

Table des matières

ABREVIATIONS	13
INTRODUCTION	14
GENERALITES.....	15
1. Caractéristiques de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
2. Types d'infections liées à <i>Staphylococcus epidermidis</i>.....	17
2.1. Bactériémie	17
2.2. Infection de dispositifs intra-vasculaires	17
2.3. Endocardite	18
2.4. Infections du système nerveux central	19
2.5. Infection ostéo-articulaire	20
2.6. Infections en néonatalogie	21
3. Facteurs de virulence/échappement et de résistance	22
3.1. Biofilm	22
3.2. Autres facteurs de virulence/échappement.....	24
3.3. Résistance aux antibiotiques	25
3.3.1. Bêta-lactamines	26
3.3.2. Aminosides.....	28
3.3.3. Macrolides, lincosamides, synergistines	28
3.3.4. Fluoroquinolones	29
3.3.5. Glycopeptides	29
3.3.6. Oxazolidinone	30
3.3.7. Daptomycine	30
3.3.8. Rifampicine.....	31
3.3.9. Trimethoprim-Sulfaméthoxazole	31
3.3.10. Tétracyclines	31
3.3.11. Fosfomycine	31
3.3.12. Acide Fusidique.....	32
3.3.13. Mupirocine.....	32
MATERIELS ET METHODES	33
1. Isolats bactériens	33
2. Cultures bactériennes	33
3. Méthode de diffusion - lecture des diamètres d'inhibition.....	33
4. Méthode de diffusion – test du disque à la nitrocéfine	34

5.	Méthode de diffusion – lecture de la bordure floue ou nette	34
6.	Détection par PCR du gène <i>blaZ</i>.....	35
6.1.	Extraction manuelle de l'ADN bactérien	35
6.2.	Amplification de l'ADN bactérien	35
7.	Méthode en milieu liquide – CMI Vitek2.....	37
8.	Interprétation des résultats.....	37
RESULTATS		38
1.	PCR du gène <i>blaZ</i>	38
2.	Méthode de diffusion - lecture des diamètres d'inhibition.....	38
3.	Méthode de diffusion – test du disque à la nitrocéfine	40
4.	Méthode de diffusion – lecture de la bordure	40
5.	Méthode en milieu liquide – CMI Vitek2.....	42
6.	Efficacité des différentes méthodes	43
DISCUSSION		44
CONCLUSION		49
BIBLIOGRAPHIE.....		50
TABLE DES ILLUSTRATIONS		60
TABLE DES TABLEAUX		61

Abréviations

CA-SFM	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration Minimal Inhibitrice
CoNS	Staphylocoques à coagulase négative
DIV	Dispositif intravasculaire
DVE	Dérivation ventriculaire externe
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
PLP	Protéines liant la pénicilline
Sen	Sensibilité
Spe	Spécificité
VPP	Valeur prédictive positive
VPN	Valeur prédictive négative

Introduction

Staphylococcus epidermidis est le staphylocoque à coagulase négative (CoNS) le plus isolé chez l'Homme [1]. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses. En raison de cette présence chez l'Homme, c'est également l'une des premières bactéries responsables d'infections nosocomiales notamment dans un contexte post opératoire ou associé à un matériel. *S. epidermidis* est une bactérie résistante à de nombreux antibiotiques. Plus de 90% des souches cliniques possèdent une pénicillinase codée par le gène *blaZ* [2], [3]. Cependant, dans un but d'épargne antibiotique et de désescalade de l'antibiothérapie, les souches de *S. epidermidis* dépourvues du gène *blaZ* devraient pouvoir bénéficier d'une antibiothérapie ciblée. Pour autant, le test de la sensibilité des CoNS à la pénicilline G n'est plus recommandé au niveau européen, que ce soit par l'EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) ou le CA-SFM (*Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*) [4], [5]. L'objectif de ce travail est ainsi de déterminer une méthode phénotypique sensible et spécifique pour identifier la production de pénicillinase par *S. epidermidis*.

Généralités

1. Caractéristiques de *Staphylococcus epidermidis*

Le genre *Staphylococcus* fait partie de la famille des *Staphylococcaceae*, classe des *Bacilli*, ordre des *Bacillales*. Ce sont des bactéries décrites avec une coloration de Gram positive, une taille de 0,5 à 1 µm de diamètre, groupées en tétrades ou amas [6]. La croissance est peu exigeante sur des milieux classiques et la taille des colonies est de 1 à 3 mm à 24h [6], avec un aspect pouvant être β-hémolytique [6]. Des tests d'orientation biochimiques peuvent être réalisés sur les colonies bactériennes, permettant de détecter la présence d'une catalase et l'absence d'oxydase [7]. L'identification bactérienne est en général facilement réalisable par spectrométrie de masse [6], [7]. Les espèces du genre *Staphylococcus* sont classiquement différenciées selon la présence d'une enzyme, la coagulase. Les staphylocoques à coagulase positive sont essentiellement représentés par l'espèce pathogène *Staphylococcus aureus*, par opposition au groupe des staphylocoques à coagulase négative (CoNS), auquel appartient *S. epidermidis* (figure 1) [8]. Il existe actuellement plus de 50 espèces de CoNS décrites [9]. Ils font partie des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de nombreux mammifères [10]. Ils sont également des pathogènes opportunistes. Parmi les CoNS, *S. epidermidis* est l'espèce la plus représentée au sein de la flore commensale cutanée [7], [11], [12]. Cette bactérie peut également être responsable d'infections nosocomiales [13]. A titre d'exemple, toutes bactéries confondues, *S. epidermidis* est le premier agent d'infections nosocomiales associé à des dispositifs médicaux de type cathéters ou valves cardiaques [14].

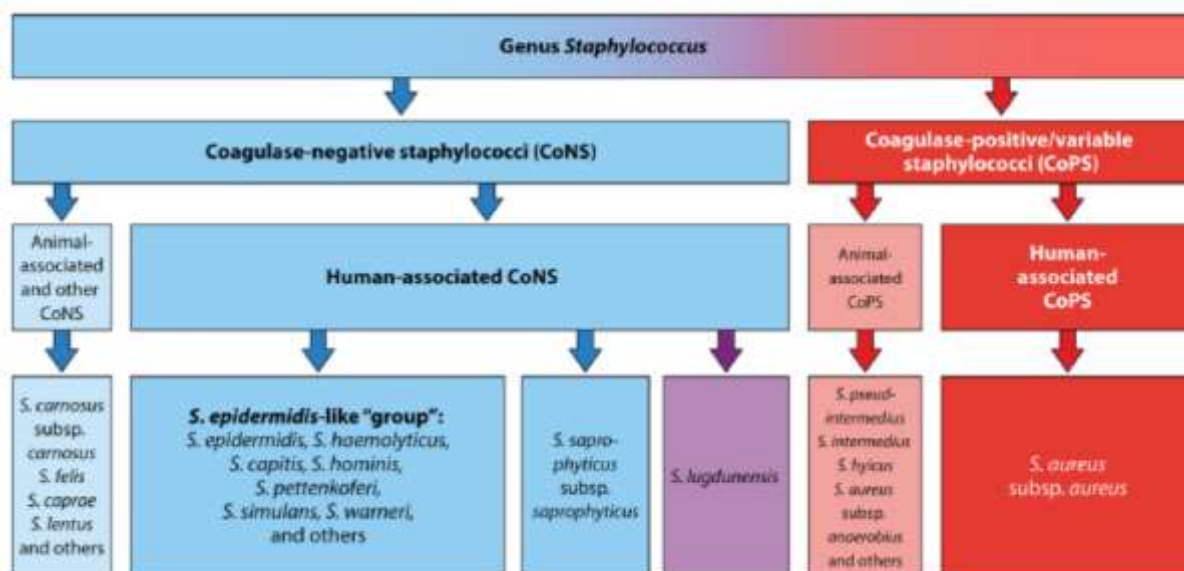


Figure 1 : Classification clinique et épidémiologique des staphylocoques [10]

Au sein des CoNS, nombreux sont les colonisateurs naturels de la peau et des tissus mous humains. *S. epidermidis* est ainsi le CoNS le plus représenté (60 à 70 %) dans le microbiote cutané [7], [15], [16]. Cette colonisation commence dès la période néonatale [17], elle va induire un équilibre avec l'hôte et jouer un rôle protecteur face aux agressions d'autres agents pathogènes comme *S. aureus*, *Candida albicans* ou *Streptococcus pyogenes* [17]. En effet dans l'étude de Lai *et al.*, il est montré que *S. epidermidis* déclenche l'expression d'AMPs (antimicrobial peptides) par les kératinocytes par le biais d'un mécanisme dépendant de TLR2 (Toll-Like Receptor, c'est un récepteur qui intervient dans la reconnaissance bactérienne), ce qui permet d'induire une protection contre ces agents pathogènes [18]. *S. epidermidis* a également un effet anti-inflammatoire cutané par la production d'acide lipotéichoïque (LTA) [17]. Dans une autre étude de Lai *et al.*, le LTA de *S. epidermidis* inhibe à la fois la libération de cytokines inflammatoires par les kératinocytes via TLR3 et l'inflammation déclenchée par une lésion via un mécanisme dépendant de TLR2 [19]. Néanmoins malgré ce rôle protecteur, *S. epidermidis* est également un pathogène opportuniste. Ainsi, à la faveur d'une rupture d'équilibre entre la bactérie et son hôte, *S. epidermidis* peut échapper aux défenses immunitaires et provoquer une infection [17].

2. Types d'infections liées à *Staphylococcus epidermidis*

2.1. Bactériémie

Les CoNS sont les bactéries les plus fréquemment isolées des hémocultures [20]. Dans une étude de Weistein *et al.*, sur 1844 hémocultures positives, 703 (38 %) étaient positives à CoNS dont 575 seront considérées comme des contaminations (soit 18 % de bactériémies réelles à CoNS) [21]. Dans une autre étude réalisée sur 1040 hémocultures positives, Richter *et al.* montrent que 389 (soit 37 %) des hémocultures étaient positives à CoNS dont 240 contaminations (soit 38 % de réelle bactériémie) [22]. Une dernière étude de Pien *et al.* confirme ces résultats avec 38 % des hémocultures (sur 2269) positives à CoNS pour seulement 17 % de réelles bactériémies [23]. *S. epidermidis* est à la fois l'espèce la plus impliquée dans les vraies bactériémies parmi les CoNS et la bactérie la plus retrouvée comme contaminant d'hémocultures [23]–[25]. La présence de *S. epidermidis* comme contaminant de flacons d'hémocultures s'explique par la présence de manière commensale de *S. epidermidis* au niveau cutané. D'autre part, les bactériémies réelles à *S. epidermidis* sont essentiellement d'origine nosocomiale [10], [26], [27]. Pour les patients de cancérologie et d'hématologie, *S. epidermidis* est responsable de 20 à 40 % des bactériémies, ces chiffres semblent avoir peu évolué depuis les années 1990 [22]–[26]. En dehors de ces populations particulières (immunodéprimés), la porte d'entrée principale et le principal facteur de risques des bactériémies à *S. epidermidis* reste l'utilisation d'un dispositif intravasculaire [31].

Plusieurs études préconisent l'utilisation de la vancomycine dans le traitement probabiliste des bactériémies à *S. epidermidis* en raison de la proportion de souches résistantes aux bêta-lactamines (70 à 90%). Si la sensibilité à la méticilline est attestée, l'antibiothérapie peut alors être adaptée dans un deuxième temps avec de la cefazoline ou de la cloxacilline [13], [20], [32].

2.2. Infection de dispositifs intra-vasculaires

L'infection sur cathéter est la première cause de bactériémies à CoNS dont plus de 50 % à *S. epidermidis* [33]. En se basant sur les données nord-américaines du NNIS (*National nosocomial infection surveillance system*) entre 1986 et 1990, l'incidence des infections sur cathéters était de 2,1 pour 1000 jours de cathéter dans les unités de soins intensifs

respiratoire, de 5,1/ 1000 dans les unités de soins intensifs médico-chirurgicales, et de 30,2 pour les unités de grands brûlés. Plus récemment entre 1992 et 2004, le même organisme montrait peu d'évolution de ces chiffres, avec une incidence globale entre 1,8 et 5,2 / 1000 jours de cathéter toutes unités de soins intensifs confondu [34]. Dans une étude de Lorente *et al.*, l'incidence des infections sur cathéter veineux central entre 2000 et 2003 étaient de 2,8 / 1000 jours de cathétérisme [35]. La durée de cathétérisme influence également fortement la survenue d'une infection. Une revue de Maki *et al.* analysant plus de 200 études de la littérature, a montré que l'incidence des infections variait de 0,1 à 4,4 % pour les cathéters de courte durée contre de 3,6 à 22,5 % pour les cathéters de longue durée [36]. D'autre part, les infections à CoNS sur cathéter de courtes durées semblent fréquemment associées à des CoNS de l'hôte acquis par voie extra-luminale [37]. En revanche, les infections de cathéters de longue durée, semblent associés aux CoNS de l'hôte ou de l'environnement de soins, et semblent plus fréquemment acquis par voie intra-luminale. Cette distinction aura des conséquences sur l'écologie des souches de *S. epidermidis* isolées d'infections. Les souches hospitalières sont en effet plus résistantes que les souches communautaires [38]. D'après la revue de Shah *et al.*, comme pour les bactériémies le traitement de ces infections repose sur la vancomycine du fait du fort taux de résistance aux bêta-lactamines.

Le traitement sera secondairement adapté à l'antibiogramme en privilégiant l'usage des bêta-lactamines [37]. Parallèlement à cette antibiothérapie les cathéters de courte durée seront la plupart du temps enlevés alors que les cathéters de longue durée pourront être conservés en fonction du contexte clinique [39]. Des thérapies de sauvetage seront alors mises en place en recourant en fonction des contextes et des habitudes du centre hospitalier incluant potentiellement des verrous antibiotiques [39], [40].

2.3. Endocardite

L'endocardite infectieuse est une infection dont l'incidence est estimée à 33 cas/an/million d'habitant en France [41]. Les endocardites causées par *S. epidermidis* sont relativement rares sur valves natives et d'apparition lente (environ 5 % [33], [42]). Sur 1504 endocardites, la mortalité associée à ces endocardites sur valves natives est cependant

élevée, avec un taux de mortalité de 20 % pour les endocardites associées à *S. epidermidis*, contre 25 % pour *S. aureus* et 7 % pour les streptocoques [42].

