

THÈSE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

École Doctorale Pierre Louis de Santé Publique
ED 393 Épidémiologie et Sciences de l'Information Biomédicale

Spécialité
Épidémiologie

Présentée par
Clotilde COUDERC

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse
**Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale
par *Staphylococcus aureus***

Thèse dirigée par M. Didier GUILLEMOT

Soutenue publiquement le 1^{er} décembre 2015

Devant le jury composé de :

M. Didier GUILLEMOT, Université de Versailles Saint-Quentin	Directeur de thèse
M. Stephan HARBARTH, Hôpitaux Universitaires de Genève	Rapporteur
M. Dominique MONNET, European Centre for Disease Prevention and Control	Rapporteur
Mme. Michèle BES, Centre National de Référence des Staphylocoques	Examineur
M. Jean-Christophe LUCET, Université Paris Diderot	Examineur
M. Jérôme ROBERT, Université Pierre et Marie Curie	Examineur

Thèse préparée dans le cadre du Réseau doctoral en santé publique animé par l'EHESP
Laboratoire d'accueil : UMR 1181 Biostatistiques, Biomathématiques, Pharmacoépidémiologie et Maladies
Infectieuses (B2PHI), Institut Pasteur - Inserm - Université de Versailles Saint-Quentin

Remerciements

Merci en premier lieu à mon directeur de thèse, Didier Guillemot, pour m'avoir accueillie dans son unité de recherche et donné l'opportunité d'y réaliser ma thèse. Cette expérience fut enrichissante à de nombreux égards et je lui suis très reconnaissante de m'avoir fait confiance pour travailler sur ce projet de recherche.

Merci à tous les membres du jury : Dominique Monnet et Stephan Harbarth de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être mes rapporteurs, et Michèle Bes, Jean-Christophe Lucet et Jérôme Robert de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être mes examinateurs.

Merci à Anne Thiébaud sans qui cette thèse n'aurait pas été la même. Tu es pour moi un modèle de rigueur, de persévérance et de bienveillance et je te remercie sincèrement pour ton soutien quotidien et tes précieux conseils.

Merci à Sarah Jolivet, travailler à ses côtés lors de son stage a été aussi enrichissant qu'agréable. Je lui souhaite à mon tour le meilleur pour sa thèse.

Merci à Laurence Watier pour son aide méthodologique, son amitié et sa bonne humeur. Son franc-parler n'a d'égal que sa gentillesse.

Merci aux professionnels de santé et aux investigateurs qui ont contribué au projet ASAR. Je tiens particulièrement à remercier le Pr Jean-Louis Herrmann et toute l'équipe du service de microbiologie de l'hôpital Raymond Poincaré pour leur collaboration.

Merci à tous les membres du B2PHI : Bich-Tram, Lulla, Bénédicte, Fanny, Thomas, Lénaig, Elisabeth, Anne F, Ismaël et Anna pour ne citer qu'eux. Quel bonheur de se réveiller tous les matins en se réjouissant de retrouver ses collègues ! Les quizz au Bréguet, les « PhEMI shake » et autres gâteaux au chocolat partagés à la pause-café me manquent déjà. Je tiens particulièrement à remercier Marga et Matthieu qui ont su montrer la voie à un T-Rex qui faisait ses premiers pas en thèse. Merci également à Hélène, Malamine et Michael pour la bonne ambiance dans le bureau des thésards. Je n'oublie pas Annick, merci pour toutes nos discussions et nos fous rires.

Merci à la promotion gamma du mastère spécialisé Pasteur-Cnam pour cette année exceptionnelle. Je remercie Charlotte et Camille pour m'avoir donné l'envie de migrer plus au sud. Merci également à mes acolytes Laura, Adeline et Violeta pour nos déjeuners pasteurien à papoter de tout et de rien. Adeline, quelle joie de te compter à présent parmi mes collègues.

Merci à Arnaud Fontanet de m'avoir permis de découvrir le monde de la santé publique. Travailler sur le projet grippe sans savoir ce qu'est une analyse cas-témoins restera un baptême du feu à jamais gravé dans ma mémoire.

Merci aux voisins du troisième étage. Je tiens particulièrement à remercier Juliette pour son enthousiasme à toute épreuve, ses encouragements et son amitié. Je lui souhaite ainsi qu'à Jordi beaucoup de bonheur et de réussite pour la suite.

Merci à mes deux piliers, Elisa et Claire. Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien inébranlable pendant ces trois années, vous avez toujours été fidèles au poste pour partager les moments de joie comme de doute. Elisa, je te remercie particulièrement pour tes relectures attentives, ton œil de lynx aura su déceler toutes les coquilles et les tournures finalistes.

Merci à Baptiste pour ses appels du lundi, ainsi que pour tous nos week-ends où le ski, les randonnées ou encore l'escalade m'ont permis de m'évader.

Merci aux minettes, Imen, Anna et Audrey. Que de discussions à comparer nos déboires de thèse à Londres, LLS ou Hergla ! Le moment où nous trinquerons ensemble à notre doctorat approche.

Merci à Angèle et Elise, nos folles soirées parisiennes ont été le meilleur remède lorsque la morosité commençait à pointer le bout de son nez. Merci pour votre bonne humeur et votre présence.

Merci à mes « desperate housewives » Pauline, Anne-Laure et Sophie. Si le staphylocoque doré reste encore un sujet obscur pour vous aujourd'hui, je vous remercie pour votre oreille toujours attentive pendant ces trois années de thèse.

Merci à Gus et Alex pour nos soirées coinche chez Halim. Malgré nos incompatibilités musicales, je vous remercie pour les discussions sur nos mésaventures de thèse en éclusant des bières.

Merci à tous les autres qui ont suivi de près ou de loin cette aventure : Marie-B, Nico, Lise, Sébastien, petit Paul, Angélique, Julie, Claire, Guillaume, Cédric, Sylvie, Hélène, Charlie, ainsi que mes matheux préférés Thomas, Vincent, Florent et Antonin. Si je n'ai jamais rien intégré à vos équations, j'espère que vous aurez compris aujourd'hui que je ne travaille pas sur un modèle murin.

Merci enfin à ma famille pour leur amour et leur indéfectible soutien. Merci à Hugo pour son sourire et à Stéphanie pour sa gentillesse. Merci à mon frère d'avoir été présent, depuis toujours, et d'avoir été un véritable exemple pour moi. Merci à mes parents, je souhaiterais aujourd'hui

leur exprimer toute ma gratitude. Vous avez toujours cru en moi et m'avez laissée libre de mes choix. Je ne vous remercierai jamais assez pour cela.

Résumé

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale de l'Homme au niveau de la peau et des muqueuses, et dont la niche principale de colonisation est la fosse nasale. Le portage asymptomatique est une étape déterminante du processus de diffusion de cette bactérie et a également été décrit comme facteur de risque notable d'infection subséquente. De plus, la dissémination des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) est un problème dans les établissements de soins et occasionne une augmentation des taux de morbidité et de mortalité, ainsi que des coûts associés aux soins.

L'objectif de cette thèse était d'étudier l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *S. aureus*, en particulier l'impact de l'utilisation des antibiotiques sur l'acquisition et la persistance de SARM ou de *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM). Ce travail s'est appuyé sur les données issues d'une cohorte prospective multicentrique incluant des patients hospitalisés dans des centres de médecine physique et réadaptation et non colonisés par *S. aureus* à l'admission.

Dans une première partie, les facteurs de risque d'acquisition de SARM et de SASM ont été examinés à l'aide d'une analyse cas-cas-témoins nichée. L'utilisation de fluoroquinolones, le sexe masculin et une plus grande intensité des soins à l'admission étaient significativement associés à l'acquisition de SARM, tandis que l'aide à la toilette et l'utilisation d'un dispositif urinaire étaient significativement associées à l'acquisition de SASM. Ces résultats suggèrent que l'utilisation de fluoroquinolones pourrait spécifiquement favoriser l'acquisition de SARM et confirment l'importance de la transmission interindividuelle comme déterminant de la diffusion de *S. aureus* quel que soit le phénotype de résistance.

Dans une deuxième partie, les facteurs pouvant influencer la perte de colonisation ont été examinés à l'aide de modèles de Cox à fragilité partagée et les durées de colonisation par SARM et par SASM ont été estimées par la méthode de Kaplan-Meier. L'utilisation de fluoroquinolones et la présence de plaie(s) positive(s) pour une souche différente de celle du nez étaient significativement associées à la décolonisation de SASM, mais pas de SARM. De plus, le phénotype de résistance à la méticilline n'était pas associé à la durée de colonisation par *S. aureus*, les durées médianes estimées de colonisation par SARM et par SASM étant respectivement de trois et deux semaines. Ces résultats suggèrent que le coût biologique de la résistance à la méticilline pourrait être limité en population.

Ce travail de thèse offre un nouvel éclairage sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *S. aureus*, en discriminant les facteurs relatifs à la forme résistante et à la forme sensible de la bactérie. En particulier, ces résultats montrent un impact différentiel des fluoroquinolones sur l'acquisition et la persistance de SARM ou de SASM, pouvant avoir d'importantes implications pour les politiques de contrôle des infections et les soins des patients.

Mots-clés : *S. aureus* ; SARM ; SASM ; fluoroquinolone ; résistance bactérienne ; colonisation ; analyse cas-cas-témoins ; décolonisation ; modèle de Cox à fragilité partagée ; centre de médecine physique et réadaptation.

Abstract

Staphylococcus aureus is a commensal bacterium colonizing the human skin and mucous membranes, especially the anterior nares. Asymptomatic carriage is a crucial step in the bacterial dissemination process and has also been described as a significant risk factor for subsequent infection. Moreover, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) spread is a problem in healthcare settings and leads to higher morbidity and mortality rates, as well as higher hospital costs.

The objective of this research work was to study the natural history of nasal *S. aureus* colonization, particularly the impact of antibiotic use on MRSA or methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) acquisition and persistence. This work was based on data provided by a prospective multicenter cohort including patients hospitalized in long-term-care facilities and not colonized with *S. aureus* at admission.

In a first part, risk factors for MRSA or MSSA acquisition were investigated using a nested case-case-control analysis. Fluoroquinolone use, male sex and more intensive care at admission were significantly associated with MRSA acquisition, while body-washing assistance and use of a urination device were significantly associated with MSSA acquisition. These results suggest that fluoroquinolone use may favor specifically MRSA acquisition and confirm the importance of cross-transmission as a determinant of *S. aureus* spread regardless of resistance phenotype.

In a second part, factors influencing the time to loss of colonization were investigated using shared-frailty Cox models and MRSA or MSSA colonization durations were estimated using the Kaplan-Meier method. Fluoroquinolone use and the presence of wound(s) positive for a non-nasal strain were significantly associated with MSSA decolonization, but not with MRSA decolonization. Furthermore, the methicillin resistance phenotype was not associated with *S. aureus* colonization duration, and estimated median time to MRSA or MSSA decolonization was three or two weeks respectively. These results suggest that the biological cost associated with methicillin-resistance might be limited in the human population.

This work provides new insights into the natural history of nasal *S. aureus* colonization, discriminating factors for the methicillin-resistant or -sensitive phenotypes of the bacteria. In particular, these results strongly suggest a distinct impact of fluoroquinolones on MRSA or MSSA acquisition and persistence, which may have important implications for infection control policies and patient care.

Keywords: *S. aureus*; MRSA; MSSA; fluoroquinolone; bacterial resistance; colonization; case-case-control analysis; decolonization; shared-frailty Cox model; long-term-care facility.

Liste des publications

Articles

Couderc C, Jolivet S, Thiébaud ACM, Ligier C, Remy L, Alvarez AS, Lawrence C, Salomon J, Herrmann JL, Guillemot D, Antibiotic use and *Staphylococcus aureus* resistant to antibiotics (ASAR) study group. Fluoroquinolone use is a risk factor for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term-care facilities: a nested case-case-control study. Clin Infect Dis, 2014; 59(2): 206–15 (**article I**).

Couderc C, Thiébaud ACM, Lawrence C, Bouchiat C, Herrmann JL, Salomon J, Guillemot D, Antibiotic use *Staphylococcus aureus* resistant to antibiotics (ASAR) study group. Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization durations in neurologic long-term-care facilities. Antimicrob Agents Chemother, 2015; 59(12): 7621–8 (**article II**).

Communication orale

Couderc C, Jolivet S, Thiébaud A, Guillemot D, Herrmann JL, Salomon J. Fluoroquinolone use and risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a case-case-control control study. 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 10-13 September 2013, Denver, Colorado, USA.

Communications affichées

Couderc C, Jolivet S, Thiébaud A, Ligier C, Remy L, Alvarez AS, Lawrence C, Salomon S, Herrmann JL, Guillemot D. Consommation de fluoroquinolones et risque d'acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en service de Médecine Physique et Réadaptation : une étude cas-cas-témoins nichée. 3^{ème} Sympostaph, 20-21 octobre 2014, Lyon, France.

Dans le cadre de l'ED 393 (UPMC) et du Réseau doctoral de santé publique (EHESP) :

Couderc C, Jolivet S, Thiébaud A, Salomon J, Herrmann JL, Guillemot D. Influence of fluoroquinolone use on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities. Rencontres scientifiques du Réseau doctoral en santé publique. 15-17 avril 2013, Paris, France.

Couderc C, Jolivet S, Thiébaud A, Ligier C, Lawrence C, Salomon, J, Herrmann JL, Guillemot D. Fluoroquinolones et risque d'acquisition de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

(SARM) en milieu hospitalier : une analyse cas-cas-témoins. Journées de l'ED Pierre Louis de Santé Publique. 21-23 octobre 2013, Saint-Malo, France.

Couderc C, Thiébaud A, Herrmann JL, Salomon J, Guillemot D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* decolonization in long-term-care facilities: preliminary results. Rencontres scientifiques du Réseau doctoral en santé publique. 8-10 avril 2014, Paris, France.

Table des matières

Remerciements	3
Résumé	6
Abstract	7
Liste des publications	8
Liste des figures	12
Liste des tableaux	13
Liste des abréviations	14
Chapitre 1. Introduction	15
1.1 Problématique	15
1.2 Objectifs du travail de recherche	16
1.3 Présentation de la cohorte ASAR (Antibiotiques et <i>Staphylococcus aureus</i> Résistants) ..	17
Chapitre 2. État de l'art	19
2.1 Épidémiologie de <i>S. aureus</i>	19
2.1.1 Généralités	19
2.1.2 De la colonisation à l'infection	19
2.1.3 Pathologies associées	20
2.1.4 Prévalence de <i>S. aureus</i>	21
2.1.5 Caractérisation microbiologique des clones	23
2.2 Résistance de <i>S. aureus</i> aux antibiotiques	24
2.2.1 Modes d'action des antibiotiques	24
2.2.2 Consommation d'antibiotiques en France et en Europe	25
2.2.3 Profil général de résistance de <i>S. aureus</i>	26
2.2.4 Émergence et sélection de la résistance	29
2.2.5 Coût biologique associé à la résistance	31
2.2.6 Coûts cliniques et économiques des SARM	32
2.3 Facteurs d'acquisition et de persistance de <i>S. aureus</i>	32
2.3.1 Facteurs de colonisation par <i>S. aureus</i>	33
2.3.2 Estimation des durées de colonisation par SARM	40
2.3.3 Facteurs influençant la perte de colonisation	44
Chapitre 3. Facteurs de risque d'acquisition de <i>S. aureus</i>	47
3.1 Contexte méthodologique	47
3.1.1 Principe de l'analyse cas-cas-témoins	47
3.1.2 Critères d'appariement	49
3.2 Résumé de l'article I	50
3.3 Article I : Fluoroquinolone use is a risk factor for methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> acquisition in long-term care facilities: a nested case-case-control study	51
3.4 Données supplémentaires de l'article I	64
Chapitre 4. Durée de colonisation et facteurs influençant la perte de colonisation	67
4.1 Contexte méthodologique : analyse d'événements récurrents	67

4.1.1 Le modèle de Cox à risques proportionnels	68
4.1.2 Le modèle de Cox à fragilité partagée.....	69
4.1.3 Échelles de temps	70
4.2 Résumé de l'article II.....	72
4.3 Article II : Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i> colonization durations in neurologic long-term-care facilities	73
4.4 Données supplémentaires de l'article II.....	88
Chapitre 5. Conclusion	99
5.1 Synthèse des travaux.....	99
5.2 Perspectives de recherche	100
Bibliographie.....	103
Annexe A. Article I.....	121
Annexe B. Article II	132

Liste des figures

Figure 1. Taux de colonisation nasale rapportés au cours du temps	22
Figure 2. Proportion des souches de SARM parmi les souches invasives de <i>S. aureus</i> isolées dans les pays participants au réseau européen EARS-Net de surveillance de la résistance antibactérienne en 2013	23
Figure 3. Processus de diffusion de <i>S. aureus</i>	33
Figure 4. Incidence des SARM isolés à partir de prélèvements à visée diagnostique et consommation de fluoroquinolones dans 660 établissements de soins français	37
Figure 5. Principe de l'analyse cas-cas-témoins dans le cadre de l'étude de la colonisation par <i>S. aureus</i>	48
Figure 6. Appariement des cas et des témoins	50
Figure 7. Flowchart of the study population and case-case-control matching	56
Figure 8. Diversity of <i>spa</i> types at acquisition for methicillin-resistant <i>S. aureus</i> (MRSA) and methicillin-sensitive <i>S. aureus</i> (MSSA)	58
Figure 9. Échelle de temps par intervalles et échelle de temps calendaire	71
Figure 10. Flowchart of the study population	77
Figure 11. Estimated Kaplan-Meier curves of MRSA or MSSA colonization duration	80
Figure 12. Nasal swab results for every <i>Staphylococcus aureus</i> -colonized patient during follow-up	88

Liste des tableaux

Tableau 1. Toxines impliquées dans la virulence de <i>S. aureus</i>	21
Tableau 2. Pourcentage de résistance de <i>S. aureus</i> aux principaux antibiotiques d'après les données du réseau REUSSIR-France en 2010	27
Tableau 3. Principales publications mettant en évidence une association entre la consommation de fluoroquinolones et la colonisation et/ou l'infection par SARM	38
Tableau 4. Principaux travaux estimant la durée de colonisation par SARM	42
Tableau 5. Univariate analyses of MRSA and MSSA cases vs controls	59
Tableau 6. Multivariable analyses of MRSA and MSSA cases vs controls	61
Tableau 7. Pre-included patients colonized with <i>S. aureus</i> at admission	64
Tableau 8. Missing data for MRSA and MSSA case-control analyses.....	65
Tableau 9. Results of multivariable sensitivity analyses	66
Tableau 10. Characteristics of the 149 patients colonized with <i>Staphylococcus aureus</i>	79
Tableau 11. <i>spa</i> type distribution according to methicillin resistance phenotype	80
Tableau 12. Univariate shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or <i>S. aureus</i> colonization.....	82
Tableau 13. Multivariable shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or <i>S. aureus</i> colonization.....	84
Tableau 14. Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or <i>S. aureus</i> colonization considering only the first colonization episode per patient	93
Tableau 15. Shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or <i>S. aureus</i> colonization using survival times recorded as calendar dates.....	95
Tableau 16. Shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or <i>S. aureus</i> colonization	97

Liste des abréviations

ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
ASAR	Antibiotiques et <i>S. aureus</i> Résistants
ATC	Anatomique thérapeutique chimique
CC	Clonal complex
CI	Confidence interval
DDJ	Dose définie journalière
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
ESAC	European Surveillance of Antimicrobial Consumption
FnBP	Fibronectin binding protein
GISA	Glycopeptide-intermediate <i>S. aureus</i>
HR	Hazard ratio
ICU	Intensive care unit
IC _{95%}	Intervalle de confiance à 95%
LTCF	Long-term-care facility
MLST	Multilocus sequence typing
MPR	Médecine physique et réadaptation
MRSA	Methicillin-resistant <i>S. aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensitive <i>S. aureus</i>
OR	Odds ratio
PCR	Polymerase chain reaction
PLP	Protéine de liaison des pénicillines
SARM	<i>S. aureus</i> résistant à la méticilline
SASM	<i>S. aureus</i> sensible à la méticilline
SLD	Soins de longue durée
SNP	Single nucleotide polymorphism
ST	Sequence type
UFC	Unité formant une colonie
VISA	Vancomycin-intermediate <i>S. aureus</i>

Chapitre 1. Introduction

Ce premier chapitre présente la problématique de ce mémoire, les objectifs des travaux réalisés, ainsi que la cohorte ASAR sur laquelle s'est appuyée cette thèse.

1.1 Problématique

Staphylococcus aureus est une bactérie d'intérêt majeur en raison de sa capacité à causer un large éventail d'infections et de son aptitude à s'adapter à différentes conditions environnementales [1, 2]. Elle présente de nombreuses résistances vis-à-vis des antibiotiques. Les souches résistantes à la méticilline sont notamment responsables d'infections nosocomiales et engendrent une augmentation des coûts associés aux soins [3].

Les premières souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline (résistance induite par la production d'une pénicillinase) ont été identifiées quelques années après l'introduction de la pénicilline en thérapeutique humaine [4, 5] puis ont rapidement diffusé en communauté. A la fin des années 1960, environ 80% des souches de *S. aureus* étaient résistantes à la pénicilline [6]. A l'heure actuelle, plus de 90% des souches de *S. aureus* produisent une pénicillinase.

La méticilline, première pénicilline semi synthétique non sensible aux pénicillinases, a été commercialisée en 1961. Au cours de la même année, la première souche résistante à cet antibiotique a été isolée en Angleterre [7]. Pendant près de 30 ans, les infections à *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) ont été quasiment exclusivement restreintes aux établissements de soins. A partir des années 1990, des épidémies d'infections à SARM ont été reportées chez des individus, notamment jeunes, ne présentant aucun lien avec des établissements de santé. Des épidémies ont également été décrites dans des prisons, des équipes sportives ou dans l'armée [8]. Bien que la diffusion des souches de SARM communautaires soit mondiale, la prévalence est hétérogène. Aux États-Unis, les SARM communautaires constituent une cause importante d'infections de la peau et des tissus mous [9]. Environ 30% des souches de SARM isolées de patients hospitalisés aux États-Unis sont des SARM communautaires, proportion pouvant atteindre 60% parmi les souches cutanées traitées en urgence [10, 11]. En Europe, la prévalence des SARM communautaires, bien que les estimations varient d'un pays à l'autre, est encore relativement faible [12, 13]. Si des épidémies communautaires ont été rapportées en Europe, la situation est plus préoccupante aux États-Unis où certains clones de SARM communautaires sont localement endémiques. C'est le cas du groupe clonal USA300 dans 38 états américains [14].

La résistance à la méticilline ayant restreint le spectre des antibiotiques actifs contre *S. aureus*, le traitement le plus souvent utilisé à l'heure actuelle pour traiter les infections à SARM repose sur les glycopeptides, en particulier la vancomycine. Cette dernière est utilisée depuis 1956 et la première souche de SARM de sensibilité diminuée à la vancomycine a été décrite au Japon en

1996 [15]. Depuis, des cas ont été documentés aux États-Unis, en Amérique du Sud, en Chine, en Australie et en Europe. Ces souches sont dénommées VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*), ou plus généralement GISA (glycopeptide-intermediate *S. aureus*) car elles sont également résistantes à la téicoplanine, un autre antibiotique de la famille des glycopeptides. En 2002, la première souche de *S. aureus* résistante à la vancomycine a été isolée aux États-Unis [16]. Depuis, seulement quelques cas ont été décrits dans le monde [17].

S. aureus a acquis successivement des gènes de résistance aux antibiotiques. La prévalence de la résistance microbienne et la vitesse de diffusion à l'hôpital et en communauté diffèrent selon le type de résistance aux antibiotiques. En effet, les souches de *S. aureus* résistantes à la pénicilline et les souches de SARM ont diffusé à l'hôpital très rapidement après leur introduction. En revanche, si la quasi-totalité des souches de *S. aureus* communautaires est résistante à la pénicilline, il semble que la résistance à la méticilline ait une capacité moindre de diffusion dans la communauté. Enfin, les souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine sont isolées de manière épisodique. La pression de sélection exercée par l'utilisation des antibiotiques génère une pression sur *S. aureus* qui a développé différents mécanismes de résistance. Cependant, même si le moteur fondamental est similaire, comment expliquer la différence de diffusion de ces différentes souches dans la population humaine ?

L'Homme est un réservoir naturel de *S. aureus*, environ un tiers de la population est colonisé asymptomatiquement au niveau nasal [18]. Il s'agit d'une bactérie commensale de la peau et des muqueuses, et les individus colonisés constituent la source principale de la diffusion de cette bactérie. L'état de colonisation en représente la pierre angulaire et constitue la clé de la transmission interindividuelle et donc de la diffusion dans les populations humaines.

1.2 Objectifs du travail de recherche

Afin de contribuer à une meilleure compréhension des différentes forces impliquées dans le processus de dissémination de SARM, l'ambition de ce travail était d'étudier l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *S. aureus*, les fosses nasales antérieures constituant la niche principale de cette bactérie. Dans le but de comprendre plus particulièrement l'impact de l'exposition aux antibiotiques sur la colonisation, nous avons fait pour chacun de nos travaux la distinction entre les facteurs pouvant influencer sur SARM et sur SASM. Ce travail de thèse prend en compte deux facteurs importants de façon conjointe : la colonisation des individus par *S. aureus* qui constitue une étape essentielle de la transmission interindividuelle, et l'exposition aux antibiotiques susceptible de jouer un rôle discriminant dans la survie des souches résistantes comparativement aux souches sensibles.

Les deux étapes essentielles dans l'histoire naturelle de la colonisation par *S. aureus* sont l'acquisition et la persistance de la colonisation par la bactérie. L'usage des antibiotiques est susceptible d'avoir un impact à chacune de ces étapes, il nous a donc semblé pertinent de

travailler sur l'une et l'autre de façon distincte. Le premier objectif spécifique de ce travail de thèse était d'identifier les facteurs de risque d'acquisition de colonisation par SARM et par SASM. Le second était de déterminer la durée de colonisation par SARM et par SASM, et d'identifier les facteurs influençant la perte de colonisation en l'absence de traitement spécifique de décolonisation.

1.3 Présentation de la cohorte ASAR (Antibiotiques et *Staphylococcus aureus* Résistants)

Afin de répondre à ces deux objectifs, nous avons utilisé les données de l'étude ASAR. Il s'agit d'une cohorte prospective mise en place de janvier 2008 à octobre 2010 dans quatre centres français de médecine physique et réadaptation (MPR) : l'hôpital Raymond Poincaré à Garches (92), l'hôpital Maritime et le centre Jacques Calvé à Berck (62) et le centre Sainte Barbe à Fouquières-lès-Lens (62). Les patients étaient inclus s'ils étaient non porteurs de *S. aureus* à l'admission (prélèvements négatifs aux niveaux nasal et périnéal), âgés de plus de 18 ans, hospitalisés en service de MPR pour une atteinte neurologique, et si leur durée de séjour attendue était d'au moins deux mois. Ils étaient exclus en cas d'immunodépression avérée connue ou de refus. Chaque patient était suivi à une fréquence hebdomadaire, en particulier concernant le statut de colonisation nasale et la prise d'antibiotiques. Le protocole prévoyait au moins 13 semaines de suivi pour chaque patient, ou jusqu'à la sortie du service si celle-ci survenait avant.

L'étude de l'impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation par *S. aureus* nécessitait de se situer dans un contexte optimal associant une exposition importante aux antibiotiques, un risque relativement élevé d'acquisition de *S. aureus* et des possibilités de suivi de plusieurs semaines relativement aisé. C'est pour cela que cette investigation s'est déroulée au sein d'unités cliniques de MPR car les patients hospitalisés en rééducation suite à une atteinte neurologique sont souvent des sujets jeunes sans antécédent majeur qui ont généralement été hospitalisés en amont dans des unités de surveillance continue ou de réanimation. Les troubles neurologiques sont fréquemment à l'origine d'infections urinaires ou pulmonaires, ces patients sont de ce fait très souvent exposés aux antibiotiques. De plus, ils font l'objet de soins tels que des actes invasifs ou chirurgicaux (neurochirurgie, orthopédie) qui ont été décrits comme autant de facteurs favorisant l'acquisition de *S. aureus*.

Chapitre 2. État de l'art

Dans ce chapitre dédié à la présentation de l'état de l'art, nous présentons tout d'abord les caractéristiques épidémiologiques de *S. aureus*, les niveaux de consommation d'antibiotiques et les mécanismes de résistance de cette bactérie. La dernière partie de ce chapitre se consacre à la revue de littérature des facteurs d'acquisition et de persistance de *S. aureus*, ainsi qu'à l'estimation de la durée de colonisation.

2.1 Épidémiologie de *S. aureus*

2.1.1 Généralités

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques (coques) aérobie-anaérobie facultative à Gram positif, très résistantes dans le milieu extérieur et peu exigeantes en culture. *S. aureus*, communément appelé staphylocoque doré, est un staphylocoque à coagulase positive. Il a été nommé ainsi par Rosenbach en 1884 en raison de la production de caroténoïdes donnant à la bactérie sa pigmentation de surface caractéristique [19]. C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses dont la niche principale est la fosse nasale. La colonisation est définie comme le portage asymptomatique de la bactérie et concerne environ 30 à 50% de la population générale au niveau nasal [18]. D'autres sites peuvent également être colonisés par *S. aureus* tels que le pharynx, l'intestin, le périnée, la peau et les aisselles. Si l'Homme est le principal réservoir, ces bactéries sont également retrouvées dans l'environnement (eau, air, surfaces, aliments) et chez l'animal, notamment d'élevage.

2.1.2 De la colonisation à l'infection

Caractérisation du portage nasal

Dans la littérature, au moins trois profils de portage nasal sont classiquement distingués lors de suivis longitudinaux chez les individus sains : non-porteurs (environ 50%), porteurs intermittents (environ 30%) ou porteurs permanents (environ 20%) [18]. Les porteurs permanents seraient considérés comme généralement colonisés par la même souche alors que les porteurs intermittents pourraient l'être par différentes souches de manière alternée [20]. De plus, le nombre d'unités formant une colonie (UFC) de *S. aureus* (nombre estimé des bactéries dans un échantillon) serait plus élevé chez les porteurs permanents que chez les porteurs intermittents [21].

Il n'existe pas de consensus permettant de déterminer les différents types de portage de *S. aureus* [22]. Une règle empirique a été proposée afin de distinguer de manière optimale les porteurs permanents des porteurs intermittents ou des non-porteurs à partir de prélèvements nasaux [23]. Selon celle-ci, les résultats quantitatifs et qualitatifs de deux prélèvements nasaux obtenus à une semaine d'intervalle permettent de prédire un portage permanent (deux

prélèvements positifs), un portage intermittent (un prélèvement positif) ou l'absence de portage (aucun prélèvement positif) avec une valeur prédictive positive de 78% et une valeur prédictive négative de 96%. Une autre approche consiste à définir le type de colonisation selon le pourcentage de prélèvements positifs obtenus au cours du suivi des patients. Les porteurs sont intermittents si moins de 80% de leurs prélèvements sont positifs pour *S. aureus* et les non-porteurs sont définis si toutes les cultures sont négatives [24, 25]. Pour les patients ayant plus de 80% de prélèvements positifs, une distinction est faite entre portage permanent (où tous les prélèvements sont positifs pour la même souche) et portage cyclique (où les souches sont différentes). Récemment, une reclassification du portage nasal de *S. aureus* a été proposée par van Belkum *et al.*, à savoir une unique distinction entre les porteurs permanents et les autres (*i.e.* les porteurs intermittents et les non-porteurs) [26]. En effet, en plus d'être moins à risque d'infection que les porteurs permanents, les porteurs intermittents et les non-porteurs partagent les mêmes caractéristiques de cinétique d'élimination et de profils d'anticorps.

Facteur de risque d'infection

La colonisation par *S. aureus* a été décrite comme facteur de risque d'infection. Plusieurs arguments vont dans ce sens, à savoir que les patients colonisés sont généralement infectés par leur propre souche [27-29]. De plus, les porteurs de *S. aureus* présentent un taux d'infection plus élevé que les non-porteurs [27]. Les patients colonisés par SARM sont par ailleurs plus à risque de développer une infection que les patients colonisés par SASM ou non colonisés [30, 31]. Il a été observé qu'environ 20% des patients hospitalisés colonisés par SARM développaient une infection dans l'année [32]. La colonisation par SARM est également un facteur de risque de réhospitalisation [33].

2.1.3 Pathologies associées

Bien qu'étant commensal, *S. aureus* est également responsable d'un grand nombre d'infections chez l'Homme, notamment des infections cutanées (impétigos, folliculites, furoncles, panaris) et des infections des muqueuses (conjonctivites, otites, salpingites, endométrites, pneumonies) [1]. Ces infections peuvent mener à des bactériémies et faire l'objet de métastases septiques à l'origine de foyers infectieux profonds. Dans 10% des bactériémies, une endocardite survient comme complication [34]. La porte d'entrée principale de *S. aureus* est cutanée, comme peuvent l'être une plaie ou le point de pénétration d'un cathéter.

S. aureus possède de nombreux facteurs de virulence et de pathogénicité (facteurs d'adhésion, toxines, enzymes) et exerce son pouvoir pathogène par la libération d'une ou de plusieurs toxines. Parmi les toxines, les entérotoxines libérées par la bactérie sont responsables de toxi-infections alimentaires (**Tableau 1**). La production de la toxine à l'origine du syndrome de choc toxique staphylococcique est plus rare. Enfin, la leucocidine de Pantone-Valentine est une toxine qui crée des pores dans la membrane des cellules et est associée à des infections cutanées. Son rôle dans les maladies invasives n'est cependant pas encore clairement établi [35].

Tableau 1. Toxines impliquées dans la virulence de *S. aureus* (d'après [36])

Familles	Principales toxines	Mécanismes d'action ou syndromes toxiques spécifiques
Toxines superantigéniques	Toxine du choc toxique staphylococcique Entérotoxines A à E, G, I à U	Choc toxique staphylococcique par activation du système immunitaire et libération de cytokines de l'inflammation Réaction autoimmune (maladie de Kawasaki, dermatite atopique, psoriasis, arthrites rhumatismales) Intoxication alimentaire
Toxines formant des pores	Toxines à hélice alpha Alpha-hémolysine Gamma-hémolysine Leucocidine de Panton-Valentine	Destruction des cellules de défense de l'hôte par formation de pores au niveau des membranes cellulaires
Toxines à activité protéolytique	Exfoliatines	Syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome staphylococcique de la peau ébouillantée) Impétigo bulleux staphylococcique

2.1.4 Prévalence de *S. aureus*

Colonisation nasale

Des enquêtes transversales chez des individus adultes sains semblent indiquer que la prévalence de colonisation nasale par *S. aureus* a diminué depuis les années 1930, notamment en raison d'une meilleure hygiène personnelle, pour atteindre environ 27% depuis les années 2000 (**Figure 1**) [18]. La prévalence de colonisation nasale par *S. aureus* serait néanmoins variable selon les individus. Elle est par exemple plus élevée chez les jeunes enfants [37] ou les hommes de type caucasien [38].

Une étude prospective réalisée dans des centres de réadaptation européens a permis d'observer que la prévalence de colonisation par SARM à l'admission était de 8,7% [39]. D'autres études ont montré que la prévalence de colonisation dans des centres de soins de longue durée (SLD) pouvait varier de 9% à 58% [40, 41]. Enfin, une cohorte d'une durée de 18 mois de patients hospitalisés dans des centres de SLD en Espagne a indiqué une incidence annuelle de colonisation par SARM de 20% [42].

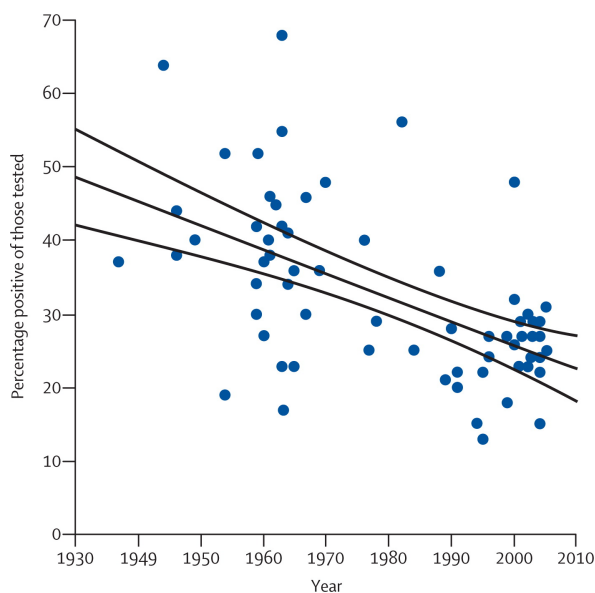


Figure 1. Taux de colonisation nasale rapportés au cours du temps [18]

Les catégories de patients pour lesquelles les taux de colonisation sont plus élevés (ex : patients dialysés) ont été exclues. La corrélation négative entre l'année de déclaration et le taux de colonisation nasale est significative (coefficient de corrélation = -0,55 ; $P < 0,001$).

Infections à SARM

En Europe, la proportion de SARM parmi les souches invasives de *S. aureus* recueillies dans le cadre du réseau de surveillance EARS-Net (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*) est très variable selon les pays (**Figure 2**). En 2013, elle variait de 0% en Islande à 64,5% en Roumanie [43]. Les pays d'Europe du Nord (Pays-Bas et pays scandinaves notamment) rapportent généralement des taux de SARM inférieurs à ceux de l'Europe du Sud et du Sud-Est, en partie grâce à leur politique nationale de « *search and destroy* ». Une étude réalisée dans un hôpital néerlandais a montré que l'application stricte de cette politique avait permis de contrôler efficacement une épidémie de cas de colonisation ou d'infection par SARM [44].

En 2008, les SARM représentaient 44% des bactéries résistantes responsables d'infections nosocomiales en Europe [3]. Une diminution globale de la proportion de SARM a été observée pour la période 2010-2013, bien qu'elle soit moins prononcée que pour la période 2006-2009 [43]. Cette diminution s'expliquerait notamment par les mesures de contrôle et de prévention mises en place [45, 46]. Cependant, le SARM reste un problème de santé publique en Europe où le taux moyen était de 18% en 2013 avec sept pays où la proportion de SARM parmi les souches invasives de *S. aureus* isolées dépassait les 25% [43].

Bien que les taux de SARM soient encore élevés en France par rapport au pays d'Europe du Nord, la proportion de SARM dans les prélèvements d'infections invasives à *S. aureus* est en

diminution constante depuis plus de 10 ans. Elle s'élevait à 29% en 2003 et à 17,1% en 2013 [47]. Une enquête nationale de prévalence réalisée en 2012 a montré que *S. aureus* représentait 15,9% des microorganismes responsables d'infections nosocomiales [48]. De plus, *S. aureus* était l'une des bactéries les plus fréquemment isolées quel que soit le type de séjour. Les SARM représentaient 38% des souches, pour une prévalence de patients infectés de 0,2%. Le pourcentage de SARM était particulièrement élevé dans les services de SLD et dans les services de suite et de réadaptation, respectivement de 62,4% et 45,2%.

