams, R.L., & MacLowry, J.D. Computer analysis of Staphylococcus aureus phage typing data from 1957 to 1975, citing epidemiological trends and natural evolution within the phage typing system. Applied and Environmental Microbiology, 1980, 39

ANNEXE I

LYSOTYPES DES SOUCHES PROPAGATRICES
DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

NUMÉRO SOUCHE PROPAGATRICE	RÉACTIONS À LA RTD	RÉACTION À LA 100 RTD
29	29 ++	29 ++
52	52 ++, 52A ±, 80 ±	52 ++, 52A ++, 80 ++
52A/79	52A ++, 79 ++	52 ++, 52A ++, 79 ++, 80 ±
80	80 ++, 81 ++, 82 ++	80 ++, 81 ++, 82 ++, 85 ±
3A	3A ++, 55 ±, 71 ±	3A ++, 3C ±, 55 ++, 71 ++
3C	3A ±, 3C ++, 55 ++, 71 ++	3A ++, 3C ++, 55 ++, 71 ++
55	3C ++, 55 ++, 71 ++	3A ++, 3C ++, 55 ++, 71 ++
71	3C ++, 55 ++, 71 ++	3A ±, 3C ++, 55 ++, 71 ++
6	6 ++, 42E ±, 47 ++, 53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 81 +, 82 ±, 85 ++	6 ++, 42E ++, 47 ++, 53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 83A ++, 81 ++, 82 ++, 84 ++, 85 ++
42E	42E ++, 81 ±	42E ++, 47 ±, 53 +, 54 +, 83A ±, 81 +, 82 ++, 85 +
47	47 ++, 53 ++, 75 ++, 77 ++, 84 ++, 85 ++	29 +, 52 +, 52A ±, 79 ±, 80 +, 47 ++, 53 ++, 54 +, 75 ++, 77 ++, 81 ±, 84 ++, 85 ++, 95 ±

ANNEXE I (SUITE)

LYSOTYPES DES SOUCHES PROPAGATRICES

DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

NUMÉRO SOUCHE PROPAGATRICE	RÉACTIONS À LA RTD	RÉACTIONS À LA 100 RTD
53	53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 84 ++, 85 ++	53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 81 ±, 84 ++, 85 ++
54	42E ±, 47 ++, 53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 84 ++, 85 ++	42E ++, 47 ++, 53 ++, 54 ++, 75 ++, 77 ++, 81 ±, 82 +, 84 ++, 85 ++
75	53 ±, 75 ++, 77 ++, 84 ++, 85 ++,	53 ++, 75 ++, 77 ++, 81 ±, 84 ++, 85 ++
77	53 +, 77 ++, 84 ±, 85 ++,	47 ±, 53 ++, 77 ++, 84 ++, 85 ++
83A	6 ±, 47 ++, 53 ++, 75 ±, 77 ++, 83A ++, 84 ++, 85 ++	52 +, 52A ±, 79 +, 80 ±, 6 ++, 42E ++, 47 ++, 53 ++, 54 ±, 75 ++, 77 ±, 83A ++, 81 ±, 84 ++, 85 ++, 95 ++
84	84 ++, 85 ++	53 ±, 71 ±, 84 ++, 85 ++,
85	84 ++, 85 ++	77 ±, 84 ++, 85 ++
81	80 ++, 81 ++, 82 ++	80 ++, 81 ++, 82 ++
82	80 ++, 82 ++	80 ++, 81 ++, 82 ++
94	94 ++, 96 ++	94 ++, 96 ++
95	95 ++	95 ++
96	94 ++, 96 ++	94 ++, 96 ++

ANNEXE II

CONDITIONS OPTIMALES DE PROPAGATION DES
BACTÉRIOPHAGES DE L'ENSEMBLE DE BASE

NUMÉRO PHAGE	MÉTHODE DE PROPAGATION OPTIMALE	CONC. optimale DU PHAGE/ML	TEMPERATURE (°C)	INCUBATION (HEURES)
29	agar mou	1×10^5	30	18
52	agar mou	1×10^4	30	18
52A	agar mou	1×10^4	37	18
79	agar mou	1×10^4	37	18
80	agar mou	5×10^4	37	18
3A	agar mou ou bouillon	1×10^5	37	18
3C	agar mou ou	1×10^5	37	18
3C	bouillon	1×10^5	37	6
55	bouillon	1×10^5	37	6
71	bouillon	1×10^5	37	6
6	agar mou ou	1×10^5	37	18
6	bouillon	1×10^5	37	6
42E	bouillon	1×10^5	37	6
47	agar mou	1×10^5	37	18
53	bouillon	1×10^5	37	6
54	bouillon	1×10^5	37	6
75	bouillon	1×10^5	37	6
77	bouillon	1×10^5	37	6
83A	bouillon	1×10^5	37	6
84	bouillon	1×10^5	37	6
85	congélation- décongélation	1×10^5	30	18
81	agar mou ou	1×10^5	37	18
81	bouillon	1×10^5	37	6
94	agar mou	1×10^4	30	18
95	agar mou	1×10^4	30	18
96	agar mou	1×10^4	30	18
82	agar mou	1×10^4	37	18