Les facteurs de risques principaux des endocardites à *S. epidermidis* sont la présence de matériel (d'une valve prothétique ou d'un pacemaker), un antécédent de chirurgie cardiaque, une malformation cardiaque, et l'usage de drogue intraveineuse [13], [43]–[45]. Le proportion d'endocardite à *S. epidermidis* varie en fonction des études entre 10 et 47 % des endocardites post chirurgicales survenant dans les 2 mois, à entre 20 et 25 % des cas plus tardifs [10], [43], [46]–[50]. Une étude de Chu *et al.* montre que pour 274 adultes ayant une endocardite sur valve prothétique, la mortalité des patients est de 25 % pour les CoNS (sur 86 patients), contre 36 % pour *S. aureus* (122 patients) et 6 % pour les streptocoques du groupe *viridans* (66 patients) [43]. Dans cette même étude, l'espèce *S. epidermidis* était plus fréquemment associée à des abcès intracardiaques que les espèces *S. aureus* ou les streptocoques du groupe *viridans* [43]. L'incidence des endocardites sur pacemaker semble en augmentation depuis les années 1980. En effet, son incidence est passé de 1,4 /1000 pacemakers entre 1987 et 1993, à 2,5 / 1000 entre 1994 et 2000, puis 3,3 / 1000 entre 2001 et 2007 et jusqu'à 4,5 / 1000 entre 2008 et 2013 [44]. *S. epidermidis* représente entre 25 et 36 % des endocardites sur pacemaker (deuxième germe en terme de fréquence derrière *S. aureus*) [44], [51]. La mortalité des endocardites sur pacemaker est également élevée, de 27 à 66 % selon des études portant sur de faible effectif (respectivement 52 et 26 patients) [52], [53].

Le traitement est à la fois chirurgical dans près de la moitié des cas [49], [54] et repose sur des associations d'antibiotiques. D'après l'*European Society of Cardiology* (ESC), le traitement intègre souvent une bêta-lactamine, un glycopeptide ou la daptomycine (en fonction des résistances et des CMI sur l'antibiogramme) combiné ou non à de la rifampicine et un aminoside selon la présence d'un matériel en place [55].

2.4. Infections du système nerveux central

La présence de matériel telle la dérivation ventriculaire externe (DVE) augmente le risque d'infection du système nerveux central qui varie alors de 5 à 27 % en fonction des études et des cas [55]–[58]. Parmi les pathogènes incriminés, *S. epidermidis* est la bactérie la plus représentée, entre 17 et 49 % des infections associées à des DVE [56], [59], [60] et

des infections post chirurgicales [61]. La mortalité associée à ces infections est évaluée entre 15 et 20 % en fonction des études [60], [61].

Les principaux facteurs de risques sont un antécédent de neurochirurgie, la mise en place d'une DVE mais aussi l'immunodépression du patient [10], [62], [63]. D'autres facteurs de risques existent comme la présence d'une plaie crânienne, d'un saignement intraventriculaire [64] ou des facteurs plus techniques liés eux-mêmes à la chirurgie comme la technique de mise en place de la DVE, la durée de la chirurgie, l'expérience du chirurgien et l'utilisation d'un neuroendoscope [65].

D'après les recommandations de l'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) et de l'*European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID), le traitement de ces infections dépend de la sensibilité à la méticilline de *S. epidermidis*. La vancomycine est utilisée en probabiliste en attendant de connaître la sensibilité aux bêta-lactamines. En cas de CMI à la vancomycine > 1 (américaine) ou 2 (européenne) mg/L, en fonction de l'antibiogramme, le cotrimoxazole, la daptomycine ou le linezolide pourront être utilisés [66], [67].

2.5. Infection ostéo-articulaire

Les prothèses articulaires sont associées à un risque d'infection de 1 à 3 % [57]-[59]. Classiquement on distingue les infections précoces (moins de 3 mois après la pose), retardées (entre 3 et 24 mois après la pose) et les infections tardives survenant plus de 2 ans après la pose [68]. Dans une étude de Arciola *et al.* portant sur 699 patients présentant une infection sur prothèse ou post chirurgicale, *S. epidermidis* représente 27,5 % des bactéries isolées d'infections sur prothèses, et est responsable de 42 % des infections sur prothèses de hanche et 44 % des infections sur prothèses de genou [71]. *S. epidermidis* est le plus souvent inoculé lors de la chirurgie ou lors d'un geste invasif. En raison de leur virulence plus faible que d'autres espèces bactériennes, l'infection est généralement latente et plus longue à se déclarer, les infections sont donc plutôt retardées [10], [45].

Le principal facteur de risques liés aux infections ostéo-articulaires à *S. epidermidis* est la pose d'une prothèse [45]. Les autres facteurs de risques peuvent être liés à la prothèse ou à sa pose ; il s'agit des complications non infectieuses de la pose [72], de la

durée de la chirurgie [45], d'un antécédent d'arthroplastie et de la présence d'un cancer [73].

D'après les recommandations de l'*Infectious Diseases Society of America* (IDSA) l'antibiothérapie repose sur l'antibiogramme et est le plus souvent basé sur une association d'antibiotiques dans le cas d'une prothèse. Fréquemment la rifampicine est associée à une bêta-lactamine si cela est possible ou à un glycopeptide, de la daptomycine ou du linezolide avant un relais per os [68], [74], [75]. La chirurgie est souvent nécessaire en accompagnement de l'antibiothérapie, elle peut constituer en un simple lavage avec changement des pièces mobiles ou en un changement de la prothèse en un ou deux temps, en fonction de l'état du patient et du délai de survenue de l'infection [68], [75].

2.6. Infections en néonatalogie

Quelques jours après la naissance, *S. epidermidis* colonise la peau des nouveaux nés [17]. Malgré le fait que ce soit une bactérie commensale avec un faible pouvoir invasif, les nouveaux nés sont particulièrement sujets aux infections car leur système immunitaire n'est pas encore performant [10]. De plus, les prématurés, et plus particulièrement ceux avec un faible poids de naissance subissent souvent des procédures invasives comme la pose de cathéters lors de leur passage en unité de soins intensifs de néonatalogie [76], [77]. *S. epidermidis* est ainsi responsable de plus de la moitié des sepsis en néonatalogie pour 321 épisodes septiques chez des enfants de soins intensif de néonatalogie [78]. La mortalité dans cette population est estimée entre 2 et 5 % [79] mais augmente avec le degré de prématurité [76]. La morbidité associée à un sepsis à un très jeune âge est importante. En effet, l'inflammation néonatale induite par le sepsis pourrait avoir un rôle sur la pathogenèse des troubles inflammatoires néonataux (dysplasie pulmonaire, entérocolite nécrosante, rétinopathie du prématurité,...) [79]. Ces infections contribuent aussi à augmenter significativement la durée d'hospitalisation [80].

Les facteurs de risque associés aux infections et plus particulièrement aux sepsis à *S. epidermidis* sont un poids de naissance < 1500 g [76], la présence de matériel tel qu'un cathéter veineux central ou le recours à la ventilation mécanique [80], et la nutrition parentérale dans les cas d'impossibilité d'alimentation entérale [80].

D'après les mises à jour de Fuchs *et al.* et de Ventkatesh *et al.*, le traitement mis en place dépend de la localisation de l'infection mais comprend la plupart du temps un glycopeptide au vu du fort taux de résistances aux bêta-lactamines associé à de la gentamicine en fonction de l'état clinique du patient, et associé si possible au retrait du matériel [81], [82].

3. Facteurs de virulence/échappement et de résistance

3.1. Biofilm

La formation de biofilm est un des principaux facteurs de virulence de *S. epidermidis*, ayant pour conséquence un échappement aux défenses de l'hôte et aux antibiotiques. Le biofilm de *S. epidermidis* est fréquemment mis en cause dans les infections sur matériel implanté (valve prothétique, chambre implantable, prothèse articulaire, ...) [83]. C'est pourquoi ce biofilm est le plus étudié avec celui de *Pseudomonas aeruginosa*. En effet le biofilm va conférer à *S. epidermidis* une résistance aux phagocytes, dont la pénétration dans la matrice du biofilm est altérée [84], [85]. De même, ce biofilm peut être imperméable à certains AMPs (peptides antimicrobiens) qui vont être sécrétés pour contrôler la colonisation cutanée et les infections bactériennes, ainsi qu'à certains antibiotiques [83]. Le biofilm va en effet augmenter de 10 à 1000 fois la tolérance aux antibiotiques et antiseptiques [86] et favoriser d'autant l'infection à *S. epidermidis* et la colonisation de l'environnement hospitalier. Il n'y a pas que la diminution de la pénétration qui joue sur la baisse de l'efficacité des antibiotiques contre *S. epidermidis*. En effet, l'activité de prolifération et l'activité métabolique au sein du biofilm étant réduite, les antibiotiques ciblant les bactéries actives (comme les bêta-lactamines) vont voir leur activité diminuée. Dans le même registre, des bactéries quiescentes, par rapport au reste des bactéries du biofilm, vont résister encore mieux à des concentrations d'antibiotiques bien supérieures à la CMI de leurs voisines [87]. Les difficultés de pénétration, aussi bien des agents de l'immunité que des antibiotiques/antiseptiques, associées à la quiescence des bactéries du biofilm sont responsables en grande partie de l'importance des infections à *S. epidermidis*.

Le biofilm possède une structure tridimensionnelle qui correspond à une communauté de bactéries englobées dans une matrice organique polymérique et adhérant à une surface

[88]. Cette matrice est composée in vivo de matériaux de l'hôte (fibronectine, fibrinogène, vitronectine) et d'autres molécules bactériennes y compris de l'ADN de bactéries mortes (ADN extracellulaire) [83], [89]. Les voies de signalisation du biofilm sont propres à chaque espèce bactérienne (figure 2).

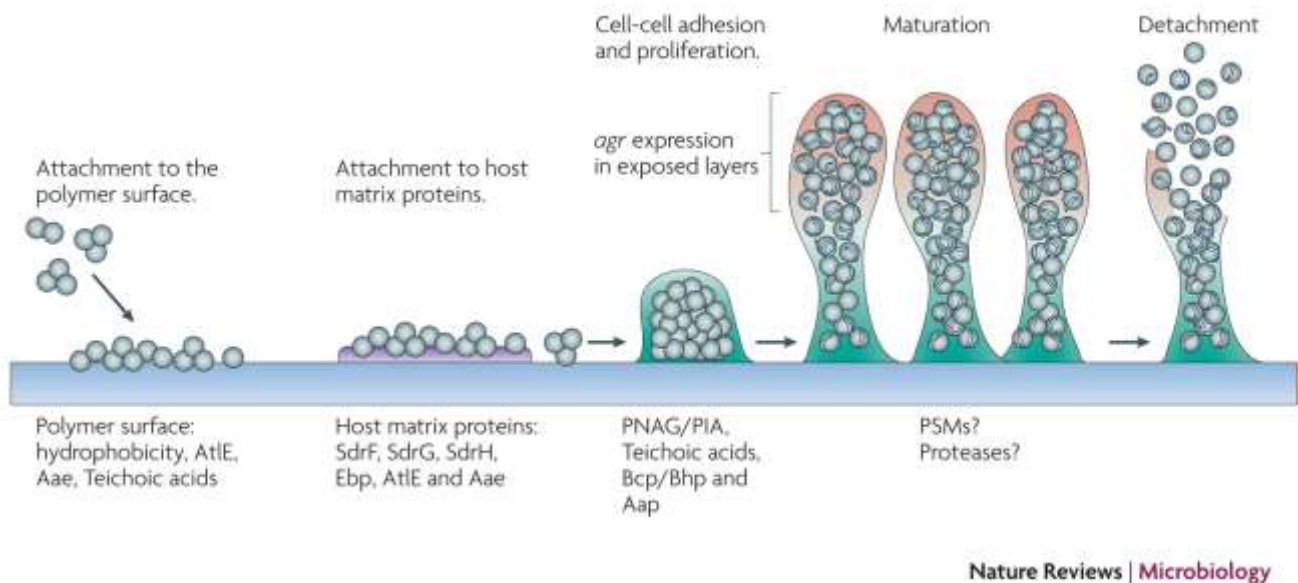


Figure 2 : développement du biofilm chez *S. epidermidis* [13]

La première étape du cycle de vie du biofilm est l'adhésion. Ce phénomène actif fait d'abord intervenir des interactions physico-chimiques (électrostatique, hydrophobe et acide/base). L'hydrophobie implique des protéines de surfaces spécifiques comme AtlE [90] qui permet d'adhérer de manière directe ou indirecte à la surface. Son activité intrinsèque autolytique conduit également à la libération d'ADN extracellulaire (eDNA) qui va jouer un rôle important dans la structure du biofilm [91], [92]. Une partie de la surface de la bactérie est couverte par des protéines nommées MSCRAMMs (Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) dont la principale est SdrG. Cette protéine va ancrer la bactérie par des liaisons covalentes ou non [84]–[86]. Rapidement une monocouche de bactéries (cluster) va former la base du biofilm [96]. Cette adhésion initiale est rapidement irréversible par modifications génomiques de *S. epidermidis* [97].

La seconde étape correspond à l'agglomération des cellules bactériennes entre elles. Elle va aboutir à la colonisation de l'ensemble de la surface. PIA/PNAG (polysaccharide intercellular adhesine/Poly-N-acetylglucosamine) permet l'adhérence et la maturation du

biofilm [97], [98]. Ce polysaccharide diffère des autres polymères par son lien β 1-6 [13]. Sa synthèse est codée par l'opéron *ica*ABCD (intercellular adhesion) et régulée par le gène *icaR* [99]. PIA est un facteur important dans la formation du biofilm. Ainsi, 87 % des souches de *S. epidermidis* productrices de biofilm expriment PIA. Au contraire 89 % des souches ne produisant pas de biofilm ne synthétisent pas PIA [98]. Ce chiffre étonnant peut en partie s'expliquer par le fait que la présence de l'opéron *ica*ABCD semble préjudiciable dans la compétition pour coloniser la peau entre différents clones de *S. epidermidis* [100]. Les protéines de surfaces Bap/Bhp [101] et Aap [84], [96] participent également à l'agglomération des cellules bactériennes. A la fin de cette étape le biofilm est composé de 10 à 25 % de bactéries et de 75 à 90 % de matrice extracellulaire [96].

La dernière étape du cycle de vie du biofilm concerne son détachement qui va lui permettre de coloniser d'autres surfaces. Cette étape est la moins connue du biofilm. Les staphylocoques n'ayant pas d'enzyme dédiée à la lyse de PIA, ce sont de petites toxines protéiques les PSMs (phenol-soluble modulins) qui vont réduire les liens entre bactéries et entre bactéries et surface [68]–[71]. Ceci va permettre la création de « tunnels » permettant l'apport de nutriment. La division cellulaire qui était 5 à 15 fois plus lente à l'intérieur du biofilm va pouvoir reprendre [107] et in fine le détachement va permettre la sortie du biofilm de bactéries métaboliquement actives et prêtes à coloniser d'autres espaces. Parmi les systèmes qui vont réguler la formation/détachement du biofilm, le système *agr* est le plus important. Il va contrôler le quorum sensing qui est un système de communication entre bactérie [83], [108], [109]. Ce système permet à la bactérie de connaître son environnement et de savoir si il est préférable de poursuivre la formation du biofilm ou si il faut se détacher pour aller coloniser d'autres espaces [110].

3.2. Autres facteurs de virulence/échappement

D'autres facteurs de virulence concourent à l'échappement de *S. epidermidis* aux défenses immunitaires. Pour lutter efficacement contre les défenses immunitaire, *S. epidermidis* est capable de détecter leur présence grâce au système *aps* (antimicrobial peptide sensor). Ce système va permettre de déclencher la résistance en induisant la synthèse de nombreux composants [111]. Ce système va par exemple induire la synthèse de SepA, une protéase qui a la capacité de dégrader l'AMPs [103]–[105]. L'AMPs est un

ensemble de peptides antimicrobiens cationique synthétisé comme première ligne de défense face à une agression extérieure [114]

La membrane cytoplasmique de *S. epidermidis* est composée de nombreux lipides anioniques comme PG (phospholipide phosphatidylglycerol) et de cardiolipides. Une fois activé, le système *mprF* (multiple peptide resistance factor) va promouvoir la modification de ces lipides en les estérifiant afin de réduire la charge négative de la membrane, et donc l'efficacité de l'AMPs sur cette dernière.