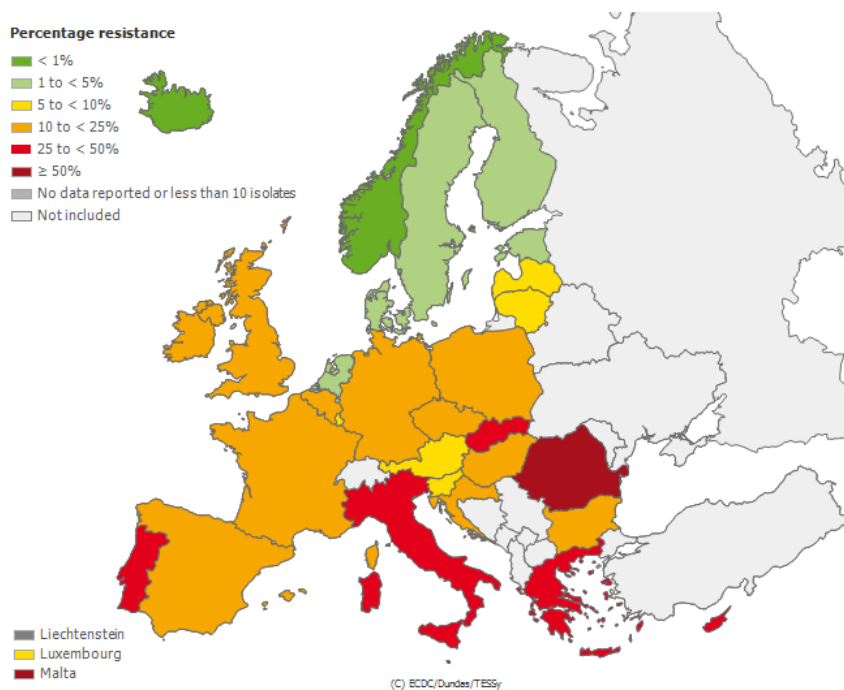


Figure 2. Proportion des souches de SARM parmi les souches invasives de *S. aureus* isolées dans les pays participants au réseau européen EARS-Net de surveillance de la résistance antibactérienne en 2013 [43]

2.1.5 Caractérisation microbiologique des clones

Plusieurs méthodes de détection ont été utilisées pour décrire les différents clones de *S. aureus*. L'analyse des séquences multilocus¹ (*multilocus sequence typing*, MLST) a permis d'étudier la clonalité de *S. aureus* chez les humains ainsi que l'histoire évolutive de SARM [49, 50]. Cette technique correspond au séquençage de sept gènes de ménage ou *housekeeping genes* (gènes constitutifs considérés comme peu évolutifs et présents dans tous les types de cellules) permettant d'attribuer un type de séquence (*sequence type*, ST) à chaque souche analysée. Tous les STs ayant cinq des sept gènes en commun sont regroupés dans un même complexe clonal

¹ Une séquence multilocus est une séquence d'ADN contenant plusieurs locus, c'est-à-dire plusieurs fragments séquentiels invariants sur un chromosome. Un locus peut correspondre à un gène mais pas nécessairement.

(*clonal complex*, CC). Cette méthode a permis d'identifier cinq groupes majeurs de clones (CC8, CC30, CC5, CC22 et CC45) [18].

Le typage moléculaire appelé *spa* typing est une autre technique permettant de caractériser le nombre et la structure des répétitions de la séquence polymorphique du gène *spa* codant pour la protéine A. Cette protéine est présente dans la paroi de toutes les souches de *S. aureus*. L'analyse de ces répétitions par réaction en chaîne par polymérase (*polymerase chain reaction*, PCR) permet d'attribuer un profil *spa* type dont la définition et la nomenclature sont standardisées au niveau international. Cette technique a largement été utilisée pour investiguer les clones de *S. aureus* et les voies de transmission lors d'épidémies hospitalières [51-53].

Le séquençage du génome complet de *S. aureus* permet d'identifier les événements de transmission entre individus avec une meilleure résolution que le *spa* typing [54]. Cette technique permet de comparer les polymorphismes nucléotidiques ou SNPs (*single nucleotide polymorphisms*) et d'identifier la parenté entre les différentes souches. Cette méthode a notamment fait ses preuves en microbiologie clinique pour investiguer des épidémies d'infections à SARM [55, 56]. Le coût de cette technique ayant fortement diminué ces dernières années, certains hôpitaux réalisent le séquençage complet du génome des souches de SARM en routine, comme c'est le cas à Copenhague depuis 2013 [57].

2.2 Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

2.2.1 Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules, d'origine naturelle ou synthétique, possédant la propriété de tuer (bactéricide) ou de limiter la croissance (bactériostatique) des bactéries. Une grande majorité de ces molécules a été découverte dans les années 1940 jusqu'aux années 1960, l'âge d'or de la découverte des antibiotiques.

Il existe de très nombreux antibiotiques répartis en différentes familles selon leur mode d'action ou leur structure moléculaire. La plupart d'entre eux cible les fonctions physiologiques ou métaboliques essentielles à la cellule bactérienne. Parmi les antibiotiques bactéricides, les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes, monobactames) et les glycopeptides inhibent la synthèse de la paroi bactérienne [58]. En particulier, les β -lactamines se lient à des enzymes appelées protéines de liaison des pénicillines (PLP) qui participent à la synthèse du peptidoglycane, le principal constituant de la paroi bactérienne. Il existe différentes PLP (PLP1, PLP2, etc.) n'ayant pas la même affinité vis-à-vis des β -lactamines. Les glycopeptides tels que la vancomycine inhibent la synthèse de la paroi bactérienne en induisant un encombrement stérique qui bloque l'assemblage des précurseurs lors de la formation du peptidoglycane.

Les quinolones, des antibiotiques de synthèse, empêchent quant à eux la réplication de l'ADN bactérien en inhibant l'ADN gyrase nécessaire à cette étape. Enfin, il existe d'autres mécanismes d'action des antibiotiques tels que le blocage de la synthèse protéique ou l'inhibition de la production d'acide folique nécessaire à la synthèse des bases nucléiques.

2.2.2 Consommation d'antibiotiques en France et en Europe

En France, la consommation d'antibiotiques était parmi les plus élevées en Europe au début des années 2000. Une étude conduite dans 26 pays européens de 1997 à 2002 participant au projet ESAC (*European Surveillance of Antimicrobial Consumption*) s'est intéressée à la consommation d'antibiotiques chez des patients en soins ambulatoires. Elle s'élevait environ à 32 doses définies journalières² pour 1000 habitants et par jour (DDJ/1000H/J) en France alors qu'elle était seulement de 10 DDJ/1000H/J aux Pays-Bas [59]. En 2002, les pénicillines étaient les antibiotiques les plus consommés en Europe [59]. L'utilisation des quinolones variait quant à elle d'un facteur 21 entre l'Italie (3,76 DDJ/1000H/J) et le Danemark (0,17 DDJ/1000H/J).

En 2001, un plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques a été initié en France incluant la campagne de communication « Les antibiotiques, c'est pas automatique » [60]. Un rapport récent établi par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé³ (ANSM) indique que la consommation totale d'antibiotiques en France a diminué de 10,7% entre 2000 et 2013, même si une augmentation de 5,9% est observée depuis 2010 [61]. La consommation de quasiment toutes les classes d'antibiotiques a diminué de 2000 à 2013, à l'exception des associations de pénicillines avec un inhibiteur de β -lactamases en ville ou encore des carbapénèmes et des céphalosporines de 3^{ème} génération à l'hôpital [61].

D'après les données de l'ESAC-Net (*European Surveillance of Antimicrobial Consumption Network*), la consommation d'antibiotiques à usage systémique en France en 2013 s'élevait à 30,1 DDJ/1000H/J en secteur de ville et à 2,17 DDJ/1000H/J en secteur hospitalier [62]. En particulier, la consommation de quinolones était de 0,26 DDJ/1000H/J à l'hôpital. Cependant, malgré la diminution de la consommation d'antibiotiques, la France se situe toujours au-dessus de la moyenne européenne. En 2012, elle était le 5^{ème} pays consommateur d'antibiotiques en secteur hospitalier après la Lettonie, la Finlande, l'Italie et la Lituanie, et le 4^{ème} pays en secteur de ville [61].

Si l'on rapporte la consommation à l'ensemble de la population française, la consommation d'antibiotiques est plus importante en ville qu'à l'hôpital. En 2012, elle s'élevait à 29,7

² La dose définie journalière ou *defined daily dose* (DDD) est une mesure statistique de la consommation d'antibiotiques définie par le *Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology* de l'Organisation Mondiale de la Santé. Elle correspond à la posologie de référence par jour présumée d'un médicament chez l'adulte dans le cadre de son utilisation principale.

³ Les données de l'ANSM sont issues des déclarations obligatoires de ventes des antibiotiques effectuées par les industriels pharmaceutiques.

DDJ/1000H/J dans le secteur de ville et à 2,1 DDJ/1000H/J dans le secteur hospitalier [61]. Cependant, si la consommation d'antibiotiques est rapportée au nombre de journées d'hospitalisation, directement relié à l'activité hospitalière, la consommation d'antibiotiques à l'hôpital est nettement supérieure avec 412,3 DDJ pour 1000 jours d'hospitalisation (DDJ/1000JH). La consommation d'antibiotiques est donc élevée à l'hôpital si l'on considère qu'environ quatre patients hospitalisés sur 10 reçoivent une dose d'antibiotique un jour donné. En 2013, les quinolones représentaient 12,1% des antibiotiques consommés à l'hôpital et 6,1% de ceux utilisés en ville. Ils représentaient la seconde classe d'antibiotiques la plus consommée à l'hôpital après les pénicillines.

Dans les centres de SLD, la consommation d'antibiotiques est élevée et leur utilisation est le plus souvent inappropriée [63, 64]. En Europe, une étude de prévalence réalisée en 2013 dans des centres de SLD a montré que la prévalence des résidents recevant au moins un antibiotique s'élevait à 4,4% [65]. Les quinolones représentaient 16,0% des antibiotiques prescrits pour usage systémique. En France, d'après les données de surveillance du réseau ATB-Raisin⁴, la consommation de fluoroquinolones était importante en 2013 dans les services de suite et de réadaptation avec une médiane de 32,2 DDJ/1000JH, derrière l'amoxicilline en association avec l'acide clavulanique (médiane de 54,4 DDJ/1000JH) [66]. Dans ces services, les fluoroquinolones représentent 18% des consommations [47]. L'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux réalisée dans les établissements de santé français en 2012 a montré que la prévalence des patients traités par antibiotiques s'élevait à 8,4% dans les services de suite et de réadaptation et à 4,8% dans les services de SLD [48].

2.2.3 Profil général de résistance de *S. aureus*

Chez *S. aureus*, l'émergence de la résistance aux antibiotiques peut être considérée comme une série de vagues de résistance [67]. La première vague correspond à l'introduction de la pénicilline dans les années 1940 et à l'apparition quelques années plus tard de souches résistantes produisant des enzymes, les pénicillinases⁵, qui inactivent la pénicilline G et les pénicillines à spectre étendu (pénicillines A) telles que l'ampicilline, l'amoxicilline ou la pipéracilline [6] (**Tableau 2**). De nos jours, plus de 90% des souches de *S. aureus* produisent une pénicillinase [1].

⁴ Le réseau ATB-Raisin est piloté par le Centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales de l'inter-région Sud-Ouest. Basé sur le volontariat, il permet de recueillir des données de consommation d'antibiotiques pour des patients en hospitalisation complète dans les établissements de santé (hors antibiotiques dispensés en consultation, hospitalisation de jour ou dialyse).

⁵ Les pénicillinases sont des enzymes sécrétées par des bactéries et capables d'inactiver certains antibiotiques du groupe des pénicillines. Elles appartiennent à la famille des β -lactamases.

Tableau 2. Pourcentage de résistance de *S. aureus* aux principaux antibiotiques d’après les données du réseau REUSSIR-France en 2010 [68]

Antibiotique	Classe ATC	Classe d'antibiotiques	Pourcentage de résistance	
			SARM (N = 2635)	SASM (N = 8730)
Benzylpénicilline (pénicilline G)	J01CE	Pénicillines sensibles aux β -lactamases	100,0	82,2
Oxacilline	J01CF	Pénicillines résistantes aux β -lactamases	100,0	0,0
Sulfaméthoxazole et triméthoprim	J01EE	Associations de sulfamidés et triméthoprim	1,3	1,0
Érythromycine	J01FA	Macrolides	36,0	21,2
Lincomycine	J01FF	Lincosamides	27,9	3,9
Pristinamycine	J01FG	Streptogramines	5,5	0,8
Gentamycine	J01GB	Autres aminosides	5,9	1,7
Fluoroquinolones	J01MA	Fluoroquinolones	83,9	6,2
Téicoplanine	J01XA	Glycopeptides	0,0	0,0
Vancomycine	J01XC	Glycopeptides	0,0	0,0
Acide fusidique	J01XC	Antibiotiques stéroïdiens	14,0	4,7
Rifampicine	J04AB	Antibiotiques anti-tuberculeux	3,5	0,7

Le réseau REUSSIR (Réseau Épidémiologique des Utilisateurs du Système SIR) regroupe 29 établissements de soins français et collecte les données de résistance produites en routine par les laboratoires. Le système de classification ATC (Anatomique Thérapeutique Chimique), géré par l’Organisation Mondiale de la Santé (*WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology*), est utilisé pour classer les médicaments selon l’organe ou le système sur lesquels ils agissent et/ou leurs caractéristiques thérapeutiques et chimiques.

Abréviations : SARM, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ; SASM, *S. aureus* sensible à la méticilline.

La deuxième vague correspond au développement d'antibiotiques non sensibles aux β -lactamases (*i.e.* méticilline, oxacilline) et d'inhibiteurs de β -lactamases (*i.e.* acide clavulanique) pouvant être combinés à d'autres antibiotiques. Dans les années 1960, des souches de SARM ayant acquis le gène *mecA* codant pour une nouvelle protéine de liaison à la pénicilline (PLP2a ou PLP2') ont alors émergé. Celle-ci a une affinité faible pour les β -lactamines et confère une résistance à tous les antibiotiques de cette famille. Le gène de résistance à la méticilline *mecA* est inclus dans un élément génétique mobile particulier, la cassette staphylococcique (SCCmec, *staphylococcal cassette chromosome mec*) qui comporte également un complexe de gènes codant pour des recombinases responsables de la mobilité de la cassette. Il existe huit types de cassettes SCCmec (I-VIII).

La multirésistance est fréquente chez les SARM hospitaliers. Ainsi, les SARM peuvent être résistants aux fluoroquinolones, aux macrolides, aux lincosamides et aux aminosides. L'analyse de souches de *S. aureus* isolées dans le sang de plus de 15 000 patients aux États-Unis, Canada, Amérique latine, Europe et Pacifique occidental a permis d'observer que le pourcentage de souches de SARM résistantes pouvait s'élever à 91% pour la gentamicine (aminosides), 89% pour la ciprofloxacine (fluoroquinolones), 88% pour la clindamycine (lincosamides) et 94% pour l'érythromycine (macrolides) [69].

La multirésistance des SARM hospitaliers limite les possibilités thérapeutiques à quelques antibiotiques, dont les plus efficaces dans ces situations restent les glycopeptides. Néanmoins, de récentes études ont décrit des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée à la vancomycine (VISA) ainsi que des souches complètement résistantes dans quelques cas [16, 17]. Le mécanisme de résistance des VISA est l'épaississement de la paroi bactérienne due à des mutations génétiques empêchant la vancomycine d'atteindre sa cible. La résistance des souches de *S. aureus* à la vancomycine est liée quant à elle à l'acquisition d'un plasmide contenant le gène *vanA* acquis très vraisemblablement d'entérocoques résistants à la vancomycine [16]. Le gène *vanA* code pour une ligase qui, en créant une liaison ester au niveau du précurseur du peptidoglycane, diminue l'affinité de la vancomycine avec le peptidoglycane et empêche ainsi son action bactéricide [70]. D'autres antibiotiques récemment développés tels que la ceftaroline (céphalosporine de 5^{ème} génération), la daptomycine ou le linézolide sont actifs contre les SARM et les *S. aureus* résistants à la vancomycine bien que quelques souches résistantes aient déjà été décrites pour ces deux derniers [71, 72].

Les SARM communautaires possèdent des cassettes SCCmec différentes des SARM hospitaliers et sont, contrairement aux SARM hospitaliers, généralement sensibles à la plupart des antibiotiques (à l'exception de la méticilline et des β -lactamines) [8].

2.2.4 Émergence et sélection de la résistance

L'émergence et la sélection de la résistance aux antibiotiques en population est le résultat d'une combinaison de mécanismes intervenant à plusieurs niveaux : à l'échelle de la bactérie (évolution génétique des bactéries et acquisition de nouveaux mécanismes de résistance, coût biologique associé à la résistance), à l'échelle de la population bactérienne en interaction avec l'hôte (sélection des souches résistantes après exposition aux antibiotiques, compétition entre les souches, immunité naturelle ou acquise) et à l'échelle de la population d'individus (transmission directe ou indirecte, pression de sélection antibiotique, pression de colonisation) [73].

Acquisition de la résistance

A l'échelle microbiologique, l'émergence de la résistance repose sur la modification du génome de la bactérie. Si certaines bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques (les bactéries à Gram négatif sont naturellement résistantes à la pénicilline grâce à leur membrane externe qui représente une barrière de perméabilité protectrice), elles peuvent également acquérir la résistance aux antibiotiques par divers mécanismes. On parle de résistance acquise.

Les bactéries sont des organismes vivants capables d'échanger du matériel génétique grâce à des mécanismes tels que la transformation génétique (*via* l'incorporation d'un fragment d'ADN nu dans le génome bactérien), la transduction (*via* des bactériophages) ou la conjugaison bactérienne (*via* le transfert de plasmides entre deux cellules par contact direct) [74]. Dans ce cas, le transfert des gènes de résistance est horizontal et permet aux bactéries d'opérer des recombinaisons génétiques.

Les mutations dans les gènes chromosomiques de la bactérie constituent un autre mécanisme d'acquisition de la résistance. Le taux de mutations spontanées responsables de la résistance aux antibiotiques est de l'ordre de 10^{-8} à 10^{-9} mutations par réplication [75]. De plus, des mutations adaptives se produisant non pas lors de la réplication bactérienne mais dans des conditions de stress (par exemple l'exposition à des antibiotiques) pourraient constituer un mécanisme supplémentaire d'acquisition de la résistance [76]. Une fois la résistance acquise, les gènes de résistance sont transmis verticalement à la descendance par réplication bactérienne.

L'importance des mutations vis-à-vis de la recombinaison génétique est variable selon l'espèce bactérienne [77]. Chez *S. aureus*, la résistance à la méticilline est issue de l'acquisition du gène *mecA*. Ce gène est très conservé parmi les staphylocoques et serait apparu chez des espèces à coagulase négative [78]. Le mécanisme d'acquisition de *mecA* chez *S. aureus* n'est pas connu mais résulterait donc d'un transfert horizontal entre les espèces de staphylocoques plutôt que de mutations ponctuelles [79]. Enfin, un nouveau mécanisme de résistance conféré par un variant du gène *mecA* (*mecC* ou *mecA_{LG251}*) a été récemment décrit chez l'Homme et les animaux

(notamment les bovins) porteurs de SARM [80, 81]. A l'instar de *mecA*, ce gène est également présent chez d'autres espèces de staphylocoques.

La résistance aux fluoroquinolones chez *S. aureus* est due quant à elle à des mutations chromosomiques spontanées induisant une surexpression des protéines permettant l'expulsion de l'antibiotique hors de la bactérie ou une modification de la topoisomérase empêchant les fluoroquinolones de se fixer sur leur cible [6].

Mécanismes de sélection de la résistance

La pression de sélection exercée par les antibiotiques sur la résistance peut s'opérer à différents niveaux et avoir des effets directs sur l'individu exposé aux antibiotiques et indirects au niveau de la population [82]. D'un point de vue théorique, tout d'abord, si un individu est colonisé par des souches sensibles à un antibiotique, l'exposition à cet antibiotique aura pour conséquence de les éliminer, donc d'en diminuer la durée de colonisation. Sous condition de phénomène de compétition à la colonisation muqueuse (cf. 2.2.5.), si l'individu est également colonisé par une sous-population de souches résistantes, ces dernières pourront se multiplier. Leur densité de colonisation augmentera et, de ce fait, la probabilité de transmission à d'autres individus en sera accrue.

De plus, en cas d'éradication complète des souches sensibles par les antibiotiques, l'individu ne pourra plus les transmettre à d'autres individus. Le risque de dissémination de la forme résistante en sera augmenté dans la population puisque, d'un point de vue populationnel, la vacance de la niche sera devenue plus importante. Toujours sous condition d'interactions compétitives existant entre les formes sensibles et résistantes, l'individu exposé aux antibiotiques devenu non colonisé pourra également être plus à risque d'acquérir la forme résistante que s'il était toujours colonisé par la forme sensible.

Le fait qu'un individu soit colonisé par des bactéries résistantes augmente le risque de transmission aux autres. Si l'on considère la pression de sélection des antibiotiques, la probabilité de transmettre une souche résistante est plus élevée pour des individus exposés à des antibiotiques. De la même manière que les vaccins protègent les individus non vaccinés par le phénomène d'immunité de groupe, l'exposition d'individus aux antibiotiques, surtout dans un contexte où elle est élevée au sein de la population, augmente le risque de colonisation par des bactéries résistantes chez les individus non exposés.

La transmission des souches résistantes entre les individus peut être directe ou indirecte (*via* l'environnement par exemple). La pression de colonisation, c'est-à-dire la densité d'individus colonisés à un temps donné et dans une unité géographique donnée, influence la transmission interindividuelle. Il a notamment été observé que, plus elle était élevée, plus elle augmentait l'acquisition de SARM à l'hôpital [83]. La transmission est également influencée par la capacité de transmission (épidémicité intrinsèque) de la bactérie. S'il a été montré que certaines souches

de *S. aureus* étaient responsables d'épidémies, aucun marqueur moléculaire d'épidémicité n'a pour l'instant été mis en évidence [84].

2.2.5 Coût biologique associé à la résistance

Les modifications génétiques à l'origine de l'émergence de la résistance aux antibiotiques peuvent s'accompagner d'un coût biologique, ou coût en *fitness*, pour la bactérie. Il a été observé que ces modifications pouvaient affecter la croissance *in vitro*, la capacité de colonisation, le taux de transmission, le taux de clairance ou encore la virulence [85]. En effet, même si les modifications de l'ADN bactérien sont favorables à la souche devenue résistante en lui permettant de survivre en présence d'antimicrobiens, ces modifications peuvent également être associée à un handicap relatif de son fonctionnement naturel. Dans ce cas, en l'absence de pression antibiotique, les souches sensibles donc *a priori* plus compétitives pourraient être en mesure de se multiplier plus dans la niche écologique (toujours sous condition de compétition) au détriment des souches résistantes [86]. Il est néanmoins important de noter que dans certains cas l'acquisition de la résistance pourrait ne pas changer le *fitness* de la bactérie, ou bien pourrait conférer un avantage à la bactérie, et ce en l'absence de pression antibiotique [87]. Le coût biologique associé à l'acquisition de la résistance est donc un paramètre clé pour la stabilité de la résistance.

Lorsque l'acquisition de la résistance engendre une diminution de *fitness*, les bactéries peuvent avoir des moyens leur permettant de restaurer leur compétitivité grâce notamment à des mutations compensatoires (n'induisant généralement pas la perte de la résistance) ou encore à la résistance croisée (résistance à plusieurs antibiotiques conférée par le même gène de résistance) [85]. Plusieurs techniques ont été développées en laboratoire (dans des milieux de culture ou chez des modèles animaux) afin de mesurer le coût biologique associé à la résistance : comparaison de la croissance des souches sensibles et résistantes, analyse de la compétition par co-cultivation des souches sensibles et résistantes à des concentrations initiales identiques, évaluation de certaines caractéristiques comme la survie dans l'environnement ou la production de biofilms [88]. Cependant, il est important de noter que les résultats obtenus *in vitro* pour étudier l'impact des mutations compensatoires ne semblent pas toujours extrapolables *in vivo* ni à l'évolution de la résistance observée en population [89, 90].

Une étude *in vitro* sur des souches de *S. aureus* ayant acquis par transformation la cassette SCCmec conférant la résistance à la méticilline a permis d'observer que leur taux de croissance était réduit par rapport aux souches parentales sensibles [91]. D'autres travaux ont étudié la compétition lors de co-cultures, les taux de croissance et la survie après dessiccation, et ont observé que certains complexes clonaux de SARM pouvaient présenter ou non un *fitness* diminué par rapport aux souches sensibles [92]. Ainsi, la cassette SCCmecII serait associée à une diminution de *fitness* chez les SARM CC30 alors que celui des SARM CC22 ne serait pas

impacté par la présence de la cassette SCCmecIV, ceci comparativement à des souches sensibles de même type.

Quelques travaux se sont intéressés à la compétition existant entre SARM et SASM pour la colonisation des fosses nasales. Ces travaux visaient à tester l'hypothèse selon laquelle la colonisation par SASM protégerait de l'acquisition de SARM. L'interprétation des résultats de ces travaux reste controversée. Une étude portant sur des individus hospitalisés n'a montré aucune association significative entre la colonisation nasale par SASM à l'admission et l'acquisition nosocomiale de SARM [93]. Une autre étude a montré que la colonisation par SASM, en comparaison de l'absence de colonisation, n'était pas associée à une diminution du risque d'acquisition de SARM [94]. En revanche, d'autres travaux sont en faveur d'une interaction compétitive entre SARM et SASM. L'un d'entre eux est basé sur une association écologique entre la prévalence de SASM et de SARM dans 26 centres de soins de longue durée [95]. L'étude cas-témoins rétrospective réalisée par Huang *et al.* a quant à elle montré une association significative entre la colonisation par SASM et l'acquisition subséquente de SARM (*odds ratio* [OR], 0.52 ; intervalle de confiance à 95% [IC_{95%}], 0.29–0.95) [96]. Enfin, une autre étude a mis en évidence une prévalence observée de co-colonisation SARM/SASM plus faible que la prévalence attendue sous l'hypothèse nulle de non-compétition entre SARM et SASM [97].

2.2.6 Coûts cliniques et économiques des SARM

Les coûts de la résistance aux antibiotiques peuvent se mesurer en termes clinique et économique. En effet, la multirésistance des SARM peut mener à des échecs thérapeutiques même lorsque qu'un traitement antibiotique recommandé est administré [98]. Plusieurs études ont montré que les infections à SARM causaient plus de décès que les infections à SASM [99, 100]. Ceci pourrait s'expliquer par le retard dans l'administration du traitement approprié et par le fait que la vancomycine présenterait une activité bactéricide lente et une faible pénétration tissulaire [101]. De plus, la durée d'hospitalisation, les comorbidités associées et les coûts liés à l'hospitalisation seraient plus élevés en cas d'infections à SARM comparativement à SASM [102, 103]. Chaque année en Europe, il a été estimé que les infections à SARM entraînaient un million de jours d'hospitalisation supplémentaires et un surcoût hospitalier de 380 millions d'euros [104].

2.3 Facteurs d'acquisition et de persistance de *S. aureus*

Afin de diffuser dans la population, *S. aureus* doit dans un premier temps être acquis par un individu non colonisé (**Figure 3**). La colonisation, notamment nasale, est l'étape cruciale de la diffusion interindividuelle de *S. aureus*. Les bactéries colonisant les fosses nasales servent à la fois de réservoirs pour la diffusion de cet organisme dans la population et prédisposent l'hôte à une infection subséquente. La durée de colonisation peut être variable et influence le risque de

transmission de *S. aureus* à d'autres individus. En effet, plus cette durée est longue, plus la probabilité de transmettre la bactérie est importante.

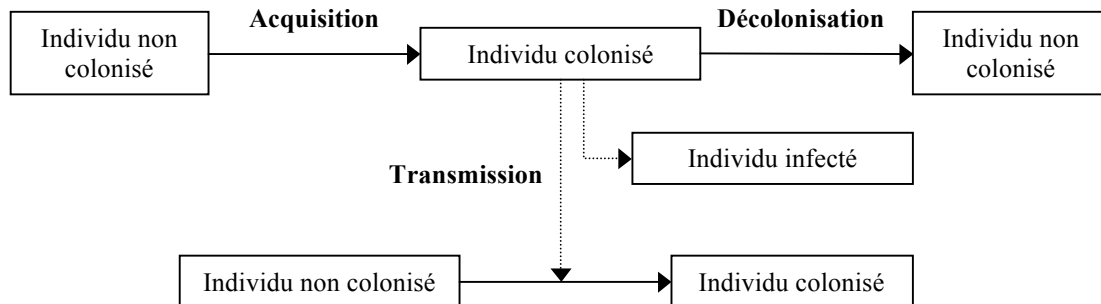


Figure 3. Processus de diffusion de *S. aureus*

Le mode principal de transmission est par contact direct (*via* manuportage) avec des individus colonisés. En secteur hospitalier, le personnel soignant est une source importante de transmission de patient à patient [105]. La transmission de SARM d'un individu colonisé aux membres de son foyer a également été documentée [106, 107]. Il semble que *S. aureus* peut être également transmis *via* l'environnement, par contact avec des surfaces ou des objets contaminés. Une étude a montré que cette bactérie était capable de survivre quelques jours à plusieurs semaines sur des matériaux fréquemment retrouvés à l'hôpital [108].

2.3.1 Facteurs de colonisation par *S. aureus*

La colonisation par *S. aureus* est un processus résultant de l'interaction entre l'hôte et la bactérie. Elle fait intervenir les capacités de *S. aureus* à adhérer à la muqueuse nasale et à échapper au système immunitaire, la génétique de l'hôte pouvant prédisposer à l'acquisition de la bactérie, ainsi que des facteurs environnementaux.

Influence génétique de l'hôte

Des prédispositions génétiques de l'hôte pourraient influencer la colonisation par *S. aureus*. Le polymorphisme génétique⁶ de certains gènes, codant pour l'interleukine 4 (cytokine) ou la protéine C-réactive (marqueur de l'inflammation) par exemple, semble associé à la colonisation par *S. aureus* [22]. De plus, les taux de colonisation peuvent varier selon les groupes ethniques [38].

Dans un travail incluant des porteurs permanents et des non-porteurs, les participants ont été volontairement inoculés par voie intranasale avec des souches de *S. aureus* (après traitement par

⁶ Le polymorphisme génétique correspond à la variation entre individus de la séquence génique conduisant à l'existence de plusieurs versions d'un gène (allèles) dans une population.

mupirocine pour les porteurs permanents) [109]. La majorité des individus est retournée à son état initial (*i.e.* les non-porteurs ont éliminé la bactérie alors que les porteurs permanents se sont recolonisés avec leur souche initiale), mettant ainsi en évidence l'importance des facteurs de l'hôte pour la colonisation par *S. aureus*. De plus, l'étude concomitante des facteurs génétiques, microbiologiques et épidémiologiques relatifs à la colonisation nasale d'individus vivant dans un village isolé d'Amazonie a permis d'observer que les facteurs génétiques de l'hôte étaient un déterminant important de la colonisation persistante de *S. aureus* [110]. En revanche, les études familiales visant à mettre en évidence des déterminants génétiques de la colonisation nasale par *S. aureus* obtiennent des résultats contradictoires. Une étude réalisée dans la communauté a montré qu'il pouvait exister une prédisposition familiale à l'acquisition de *S. aureus* sans que l'exposition à un réservoir commun ne soit la seule cause [111]. En revanche, d'autres travaux ne montrent pas d'héritabilité significative de colonisation par cette bactérie [112, 113].

Déterminants bactériens

Afin de coloniser les fosses nasales, *S. aureus* interagit avec d'autres organismes présents dans cette niche. Pendant la première année de vie, une corrélation inverse entre la colonisation par *S. aureus* et *Streptococcus pneumoniae* a ainsi été mise en évidence chez les nouveau-nés [114, 115]. Des travaux ont également suggéré des relations antagonistes entre la colonisation par *S. aureus* et d'autres organismes. L'analyse du microbiote nasal de patients hospitalisés a montré que la colonisation par *S. aureus* était négativement corrélée à la présence de *Staphylococcus epidermidis* [116]. De plus, l'inoculation artificielle de *S. epidermidis* produisant la protéase à sérine Esp a conduit à la décolonisation des porteurs de *S. aureus* [117]. L'inoculation artificielle de bactéries du genre *Corynebacterium* a permis d'éradiquer *S. aureus* chez 71% des porteurs [118].

Des facteurs bactériens propres à *S. aureus* impliqués dans le processus de colonisation nasale ont également été mis en évidence chez des modèles animaux ou chez les humains [22]. Il a notamment été montré que les FnBPs (*fibronectin binding proteins*), des adhésines capables de se fixer à la fibronectine de la matrice extracellulaire, étaient nécessaires lors de la colonisation nasale chez l'Homme. Une analyse par RT-PCR quantitative (PCR après transcription inverse) réalisée sur des prélèvements nasaux d'individus colonisés par *S. aureus* a révélé une expression importante des molécules nécessaires à l'échappement du système immunitaire et à l'adhésion tissulaire, notamment du gène *fnbA* codant pour la FnBPA et du gène *clfB* codant pour le *clumping factor B*, une autre adhésine [119].

Facteurs de risque épidémiologiques

De nombreux facteurs de risque de colonisation ont été décrits dans la littérature. Bien que le taux de colonisation par *S. aureus* diminue au cours de la première année de vie [37, 120], il est plus élevé chez les enfants que chez les adultes faisant ainsi du jeune âge un facteur de risque de colonisation [121]. En revanche, être âgé de plus de 60 ans est un facteur de risque de colonisation par SARM [22]. Le sexe masculin a également été mis en évidence comme facteur

de risque de colonisation par *S. aureus*, que ce soit chez les enfants ou les adultes [120, 122, 123]. Plusieurs études ont aussi montré que l'obésité était un facteur de risque de colonisation par *S. aureus* [121, 123]. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que cette bactérie est capable de survivre *in vitro* dans les adipocytes, bien que *S. aureus* soit généralement considéré comme un pathogène extracellulaire [124]. Le taux de colonisation nasale par *S. aureus* est également plus élevé chez les individus hémodialysés, en dialyse péritonéale continue ambulatoire, en phase terminale de maladie rénale ainsi que chez les diabétiques et les patients infectés par le VIH [18]. Des résultats contradictoires ont été obtenus concernant le rôle potentiel du tabagisme dans la colonisation par *S. aureus*, retrouvé comme facteur de risque [125, 126] ou facteur protecteur [127]. Le mécanisme expliquant le rôle du tabagisme comme déterminant de la colonisation par *S. aureus* est inconnu et nécessite des études approfondies afin de s'assurer que les associations retrouvées ne soient pas artéfactuelles.

D'autres facteurs de risque de colonisation nasale par *S. aureus* ont été décrits et constituent des indicateurs de transmission interindividuelle. Il s'agit de l'hospitalisation (soins intensifs, chirurgie, etc.), de la présence de lésions cutanées, de dispositifs médicaux (cathéter, trachéotomie, etc.) ou encore de l'hospitalisation antérieure [22]. A l'hôpital, la pression de colonisation et le nombre de lits par infirmière sont positivement corrélés à l'acquisition de la *S. aureus* [128]. La présence d'individus ou d'animaux domestiques colonisés au sein du foyer familial, un environnement contaminé ou la taille importante de la famille sont également des facteurs de risque de colonisation par *S. aureus* [125, 129]. Vivre dans une ferme où les contacts avec des animaux sont fréquents ou pratiquer des activités pouvant provoquer des lésions cutanées (rafting ou football par exemple) sont associés à des taux de colonisation par *S. aureus* plus élevés [18, 127, 130].

Rôle des antibiotiques dans l'acquisition de SARM

Les facteurs de risque d'acquisition de SARM, et plus particulièrement l'impact des antibiotiques, ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Cependant, la distinction entre la colonisation et l'infection n'est pas toujours faite selon la nature des prélèvements (prélèvements cliniques ou dans le cadre d'un programme de surveillance), ce qui peut poser problème dans l'interprétation des facteurs de risque de la forme résistante de la bactérie. Ainsi, dans l'exemple développé par D'Agata, certains facteurs tels que la présence de cathéters veineux centraux peuvent être identifiés comme facteurs de risque de bactériémie à SARM alors que la présence de tels dispositifs médicaux est un facteur de bactériémie indépendamment du phénotype de résistance de la bactérie [131]. Étudier la colonisation, qui précède l'étape d'infection, permet d'identifier les facteurs directement liés à SARM, notamment les antibiotiques susceptibles de jouer un rôle discriminant dans la survie des souches résistantes par rapport à celles sensibles et de contribuer à leur diffusion dans la population. De plus, les études ne sont pas toutes réalisées chez des individus indemnes de SARM, ce qui ne permet pas de distinguer une acquisition incidente d'une colonisation prévalente. C'est le cas notamment des études transversales réalisées chez les patients admis à l'hôpital.

Il existe de nombreux arguments en faveur d'une association entre l'usage des antibiotiques et l'acquisition de SARM [132]. En France, les résultats du réseau ATB Raisin sur la surveillance de la consommation des antibiotiques en 2013 ont permis d'observer une relation entre l'incidence de SARM et la consommation de fluoroquinolones (**Figure 4**) [66]. Plusieurs études hospitalières ont montré une corrélation écologique positive entre l'utilisation d'antibiotiques, en particulier les β -lactamines et les fluoroquinolones, et l'incidence de l'acquisition (colonisation et/ou infection) de SARM [133-135]. La relation entre la consommation d'antibiotiques et la prévalence de SARM a également été mise en évidence à l'aide d'analyses de séries temporelles [136, 137]. Ces études ont montré que la consommation d'un certain nombre d'antibiotiques (fluoroquinolones, céphalosporines de 3^{ème} génération, macrolides, associations de pénicillines avec un inhibiteur de β -lactamases) expliquait les variations temporelles de SARM. Concernant les fluoroquinolones, la réduction de l'utilisation de cet antibiotique est associée à une diminution de la fréquence d'isolement de SARM dans les prélèvements à visée diagnostique [138, 139] et leur réintroduction est associée à une augmentation significative de la fréquence d'isolement de SARM par rapport à la période de restriction [140]. Il a également été montré que la restriction d'antibiotiques, incluant les fluoroquinolones, diminuait significativement l'incidence [141] ou la prévalence de SARM [142] à l'hôpital et en communauté. Enfin, une étude a montré que la restriction de l'utilisation de certains antibiotiques, dont les fluoroquinolones, était un prédicteur de la diminution des clones de SARM qui présentent des niveaux plus élevés de résistances associées [143].