PGA (poly- γ -glutamic acid), un exopolymère synthétisé à partir du gène *cap*, a un rôle crucial dans la résistance à la phagocytose et à l'AMPs [112], [115].

PIA possèdent lui aussi un rôle dans la réduction de l'activité de l'AMPs et des neutrophiles [111], [116]. Il va aussi induire l'expression d'IL-8 et aura donc un rôle pro inflammatoire [113].

S. epidermidis, bien que décrit comme peu virulent, est capable de produire des toxines. Les PSMs (phenol-soluble modulins). Ces petits peptides toxiques multifonctions, sont le facteur de virulence principal de *S. epidermidis*. Les PSMs sont divisés en deux types α et β en fonction de leur taille et de leur charge [105], [117]. *S. epidermidis* produit les deux types en quantité égale mais il existe 4 types α différents (PSM α , PSM δ , PSM ϵ et l' δ -toxine) et 2 types β [105]. L'expression des PSMs est régulée par le système *agr* [118], [119]. Ces peptides vont être diffusés en extracellulaire. PSM δ possède notamment une activité cytolytique importante qui lui permet de lyser les neutrophiles, les monocytes et les érythrocytes de la même manière que PSM α 3 de *S. aureus* [113], [120]. Les autres PSM α possèdent une activité cytolytique moindre et même nulle pour les PSM β . La faible activité cytolytique de *S. epidermidis* comparé à *S. aureus* s'explique par une production 5 fois moins importante de ces PSMs à activité cytolytique [113].

3.3. Résistance aux antibiotiques

En milieu hospitalier comme en milieu communautaire, les staphylocoques sont également connus pour leur résistance aux antibiotiques.

3.3.1. Bêta-lactamines

Dès 1949 les premières résistances à la pénicilline de *S. epidermidis* apparaissent [121]. Cette résistance est causée par la pénicillinase, une enzyme qui va hydrolyser le cycle bêta-lactame des pénicillines [122], [123]. Cette pénicillinase est codée par le gène plasmidique *blaZ* [124]. Aujourd'hui, plus de 90 % des *Staphylococcus epidermidis* sont considérés comme résistants à la pénicilline [2], [3]. Cette résistance touche les pénicillines V, G et A, les uréidopénicillines et les carboxypénicillines. La sensibilité de ces molécules est restaurée par l'adjonction d'inhibiteurs de bêta-lactamase comme l'acide clavulanique, et de nombreuses autres classes de la famille des bêta-lactamines restent sensible (pénicilline M, céphalosporines, carbapénèmes).

Le système de synthèse de la pénicillinase est le suivant (figure 3). De manière constitutive le gène *blaZ* n'est pas exprimé car inhibé par BlaI (étape I correspondant à l'état basal). Lors de l'arrivée de pénicilline dans l'espace périplasmique, la protéine transmembranaire BlaR1 (codé par le gène *blaR1*) va agir comme antirépresseur de la synthèse de pénicillinase. Activée par les pénicillines (étape II), cette dernière est clivée dans sa partie intracellulaire pour former BlaR2 (étape III). BlaR2 va alors inactiver BlaI (étape IV), et permettre l'activation de *blaZ* et la synthèse de pénicillinase qui va migrer dans l'espace périplasmique (étapes V et VI). La pénicillinase peut alors cliver le cycle bêta-lactame (étape VII).

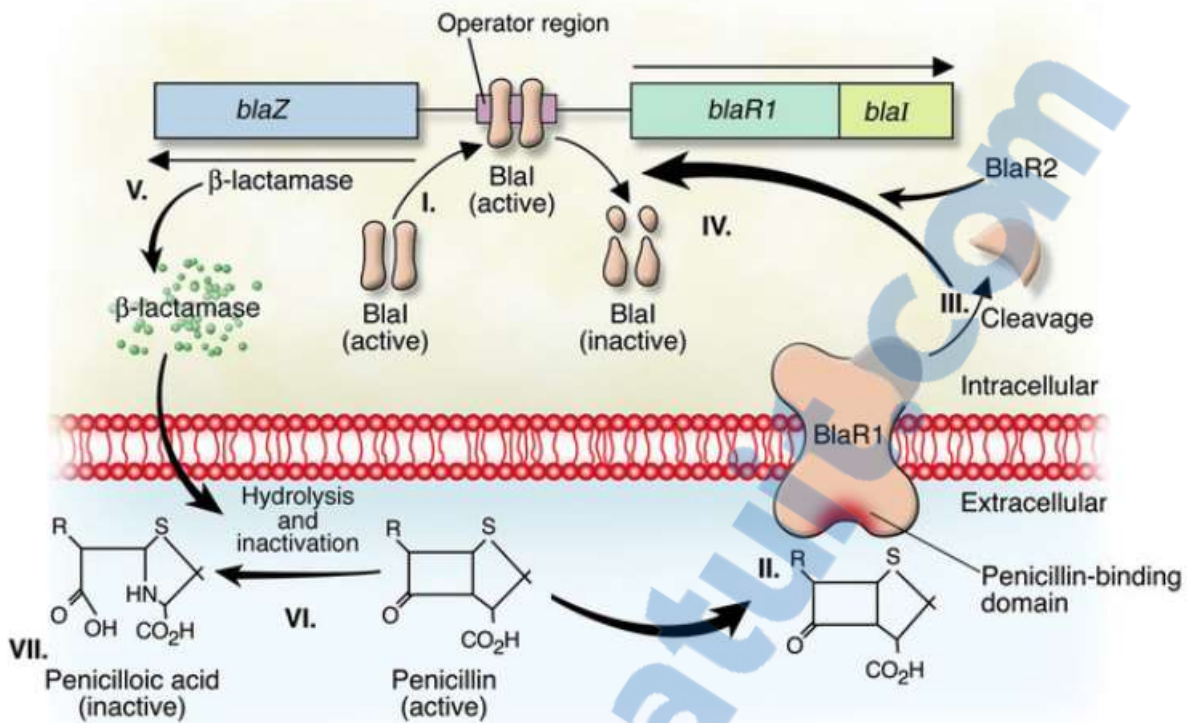


Figure 3 : Synthèse de pénicillinase lors de l'adjonction de pénicilline

La nécessité de la pénicilline pour la synthèse de la pénicillinase rend parfois difficile la mise en évidence de cette synthèse et donc de la résistance aux pénicillines. Du fait de ce haut niveau de résistance et de la difficulté de sa mise en évidence il n'existe pas de recommandations européennes pour tester la résistance de *S. epidermidis* aux pénicillines. Toutes les souches doivent de facto être rendues résistantes aux pénicillines (sauf la pénicilline M).

Les pénicillines M conservent une bonne activité vis-à-vis des staphylocoques produisant une pénicillinase. Cela en fait une molécule de choix dans les infections à staphylocoques. Cependant, comme pour les autres pénicillines, des résistances sont apparues rapidement après sa commercialisation et son utilisation massive. Cette résistance est liée à l'hyperexpression d'une PLP additionnelle de faible affinité pour les bêta-lactamines, la PLP2a. Cette PLP est codée par le gène *mecA* et régulée de manière semblable à la pénicillinase par un inhibiteur constitutif et un antirépresseur (respectivement *mecI* et *mecR1*). Ce système fonctionne exactement de la même manière que celui pour la production de la bêta-lactamase. La résistance est inductible et c'est la présence de pénicilline qui va induire l'expression de cette PLP2a [125]. La production de PLP2a entraîne

une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines (hormis les toutes dernières générations comme le ceftobiprole et la ceftaroline). Le complexe des gènes *mecA* est situé sur un élément génétique mobile. Ce complexe est nommé SSC*mec* (*Staphylococcus* cassette chromosomal) et forme un îlot de résistance aux bêta-lactamines [123]. De nombreux types de cassettes ont été étudiés et classés [126]. La cassette est structurée en deux éléments, *mecA* et un ensemble de gènes codant des recombinaisons *ccr* (*cassette chromosome recombinase*). Ces cassettes peuvent associer de multiples gènes de résistance (aminosides, tetracycline, erythromycine, ...) et la production de facteurs de virulence [127]. En 2018, plus de 60 % des souches de *S. epidermidis* du CHU d'Angers étaient résistantes aux pénicillines M, ce qui semble plus faible que les données actuelles qui montrent des proportions de souches résistantes souvent supérieures à 75 % [128], [129].

3.3.2. Aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques rapidement bactéricides par fixation sur l'ARN ribosomal 16S, ce qui leur permet d'altérer la synthèse protéique de la bactérie [6]. La résistance des staphylocoques à cet antibiotique est d'ordre enzymatique. Chez les Gram positif cette résistance est progressive et d'ordre plasmidique [130]. Ces enzymes vont acétyler, phosphoryler et/ou adényler les aminosides les rendant non opérationnels. La production de ces enzymes est constitutive, la première classe d'enzyme est l'APH(3') (aminoside O-phosphotransférase) qui confère la résistance à la kanamycine/amikacine [131]. L'ANT(4')(4'') (aminoside O-nucléotidyltransférase) va elle conférer la résistance à la kanamycine mais aussi à la tobramycine [132]. Enfin l'AAC(6')-APH(2'') (aminoside N-acétyltransférase) permet la résistance à l'ensemble des aminosides y compris la gentamicine [133]. Le taux de résistance à la gentamicine pour des souches hospitalières de *S. epidermidis* varie de 25 % à plus de 50 % [32], [129].

3.3.3. Macrolides, lincosamides, synergistines

Les macrolides, lincosamides, synergistines (MLS) se fixent à la sous unité 23S de l'ARN ribosomal, induisant un encombrement stérique, empêchant l'élongation protéique au cours de la traduction [6]. Les macrolides et lincosamides sont des antibiotiques bactériostatiques alors que l'association des streptogramines A et B des synergistines est

bactéricide [134]. Le principal mécanisme de résistance des staphylocoques aux MLS est une modification de cible par diméthylation de l'ARN 23S au niveau d'un site unique du domaine V entraînant une diminution d'affinité à sa cible, codée par le gène *erm* (erythromycin ribosome methylase). Une trentaine de classe de gènes *erm* existe [134]. Cette résistance est inductible ou constitutive. La résistance aux macrolides est retrouvée chez plus de 50 % des souches de *S. epidermidis* isolées d'infections [32], [129].

3.3.4. Fluoroquinolones

Les fluoroquinolones agissent par fixation aux topo-isomérases II et IV qui ont pour fonction de réguler la topologie de l'ADN pour permettre sa réplication [6]. Les fluoroquinolones sont bactéricides, elles ne se contentent pas d'inhiber les topo-isomérases mais les transforment en poisons de la réplication [135]. Le principal mécanisme de résistance est une modification de cible en deux temps. Il va, en effet, dans un premier temps y avoir une modification au niveau d'une première cible *parC* avant la modification dans une autre région appelé QRDR (Quinolone Resistance Determining Region) de *gyrA* [136]. Cette résistance est souvent associée à la résistance à la méticilline, ainsi 7 % des SESM (*S. epidermidis* sensible à la méticilline) seront résistantes aux fluoroquinolones contre 85 % des SERM (*S. epidermidis* résistant à la méticilline) [129].

3.3.5. Glycopeptides

Les glycopeptides sont des antibiotiques lentement bactéricides qui vont inhiber la synthèse du peptidoglycane chez les bactéries à Gram positif [6]. Concernant la résistance des Staphylocoques aux glycopeptides on distingue les souches de sensibilité diminuée (la majorité des cas) et les souches résistantes aux glycopeptides. Les souches de sensibilité diminuée possèdent des CMI à la vancomycine augmentées par accumulation de facteurs impliqués dans la résistance aux glycopeptides [137]. Ceci se traduit par une réorganisation complexe du métabolisme du peptidoglycane qui pourrait empêcher l'accès des glycopeptides à leur cible, associée à l'hyperproduction de précurseurs du peptidoglycane agissant comme leurres [138]. Si ces souches sont intermédiaires ou résistantes pour la plupart à la teicoplanine, elles restent généralement sensibles à la vancomycine [139]. Ainsi entre 30 et 46 % des souches de *S. epidermidis* sensibles à la méticilline sont de sensibilité intermédiaire

à la teicoplanine contre 60 à 85 % pour les souches résistantes à la méticilline [140]. Les souches réellement résistantes par acquisition de l'opéron *vanA* des entérocoques sont beaucoup plus rares. VanA va modifier des liaisons essentielles pour la fixation des glycopeptides au peptidoglycane [141]. Ces situations sont néanmoins rares et concernent moins de 1 % des souches de *S. epidermidis* [138] .

3.3.6. Oxazolidinone

Les oxazolidinones sont des inhibiteurs de la synthèse protéique qui agissent en empêchant la formation de la sous unité 70S du ribosome bactérien. Ce sont des antibiotiques bactériostatiques [6]. Des mutations spontanées au niveau de la sous unité 23S rRNA entraînent une résistance au linezolide, non croisée avec d'autres antibiotiques [142]. D'autre part, une résistance codée par le gène *cfr* porté par un plasmide a également été observée chez quelques souches et est plus inquiétante car présente sur des éléments génétiques mobiles et donc potentiellement échangeable entre bactéries [143]. Tous types de résistances confondus le taux de résistance au linezolide est inférieur à 1 % pour *S. epidermidis* [38], [129], [144].

3.3.7. Daptomycine

La daptomycine est un lipopeptide cyclique, en s'insérant dans la membrane des bactéries il forme des pores qui vont induire la dépolarisation par une fuite de potassium [6]. Plusieurs mécanismes de résistance semblent impliquer les gènes *mprF*, *ycyFG* et *rpoBC* sans que les mécanismes impliqués ne soient clairement identifiés [145]. Le taux de résistance de *S. epidermidis* à la daptomycine est très faible, bien inférieur à 1 % pour des souches venant de tous prélèvements cliniques [129], [146] alors que ce taux peut atteindre 3 % pour des souches provenant d'infections sur prothèse articulaire [38].

3.3.8. Rifampicine

La rifampicine possède une activité par inhibition de l'ARN polymérase bactérienne. La résistance est liée à une mutation du gène *rpoB* qui se traduit par une modification de cible [147]. La résistance varie de 5 à 39 % des souches en fonction des études [32], [38], [129].

3.3.9. Triméthoprime-Sulfaméthoxazole

Le cotrimoxazole (Triméthoprime-Sulfaméthoxazole) est bactéricide par inhibition de la synthèse bactérienne des folates [6]. De nombreux mécanismes de résistance ont été rapportés chez *S. epidermidis* (impermeabilité, pompe d'efflux, modification quantitative ou qualitative des cibles, ...) [148]. Le taux de résistance chez *S. epidermidis* varie de 46 à 82 % [38], [129].

3.3.10. Tétracyclines

Les tétracyclines possèdent une activité bactériostatique en inhibant la synthèse protéique par fixation à l'unité 30S du ribosome [6]. La résistance est portée par le gène plasmidique *tet*, qui code pour une pompe d'efflux. La résistance est cependant propre à chaque molécule (tétracycline, tigécycline, minocycline) en fonction du gène *tet* concerné [149]. Le taux de résistance varie de moins de 1 % à la tigécycline [2], [38] à entre 15 et 20 % à la tétracycline [32], [129].

3.3.11. Fosfomycine

La fosfomycine agit en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du précurseur du peptidoglycane [6]. C'est un antibiotique bactéricide qui présente des synergies d'action avec les autres antibiotiques agissant sur la paroi [6]. La résistance intervient par mutation chromosomique au niveau de gènes codant pour les transporteurs intracellulaire de la fosfomycine [150]. La résistance de *S. epidermidis* est estimée à 22 % des souches non urinaires [151].

3.3.12. Acide Fusidique

L'acide fusidique est un antibiotique bactéricide qui agit sur les bactéries à Gram positifs en inhibant la synthèse protéique en se fixant à l'unité 50S du ribosome et en formant un complexe avec le facteur d'élongation [6]. Deux mécanismes de résistances sont décrits, une altération de la cible par mutation chromosomique du gène *fusA*, et une modification de la perméabilité par acquisition du plasmide *fusB* [152]. Le taux de résistances pour *S. epidermidis* varie de 39 à 74 % en fonction des études [38], [129].

3.3.13. Mupirocine

La mupirocine inhibe l'élongation peptidique lors de la synthèse protéique en bloquant l'isoleucine-tRNA synthétase. C'est un antibiotique bactéricide utilisé en application locale pour décontaminer les sites cutanéomuqueux colonisés par *S. aureus* [6]. Le gène plasmidique *mupA*, permet la synthèse d'une isoleucine-tRNA synthétase modifiée [6]. Chez *S. epidermidis* 1 à 7 % des SESM seront résistants contre 18 à 23 % des SERM, avec 75 % de résistance de bas niveau [129], [153].

Matériels et méthodes

1. Isolats bactériens

Au total 182 isolats cliniques de *S. epidermidis*, isolés au laboratoire de Bactériologie-Hygiène du CHU d'Angers entre Janvier 2015 et Aout 2018, ont été inclus dans l'étude. Parmi eux 127 souches rendues sensibles à pénicilline G -en fonction des critères établit par le CA-SFM en vigueur à la date du prélèvement clinique- ont été incluses. La sélection des isolats a été effectuée sur la valeur de la CMI de la pénicilline G en milieu liquide ($\leq 0,03$ mg/L) et sur le diamètre de la zone d'inhibition. De plus, 55 souches résistantes à la pénicilline G et sensible à l'oxacilline ont également été incluses.

L'ensemble des souches de *S. epidermidis* ont été isolées de différents types de prélèvement (LCR (5), hémocultures (37), urines (35), cathéters (19), chambre implantable (14), tissus (26), liquide ponction divers (25)...).

2. Cultures bactériennes

Les souches sélectionnées ont été repiquées à partir du milieu de conservation Stock Culture (Bio-Rad®, Hercules, Etats-Unis) sur gélose au sang columbia (Oxoid®, Dardilly, France) et incubées 24h à 35 +/- 2°C. Les identifications des colonies bactériennes ont été vérifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation - Time of Flight) (bioMérieux®, Marcy l'Etoile, France).

3. Méthode de diffusion - lecture des diamètres d'inhibition

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion en milieu gélosé sur gélose Mueller-Hinton (MH) (Oxoid®, Dardilly, France) à partir d'une suspension bactérienne de turbidité à 0,5 Mac Farland, en apposant un disque de 1 unité de pénicilline G (Oxoid®, Dardilly, France) selon les recommandations du CA-SFM [5]. L'antibiogramme a été incubé 20 +/- 4h à une température de 35 +/- 2 °C.

La lecture des diamètres d'inhibition a été réalisée à partir de l'antibiogramme par un opérateur au moyen d'une règle.

4. Méthode de diffusion – test du disque à la nitrocéfine

Le test du disque de nitrocéfine (Remel®, San Diego, Etats-Unis) est un test chromogénique permettant la détection de la production de pénicillinase. Le test est effectué à partir de colonies prélevées au niveau de la bordure de la zone d'inhibition avec le disque de pénicilline G. Le test est interprété, selon les indications du fournisseur, 40 minutes après le début du test.

5. Méthode de diffusion – lecture de la bordure floue ou nette

La lecture de l'aspect de la bordure de la zone d'inhibition est déterminée après la lecture du diamètre d'inhibition de la pénicilline G. Cinq bactériologistes expérimentés du CHU d'Angers ont alors évalué l'apparence de cette bordure et les ont classées comme suit: nettes si elles étaient bien définies (donc résistante) et floues si elles n'étaient pas clairement délimitées (donc sensible) (figure 4). Chaque lecture est effectuée de manière indépendante sans concertation entre bactériologistes. Pour synthétiser les résultats de chaque opérateurs en résultats des opérateurs nous avons défini la caractérisation de la majorité des opérateurs comme la réponse pour chaque souche de la caractérisation floue ou nette de la majorité des opérateurs. Ceci a été réalisé afin de rendre la méthode plus homogène et de pouvoir comparer les résultats vis-à-vis des autres méthodes. Ainsi, c'est le résultat des 3, 4 ou 5 opérateurs qui ont caractérisé la souche de la même manière qui a été pris en compte.

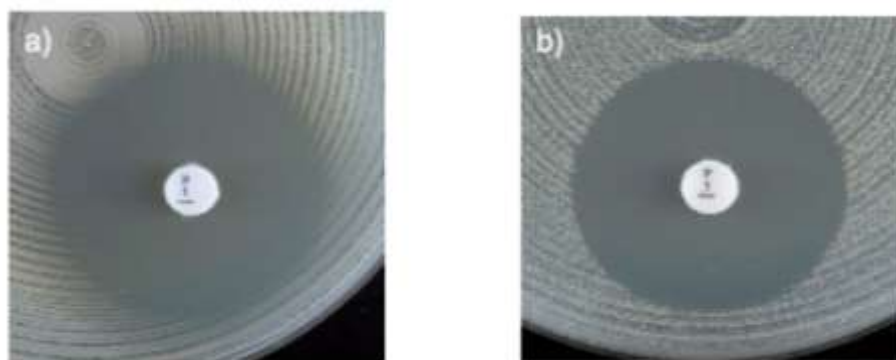


Figure 4 : Aspect de contour flou (a) et de contour net (b) sur un antibiogramme par diffusion de staphylocoque

6. Détection par PCR du gène *blaZ*

6.1. Extraction manuelle de l'ADN bactérien

L'extraction d'ADN a été effectuée à partir de colonies bactériennes cultivées 24h sur gélose columbia au sang (Oxoïd, dardilly, France) à $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Les souches bactériennes sont mises en suspension dans $85\mu\text{L}$ de Tris HCL $0,2\text{M}$ pH $7,5$. Une solution de lysostaphine fille est préparée extemporanément en ajoutant $90\mu\text{L}$ de Tris HCL $0,2\text{M}$ pH $7,5$ dans le tube de lysostaphine mère. $15\mu\text{L}$ de lysostaphine fille sont ajoutés aux $85\mu\text{L}$ de suspension bactérienne. La suspension est vortexée, puis centrifugée rapidement et incubée 30 min dans un bain marie à sec à 37°C . Elle est ensuite dénaturée 15 min dans un bain marie à sec à 95°C puis refroidit dans la glace.

6.2. Amplification de l'ADN bactérien

L'ADN extrait pour chaque souche a été amplifié par une technique de PCR en temps réel. Le mélange réactionnel de la réaction de PCR était constitué pour chaque échantillon de 2 amorces (Eurofins®, Luxembourg, Luxembourg) (Tableau I) à $5\text{ pmoles}/\mu\text{L}$, d'une sonde (Eurofins®, Luxembourg, Luxembourg) (Tableau I), de Brilliant III ultrafact QPCR low ROX Master Mix (Agilent®, Santa Clara, Etats-Unis) et d'eau pour PCR (Invitrogen®, Carlsbad, Etats-Unis) pour un volume final de $20\mu\text{L}$ et ce pour les deux espèces de Staphylocoques.

La PCR a été réalisée sur MX 3000 (Agilent®, Santa Clara, Etats-Unis) (Tableau III). Un témoin négatif et un témoin positif (*S. epidermidis* producteur de pénicillinase) sont ajoutés à chaque série de PCR.

Nom	Séquence (5'→3')	Nt	Tm en °C	Vol. pour 100 pmoles/μL	Gène cible
SE-<i>blaZ</i>-FOR	TGCTGATAAAAGTGGTCAAGCA	22	56,5	301	<i>blaZ</i>
SE-<i>blaZ</i>-REV	ACACTCTTGGCGGTTTCACT	20	57,3	357	<i>blaZ</i>
SE-<i>blaZ</i>-DYE	FAM- TCCTAAGGGCCAATCTGAACCTA TTGT-BHQ1	27	63,4	203	

Tableau 1 : Caractéristiques des amorces/sondes utilisées pour l'amplification du gène *blaZ* pour *Staphylococcus epidermidis*

Nt : nombre de nucléotides

Tm : température de fusion

Etape	Nombre de cycle	Température	Durée
Dénaturation	1	95°C	3 min
Dénaturation	45	95°C	15 s
Hybridation/Elongation	45	55°C	20 s

Tableau 2 : Conditions pour la PCR du gène *blaZ*

7. Méthode en milieu liquide – CMI Vitek2

Les CMI de la pénicilline G ont été testées initialement par microdilution en milieu liquide (Vitek2®, bioMérieux, Marcy l’Etoile, France). Quand une discordance a été observée entre la valeur de la CMI de la pénicilline G et le résultat de la PCR *blaZ*, la CMI en milieu liquide a été contrôlée une deuxième fois par la même technique. La valeur limite de la CMI est de 0,12 mg/L c’est-à-dire que les souches ayant une CMI $\leq 0,12$ mg/L sont considérées comme sensibles et donc non productrices de bêta-lactamase.

8. Interprétation des résultats

La PCR ciblant le gène *blaZ* a été considérée comme la technique de référence pour détecter la présence de la pénicillinase.

La sensibilité (Sen), spécificité (Spe), valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN), ont été calculés pour les différentes techniques testées de la manière suivante :

$$\text{Sen} = \text{VP}/(\text{VP}+\text{FN})$$

$$\text{Spe} = \text{VN}/(\text{VN}+\text{FP})$$

$$\text{VPP} = \text{VP}/(\text{VP}+\text{FP})$$

$$\text{VPN} = \text{VN}/(\text{VN}+\text{FN})$$

Avec VP = vrai positif, VN = vrai négatif, FP = faux positif et FN = faux négatif

La sensibilité d’une méthode est déterminée comme étant la faculté de cette méthode à détecter la production de la pénicillinase, sa spécificité comme la faculté à ne détecter que la production de la pénicillinase. La valeur prédictive positive permet de déterminer la probabilité qu’un résultat positif soit corrélé à la présence de la pénicillinase et la valeur prédictive négative la probabilité qu’un résultat négatif soit corrélé à l’absence de pénicillinase.

Résultats

1. PCR du gène *blaZ*

Au total 127/182 isolats ne portaient pas le gène *blaZ* (dont 121 isolats initialement rendus sensibles à la pénicilline G) alors que 55/182 isolats étaient porteurs du gène *blaZ* (dont 6 isolats initialement rendus sensible à la pénicilline G) (tableau III).

	Présence du gène <i>blaZ</i>	Absence du gène <i>blaZ</i>
Souches initialement rendues sensibles à la pénicilline G	6	121
Souches initialement rendues résistantes à la pénicilline G	49	6
Nombre total de souches	55	127

Tableau 3 : Répartition de la sensibilité des souches initialement choisies en fonction de la présence du gène *blaZ*

2. Méthode de diffusion - lecture des diamètres d'inhibition

Concernant la lecture du diamètre des antibiogrammes nous remarquons une dispersion des diamètres (figure 5) discriminante avec 55 souches porteuses du gène *blaZ* avec un diamètre entre 6 et 26 mm et 127 souches non porteuses du gène *blaZ* entre 33 et 55 mm.

Dispersion des diamètres en méthode de diffusion en fonction de la présence du gène *blaZ*

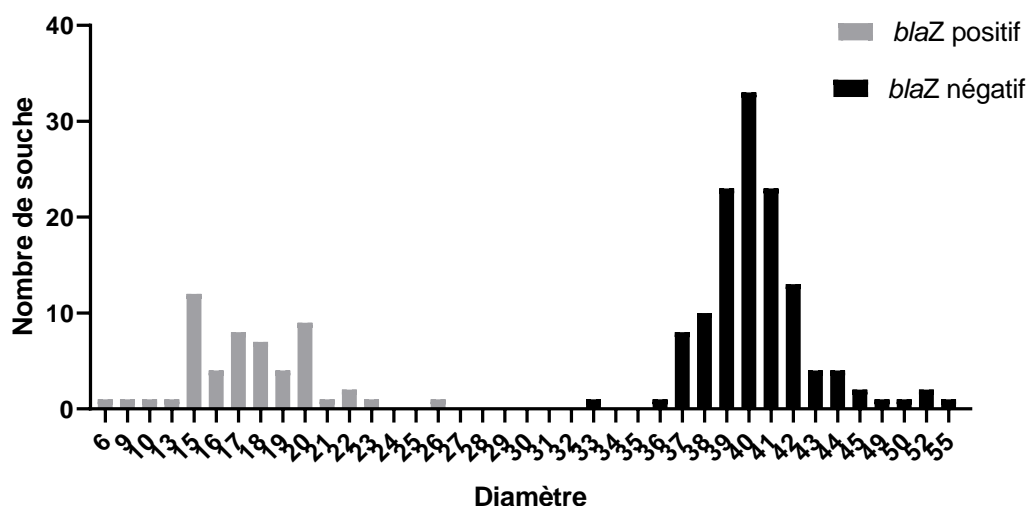


Figure 5 : Dispersion des diamètres de diffusion en fonction de la présence du gène *blaZ*

Cette particularité se retrouve dans le tableau 4, qui permet de déterminer la spécificité, la sensibilité, la VPP et la VPN de la technique de diffusion en milieu gélosé dans la mise en évidence de la sensibilité du *S. epidermidis* à la pénicilline G. En prenant pour cut-off la valeur de 26 mm (recommandation du CA-SFM pour *S. aureus* [5], [154]) (souches ayant un diamètre ≥ 26 mm sensibles à la pénicilline G et donc non productrices de bêta-lactamase contrairement aux souches ayant un diamètre < 26 mm), La sensibilité de la méthode est alors de 99 % pour une spécificité de 100 %.

Méthode	VP	FP	VN	FN	Total	Sen	Spé	VPP	VPN
	(N)	(N)	(N)	(N)	(N)	(%)	(%)	(%)	(%)
Diamètre	127	0	54	1	182	99	100	100	98

Tableau 4 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène *blaZ* par la méthode du diamètre en diffusion

3. Méthode de diffusion – test du disque à la nitrocéfine

Le test du disque à la nitrocéfine montre une sensibilité de 96 % et une spécificité de 100 % (tableau 5).