Au niveau individuel, des travaux ont montré que la consommation d'antibiotiques est un facteur de risque de colonisation par SARM [144-147]. Une étude prospective réalisée en soins intensifs s'intéressant spécifiquement à l'acquisition a montré que l'utilisation d'antibiotiques depuis l'admission était significativement associé aux infections nosocomiales à SARM avec un OR de 2,34 (IC_{95%}, 1,33–4,12) [148]. En se basant sur 76 études, Tacconelli *et al.* ont réalisé une méta-analyse afin d'étudier le rôle des antibiotiques sur l'isolement de SARM et ont déterminé que le risque de colonisation ou d'infection était 1,8 fois plus important chez les patients exposés dans les quatre derniers mois (IC_{95%}, 1,7–1,9) [149]. En considérant les différentes classes d'antibiotiques, les risques relatifs s'élevaient à 3 (IC_{95%}, 2,5–3,5) pour les fluoroquinolones, à 2,9 (IC_{95%}, 2,4–3,5) pour les glycopeptides, à 2,2 (IC_{95%}, 1,7–2,9) pour les céphalosporines et à 1,9 (IC_{95%}, 1,7–2,2) pour les autres β -lactamines. Si cette méta-analyse fournit une meilleure évaluation de la relation existant entre les antibiotiques et l'isolement de SARM, elle met également en exergue les différences méthodologiques existant entre les diverses études, notamment la prise en compte de la posologie ou de la durée d'exposition aux antibiotiques dans les analyses.

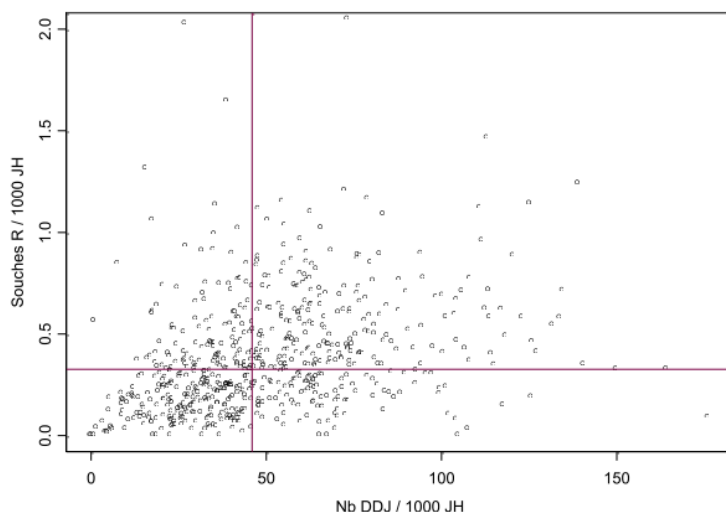


Figure 4. Incidence des SARM isolés à partir de prélèvements à visée diagnostique et consommation de fluoroquinolones dans 660 établissements de soins français [66]

La consommation d'antibiotiques est présentée en nombre de doses définies journalières pour 1000 jours d'hospitalisation (DDJ/1000 JH) et l'incidence des SARM est calculée pour 1000 jours d'hospitalisation (souches R/1000 JH). Trois valeurs atypiques n'ont pas été représentées. Les lignes roses représentent les médianes de consommation en fluoroquinolones (45,9 DDJ/1000 JH) et d'incidence des souches de SARM (0,33/1000 JH).

Les fluoroquinolones semblent jouer un rôle particulier dans l'acquisition de SARM. Le **tableau 3** synthétise les principaux travaux ayant mis en évidence leur impact sur le risque d'acquisition incidente ou sur le risque de colonisation ou d'infection par SARM au niveau individuel. La force des associations est variable, avec des ORs significatifs allant de 1,57 à 17,06. Les témoins utilisés dans ces études étaient de trois sortes : non colonisés/infectés par *S. aureus*, colonisés/infectés par SARM, ou bien non colonisés/infectés par SARM (englobant ainsi les deux premiers types de témoins). La problématique méthodologique qu'implique le choix des témoins lorsque l'on étudie l'acquisition de bactéries résistantes sera développée dans le prochain chapitre de ce document (cf. 3.1.1). Dans une étude cas-témoins, les fluoroquinolones étaient associées au risque de bactériémie nosocomiale à SARM lorsque les témoins utilisés étaient des patients ayant développé une bactériémie à SARM ($P = 0,03$) [150]. En revanche, cette association n'était plus significative lorsque des patients n'ayant pas développé de bactériémies à *S. aureus* constituaient le groupe contrôle. Enfin, une analyse de survie par régression de Cox a également retrouvé les fluoroquinolones comme facteur de risque de colonisation (*hazard ratio* [HR], 2,57 ; IC_{95%}, 1,84–3,60) ou d'infection (HR, 2,49 ; IC_{95%}, 1,02–6,07) par SARM [151].

Tableau 3. Principales publications mettant en évidence une association entre la consommation de fluoroquinolones et la colonisation et/ou l'infection par SARM

Références	Schéma de l'étude	Population	Définition des cas	Définition des témoins	Exposition antibiotique	OR ajusté (IC _{95%})
Dziekan, 2000 [152]	Cas-témoins prospectif	Hôpital universitaire	Acquisition de SARM (colonisation ou infection)	Mixte ^a	Fluoroquinolones	12,1 (1,37–105,71)
Graffunder, 2002 [153]	Cas-témoins rétrospectif	Établissement de soins tertiaires	Acquisition de SARM (infection)	SASM	Lévofoxacine	8,01 (3.15–20.3)
Hori, 2002 [154]	Étude transversale	Hôpital universitaire	Colonisation par SARM	Mixte ^a	Ciprofloxacine	17,06 (2,91–99,90)
Weber, 2003 [155]	Cas-cas-témoins rétrospectif	Hôpital universitaire	Acquisition de SARM (colonisation ou infection)	Absence de <i>S. aureus</i>	Lévofoxacine Ciprofloxacine	3,38 (1,94–5,90) 2,48 (1.32–4.67)
McDonald, 2003 [156]	Cohorte	Consultation externe (VIH)	Colonisation par SARM	Absence de <i>S. aureus</i>	Ciprofloxacine	11,9 (1,8–77,8)
Tacconelli, 2004 [157]	Cas-témoins rétrospectif	Hôpital universitaire	Infection par SARM	Mixte ^a	Quinolones	1,99 (1,07–3,69)
Ernst, 2005 [150]	Cas-témoins rétrospectif	Hôpital universitaire	Acquisition de SARM (infection)	(1) SASM (2) Absence de <i>S. aureus</i>	Fluoroquinolones	(1) $P = 0,027$ (2) $P = 0,015$
LeBlanc, 2006 [151]	Cohorte rétrospective	Hôpital universitaire	Acquisition de SARM (1) Colonisation (2) Infection	NA	Fluoroquinolones	(1) 2,57 ^b (1,84–3,60) (2) 2,49 ^b (1,02–6,07)
Muller, 2006 [158]	Cas-témoins rétrospectif	Hôpital universitaire	Colonisation ou infection par SARM	Mixte ^a	Fluoroquinolones	2,63 (1,44–4,80)
Eveillard, 2008 [159]	Étude transversale	SLD	Colonisation par SARM	Mixte ^a	Fluoroquinolones et C3G	12,07 (5,9–24,7)

Suite du tableau 3

Références	Schéma de l'étude	Population	Définition des cas	Définition des témoins	Exposition antibiotique	OR ajusté (IC _{95%})
Melo, 2009 [160]	Cas-cas-témoins rétrospectif	Soins intensifs	Acquisition de SARM (colonisation)	Absence de <i>S. aureus</i>	Ciprofloxacine	5,05 (1,38–21,90)
Salangsang, 2010 [161]	Cas-témoins rétrospectif	Hôpital universitaire	Acquisition de SARM (colonisation ou infection)	Mixte ^a	Ciprofloxacine	1,57 (1,13–2,17)

Abréviations : C3G, céphalosporines de 3^{ème} génération ; IC_{95%}, intervalle de confiance à 95% ; NA, non applicable ; OR, *odds ratio* ; SARM, *S. aureus* résistant à la méticilline ; SASM, *S. aureus* sensible à la méticilline ; SLD, soins de longue durée ; VIH, virus de l'immunodéficience humaine.

^a Correspond à SASM ou à l'absence de *S. aureus*.

^b *Hazard ratio*.

Le mécanisme biologique par lequel les fluoroquinolones favoriseraient l'acquisition de SARM n'est pas totalement compris. Cependant, deux études *in vitro* ont montré que l'exposition de souches de *S. aureus* résistantes aux fluoroquinolones à des concentrations sub-inhibitrices de ciprofloxacine induisait la synthèse de FnBPs augmentant leur adhésion à des surfaces recouvertes de fibronectine [162, 163]. Les fluoroquinolones pourraient donc favoriser l'adhésion de ces souches aux muqueuses. De plus, une autre étude a permis d'observer *in vitro* que la proportion des souches les plus résistantes parmi une population de souches de *S. aureus* hétéro-résistantes⁷ possédant le gène *mecA* et sensibles aux fluoroquinolones augmentait d'un facteur 10 en présence de fluoroquinolones et de manière proportionnelle à leur concentration [164]. Une étude prospective réalisée chez 116 patients a montré que l'exposition aux fluoroquinolones pendant 14 jours augmentait significativement la charge bactérienne nasale de SARM de 0 (étendue : 0–4,00) à 4,30 (étendue : 0–7,46) log₁₀ UFC/échantillon [165]. Enfin, Høiby *et al.* ont observé le développement rapide de souches de *S. epidermidis* résistantes à la méticilline au niveau du nez et de l'aisselle chez des volontaires traités par ciprofloxacine [166]. La colonisation persistait, en moyenne, plus de 30 jours après la fin du traitement antibiotique. Bien que les auteurs ne rapportent pas ces résultats pour le SARM, la ciprofloxacine pourrait avoir le même effet chez des individus colonisés par *S. aureus*.

En conclusion, il existe de nombreux arguments tant épidémiologiques que biologiques allant dans le sens d'un rôle des fluoroquinolones dans la colonisation ou l'infection par SARM. En revanche, il n'existe pas à notre connaissance d'études prospectives ayant mis en évidence que ces antibiotiques étaient un facteur de risque d'acquisition de colonisation par SARM de manière spécifique. C'est dans ce cadre que s'inscrit la première partie de ce travail de recherche présentée dans le chapitre 3 dont l'objectif était de déterminer l'impact des antibiotiques, et en particulier celui des fluoroquinolones, sur l'acquisition de la colonisation par SARM.

2.3.2 Estimation des durées de colonisation par SARM

Les principaux travaux portant sur l'estimation des durées de colonisation par SARM sont présentés dans le **tableau 4**. A l'exception de l'essai clinique décrit par Haverkate *et al.*, toutes ces études sont des cohortes prospectives ou rétrospectives. L'étendue des durées médianes de colonisation estimées est élevée allant de 12 jours à 40 mois.

Cette hétérogénéité peut s'expliquer par les différences importantes dans les méthodologies employées, notamment dans le schéma même de l'étude. Certaines se placent en effet chez des patients réhospitalisés pour lesquels la durée entre l'hospitalisation initiale et la réadmission à l'hôpital varie considérablement [167-170]. Du point de vue du suivi des individus, des différences notables existent concernant la fréquence des prélèvements (de toutes les semaines à

⁷ L'hétéro-résistance correspond à une population hétérogène de souches résistantes et sensibles d'un même organisme dans un isolat ou prélèvement clinique.

tous les 6 mois). Les sites de prélèvements sont également une source importante d'hétérogénéité, avec des études prenant en compte des prélèvements cliniques pouvant traduire une infection. Compte-tenu de toutes ces différences, et en particulier celles concernant la fréquence des prélèvements, la définition même de la décolonisation est de nature variée. Elle est définie par un unique prélèvement ou par plusieurs prélèvements consécutifs et tient compte d'un ou de plusieurs sites de prélèvements. De plus, certaines études ont utilisé une méthode de typage (électrophorèse en champs pulsé, *spa* typing, analyse des plasmides ou typage des bactériophages) afin de caractériser les souches de SARM [169-175], alors que d'autres se sont limitées à l'identification en culture. Dans certains cas, un traitement spécifique de décolonisation à base de mupirocine pouvait être administré aux individus porteurs [168, 172, 173, 175-177]. Enfin, parce que le statut de colonisation des patients n'était pas examiné de manière prospective dans ces études, le temps initial à partir duquel les patients ont acquis SARM n'était jamais défini avec exactitude. Il était supposé que le début de la colonisation correspondait au moment où elle était pour la première fois documentée.

Une autre source d'hétérogénéité réside dans les critères d'exclusion utilisés dans les analyses qui ont tendance à favoriser des durées de colonisation plus longues. Aeil *et al.* ont exclu les porteurs transitoires ne présentant qu'une seule culture positive à SARM [171]. Une autre étude réalisée chez des patients réhospitalisés a uniquement inclus les patients pour lesquels le délai entre la sortie de l'hôpital et la réadmission était supérieur à trois mois [170]. Enfin, dans l'analyse de Mattner *et al.* également réalisée chez des patients réhospitalisés, les individus qui changeaient au moins deux fois de statut de colonisation entre les admissions étaient exclus [168]. De plus, les patients à la réadmission pour lesquels un prélèvement était manquant étaient toujours considéré comme étant colonisé par SARM, les auteurs préférant surestimer la durée de colonisation afin d'optimiser la sécurité de leurs recommandations.

D'autres travaux ont contribué à appréhender la question de l'estimation de la durée de colonisation. Dans la revue systématique réalisée par Shenoy *et al.*, l'analyse combinée des données de 16 études a estimé la durée médiane de temps jusqu'à la clairance de SARM à 88 semaines après documentation de la colonisation par la bactérie [178]. Dans une autre étude visant à mieux caractériser les différents types de colonisation, 51 individus dont le statut de colonisation était connu ont été décolonisés par mupirocine puis colonisés artificiellement par *S. aureus*. La durée médiane de colonisation chez les individus classifiés comme non-porteurs était de 4 jours, de 14 jours chez les porteurs intermittents et de plus de 154 jours chez les porteurs permanents [26]. Enfin, l'analyse de la durée de colonisation par SARM chez des patients réhospitalisés a estimé que 48,8% (IC_{95%}, 45,8%–51,7%) des patients restaient colonisés après un an et 21,2% (IC_{95%}, 13,1%–31,4%) après 4 ans.

Tableau 4. Principaux travaux estimant la durée de colonisation par SARM

Références	Schéma de l'étude	Population	Sites de prélèvements	Fréquence des prélèvements	Définition de la décolonisation	Durée médiane de colonisation
Aeiltz, 1982 [171]	PR	Patients hospitalisés (SLD)	Nez, gorge, périnée, urine, crachat, plaie	Hebdomadaire	3 cultures négatives consécutives	44 jours (nez) ^a
Sanford, 1994 [169]	RE	Patients réhospitalisés	Nez, aisselle, aine, périnée, plaie, crachat, aspirat trachéal	A la réadmission	2 cultures négatives	40 mois
Scanvic, 2000 [170]	PR	Patients réhospitalisés	Nez, aisselle, aine, plaie	Dans les 3 jours suivant la réadmission	4 cultures négatives (réalisées sur 2 sites différents)	8,5 mois ^b
Eveillard, 2004 [172]	PR	Personnel hospitalier	Nez	Toutes les 3 semaines	1 culture négative	83 jours
Vriens, 2005 [177]	PR	Patients hospitalisés ou en consultation externe	Nez, gorge, périnée, plaie, peau, urine, crachat	Tous les 6 mois	Cultures négatives pour tous les sites (réalisées à partir de 3 prélèvements distincts)	14 mois
Marschall, 2006 [175]	RE	Patients hospitalisés	Nez, aine, plaie, sécrétion trachéale, urine	Intermittente	Cultures négatives pour tous les sites (réalisées à partir de 2 prélèvements distincts)	7,4 mois ^b
Lucet, 2009 [106]	PR	Patients hospitalisés puis en soins à domicile	Nez, plaie chronique	Mensuelle pendant les soins à domicile puis tous les 3 mois	2 cultures négatives à 1 semaine d'intervalle	282 jours ^b (9,4 mois)
Lautenbach, 2010 [174]	PR	Patients en consultation externe et contacts familiaux	Nez, aisselle, gorge, aine, périnée	Toutes les 2 semaines	Cultures négatives pour tous les sites	44 jours ^c (cas index) 54 jours ^c (contacts familiaux)
Mattner, 2010 [168]	RE	Patients réhospitalisés	Nez, gorge, plaie, prélèvement clinique	A la réadmission	3 cultures négatives sur 3 jours	549 jours ^b (18,3 mois)

Suite du tableau 4

Références	Schéma de l'étude	Population	Sites de prélèvements	Fréquence des prélèvements	Définition de la décolonisation	Durée médiane de colonisation
Larsson, 2011 [173]	RE	Cas communautaires	Nez, gorge, périnée, plaie	Mensuelle	3 à 4 cultures négatives pendant 2 mois puis 1 culture négative 1 an après	5,9 mois ^b
Haverkate, 2014 [167]	PR	Patients réhospitalisés	Nez, périnée, plaie	2 fois par semaine pendant l'hospitalisation puis à la réadmission	2 cultures négatives	0,4 mois (12 jours)
Rogers, 2014 [179]	PR	Patients sortis de l'hôpital	Nez, prélèvement clinique	1 prélèvement à domicile	1 culture négative	33,3 mois
Cluzet, 2015 [176]	PR	Patients hospitalisés et contacts familiaux	Nez, aisselle, aine	Toutes les 2 semaines	2 cultures négatives consécutives	21 jours ^b

Abréviations : PR, prospective ; RE, rétrospective ; SLD, soins de longue durée.

^a Autres sites de prélèvement : 83 jours (gorge), 30 jours (périnée), 30 jours (urine), 29 jours (crachat), 44 jours (plaie).

^b Estimation de Kaplan-Meier.

^c Moyenne.

Tous les travaux présentés ici se sont focalisés sur la durée de colonisation par SARM. A notre connaissance, aucune étude ne s'est spécifiquement intéressée à la durée de colonisation par SARM. Le deuxième objectif de ce travail de recherche dont les résultats sont présentés dans le chapitre 4 était d'étudier la persistance de SARM et de SASM et ainsi de comparer la durée de colonisation chez les souches résistantes et sensibles. Le fait de se placer chez des patients non colonisés par *S. aureus* à leur admission en centres de MPR et d'avoir un suivi hebdomadaire systématique de leur statut de colonisation nasale permettait de définir la date d'acquisition de la bactérie et d'estimer la durée de colonisation avec précision.

2.3.3 Facteurs influençant la perte de colonisation

Plusieurs travaux se sont intéressés aux facteurs influençant la perte de colonisation (décolonisation) de *S. aureus*, et donc par extension aux facteurs influençant la durée de colonisation. Certaines études ont identifié les facteurs associés au portage persistant (dont la définition ne fait actuellement pas l'objet d'un consensus, cf. 2.1.2), alors que d'autres se sont intéressées à déterminer les facteurs de décolonisation de la bactérie (en utilisant là encore des définitions différentes de la décolonisation, cf. 2.3.2).

Dans une étude réalisée afin d'identifier les facteurs associés à la décolonisation par SARM, l'âge avancé était associé à une durée de colonisation plus longue [176]. Ce résultat est en contradiction avec celui obtenu par Larsson *et al.* où le jeune âge était significativement associé à une plus longue durée de colonisation [173]. Concernant l'autonomie des individus, la décolonisation de SARM était associée à l'autosuffisance dans les activités quotidiennes [106]. Avoir des contacts familiaux colonisés par SARM, la présence d'au moins deux sites corporels positifs ainsi que la présence de plaies cutanées étaient des facteurs de persistance de SARM [170, 173, 175, 180]. Une étude portant sur la colonisation chez des patients hémodialysés a montré que ceux qui étaient infectés par le VIH étaient plus à risque de portage persistant [181]. Enfin, la contraception hormonale semblerait également jouer un rôle dans la persistance de colonisation nasale par *S. aureus* chez les femmes [182].

Larsson *et al.* ont identifié un facteur de risque de persistance de colonisation par SARM propre à la bactérie. En effet, dans leur étude, le *spa* type t002 était un facteur protecteur de décolonisation (HR, 0,57 ; IC_{95%}, 0,40–0,80) [173]. Une étude longitudinale réalisée chez 31 volontaires danois a quant à elle montré que le polymorphisme des gènes codant pour la coagulase et pour la protéine A ne contribuait pas à la persistance de *S. aureus* [183].

Concernant l'impact des antibiotiques sur la durée de colonisation, le traitement antibiotique d'une infection clinique était associé significativement à la décolonisation de SARM (HR, 2,17 ; IC_{95%}, 1,66–2,83), de la même manière qu'un traitement d'éradication topique (HR, 1,70 ; IC_{95%}, 1,16–2,49) ou systémique (HR, 3,45 ; IC_{95%}, 2,69–4,43) [173]. Harbarth *et al.* ont identifié l'utilisation antérieure de fluoroquinolones comme facteur de persistance de SARM

(HR, 1,8 ; IC_{95%}, 1,0–3,3) chez des patients participant à un essai clinique de traitement nasal par mupirocine [180]. Chez des patients présentant une infection des tissus mous, le traitement par clindamycine était associé à une décolonisation plus rapide de SARM (HR, 1,72 ; IC_{95%}, 1,28–2,30), bien que le mécanisme derrière cette association ne soit pas connu [176].

Le deuxième objectif de ce travail de recherche incluait également l'identification des facteurs influençant la perte de colonisation de SARM et de SASM. Les résultats obtenus à partir des données de la cohorte ASAR sont présentés dans le chapitre 4.

Chapitre 3. Facteurs de risque d'acquisition de *S. aureus*

Dans ce chapitre, nous présentons tout d'abord le contexte méthodologique, un résumé de l'article I, puis l'article lui-même (en anglais) et les données supplémentaires. Seuls le format des références bibliographiques et la numérotation des figures ont été modifiés afin de s'intégrer de façon cohérente dans ce manuscrit de thèse. Le PDF de l'article tel qu'il a été publié en 2014 dans la revue *Clinical Infectious Diseases* [184] est disponible en annexe selon les préférences de lecture.

3.1 Contexte méthodologique

3.1.1 Principe de l'analyse cas-cas-témoins

En épidémiologie, les analyses cas-témoins sont classiquement utilisées pour déterminer les facteurs de risque d'apparition d'un événement, le plus souvent une maladie, en comparant la fréquence d'exposition à un facteur de risque dans un groupe de sujets atteints de cette maladie (les cas) et dans un groupe de sujets indemnes de cette maladie (les témoins) [185]. Une fréquence plus élevée de l'exposition parmi les cas indique alors une possible association entre le facteur de risque et la maladie. L'un des critères fondamentaux dans le choix du groupe témoin est que les sujets n'ayant pas la maladie soient représentatifs de la population dont sont issus les cas, permettant ainsi de fournir une fréquence de base de l'exposition au facteur de risque [186].

Ce critère majeur peut faire défaut lorsque l'événement étudié est l'acquisition d'une bactérie résistante. En général, deux types de témoins peuvent être utilisés pour étudier l'acquisition d'une bactérie résistante à un antibiotique : des individus colonisés par la forme sensible de la bactérie ou des individus non colonisés. Dans certains cas, le groupe de témoins est mixte et est constitué de ces deux types.

Comme nous l'avons vu au chapitre 2, l'émergence d'une mutation conduisant une bactérie sensible à devenir résistante à un antibiotique est rare. Les témoins colonisés par une bactérie sensible ne sont donc pas représentatifs de la population source dont les cas sont issus. De plus, parce que la bactérie est sensible à l'antibiotique, l'exposition à cet antibiotique est moins importante dans ce groupe de témoins que dans la population source, ce qui peut surestimer l'association entre la prise de cet antibiotique et l'acquisition de la bactérie résistante [187, 188]. Ainsi, une étude portant sur les facteurs de risque d'acquisition de formes résistantes de *Pseudomonas aeruginosa*, d'entérocoques et d'*Escherichia coli* a montré que l'effet des antibiotiques mis en évidence en utilisant des témoins sensibles diminuait ou n'était plus significatif lorsqu'il s'agissait de témoins indemnes de la bactérie [189]. L'utilisation de témoins non colonisés permet *a contrario* une bonne représentativité de la population dont sont issus les cas. Néanmoins, dans ce type d'analyse, il n'est pas possible de différencier les

facteurs de risque de la bactérie résistante de ceux de la forme sensible, ainsi que les facteurs de risque d'acquisition indépendants du phénotype de résistance de la bactérie.

La méthodologie cas-cas-témoins décrite par Kaye *et al.* permet d'étudier les facteurs de risque d'organismes résistants [190]. Elle consiste à réaliser deux analyses cas-témoins au sein de la même étude : la première permet de comparer les cas colonisés par l'organisme résistant avec des témoins non colonisés par cet organisme ; la deuxième permet de comparer les cas colonisés par l'organisme sensible avec des témoins non colonisés (**Figure 5**). Ces deux analyses permettent ainsi d'identifier respectivement les facteurs spécifiques de la forme résistante et de la forme sensible. Si des facteurs de risque sont communs aux deux analyses, il s'agit de facteurs de risque de l'organisme indépendamment de son phénotype de résistance. C'est pour toutes ces raisons que nous avons utilisé ce schéma d'étude dans notre travail présenté en 3.3, afin de discriminer les facteurs d'acquisition de SARM et de SASM, et de déterminer les éventuels facteurs de risque communs à l'acquisition de *S. aureus*.

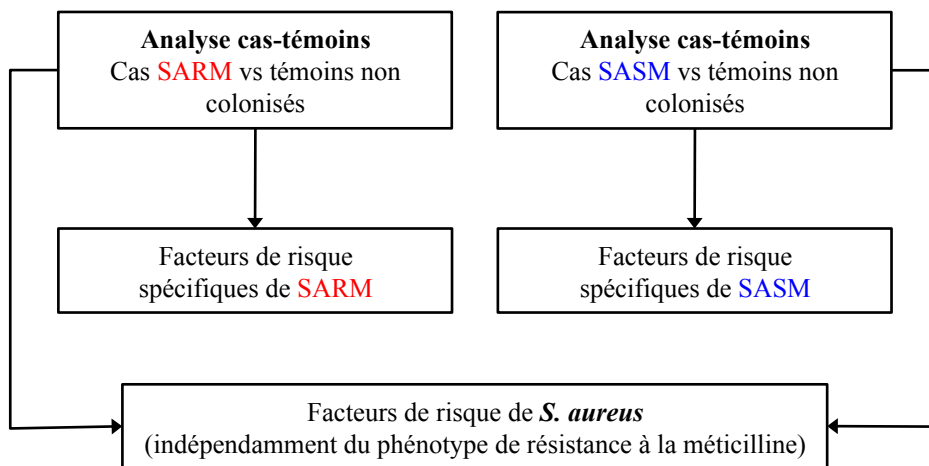


Figure 5. Principe de l'analyse cas-cas-témoins dans le cadre de l'étude de la colonisation par *S. aureus*

Le choix des témoins peut se faire de deux manières lors d'une analyse cas-cas-témoins. La première consiste à sélectionner le même groupe de témoins pour les deux analyses, permettant ainsi de comparer de façon optimale les deux modèles d'acquisition (c'est-à-dire de l'organisme résistant et de l'organisme sensible). La deuxième manière consiste à choisir deux groupes de témoins différents pour chacune des analyses cas-témoins. Le principal avantage de cette dernière est de faciliter l'appariement des cas et des témoins, donc d'obtenir des groupes de témoins comparables à ceux des cas. En revanche, parce que les témoins utilisés pour l'analyse des cas résistants et des cas sensibles sont différents, les résultats des deux modèles d'acquisition sont moins comparables que lorsqu'un même groupe de témoins est utilisé.

Dans notre travail, nous avons choisi de réaliser deux procédures d'appariement distinctes pour les cas résistants et les cas sensibles, et ce à partir du même groupe de témoins potentiels. Un témoin pouvait donc être utilisé dans les deux analyses cas-témoins, ce qui a concerné une grande majorité.

3.1.2 Critères d'appariement

Comme nous venons de l'indiquer, le fait de choisir deux groupes de témoins distincts pour l'analyse cas-cas-témoins permet d'apparier les cas et les témoins plus facilement. Un facteur de confusion important à prendre en compte dans les études s'intéressant à l'acquisition d'une bactérie résistante est la période à risque, c'est-à-dire la période entre l'admission et l'acquisition de la bactérie pour les cas, et la durée de suivi pour les témoins [191]. En effet, plus la durée de suivi est longue, plus le risque d'acquérir la bactérie est important, et plus le risque de consommer un antibiotique augmente. La période à risque est donc un facteur de confusion potentiel.

La pression de colonisation, définie par la proportion de patients colonisés par une bactérie dans une zone géographique donnée (un service par exemple) pendant une durée donnée [192], est également un paramètre important à prendre en compte lorsque l'on étudie les facteurs de risque d'acquisition d'une bactérie résistante. [193]. En effet, la pression de colonisation varie dans le temps en fonction des admissions et des sorties des patients et de leur statut de colonisation, ce qui peut influencer le risque de transmission interindividuelle. Plusieurs études ont notamment identifié la pression de colonisation comme facteur augmentant le risque d'acquisition de SARM [158, 194, 195]. Il est donc important de prendre en compte ce paramètre (ou des proxys) lors de l'analyse.

Afin d'obtenir une population de témoins comparables à celle des cas dans notre étude, un appariement a été réalisé sur trois critères : la durée d'exposition prise en compte dans l'analyse, le centre et la date de premier prélèvement nasal (\pm six mois), les deux derniers critères permettant d'ajuster sur la pression de colonisation (**Figure 6**). La durée d'exposition prise en compte dans l'analyse pour les cas était définie comme la période à risque, c'est-à-dire la période entre l'admission et l'acquisition de *S. aureus*. En revanche, la durée d'exposition prise en compte dans l'analyse pour les témoins correspondait à leur durée de suivi, qui devait être au moins égale à la période à risque des cas. Si elle lui était supérieure, la durée d'exposition prise en compte dans l'analyse pour les témoins était fixée de manière à égaler la période à risque des cas.

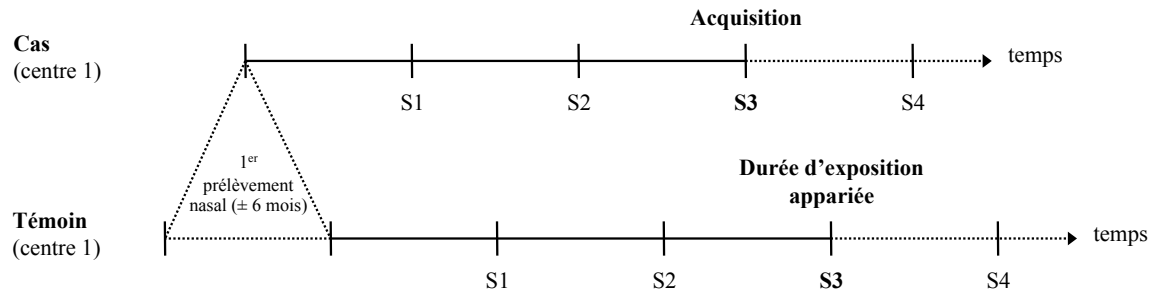


Figure 6. Appariement des cas et des témoins

Dans cet exemple, le cas et le témoin sont issus du même centre (centre 1). La date de premier prélèvement nasal du témoin se situe jusqu'à six mois avant ou six mois après le premier prélèvement nasal du cas. Enfin, le cas se colonise ici au cours de la troisième semaine de suivi (S3), la durée d'exposition prise en compte dans l'analyse est donc de trois semaines. La durée d'exposition prise en compte dans l'analyse pour le témoin est également de trois semaines (même si son suivi se prolonge au-delà).

3.2 Résumé de l'article I

Le premier objectif de cette thèse était d'identifier les facteurs d'acquisition de *S. aureus*, et plus particulièrement les facteurs de risque d'acquisition de SARM dans des services de MPR. La colonisation, par définition asymptomatique, est une étape importante dans le processus de dissémination de *S. aureus* dans la population. De plus, la colonisation par *S. aureus* précède souvent le développement d'une infection [18]. De nombreux facteurs de risque de colonisation et/ou d'infection par SARM ont été décrits dans la littérature, notamment des marqueurs de la transmission interindividuelle et de la pression de colonisation [152, 195, 196]. Des travaux ont également rapporté que l'utilisation de fluoroquinolones était associée à la colonisation et/ou à l'infection par SARM [152-161]. Cependant, le protocole de ces études ne permettait pas toujours de distinguer les patients ayant acquis la bactérie au cours de leur hospitalisation des patients déjà colonisés ou infectés à leur admission (cf. Tableau 3 du chapitre 2). L'objectif de ce travail était d'identifier les facteurs de risque d'acquisition de colonisation par SARM, et en particulier l'influence des fluoroquinolones.

Pour cela, nous avons utilisé les données de la cohorte multicentrique prospective ASAR incluant des patients non porteurs de *S. aureus* à l'admission et hospitalisés en services de MPR de janvier 2008 à octobre 2010. L'intérêt de réaliser cette étude sur des patients hospitalisés en rééducation était de pouvoir les suivre pendant une durée raisonnablement prolongée et permettre ainsi d'observer l'acquisition de SARM au cours de leur suivi. Le statut de colonisation nasale et les facteurs de risque d'acquisition potentiels ont été recueillis hebdomadairement pendant 13 semaines ou jusqu'à la sortie du patient. Il est important de souligner que, dans cette étude, le terme d'acquisition a été utilisé pour définir, chez les patients initialement non colonisés par *S. aureus* à l'admission, le premier prélèvement nasal positif pour

cette bactérie au cours du suivi hebdomadaire. Nous avons choisi de réaliser une analyse cas-cas-témoins, présentée au début de ce chapitre, afin de différencier les facteurs de risque d'acquisition spécifiques de SARM et de SASM. Les cas et les témoins étaient appariés sur le centre, la date de premier prélèvement nasal et la durée d'exposition prise en compte dans l'analyse afin d'ajuster sur la pression de colonisation et sur la période à risque d'acquisition.

Dans ce travail, nous avons mis en évidence que la consommation de fluoroquinolones était un facteur de risque d'acquisition de SARM, mais pas de SASM, confirmant ainsi notre hypothèse de travail. Il s'agit à notre connaissance du premier article mettant en évidence l'association entre cette classe d'antibiotiques et l'acquisition de colonisation par SARM dans des établissements de soins de longue durée. De plus, nous avons identifié le sexe masculin et l'intensité élevée des soins à l'admission comme facteurs de risque d'acquisition de SARM, l'assistance à la toilette et l'utilisation d'un dispositif urinaire comme facteurs de risque d'acquisition de SASM. Ces résultats suggèrent que l'acquisition de *S. aureus*, indépendamment du phénotype de résistance à la méticilline, serait le résultat d'une transmission interindividuelle. En effet, l'intensité des soins à l'admission, l'assistance à la toilette et la présence d'un dispositif urinaire sont des indicateurs d'une fréquence de contacts élevée avec le personnel soignant.

Ce premier travail confirme que les bonnes pratiques d'hygiène sont nécessaires pour maîtriser la diffusion de *S. aureus* dans les services de MPR et qu'il est important d'intégrer les fluoroquinolones dans les politiques de bon et de moindre usage des antibiotiques afin de limiter l'acquisition de SARM. Afin d'étudier les différentes étapes de l'histoire naturelle du staphylocoque doré, nous nous attacherons dans le prochain chapitre à déterminer la durée de colonisation par SARM et par SASM et à identifier les facteurs pouvant influencer la perte de colonisation.

3.3 Article I : Fluoroquinolone use is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a nested case-case-control study

Authors. Clotilde Couderc^{1,2,3,a}, Sarah Jolivet^{1,2,3,a}, Anne CM Thiébaud^{1,2,3}, Caroline Ligier^{1,2,3}, Laetitia Remy⁴, Anne-Sophie Alvarez⁴, Christine Lawrence⁴, Jérôme Salomon⁵, Jean-Louis Herrmann^{4,6}, Didier Guillemot^{1,2,3} on behalf of the Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group^b

¹ Unité de Pharmaco-Épidémiologie et Maladies Infectieuses, Institut Pasteur, Paris

² U657, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris

³ EA 4499, Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny le Bretonneux

⁴ Service de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches

⁵ Laboratoire Modélisation Épidémiologie et Surveillance des Risques Sanitaires, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris

⁶ EA 3647, Université de Versailles–Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny le Bretonneux

^a CC and SJ contributed equally to this work

^b The ASAR Study Group also includes C. Bernède-Bauduin, I. Bertucci, C. Dupont, O. Le Minor, A. Petit, and T. Sorel

Keywords. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, fluoroquinolone, case-case-control study, long-term care facility, acquisition

Abstract

Background. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization is a well-established risk factor for subsequent infection and a key event in interindividual transmission. Some studies have showed an association between fluoroquinolones and MRSA colonization or infection. The present study was performed to identify specific risk factors for MRSA acquisition in long-term care facilities (LTCFs).

Methods. A prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization was established and followed (January 2008 through October 2010) in 4 French LTCFs. Nasal colonization status and potential risk factors were assessed weekly for 13 weeks after inclusion. Variables associated with *S. aureus* acquisition were identified in a nested-matched case-case-control study using conditional logistic regression models. Cases were patients who acquired MRSA (or methicillin-sensitive *S. aureus* [MSSA]). Patients whose nasal swab samples were always negative served as controls. Matching criteria were center, date of first nasal swab, and exposure time.

Results. Among 451 included patients, 76 MRSA cases were matched to 207 controls and 112 MSSA cases to 208 controls. Multivariable analysis retained fluoroquinolones (odds ratio, 2.17; 95% confidence interval, 1.01–4.67), male sex (2.09; 1.10–3.98), and more intensive care at admission (3.24; 1.74–6.04) as significantly associated with MRSA acquisition, and body-washing assistance (2.85; 1.27–6.42) and use of a urination device (1.79; 1.01–3.18) as significantly associated with MSSA acquisition.

Conclusions. Our results suggest that fluoroquinolones are a risk factor for MRSA acquisition. Control measures to limit MRSA spread in LTCFs should also be based on optimization of fluoroquinolone use.

Introduction

Staphylococcus aureus is a commensal organism colonizing several sites in the human body, especially the anterior nares. This Gram-positive bacterium is responsible for numerous infections including skin infections, bacteremia or respiratory diseases. Notably, 30%–50% of healthy adults are colonized by *S. aureus*, and nasal colonization is known to be an important

risk factor for subsequent infection [18, 28], with infection rates higher in carriers than in noncarriers [27, 197, 198] and individuals usually being infected with their own carriage isolate [28]. Moreover, the highest risk of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) infection occurs shortly after patients become newly colonized [199].

MRSA was first described in 1961 in England [7] and has since been responsible for numerous hospital and community epidemics worldwide [200]. Despite concerted efforts, control of MRSA diffusion remains elusive in healthcare facilities in many developed countries. MRSA colonization is the major factor leading to the occurrence of infection and results in increased morbidity and mortality rates and hospital costs [102, 201]. Extra in-hospital costs specifically attributable to MRSA infections are estimated to reach 380 million euros annually in Europe [3]. Thus, identification of risk factors for MRSA colonization might help in the development of strategies to prevent MRSA spread in human populations.

Numerous risk factors for MRSA colonization and/or infection have already been identified, including previous hospitalization, age, invasive procedure, coma, intensive care unit (ICU) stay, intensity of care, or prior MRSA colonization [39, 181, 196, 202]. Among these factors, the intensity of contacts between healthcare workers and patients might play a crucial role [203]. Use of antibiotics, particularly fluoroquinolones, was associated with increased risk of MRSA colonization in tertiary care hospitals [152, 161, 180]. MRSA diffusion in a population includes 3 individual-level components (acquisition, persistence of colonization and transmission to another person), and the mechanism behind their association with antibiotic use is poorly understood. Therefore, it is of major importance to investigate whether fluoroquinolone use influences MRSA acquisition, persistence of colonization, or transmission. Herein, we report the results of a study designed to investigate the specific effect of fluoroquinolones on MRSA acquisition.