Méthode	VP (N)	FP (N)	VN (N)	FN (N)	Total (N)	Sen (%)	Spé (%)	VPP (%)	VPN (%)
Disque de nitrocéfine	127	0	50	5	182	96	100	100	91

Tableau 5 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène *blaZ* par la méthode du disque de nitrocéfine

4. Méthode de diffusion – lecture de la bordure

Pour évaluer l'efficacité de cette méthode nous avons évalué la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN de chaque bactériologiste puis de l'ensemble des bactériologistes (majorité des opérateurs par isolat) (tableau 6).

Méthode	VP (N)	FP (N)	VN (N)	FN (N)	Total (N)	Sen (%)	Spé (%)	VPP (%)	VPN (%)
Opérateur 1	54	21	106	1	182	98	83	72	99
Opérateur 2	54	19	108	1	182	98	85	74	99
Opérateur 3	53	43	84	2	182	96	66	55	98
Opérateur 4	55	28	99	0	182	100	78	66	100
Opérateur 5	54	5	122	1	182	98	96	93	99
Majorité des opérateurs par isolats	54	20	107	1	182	98	84	73	99

Tableau 6 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène *blaZ* par la méthode de la lecture de la bordure de la zone d'inhibition

La sensibilité et la VPN varient peu entre les différents opérateurs, avec une sensibilité supérieure ou égale à 96 % et une VPN supérieure ou égale à 98 % pour l'ensemble des lecteurs. En revanche, une variabilité de spécificité de 30 % (66% vs. 96%) a été observée entre deux bactériologistes (tableau 6). Dans la suite de l'analyse, la valeur de la majorité des opérateurs par isolats a été reprise.

5. Méthode en milieu liquide – CMI Vitek2

Nous avons évalué ici la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN de la CMI en microdilution, en considérant comme méthode de référence la PCR du gène *blaZ* (tableau 7).

Méthode	VP (N)	FP (N)	VN (N)	FN (N)	Total (N)	Sen (%)	Spé (%)	VPP (%)	VPN (%)
CMI	126	1	51	4	182	98	98	99	93

Tableau 7 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène *blaZ* par la méthode de la CMI en microdilution

Sur 127 souches testées ne possédant pas le gène *blaZ*, 125 correspondent à des CMI Vitek2 < 0,03 mg/L ; sur 55 souches testées possédant le gène *blaZ*, 4 ont une CMI à 0,12 mg/L, 41 une CMI à 0,25 mg/L et 10 une CMI > 0,25 mg/L (figure 7).

Répartition des souches par valeur de CMI Vitek2 et présence du gène *blaZ*

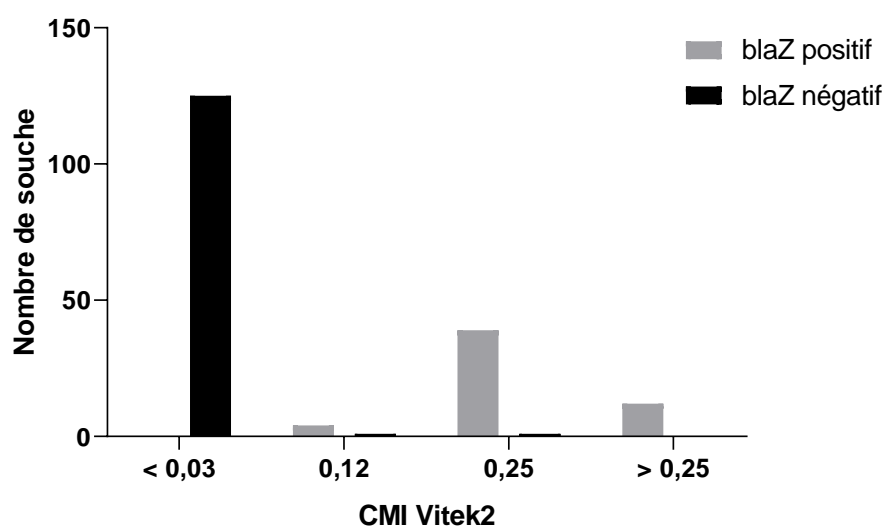


Figure 6 : Répartition des souches par valeur de CMI Vitek 2 et présence du gène *blaZ*

6. Efficacité des différentes méthodes

Ci-dessous un tableau récapitulatif des valeurs de sensibilité, spécificité, VPN et VPP obtenues pour les différentes méthodes diagnostiques testées.

Méthode	VP (N)	FP (N)	VN (N)	FN (N)	Tota I (N)	Sen (%)	Spé (%)	VPP (%)	VPN (%)
Diamètre	127	0	54	1	182	99	100	100	98
Nitrocéfine	127	0	50	5	182	96	100	100	91
Aspect de la bordure	54	20	107	1	182	98	84	73	99
CMI	126	1	51	4	182	98	98	99	93

Tableau 8 : Sensibilité/spécificité/VPP/VPN de chaque méthode pour la détection de la sensibilité à la pénicilline G chez *Staphylococcus epidermidis*

Discussion

L'objectif de ce travail était de déterminer une méthode phénotypique sensible et spécifique pour le diagnostic de la production de pénicillinase de *S. epidermidis*. La PCR *blaZ* a été utilisée comme technique de référence pour la détection de la pénicillinase. Cela a ainsi permis d'évaluer la sensibilité et la spécificité de différentes méthodes (diffusion en milieu gélosé, aspect de la bordure de la zone d'inhibition, test à la nitrocéfine et CMI en microdilution) pour le diagnostic de la production de pénicillinase.

La méthode de diffusion en milieu gélosé telle qu'utilisée dans cette étude, a permis d'obtenir des résultats de sensibilité de 99 % et de spécificité de 100 % pour la détection de la production de pénicillinase de *S. epidermidis*. D'autres travaux de la littérature, s'appuyant sur les recommandations du CLSI (disque de pénicilline G de 10 unités et un diamètre critique à 29 mm), ont également étudié les performances de cette méthode. Or, les résultats obtenus dans notre étude, utilisant les critères d'interprétation de l'EUCAST pour *S. aureus*, semblent meilleurs que dans ces travaux. En effet, dans une étude de 2017, une sensibilité de 57 % a été obtenue pour la détection de pénicillinase par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur 215 isolats de *S. aureus* [155]. Ferreira *et al.* ont également obtenu des résultats de sensibilité de 72 % sur 101 isolats de *Staphylococcus* (dont 56 % de *S. saprophyticus* et 16 % de *S. epidermidis*) [156]. Les résultats de sensibilité de ces études semblent donc bien inférieurs à ceux obtenus dans notre travail. En revanche, les résultats de spécificité obtenus dans ces deux études sont de 100 %, de manière similaire à nos propres résultats. D'autre part, dans une étude ayant analysé la production de pénicillinase par 157 isolats de *S. aureus*, mais en utilisant les recommandations de l'EUCAST, une sensibilité de 90 % et une spécificité de 100 % ont été retrouvées [155]. Ces derniers résultats semblent ainsi plus proches des performances obtenues dans notre travail pour cette technique, même si des nuances doivent être apportées dans la mesure où des espèces bactériennes différentes ont été testées dans ces travaux. Cependant, cette dichotomie entre EUCAST et CLSI, avec des performances supérieures accordées aux recommandations européennes, a été appuyée par d'autres études. Papanicolas *et al.* ont ainsi analysé la production de pénicillinase par la méthode de diffusion sur 157 souches de *S. aureus* en comparant les recommandations européennes et américaines. Pour ces mêmes souches, la

sensibilité et la spécificité avec les recommandations de l'EUCAST étaient de 100 et 99 % contre 66 et 100 % avec les recommandations du CLSI [157]. La très bonne sensibilité de cette technique, en utilisant les recommandations de l'EUCAST et du CA-SFM pour *S. aureus* sont très proches de nos résultats pour la détection de la pénicillinase de *S. epidermidis*. L'absence du gène *blaZ* chez les 127 souches avec un diamètre ≥ 33 mm tend ainsi à appuyer la spécificité de ce test, et la capacité à rendre un résultat d'absence de production de pénicillinase au-delà de ce diamètre. Cependant le faible nombre de souches de *S. epidermidis* avec un diamètre entre 26 et 36 mm semble insuffisant pour affirmer que les souches comprises dans cette fourchette de diamètre ne sont pas productrices de pénicillinase.

Les résultats du test à la nitrocéfine montrent une sensibilité correcte à 96 % et une spécificité à 100 %. Les performances de ce test sont meilleures que celles indiquées dans la littérature. Dans des études sur des isolats de *S. aureus*, pour des méthodes équivalentes, les résultats de sensibilité varient entre 39% et 92% [153], [155]–[157]. Ferreira *et al.* ont également analysé les performances de cette méthode sur différentes espèces de Staphylocoques, et concluent à une sensibilité de 29 % [156], soit bien inférieure à celle retrouvée dans notre étude. La très grande variabilité de ces résultats rend difficile la prise en considération de ce critère. Chaque étude est basée sur un fournisseur de nitrocéfine, ceci pouvant peut-être expliquer les différences de sensibilité observées.

Les résultats de la lecture de l'aspect de la bordure de la zone d'inhibition sont contrastés. La sensibilité est de 98 %, mais la spécificité de 84 % semble insuffisante pour l'utilisation de cette méthode. La bonne sensibilité de ce test est appuyée par la littérature. En effet, une sensibilité supérieure à 90 % a été obtenue lors du test sur des staphylocoques de différentes espèces [153] ou 100 % sur des souches de *S. aureus* [157]. Dans l'étude de Gill *et al.*, réalisée sur 260 souches de *S. epidermidis*, une sensibilité de 95 % a été retrouvée pour cette méthode. Cependant, dans ce même travail, la lecture de l'aspect de la bordure de la zone d'inhibition a été rendue ininterprétable pour 17 *S. epidermidis* (14 producteurs de pénicillinase et 3 non producteurs) [159]. Cette étude met ainsi en lumière les difficultés rencontrées pour l'interprétation des résultats de certaines souches. D'autre

part, l'aspect subjectif de la méthode (soumise à une interprétation humaine) peut expliquer la variabilité des résultats et la mauvaise spécificité obtenue pour ce test. Cependant les études rapportent rarement le nombre et l'expérience professionnelle des personnes ayant interprété l'aspect de la zone d'inhibition. Seule l'étude de Hombach *et al.*, sur 215 souches de *S. aureus*, montre qu'en fonction du niveau d'expérience des opérateurs la sensibilité peut varier entre 68 à 97 % avec une spécificité toujours supérieure à 90 % [155]. De manière similaire dans notre étude, les résultats de la lecture de l'aspect de la bordure de la zone d'inhibition varient entre les opérateurs. Si la sensibilité varie peu (de 96 à 100 %) la spécificité a pu varier de 30 % entre deux opérateurs. Un désaccord est présent entre bactériologistes pour près d'un tiers des souches (58/182). En l'absence de concertation entre biologistes, il semble ainsi que les erreurs soient causées par les mêmes souches, les 111 erreurs réalisées étant réparties sur 58 souches. Pour 56 de ces souches discordantes le diamètre de la pénicilline G est supérieur ou égale à 33 mm. Ainsi, pour les 127 souches dépourvues du gène *blaZ* une erreur est commise par au moins un des bactériologistes, sur 56 d'entre elles, soit près de 44% des souches. Ces erreurs semblent donc relativement récurrentes entre les différents opérateurs. Il est cependant intéressant de noter que pour la seule souche ayant un diamètre ≥ 26 mm possédant le gène *blaZ*, l'aspect de la zone d'inhibition était nette pour l'ensemble des bactériologistes. Cette méthode phénotypique apparaît donc plutôt comme un complément utile pour les souches ayant un diamètre compris entre 26 et 36 mm que comme la méthode de référence.

Les résultats de la méthode en microdilution, réalisée ici sur l'automate Vitek2®, sont relativement comparables à ceux obtenus par la méthode de diffusion en milieu gélosé avec une sensibilité et une spécificité de 98 %. De plus, dans notre étude et dans la littérature (pour des souches de *S. aureus*) aucune souche porteuse du gène *blaZ* n'a été retrouvée par cette technique pour des valeurs de CMI $\leq 0,03$ mg/L [158], [160], [161]. Dans notre étude, 4 souches sur 5 avec une CMI à 0,06 mg/L et 40 souches sur 41 ayant une CMI à 0,12 mg/L étaient porteuses du gène *blaZ*, attestant de la faible fiabilité d'un résultat d'absence de pénicillinase pour des valeurs de CMI de la pénicilline G comprises entre 0,06 et 0,12 mg/L. Dans l'étude de Richter *et al.* sur 448 souches de *S. aureus*, 96 % des souches ayant une CMI à 0,06 mg/L et 68 % des souches ayant une CMI à 0,12 mg/L étaient non porteuses du gène *blaZ*. Les résultats de l'étude de Kaase *et al.* sont similaires avec, sur 197 souches de

S. aureus, 94 % des CMI à 0,06 mg/L et 77 % des CMI à 0,12 mg/L, non porteuses du gène *blaZ*. Ainsi ces études réalisées sur des souches de *S. aureus* semblent peu comparables à ceux obtenus ici sur des isolats de *S. epidermidis*. Ces résultats nous incitent donc dans le cadre de l'étude de *S. epidermidis* à revoir le breakpoint de cette méthode à 0,03 mg/L et de poursuivre les essais sur des souches ayant une CMI plus élevée pour savoir si il y a bien une différence de breakpoint entre *S. aureus* et *S. epidermidis* ou si cela est propre à notre population de *S. epidermidis*. Pour les laboratoires ne disposant que d'un système d'antibiogramme par automate en microdilution ces résultats sont importants pour établir un algorithme décisionnel pour la détection de la production de pénicillinase.

Au total nous pouvons affirmer que deux méthodes semblent particulièrement intéressantes pour déterminer la sensibilité du *S. epidermidis* à la pénicilline G, la méthode de l'antibiogramme en milieu solide par diffusion et la CMI en milieu liquide. Ces deux méthodes sont disponibles dans la plupart des laboratoires de bactériologie. Le test à la nitrocéfine, malgré des résultats corrects, montre sa moins bonne sensibilité, en accord avec les autres études. En revanche l'aspect de la zone d'inhibition pourrait jouer un rôle en complément du diamètre quand celui-ci est dans la zone entre 26 et 36 mm. Cette approche est résumée dans la figure 7. Pour les laboratoires réalisant leurs antibiogrammes en microdilution, l'approche est résumée dans la figure 8.

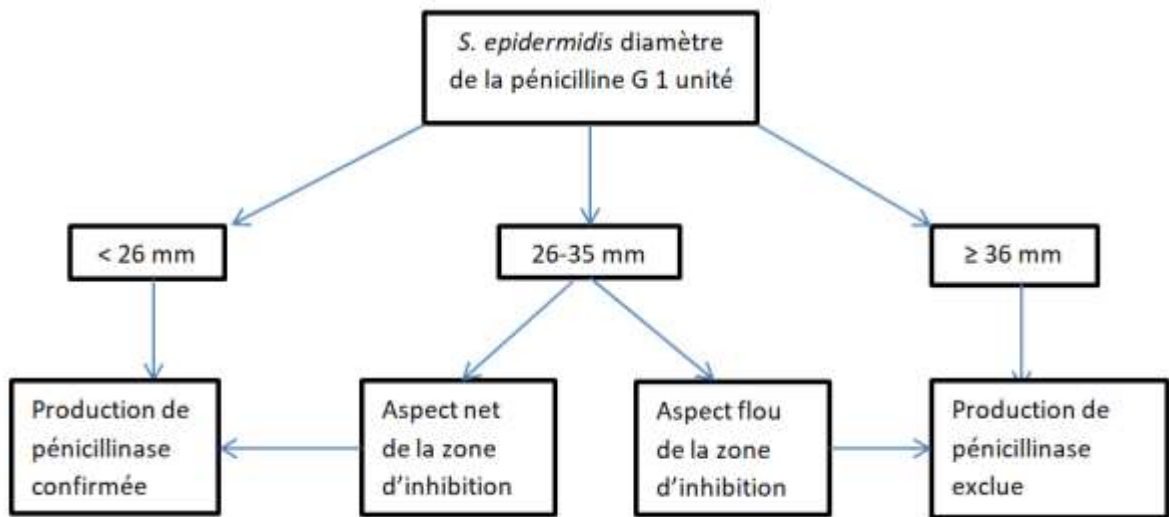


Figure 7 : Approche diagnostique possible en méthode en diffusion pour déterminer la sensibilité à la pénicilline G de *S. epidermidis*

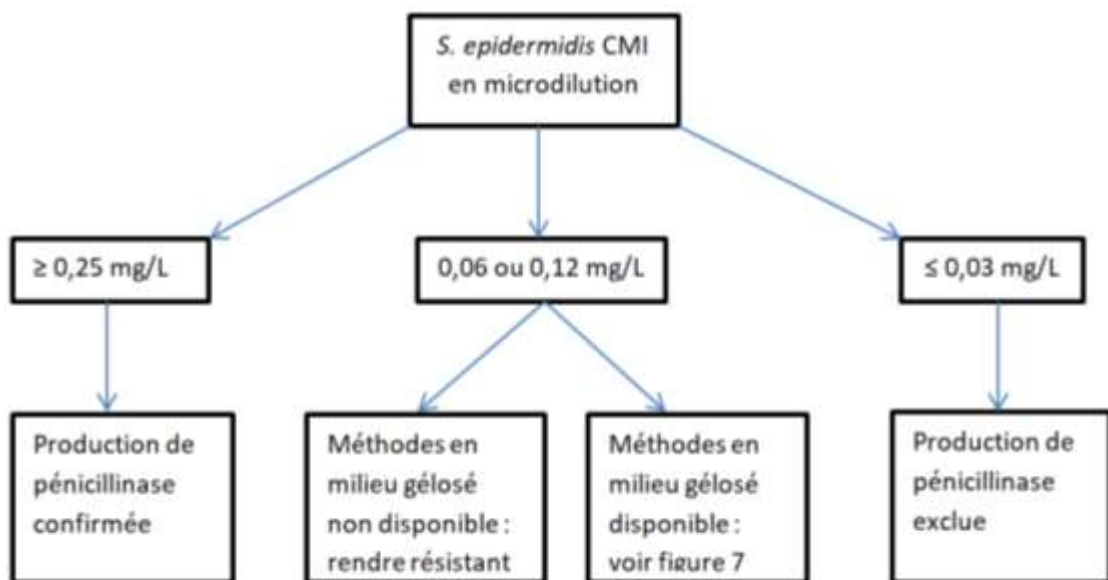


Figure 8 : Approche diagnostique possible en méthode en microdilution pour déterminer la sensibilité à la pénicilline G de *S. epidermidis*

Conclusion

Au final, ce travail a permis de mettre en évidence la possibilité d'une détermination phénotypique de la sensibilité à la pénicilline G pour *S. epidermidis*. En adaptant les recommandations du CA-SFM pour *S. aureus* à l'espèce *S. epidermidis*, il semble en effet possible de déterminer la production de pénicillinase à l'aide des techniques de diffusion en milieu gélosé ou de CMI par micro-dilutions, deux techniques classiquement présentes dans l'ensemble des laboratoires de bactériologie. D'autres études permettront cependant de préciser, notamment avec la méthode de diffusion en milieu gélosé, les critères permettant de tenir compte de l'ensemble de la population de *S. epidermidis*.

Bibliographie

- [1] K. Becker, « Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci », p. 23, 2016.
- [2] Study Group *et al.*, « Resistance trends and in vitro activity of tigecycline and 17 other antimicrobial agents against Gram-positive and Gram-negative organisms, including multidrug-resistant pathogens, in Germany », *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 30, n° 9, p. 1095-1103, sept. 2011.
- [3] S. Cherifi, B. Byl, A. Deplano, C. Nonhoff, O. Denis, et M. Hallin, « Comparative Epidemiology of Staphylococcus epidermidis Isolates from Patients with Catheter-Related Bacteremia and from Healthy Volunteers », *J Clin Microbiol*, vol. 51, n° 5, p. 1541-1547, mai 2013.
- [4] « European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 9.0, valid from 2019-01-01 ». 2019.
- [5] F. Jehl, « Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2018 V1.0 Janvier », SFM EUCAST, janv. 2018.
- [6] C. Dupieux, M. Bes, O. Dumitrescu, A. Tristant, et C. Bouchiat, « Staphylococcus », in *Bactériologie clinique*, 3^{ème}., Eska, 2019, p. 593-648.
- [7] C. Bouchiat, C. Dupieux, F. Garnier, F. Denis, et F. Vandenesch, « Familles des Staphylococcaceae et Micrococcaceae », in *Bactériologie médicale*, 3^{ème} édition., p. 261-271.
- [8] R. W. Fairbrother, « Coagulase production as a criterion for the classification of the staphylococci », *The Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 50, n° 1, p. 83-88, janv. 1940.
- [9] « All names cited in the List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature: List S-Z ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.bacterio.net/-allnamesz.html>. [Consulté le: 16-févr-2019].
- [10] K. Becker, C. Heilmann, et G. Peters, « Coagulase-Negative Staphylococci », *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 27, n° 4, p. 870-926, oct. 2014.
- [11] E. A. Grice et J. A. Segre, « The skin microbiome », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 9, n° 4, p. 244-253, avr. 2011.
- [12] E. A. Grice *et al.*, « Topographical and Temporal Diversity of the Human Skin Microbiome », *Science*, vol. 324, n° 5931, p. 1190-1192, mai 2009.
- [13] M. Otto, « Staphylococcus epidermidis — the “accidental” pathogen », *Nature Reviews Microbiology*, vol. 7, n° 8, p. 555-567, août 2009.
- [14] I. Uçkay, D. Pittet, P. Vaudaux, H. Sax, D. Lew, et F. Waldvogel, « Foreign body infections due to Staphylococcus epidermidis », *Annals of Medicine*, vol. 41, n° 2, p. 109-119, janv. 2009.
- [15] C. Heilmann, W. Ziebuhr, et K. Becker, « Are coagulase-negative staphylococci virulent? », *Clinical Microbiology and Infection*, nov. 2018.
- [16] « Staphylococcus epidermidis and other Coagulase-Negative Staphylococci - Infectious Disease and Antimicrobial Agents ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.antimicrobe.org/b234.asp>. [Consulté le: 14-août-2019].
- [17] T. H. Nguyen, M. D. Park, et M. Otto, « Host Response to Staphylococcus epidermidis Colonization and Infections », *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 7, mars 2017.
- [18] Y. Lai *et al.*, « Activation of TLR2 by a Small Molecule Produced by Staphylococcus epidermidis Increases Antimicrobial Defense against Bacterial Skin Infections », *J Invest Dermatol*, vol. 130, n° 9, p. 2211-2221, sept. 2010.

- [19] Y. Lai *et al.*, « Commensal bacteria regulate TLR3-dependent inflammation following skin injury », *Nat Med*, vol. 15, n° 12, p. 1377-1382, déc. 2009.
- [20] S. Kleinschmidt, F. Huygens, J. Faoagali, I. U. Rathnayake, et L. M. Hafner, « *Staphylococcus epidermidis* as a cause of bacteremia », *Future Microbiology*, vol. 10, n° 11, p. 1859-1879, nov. 2015.
- [21] M. P. Weinstein *et al.*, « The Clinical Significance of Positive Blood Cultures in the 1990s: A Prospective Comprehensive Evaluation of the Microbiology, Epidemiology, and Outcome of Bacteremia and Fungemia in Adults », *Clin Infect Dis*, vol. 24, n° 4, p. 584-602, avr. 1997.
- [22] S. S. Richter *et al.*, « Minimizing the Workup of Blood Culture Contaminants: Implementation and Evaluation of a Laboratory-Based Algorithm », *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 40, n° 7, p. 2437-2444, juill. 2002.
- [23] B. C. Pien *et al.*, « The Clinical and Prognostic Importance of Positive Blood Cultures in Adults », *The American Journal of Medicine*, vol. 123, n° 9, p. 819-828, sept. 2010.
- [24] R. Abu-Saleh *et al.*, « Bloodstream Infections Caused by Contaminants: Epidemiology and Risk Factors: A 10-Year Surveillance », *Isr. Med. Assoc. J.*, vol. 20, n° 7, p. 433-437, juill. 2018.
- [25] I. Papadimitriou-Oliveri *et al.*, « Number of positive blood cultures, biofilm formation, and adhesin genes in differentiating true coagulase-negative staphylococci bacteremia from contamination », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 35, n° 1, p. 57-66, janv. 2016.
- [26] M. Müller-Premru et P. Cernelc, « Molecular epidemiology of catheter-related bloodstream infections caused by coagulase-negative staphylococci in haematological patients with neutropenia. », *Epidemiol Infect*, vol. 132, n° 5, p. 921-925, oct. 2004.
- [27] K. L. Muldrew, Y.-W. Tang, H. Li, et C. W. Stratton, « Clonal Dissemination of *Staphylococcus epidermidis* in an Oncology Ward », *J Clin Microbiol*, vol. 46, n° 10, p. 3391-3396, oct. 2008.
- [28] E. González-Barca, A. Fernández-Sevilla, J. Carratalá, A. Grañena, et F. Gudiol, « Prospective study of 288 episodes of bacteremia in neutropenic cancer patients in a single institution », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 15, n° 4, p. 291-296, avr. 1996.
- [29] D. Coullioud, P. Van der Auwera, M. Viot, C. Lasset, et CEMIC (French-Belgian Study Club of Infectious Diseases in Cancer), « Prospective multicentric study of the etiology of 1051 bacteremic episodes in 782 cancer patients », *Support Care Cancer*, vol. 1, n° 1, p. 34-46, janv. 1993.
- [30] E. S. Horasan, G. Ersoz, A. Tombak, N. Tiftik, et A. Kaya, « Bloodstream infections and mortality-related factors in febrile neutropenic cancer patients », *Medical Science Monitor*, vol. 17, n° 5, p. CR304-CR309, 2011.
- [31] S. Hogan, N. T. Stevens, H. Humphreys, et J. P. O. and E. O'Neill, « Current and Future Approaches to the Prevention and Treatment of Staphylococcal Medical Device-Related Infections », *Current Pharmaceutical Design*, 31-déc-2014. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.eurekaselect.com/124388/article>. [Consulté le: 14-août-2019].
- [32] D. J. Diekema *et al.*, « Survey of Infections Due to *Staphylococcus* Species: Frequency of Occurrence and Antimicrobial Susceptibility of Isolates Collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific Region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999 », *Clin Infect Dis*, vol. 32, n° Supplement_2, p. S114-S132, mai 2001.
- [33] J. Huebner, MD et D. A. Goldmann, MD, « COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI: Role as Pathogens », *Annual Review of Medicine*, vol. 50, n° 1, p. 223-236, févr. 1999.
- [34] R. Gahlot, C. Nigam, V. Kumar, G. Yadav, et S. Anupurba, « Catheter-related bloodstream infections », *International Journal of Critical Illness and Injury Science*, vol. 4, n° 2, p. 161, 2014.

- [35] L. Lorente, C. Henry, M. M. Martín, A. Jiménez, et M. L. Mora, « Central venous catheter-related infection in a prospective and observational study of 2,595 catheters », *Crit Care*, vol. 9, n° 6, p. R631-R635, 2005.
- [36] D. G. Maki, D. M. Kluger, et C. J. Crnich, « The Risk of Bloodstream Infection in Adults With Different Intravascular Devices: A Systematic Review of 200 Published Prospective Studies », *Mayo Clinic Proceedings*, vol. 81, n° 9, p. 1159-1171, sept. 2006.
- [37] H. Shah, W. Bosch, K. M. Thompson, et W. C. Hellinger, « Intravascular Catheter-Related Bloodstream Infection », *Neurohospitalist*, vol. 3, n° 3, p. 144-151, juill. 2013.
- [38] B. Hellmark, M. Unemo, Å. Nilsson-Augustinsson, et B. Söderquist, « Antibiotic susceptibility among Staphylococcus epidermidis isolated from prosthetic joint infections with special focus on rifampicin and variability of the rpoB gene », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 15, n° 3, p. 238-244, mars 2009.
- [39] L. A. Mermel *et al.*, « Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America », *Clin Infect Dis*, vol. 49, n° 1, p. 1-45, juill. 2009.
- [40] D. Lebeaux *et al.*, « Management of infections related to totally implantable venous-access ports: challenges and perspectives », *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 14, n° 2, p. 146-159, févr. 2014.
- [41] C. Selton-Suty *et al.*, « Preeminence of Staphylococcus aureus in Infective Endocarditis: A 1-Year Population-Based Survey », *Clinical Infectious Diseases*, vol. 54, n° 9, p. 1230-1239, mai 2012.
- [42] V. H. Chu *et al.*, « Emergence of Coagulase-Negative Staphylococci as a Cause of Native Valve Endocarditis », *Clinical Infectious Diseases*, vol. 46, n° 2, p. 232-242, janv. 2008.
- [43] V. H. Chu *et al.*, « Coagulase-negative staphylococcal prosthetic valve endocarditis—a contemporary update based on the International Collaboration on Endocarditis: prospective cohort study », *Heart*, vol. 95, n° 7, p. 570-576, avr. 2009.
- [44] F. Carrasco *et al.*, « Clinical features and changes in epidemiology of infective endocarditis on pacemaker devices over a 27-year period (1987-2013) », *Europace*, vol. 18, n° 6, p. 836-841, juin 2016.
- [45] K. L. Rogers, P. D. Fey, et M. E. Rupp, « Coagulase-Negative Staphylococcal Infections », *Infectious Disease Clinics of North America*, vol. 23, n° 1, p. 73-98, mars 2009.
- [46] E. E. Hill, P. Herijgers, M.-C. Herregods, et W. E. Peetermans, « Evolving trends in infective endocarditis », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 12, n° 1, p. 5-12, janv. 2006.
- [47] J. R. Ortega, A. García, A. Medina, et C. Campoamor, « Endocarditis protésica precoz de gran agresividad por S. epidermidis », *Revista Española de Cardiología*, vol. 55, n° 3, p. 315-318, janv. 2002.
- [48] A. W. Karchmer, « Staphylococcus epidermidis Causing Prosthetic Valve Endocarditis: Microbiologic and Clinical Observations as Guides to Therapy », *Annals of Internal Medicine*, vol. 98, n° 4, p. 447, avr. 1983.
- [49] T. Lalani *et al.*, « Prosthetic valve endocarditis due to coagulase-negative staphylococci: findings from the International Collaboration on Endocarditis Merged Database », *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 25, n° 6, p. 365-368, juin 2006.
- [50] I. Accoceberry, M. Cornet, F. Fenollar, et F. Vandenesch, « Endocardite », in *Rémic Référentiel en microbiologie médicale*, 6ème édition., p. 153-158.
- [51] G. Gandelman *et al.*, « Intravascular device infections: epidemiology, diagnosis, and management », *Cardiol Rev*, vol. 15, n° 1, p. 13-23, févr. 2007.
- [52] D. Klug *et al.*, « Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads: clinical presentation and management », *Circulation*, vol. 95, n° 8, p. 2098-2107, avr. 1997.