Methods

Settings and Study Design

We established a prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization to examine risk factors for *S. aureus* acquisition. The study was conducted in France from January 2008 to October 2010 in 4 neurologic long-term care facilities (LTCFs): Raymond-Poincaré University Hospital, Garches (2 wards), Maritime Hospital, Berck (2 wards), Jacques-Calvé Center, Berck (2 wards), and Sainte-Barbe Center, Fouquières-lès-Lens (4 wards). Hereafter, these LTCFs are respectively referred to as centers 1, 2, 3, and 4. They were chosen because their average duration of patient stay is 3 months, thereby allowing the role of longer patient follow-up in the probability of *S. aureus* acquisition to be evaluated. Patients hospitalized in LTCFs for neurologic impairment often need extensive care and assistance involving multiple contacts with healthcare workers and antibiotics for urinary infections. In addition, LTCFs may serve as

a reservoir for the spread and control of MRSA among hospital providing more-acute care [204].

Patients were included if they were ≥ 18 years old, not initially colonized with *S. aureus* (negative nasal and perineal swab samples at admission), and were hospitalized for a neurologic disorder with an expected length of stay ≥ 2 months. Immunocompromised patients were excluded. For each patient, nasal colonization status and potential risk factors were collected weekly for at least 13 weeks after inclusion or until discharge if that occurred earlier. MRSA and/or methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) acquisition was defined as the first positive nasal swab sample during follow-up.

Variables associated with *S. aureus* acquisition were investigated in a nested-matched case-control study, which uses 2 separate case-control analyses in a single study [190]. Cases were patients who acquired MRSA (or MSSA). If a patient had acquired both MRSA and MSSA at the first positive nasal swab sample, he or she was considered to be both an MRSA case and an MSSA case in the analyses. Patients whose nasal swab samples were always negative during follow-up served as controls. MRSA and MSSA cases were then compared with different MRSA- and MSSA-negative control groups. This study design allows comparison of the 2 final models and the identification of risk factors specifically associated with MRSA, MSSA, and/or *S. aureus* acquisition [190].

Each MRSA case was matched with ≤ 3 controls and each MSSA case with ≤ 2 controls by center, date of first nasal swab sample (± 6 months), and exposure time. Exposure time for a case was defined from the date of inclusion in the study to the date of *S. aureus* acquisition [205]. The matched control should have been followed up for at least the same exposure time period. After matching, exposure time for each control was set to equal that of his or her matched case. Matching for exposure time allowed adjustment for confounding by time at risk [191], and matching for center and date of first nasal swab sample served to limit potential confounding by colonization pressure [194]. Matched controls were randomly selected and could be used in both analyses, because matching procedures for MRSA and MSSA cases were performed separately.

Data Collection

At inclusion, sociodemographic data (sex and age) were collected, as well as clinical characteristics (type of neurologic disorder, diabetes mellitus, intensive care burden at admission, skin lesions at admission) and preadmission history (transfer from another healthcare facility, hospitalization during the preceding year, prior ICU admission, surgery or LTCF stay during the preceding 3 months, and antibiotic use during the past month).

Every week, the following data were prospectively recorded using standardized questionnaires: strict and/or contact isolation, invasive medical device use (catheter, tracheostomy, enteral

nutrition, or urination device), aseptic dressing, body-washing assistance, manual evacuation of fecal impaction, and wound swabbing for *S. aureus* identification.

Regarding antimicrobial use, daily exposure was recorded either in computerized pharmacy records or in specific standardized questionnaires for the entire institutionalization period. Antimicrobial agents were classified as follows: β -lactams, macrolides, lincosamides and streptogramins, aminoglycosides, fluoroquinolones, other anti-*Staphylococcus* agents (including tetracyclines, pipemidic acid, polymyxins, fusidic acid, metronidazole, sulfonamides, nitrofurantoin derivatives, and rifampicin).

For antimicrobial use and variables collected weekly during follow-up, patients who were exposed at least once during their exposure time were considered exposed.

Microbiologic Methods

To assess *S. aureus* colonization, alginate swabs were rotated around the inside of both nostrils. Swabs were then placed in Stuart's transport medium (Transwab; Medical Wire and Equipment) and kept at room temperature until arrival at the Microbiology of Raymond-Poincaré University Hospital. Screening for MRSA and antimicrobial susceptibility testing were performed (see Supplementary Methods). To determine *S. aureus* clonal diversity, all strains isolated from the first positive nasal swab samples were subjected to *spa* typing.

Statistical Analyses

Categorical variables were compared using χ^2 or Fisher exact tests; continuous variables were compared with Student *t* tests. Univariate and multivariable analyses used conditional logistic regression models. Odds ratios (ORs) and 95% confidence interval (CIs) were calculated for all variables, and all significant associations were evaluated. All variables with Wald test $P < .20$ in univariate analyses were included in the multivariable models (hereafter referred to as full models). Backward-stepwise approaches were used to identify independent predictors. Variables were removed one by one manually, starting with the variable with the highest P value, until all remaining variables had statistically significant OR estimates, leading to the final adjusted models. Wald tests were performed to systematically evaluate all pairwise interaction terms in each final model. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test was used to assess model fit. Sensitivity analyses were performed after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after inclusion or patients receiving antibiotic therapy at admission. A further analysis was performed after restricting MRSA cases to those with a fluoroquinolone-resistant phenotype. For all calculations, statistical significance was defined at $P < .05$ (2 sided). All analyses were performed using Stata software (version 11; StataCorp).

Ethics

An institutional review board (Comité de Protection des Personnes Ile-de-France XI) approved the study protocol (reference 07032); no written informed consent was obtained from the patients because the study interventions were standard care. Authorization was also obtained

from the Commission nationale de l'informatique et des libertés (French Data Protection Agency; reference 907302).

Results

Study Population

From January 2008 to October 2010, a total of 952 patients were preincluded (**Figure 7**). Among them, 414 (43.5%) *S. aureus* carriers at admission were excluded. Colonization pressure was similar across centers (see supplementary **Table 7**). In total, 451 patients were included from centers 1, 2, 3 and 4, respectively: 159 (35.3%), 59 (13.1%), 150 (33.3%), and 83 (18.4%). The cohort's overall mean age was 51.7 years, 289 patients (64.1%) were male, and 255 (56.5%) were followed up for 13 weeks.

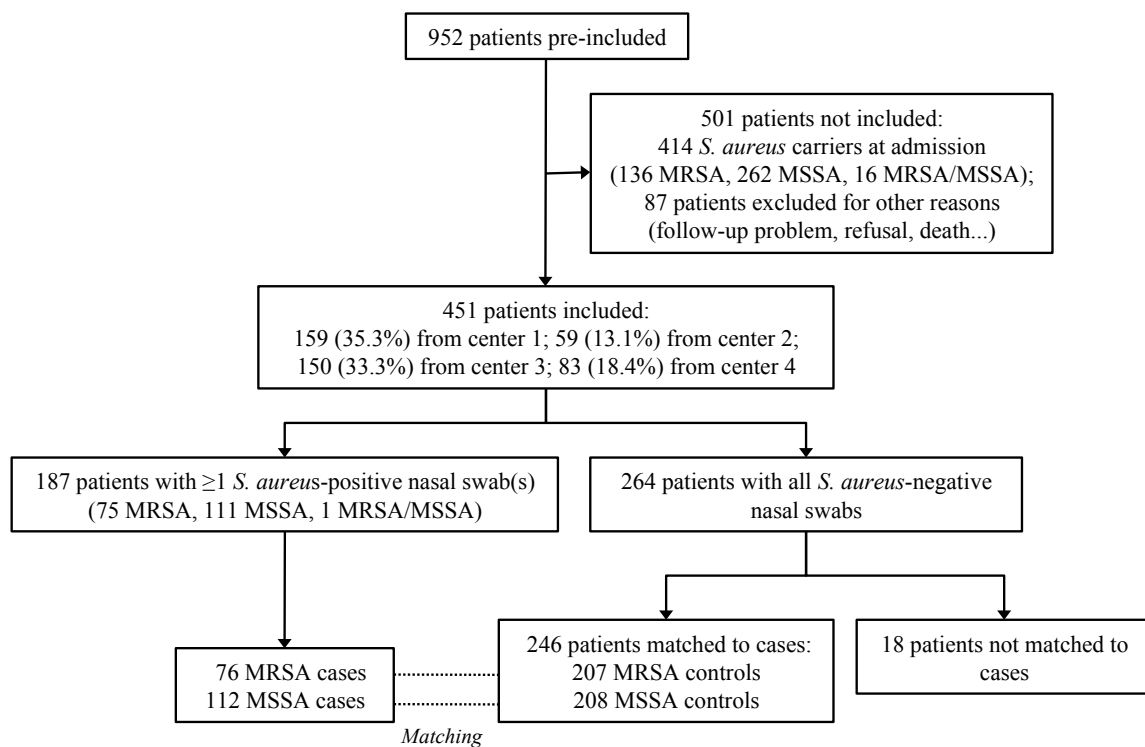


Figure 7. Flowchart of the study population and case-case-control matching

Center 1 was Raymond-Poincaré University Hospital (Garches, France); center 2, Maritime Hospital (Berck, France); center 3, Jacques-Calvé Center (Berck, France); and center 4, Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens, France). The resistance phenotype of the *S. aureus*-positive strains corresponds to the first positive nasal swab sample during follow-up (ie, at *S. aureus* acquisition). Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

During follow-up, 187 patients had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab sample. The percentages of patients who acquired *S. aureus* did not differ among centers ($P = .37$). In total, 76 or 112

patients, respectively, acquired MRSA or MSSA based on their first positive nasal swab sample (1 patient acquired both). The median time from inclusion to MRSA acquisition was 5 weeks (interquartile range, 2–8 weeks) and did not differ significantly ($P = .08$) from the median time to MSSA acquisition (4 weeks; interquartile range, 2–6 weeks). Nasal swab samples of the remaining 264 patients were negative for *S. aureus* during follow-up.

Among the 188 *S. aureus* isolates, 71 (93.4%) of the 76 MRSA strains and 8 (7.1%) of the 112 MSSA strains were fluoroquinolone resistant. The 178 *S. aureus* (94.7%) represented 69 *spa* types, and no known *spa* type could be identified for 6. The 3 predominant *spa* types were t008 (19.1%), t777 (10.1%), and t002 (6.7%) (**Figure 8**). MRSA strains were less diverse than MSSA strains (21 and 56 *spa* types, respectively), with 8 shared *spa* types.

The 76 MRSA cases were matched to 207 MRSA controls, with 55 (72.4%) each matched to 3 controls. The 112 MSSA cases were matched to 208 MSSA controls, with 96 (85.7%) each matched to 2 controls. Among the 264 potential controls, 246 (93.2%) were used for MRSA or MSSA matching, including 170 (69.1%) used for both MRSA and MSSA matching.

Based on exposure time, the protocol called for a total of 2883 samples to be obtained (1 sample per week). Of these, 254 (8.8%) were missing. During this period, the most prescribed antibiotics were ciprofloxacin (70.4%) among fluoroquinolones and amoxicillin/clavulanic acid (33.3%) among β -lactams.

At admission, case-matched controls ($n = 246$) were comparable to controls ($n = 18$) not used in the analyses, except for center ($P = .01$). The latter were also more likely to be men ($P = .002$) or to have had a previous LTCF stay ($P = .01$) and were less likely than case-matched controls to have undergone prior surgery ($P = .02$) or a prior ICU stay ($P = .02$).

Case-Case-Control Analysis

According to univariate analyses (**Table 5**), MRSA acquisition was significantly more frequent in male patients, patients requiring more intensive care at admission, and those hospitalized during the past year or admitted to the ICU during the preceding 3 months, and it was significantly associated with β -lactam or fluoroquinolone use and the need for body-washing assistance during follow-up.

Risk factors were also analyzed for MSSA acquisition. Age distributions differed significantly between MSSA cases and controls, but with no trend according to age. MSSA acquisition was significantly associated with manual evacuation of fecal impaction, body-washing assistance, or use of a urination device. During follow-up, patients whose wounds were swabbed were more likely to acquire MSSA than patients with no wound sampled.

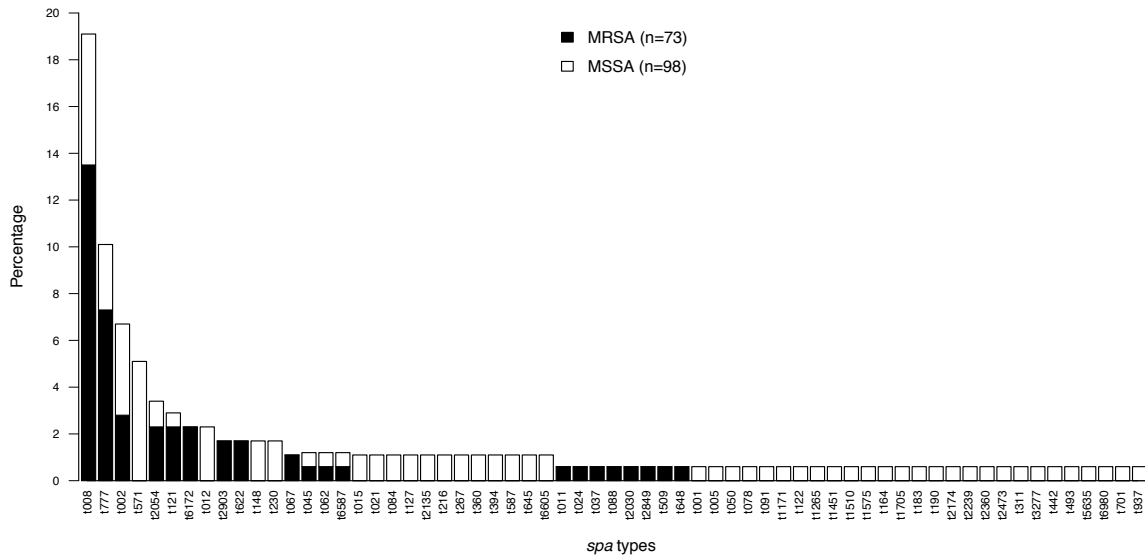


Figure 8. Diversity of *spa* types at acquisition for methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA)

The 6 strains that could not be assigned to any known *spa* types are not shown (1 MRSA and 5 MSSA).

Multivariable analyses retained 3 factors significantly and independently associated with MRSA acquisition: male sex (OR, 2.09; 95% CI, 1.10–3.98), higher intensive care burden at admission (3.24; 1.74–6.04), or fluoroquinolone use (2.17; 1.01–4.67) (**Table 6**). The independent risk factors for MSSA acquisition were the need for body-washing assistance during follow-up (OR, 2.85; 95% CI, 1.27–6.42) or use of a urination device (1.79; 1.01–3.18). No statistically significant interaction between risk factors was found. Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test results indicated that the final MRSA or MSSA acquisition models reflected the data well ($P = .94$ and $P = .80$, respectively).

Similar MRSA and MSSA risk factors were found in multivariable case-control analyses after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after inclusion or patients receiving antibiotic therapy at admission (supplementary **Table 9**). In addition, fluoroquinolone use was also significantly associated with fluoroquinolone-resistant MRSA acquisition (supplementary **Table 9**).

Discussion

Our main objective was to identify risk factors for MRSA acquisition. To the best of our knowledge, this is the first study designed to prospectively evaluate those risk factors in a case-case-control analysis. That study design is considered an effective and more accurate tool to assess risk factors for resistant organisms than a standard case-control design, because it allows simultaneous comparison of the risk factors for the isolation of antibiotic-resistant or antibiotic-susceptible strains [190].

Table 5. Univariate analyses of MRSA and MSSA cases vs controls

Variable	MRSA, No. (%) ^a		MSSA, No. (%) ^a		Univariate analyses			
	Cases	Controls	Cases	Controls	MRSA: Cases vs Controls		MSSA: Cases vs Controls	
	(n = 76)	(n = 207)	(n = 112)	(n = 208)	OR (95% CI)	P Value ^b	OR (95% CI)	P Value ^b
Demographics								
Male sex	53 (69.7)	118 (57.0)	77 (68.8)	124 (59.6)	1.88 (1.03–3.43)	.04	1.55 (.96–2.49)	.08
Age, y								
18–29	11 (14.5)	19 (9.1)	13 (11.6)	19 (9.1)	Reference	.62	Reference	.047
30–49	20 (26.3)	61 (29.5)	39 (34.8)	61 (29.3)	0.55 (.22–1.37)		0.82 (.33–2.05)	
50–69	38 (50.0)	105 (50.7)	40 (35.7)	107 (51.4)	0.61 (.27–1.40)		0.49 (.20–1.19)	
≥70	7 (9.2)	22 (10.6)	20 (17.9)	21 (10.1)	0.57 (.18–1.77)		1.26 (.45–3.54)	
Baseline clinical characteristic								
Cerebral neurologic disorder ^c	54 (72.0)	151 (74.4)	82 (73.9)	148 (73.3)	0.91 (.48–1.71)	.77	1.00 (.58–1.72)	1
Diabetes mellitus	8 (10.7)	32 (15.8)	16 (14.6)	32 (15.8)	0.65 (.28–1.48)	.30	0.78 (.40–1.53)	.47
More intensive care at admission ^d	57 (76.0)	100 (49.0)	62 (56.4)	103 (50.7)	3.35 (1.82–6.17)	<.001	1.35 (.80–2.27)	.26
Skin lesions at admission	21 (28.0)	54 (26.6)	37 (33.6)	55 (27.2)	1.05 (.59–1.86)	.88	1.48 (.86–2.53)	.16
History (before admission)								
Admission from healthcare facility	68 (90.7)	181 (88.7)	96 (87.3)	182 (89.7)	1.42 (.56–3.57)	.46	0.70 (.32–1.55)	.38
Previous hospitalization	70 (94.6)	167 (85.2)	99 (91.7)	176 (88.4)	3.43 (1.14–10.3)	.03	1.32 (.56–3.09)	.53
Previous ICU stay	43 (57.3)	81 (41.1)	48 (44.9)	85 (42.9)	1.97 (1.12–3.47)	.02	1.16 (.69–1.95)	.57
Previous surgical stay	33 (44.0)	83 (42.4)	44 (41.5)	83 (42.1)	1.08 (.63–1.87)	.78	1.04 (.64–1.71)	.87
Previous LTCF stay	11 (14.7)	20 (10.0)	10 (9.3)	20 (10.1)	1.57 (.72–3.42)	.26	1.00 (.45–2.23)	1
Previous antibiotic therapy	34 (44.7)	71 (34.3)	38 (33.9)	66 (31.7)	1.53 (.90–2.59)	.12	1.15 (.69–1.91)	.60
Antimicrobial use^e								
Any	29 (38.2)	57 (27.5)	25 (22.3)	55 (26.4)	1.60 (.90–2.86)	.11	0.85 (.49–1.49)	.31
β-lactams	19 (25.0)	29 (14.0)	12 (10.7)	27 (13.0)	2.06 (1.05–4.06)	.04	0.86 (.41–1.77)	.67
Macrolides, lincosamides, or streptogramins	1 (1.3)	5 (2.4)	2 (1.8)	5 (2.4)	0.53 (.06–4.90)	.57	0.80 (.16–4.12)	.79
Aminoglycosides	6 (7.9)	10 (4.8)	4 (3.6)	8 (3.9)	1.64 (.57–4.71)	.36	1.00 (.30–3.32)	1
Fluoroquinolones	15 (19.7)	19 (9.2)	8 (7.1)	18 (8.7)	2.39 (1.13–5.05)	.02	0.88 (.36–2.12)	.77
Other anti- <i>Staphylococcus</i> agents ^f	1 (1.3)	2 (1.0)	1 (0.9)	3 (1.4)	1.30 (.12–14.5)	.83	0.67 (.07–6.41)	.73
Other antimicrobials ^g	12 (15.8)	25 (12.1)	9 (8.0)	27 (13.0)	1.31 (.63–2.74)	.47	0.61 (.27–1.36)	.23

Table 5 continued

Variable	MRSA, No. (%) ^a		MSSA, No. (%) ^a		Univariate analyses			
	Cases (n = 76)	Controls (n = 207)	Cases (n = 112)	Controls (n = 208)	MRSA: Cases vs Controls		MSSA: Cases vs Controls	
					OR (95% CI)	P Value ^b	OR (95% CI)	P Value ^b
Other follow-up variable^c								
Strict isolation	17 (22.7)	42 (20.5)	19 (17.8)	33 (16.4)	1.13 (.59–2.17)	.71	1.06 (.56–2.00)	.87
Contact isolation	20 (26.7)	50 (24.5)	25 (23.4)	45 (22.4)	1.27 (.63–2.56)	.51	1.22 (.66–2.25)	.76
Catheter	17 (22.4)	31 (15.0)	14 (12.5)	26 (12.5)	1.74 (.87–3.49)	.12	1.07 (.52–2.22)	.85
Tracheostomy	10 (13.2)	27 (13.0)	15 (13.4)	28 (13.5)	0.95 (.44–2.06)	.90	1.06 (.55–2.03)	.87
Aseptic dressing	11 (14.5)	20 (9.7)	15 (13.4)	18 (8.7)	1.59 (.72–3.52)	.25	1.63 (.76–3.51)	.21
Enteral nutrition	17 (22.7)	28 (13.6)	16 (14.7)	25 (12.4)	1.73 (.87–3.46)	.12	1.27 (.65–2.50)	.48
Manual evacuation of faecal impaction	14 (18.7)	24 (11.7)	23 (21.3)	24 (11.8)	1.87 (.91–3.85)	.09	2.21 (1.14–4.24)	.02
Body-washing assistance	67 (89.3)	163 (79.5)	97 (90.0)	157 (77.7)	2.60 (1.09–6.18)	.03	3.22 (1.44–7.19)	.004
Urination device	22 (29.3)	44 (21.5)	33 (30.3)	37 (18.3)	1.53 (.85–2.75)	.16	1.95 (1.12–3.40)	.02
Wound swabbing	28 (36.8)	56 (27.1)	43 (38.4)	55 (26.4)	1.55 (.89–2.70)	.12	1.83 (1.10–3.03)	.02

⊗ Abbreviations: CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; LTCF, long-term care facility; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; OR, odds ratio.

^a Percentage are based on the number of patients whose data were available (ie, excluding missing data; see supplementary **Table 8**).

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c Compared with medullary or peripheral neurologic disorder.

^d Compared with less intensive care at admission.

^e Exposed at least once since admission.

^f Including glycopeptides, fosfomicin, and linezolid.

^g Including tetracyclines, piperidic acid, polymyxins, fusidic acid, metronidazole, sulfonamides, nitrofurantoin derivatives, and rifampicin.

Table 6. Multivariable analyses of MRSA and MSSA cases vs controls

Variable	MRSA: Cases vs Controls				MSSA: Cases vs Controls			
	Full model ^a		Final adjusted model ^b		Full model ^a		Final adjusted model ^b	
	OR (95% CI)	<i>P</i> Value	OR (95% CI)	<i>P</i> Value	OR (95% CI)	<i>P</i> Value	OR (95% CI)	<i>P</i> Value
Demographics								
Male sex	2.07 (1.01–4.23)	.047	2.09 (1.10–3.98)	.025	0.62 (.36–1.08)	.09	-	-
Age, y								
18-29	-	-	-	-	Reference	.16	-	-
30-49	-	-	-	-	0.94 (.34–2.61)		-	-
50-69	-	-	-	-	0.58 (.21–1.61)		-	-
≥70	-	-	-	-	1.39 (.43–4.53)		-	-
Baseline clinical characteristic								
More intensive care at admission ^c	2.75 (1.23–6.10)	.013	3.24 (1.74–6.04)	<.001	-	-	-	-
Skin lesions at admission	-	-	-	-	0.97 (.49–1.92)	.93	-	-
History (prior to admission)								
Previous hospitalization	2.67 (.74–9.64)	.13	-	-	-	-	-	-
Previous ICU stay	1.57 (.79–3.12)	.20	-	-	-	-	-	-
Previous antibiotic therapy	1.14 (.57–2.29)	.71	-	-	-	-	-	-
Antimicrobial use^d								
β-lactams	0.75 (.31–1.81)	.53	-	-	-	-	-	-
Fluoroquinolones	2.33 (1.00–5.45)	.05	2.17 (1.01–4.67)	.049	-	-	-	-
Other follow-up variable^d								
Catheter	1.02 (.45–2.31)	.97	-	-	-	-	-	-
Enteral nutrition	0.56 (.20–1.56)	.27	-	-	-	-	-	-
Manual evacuation of fecal impaction	1.15 (.43–3.07)	.79	-	-	1.11 (.47–2.63)	.81	-	-
Body-washing assistance	1.13 (.40–3.21)	.81	-	-	2.58 (1.04–6.36)	.04	2.85 (1.27–6.42)	.01
Urination device	1.01 (.44–2.35)	.98	-	-	1.54 (.77–3.09)	.22	1.79 (1.01–3.18)	.047
Wound swabbing	1.13 (.53–2.43)	.76	-	-	1.57 (.80–3.08)	.19	-	-

Abbreviations: CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; OR, odds ratio.

^a Multivariable full models correspond to models including all the variables with Wald test *P* value <.20 in univariate analyses.

^b Final adjusted models correspond to models including all the remaining variables showing significant OR estimates after manual backward-stepwise selections.

^c Compared with less intensive care at admission.

^d Exposed at least once since admission.

A key finding was that previous fluoroquinolone use was significantly associated with MRSA but not MSSA acquisition. That observation strongly suggests that fluoroquinolone use facilitates MRSA acquisition. Previous studies had identified fluoroquinolone use as increasing the risk for MRSA colonization [152, 180] or infection [150, 153, 155] compared with MSSA or absence of *S. aureus* isolation. A meta-analysis that included 24 320 patients showed that the risk of MRSA colonization or infection increased 3-fold after exposure to fluoroquinolones [149].

Two mechanisms changing MRSA biologic properties after exposure to fluoroquinolones, might explain how these antibiotics influence MRSA acquisition. First, fluoroquinolone exposure could affect fluoroquinolone-resistant *S. aureus* adhesion. Two in vitro studies showed that subinhibitory ciprofloxacin levels induced the expression of fibronectin-binding proteins by fluoroquinolone-resistant *S. aureus*, leading to increased adhesion to fibronectin-coated surfaces [162, 163]. Second, fluoroquinolones might also increase MRSA growth. Thus, half the fluoroquinolone minimal inhibitory concentration increased the proportion of the more resistant subpopulations in heteroresistant *S. aureus* >10-fold [164].

We identified 2 additional risk factors for MRSA acquisition: male sex and the need for more intensive care at admission. Male sex had previously been found to be a risk factor [39, 206, 207], probably because of the higher frequencies of others factors predisposing men rather than women to MRSA acquisition. Moreover, because controls not used in the analyses were more likely to be men than case-matched controls, male sex being a risk factor for MRSA acquisition might partly be an artifact of control selection. More intensive care at admission was previously reported to be associated with acquisition of several antibiotic-resistant organisms, including MRSA [152]. This risk factor may be a marker of disease severity and may reflect the high level of healthcare worker contacts linked to interindividual transmission.

We did not find any concordance among risk factors for MRSA and MSSA acquisition, but factors associated with MRSA (eg, more intensive care at admission) or with MSSA acquisition (eg, body-washing assistance and urination device) reflect frequent contacts with healthcare workers, suggesting that factors involved in interindividual transmission are risk factors for *S. aureus* acquisition, regardless of the methicillin resistance phenotype. That possibility is supported by univariate analysis identification of body-washing assistance as significantly associated with MRSA and MSSA acquisitions.

The methods used to investigate MRSA colonization of infection risk factors have differed widely across studies, especially regarding study design (cross-sectional or longitudinal), adjustment for the at-risk period or comorbid conditions, and the control group definition, which could lead to biased evaluation of antibiotic impact. For example, using MSSA-colonized patients as controls could overestimate the association between antibiotic use and MRSA colonization [191]. To date, almost no well-designed epidemiologic studies have ever been

undertaken to provide evidence of an association between previous antibiotic exposure and the risk of MRSA acquisition. The case-case-control study design usually uses the same control group for pathogen-resistant and pathogen-sensitive risk-factor analyses [190]. In the present study, we compared MRSA and MSSA cases with different control groups, to match cases and controls according to 3 important confounding variables (center, date of first nasal swab sample, and exposure time), making the controls more representative of the source population from which MRSA and MSSA cases originated. Although the choice of 2 separate control groups may affect comparison of risk factors between the 2 case-control analyses, the fact that our 2 control groups shared numerous patients rendered the results of the 2 analyses much more comparable.

Our study had some limitations. First, detection of *S. aureus* acquisition was based only on standard microbiologic techniques, without recourse to molecular methods (eg, real-time polymerase chain reaction) that can increase detection sensitivity. We were reassured to find t008, t777, and t002 as the most prevalent *spa* types, which is consistent with the *spa* types circulating in France and Europe [208, 209]. Moreover, only nasal swab samples were used to determine the presence of *S. aureus*. Although the combined nasal and skin (axilla and groin) swab samples were shown to be more sensitive than nasal swab samples alone [210], we decided not to use wound swabbing in the MRSA/MSSA case definitions because we focused on acquisition of colonization, and *S. aureus* presence in wounds might indicate infection. Furthermore, wounds were not systematically swabbed, so their use could introduce a selection bias, if the swabbed patients were more likely to receive antibiotics. An imperfect *S. aureus* detection sensitivity from perineal and nasal swab samples at inclusion could result in including false-negative patients, thus biasing our cohort selection. Similarly, a missing or false-negative nasal swab sample during follow-up could yield misclassification of cases as controls, making them more alike and thus underestimating the ORs. Nevertheless, after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after study inclusion or those receiving antibiotic therapy at admission, multivariable analyses yielded similar results, thereby reinforcing our findings.

Second, colonization pressure was not evaluated and, therefore, could not be used to adjust our models for the MRSA and MSSA burden. However, we chose to match by center and date of first nasal swab sample to limit potential confounding by colonization pressure.

Third, our findings in LTCFs might not be generalizable to all hospital settings. However, the association we found between fluoroquinolone use and MRSA acquisition expands previous knowledge on risk factors for MRSA colonization/infection in tertiary care hospitals [150, 152, 153, 155, 161, 180], reinforcing the notion that antibiotic stewardship is essential, whatever the setting. Antibiotic use being rather intensive and inappropriate in LTCFs [63], it may differ from that in tertiary care hospitals.

In conclusion, *S. aureus* cross-transmission in LTCFs can be controlled by improving hygiene, particularly hand washing. Notably, the effect of fluoroquinolones on MRSA acquisition represents another determinant of MRSA diffusion. Nevertheless, their effect on the other stages of MRSA diffusion (persistent colonization and transmission) remains to be investigated. Our findings should encourage reconsideration of the importance of cautious fluoroquinolone use.

Acknowledgements. We thank all the investigators and healthcare workers who participated in the study and GenoScreen (Lille, France) for *spa* typing of the strains. We also thank Janet Jacobson for editorial assistance.

3.4 Données supplémentaires de l'article I

Supplementary methods

A 100- μ l aliquot was plated on mannitol salt agar plates (Bio-Rad, France) and ChromID MRSA (bioMérieux, France) and incubated for 48 hours at 37°C [211]. MRSA screening was performed using ceftioxin disks (30 μ g) and a chromogenic cephalosporin was used for β -lactamase detection. Antimicrobial susceptibility testing was performed on all *S. aureus* isolates on Mueller-Hinton agar plates (bioMérieux, France) using the disk diffusion method. Amplification of a region of the *spa* gene was performed using PCR with primers 1113F (5'-TAAAGACGATCCTTCGGTGAGC-3') and 1496R (5'-TTTGCTTTTGCAATGTCATTTACT-3'). DNA sequences were performed at GenoScreen (Lille, France) and were obtained using a 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems).

Table 7. Pre-included patients colonized with *S. aureus* at admission

	Center 1 ^a (n = 300)	Center 2 ^a (n = 136)	Center 3 ^a (n = 310)	Center 4 ^a (n = 206)	Total (n = 952)
Pre-included patients colonized with:	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)	No. (%)
MRSA	27 (9.0)	33 (24.3)	43 (13.9)	33 (16.0)	136 (14.3)
MSSA	83 (27.7)	27 (19.9)	93 (30.0)	59 (28.6)	262 (27.5)
MRSA and MSSA	4 (1.3)	6 (4.4)	4 (1.3)	2 (1.0)	16 (1.7)
Total	114 (38.0)	66 (48.5)	140 (45.2)	94 (45.6)	414 (43.5)

Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

^a Center 1: Raymond-Poincaré University Hospital (Garches, France); center 2: Maritime Hospital (Berck, France); center 3: Jacques-Calvé Center (Berck, France); center 4: Sainte-Barbe Center (Fouquières-lez-Lens, France).

Table 8. Missing data for MRSA and MSSA case-control analyses

Variable	MRSA analysis		MSSA analysis	
	Cases (n = 76)	Controls (n = 207)	Cases (n = 112)	Controls (n = 208)
Demographics				
Male gender	0	0	0	0
Age, y	0	0	0	0
Baseline clinical characteristic				
Cerebral neurological disorder	1	4	1	6
Diabetes mellitus	1	4	2	5
More intensive care at admission	1	3	2	5
Skin lesions at admission	1	4	2	6
History (prior to admission)				
Admission from healthcare facility	1	3	2	5
Previous hospitalization	2	11	4	9
Previous ICU stay	1	10	5	10
Previous surgery stay	1	11	6	11
Previous LTCF stay	1	6	4	9
Previous antibiotic therapy	0	0	0	0
Antimicrobial use				
Any	0	0	0	0
β-lactams	0	0	0	0
Macrolides, lincosamides or streptogramins	0	0	0	0
Aminoglycosides	0	0	0	0
Fluoroquinolones	0	0	0	0
Other anti- <i>Staphylococcus</i> agents	0	0	0	0
Other antimicrobials	0	0	0	0
Other follow-up variable				
Strict isolation	1	2	5	7
Contact isolation	1	3	5	7
Catheter	0	0	0	0
Tracheostomy	0	0	0	0
Aseptic dressing	0	0	0	0
Enteral nutrition	1	1	3	7
Manual evacuation of faecal impaction	1	2	4	5
Body-washing assistance	1	2	3	6
Urination device	1	2	3	6
Wound swabbing	0	0	0	0

Abbreviations: ICU, intensive care unit; LTCF, long-term care facility; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

Table 9. Results of multivariable sensitivity analysesa) After excluding patients who acquired *S. aureus* one week after their admission

Variable	MRSA, No. (%)		OR (95% CI)	P Value
	Cases (n = 70)	Controls (n = 192)		
Male gender	48 (68.6)	109 (56.8)	1.96 (1.02–3.79)	.044
More intensive care at admission ^a	54 (78.3)	91 (48.2)	3.62 (1.88–6.99)	<.001
Fluoroquinolones	15 (21.4)	19 (9.90)	2.13 (0.92–5.18)	.08

Variable	MSSA, No. (%)		OR (95% CI)	P Value
	Cases (n = 87)	Controls (n = 162)		
Body-washing assistance	78 (90.0)	127 (79.4)	2.29 (0.99–5.30)	.05
Urination device	26 (30.0)	33 (20.6)	1.58 (0.84–2.98)	.16

b) After excluding patients on antibiotherapy at admission

Variable	MRSA, No. (%)		OR (95% CI)	P Value
	Cases (n = 72)	Controls (n = 194)		
Male gender	51 (70.8)	111 (57.2)	2.17 (1.10–4.33)	.027
More intensive care at admission ^a	55 (77.5)	90 (47.1)	3.69 (1.91–7.12)	<.001
Fluoroquinolones	13 (18.1)	16 (8.3)	2.26 (0.99–5.16)	.05

Variable	MSSA, No. (%)		OR (95% CI)	P Value
	Cases (n = 112)	Controls (n = 197)		
Body-washing assistance	97 (89.0)	150 (78.1)	2.65 (1.18–5.95)	.019
Urination device	33 (30.3)	32 (16.7)	2.03 (1.12–3.68)	.020

c) Comparing fluoroquinolone-resistant MRSA Cases vs MRSA Controls

Variable	MRSA, No. (%)		OR (95% CI)	P Value
	Cases (n = 71)	Controls (n = 193)		
Male gender	52 (73.2)	109 (56.5)	2.67 (1.32–5.37)	.006
More intensive care at admission ^a	53 (75.7)	94 (49.2)	3.25 (1.69–6.26)	<.001
Fluoroquinolones	15 (21.1)	18 (9.3)	2.51 (1.14–5.56)	.023

Abbreviations: CI, confidence interval; MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; OR, odds ratio.

^a Compared to less intensive care at admission.

Chapitre 4. Durée de colonisation et facteurs influençant la perte de colonisation

Dans ce chapitre, nous présentons tout d'abord le contexte méthodologique, un résumé de l'article II, puis l'article lui-même (en anglais) et les données supplémentaires. Seuls le format des références bibliographiques et la numérotation des figures ont été modifiés afin de s'intégrer de façon cohérente dans ce manuscrit de thèse. Le PDF de l'article tel qu'il a été publié en 2015 dans la revue *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* [212] est disponible en annexe selon les préférences de lecture.

4.1 Contexte méthodologique : analyse d'événements récurrents

L'analyse de survie est la méthode de référence lorsqu'il s'agit d'étudier la survenue d'un événement au cours du temps. On appelle durée de survie le temps écoulé jusqu'à la survenue de l'événement étudié. A l'origine, cet événement désignait le décès mais d'autres événements ont par la suite été considérés, en particulier l'apparition d'une maladie ou une guérison. Les méthodes d'analyse de survie permettent de décrire le temps de survenue d'un événement, de comparer la durée de survie entre différents groupes et d'évaluer l'effet de variables explicatives sur la survie. Dans notre analyse, l'événement d'intérêt était la perte de colonisation de *S. aureus*, la durée de colonisation étant mesurée à partir de la date d'acquisition.

Les données de survie présentent la caractéristique d'être potentiellement affectées par un phénomène de censure. La censure à droite correspond au fait que l'événement peut ne pas être observé pour certains individus (observations incomplètes). Une donnée est ainsi censurée à droite si l'individu n'a pas subi l'événement à sa dernière observation. Dans ce cas, on sait seulement que la durée de survie est supérieure à une certaine valeur. Le mécanisme de censure peut être aléatoire ou non aléatoire. Le premier cas correspond par exemple aux études de cohorte où les individus sont inclus de manière aléatoire et uniforme dans le temps et où la date d'analyse est fixée *a priori* (censure administrative). Le temps de participation des individus est ainsi aléatoire. En revanche, lors d'études expérimentales chez des animaux par exemple, la durée d'observation peut être fixée à l'avance si le protocole prévoit de sacrifier les animaux après un temps défini à partir de leur inclusion. Dans ce deuxième cas, le mécanisme de censure est non aléatoire. Dans notre analyse, le mécanisme de censure à droite était aléatoire étant donné que la durée de suivi des individus inclus dans la cohorte n'était pas déterminée *a priori*. Tous les individus dont l'événement de décolonisation n'était pas observé à la fin de leur suivi étaient censurés. De plus, un individu pouvait présenter plusieurs épisodes de colonisation pendant son suivi, et les épisodes pour lesquels il n'était pas possible de définir l'événement de décolonisation en raison de prélèvements manquants étaient également censurés à droite.