- [53] C. Camus, C. Leport, F. Raffi, C. Michelet, F. Cartier, et J. L. Vilde, « Sustained bacteremia in 26 patients with a permanent endocardial pacemaker: assessment of wire removal », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 1, p. 46-55, juill. 1993.
- [54] J. Etienne et S. J. Eykyn, « Increase in native valve endocarditis caused by coagulase negative staphylococci: an Anglo-French clinical and microbiological study. », *Br Heart J*, vol. 64, n° 6, p. 381-384, déc. 1990.
- [55] G. Habib *et al.*, « 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditis: The Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM) », *European Heart Journal*, vol. 36, n° 44, p. 3075-3128, nov. 2015.
- [56] D. Hoefnagel, R. Dammers, M. P. Ter Laak-Poort, et C. J. J. Avezaat, « Risk factors for infections related to external ventricular drainage », *Acta Neurochir (Wien)*, vol. 150, n° 3, p. 209-214, mars 2008.
- [57] K. M. Busl, « Nosocomial Infections in the Neurointensive Care Unit », *Neurologic Clinics*, vol. 35, n° 4, p. 785-807, nov. 2017.
- [58] H. Humphreys *et al.*, « Surveillance of infection associated with external ventricular drains: proposed methodology and results from a pilot study », *Journal of Hospital Infection*, vol. 95, n° 2, p. 154-160, févr. 2017.
- [59] J. R. W. Kestle *et al.*, « Management of shunt infections: a multicenter pilot study », *Journal of Neurosurgery: Pediatrics*, vol. 105, n° 3, p. 177-181, sept. 2006.
- [60] P. L. Bhatia, S. Lilani, R. Shirpurkar, C. Chande, S. Joshi, et A. Chowdhary, « Coagulase-negative staphylococci: Emerging pathogen in central nervous system shunt infection », *Indian Journal of Medical Microbiology*, vol. 35, n° 1, p. 120, janv. 2017.
- [61] P. L. Pereira *et al.*, « 'Epidemiology of surgical site infection in a neurosurgery department' », *British Journal of Neurosurgery*, vol. 31, n° 1, p. 10-15, janv. 2017.
- [62] C. von Eiff, G. Peters, et C. Heilmann, « Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci », *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 2, n° 11, p. 677-685, nov. 2002.
- [63] C.-R. Huang *et al.*, « Coagulase-Negative Staphylococcal Meningitis in Adults: Clinical Characteristics and Therapeutic Outcomes », *Infection*, vol. 33, n° 2, p. 56-60, avr. 2005.
- [64] S. Scheithauer *et al.*, « Prospective surveillance of drain associated meningitis/ventriculitis in a neurosurgery and neurological intensive care unit », *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, vol. 80, n° 12, p. 1381-1385, déc. 2009.
- [65] A. Conen, L. N. Walti, A. Merlo, U. Fluckiger, M. Battegay, et A. Trampuz, « Characteristics and Treatment Outcome of Cerebrospinal Fluid Shunt-Associated Infections in Adults: A Retrospective Analysis over an 11-Year Period », *CLIN INFECT DIS*, vol. 47, n° 1, p. 73-82, juill. 2008.
- [66] A. R. Tunkel *et al.*, « 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis* », *Clinical Infectious Diseases*, vol. 64, n° 6, p. e34-e65, mars 2017.
- [67] D. van de Beek *et al.*, « ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 22, p. S37-S62, mai 2016.
- [68] W. Zimmerli, A. Trampuz, et P. E. Ochsner, « Prosthetic-Joint Infections », *New England Journal of Medicine*, vol. 351, n° 16, p. 1645-1654, oct. 2004.
- [69] T. N. Peel, A. C. Cheng, K. L. Buising, et P. F. M. Choong, « Microbiological Aetiology, Epidemiology, and Clinical Profile of Prosthetic Joint Infections: Are Current Antibiotic Prophylaxis Guidelines Effective? », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 56, n° 5, p. 2386-2391, mai 2012.

- [70] J. R. Lentino, « Infections Associated with Prosthetic Knee and Prosthetic Hip », *Curr Infect Dis Rep*, vol. 6, n° 5, p. 388-392, oct. 2004.
- [71] C. R. Arciola, Y. H. An, D. Campoccia, M. E. Donati, et L. Montanaro, « Etiology of implant orthopedic infections: a survey on 1027 clinical isolates », *Int J Artif Organs*, vol. 28, n° 11, p. 1091-1100, nov. 2005.
- [72] A. Jover-Saénz, F. Barcenilla-Gaite, J. Torres-Puig-Gros, L. Prats-Gispert, S. Garrido-Calvo, et J. M. Porcel-Pérez, « [Risk factors for total prosthetic joint infection. Case-control study] », *Med Clin (Barc)*, vol. 128, n° 13, p. 493-494, avr. 2007.
- [73] E. F. Berbari *et al.*, « Risk Factors for Prosthetic Joint Infection: Case-Control Study », *CLIN INFECT DIS*, vol. 27, n° 5, p. 1247-1254, nov. 1998.
- [74] C. Li, N. Renz, et A. Trampuz, « Management of Periprosthetic Joint Infection », *Hip Pelvis*, vol. 30, n° 3, p. 138-146, sept. 2018.
- [75] D. R. Osmon *et al.*, « Diagnosis and Management of Prosthetic Joint Infection: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America », *Clinical Infectious Diseases*, vol. 56, n° 1, p. e1-e25, janv. 2013.
- [76] C. P. Hornik *et al.*, « Early and Late Onset Sepsis in Very-Low-Birth-Weight Infants from a Large Group of Neonatal Intensive Care Units », *Early Hum Dev*, vol. 88, n° Suppl 2, p. S69-S74, mai 2012.
- [77] M. Björkqvist, M. Liljedahl, J. Zimmermann, J. Schollin, et B. Söderquist, « Colonization pattern of coagulase-negative staphylococci in preterm neonates and the relation to bacteremia », *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, vol. 29, n° 9, p. 1085-1093, sept. 2010.
- [78] V. Khadilkar, D. Tudehope, et S. Fraser, « A prospective study of nosocomial infection in a neonatal intensive care unit », *Journal of Paediatrics and Child Health*, vol. 31, n° 5, p. 387-391, 1995.
- [79] Y. Dong, C. P. Speer, et K. Glaser, « Beyond sepsis: Staphylococcus epidermidis is an underestimated but significant contributor to neonatal morbidity », *Virulence*, vol. 9, n° 1, p. 621-633, févr. 2018.
- [80] Y. Dong et C. P. Speer, « Late-onset neonatal sepsis: recent developments », *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, vol. 100, n° 3, p. F257-F263, mai 2015.
- [81] M. P. Venkatesh, F. Placencia, et L. E. Weisman, « Coagulase-Negative Staphylococcal Infections in the Neonate and Child: An Update », *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*, vol. 17, n° 3, p. 120-127, juill. 2006.
- [82] A. Fuchs, « Antibiotic Use for Sepsis in Neonates and Children: 2016 Evidence Update », p. 53.
- [83] M. OTTO, « Staphylococcal biofilms », *Microbiol Spectr*, vol. 6, n° 4, août 2018.
- [84] R. M. Donlan et J. W. Costerton, « Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms », *Clin Microbiol Rev*, vol. 15, n° 2, p. 167-193, avr. 2002.
- [85] M. Heinzlmann, D. O. Herzig, B. Swain, M. A. Mercer-Jones, T. M. Bergamini, et H. C. Polk, « Phagocytosis and oxidative-burst response of planktonic Staphylococcus epidermidis RP62A and its non-slime-producing variant in human neutrophils. », *Clin Diagn Lab Immunol*, vol. 4, n° 6, p. 705-710, nov. 1997.
- [86] T.-F. C. Mah et G. A. O'Toole, « Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents », *Trends in Microbiology*, vol. 9, n° 1, p. 34-39, janv. 2001.
- [87] B. P. Conlon, S. E. Rowe, et K. Lewis, « Persister Cells in Biofilm Associated Infections », in *Biofilm-based Healthcare-associated Infections: Volume II*, G. Donelli, Éd. Cham: Springer International Publishing, 2015, p. 1-9.
- [88] B. Carpentier et O. Cerf, « Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry », *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 75, n° 6, p. 499-511, déc. 1993.

- [89] C. Heilmann, « Adhesion Mechanisms of Staphylococci », in *Bacterial Adhesion: Chemistry, Biology and Physics*, D. Linke et A. Goldman, Éd. Dordrecht: Springer Netherlands, 2011, p. 105-123.
- [90] C. Heilmann, M. Hussain, G. Peters, et F. Götz, « Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface », *Molecular Microbiology*, vol. 24, n° 5, p. 1013-1024, 1997.
- [91] E. A. Izano, M. A. Amarante, W. B. Kher, et J. B. Kaplan, « Differential Roles of Poly-N-Acetylglucosamine Surface Polysaccharide and Extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Biofilms », *Appl Environ Microbiol*, vol. 74, n° 2, p. 470-476, janv. 2008.
- [92] Z. Qin *et al.*, « Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* », *Microbiology*, vol. 153, n° 7, p. 2083-2092, juill. 2007.
- [93] S. K. Mazmanian, « *Staphylococcus aureus* Sortase, an Enzyme that Anchors Surface Proteins to the Cell Wall », *Science*, vol. 285, n° 5428, p. 760-763, juill. 1999.
- [94] H. Rohde *et al.*, « Induction of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation via proteolytic processing of the accumulation-associated protein by staphylococcal and host proteases: Aap mediated *S. epidermidis* biofilm formation », *Molecular Microbiology*, vol. 55, n° 6, p. 1883-1895, mars 2005.
- [95] D. Sun, M. A. Accavitti, et J. D. Bryers, « Inhibition of Biofilm Formation by Monoclonal Antibodies against *Staphylococcus epidermidis* RP62A Accumulation-Associated Protein », *Clin Diagn Lab Immunol*, vol. 12, n° 1, p. 93-100, janv. 2005.
- [96] J. Costerton, « Introduction to biofilm », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 11, n° 3-4, p. 217-221, mai 1999.
- [97] D. McKenney, J. Hübner, E. Muller, Y. Wang, D. A. Goldmann, et G. B. Pier, « The *ica* Locus of *Staphylococcus epidermidis* Encodes Production of the Capsular Polysaccharide/Adhesin », *Infect Immun*, vol. 66, n° 10, p. 4711-4720, oct. 1998.
- [98] D. Mack, M. Haeder, N. Siemssen, et R. Laufs, « Association of Biofilm Production of Coagulase-Negative Staphylococci with Expression of a Specific Polysaccharide Intercellular Adhesin », *Journal of Infectious Diseases*, vol. 174, n° 4, p. 881-883, oct. 1996.
- [99] J. P. O'Gara, « *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* », *FEMS Microbiology Letters*, vol. 270, n° 2, p. 179-188, mai 2007.
- [100] K. L. Rogers, M. E. Rupp, et P. D. Fey, « The Presence of *icaADBC* Is Detrimental to the Colonization of Human Skin by *Staphylococcus epidermidis* », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74, n° 19, p. 6155-6157, oct. 2008.
- [101] M. A. Tormo, « Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of *Staphylococcus*: evidence of horizontal gene transfer? », *Microbiology*, vol. 151, n° 7, p. 2465-2475, juill. 2005.
- [102] M. Hussain, M. Herrmann, C. von Eiff, F. Perdreau-Remington, et G. Peters, « A 140-kilodalton extracellular protein is essential for the accumulation of *Staphylococcus epidermidis* strains on surfaces. », *Infect Immun*, vol. 65, n° 2, p. 519-524, févr. 1997.
- [103] K.-F. Kong, C. Vuong, et M. Otto, « *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection », *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 296, n° 2-3, p. 133-139, avr. 2006.
- [104] Y. Yao, D. E. Sturdevant, et M. Otto, « Genomewide Analysis of Gene Expression in *Staphylococcus epidermidis* Biofilms: Insights into the Pathophysiology of *S. epidermidis* Biofilms and the Role of Phenol-Soluble Modulins in Formation of Biofilms », *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 191, n° 2, p. 289-298, janv. 2005.
- [105] G. Y. C. Cheung, H.-S. Joo, S. S. Chatterjee, et M. Otto, « Phenol-soluble modulins – critical determinants of staphylococcal virulence », *FEMS Microbiol Rev*, vol. 38, n° 4, p. 698-719, juill. 2014.

- [106] C. Vuong, M. Dürr, A. B. Carmody, A. Peschel, S. J. Klebanoff, et M. Otto, « Regulated expression of pathogen-associated molecular pattern molecules in *Staphylococcus epidermidis*: quorum-sensing determines pro-inflammatory capacity and production of phenol-soluble modulins: Quorum sensing control of inflammation in *S. epidermidis* », *Cellular Microbiology*, vol. 6, n° 8, p. 753-759, mai 2004.
- [107] L. Kodjikian *et al.*, « Biofilms à *Staphylococcus epidermidis* à la surface des implants intraoculaires », </data/revues/01815512/00280002/224/>, mars 2008.
- [108] J. M. Yarwood, D. J. Bartels, E. M. Volper, et E. P. Greenberg, « Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus* Biofilms », *J Bacteriol*, vol. 186, n° 6, p. 1838-1850, mars 2004.
- [109] C. Vuong, S. Kocianova, Y. Yao, A. B. Carmody, et M. Otto, « Increased Colonization of Indwelling Medical Devices by Quorum-Sensing Mutants of *Staphylococcus epidermidis* In Vivo », *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 190, n° 8, p. 1498-1505, oct. 2004.
- [110] C. Vuong, C. Gerke, G. A. Somerville, E. R. Fischer, et M. Otto, « Quorum-Sensing Control of Biofilm Factors in *Staphylococcus epidermidis* », *J INFECT DIS*, vol. 188, n° 5, p. 706-718, sept. 2003.
- [111] H.-S. Joo et M. Otto, « Mechanisms of resistance to antimicrobial peptides in staphylococci », *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1848, n° 11, p. 3055-3061, nov. 2015.
- [112] M. Otto, « Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections », *Semin Immunopathol*, vol. 34, n° 2, p. 201-214, mars 2012.
- [113] G. Y. C. Cheung *et al.*, « *Staphylococcus epidermidis* Strategies to Avoid Killing by Human Neutrophils », *PLoS Pathog*, vol. 6, n° 10, p. e1001133, oct. 2010.
- [114] S. Patel et N. Akhtar, « Antimicrobial peptides (AMPs): The quintessential 'offense and defense' molecules are more than antimicrobials », *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 95, p. 1276-1283, nov. 2017.
- [115] S. Kocianova *et al.*, « Key role of poly- γ -dl-glutamic acid in immune evasion and virulence of *Staphylococcus epidermidis* », 01-mars-2005. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.jci.org/articles/view/23523/pdf>. [Consulté le: 05-mars-2019].
- [116] C. Vuong *et al.*, « A Crucial Role for Exopolysaccharide Modification in Bacterial Biofilm Formation, Immune Evasion, and Virulence », *J. Biol. Chem.*, vol. 279, n° 52, p. 54881-54886, déc. 2004.
- [117] H.-S. Joo et M. Otto, « The Isolation and Analysis of Phenol-Soluble Modulins of *Staphylococcus epidermidis* », in *Staphylococcus Epidermidis*, vol. 1106, P. D. Fey, Éd. Totowa, NJ: Humana Press, 2014, p. 93-100.
- [118] R. Wang *et al.*, « Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA », *Nature Medicine*, vol. 13, n° 12, p. 1510-1514, déc. 2007.
- [119] K. Y. Le et M. Otto, « Quorum-sensing regulation in staphylococci—an overview », *Front. Microbiol.*, vol. 6, oct. 2015.
- [120] G. Y. C. Cheung, A. C. Duong, et M. Otto, « Direct and synergistic hemolysis caused by *Staphylococcus* phenol-soluble modulins: implications for diagnosis and pathogenesis », *Microbes and Infection*, vol. 14, n° 4, p. 380-386, avr. 2012.
- [121] G. C. Griffith et D. C. Levinson, « SUBACUTE BACTERIAL ENDOCARDITIS—A Report on 57 Patients Treated with Massive Doses of Penicillin », *Calif Med*, vol. 71, n° 6, p. 403-408, déc. 1949.
- [122] W. M. M. Kirby, « Extraction of a Highly Potent Penicillin Inactivator from Penicillin Resistant *Staphylococci* », *Science*, vol. 99, n° 2579, p. 452-453, juin 1944.
- [123] H. Drugeon, « Bêta-lactamines et staphylocoques. », in *Antibiogramme*, 2^e éd., 2006, p. 117-124.

- [124] J. E. Olsen, H. Christensen, et F. M. Aarestrup, « Diversity and evolution of bla_Z from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci », *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 57, n° 3, p. 450-460, mars 2006.
- [125] C. J. Hackbarth et H. F. Chambers, « bla_I and bla_{R1} regulate beta-lactamase and PBP 2a production in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 37, n° 5, p. 1144-1149, mai 1993.
- [126] « Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec): Guidelines for Reporting Novel SCCmec Elements », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 53, n° 12, p. 4961-4967, déc. 2009.
- [127] O. Dumitrescu, O. Dauwalder, S. Boisset, M.-É. Reverdy, A. Tristan, et F. Vandenesch, « Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus* - Les points-clés en 2010 », *Med Sci (Paris)*, vol. 26, n° 11, p. 943-949, nov. 2010.
- [128] V. C. Salgueiro, N. L. P. Iorio, M. C. Ferreira, R. C. Chamon, et K. R. N. dos Santos, « Methicillin resistance and virulence genes in invasive and nasal *Staphylococcus epidermidis* isolates from neonates », *BMC Microbiol*, vol. 17, janv. 2017.
- [129] A. Deplano, S. Vandendriessche, C. Nonhoff, M. Dodémont, S. Roisin, et O. Denis, « National surveillance of *Staphylococcus epidermidis* recovered from bloodstream infections in Belgian hospitals », *J Antimicrob Chemother*, vol. 71, n° 7, p. 1815-1819, juill. 2016.
- [130] R. Bismuth, « Aminosides et bactéries à GRAM positif », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 205-225.
- [131] P. Courvalin et J. Davies, « Plasmid-Mediated Aminoglycoside Phosphotransferase of Broad Substrate Range That Phosphorylates Amikacin », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 11, n° 4, p. 619-624, avr. 1977.
- [132] F. Le Goffic, B. Baca, C. J. Soussy, A. Dublanquet, et J. Duval, « [ANT(4')]: a new aminoglycoside nucleotidyltransferase found in "*staphylococcus aureus*" (author's transl) », *Ann. Microbiol. (Paris)*, vol. 127, n° 3, p. 391-399, avr. 1976.
- [133] J. J. Ferretti, K. S. Gilmore, et P. Courvalin, « Nucleotide sequence analysis of the gene specifying the bifunctional 6'-aminoglycoside acetyltransferase 2"-aminoglycoside phosphotransferase enzyme in *Streptococcus faecalis* and identification and cloning of gene regions specifying the two activities. », *J Bacteriol*, vol. 167, n° 2, p. 631-638, août 1986.
- [134] R. Leclercq, « Macrolides-Lincosamides-Streptogramines », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 299-323.
- [135] A. B. Khodursky et N. R. Cozzarelli, « The Mechanism of Inhibition of Topoisomerase IV by Quinolone Antibacterials », *J. Biol. Chem.*, vol. 273, n° 42, p. 27668-27677, oct. 1998.
- [136] E. Varon, « Quinolones et bactéries à GRAM positif », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 247-262.
- [137] K. Hiramatsu, « Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* : a new model of antibiotic resistance », *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 1, n° 3, p. 147-155, oct. 2001.
- [138] R. Leclercq, « Glycopeptides et Staphylocoques », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 279-288.
- [139] R. Hope, D. M. Livermore, G. Brick, M. Lillie, R. Reynolds, et on behalf of the BSAC Working Parties on Resistance Surveillance, « Non-susceptibility trends among staphylococci from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06 », *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 62, n° Supplement 2, p. ii65-ii74, nov. 2008.
- [140] F. Trueba *et al.*, « High Prevalence of Teicoplanin Resistance among *Staphylococcus epidermidis* Strains in a 5-Year Retrospective Study », *J Clin Microbiol*, vol. 44, n° 5, p. 1922-1923, mai 2006.
- [141] N. C. Clark, L. M. Weigel, J. B. Patel, et F. C. Tenover, « Comparison of Tn1546-Like Elements in Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from Michigan and Pennsylvania », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 49, n° 1, p. 470-472, janv. 2005.

- [142] S. Tsiodras *et al.*, « Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus* », *The Lancet*, vol. 358, n° 9277, p. 207-208, juill. 2001.
- [143] R. E. Mendes, L. M. Deshpande, et R. N. Jones, « Linezolid update: Stable in vitro activity following more than a decade of clinical use and summary of associated resistance mechanisms », *Drug Resistance Updates*, vol. 17, n° 1-2, p. 1-12, avr. 2014.
- [144] D. J. Biedenbach, D. J. Farrell, R. E. Mendes, J. E. Ross, et R. N. Jones, « Stability of linezolid activity in an era of mobile oxazolidinone resistance determinants: results from the 2009 Zyvox® Annual Appraisal of Potency and Spectrum program », *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 68, n° 4, p. 459-467, déc. 2010.
- [145] L. Friedman, J. D. Alder, et J. A. Silverman, « Genetic Changes That Correlate with Reduced Susceptibility to Daptomycin in *Staphylococcus aureus* », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 50, n° 6, p. 2137-2145, juin 2006.
- [146] H. S. Sader et R. N. Jones, « Antimicrobial activity of daptomycin in comparison to glycopeptides and other antimicrobials when tested against numerous species of coagulase-negative *Staphylococcus* », *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 73, n° 2, p. 212-214, juin 2012.
- [147] E. A. Campbell *et al.*, « Structural Mechanism for Rifampicin Inhibition of Bacterial RNA Polymerase », *Cell*, vol. 104, n° 6, p. 901-912, mars 2001.
- [148] F. W. Goldstein, « Sulfamides et Triméthoprime », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 341-348.
- [149] C. Poyart, « tétracyclines », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 325-333.
- [150] T. L. Smith et W. R. Jarvis, « Antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* », *Microbes and Infection*, vol. 1, n° 10, p. 795-805, août 1999.
- [151] M. E. Falagas, S. Maraki, D. E. Karageorgopoulos, A. C. Kastoris, A. Kapaskelis, et G. Samonis, « Antimicrobial susceptibility of Gram-positive non-urinary isolates to fosfomycin », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 35, n° 5, p. 497-499, mai 2010.
- [152] V. Cattoir, « Chloramphenicol, fosfomycine, acide fusidique et polymyxines », in *Antibiogramme*, 2 ème., p. 349-365.
- [153] M. Kresken, D. Hafner, F.-J. Schmitz, et T. A. Wichelhaus, « Prevalence of mupirocin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*: results of the Antimicrobial Resistance Surveillance Study of the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy, 2001 », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 23, n° 6, p. 577-581, juin 2004.
- [154] F. Jehl, « Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandation 2019 V.1.0 Janvier ». janv-2019.
- [155] M. Hombach, C. Weissert, M. M. Senn, et R. Zbinden, « Comparison of phenotypic methods for the detection of penicillinase in *Staphylococcus aureus* and proposal of a practical diagnostic approach », *J. Antimicrob. Chemother.*, p. dkw521, janv. 2017.
- [156] A. M. Ferreira, K. B. Martins, V. R. da Silva, A. L. Mondelli, et M. de L. R. de S. da Cunha, « Correlation of phenotypic tests with the presence of the blaZ gene for detection of beta-lactamase », *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 48, n° 1, p. 159-166, janv. 2017.
- [157] L. E. Papanicolas, J. M. Bell, et I. Bastian, « Performance of Phenotypic Tests for Detection of Penicillinase in *Staphylococcus aureus* Isolates from Australia », *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 52, n° 4, p. 1136-1138, avr. 2014.
- [158] M. Kaase *et al.*, « Comparison of phenotypic methods for penicillinase detection in *Staphylococcus aureus* », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 14, n° 6, p. 614-616, juin 2008.

- [159] V. J. Gill, C. B. Manning, et C. M. Ingalls, « Correlation of Penicillin Minimum Inhibitory Concentrations and Penicillin Zone Edge Appearance with Staphylococcal Beta-Lactamase Production », *J. CLIN. MICROBIOL.*, p. 4.
- [160] M. Haveri, S. Suominen, L. Rantala, T. Honkanen-Buzalski, et S. Pyörälä, « Comparison of phenotypic and genotypic detection of penicillin G resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infection », *Veterinary Microbiology*, vol. 106, n° 1-2, p. 97-102, mars 2005.
- [161] S. S. Richter *et al.*, « Detection and Prevalence of Penicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* in the United States in 2013 », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 54, n° 3, p. 812-814, mars 2016.

Table des illustrations

Figure 1 : Classification clinique et épidémiologique des staphylocoques [10].....	16
Figure 2 : développement du biofilm chez <i>S. epidermidis</i> [13]	23
Figure 3 : Synthèse de pénicillinase lors de l'adjonction de pénicilline.....	27
Figure 4 : Aspect de contour flou (a) et de contour net (b) sur un antibiogramme par diffusion de staphylocoque.....	35
Figure 5 : Dispersion des diamètres de diffusion en fonction de la présence du gène <i>blaZ</i> ..	39
Figure 6 : Répartition des souches par valeur de CMI Vitek 2 et présence du gène <i>blaZ</i>	42
Figure 7 : Approche diagnostique possible en méthode en diffusion pour déterminer la sensibilité à la pénicilline G de <i>S. epidermidis</i>	48
Figure 8 : Approche diagnostique possible en méthode en microdilution pour déterminer la sensibilité à la pénicilline G de <i>S. epidermidis</i>	48

Table des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des amorces/sondes utilisées pour l'amplification du gène <i>blaZ</i> pour <i>Staphylococcus epidermidis</i>	36
Tableau 2 : Conditions pour la PCR du gène <i>blaZ</i>	36
Tableau 3 : Répartition de la sensibilité des souches initialement choisies en fonction de la présence du gène <i>blaZ</i>	38
Tableau 4 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène <i>blaZ</i> par la méthode du diamètre en diffusion	39
Tableau 5 : Sensibilité, spécificité, VPP, VPN pour la détection de la présence du gène <i>blaZ</i> par la méthode du disque de nitrocéfine	40

Détection de la pénicillinase du *Staphylococcus epidermidis* : comparaison de méthodes phénotypiques

RÉSUMÉ

Plus de 90% des souches cliniques de *Staphylococcus epidermidis* possèdent une pénicillinase codée par le gène *blaZ*. Dans un but de désescalade de l'antibiothérapie, les souches de *S. epidermidis* dépourvues du gène *blaZ* devraient pouvoir bénéficier d'une antibiothérapie ciblée. Cependant, le test de la sensibilité des CoNS à la pénicilline G n'est plus recommandé en Europe, que ce soit par l'EUCAST ou le CA-SFM. L'objectif de ce travail a été de déterminer une méthode phénotypique sensible et spécifique pour détecter la production de pénicillinase par *S. epidermidis*. Quatre techniques (diamètre d'inhibition par diffusion en milieu gélosé, aspect de la bordure de la zone d'inhibition, céfinase, détermination des CMI en microdilution) ont été évaluées par rapport à la recherche du gène *blaZ* considérée comme méthode de référence. Les performances de chacune de ces techniques ont été calculées par rapport à cette méthode de référence. Les techniques caractérisées par les meilleures sensibilités, spécificités, valeurs prédictives négatives et valeurs prédictives positives étaient la technique de diffusion en milieu gélosé et la détermination des CMI en microdilution. Deux arbres de diagnostic de la résistance à la pénicilline G ont ainsi pu être construits, en fonction de la disponibilité ou non de chacune de ces deux techniques.

mots-clés : *Staphylococcus epidermidis* – pénicillinases - comparaison phénotypique – *blaZ*

Detection of penicillinase in *Staphylococcus epidermidis*: comparison of phenotypic methods

ABSTRACT

More than 90% of clinical strains of *Staphylococcus epidermidis* produce a penicillinase encoded by the *blaZ* gene. In order to de-escalate antimicrobial therapy, strains of *S. epidermidis* lacking the *blaZ* gene should be eligible for targeted antimicrobial therapy. However, testing the susceptibility of CoNS to penicillin G is no longer recommended in Europe, either by EUCAST or CA-SFM. The objective of this work was to determine a phenotypic method with high performance for detecting penicillinase production by *S. epidermidis*. Four techniques (disk diffusion, zone edge test, nitrocefin, MICs in microdilution) were evaluated in comparison with the identification of the *blaZ* gene considered as the gold standard. The performance of each of these techniques has been calculated by comparison with this reference method. The techniques characterized by the best sensitivities, specificities, negative predictive values and positive predictive values were the disk diffusion method and the determination of MICs. According to our results, and depending on the availability of these two techniques or not, two decision trees have been developed for identifying resistance to penicillin G.