La censure par intervalle est fréquente dans les études de cohorte où les individus sont suivis de manière intermittente à l'occasion de visites successives par exemple, ou lorsque des

prélèvements biologiques sont réalisés pour définir l'événement. Dans ce cas, la durée de survie ne peut pas être déterminée avec exactitude, la seule information disponible étant que l'événement s'est produit entre deux dates connues. Dans notre analyse, la durée de colonisation était censurée par intervalles car la fréquence des prélèvements microbiologiques permettant de définir le statut de colonisation nasal des individus était hebdomadaire.

4.1.1 Le modèle de Cox à risques proportionnels

Le modèle le plus répandu pour l'analyse statistique des enquêtes de cohorte en épidémiologie est le modèle de Cox à risques proportionnels [213]. Ce modèle permet de prendre en compte plusieurs facteurs de risque d'apparition de l'événement sans donner aux fonctions de survie une forme paramétrique.

Un modèle à risques proportionnels exprime une relation entre la fonction de risque instantané λ et un vecteur de p variables explicatives $x = (x_1, x_2, \dots, x_p)$, en incluant une fonction de risque de base λ_0 qui donne la forme générale du risque et qui est commune à tous les individus :

$$\lambda(t, x) = \lambda_0(t) c(\beta, x)$$

où β est le vecteur de dimension p des coefficients de régression associés aux variables explicatives. La fonction de risque est le produit d'une fonction de risque de base $\lambda_0(t)$ qui ne dépend que du temps $t \geq 0$ et d'une fonction $c(\beta, x)$ qui n'en dépend pas. La fonction $c(\beta, x)$ dépend des caractéristiques x du sujet, et cette dépendance est mesurée par le vecteur des coefficients β . Ce modèle est dit à risques proportionnels car le rapport des fonctions de risque ne varie pas au cours du temps, quels que soient les individus ayant pour vecteurs de covariables x et y :

$$\frac{\lambda(t, x)}{\lambda(t, y)} = \frac{c(\beta, x)}{c(\beta, y)}$$

On choisit en général $c(\beta, x) = \exp(\beta'x) = \exp(\beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \dots + \beta_px_p)$ afin d'obtenir une fonction de risque positive sans contrainte sur les valeurs des coefficients. Ce cas particulier constitue le modèle de Cox :

$$\lambda(t, x) = \lambda_0(t) \exp(\beta'x)$$

Ce modèle est dit semi-paramétrique car la fonction $\lambda_0(t)$ est de forme inconnue.

4.1.2 Le modèle de Cox à fragilité partagée

Le modèle de Cox fait traditionnellement l'hypothèse d'indépendance des temps de survie, au moins conditionnellement aux covariables observables incluses dans le modèle. Or, dans certains cas, les données de survie sont dites corrélées et violent cette hypothèse d'indépendance. Il existe plusieurs types de données corrélées [214].

Données groupées. Le premier schéma de données corrélées correspond à des données groupées, c'est-à-dire lorsque différents groupes d'individus sont suivis de manière simultanée. Par exemple, lors d'études familiales, les groupes d'individus correspondent aux différentes familles. Les temps de survie de deux individus n'appartenant pas à la même famille sont supposés indépendants, alors que les temps de survie des membres d'une même famille peuvent être dépendants.

Données répétées. Chaque individu est suivi de manière à étudier l'événement d'intérêt plusieurs fois, avec un nombre fixe de temps d'observation pour chaque individu. Les durées de survie entre individus sont supposées indépendantes, alors que les temps de survie pour un même individu peuvent être dépendants. De telles données résultent typiquement d'une étude expérimentale, comme les expériences croisées (*cross-over*) dans lesquelles on administre plusieurs traitements de façon consécutive chez un même individu. L'événement d'intérêt est étudié plusieurs fois pour chaque individu et pour un nombre fixe de traitements.

Données récurrentes. L'événement d'intérêt peut survenir plusieurs fois chez le même individu, par exemple des infections pulmonaires chez des enfants atteints de mucoviscidose ou des épisodes d'hypoglycémie chez des sujets diabétiques. Là encore, les temps de survie entre deux individus sont supposés indépendants alors que les différentes durées de survie observées chez un même individu peuvent être dépendantes. En revanche, le nombre de temps d'observation est aléatoire contrairement aux données répétées.

Dans notre étude, nous avons choisi de réaliser une analyse de survie où l'événement d'intérêt était la perte de colonisation de *S. aureus*. Plusieurs épisodes de colonisation, donc plusieurs événements de décolonisation, pouvaient survenir chez le même individu. Le nombre d'épisodes par individu étant aléatoire, les données utilisées dans notre analyse étaient récurrentes.

Utiliser un modèle de Cox traditionnel pour l'analyse de données corrélées peut biaiser les paramètres de régression. Les modèles de survie à fragilité partagée ont été introduits par Vaupel, Manton et Stallard en 1979 pour prendre en compte l'hétérogénéité non observée de la population et consistent à inclure dans le modèle de survie un effet aléatoire appelé « fragilité » [215]. Il s'agit d'une variable aléatoire continue qui quantifie l'excès de risque ou « fragilité » d'un individu ou d'un groupe d'individus [216]. Ces modèles permettent ainsi de traiter la

dépendance des durées de survie lors de l'analyse d'événements récurrents. Dans ce cas, le terme de fragilité est commun à tous les épisodes d'un même individu mais différent d'un individu à l'autre. Du fait de sa positivité, cette variable aléatoire a pour effet d'accroître le risque de survenue de l'événement d'intérêt, c'est pourquoi elle est qualifiée de « fragilité ». Le modèle de Cox à fragilité partagée est un prolongement du modèle de Cox présenté en 4.1.1. :

$$\lambda(t, x_{ij}) = \lambda_0(t) \exp(\beta'x_{ij} + \omega_i)$$

où ω_i est la fragilité de l'individu i ($i = 1$ à n , n étant la taille de la population), et x_{ij} le vecteur de p covariables de l'épisode j ($j = 1$ à n_i , n_i étant le nombre aléatoire d'épisodes de chaque individu i). Dans ce modèle, les durées de survie sont supposées indépendantes conditionnellement aux ω_i . La fragilité est un facteur aléatoire dont la distribution doit être spécifiée. Différentes distributions peuvent être affectées à la fragilité ; elle est cependant généralement choisie parmi les distributions appartenant à la famille exponentielle (gamma, lognormale, inverse gaussienne, stable positive). Dans notre travail, la fragilité est distribuée selon une loi normale de moyenne 0 et de variance $\theta \geq 0$. En notant $\omega_i = \log(u_i)$, le modèle à fragilité partagée devient :

$$\lambda(t, x_{ij}) = \lambda_0(t) u_i \exp(\beta'x_{ij})$$

où u_i suit une distribution lognormale de médiane 1. L'estimation de la variance de la fragilité permet de quantifier l'hétérogénéité entre les individus et donc la corrélation entre les épisodes d'un même individu.

4.1.3 Échelles de temps

La définition de l'échelle de temps en analyse de survie est fondamentale car elle peut avoir un impact sur l'estimation des coefficients β des variables explicatives [217]. Il est notamment important qu'elle soit choisie de manière à ce que l'origine de temps coïncide avec le début de la période à risque des individus. La durée de suivi, c'est-à-dire le temps depuis l'inclusion, est classiquement utilisée dans les études où le début du suivi correspond à une intervention (comme l'initiation d'un traitement) ou au diagnostic d'une maladie [218]. En revanche, dans le cas d'études observationnelles, s'intéressant par exemple à l'apparition d'une maladie, l'âge peut être utilisé comme échelle de temps, la date de naissance étant prise comme origine de temps. Si l'incidence de la maladie varie beaucoup au cours du temps, comme l'infection du VIH dans les années 1980, le temps calendaire peut également être utilisé en tant qu'échelle de temps principale [219].

Dans le cadre d'événements récurrents, il est fréquent de mesurer la durée de survie comme le délai écoulé depuis la plus récente occurrence. Par exemple, si l'hospitalisation est l'événement considéré dans l'analyse, le délai de survie est défini comme la durée de suivi depuis la plus

récente hospitalisation. La date de début de chaque épisode est ainsi réinitialisée à 0, il s'agit d'une échelle de temps par intervalles [220]. Dans notre étude, cela implique que, quelle que soit la date d'acquisition de *S. aureus*, le temps associé au début de chaque épisode de colonisation est 0 (**Figure 9**). Une autre approche, celle en temps calendaire, considère le temps écoulé depuis le début du suivi de la cohorte. Dans ce cas, si l'on considère le suivi du patient présenté dans la figure 9, les temps d'événements correspondent aux semaines calendaires 44 et 46.

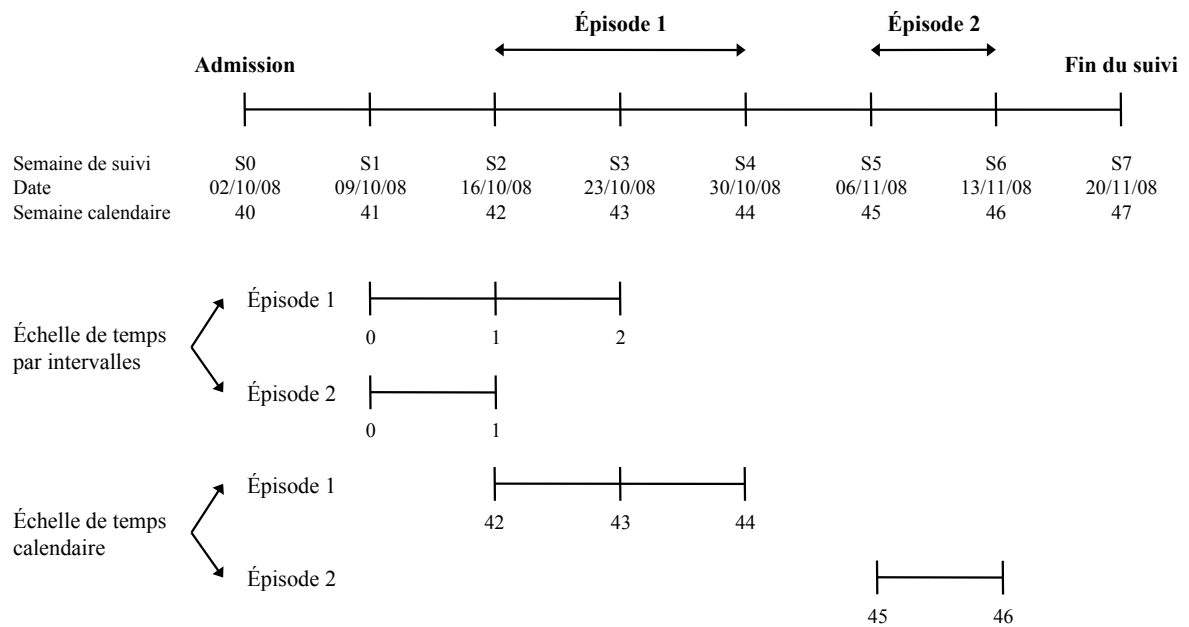


Figure 9. Échelle de temps par intervalles et échelle de temps calendaire

La semaine de suivi correspond au nombre de semaines depuis l'inclusion de l'individu dans l'étude ASAR. La date correspond à celle du prélèvement nasal permettant de déterminer le statut de colonisation par *S. aureus* et la semaine calendaire indique le numéro de semaine correspondant. Le pas de temps utilisé pour l'analyse est la semaine car la fréquence de recueil de certaines variables explicatives (concernant les actes invasifs par exemple) était hebdomadaire.

Le but de notre travail étant de déterminer la durée de colonisation par *S. aureus*, nous avons choisi d'utiliser une échelle de temps par intervalles dans notre analyse principale. Dans celle-ci, les épisodes de colonisation pour lesquels des prélèvements manquants ne permettaient pas de définir précisément la date d'acquisition de *S. aureus* n'ont pas été pris en compte. Ainsi, le temps 0 des épisodes de colonisation considérés correspondait au temps à partir duquel les individus étaient à risque de décolonisation. Étant donné que les épisodes avec le même temps écoulé depuis le temps 0 constituent l'ensemble des épisodes à risque aux différentes dates d'événements, les caractéristiques associées à un épisode chez un individu présentant un

événement de décolonisation pouvaient donc être comparées à celles associées à un épisode toujours à risque de décolonisation chez ce même individu.

Une approche par temps calendaire a été ensuite utilisée dans une analyse de sensibilité. Ceci nous a permis d'inclure les épisodes préalablement supprimés dans l'analyse principale pour lesquels la date d'acquisition de *S. aureus* n'était pas définie avec exactitude. L'utilisation d'un temps calendaire est en effet recommandée lorsque l'événement étudié est la survie après le diagnostic d'une maladie et qu'il est difficile de déterminer la date de survenue de cette maladie [221]. Dans notre analyse, cette approche nous a également permis de mieux prendre en compte la pression de colonisation qui pouvait varier au cours du suivi.

4.2 Résumé de l'article II

L'une des étapes importantes du processus de dissémination de *S. aureus* est la persistance de colonisation. Le deuxième objectif de cette thèse était d'estimer la durée de colonisation par SARM et par SASM et d'identifier les facteurs pouvant influencer la persistance de la colonisation. Des études se sont intéressées à la durée de colonisation par SARM mais ont donné lieu à des résultats très disparates, notamment en raison d'une hétérogénéité des définitions de la décolonisation, des fréquences de prélèvements, des durées de suivi ou encore des méthodes d'identification de *S. aureus* [178]. Certains facteurs associés à une plus longue durée de colonisation par SARM ont également été décrits, tels que la présence de plusieurs sites corporels colonisés par SARM ou la consommation de fluoroquinolones [173, 180].

Afin de répondre au deuxième objectif de cette thèse, nous avons à nouveau utilisé les données de la cohorte multicentrique prospective ASAR. Les patients ayant acquis *S. aureus* au cours de leur suivi ont été inclus dans cette analyse. Les souches de *S. aureus* ont été définies en prenant en compte leur phénotype de résistance à la méticilline et leur *spa* type. L'événement d'intérêt, la décolonisation, a été défini par deux prélèvements consécutifs négatifs pour la souche de *S. aureus* de l'épisode de colonisation considéré. Les durées médianes de colonisation par SARM, SASM et *S. aureus* ont été estimées par la méthode de Kaplan-Meier et les facteurs de perte de colonisation ont été identifiés à l'aide de modèles de Cox à fragilité partagée afin de tenir compte de la dépendance des événements de décolonisation au sein du même patient.

Nous avons montré que les durées médianes estimées de colonisation par SARM et par SASM étaient respectivement de trois semaines et de deux semaines. De plus, le phénotype de résistance à la méticilline n'était pas significativement associé à la perte de colonisation de *S. aureus*. En analyse multivariée, aucun facteur de perte de colonisation de SARM n'a été identifié. En revanche, la présence de plaie(s) positive(s) pour une souche différente de celle du nez et la consommation de fluoroquinolones étaient significativement associées à la perte de colonisation de SASM.

A notre connaissance, il s'agit de la première étude comparant les durées de colonisation par SARM et par SASM chez des patients hospitalisés dans des services de MPR. Le fait d'obtenir des durées de colonisation similaires suggère que le phénotype de résistance à la méticilline n'influence pas la durée de colonisation par *S. aureus* et que le coût biologique de cette résistance pourrait être limité en population. Par ailleurs, le fait que la présence de plaie(s) positive(s) pour une souche différente de celle du nez soit un facteur de perte de colonisation de SASM pourrait indiquer une compétition entre la souche colonisant la plaie et celle colonisant le nez. Enfin, nous avons montré que la consommation de fluoroquinolones était un facteur de risque de perte de colonisation de SASM, mais pas de SARM. Ceci suggère que la consommation de fluoroquinolones réduit la durée de colonisation par SASM. Il est cependant essentiel d'utiliser cet antibiotique avec prudence dans les établissements de soins considérant que les fluoroquinolones sont également un facteur de risque d'acquisition de SARM (cf Chapitre 3).

4.3 Article II : Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization durations in neurologic long-term-care facilities

Authors. Clotilde Couderc^{1,2,3}, Anne C.M. Thiébaud^{1,2,3}, Christine Lawrence⁴, Coralie Bouchiat^{5,6,7,8,9}, Jean-Louis Herrmann^{4,10,11}, Jérôme Salomon^{1,2,3,4}, and Didier Guillemot^{1,2,3,4} for the Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group

¹ Institut Pasteur, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Paris, France

² INSERM, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Paris, France

³ Université Versailles St-Quentin, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Montigny le Bretonneux, France

⁴ AP-HP, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France

⁵ Université Lyon 1, International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France

⁶ INSERM, U1111 International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France

⁷ Ecole Normale Supérieure de Lyon, International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France

⁸ CNRS, UMR 5308 International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France

⁹ Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, France

¹⁰ Université Versailles St-Quentin, U1173, Saint-Quentin-en-Yvelines, France

¹¹ INSERM, U1173, Montigny le Bretonneux, France

Keywords. *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *S. aureus*, colonization duration, loss of colonization, long-term-care facility

Abstract

Staphylococcus aureus nasal carriage is a risk factor for subsequent infection. Estimates of colonization duration vary widely among studies, and factors influencing the time to loss of colonization, especially the impact of antibiotics, remain unclear. We conducted a prospective study on patients naive for *S. aureus* colonization in 4 French long-term-care facilities. Data on nasal colonization status and potential factors for loss of colonization were collected weekly. We estimated methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) colonization durations using the Kaplan-Meier method and investigated factors for loss of colonization using shared-frailty Cox proportional hazards models. A total of 285 *S. aureus* colonization episodes were identified in 149 patients. The median time to loss of MRSA or MSSA colonization was 3 weeks (95% confidence interval, 2 to 8 weeks) or 2 weeks (95% confidence interval, 2 to 3 weeks), respectively. In multivariable analyses, the methicillin resistance phenotype was not associated with *S. aureus* colonization duration ($P = 0.21$); the use of fluoroquinolones (hazard ratio, 3.37; 95% confidence interval, 1.31 to 8.71) and having a wound positive for a nonnasal strain (hazard ratio, 2.17; 95% confidence interval, 1.15 to 4.07) were associated with earlier loss of MSSA colonization, while no factor was associated with loss of MRSA colonization. These results suggest that the methicillin resistance phenotype does not influence the *S. aureus* colonization duration and that fluoroquinolones are associated with loss of MSSA colonization but not with loss of MRSA colonization.

Introduction

Staphylococcus aureus is a human commensal bacterium and a common cause of hospital-acquired infections, ranging from mild skin infections to bacteremia. The anterior nares are the most common *S. aureus* niche, although the presence of extranasal sites of colonization is increasingly recognized [20, 222]. Approximately 30 to 50% of humans are asymptotically colonized with *S. aureus*, and nasal carriage is a major risk factor for subsequent infection [18, 28]. However, the role of long-term nasal *S. aureus* persistence remains unknown. Notably, persistent but not intermittent nasal *S. aureus* carriage is a risk factor for continuous peritoneal dialysis-related infections [223]. Moreover, long-term methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) carriers remain at risk for subsequent infection and death [224].

Estimates of MRSA colonization duration vary widely among studies [106, 167-171, 173, 175, 177] and range from 12 days [167] to 40 months [169]. A meta-analysis estimated that the median time to clearance was 88 weeks after documented, untreated MRSA colonization [178]. Some factors associated with a longer MRSA colonization duration have already been identified, e.g., ≥ 2 MRSA-positive body sites or a skin break at readmission [170, 173, 180], prior fluoroquinolone use [180], human immunodeficiency virus positivity [181], and household contacts with MRSA, young age, or *spa* type t002 [173]. Conversely, self-sufficiency in daily

activities [106] or having an antibiotic-treated documented infection [173] was associated with a shorter MRSA carriage time.

This study was undertaken in long-term-care facilities (LTCFs) to evaluate prospectively nasal *S. aureus* (MRSA and/or methicillin-sensitive *S. aureus* [MSSA]) colonization duration and identify factors influencing the time to loss of colonization.

Methods

Settings and study design

The Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) study is a prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization established in France from January 2008 to October 2010 in 4 neurologic LTCFs. Patients were included if they were not colonized with *S. aureus* at admission (negative nasal and perineal swab specimens), ≥ 18 years old, and hospitalized for a neurologic disorder with an expected stay of ≥ 2 months, as detailed previously [184]. An institutional review board (Comité de Protection des Personnes Île-de-France XI) approved the study protocol (reference 07032); no written informed consent was obtained from the patients because the study interventions were standard care. Authorization was also obtained from the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (French Data Protection Agency; reference 907302).

Each patient was tested weekly for his or her status of nasal colonization with *S. aureus*. At inclusion, sociodemographic data (sex and age) and diabetes mellitus status were recorded. Every week, a standardized questionnaire was used to collect prospective data on strict isolation (single room or cohorting), contact isolation, use of an invasive medical device (catheter, tracheostomy, enteral nutrition, and/or urination device), body-washing assistance, and wound swabbing for *S. aureus* identification. Daily antimicrobial use was recorded either in computerized pharmacy records or on specific standardized questionnaires. Antibiotics were classified as follows: fluoroquinolones (Anatomical Therapeutic Chemical Group J01MA), aminoglycosides (J01G), and other anti-MSSA agents (including β -lactamase-resistant penicillins [J01CF], combined penicillins and β -lactamase inhibitors [J01CR], third- and fourth-generation cephalosporins [J01DD/DE], and carbapenems [J01DH]). Macrolides, lincosamides, streptogramins, and other anti-*S. aureus* agents (including vancomycin, fusidic acid, fosfomycin, and rifampin) were rarely prescribed and were not considered in the analyses.

Microbiologic techniques

To assess *S. aureus* colonization, an alginate swab was rotated inside each nostril and then placed in Stuart's transport medium (Transwab; Medical Wire and Equipment) and kept at room temperature until arrival at the Microbiology Laboratory of Raymond-Poincaré University Hospital. Screening for MRSA and antimicrobial susceptibility testing were performed as previously described [225]. To determine *S. aureus* clonal diversity, all strains isolated from

positive nasal swabs were subjected to *spa* typing.

Definition of colonization episodes

A colonization episode was defined as the period between the acquisition and loss of colonization with a given *S. aureus* strain. *S. aureus* strains were defined by their methicillin resistance phenotype and *spa* type. *S. aureus*-positive swabs for which the *spa* type was not identified were considered missing samples for the analyses. *S. aureus* strain acquisition was defined as a positive nasal swab following either negative nasal and perineal swabs at admission or following two consecutive nasal swab specimens negative for that strain during follow-up. This definition and missing samples meant that the date of colonization acquisition was unknown for many episodes and data for those episodes were excluded from the analyses (**Figure 10**).

The event of interest was the loss of *S. aureus* colonization, defined as two consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain. The time to loss of colonization was the number of weeks from the date of acquisition of a given strain. Episodes were right censored during follow-up at the last positive swab when consecutive missing samples prevented a precise loss-of-colonization determination or at the end of observation.

Statistical analyses

Median MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization durations were estimated using the Kaplan-Meier method to account for right-censored observations. Associations between factors and the loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization were investigated using Cox proportional hazards models [226]. Because a patient could have several colonization episodes, a shared-frailty term was used to model a lack of independence between a given patient's events [227]. Episodes with a single *S. aureus*-positive nasal swab collected during the last week of the patient's follow-up were not analyzed, because survival analysis requires that each episode be observed over some nonnull time interval.

Isolation precautions, the use of an invasive medical device, body-washing assistance, antibiotic use, and having one or several *S. aureus*-positive wounds were included as time-dependent covariates in the models. We distinguished wounds colonized with the nasal strain (i.e., the strains had the same methicillin resistance phenotype and the same *spa* type) from wounds colonized with a nonnasal strain (i.e., the strains had different methicillin resistance phenotypes and/or *spa* types). For nasal swabs positive for two cocolonizing strains, we created a time-dependent covariate (having another nasal *S. aureus* strain) for exposure to the strain different from that of the ongoing episode. Time-dependent covariates were analyzed as binary variables (exposed/nonexposed), and exposure was defined for the time interval between the collection of two nasal swab specimens. The dates of antibiotic prescriptions were compared with the estimated dates of *S. aureus* acquisition and loss of colonization, which were considered the midpoint between the times for the last negative and the first positive nasal swabs and the

midpoint between the times for the last positive and the first negative nasal swabs, respectively.

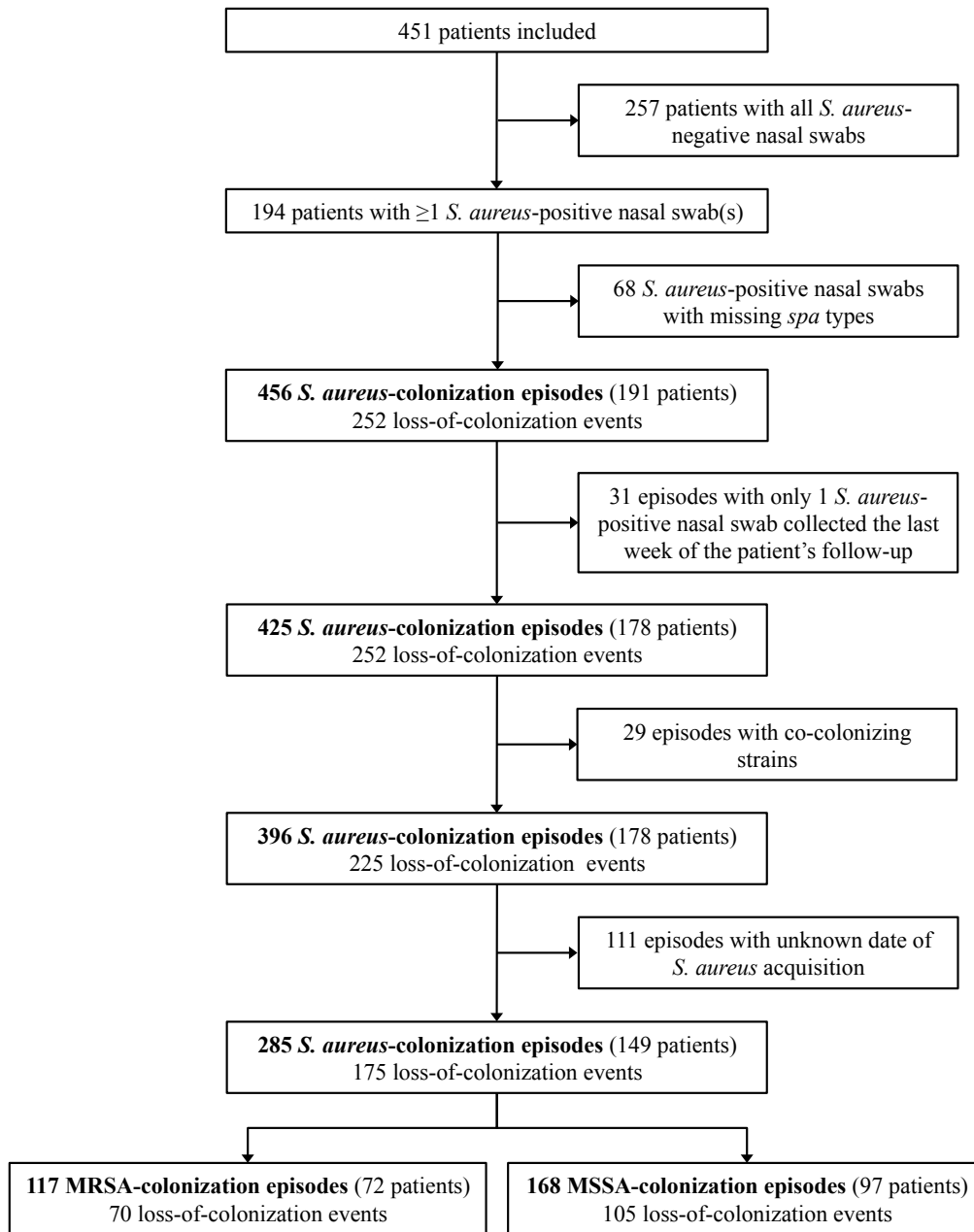


Figure 10. Flowchart of the study population

Hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated for all variables. Those associated with time to loss of colonization in univariate analyses (2-sided $P = 0.20$) were included in the multivariable models and maintained in the final models when their HR estimates remained statistically significantly associated (2-sided $P = 0.05$) with loss of colonization using a manual backward stepwise procedure, yielding the final adjusted models.

All univariate and multivariable models were adjusted for center and fitted with the Efron method for handling ties [228]. Interactions between the strain's methicillin resistance phenotype and all the covariates remaining in the final model of loss of *S. aureus* colonization were systematically evaluated.

Sensitivity analyses (i) included only the first colonization episode per patient, (ii) used survival time recorded as calendar dates (i.e., nasal swabbing dates) rather than the time to loss of colonization, where time zero corresponded to the time of *S. aureus* acquisition (for this approach, episodes with an unknown date of acquisition could be included because the event of interest was the loss of *S. aureus* colonization on a given calendar date rather than the time from acquisition), and (iii) defined the loss of *S. aureus* colonization as three consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain.

Analyses were performed using SAS (version 9.3) software (SAS Institute, Cary, NC). The PHREG procedure and the RANDOM statement were used to fit a shared-frailty model to clustered data with normally distributed random effects.

Results

Study population

Among the 451 patients naive for *S. aureus* colonization at admission and included in the ASAR study, 194 (43.0%) had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab specimens during follow-up (**Figure 10**), and the 149 patients included in the analyses were from centers 1 to 4: 17 (11.4%), 53 (35.6%), 50 (33.6%), and 29 (19.5%) patients, respectively (**Table 10**). Their median age was 52.6 years (range, 18.7 to 86.5 years), and 101 (67.8%) were male. The median follow-up duration was 20 weeks (range, 4 to 65 weeks), and the median number of colonization episodes per patient was 1 (range, 1 to 12). Supplementary **Figure 12** reports the results for the nasal swabs obtained from each patient during follow-up. At admission, the characteristics of the patients included in the analyses were comparable to those of the 45 patients that acquired *S. aureus* and were excluded from the analyses (data not shown).

Considering the 194 patients who had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab specimens during follow-up, the protocol called for a total of 4,728 swab specimens to be obtained (1 per week), but 450 (9.5%) were missing. The rate of missing data (8.5%) was similar for the 149 patients analyzed.

Colonization episodes

During follow-up, 285 *S. aureus* colonization episodes (117 episodes with MRSA colonization and 168 episodes with MSSA colonization) were identified in 149 patients; among those episodes, loss of colonization occurred in 175 (61.4%) (70 [59.8%] and 105 [62.5%] for MRSA and MSSA colonization episodes, respectively).

Table 10. Characteristics of the 149 patients colonized with *Staphylococcus aureus*

Variable	Value	
No. (%) of patients at center ^a :		
1	17	(11.4)
2	53	(35.6)
3	50	(33.6)
4	29	(19.5)
No. (%) of male patients	101	(67.8)
Median (IQR ^b) age (yr)	52.6	(39.2–61.8)
Median (IQR) no. of colonization episodes	1	(1–2)
Median (IQR) follow-up duration (wk)	20	(13–35)

^a French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^b IQR, interquartile range.

The median Kaplan-Meier-estimated time to loss of *S. aureus* colonization was 3 weeks (95% CI, 2 to 4 weeks). The respective median times to loss of MRSA and MSSA colonization were 3 weeks (95% CI, 2 to 8 weeks) and 2 weeks (95% CI, 2 to 3 weeks), respectively. **Figure 11** shows the estimated Kaplan-Meier curves of the MRSA or MSSA colonization duration. A loss of colonization occurred after 1 week for 156 (54.7%) episodes: 63 (53.8%) MRSA colonization episodes and 93 (55.4%) MSSA colonization episodes.

Seventy-two *spa* types were identified, with the most predominant *spa* types being t008, t777, and t002 (**Table 11**). Among the 285 *S. aureus* strains, 152/168 (90.5%) MRSA strains and 4/117 (3.4%) MSSA strains were fluoroquinolone resistant.

Among the 149 patients, 44 (29.5%) were colonized with ≥ 2 different *S. aureus* strains, including 1 patient who was colonized with 5 different ones. Forty-three (28.9%) patients had ≥ 2 colonization episodes with the same *S. aureus* strain during their follow-up.

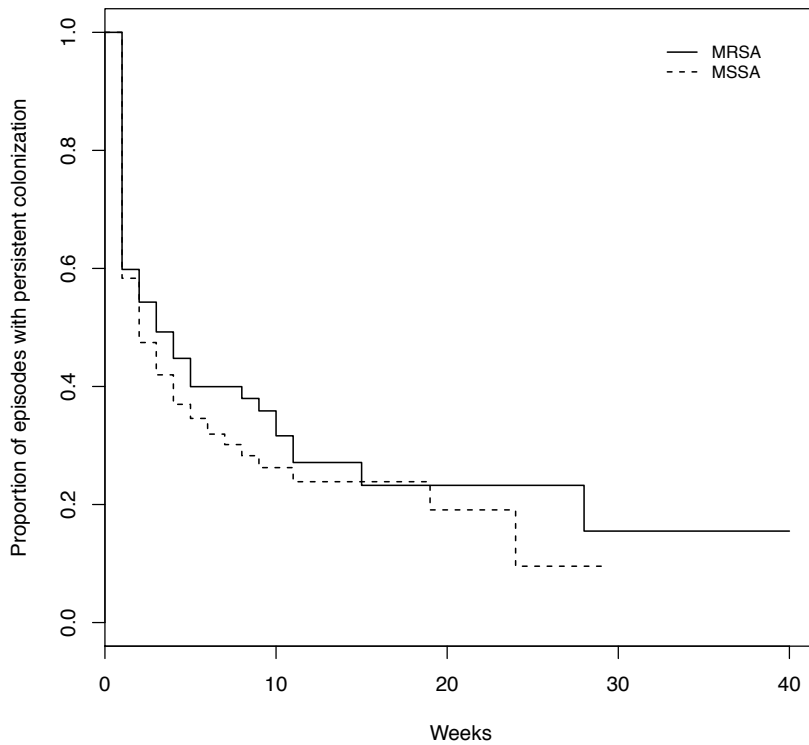


Figure 11. Estimated Kaplan-Meier curves of MRSA or MSSA colonization duration.

Table 11. *spa* type distribution according to methicillin resistance phenotype^a

<i>spa</i> type	No. (%) of episodes or patients					
	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	Episodes (<i>n</i> = 117)	Patients (<i>n</i> = 72)	Episodes (<i>n</i> = 168)	Patients (<i>n</i> = 97)	Episodes (<i>n</i> = 285)	Patients (<i>n</i> = 149)
t008	38 (32.5)	27 (37.5)	26 (15.5)	17 (17.5)	64 (22.5)	42 (28.2)
t777	27 (23.1)	19 (26.4)	9 (5.4)	9 (9.3)	36 (12.6)	26 (17.4)
t002	7 (6.0)	6 (8.3)	11 (6.5)	8 (8.2)	18 (6.3)	14 (9.4)
t571	0	0	12 (7.1)	9 (9.3)	12 (4.2)	9 (6.0)
t2903	12 (10.3)	6 (8.3)	0	0	12 (4.2)	6 (4.0)
Others	33 (28.2)	26 (36.1)	110 (65.5)	70 (72.2)	143 (50.2)	95 (63.8)

^a Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

Factors influencing time to loss of colonization

Among 315 *S. aureus*-positive wound swab specimens collected from 96 colonization episodes, 215 (68.3%) were colonized with the nasal strain. Among the 100 wounds colonized with a nonnasal strain (45 wounds colonized with MRSA, 55 wounds colonized with MSSA), the

methicillin resistance phenotype of the nonnasal strain differed from that of the nasal strain for 78. Only 12 patients (8 MRSA and 9 MSSA colonization episodes) received fluoroquinolones during their colonization episodes, 6 patients (4 MRSA and 3 MSSA colonization episodes) took aminoglycosides, and other anti-MSSA agents were prescribed to 13 patients (9 MRSA and 9 MSSA colonization episodes).

Univariate Cox analyses identified only the adjusting center variable ($P = 0.025$) to be significantly associated with loss of MRSA colonization (**Table 12**). Fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were significantly associated with earlier loss of MSSA and *S. aureus* colonization. The methicillin resistance phenotype did not impact the *S. aureus* colonization duration ($P = 0.21$).

Multivariable analyses retained fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound as being significantly and independently associated with earlier loss of MSSA colonization and retained fluoroquinolone use, a nonnasal strain-positive wound, and *spa* type t571 as being significantly and independently associated with earlier loss of *S. aureus* colonization (**Table 13**). No interaction between fluoroquinolone use and the methicillin resistance phenotype was found in the final model of loss of *S. aureus* colonization ($P = 0.31$).

Considering the first colonization episode per patient, only *spa* type t2903 or t571 was an independent factor for loss of MRSA or *S. aureus* colonization, respectively (supplementary **Table 14**). Using survival time recorded as calendar dates, fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were significantly and independently associated with earlier loss of *S. aureus* colonization (supplementary **Table 15**). Those risk factors were not significant for MSSA episodes, while the use of other anti-MSSA agents was independently associated with earlier loss of colonization. Finally, when the loss of *S. aureus* colonization was defined as three consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain, fluoroquinolones were independently associated with loss of MSSA and *S. aureus* colonization, a wound positive for a nasal strain and *spa* type t2903 were independently associated with loss of MRSA and *S. aureus* colonization, *spa* type t571 was independently associated with loss of *S. aureus* colonization, and a wound positive for a nonnasal strain was independently associated with loss of MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization (supplementary **Table 16**).

Table 12. Univariate shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization^f

Variable	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
Patient characteristics						
Center ^c						
1	Reference	0.025	Reference	0.42	Reference	0.006
2	0.55 (0.27–1.10)		0.76 (0.42–1.38)		0.63 (0.41–0.97)	
3	0.36 (0.18–0.72)		0.62 (0.34–1.15)		0.47 (0.31–0.73)	
4	0.34 (0.12–0.98)		0.62 (0.31–1.24)		0.49 (0.29–0.84)	
Male sex	1.84 (0.87–3.89)	0.11	1.20 (0.76–1.90)	0.43	1.40 (0.96–2.03)	0.08
Age ≥60 yr	0.84 (0.46–1.52)	0.56	1.41 (0.89–2.24)	0.14	1.07 (0.75–1.51)	0.73
Diabetes mellitus	0.86 (0.34–2.18)	0.74	0.82 (0.45–1.50)	0.52	0.83 (0.50–1.36)	0.45
Bacterial characteristics						
Methicillin resistance	NA		NA		0.82 (0.60–1.12)	0.21
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.19	Reference	0.29	Reference	0.11
t002	1.70 (0.45–6.39)		1.53 (0.65–3.57)		1.39 (0.71–2.71)	
t008	0.66 (0.31–1.42)		1.33 (0.71–2.50)		0.80 (0.53–1.20)	
t777	1.44 (0.69–3.00)		0.88 (0.33–2.33)		1.15 (0.72–1.83)	
t571			2.16 (1.02–4.58)		2.17 (1.08–4.36)	
t2903	1.65 (0.61–4.48)				1.37 (0.64–2.93)	
Antimicrobials used						
Fluoroquinolones	1.65 (0.49–5.56)	0.42	3.23 (1.26–8.33)	0.015	2.48 (1.19–5.17)	0.016
Aminoglycosides	1.06 (0.14–8.07)	0.95	2.03 (0.26–15.76)	0.50	1.40 (0.34–5.77)	0.64
Other anti-MSSA agents ^d	0.94 (0.28–3.11)	0.91	1.66 (0.63–4.38)	0.31	1.32 (0.63–2.76)	0.46
Other follow-up variables						
Strict isolation	0.78 (0.32–1.90)	0.58	1.00 (0.53–1.90)	1.00	0.93 (0.55–1.55)	0.77
Contact isolation	0.50 (0.22–1.12)	0.09	1.28 (0.74–2.22)	0.37	0.89 (0.57–1.40)	0.61
Invasive medical device use ^e	0.79 (0.45–1.40)	0.42	1.18 (0.78–1.79)	0.44	1.04 (0.74–1.44)	0.84
Body-washing assistance	0.88 (0.48–1.60)	0.67	1.18 (0.76–1.83)	0.45	1.04 (0.74–1.48)	0.81
Having a wound positive for a nasal strain	0.65 (0.35–1.22)	0.18	0.85 (0.49–1.47)	0.56	0.79 (0.53–1.18)	0.25
Having a wound positive for a nonnasal strain	1.88 (0.92–3.86)	0.09	2.12 (1.13–3.96)	0.019	2.04 (1.28–3.25)	0.003
Having another nasal <i>S. aureus</i> strain			2.75 (0.64–11.89)	0.18	1.01 (0.24–4.16)	0.99

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Including β -lactamase-resistant penicillins (Anatomical Therapeutic Chemical Group, J01CF), combinations of penicillins and β -lactamase inhibitors (J01CR), third- and fourth-generation cephalosporins (J01DD/DE), and carbapenems (J01DH).

^e Including catheter, tracheostomy, enteral nutrition, and/or urination device.

^f Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; NA, not applicable.

Table 13. Multivariable shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization^d

Variable	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
Center ^c						
1	Reference	0.025	Reference	0.82	Reference	0.18
2	0.55 (0.27–1.10)		1.17 (0.57–2.41)		1.00 (0.58–1.72)	
3	0.36 (0.18–0.72)		0.95 (0.45–2.00)		0.71 (0.41–1.23)	
4	0.34 (0.12–0.98)		0.95 (0.42–2.15)		0.65 (0.33–1.27)	
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types					Reference	0.025
t002					1.48 (0.76–2.86)	
t008					0.75 (0.50–1.12)	
t777					1.12 (0.71–1.78)	
t571					2.31 (1.16–4.57)	
t2903					1.72 (0.81–3.63)	
Fluoroquinolones			3.37 (1.31–8.71)	0.012	2.75 (1.32–5.76)	0.007
Having a wound positive for a nonnasal strain			2.17 (1.15–4.07)	0.016	2.32 (1.44–3.74)	<0.001

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte- Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

Discussion

Our study showed that estimates of nasal MRSA and MSSA colonization durations were similar and that fluoroquinolone use and a wound positive for a nonnasal strain were independently and significantly associated with shorter MSSA colonization durations. Notably, the methicillin resistance phenotype was not associated with longer duration of *S. aureus* colonization, suggesting that in the human population, *S. aureus* fitness, which depends on bacterial growth and clearance rates, is not influenced by methicillin susceptibility and, thus, that the biologic cost associated with methicillin resistance might be limited. Although methicillin resistance was inversely associated with the growth rate *in vitro* [91], the compensatory mutations that can counterbalance the cost conferred by resistance may be differently selected *in vivo* [89] and, by extension, in the human population. Studies examining whether MRSA and MSSA strains compete for nasal colonization have yielded conflicting results [93, 94, 96, 97]: some found no evidence of competition, while others showed that MSSA colonization protected against MRSA acquisition in the nares.

The median time to loss of MRSA colonization of 3 weeks observed in the present study was shorter than that described previously [106, 168-170, 173, 175, 177]. Several explanations could account for the variability of MRSA colonization duration: different health care settings (acute care facilities versus LTCFs), definitions of loss of colonization, follow-up times, frequencies of *S. aureus* sampling, and numbers of anatomical sites screened; the use of *spa* typing to identify strains; and the treatment used to decolonize the patients. Some authors investigated the MRSA colonization duration in rehospitalized patients [167-170]. The designs of those studies might have overestimated loss-of-colonization times, if the lag time between discharge and readmission was long. In addition, some exclusion criteria may prevent the accurate estimation of loss-of-colonization times, including shorter colonization episodes, in the analyses. For example, one study excluded patients readmitted ≤ 3 months postdischarge, resulting in an estimated median time to MRSA clearance of 8.5 months [170], whereas another excluded transient carriers, defined as patients having only 1 MRSA-positive culture and a negative culture within a week [173]. Others investigated the MRSA colonization duration at different times after hospital discharge, e.g., 6 months after the initial detection of MRSA, yielding longer colonization duration estimates [106, 177, 179]. However, one study conducted in a rehabilitation center estimated the median nasal carriage time to be 44 days, which is not very different from our estimate [171]. Moreover, a recent study that collected specimens from patients with MRSA skin and soft tissue infections and their household members for MRSA surveillance cultures every 2 weeks for 6 months reported median MRSA colonization duration of 21 days, a finding which is also close to our findings [176].

Pertinently, fluoroquinolone use in the present study was associated with earlier loss of MSSA colonization but not with loss of MRSA colonization. Fluoroquinolones act mainly against MSSA and not against MRSA [229], which could explain that observation. Consistently, 96.6%

of the colonizing MSSA strains were fluoroquinolone sensitive, while 90.5% of the colonizing MRSA strains were fluoroquinolone resistant. Although not statistically significant, the fluoroquinolone effect also favored shorter MRSA colonization durations. Moreover, no interaction between fluoroquinolone use and the methicillin resistance phenotype was found in the final model of loss of *S. aureus* colonization, suggesting that the association between fluoroquinolone use and colonization duration did not differ according to the strain's methicillin resistance phenotype. In contrast, Harbarth *et al.* reported that prior fluoroquinolone therapy was independently associated with MRSA persistence [180]. However, our definition of persistence and fluoroquinolone exposure as a time-dependent covariate differed, enabling assessment of short-term effects (1 week) on the loss of colonization.

Having a wound positive for a nonnasal strain was independently and significantly associated with shorter MSSA or *S. aureus* colonization durations. Univariate analysis indicated the same trend for MRSA colonization durations ($P = 0.09$). *S. aureus* is frequently isolated from hospitalized patients' wounds and may be a source of cross-contamination with the anterior nares [230, 231]. A nonnasal strain isolated from a wound may compete with the nasal strain and thereby shorten the nasal *S. aureus* colonization duration. Indeed, some reported observations suggested microbial competition during nasal colonization [96, 97, 116]. However, among the 50 *S. aureus* colonization episodes immediately followed by a colonization episode with a different strain, only 5 (10%) were concomitant with colonization of a wound with a nonnasal strain corresponding to that of the subsequent episode.

In earlier investigations, skin lesions or >1 MRSA-positive body sites were predictors of prolonged MRSA colonization [168, 170, 175, 180, 232, 233]. We did not include the same variables, but a wound positive for a nasal strain favored longer MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization durations in univariate analyses, albeit not significantly. Our results suggesting opposite effects of having a wound colonized with a nasal or nonnasal strain on the colonization duration highlight the importance of distinguishing between them.

The major strength of our prospective study was the use of a protocol that allowed precise estimation of the *S. aureus* colonization duration, i.e., weekly sampling of patients with a relatively long duration of monitoring (median follow-up, 5 months), made possible by the study setting in LTCFs, where the average stay is 3 months. Moreover, similar results were found when the loss of *S. aureus* colonization was defined as 3 consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain, indicating the good sensitivity of the *S. aureus* detection method. Furthermore, *spa* typing enabled the better characterization of the *S. aureus* strains and thereby provided more precise estimates of the colonization duration for each episode. Lastly, the use of shared-frailty models ensured maximum exploitation of the data. Standard survival analysis requires independent data, and the simplest way to study recurrent events is to examine only the time to the first event. That first sensitivity analysis failed to find any association between fluoroquinolone use or a nonnasal strain-positive wound and earlier

loss of *S. aureus* or MSSA colonization, thereby illustrating the advantage of this methodology. Conversely, when the sensitivity analyses used survival time recorded as calendar dates, fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were independent risk factors for loss of *S. aureus* colonization, supporting our main analysis outcome.

This study has several limitations. First, missing data made us exclude 111 colonization episodes from the analyses, to avoid underestimating their durations. Moreover, if a patient had been repeatedly colonized with the same strain, we could have considered the episode to be several colonization episodes because of missing data, while it might have been a single episode. In that context, only the colonization episode for which the acquisition interval was known was included, perhaps underestimating colonization durations, even if right censoring was considered in the survival analysis. In contrast, our definition of loss of colonization, intended to avoid possible false-negative swabs, might have overestimated colonization durations.

Second, although colonization pressure was not evaluated, all analyses were adjusted for center to limit potential confounding by colonization pressure. Moreover, because of interval censoring, we could not discern whether a patient was colonized for 1 week or decolonized and then recolonized very rapidly because of a given strain's high colonization pressure. Nevertheless, 43 (28.9%) patients had ≥ 2 episodes of colonization with the same *S. aureus* strain during follow-up, suggesting that the persistent carriage frequently described in the literature could be the result of recolonization [18, 26]. Furthermore, our second sensitivity analysis using calendar time to better control colonization pressure yielded results consistent with those from our main analysis.

Third, only nasal swab samples were used to determine *S. aureus* colonization status, as the study protocol did not include swabbing of extranasal body sites. Identification of the strains was based only on *spa* typing and methicillin susceptibility, whereas whole-genome sequencing would have increased the resolution of *S. aureus* characterization. Moreover, no information regarding the treatment used for *S. aureus* decolonization was collected during the study, which prevented us from considering this variable in the analyses.

In conclusion, for the LTCF patient cohort described here, the estimated median times to loss of MRSA or MSSA colonization were similar, while fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were independent predictors of the loss of MSSA colonization. These results suggest that fluoroquinolone use shortens the MSSA colonization duration, but fluoroquinolone use is also a risk factor for MRSA acquisition [184]; therefore, it is essential that they be prescribed with caution in health care facilities. Finally, because a longer duration of colonization has important implications for infection control policies and patient care and may be associated with an increased risk of infection, further research on the natural history of nasal and extranasal *S. aureus* colonization and on this bacterium's fitness is needed.

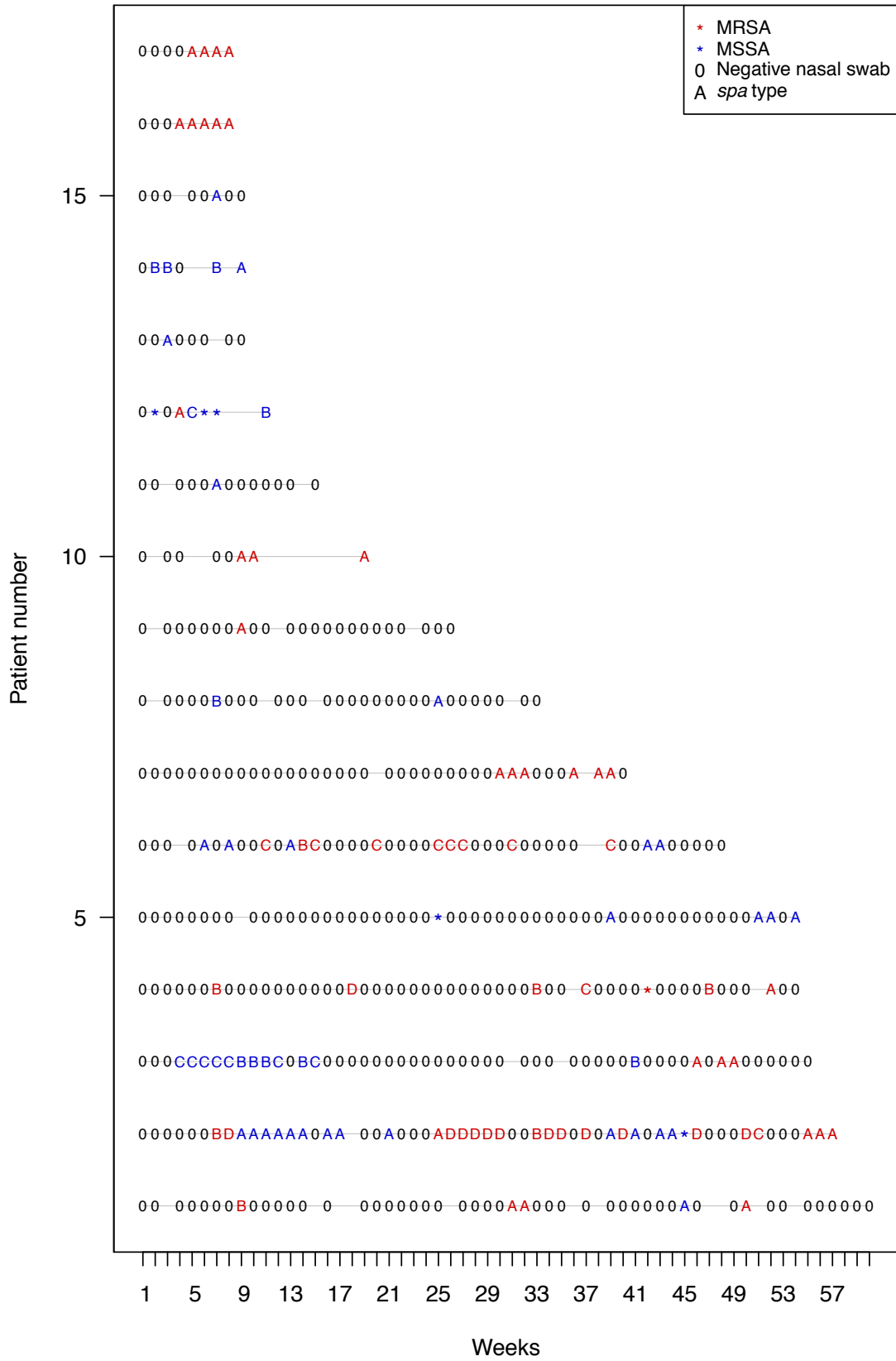
Acknowledgements. We thank the other members of the ASAR Study Group (A. S. Alvarez, P. Azouvi, C. Bernède-Bauduin, I. Bertucci, F. Delmer, P. Denys, C. Dupont, O. Le Minor, C. Ligier, A. Petit, J. G. Previnaire, L. Remy, T. Sorel, and P. Tronchet), all the health care workers who participated in the study, J. O’Quigley, P. Saint Pierre, L. Watier, E. Cécilia-Joseph, S. Escolano, and F. Leroy for their statistical advice, and GenoScreen (Lille, France) for *spa* typing of the strains. We also thank Janet Jacobson for editorial assistance.

4.4 Données supplémentaires de l’article II

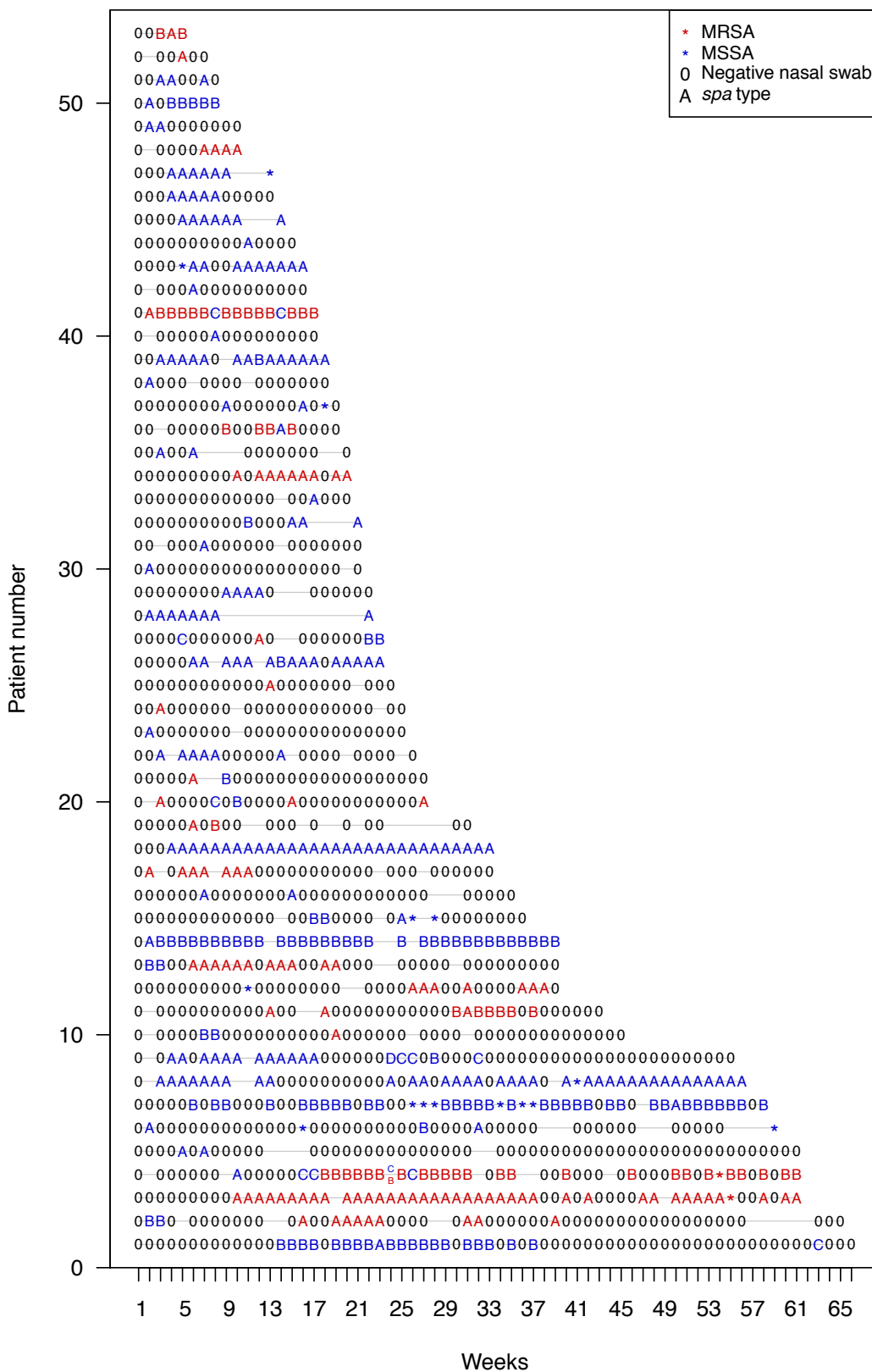
Figure 12. Nasal swab results for every *Staphylococcus aureus*-colonized patient during follow-up. 0 indicates an *S. aureus*-negative nasal swab. Red or blue indicates, respectively, MRSA-positive or MSSA-positive nasal swabs. Letters A, B, C and D represent the different *spa* types identified for each patient. * represents a positive nasal swab for which the *spa* type is missing; — corresponds to a week for which the nasal swab is missing. French centers 1–4 (city) were, respectively: Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck) and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

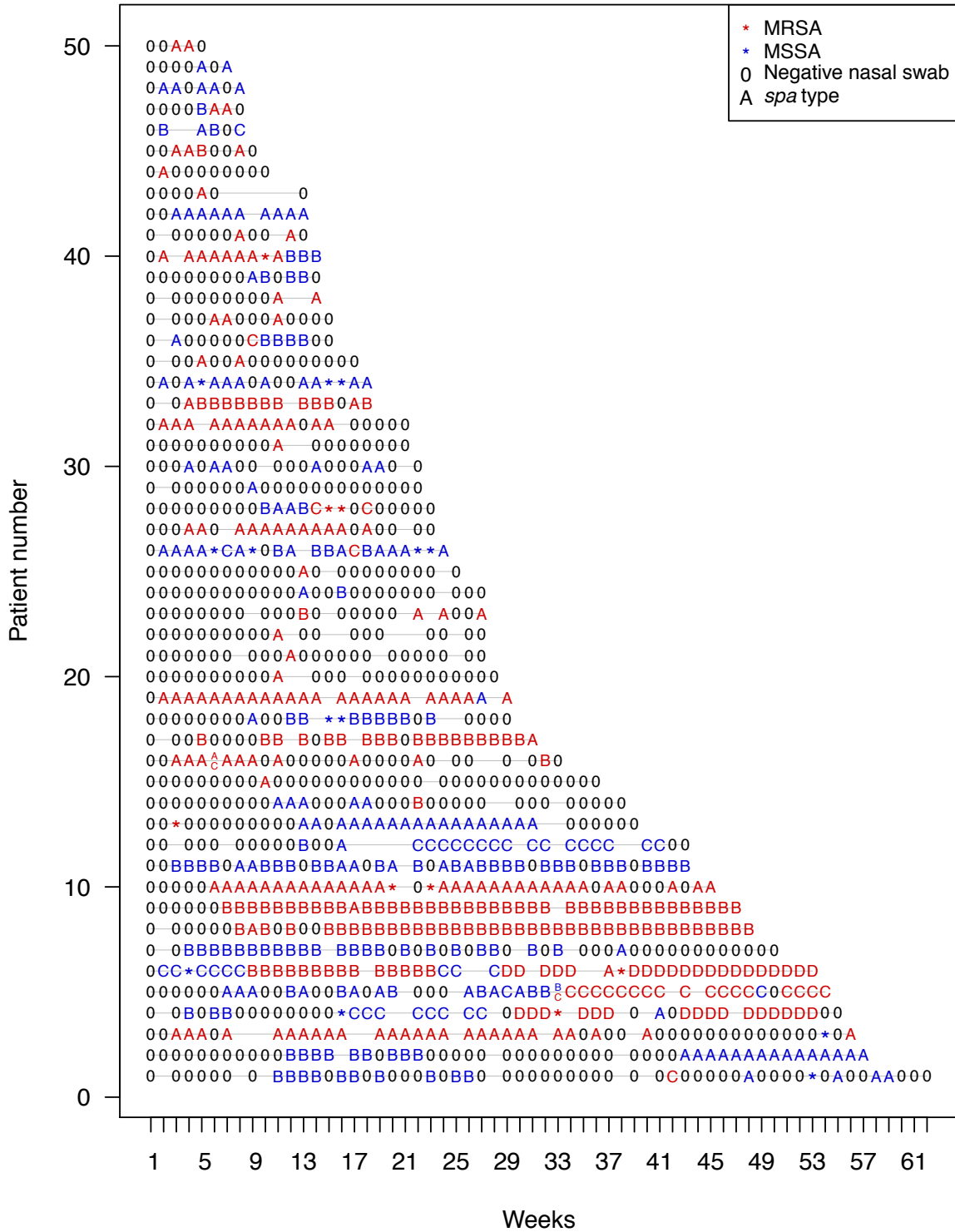
Center 1 (N = 17)



Center 2 (N = 53)



Center 3 (N = 50)



Center 4 (N = 29)

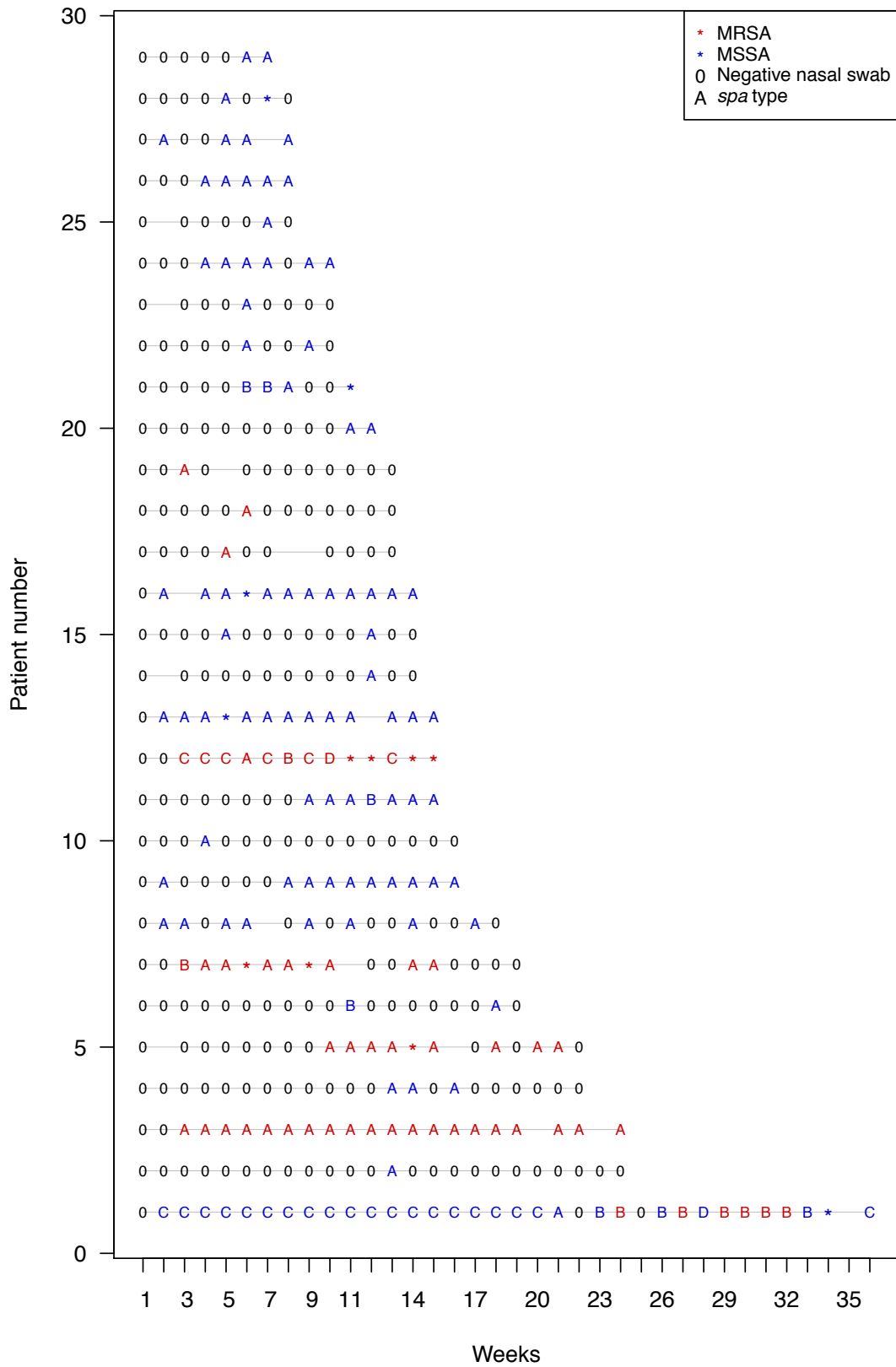


Table 14. Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or *S. aureus* colonization considering only the first colonization episode per patient

a) Univariate analyses

Variable	MRSA (n = 58)		MSSA (n = 91)		<i>S. aureus</i> (n = 149)	
	HR ^a (95% CI)	P value ^b	HR ^a (95% CI)	P value ^b	HR ^a (95% CI)	P value ^b
Patient's characteristics						
Center ^c						
1	Reference	0.38	Reference	0.51	Reference	0.14
2	0.77 (0.27–2.19)		0.66 (0.27–1.60)		0.74 (0.38–1.42)	
3	0.46 (0.17–1.24)		0.55 (0.21–1.43)		0.51 (0.26–1.00)	
4	0.46 (0.11–1.89)		0.49 (0.18–1.32)		0.51 (0.24–1.10)	
Male sex	1.14 (0.42–3.14)	0.80	1.13 (0.64–2.00)	0.67	1.08 (0.68–1.72)	0.73
Age ≥60, y	1.06 (0.48–2.36)	0.88	1.21 (0.68–2.17)	0.51	1.15 (0.74–1.80)	0.54
Diabetes mellitus	1.15 (0.38–3.47)	0.81	0.51 (0.22–1.17)	0.11	0.69 (0.36–1.31)	0.25
Bacterial characteristics						
Methicillin resistance	0.77 (0.49–1.21)	0.26
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.033	Reference	0.24	Reference	0.019
t002	1.68 (0.42–6.78)		0.73 (0.17–3.05)		1.03 (0.40–2.62)	
t008	0.41 (0.13–1.32)		2.29 (1.07–4.94)		0.92 (0.51–1.67)	
t777	1.70 (0.65–4.42)		0.93 (0.28–3.10)		1.22 (0.64–2.32)	
t571	...		3.62 (1.64–7.99)		3.43 (1.59–7.40)	
t2903	5.44 (1.23–24.11)		...		2.68 (0.89–8.04)	
Antimicrobials used						
Fluoroquinolones	4.17 (0.45–38.70)	0.21	3.37 (0.42–27.13)	0.25
Aminoglycosides	1.82 (0.21–15.46)	0.58	2.21 (0.28–17.28)	0.45
Other anti-MSSA agents ^d	1.65 (0.47–5.80)	0.44	1.24 (0.38–4.02)	0.72
Other follow-up variables						
Strict isolation	0.86 (0.34–2.21)	0.75	0.69 (0.28–1.73)	0.43
Contact isolation	0.80 (0.25–2.54)	0.70	1.55 (0.78–3.08)	0.21	1.24 (0.69–2.21)	0.47
Invasive medical device use ^e	0.91 (0.41–1.99)	0.80	1.29 (0.75–2.21)	0.36	1.18 (0.77–1.82)	0.45
Body-washing assistance	1.22 (0.52–2.84)	0.65	1.26 (0.71–2.22)	0.43	1.23 (0.77–1.96)	0.39
Having wound(s) positive for nasal strain	0.71 (0.27–1.87)	0.49	0.79 (0.37–1.68)	0.54	0.77 (0.43–1.36)	0.36
Having wound(s) positive for non-nasal strain	2.11 (0.25–18.18)	0.50	1.02 (0.35–3.01)	0.97	1.26 (0.52–3.09)	0.61
Having another nasal <i>S. aureus</i> strain

b) Multivariable analyses

Variable	MRSA (n = 58)		MSSA (n = 91)		<i>S. aureus</i> (n = 149)	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b
Center ^c						
1	Reference	0.32	Reference	0.27
2	2.50 (0.57–10.94)		...		0.91 (0.42–1.99)	
3	1.09 (0.29–4.15)		...		0.62 (0.28–1.36)	
4	1.29 (0.21–7.94)		...		0.59 (0.24–1.47)	
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.033	Reference	0.019
t002	1.68 (0.42–6.78)		...		1.03 (0.40–2.62)	
t008	0.41 (0.13–1.32)		...		0.92 (0.51–1.67)	
t777	1.70 (0.65–4.42)		...		1.22 (0.64–2.32)	
t571		3.43 (1.59–7.40)	
t2903	5.44 (1.23–24.11)		...		2.68 (0.89–8.04)	

Respective colonization episodes and loss-of-colonization rates were: 149 and 94 (63.1%) for *S. aureus*, 58 and 32 (55.2%) for MRSA, and 91 and 62 (68.1%) for MSSA. Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1–4 (city) were, respectively: Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck) and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Including β -lactamase-resistant penicillins (Anatomical Therapeutic Chemical Group, J01CF), combinations of penicillins and β -lactamase inhibitors (J01CR), third- and fourth-generation cephalosporins (J01DD/DE) and carbapenems (J01DH).

^e Including catheter, tracheostomy, enteral nutrition and/or urination device.

Table 15. Shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or *S. aureus* colonization using survival times recorded as calendar dates

a) Univariate analyses

Variable	MRSA (n = 168)		MSSA (n = 228)		<i>S. aureus</i> (n = 396)	
	HR ^a (95% CI)	P value ^b	HR ^a (95% CI)	P value ^b	HR ^a (95% CI)	P value ^b
Patient's characteristics						
Center ^c						
1	Reference	0.42	Reference	0.34	Reference	0.15
2	0.92 (0.28–3.00)		0.45 (0.15–1.35)		0.62 (0.27–1.42)	
3	0.50 (0.16–1.59)		0.37 (0.12–1.18)		0.41 (0.18–0.96)	
4	0.42 (0.09–1.90)		0.32 (0.09–1.16)		0.40 (0.15–1.06)	
Male sex	1.43 (0.55–3.71)	0.47	1.36 (0.68–2.71)	0.38	1.53 (0.87–2.69)	0.14
Age ≥60, y	0.83 (0.36–1.94)	0.67	2.20 (1.08–4.51)	0.031	1.52 (0.87–2.64)	0.14
Diabetes mellitus	0.94 (0.26–3.45)	0.93	1.51 (0.63–3.64)	0.36	1.31 (0.62–2.76)	0.47
Bacterial characteristics						
Methicillin resistance	0.96 (0.64–1.44)	0.84
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.57	Reference	0.26	Reference	0.31
t002	1.22 (0.18–8.31)		1.29 (0.51–3.27)		1.32 (0.59–2.93)	
t008	0.96 (0.37–2.47)		1.99 (0.86–4.62)		1.01 (0.62–1.66)	
t777	1.12 (0.45–2.78)		0.69 (0.21–2.21)		0.99 (0.56–1.74)	
t571	...		2.65 (0.91–7.74)		2.77 (0.99–7.76)	
t2903	3.29 (0.75–14.4)		...		1.95 (0.69–5.51)	
Antimicrobials used						
Fluoroquinolones	1.46 (0.33–6.40)	0.62	2.95 (0.91–9.57)	0.07	2.39 (1.03–5.55)	0.042
Aminoglycosides	1.83 (0.11–31.21)	0.68	4.50 (0.94–21.45)	0.06	2.22 (0.68–7.23)	0.19
Other anti-MSSA agents ^d	0.86 (0.20–3.79)	0.85	4.27 (1.54–11.83)	0.005	2.09 (0.98–4.45)	0.06
Other follow-up variables						
Strict isolation	1.57 (0.59–4.18)	0.37	0.86 (0.43–1.74)	0.68	1.10 (0.65–1.88)	0.72
Contact isolation	0.72 (0.30–1.74)	0.46	0.91 (0.47–1.74)	0.77	0.88 (0.53–1.45)	0.61
Invasive medical device use ^e	1.12 (0.58–2.19)	0.73	1.43 (0.81–2.54)	0.22	1.38 (0.90–2.12)	0.14
Body-washing assistance	1.06 (0.56–2.03)	0.85	1.40 (0.81–2.41)	0.23	1.24 (0.83–1.85)	0.31
Having wound(s) positive for nasal strain	0.62 (0.31–1.26)	0.19	0.93 (0.45–1.92)	0.85	0.69 (0.43–1.09)	0.11
Having wound(s) positive for non-nasal strain	2.15 (0.79–5.84)	0.13	1.61 (0.69–3.76)	0.27	1.87 (1.03–3.39)	0.039
Having another nasal <i>S. aureus</i> strain	0.72 (0.13–3.96)	0.71	0.43 (0.10–1.91)	0.27

b) Multivariable analyses

Variable	MRSA (n = 168)		MSSA (n = 228)		<i>S. aureus</i> (n = 396)	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b
Center ^c						
1	Reference	0.38	Reference	0.28
2	0.62 (0.20–1.94)		0.76 (0.32–1.77)	
3	0.62 (0.18–2.13)		0.49 (0.20–1.16)	
4	0.33 (0.09–1.23)		0.51 (0.18–1.39)	
Age ≥60, y	2.36 (1.13–4.95)	0.023
Fluoroquinolones	2.39 (1.03–5.52)	0.042
Other anti-MSSA agents ^d	4.50 (1.64–12.39)	0.004
Having wound(s) positive for non-nasal strain	1.88 (1.03–3.41)	0.040

Respective colonization episodes and loss-of-colonization rates were: 396 and 225 (56.8%) for *S. aureus*, 168 and 94 (56.0%) for MRSA, and 228 and 131 (57.5%) for MSSA. Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1–4 (city) were, respectively: Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck) and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Including β-lactamase resistant penicillins (Anatomical Therapeutic Chemical Group, J01CF), combinations of penicillins and β-lactamase inhibitors (J01CR), third- and fourth-generation cephalosporins (J01DD/DE) and carbapenems (J01DH).

^e Including catheter, tracheostomy, enteral nutrition and/or urination device.

Table 16. Shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA or *S. aureus* colonization^a

a) Univariate analyses

Variable	MRSA (n = 106)		MSSA (n = 142)		<i>S. aureus</i> (n = 248)	
	HR ^b (95% CI)	P value ^c	HR ^b (95% CI)	P value ^c	HR ^b (95% CI)	P value ^c
Patient's characteristics						
Center ^d						
1	Reference	0.003	Reference	0.08	Reference	0.002
2	0.39 (0.19–0.83)		0.80 (0.40–1.61)		0.64 (0.38–1.06)	
3	0.27 (0.13–0.56)		0.49 (0.23–1.05)		0.38 (0.22–0.65)	
4	0.25 (0.07–0.87)		0.42 (0.18–0.99)		0.36 (0.18–0.71)	
Male sex	1.13 (0.53–2.44)	0.75	1.40 (0.83–2.37)	0.21	1.26 (0.82–1.95)	0.29
Age ≥60, y	0.62 (0.30–1.25)	0.18	1.44 (0.84–2.49)	0.19	1.04 (0.68–1.60)	0.87
Diabetes mellitus	0.50 (0.15–1.69)	0.27	0.61 (0.28–1.33)	0.21	0.59 (0.30–1.16)	0.13
Bacterial characteristics						
Methicillin resistance	0.77 (0.53–1.13)	0.18
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.15	Reference	0.28	Reference	0.032
t002	3.47 (0.81–14.83)		1.06 (0.32–3.50)		1.43 (0.61–3.34)	
t008	0.80 (0.34–1.87)		0.93 (0.44–1.99)		0.72 (0.44–1.18)	
t777	1.02 (0.42–2.45)		0.73 (0.25–2.17)		0.75 (0.41–1.36)	
t571	...		2.33 (1.06–5.11)		2.60 (1.18–5.75)	
t2903	2.10 (0.75–5.89)		...		1.65 (0.73–3.69)	
Antimicrobials used						
Fluoroquinolones	1.60 (0.38–6.79)	0.52	4.51 (1.32–15.42)	0.017	2.50 (0.99–6.30)	0.05
Aminoglycosides	1.30 (0.17–9.79)	0.80	2.78 (0.34–22.44)	0.34	1.56 (0.37–6.57)	0.55
Other anti-MSSA agents ^e	1.09 (0.33–3.64)	0.89	1.48 (0.44–4.98)	0.53	1.25 (0.53–2.95)	0.61
Other follow-up variables						
Strict isolation	0.88 (0.33–2.35)	0.79	0.68 (0.29–1.62)	0.39	0.76 (0.40–1.46)	0.41
Contact isolation	0.40 (0.15–1.10)	0.08	1.00 (0.51–1.94)	0.99	0.71 (0.41–1.24)	0.23
Invasive medical device use ^f	0.78 (0.41–1.47)	0.44	1.08 (0.66–1.77)	0.77	0.93 (0.62–1.39)	0.73
Body-washing assistance	0.79 (0.40–1.55)	0.49	1.03 (0.61–1.72)	0.92	0.89 (0.59–1.35)	0.58
Having wound(s) positive for nasal strain	0.51 (0.24–1.05)	0.07	0.63 (0.31–1.29)	0.21	0.58 (0.35–0.96)	0.034
Having wound(s) positive for non-nasal strain	2.49 (1.16–5.35)	0.020	2.30 (1.16–4.56)	0.017	2.40 (1.43–4.01)	0.001
Having another nasal <i>S. aureus</i> strain	1.16 (0.14–9.55)	0.89	5.01 (1.62–15.50)	0.005	2.72 (1.04–7.14)	0.042

b) Multivariable analyses

Variable	MRSA (n = 106)		MSSA (n = 142)		<i>S. aureus</i> (n = 248)	
	HR ^b (95% CI)	<i>P</i> value ^c	HR ^b (95% CI)	<i>P</i> value ^c	HR ^b (95% CI)	<i>P</i> value ^c
Center ^d						
1	Reference	0.07	Reference	0.15	Reference	
2	0.65 (0.24–1.75)		1.26 (0.56–2.81)		0.90 (0.49–1.65)	0.010
3	0.36 (0.14–0.91)		0.76 (0.33–1.77)		0.52 (0.28–0.97)	
4	0.18 (0.03–1.00)		0.62 (0.23–1.64)		0.39 (0.17–0.88)	
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.024	Reference	0.001
t002	3.30 (0.81–13.42)		1.48 (0.65–3.37)	
t008	0.75 (0.33–1.70)		0.69 (0.43–1.11)	
t777	0.85 (0.36–1.99)		0.74 (0.41–1.32)	
t571	2.74 (1.28–5.89)	
t2903	2.80 (1.05–7.46)		2.66 (1.21–5.82)	
Fluoroquinolones	4.46 (1.31–15.25)	0.017	2.77 (1.10–6.97)	0.031
Having wound(s) positive for nasal strain	0.46 (0.22–0.97)	0.042	0.54 (0.32–0.90)	0.017
Having wound(s) positive for non-nasal strain	3.05 (1.44–6.47)	0.004	2.30 (1.16–4.56)	0.018	2.84 (1.71–4.74)	<0.001

Respective colonization episodes and loss-of-colonization rates were: 248 and 126 (50.8%) for *S. aureus*, 106 and 51 (48.1%) for MRSA, and 142 and 75 (52.8%) for MSSA. Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

^a Defined as 3 consecutive nasal swabs negative for the episode strain.

^b All analyses were adjusted for center.

^c Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^d French centers 1–4 (city) were, respectively: Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck) and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^e Including β -lactamase-resistant penicillins (Anatomical Therapeutic Chemical Group, J01CF), combinations of penicillins and β -lactamase inhibitors (J01CR), third- and fourth-generation cephalosporins (J01DD/DE) and carbapenems (J01DH).

^f Including catheter, tracheostomy, enteral nutrition and/or urination device.

Chapitre 5. Conclusion

Dans ce dernier chapitre, nous concluons la thèse en synthétisant les principaux résultats obtenus, puis en proposant des perspectives de recherche pour continuer à améliorer la compréhension de l'histoire naturelle de la colonisation par *S. aureus*.

5.1 Synthèse des travaux

L'objectif de cette thèse était de déterminer l'impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *S. aureus*, en particulier sur les étapes d'acquisition et de décolonisation de la bactérie. Pour cela, les travaux présentés dans ce document se sont appuyés sur les données de la cohorte ASAR spécifiquement conçue pour analyser le risque associé à l'exposition médicamenteuse alors que la plupart des travaux portant sur le contrôle du SARM se sont surtout intéressés à la transmission entre individus. Le fait de se placer chez des patients initialement non colonisés par *S. aureus* et ayant été suivis de manière systématique chaque semaine nous a permis de répondre à cet objectif en employant des méthodologies rigoureuses et en distinguant les facteurs associés à SARM et à SASM.

Nos travaux suggèrent un rôle différentiel des fluoroquinolones sur la forme sensible et la forme résistante de *S. aureus*. En effet, les résultats obtenus dans le premier article indiquent que l'exposition à cette classe d'antibiotiques favoriserait l'acquisition de SARM (i.e. la détection de SARM au cours du suivi hebdomadaire), alors qu'aucune association n'a été retrouvée avec SASM. A l'inverse, le modèle de Cox à fragilité partagée présenté dans le deuxième article indique que si l'utilisation de fluoroquinolones favorise la décolonisation de SASM, elle ne semble pas impacter la durée de colonisation par SARM, au moins dans un contexte tel que celui observé avec une majorité de SARM résistants aux fluoroquinolones. Si l'on considère ces résultats dans leur ensemble, la consommation de fluoroquinolones au niveau individuel peut certainement être considérée comme un moteur de diffusion de SARM dans la population. En effet, en favorisant la décolonisation de SASM, les individus exposés aux fluoroquinolones sont moins à même de les transmettre à d'autres individus. Sous l'hypothèse d'interaction compétitive à la colonisation, cela pourrait être de nature à favoriser la colonisation par SARM dans la population chez des individus exposés à SARM ; risque augmenté chez les individus exposés aux fluoroquinolones. L'exposition des individus aux fluoroquinolones semble donc constituer un mécanisme de sélection des SARM dans la population. Le fait que les souches de SARM aient très rapidement diffusé à l'hôpital après leur émergence peut s'expliquer par le fait que la consommation d'antibiotiques, et en particulier des fluoroquinolones, est élevée au sein des hôpitaux en comparaison du secteur de ville (cf. 2.2.2).

L'analyse cas-cas-témoins présentée dans le premier article a également identifié l'intensité des soins à l'admission et le sexe masculin comme facteurs de risque d'acquisition de SARM d'une part, l'aide à la toilette et la présence d'un dispositif urinaire comme facteurs de risque

d'acquisition de SASM d'autre part. Si aucun argument biologique ne permet d'expliquer pourquoi les hommes seraient plus à risque d'acquisition de SARM que les femmes, des auteurs ont récemment suggéré que les individus de sexe masculin seraient moins respectueux des règles d'hygiène et seraient de ce fait plus à risque de colonisation ou d'infection par SARM [234]. Il a notamment été observé que les hommes avaient une fréquence plus faible de lavage des mains et d'utilisation de savon ainsi qu'une durée de lavage inférieure à celle des femmes. Néanmoins, ces hypothèses n'expliquent pas pourquoi l'effet du sexe masculin n'a pas été mis en évidence pour l'acquisition de SASM. Les autres facteurs (*i.e.* l'intensité des soins à l'admission, l'aide à la toilette et la présence d'un dispositif urinaire) reflètent quant à eux les contacts avec le personnel soignant. Comme nous l'avons décrit dans le chapitre 2, la transmission de *S. aureus* est principalement manuportée. Nos résultats confirment ainsi l'importance de l'hygiène comme mesure d'action sanitaire destinée à limiter la diffusion de *S. aureus* en secteur hospitalier.

Ce travail de thèse a également permis de déterminer probablement avec plus de précision les durées de colonisation par SARM et par SASM grâce à la fréquence hebdomadaire des prélèvements nasaux et les données de *spa typing* recueillies dans le cadre de la cohorte ASAR. Deux arguments mis en évidence dans le deuxième article suggèrent que l'acquisition de la résistance à la méticilline chez *S. aureus* n'induirait pas de coût biologique. D'une part, les durées estimées de colonisation par SARM et par SASM étaient similaires (trois semaines et deux semaines respectivement par estimation non paramétrique) ; d'autre part, le phénotype de résistance à la méticilline n'était pas associé à la durée de colonisation par *S. aureus* dans le modèle de Cox à fragilité partagée. Ces résultats, en contradiction avec certaines études réalisées *in vitro* [91, 92], nécessitent d'être approfondis.

Enfin, nos résultats indiquent que la présence d'une ou de plusieurs plaies colonisées par une souche différente de celle du nez diminue la durée de colonisation nasale par SASM et par *S. aureus*. Ceci suggère qu'il pourrait exister une compétition lorsque les souches isolées dans le nez et dans les plaies sont différentes, les souches de *S. aureus* dans notre analyse étant définies par leur phénotype de résistance à la méticilline et par leur *spa* type.

5.2 Perspectives de recherche

En plus de l'exposition individuelle à des antibiotiques, les phénomènes immunitaires (immunité innée ou acquise) impliqués dans la colonisation pourraient affecter la transmission interindividuelle de *S. aureus*. Cette bactérie est en effet principalement extracellulaire ; en conséquence, la défense immunitaire contre l'infection repose sur des mécanismes de l'immunité innée et de l'immunité humorale (*i.e.* immunité adaptative reposant sur les lymphocytes B et la production d'anticorps). Plusieurs études ont suggéré un lien entre l'existence d'anticorps sériques et la colonisation ou l'infection par *S. aureus*. En l'occurrence, une augmentation du taux d'anticorps dirigés contre certains composants ou toxines de

S. aureus a été mise en évidence chez des patients infectés [235-237]. Des réponses anticorps contre des antigènes de *S. aureus* ont également été mises en évidence chez des individus ne présentant pas de signe d'infection récente à la bactérie [236, 238]. Des études menées chez des animaux ont montré que la présence d'anticorps dirigés contre certains composants de *S. aureus*, en particulier FnBP [239], ClfA [240] et certaines toxines [241, 242], pouvait jouer un rôle dans la protection contre l'infection par la bactérie. Enfin, il a été montré que la production d'anticorps dirigés contre certains composants de *S. aureus* chez des animaux réduirait la charge bactérienne voire empêcherait la colonisation dans certaines conditions [243, 244].

Le développement d'un vaccin anti-staphylococcique permettrait de réduire le risque d'infection chez les individus, et de les protéger ainsi d'un certain nombre de pathologies, *S. aureus* étant responsable d'un large éventail d'infections. Comprendre l'influence de la colonisation sur les réponses immunitaires adaptatives de l'hôte est essentiel pour concevoir un tel vaccin. Il semblerait en effet que les individus colonisés par *S. aureus* développant une septicémie présenteraient une mortalité attribuable à cette bactérie plus faible que les individus non colonisés [245]. Ceci pourrait signifier que les individus colonisés développeraient une réponse immunitaire impactant sur l'issue du pronostic de l'infection. A ce jour, aucun vaccin n'a montré une efficacité permettant sa mise sur le marché. Les raisons pouvant expliquer pourquoi les essais cliniques du vaccin anti-staphylococcique ont jusqu'à présent échoué sont multiples [246]. Tout d'abord, la connaissance des mécanismes immunitaires dirigés contre *S. aureus* est insuffisante. De plus, cette bactérie possède un grand nombre de facteurs de virulence et est responsable d'un large spectre d'infections, complexifiant ainsi la réalisation d'un vaccin. Enfin, *S. aureus* présente de nombreux facteurs de pathogénicité capables de neutraliser les réponses immunitaires de l'hôte, d'autant plus du fait que cette bactérie appartient à la flore commensale. Néanmoins, dans l'éventualité de la réussite de développement et de la mise sur le marché d'un vaccin, la question de son impact se posera à différents niveaux. Si ce vaccin cible spécifiquement certains sérotypes de *S. aureus* (par exemple les polysaccharides capsulaires de type 5 et 8 prédominants chez l'Homme), une telle vaccination pourrait conduire au remplacement des sérotypes vaccinaux par les sérotypes de la même espèce bactérienne non présents dans le vaccin. C'est ce qui a notamment été observé après l'introduction du vaccin à 7 valences dirigé contre *Streptococcus pneumoniae* [247] et celle du vaccin conjugué contre le sérogroupe C du méningocoque (*Neisseria meningitidis*) [248]. De plus, des études ont suggéré l'existence de relations synergiques entre bactéries commensales, en particulier entre *S. aureus* et *Candida albicans* [249] et entre *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* [250]. L'immunisation conférée par l'introduction d'un vaccin contre *S. aureus* pourrait donc, en plus d'un potentiel remplacement des sérotypes circulants, modifier au niveau individuel la composition du microbiome et altérer les interactions entre les différents pathogènes.

En conclusion, cette thèse a permis d'améliorer les connaissances scientifiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *S. aureus*, en estimant les durées de colonisation

respectives de SARM et de SASM, et en identifiant les facteurs influençant l'acquisition et la perte de colonisation de cette bactérie au niveau individuel. La mise en évidence de l'impact des fluoroquinolones sur la dynamique de colonisation de *S. aureus* permettra notamment d'orienter les politiques de bon et de moindre usage des antibiotiques dans les établissements de soins.

Bibliographie

1. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med, **1998**; 339: 520–32.
2. Miller LG, Diep BA. Clinical practice: colonization, fomites, and virulence: rethinking the pathogenesis of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. Clin Infect Dis, **2008**; 46: 752–60.
3. Kock R, Becker K, Cookson B, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. Euro Surveill, **2010**; 15: 19688.
4. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant Staphylococci. Lancet, **1948**; 2: 641–4.
5. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant Staphylococci. Science, **1944**; 99: 452–3.
6. Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest, **2003**; 111: 1265–73.
7. Jevons MP. "Celbenin"-resistant Staphylococci. Br Med J, **1961**; 1: 972–3.
8. Otto M. Community-associated MRSA: what makes them special? Int J Med Microbiol, **2013**; 303: 324–30.
9. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. N Engl J Med, **2005**; 352: 1436–44.
10. Zetola N, Francis JS, Nuermberger EL, Bishai WR. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. Lancet Infect Dis, **2005**; 5: 275–86.
11. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. N Engl J Med, **2006**; 355: 666–74.
12. Robert J, Etienne J, Bertrand X, Onerba. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* producing Panton-Valentine leukocidin in a retrospective case series from 12 French hospital laboratories, 2000-2003. Clin Microbiol Infect, **2005**; 11: 585–7.
13. Salgado CD, Farr BM, Calfee DP. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. Clin Infect Dis, **2003**; 36: 131–9.
14. Diep BA, Otto M. The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. Trends Microbiol, **2008**; 16: 361–9.
15. Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother, **1997**; 40: 135–6.
16. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, McDonald LC, Wilkins MJ, Hageman JC. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002-2006. Clin Infect Dis, **2008**; 46: 668–74.
17. Howden BP, Davies JK, Johnson PD, Stinear TP, Grayson ML. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and

- heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, **2010**; 23: 99–139.
18. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*, **2005**; 5: 751–62.
 19. Licitra G. Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerg Infect Dis* [Internet] Vol. 19, **2013**.
 20. Williams REO. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev*, **1963**; 27: 56–71.
 21. White A. Quantitative studies of nasal carriers of staphylococci among hospitalized patients. *J Clin Invest*, **1961**; 40: 23–30.
 22. Verhoeven PO, Gagnaire J, Botelho-Nevers E, et al. Detection and clinical relevance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage: an update. *Expert Rev Anti Infect Ther*, **2014**; 12: 75–89.
 23. Nouwen JL, Ott A, Kluytmans-Vandenberg MF, et al. Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state: derivation and validation of a "culture rule". *Clin Infect Dis*, **2004**; 39: 806–11.
 24. Nouwen J, Schouten J, Schneebergen P, et al. *Staphylococcus aureus* carriage patterns and the risk of infections associated with continuous peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol*, **2006**; 44: 2233–6.
 25. Vandenberg MF, Yzerman EP, van Belkum A, Boelens HA, Sijmons M, Verbrugh HA. Follow-up of *Staphylococcus aureus* nasal carriage after 8 years: redefining the persistent carrier state. *J Clin Microbiol*, **1999**; 37: 3133–40.
 26. van Belkum A, Verkaik NJ, de Vogel CP, et al. Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis*, **2009**; 199: 1820–6.
 27. Luzar MA, Coles GA, Faller B, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *N Engl J Med*, **1990**; 322: 505–9.
 28. von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study group. *N Engl J Med*, **2001**; 344: 11–6.
 29. Wertheim HF, Vos MC, Ott A, et al. Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet*, **2004**; 364: 703–5.
 30. Honda H, Krauss MJ, Coopersmith CM, et al. *Staphylococcus aureus* nasal colonization and subsequent infection in intensive care unit patients: does methicillin resistance matter? *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2010**; 31: 584–91.
 31. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med*, **2008**; 121: 310–5.
 32. Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clin Infect Dis*, **2004**; 39: 776–82.
 33. Quezada Joaquin NM, Diekema DJ, Perencevich EN, Bailey G, Winokur PL, Schweizer ML. Long-term risk for readmission, methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus* (MRSA) infection, and death among MRSA-colonized veterans. *Antimicrob Agents Chemother*, **2013**; 57: 1169-72.
34. Pilly E. *Maladies infectieuses et tropicales*. 21 ed, **2008**.
 35. Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC. The role of the Panton-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, **2013**; 13: 43–54.
 36. Vincenot F, Saleh M, Prévost G. Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue Francophone des Laboratoires*, **2008**; 407: 61–9.
 37. Peacock SJ, Justice A, Griffiths D, et al. Determinants of acquisition and carriage of *Staphylococcus aureus* in infancy. *J Clin Microbiol*, **2003**; 41: 5718–25.
 38. Cole AM, Tahk S, Oren A, et al. Determinants of *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clin Diagn Lab Immunol*, **2001**; 8: 1064–9.
 39. Bilavsky E, Lerman Y, Rabinovich A, et al. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to European rehabilitation centres—a prospective study. *Clin Microbiol Infect*, **2012**; 18: E164–9.
 40. Cretnik TZ, Vovko P, Retelj M, et al. Prevalence and nosocomial spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term-care facility in Slovenia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 184–90.
 41. Stone ND, Lewis DR, Johnson II TM, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal carriage in residents of veterans affairs long-term care facilities: role of antimicrobial exposure and MRSA acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2012**; 33: 551–7.
 42. Manzur A, Dominguez MA, Ruiz de Gopegui E, et al. Natural history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation among residents in community long term care facilities in Spain. *J Hosp Infect*, **2010**; 76: 215–9.
 43. European Center for Disease Prevention and Control. Surveillance report. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. 2013. Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control, **2014**.
 44. van Trijp MJ, Melles DC, Hendriks WD, Parlevliet GA, Gommans M, Ott A. Successful control of widespread methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a large teaching hospital in the Netherlands. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2007**; 28: 970–5.
 45. Anonymous. Recent trends in antimicrobial resistance among *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* isolates: the French experience. *Euro Surveill*, **2008**; 13.
 46. Cizman M. Experiences in prevention and control of antibiotic resistance in Slovenia. *Euro Surveill*, **2008**; 13.
 47. Institut de veille sanitaire, Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. Bilan des données de surveillance, 18 novembre 2014. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire, **2014**.

48. Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. Résultats. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire, **2013**.
49. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38: 1008–15.
50. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2002**; 99: 7687–92.
51. Paranthaman K, Bentley A, Milne LM, et al. Nosocomial outbreak of staphylococcal scalded skin syndrome in neonates in England, December 2012 to March 2013. *Euro Surveill*, **2014**; 19.
52. Saiman L, Cronquist A, Wu F, et al. An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2003**; 24: 317–21.
53. Saiman L, O'Keefe M, Graham PL, et al. Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. *Clin Infect Dis*, **2003**; 37: 1313–9.
54. Price JR, Golubchik T, Cole K, et al. Whole-genome sequencing shows that patient-to-patient transmission rarely accounts for acquisition of *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *Clin Infect Dis*, **2014**; 58: 609–18.
55. Köser CU, Holden MT, Ellington MJ, et al. Rapid whole-genome sequencing for investigation of a neonatal MRSA outbreak. *N Engl J Med*, **2012**; 366: 2267–75.
56. Nübel U, Nachtnebel M, Falkenhorst G, et al. MRSA transmission on a neonatal intensive care unit: epidemiological and genome-based phylogenetic analyses. *PLoS One*, **2013**; 8: e54898.
57. Bartels MD, Larner-Svensson H, Meiniche H, et al. Monitoring methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and its spread in Copenhagen, Denmark, 2013, through routine whole genome sequencing. *Euro Surveill*, **2015**; 20.
58. Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nat Rev Drug Discov*, **2013**; 12: 371–87.
59. Goossens H, Ferech M, Stichele RV, Elseviers M, Grp EP. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet*, **2005**; 365: 579–87.
60. Goossens H, Guillemot D, Ferech M, et al. National campaigns to improve antibiotic use. *Eur J Clin Pharmacol*, **2006**; 62: 373–9.
61. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Évolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2013. Saint-Denis: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, **2014**.
62. European Center for Disease Prevention and Control. Antimicrobial consumption interactive database: ESAC-Net. Available at:

http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/esac-net-database/Pages/overview-country-consumption.aspx.

63. Nicolle LE, Bentley DW, Garibaldi R, Neuhaus EG, Smith PW. Antimicrobial use in long-term-care facilities. SHEA Long-Term-Care Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2000**; 21: 537–45.
64. van Buul LW, van der Steen JT, Veenhuizen RB, et al. Antibiotic use and resistance in long term care facilities. *J Am Med Dir Assoc*, **2012**; 13: e1–13.
65. European Center for Disease Prevention and Control. Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European long-term care facilities. April-May 2013. Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control, **2014**.
66. Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Surveillance de la consommation des antibiotiques. Réseau ATB Raisin. Résultats 2013. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire, **2015**.
67. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*, **2009**; 7: 629–41.
68. Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques. Rapport d'activité 2011-2012. Observatoire National de l'Épidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques, **2014**.
69. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis*, **2001**; 32 Suppl 2: S114–32.
70. Gardete S, Tomasz A. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest*, **2014**; 124: 2836–40.
71. Hayden MK, Rezai K, Hayes RA, Lolans K, Quinn JP, Weinstein RA. Development of daptomycin resistance in vivo in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, **2005**; 43: 5285–7.
72. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G, et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, **2001**; 358: 207–8.
73. Opatowski L, Guillemot D, Boelle PY, Temime L. Contribution of mathematical modeling to the fight against bacterial antibiotic resistance. *Curr Opin Infect Dis*, **2011**; 24: 279–87.
74. Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, **2007**; 128: 1037–50.
75. Todar K. Online Textbook of Bacteriology. Available at: <http://textbookofbacteriology.net>.
76. Martinez JL, Baquero F. Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**; 44: 1771–7.

77. Feil EJ, Holmes EC, Bessen DE, et al. Recombination within natural populations of pathogenic bacteria: short-term empirical estimates and long-term phylogenetic consequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **2001**; 98: 182–7.
78. Chambers HF. Penicillin-binding protein-mediated resistance in pneumococci and staphylococci. *J Infect Dis*, **1999**; 179 Suppl 2: S353–9.
79. Archer GL, Niemeyer DM. Origin and evolution of DNA associated with resistance to methicillin in staphylococci. *Trends Microbiol*, **1994**; 2: 343–7.
80. Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, **2014**; 22: 42–7.
81. Laurent F, Chardon H, Haenni M, et al. MRSA harboring *mecA* variant gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis*, **2012**; 18: 1465–7.
82. Lipsitch M, Samore MH. Antimicrobial use and antimicrobial resistance: a population perspective. *Emerg Infect Dis*, **2002**; 8: 347–54.
83. Williams VR, Callery S, Vearncombe M, Simor AE. The role of colonization pressure in nosocomial transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Infect Control*, **2009**; 37: 106–10.
84. Kuhn G, Koessler T, Melles DC, et al. Comparative genomics of epidemic versus sporadic *Staphylococcus aureus* strains does not reveal molecular markers for epidemicity. *Infect Genet Evol*, **2010**; 10: 89–96.
85. Andersson DI. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? *Curr Opin Microbiol*, **2006**; 9: 461–5.
86. Andersson DI. Persistence of antibiotic resistant bacteria. *Curr Opin Microbiol*, **2003**; 6: 452–6.
87. Martinez JL, Fajardo A, Garmendia L, et al. A global view of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*, **2009**; 33: 44–65.
88. Kempf I, Jouy E. Coût biologique et évolution de la résistance aux antibiotiques. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*, **2012**; 53: 45–9.
89. Bjorkman J, Nagaev I, Berg OG, Hughes D, Andersson DI. Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic resistance. *Science*, **2000**; 287: 1479–82.
90. MacLean RC, Vogwill T. Limits to compensatory adaptation and the persistence of antibiotic resistance in pathogenic bacteria. *Evol Med Public Health*, **2014**; 2015: 4–12.
91. Ender M, McCallum N, Adhikari R, Berger-Bachi B. Fitness cost of SCCmec and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, **2004**; 48: 2295–7.
92. Knight GM, Budd EL, Lindsay JA. Large mobile genetic elements carrying resistance genes that do not confer a fitness burden in healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*, **2013**; 159: 1661–72.
93. Landelle C, Iten A, Uckay I, et al. Does colonization with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* protect against nosocomial acquisition of methicillin-resistant *S. aureus*? *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2014**; 35: 527–33.

94. Krebs J, Al-Ghusein H, Feasey N, Breathnach A, Lindsay JA. Are nasal carriers of *Staphylococcus aureus* more likely to become colonized or infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to a hospital? *J Clin Microbiol*, **2011**; 49: 430–2.
95. Datta R, Quan V, Kim D, et al. Protective effect of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* carriage against methicillin-resistant *S. aureus* acquisition in nursing homes: a prospective cross-sectional study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2014**; 35: 1257–62.
96. Huang SS, Datta R, Rifas-Shiman S, et al. Colonization with antibiotic-susceptible strains protects against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* but not vancomycin-resistant enterococci acquisition: a nested case-control study. *Crit Care*, **2011**; 15: R210.
97. Dall'Antonia M, Coen PG, Wilks M, Whiley A, Millar M. Competition between methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* in the anterior nares. *J Hosp Infect*, **2005**; 61: 62–7.
98. Dombrowski JC, Winston LG. Clinical failures of appropriately-treated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *J Infect*, **2008**; 57: 110–5.
99. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, **2003**; 36: 53–9.
100. Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, Greene JA, Moiduddin A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis*, **1999**; 5: 9–17.
101. Dilworth TJ, Ibrahim O, Hall P, Sliwinski J, Walraven C, Mercier RC. β -lactams enhance vancomycin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia compared to vancomycin alone. *Antimicrob Agents Chemother*, **2014**; 58: 102–9.
102. Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 166–74.
103. Filice GA, Nyman JA, Lexau C, et al. Excess costs and utilization associated with methicillin resistance for patients with *Staphylococcus aureus* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2010**; 31: 365–73.
104. European Centre for Disease Prevention and Control, European Medicines Agency. ECDC/ EMEA joint technical report – The bacterial challenge: time to react. Stockholm: ECDC & EMEA, **2009**.
105. Cimolai N. The role of healthcare personnel in the maintenance and spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Public Health*, **2008**; 1: 78–100.

106. Lucet JC, Paoletti X, Demontpion C, et al. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in home care settings: prevalence, duration, and transmission to household members. *Arch Intern Med*, **2009**; 169: 1372–8.
107. Mollema FP, Richardus JH, Behrendt M, et al. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to household contacts. *J Clin Microbiol*, **2010**; 48: 202–7.
108. Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol*, **2000**; 38: 724–6.
109. Nouwen J, Boelens H, van Belkum A, Verbrugh H. Human factor in *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Infect Immun*, **2004**; 72: 6685–8.
110. Ruimy R, Angebault C, Djossou F, et al. Are host genetics the predominant determinant of persistent nasal *Staphylococcus aureus* carriage in humans? *J Infect Dis*, **2010**; 202: 924–34.
111. Noble WC, Valkenburg HA, Wolters CH. Carriage of *Staphylococcus aureus* in random samples of a normal population. *J Hyg (Lond)*, **1967**; 65: 567–73.
112. Andersen PS, Pedersen JK, Fode P, et al. Influence of host genetics and environment on nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in danish middle-aged and elderly twins. *J Infect Dis*, **2012**; 206: 1178–84.
113. Roghmann MC, Johnson JK, Stine OC, et al. Persistent *Staphylococcus aureus* colonization is not a strongly heritable trait in Amish families. *PLoS One*, **2011**; 6: e17368.
114. Lebon A, Verkaik NJ, de Vogel CP, et al. The inverse correlation between *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* colonization in infants is not explained by differences in serum antibody levels in the Generation R Study. *Clin Vaccine Immunol*, **2011**; 18: 180–3.
115. van Gils EJ, Hak E, Veenhoven RH, et al. Effect of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine on *Staphylococcus aureus* colonisation in a randomised controlled trial. *PLoS One*, **2011**; 6: e20229.
116. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One*, **2010**; 5: e10598.
117. Iwase T, Uehara Y, Shinji H, et al. *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature*, **2010**; 465: 346–9.
118. Uehara Y, Nakama H, Agematsu K, et al. Bacterial interference among nasal inhabitants: eradication of *Staphylococcus aureus* from nasal cavities by artificial implantation of *Corynebacterium* sp. *J Hosp Infect*, **2000**; 44: 127–33.
119. Burian M, Wolz C, Goerke C. Regulatory adaptation of *Staphylococcus aureus* during nasal colonization of humans. *PLoS One*, **2010**; 5: e10040.
120. Lebon A, Labout JA, Verbrugh HA, et al. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in infancy: the Generation R Study. *J Clin Microbiol*, **2008**; 46: 3517–21.

121. Botelho-Nevers E, Berthelot P, Verhoeven PO, et al. Are the risk factors associated with *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients the same than in healthy volunteers? Data from a cohort of patients scheduled for orthopedic material implantation. *Am J Infect Control*, **2014**; 42: 1121–3.
122. Graham III PL, Lin SX, Larson EL. A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. *Ann Intern Med*, **2006**; 144: 318–25.
123. Herwaldt LA, Cullen JJ, French P, et al. Preoperative risk factors for nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2004**; 25: 481–4.
124. Hanses F, Kopp A, Bala M, et al. Intracellular survival of *Staphylococcus aureus* in adipocyte-like differentiated 3T3-L1 cells is glucose dependent and alters cytokine, chemokine, and adipokine secretion. *Endocrinology*, **2011**; 152: 4148–57.
125. Bogaert D, van Belkum A, Sluijter M, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *Lancet*, **2004**; 363: 1871–2.
126. Olsen K, Falch BM, Danielsen K, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage is associated with serum 25-hydroxyvitamin D levels, gender and smoking status. The Tromsø Staph and Skin Study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2012**; 31: 465–73.
127. Andersen PS, Larsen LA, Fowler VG, Jr., Stegger M, Skov RL, Christensen K. Risk factors for *Staphylococcus aureus* nasal colonization in Danish middle-aged and elderly twins. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, **2013**; 32: 1321–6.
128. Bloemendaal AL, Fluit AC, Jansen WM, et al. Acquisition and cross-transmission of *Staphylococcus aureus* in European intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2009**; 30: 117–24.
129. Davis MF, Iverson SA, Baron P, et al. Household transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci. *Lancet Infect Dis*, **2012**; 12: 703–16.
130. Armand-Lefevre L, Ruimy R, Andremont A. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*, **2005**; 11: 711–4.
131. D'Agata EM. Methodologic issues of case-control studies: a review of established and newly recognized limitations. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 338–41.
132. Monnet DL. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its relationship to antimicrobial use: possible implications for control. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **1998**; 19: 552–9.
133. Crowcroft NS, Ronveaux O, Monnet DL, Mertens R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in Belgian hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **1999**; 20: 31–6.
134. Muller AA, Mauny F, Bertin M, et al. Relationship between spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in a French university hospital. *Clin Infect Dis*, **2003**; 36: 971–8.
135. Rogues AM, Dumartin C, Amadeo B, et al. Relationship between rates of antimicrobial consumption and the incidence of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus*

- and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 47 French hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2007**; 28: 1389–95.
136. Aldeyab MA, Monnet DL, Lopez-Lozano JM, et al. Modelling the impact of antibiotic use and infection control practices on the incidence of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a time-series analysis. *J Antimicrob Chemother*, **2008**; 62: 593–600.
 137. Monnet DL, MacKenzie FM, Lopez-Lozano JM, et al. Antimicrobial drug use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Aberdeen, 1996-2000. *Emerg Infect Dis*, **2004**; 10: 1432–41.
 138. Charbonneau P, Parienti JJ, Thibon P, et al. Fluoroquinolone use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolation rates in hospitalized patients: a quasi experimental study. *Clin Infect Dis*, **2006**; 42: 778–84.
 139. Lafaurie M, Porcher R, Donay JL, Touratier S, Molina JM. Reduction of fluoroquinolone use is associated with a decrease in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolation rates: a 10 year study. *J Antimicrob Chemother*, **2012**; 67: 1010–5.
 140. Parienti JJ, Cattoir V, Thibon P, et al. Hospital-wide modification of fluoroquinolone policy and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rates: a 10-year interrupted time-series analysis. *J Hosp Infect*, **2011**; 78: 118–22.
 141. Aldeyab MA, Scott MG, Kearney MP, et al. Impact of an enhanced antibiotic stewardship on reducing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in primary and secondary healthcare settings. *Epidemiol Infect*, **2014**; 142: 494–500.
 142. Lawes T, Lopez-Lozano JM, Nebot CA, et al. Effects of national antibiotic stewardship and infection control strategies on hospital-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections across a region of Scotland: a non-linear time-series study. *Lancet Infect Dis*, **2015**.
 143. Lawes T, Lopez-Lozano JM, Nebot C, et al. Turning the tide or riding the waves? Impacts of antibiotic stewardship and infection control on MRSA strain dynamics in a Scottish region over 16 years: non-linear time series analysis. *BMJ Open*, **2015**; 5: e006596.
 144. Eun SH, Lee YS, Cha JO, et al. The point prevalence and associated factors of nasal methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation in eight geriatric hospitals in Korea. *Clin Microbiol Infect*, **2006**; 12: 81–3.
 145. Hidron AI, Kourbatova EV, Halvosa JS, et al. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients admitted to an urban hospital: emergence of community-associated MRSA nasal carriage. *Clin Infect Dis*, **2005**; 41: 159–66.
 146. Vovko P, Retelj M, Cretnik TZ, et al. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a long-term-care facility in Slovenia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 191–5.

147. Manzur A, Gavalda L, Ruiz de Gopegui E, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and factors associated with colonization among residents in community long-term-care facilities in Spain. *Clin Microbiol Infect*, **2008**; 14: 867–72.
148. Oztoprak N, Cevik MA, Akinci E, et al. Risk factors for ICU-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Infect Control*, **2006**; 34: 1–5.
149. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, **2008**; 61: 26–38.
150. Ernst EJ, Raley G, Herwaldt LA, Diekema DJ. Importance of control group selection for evaluating antimicrobial use as a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 634–7.
151. LeBlanc L, Pepin J, Toulouse K, et al. Fluoroquinolones and risk for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Canada. *Emerg Infect Dis*, **2006**; 12: 1398–405.
152. Dziekan G, Hahn A, Thune K, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital: investigation of nosocomial transmission using a matched case–control study. *J Hosp Infect*, **2000**; 46: 263–70.
153. Graffunder EM, Venezia RA. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *J Antimicrob Chemother*, **2002**; 49: 999–1005.
154. Hori S, Sunley R, Tami A, Grundmann H. The Nottingham *Staphylococcus aureus* population study: prevalence of MRSA among the elderly in a university hospital. *J Hosp Infect*, **2002**; 50: 25–9.
155. Weber SG, Gold HS, Hooper DC, Karchmer AW, Carmeli Y. Fluoroquinolones and the risk for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients. *Emerg Infect Dis*, **2003**; 9: 1415–22.
156. McDonald LC, Lauderdale TL, Lo HJ, Tsai JJ, Hung CC. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Int J STD AIDS*, **2003**; 14: 473–7.
157. Tacconelli E, Venkataraman L, De Girolami PC, EM DA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia diagnosed at hospital admission: distinguishing between community-acquired versus healthcare-associated strains. *J Antimicrob Chemother*, **2004**; 53: 474–9.
158. Muller A, Mauny F, Talon D, Donnan PT, Harbarth S, Bertrand X. Effect of individual- and group-level antibiotic exposure on MRSA isolation: a multilevel analysis. *J Antimicrob Chemother*, **2006**; 58: 878–81.
159. Eveillard M, Charru P, Rufat P, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in a long-term care facility: hypothesis about selection and transmission. *Age Ageing*, **2008**; 37: 294–9.
160. Melo EC, Fortaleza CM. Case-case-control study of risk factors for nasopharyngeal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical-surgical intensive care unit. *Braz J Infect Dis*, **2009**; 13: 398–402.

161. Salangsang JA, Harrison LH, Brooks MM, Shutt KA, Saul MI, Muto CA. Patient-associated risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2010**; 31: 1139–47.
162. Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. Induction of fibronectin-binding proteins and increased adhesion of quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*, **2000**; 44: 1428–37.
163. Bisognano C, Vaudaux PE, Lew DP, Ng EY, Hooper DC. Increased expression of fibronectin-binding proteins by fluoroquinolone-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*, **1997**; 41: 906–13.
164. Venezia RA, Domaracki BE, Evans AM, Preston KE, Graffunder EM. Selection of high-level oxacillin resistance in heteroresistant *Staphylococcus aureus* by fluoroquinolone exposure. *J Antimicrob Chemother*, **2001**; 48: 375–81.
165. Cheng VC, Li IW, Wu AK, et al. Effect of antibiotics on the bacterial load of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation in anterior nares. *J Hosp Infect*, **2008**; 70: 27–34.
166. Høiby N, Jarløv JO, Kemp M, et al. Excretion of ciprofloxacin in sweat and multiresistant *Staphylococcus epidermidis*. *Lancet*, **1997**; 349: 167–9.
167. Haverkate MR, Derde LP, Brun-Buisson C, Bonten MJ, Bootsma MC. Duration of colonization with antimicrobial-resistant bacteria after ICU discharge. *Intensive Care Med*, **2014**; 40: 564–71.
168. Mattner F, Biertz F, Ziesing S, Gastmeier P, Chaberny IF. Long-term persistence of MRSA in re-admitted patients. *Infection*, **2010**; 38: 363–71.
169. Sanford MD, Widmer AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, **1994**; 19: 1123–8.
170. Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andremont A, Lucet JC. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clin Infect Dis*, **2001**; 32: 1393–8.
171. Aeilts GD, Sapico FL, Canawati HN, Malik GM, Montgomerie JZ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a rehabilitation facility. *J Clin Microbiol*, **1982**; 16: 218–23.
172. Eveillard M, Martin Y, Hidri N, Boussougant Y, Joly-Guillou ML. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among hospital employees: prevalence, duration, and transmission to households. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2004**; 25: 114–20.
173. Larsson AK, Gustafsson E, Nilsson AC, Odenholt I, Ringberg H, Melander E. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization after diagnosis: a four-year experience from southern Sweden. *Scand J Infect Dis*, **2011**; 43: 456–62.

174. Lautenbach E, Tolomeo P, Nachamkin I, Hu B, Zaoutis TE. The impact of household transmission on duration of outpatient colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Epidemiol Infect*, **2010**; 138: 683–5.
175. Marschall J, Muhlemann K. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, according to risk factors for acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2006**; 27: 1206–12.
176. Cluzet VC, Gerber JS, Nachamkin I, et al. Duration of colonization and determinants of earlier clearance of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, **2015**; 60: 1489–96.
177. Vriens MR, Blok HE, Gigengack-Baars AC, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among patients after hospital discharge. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 629–33.
178. Shenoy ES, Paras ML, Noubary F, Walensky RP, Hooper DC. Natural history of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE): a systematic review. *BMC Infect Dis*, **2014**; 14: 177.
179. Rogers C, Sharma A, Rimland D, et al. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an acute care facility: a study to assess epidemiologic features. *Am J Infect Control*, **2014**; 42: 249–53.
180. Harbarth S, Liassine N, Dharan S, Herrault P, Auckenthaler R, Pittet D. Risk factors for persistent carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, **2000**; 31: 1380–5.
181. Alexander EL, Morgan DJ, Kesh S, et al. Prevalence, persistence, and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis*, **2011**; 70: 37–44.
182. Zanger P, Nurjadi D, Gaile M, Gabrysch S, Kremsner PG. Hormonal contraceptive use and persistent *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Clin Infect Dis*, **2012**; 55: 1625–32.
183. Van Belkum A, Riewarts Eriksen NH, Sijmons M, et al. Coagulase and protein A polymorphisms do not contribute to persistence of nasal colonisation by *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, **1997**; 46: 222–32.
184. Couderc C, Jolivet S, Thiébaud ACM, et al. Fluoroquinolone use is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a nested case-case-control study. *Clin Infect Dis*, **2014**; 59: 206-15.
185. Bouyer J, Hémon D, Cordier S, et al. Généralités sur les enquêtes épidémiologiques. In: Inserm. *Épidémiologie : principes et méthodes quantitatives*, **2009**:305–29.
186. Wacholder S, McLaughlin JK, Silverman DT, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. I. Principles. *Am J Epidemiol*, **1992**; 135: 1019–28.
187. Carmeli Y, Samore MH, Huskins C. The association between antecedent vancomycin treatment and hospital-acquired vancomycin-resistant enterococci: a meta-analysis. *Arch Intern Med*, **1999**; 159: 2461–8.

188. Harris AD, Samore MH, Carmeli Y. Control group selection is an important but neglected issue in studies of antibiotic resistance. *Ann Intern Med*, **2000**; 133: 159.
189. Harris AD, Samore MH, Lipsitch M, Kaye KS, Perencevich E, Carmeli Y. Control-group selection importance in studies of antimicrobial resistance: examples applied to *Pseudomonas aeruginosa*, Enterococci, and *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis*, **2002**; 34: 1558–63.
190. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case–control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2005**; 26: 346–51.
191. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis*, **2001**; 32: 1055–61.
192. Ajao AO, Harris AD, Roghmann MC, et al. Systematic review of measurement and adjustment for colonization pressure in studies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant enterococci, and *Clostridium difficile* acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2011**; 32: 481–9.
193. Bonten MJ. Colonization pressure: a critical parameter in the epidemiology of antibiotic-resistant bacteria. *Crit Care*, **2012**; 16: 142.
194. Merrer J, Santoli F, Appere de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2000**; 21: 718–23.
195. Lucet JC, Paoletti X, Lolom I, et al. Successful long-term program for controlling methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in intensive care units. *Intensive Care Med*, **2005**; 31: 1051–7.
196. Asensio A, Guerrero A, Quereda C, Lizan M, Martinez-Ferrer M. Colonization and infection with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: associated factors and eradication. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **1996**; 17: 20–8.
197. Desai D, Desai N, Nightingale P, Elliott T, Neuberger J. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with an increased risk of infection after liver transplantation. *Liver Transpl*, **2003**; 9: 754–9.
198. Nguyen MH, Kauffman CA, Goodman RP, et al. Nasal carriage of and infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Ann Intern Med*, **1999**; 130: 221–5.
199. Balm MN, Lover AA, Salmon S, Tambyah PA, Fisher DA. Progression from new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation to infection: an observational study in a hospital cohort. *BMC Infect Dis*, **2013**; 13: 491.
200. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet*, **2006**; 368: 874–85.
201. Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med*, **1995**; 155: 1177–84.

202. Bassetti M, Treccarichi EM, Mesini A, et al. Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia. Clin Microbiol Infect, **2012**; 18: 862–9.
203. Pittet D, Allegranzi B, Sax H, et al. Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. Lancet Infect Dis, **2006**; 6: 641–52.
204. Lee BY, Bartsch SM, Wong KF, et al. The importance of nursing homes in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among hospitals. Med Care, **2013**; 51: 205–15.
205. Blot S, De Bacquer D, Hoste E, et al. Influence of matching for exposure time on estimates of attributable mortality caused by nosocomial bacteremia in critically ill patients. Infect Control Hosp Epidemiol, **2005**; 26: 352-6.
206. Kupfer M, Jatzwauk L, Monecke S, Mobius J, Weusten A. MRSA in a large German University Hospital: Male gender is a significant risk factor for MRSA acquisition. GMS Krankenhhyg Interdiszip, **2010**; 5.
207. O'Sullivan NP, Keane CT. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among nursing home residents. J Hosp Infect, **2000**; 45: 206–10.
208. Dauwalder O, Lina G, Durand G, et al. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. J Clin Microbiol, **2008**; 46: 3454–8.
209. den Heijer CD, van Bijnen EM, Paget WJ, et al. Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. Lancet Infect Dis, **2013**; 13: 409–15.
210. Lucet JC, Chevret S, Durand-Zaleski I, Chastang C, Regnier B, Group MS. Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit: results of a multicenter study. Arch Intern Med, **2003**; 163: 181–8.
211. Alvarez AS, Remy L, Allix-Beguec C, et al. Patient nostril microbial flora: individual-dependency and diversity precluding prediction of *Staphylococcus aureus* acquisition. Clin Microbiol Infect, **2014**; 20: 70–8.
212. Couderc C, Thiébaud ACM, Lawrence C, et al. Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization durations in neurologic long-term-care facilities. Antimicrob Agents Chemother, **2015**; 59: 7621–8.
213. Cox DR. Regression models and life-tables. J Roy Stat Soc B Met, **1972**; 34: 187–220.
214. Hougaard P. Analysis of multivariate survival data. New York, NY: Springer-Verlag, **2000**.
215. Vaupel JW, Manton KG, Stallard E. The impact of heterogeneity in individual frailty on the dynamics of mortality. Demography, **1979**; 16: 439–54.
216. Therneau TM, Grambsch PM. Frailty models. Modeling survival data: extending the Cox model. New York, NY: Springer-Verlag, **2000**:231–60.

217. Farewell VT, Cox DR. A note on multiple scales in life testing. *Applied Statistics*, **1979**; 28: 73–5.
218. Allison PD. Basic concepts of survival analysis. *Survival analysis using SAS : a practical guide*. Second ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., **2010**:9–26.
219. Saint Pierre P. Modèles multi-états de type Markovien et application à l'asthme [Mémoire de thèse]. France: Université Montpellier I, **2005**.
220. Pénichoux J. Modèles multiplicatifs du risque pour les événements successifs en présence d'hétérogénéité [Mémoire de thèse]. France: Université Paris-Sud - Paris XI, **2012**.
221. Liestøl K, Andersen P. Updating of covariates and choice of time origin in survival analysis: problems with vaguely defined disease states. *Stat Med*, **2002**; 21: 3701–14.
222. McKinnell JA, Huang SS, Eells SJ, Cui E, Miller LG. Quantifying the impact of extranasal testing of body sites for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at the time of hospital or intensive care unit admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*, **2013**; 34: 161–70.
223. Nouwen JL, Fieren MW, Snijders S, Verbrugh HA, van Belkum A. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int*, **2005**; 67: 1084–92.
224. Datta R, Huang SS. Risk of infection and death due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term carriers. *Clin Infect Dis*, **2008**; 47: 176–81.
225. Alvarez AS, Remy L, Allix-Beguec C, et al. Patient nostril microbial flora: individual-dependency and diversity precluding prediction of *Staphylococcus aureus* acquisition. *Clin Microbiol Infect*, **2014**; 20: 70–8.
226. Cox DR. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc B*, **1972**; 34: 187–220.
227. Amorim LD, Cai J. Modelling recurrent events: a tutorial for analysis in epidemiology. *Int J Epidemiol*, **2015**; 44: 324–33.
228. Hertz-Picciotto I, Rockhill B. Validity and efficiency of approximation methods for tied survival times in Cox regression. *Biometrics*, **1997**; 53: 1151–6.
229. Hooper DC. Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis*, **2002**; 2: 530–8.
230. Almeida GC, dos Santos MM, Lima NG, Cidral TA, Melo MC, Lima KC. Prevalence and factors associated with wound colonization by *Staphylococcus spp.* and *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients in inland northeastern Brazil: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis*, **2014**; 14: 328.
231. Bessa LJ, Fazii P, Di Giulio M, Cellini L. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. *Int Wound J*, **2015**; 12: 47–52.
232. MacKinnon MM, Allen KD. Long-term MRSA carriage in hospital patients. *J Hosp Infect*, **2000**; 46: 216–21.
233. Robicsek A, Beaumont JL, Peterson LR. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, **2009**; 48: 910–3.

234. Humphreys H, Fitzpatrick F, Harvey BJ. Gender differences in rates of carriage and bloodstream infection caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Are they real, do they matter and why? Clin Infect Dis, **2015**.
235. Casolini F, Visai L, Joh D, et al. Antibody response to fibronectin-binding adhesin FnbpA in patients with *Staphylococcus aureus* infections. Infect Immun, **1998**; 66: 5433–42.
236. Colque-Navarro P, Palma M, Soderquist B, Flock JI, Mollby R. Antibody responses in patients with staphylococcal septicemia against two *Staphylococcus aureus* fibrinogen binding proteins: clumping factor and an extracellular fibrinogen binding protein. Clin Diagn Lab Immunol, **2000**; 7: 14–20.
237. Ryding U, Christensson B, Soderquist B, Wadstrom T. Antibody response to *Staphylococcus aureus* collagen binding protein in patients with *S. aureus* septicaemia and collagen binding properties of corresponding strains. J Med Microbiol, **1995**; 43: 328–34.
238. Dryla A, Prustomersky S, Gelbmann D, et al. Comparison of antibody repertoires against *Staphylococcus aureus* in healthy individuals and in acutely infected patients. Clin Diagn Lab Immunol, **2005**; 12: 387–98.
239. Rennermalm A, Li YH, Bohaufs L, et al. Antibodies against a truncated *Staphylococcus aureus* fibronectin-binding protein protect against dissemination of infection in the rat. Vaccine, **2001**; 19: 3376–83.
240. Hall AE, Domanski PJ, Patel PR, et al. Characterization of a protective monoclonal antibody recognizing *Staphylococcus aureus* MSCRAMM protein clumping factor A. Infect Immun, **2003**; 71: 6864–70.
241. Hu DL, Omoe K, Sasaki S, et al. Vaccination with nontoxic mutant toxic shock syndrome toxin 1 protects against *Staphylococcus aureus* infection. J Infect Dis, **2003**; 188: 743–52.
242. Nilsson IM, Verdrengh M, Ulrich RG, Bavari S, Tarkowski A. Protection against *Staphylococcus aureus* sepsis by vaccination with recombinant staphylococcal enterotoxin A devoid of superantigenicity. J Infect Dis, **1999**; 180: 1370–3.
243. Clarke SR, Brummell KJ, Horsburgh MJ, et al. Identification of in vivo-expressed antigens of *Staphylococcus aureus* and their use in vaccinations for protection against nasal carriage. J Infect Dis, **2006**; 193: 1098–108.
244. Schaffer AC, Solinga RM, Cocchiari J, et al. Immunization with *Staphylococcus aureus* clumping factor B, a major determinant in nasal carriage, reduces nasal colonization in a murine model. Infect Immun, **2006**; 74: 2145–53.
245. Brown AF, Leech JM, Rogers TR, McLoughlin RM. *Staphylococcus aureus* colonization: modulation of host immune response and impact on human vaccine design. Front Immunol, **2014**; 4: 507.
246. Proctor RA. Challenges for a universal *Staphylococcus aureus* vaccine. Clin Infect Dis, **2012**; 54: 1179–86.

247. Feikin DR, Kagucia EW, Loo JD, et al. Serotype-specific changes in invasive pneumococcal disease after pneumococcal conjugate vaccine introduction: a pooled analysis of multiple surveillance sites. *PLoS Med*, **2013**; 10: e1001517.
248. Ibarz-Pavón AB, Maclennan J, Andrews NJ, et al. Changes in serogroup and genotype prevalence among carried meningococci in the United Kingdom during vaccine implementation. *J Infect Dis*, **2011**; 204: 1046–53.
249. Shirtliff ME, Peters BM, Jabra-Rizk MA. Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiol Lett*, **2009**; 299: 1–8.
250. Baldan R, Cigana C, Testa F, et al. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis airways influences virulence of *Staphylococcus aureus in vitro* and murine models of co-infection. *PLoS One*, **2014**; 9: e89614.

Annexe A. Article I

Fluoroquinolone Use Is a Risk Factor for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Acquisition in Long-term Care Facilities: A Nested Case-Case-Control Study

Clotilde Couderc,^{1,2,3,a} Sarah Jolivet,^{1,2,3,a} Anne C. M. Thiébaud,^{1,2,3} Caroline Ligier,^{1,2,3} Laetitia Remy,⁴ Anne-Sophie Alvarez,⁴ Christine Lawrence,⁴ Jérôme Salomon,⁵ Jean-Louis Herrmann,^{4,6} and Didier Guillemot^{1,2,3} on behalf of the Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group^b

¹Unité de Pharmaco-Épidémiologie et Maladies Infectieuses, Institut Pasteur, Paris; ²U657, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris; ³EA 4499, Université de Versailles–Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny le Bretonneux; ⁴Service de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches; ⁵Laboratoire Modélisation Épidémiologie et Surveillance des Risques Sanitaires, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris; and ⁶EA 3647, Université de Versailles–Saint-Quentin-en-Yvelines, Montigny le Bretonneux

Background. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nasal colonization is a well-established risk factor for subsequent infection and a key event in interindividual transmission. Some studies have showed an association between fluoroquinolones and MRSA colonization or infection. The present study was performed to identify specific risk factors for MRSA acquisition in long-term care facilities (LTCFs).

Methods. A prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization was established and followed (January 2008 through October 2010) in 4 French LTCFs. Nasal colonization status and potential risk factors were assessed weekly for 13 weeks after inclusion. Variables associated with *S. aureus* acquisition were identified in a nested-matched case-case-control study using conditional logistic regression models. Cases were patients who acquired MRSA (or methicillin-sensitive *S. aureus* [MSSA]). Patients whose nasal swab samples were always negative served as controls. Matching criteria were center, date of first nasal swab sample, and exposure time.

Results. Among 451 included patients, 76 MRSA cases were matched to 207 controls and 112 MSSA cases to 208 controls. Multivariable analysis retained fluoroquinolones (odds ratio, 2.17; 95% confidence interval, 1.01–4.67), male sex (2.09; 1.10–3.98), and more intensive care at admission (3.24; 1.74–6.04) as significantly associated with MRSA acquisition, and body-washing assistance (2.85; 1.27–6.42) and use of a urination device (1.79; 1.01–3.18) as significantly associated with MSSA acquisition.

Conclusions. Our results suggest that fluoroquinolones are a risk factor for MRSA acquisition. Control measures to limit MRSA spread in LTCFs should also be based on optimization of fluoroquinolone use.

Keywords. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; fluoroquinolone; case-case-control study; long-term care facility; acquisition.

Received 6 November 2013; accepted 1 April 2014; electronically published 11 April 2014.

^aC. C. and S. J. contributed equally to this work.

^bThe ASAR Study Group also includes C. Bernède-Bauduin, I. Bertucci, C. Dupont, O. Le Minor, A. Petit, and T. Sorel.

Correspondence: Clotilde Couderc, MPH, Unité de Pharmaco-Épidémiologie et Maladies Infectieuses, Institut Pasteur, 25–28 rue du Docteur Roux 75724 Paris Cedex 15, France (clotilde.couderc@pasteur.fr).

Clinical Infectious Diseases 2014;59(2):206–15

© The Author 2014. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

DOI: 10.1093/cid/ciu236

Staphylococcus aureus is a commensal organism colonizing several sites in the human body, especially the anterior nares. This Gram-positive bacterium is responsible for numerous infections including skin infections, bacteremia or respiratory diseases. Notably, 30%–50% of healthy adults are colonized by *S. aureus*, and nasal colonization is known to be an important risk factor for subsequent infection [1, 2], with infection rates higher in carriers than noncarriers [3–5] and individuals usually

being infected with their own carriage isolate [1]. Moreover, the highest risk of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) infection occurs shortly after patients become newly colonized [6].

MRSA was first described in 1961 in England [7] and has since been responsible for numerous hospital and community epidemics worldwide [8]. Despite concerted efforts, control of MRSA diffusion remains elusive in healthcare facilities in many developed countries. MRSA colonization is the major factor leading to the occurrence of infection and results in increased morbidity and mortality rates and hospital costs [9, 10]. Extra in-hospital costs specifically attributable to MRSA infections are estimated to reach 380 million euros annually in Europe [11]. Thus, identification of risk factors for MRSA colonization might help in the development of strategies to prevent MRSA spread in human populations.

Numerous risk factors for MRSA colonization and/or infection have already been identified, including previous hospitalization age, invasive procedure, coma, intensive care unit (ICU) stay, intensity of care, or prior MRSA colonization [12–15]. Among these factors, the intensity of contacts between healthcare workers and patients might play a crucial role [16]. Use of antibiotics, particularly fluoroquinolones, was associated with increased risk of MRSA colonization in tertiary care hospitals [17–19]. MRSA diffusion in a population includes 3 individual-level components (acquisition, persistence of colonization, and transmission to another person), and the mechanism behind their association with antibiotic use is poorly understood. Therefore, it is of major importance to investigate whether fluoroquinolone use influences MRSA acquisition, persistence of colonization, or transmission. Herein, we report the results of a study designed to investigate the specific effect of fluoroquinolones on MRSA acquisition.

METHODS

Settings and Study Design

We established a prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization to examine risk factors for *S. aureus* acquisition. The study was conducted in France from January 2008 to October 2010 in 4 neurologic long-term care facilities (LTCFs): Raymond-Poincaré University Hospital, Garches (2 wards), Maritime Hospital, Berck (2 wards), Jacques-Calvé Center, Berck (2 wards), and Sainte-Barbe Center, Fouquières-lès-Lens (4 wards). Hereafter, these LTCFs are respectively referred to as centers 1, 2, 3, and 4. They were chosen because their average duration of patient stay is 3 months, thereby allowing the role of longer patient follow-up in the probability of *S. aureus* acquisition to be evaluated. Patients hospitalized in LTCFs for neurologic impairment often need extensive care and assistance involving multiple contacts with healthcare workers and antibiotics for urinary infections. In addition, LTCFs may serve as a

reservoir for the spread and control of MRSA among hospital providing more-acute care [20].

Patients were included if they were ≥ 18 years old, not initially colonized with *S. aureus* (negative nasal and perineal swab samples at admission), and were hospitalized for a neurologic disorder with an expected length of stay ≥ 2 months. Immunocompromised patients were excluded. For each patient, nasal colonization status and potential risk factors were collected weekly for 13 weeks after inclusion or until discharge if that occurred earlier. MRSA and/or methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) acquisition was defined as the first positive nasal swab sample during follow-up.

Variables associated with *S. aureus* acquisition were investigated in a nested-matched case-control study, which uses 2 separate case-control analyses in a single study [21]. Cases were patients who acquired MRSA (or MSSA). If a patient had acquired both MRSA and MSSA at the first positive nasal swab sample, he or she was considered to be both an MRSA case and an MSSA case in the analyses. Patients whose nasal swab samples were always negative during follow-up served as controls. MRSA and MSSA cases were then compared with different MRSA- and MSSA-negative control groups. This study design allows comparison of the 2 final models and the identification of risk factors specifically associated with MRSA, MSSA, and/or *S. aureus* acquisition [21].

Each MRSA case was matched with ≤ 3 controls and each MSSA case with ≤ 2 controls by center, date of first nasal swab sample (± 6 months), and exposure time. Exposure time for a case was defined from the date of inclusion in the study to the date of *S. aureus* acquisition [22]. The matched control should have been followed up for at least the same exposure time period. After matching, exposure time for each control was set to equal that of his or her matched case. Matching for exposure time allowed adjustment for confounding by time at risk [23], and matching for center and date of first nasal swab sample served to limit potential confounding by colonization pressure [24]. Matched controls were randomly selected and could be used in both analyses, because matching procedures for MRSA and MSSA cases were performed separately.

Data Collection

At inclusion, sociodemographic data (sex and age) were collected, as well as clinical characteristics (type of neurologic disorder, diabetes mellitus, intensive care burden at admission, skin lesions at admission) and preadmission history (transfer from another healthcare facility, hospitalization during the preceding year, prior ICU admission, surgery or LTCF stay during the preceding 3 months, and antibiotic use during the past month).

Every week, the following data were prospectively recorded using standardized questionnaires: strict and/or contact isolation, invasive medical device use (catheter, tracheostomy,

enteral nutrition, or urination device), aseptic dressing, body-washing assistance, manual evacuation of fecal impaction, and wound swabbing for *S. aureus* identification.

Regarding antimicrobial use, daily exposure was recorded either in computerized pharmacy records or in specific standardized questionnaires for the entire institutionalization period. Antimicrobial agents were classified as follows: β -lactams, macrolides, lincosamides and streptogramins, aminoglycosides, fluoroquinolones, other anti-*Staphylococcus* agents (including glycopeptides, fosfomycin, and linezolid), and others (including tetracyclines, pipemidic acid, polymyxins, fusidic acid, metronidazole, sulfonamides, nitrofurantoin derivatives, and rifampicin).

For antimicrobial use and variables collected weekly during follow-up, patients who were exposed at least once during their exposure time were considered exposed.

Microbiologic Methods

To assess *S. aureus* colonization, alginate swabs were rotated around the inside of both nostrils. Swabs were then placed in Stuart's transport medium (Transwab; Medical Wire and Equipment) and kept at room temperature until arrival at the Microbiology Laboratory of Raymond-Poincaré University Hospital. Screening for MRSA and antimicrobial susceptibility testing were performed (see [Supplementary Methods](#)). To determine *S. aureus* clonal diversity, all strains isolated from the first positive nasal swab samples were subjected to *spa* typing.

Statistical Analyses

Categorical variables were compared using χ^2 or Fisher exact tests; continuous variables were compared with Student *t* tests. Univariate and multivariable analyses used conditional logistic regression models. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated for all variables, and all significant associations were evaluated. All variables with Wald test $P < .20$ in univariate analyses were included in the multivariable models (hereafter referred to as *full models*). Backward-stepwise approaches were used to identify independent predictors. Variables were removed one by one manually, starting with the variable with the highest *P* value, until all remaining variables had statistically significant OR estimates, leading to the final adjusted models. Wald tests were performed to systematically evaluate all pairwise interaction terms in each final model. The Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test was used to assess model fit. Sensitivity analyses were performed after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after inclusion or patients receiving antibiotic therapy at admission. A further analysis was performed after restricting MRSA cases to those with a fluoroquinolone-resistant phenotype. For all calculations, statistical significance was defined at $P < .05$ (2 sided). All analyses were performed using Stata software (version 11; StataCorp).

Ethics

An institutional review board (Comité de Protection des Personnes Île-de-France XI) approved the study protocol (reference 07032); no written informed consent was obtained from the patients because the study interventions were standard care. Authorization was also obtained from the Commission nationale de l'informatique et des libertés (French Data Protection Agency; reference 907302).

RESULTS

Study Population

From January 2008 to October 2010, a total of 952 patients were preincluded (Figure 1). Among them, 414 (43.5%) *S. aureus* carriers at admission were excluded. Colonization pressure was similar across centers (see [Supplementary Table 1](#)). In total, 451 patients were included from centers 1, 2, 3, and 4, respectively: 159 (35.3%), 59 (13.1%), 150 (33.3%), and 83 (18.4%). The cohort's overall mean age was 51.7 years, 289 patients (64.1%) were male, and 255 (56.5%) were followed up for 13 weeks.

During follow-up, 187 patients had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab sample. The percentages of patients who acquired *S. aureus* did not differ among centers ($P = .37$). In total, 76 or 112 patients, respectively, acquired MRSA or MSSA based on their first positive nasal swab sample (1 patient acquired both). The median time from inclusion to MRSA acquisition was 5 weeks (interquartile range, 2–8 weeks) and did not differ significantly ($P = .08$) from the median time to MSSA acquisition (4 weeks; interquartile range, 2–6 weeks). Nasal swab samples of the remaining 264 patients were negative for *S. aureus* during follow-up.

Among the 188 *S. aureus* isolates, 71 (93.4%) of the 76 MRSA strains and 8 (7.1%) of the 112 MSSA strains were fluoroquinolone resistant. The 178 *S. aureus* isolates (94.7%) represented 69 *spa* types, and no known *spa* type could be identified for 6. The 3 predominant *spa* types were t008 (19.1%), t777 (10.1%), and t002 (6.7%) (Figure 2). MRSA strains were less diverse than MSSA strains (21 and 56 *spa* types, respectively), with 8 shared *spa* types.

The 76 MRSA cases were matched to 207 MRSA controls, with 55 (72.4%) each matched to 3 controls. The 112 MSSA cases were matched to 208 MSSA controls, with 96 (85.7%) each matched to 2 controls. Among the 264 potential controls, 246 (93.2%) were used for MRSA or MSSA matching, including 170 (69.1%) used for both MRSA and MSSA matching.

Based on exposure time, the protocol called for a total of 2883 samples to be obtained (1 sample per week). Of these, 254 (8.8%) were missing. During this period, the most prescribed antibiotics were ciprofloxacin (70.4%) among fluoroquinolones and amoxicillin/clavulanic acid (33.3%) among β -lactams.

At admission, case-matched controls ($n = 246$) were comparable to controls ($n = 18$) not used in the analyses, except for

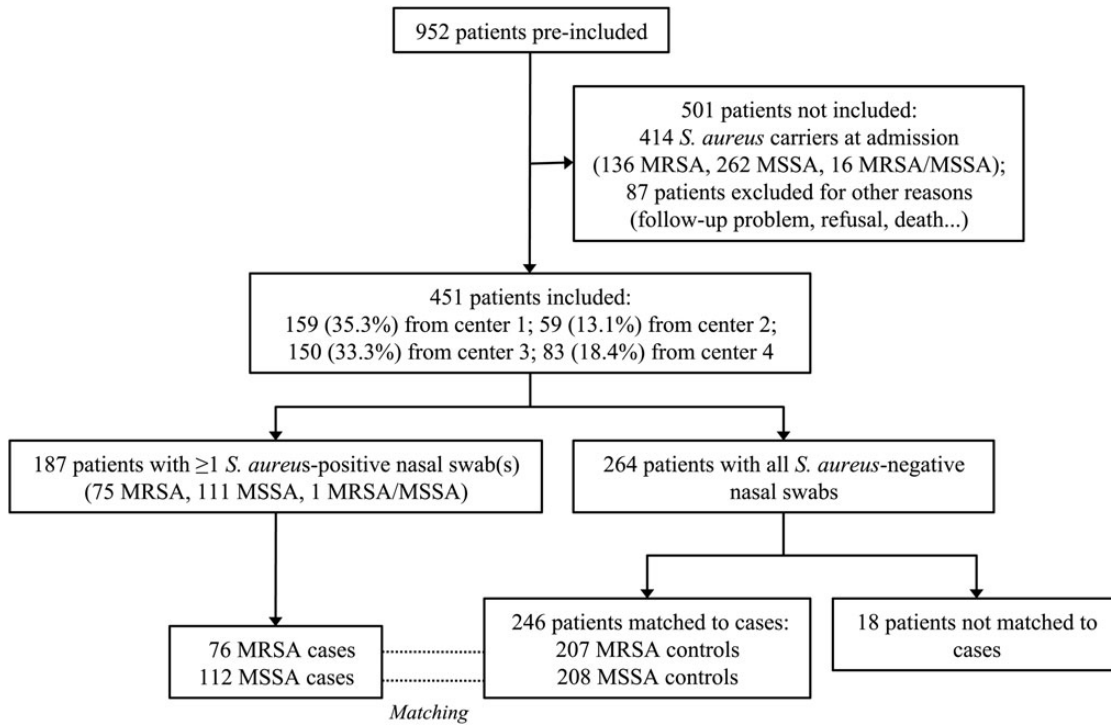


Figure 1. Flowchart of the study population and case-case-control matching. Center 1 was Raymond-Poincaré University Hospital (Garches, France); center 2, Maritime Hospital (Berck, France); center 3, Jacques-Calvé Center (Berck, France); and center 4, Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens, France). The resistance phenotype of the *Staphylococcus aureus*-positive strains corresponds to the first positive nasal swab sample during follow-up (ie, at *S. aureus* acquisition). Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *S. aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

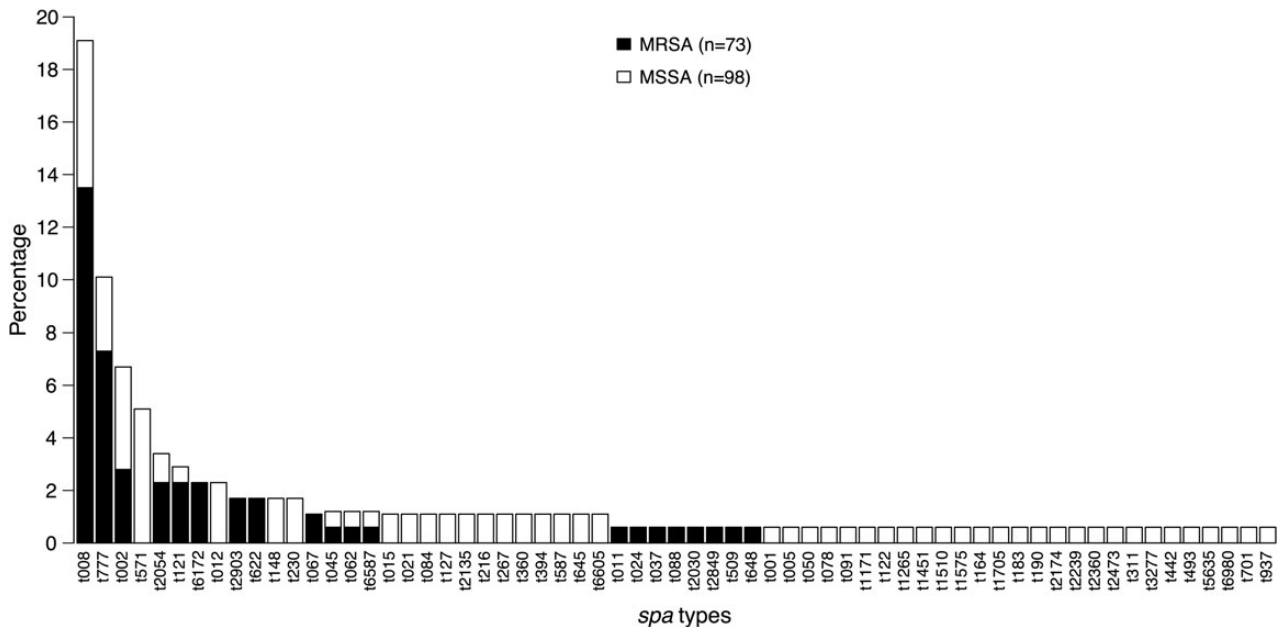


Figure 2. Diversity of *spa* types at acquisition for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA). The 6 strains that could not be assigned to any known *spa* types are not shown (1 MRSA and 5 MSSA strains).

center ($P = .01$). The latter were also more likely to be men ($P = .002$) or to have had a previous LTCF stay ($P = .01$) and were less likely than case-matched controls to have undergone prior surgery ($P = .02$) or a prior ICU stay ($P = .02$).

Case-Case-Control Analysis

According to univariate analyses (Table 1), MRSA acquisition was significantly more frequent in male patients, patients requiring more intensive care at admission, and those hospitalized during the past year or admitted to the ICU during the preceding 3 months, and it was significantly associated with β -lactam or fluoroquinolone use and the need for body-washing assistance during follow-up.

Risk factors were also analyzed for MSSA acquisition. Age distributions differed significantly between MSSA cases and controls, but with no trend according to age. MSSA acquisition was significantly associated with manual evacuation of fecal impaction, body-washing assistance, or use of a urination device. During follow-up, patients whose wounds were swabbed were more likely to acquire MSSA than patients with no wound sampled.

Multivariable analyses retained 3 factors significantly and independently associated with MRSA acquisition: male sex (OR, 2.09; 95% CI, 1.10–3.98), higher intensive care burden at admission (3.24; 1.74–6.04), or fluoroquinolone use (2.17; 1.01–4.67) (Table 2). The independent risk factors for MSSA acquisition were the need for body-washing assistance during follow-up (OR, 2.85; 95% CI, 1.27–6.42) or use of a urination device (1.79; 1.01–3.18). No statistically significant interaction between risk factors was found. Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit test results indicated that the final MRSA or MSSA acquisition models reflected the data well ($P = .94$ and $P = .80$, respectively).

Similar MRSA and MSSA risk factors were found in multivariable case-control analyses after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after inclusion or patients receiving antibiotic therapy at admission (Supplementary Table 3). In addition, fluoroquinolone use was also significantly associated with fluoroquinolone-resistant MRSA acquisition (Supplementary Table 3).

DISCUSSION

Our main objective was to identify risk factors for MRSA acquisition. To the best of our knowledge, this is the first study designed to prospectively evaluate those risk factors in a case-case-control analysis. That study design is considered an effective and more accurate tool to assess risk factors for resistant organisms than a standard case-control design, because it allows simultaneous comparison of the risk factors for the isolation of antibiotic-resistant or antibiotic-susceptible strains [21].

A key finding was that previous fluoroquinolone use was significantly associated with MRSA but not MSSA acquisition.

That observation strongly suggests that fluoroquinolone use facilitates MRSA acquisition. Previous studies had identified fluoroquinolone use as increasing the risk of MRSA colonization [17, 18] or infection [25–27] compared with MSSA or absence of *S. aureus* isolation. A meta-analysis that included 24 320 patients showed that the risk of MRSA colonization or infection increased 3-fold after exposure to fluoroquinolones [28].

The mechanisms by which fluoroquinolones might influence MRSA acquisition have not yet been fully elucidated. In our study, >90% of MRSA strains and <10% of MSSA strains were fluoroquinolone resistant. Because fluoroquinolones are inactive against most MRSA strains but active against most MSSA strains [29, 30], they can facilitate undetectable fluoroquinolone-resistant MRSA multiplication after eradicating susceptible rival strains. Moreover, fluoroquinolone resistance may play an intrinsic role. An investigation covering 10 years of hospital MRSA clones showed that dominant clones rarely lost fluoroquinolone resistance, thereby suggesting that this resistance is involved in MRSA selection and survival [29]. In our present study, fluoroquinolone use was significantly associated with fluoroquinolone-resistant MRSA acquisition.

Two mechanisms changing MRSA biologic properties after exposure to fluoroquinolones, might explain how these antibiotics influence MRSA acquisition. First, fluoroquinolone exposure could affect fluoroquinolone-resistant *S. aureus* adhesion. Two in vitro studies showed that subinhibitory ciprofloxacin levels induced the expression of fibronectin-binding proteins by fluoroquinolone-resistant *S. aureus*, leading to increased adhesion to fibronectin-coated surfaces [31, 32]. Second, fluoroquinolones might also increase MRSA growth. Thus, half the fluoroquinolone minimal inhibitory concentration increased the proportion of the more resistant subpopulations in heteroresistant *S. aureus* >10-fold [33].

We identified 2 additional risk factors for MRSA acquisition: male sex and the need for more intensive care at admission. Male sex had previously been found to be a risk factor [15, 34, 35], probably because of the higher frequencies of other factors predisposing men rather than women to MRSA acquisition. Moreover, because controls not used in the analyses were more likely to be men than case-matched controls, male sex being a risk factor for MRSA acquisition might partly be an artifact of control selection. More intensive care at admission was previously reported to be associated with acquisition of several antibiotic-resistant organisms, including MRSA [18]. This risk factor may be a marker of disease severity and may reflect the high level of healthcare worker contacts linked to interindividual transmission.

We did not find any concordance among risk factors for MRSA and MSSA acquisition, but factors associated with MRSA (eg, more intensive care at admission) or with MSSA

Table 1. Univariate Analyses of MRSA and MSSA Cases vs Controls

Variable	MRSA, No. (%) ^a		MSSA, No. (%) ^a		Univariate Analyses			
	Cases (n = 76)	Controls (n = 207)	Cases (n = 112)	Controls (n = 208)	MRSA: Cases vs Controls		MSSA: Cases vs Controls	
					OR (95% CI)	P Value ^b	OR (95% CI)	P Value ^b
Demographics								
Male sex	53 (69.7)	118 (57.0)	77 (68.8)	124 (59.6)	1.88 (1.03–3.43)	.04	1.55 (.96–2.49)	.08
Age, y								
18–29	11 (14.5)	19 (9.1)	13 (11.6)	19 (9.1)	Reference	.62	Reference	.047
30–49	20 (26.3)	61 (29.5)	39 (34.8)	61 (29.3)	0.55 (.22–1.37)		0.82 (.33–2.05)	
50–69	38 (50.0)	105 (50.7)	40 (35.7)	107 (51.4)	0.61 (.27–1.40)		0.49 (.20–1.19)	
≥70	7 (9.2)	22 (10.6)	20 (17.9)	21 (10.1)	0.57 (.18–1.77)		1.26 (.45–3.54)	
Baseline clinical characteristic								
Cerebral neurologic disorder ^c	54 (72.0)	151 (74.4)	82 (73.9)	148 (73.3)	0.91 (.48–1.71)	.77	1.00 (.58–1.72)	1
Diabetes mellitus	8 (10.7)	32 (15.8)	16 (14.6)	32 (15.8)	0.65 (.28–1.48)	.30	0.78 (.40–1.53)	.47
More intensive care at admission ^d	57 (76.0)	100 (49.0)	62 (56.4)	103 (50.7)	3.35 (1.82–6.17)	<.001	1.35 (.80–2.27)	.26
Skin lesions at admission	21 (28.0)	54 (26.6)	37 (33.6)	55 (27.2)	1.05 (.59–1.86)	.88	1.48 (.86–2.53)	.16
History (before admission)								
Admission from healthcare facility	68 (90.7)	181 (88.7)	96 (87.3)	182 (89.7)	1.42 (.56–3.57)	.46	0.70 (.32–1.55)	.38
Previous hospitalization	70 (94.6)	167 (85.2)	99 (91.7)	176 (88.4)	3.43 (1.14–10.3)	.03	1.32 (.56–3.09)	.53
Previous ICU stay	43 (57.3)	81 (41.1)	48 (44.9)	85 (42.9)	1.97 (1.12–3.47)	.02	1.16 (.69–1.95)	.57
Previous surgical stay	33 (44.0)	83 (42.4)	44 (41.5)	83 (42.1)	1.08 (.63–1.87)	.78	1.04 (.64–1.71)	.87
Previous LTCF stay	11 (14.7)	20 (10.0)	10 (9.3)	20 (10.1)	1.57 (.72–3.42)	.26	1.00 (.45–2.23)	1
Previous antibiotic therapy	34 (44.7)	71 (34.3)	38 (33.9)	66 (31.7)	1.53 (.90–2.59)	.12	1.15 (.69–1.91)	.60
Antimicrobial use^e								
Any	29 (38.2)	57 (27.5)	25 (22.3)	55 (26.4)	1.60 (.90–2.86)	.11	0.85 (.49–1.49)	.31
β-lactams	19 (25.0)	29 (14.0)	12 (10.7)	27 (13.0)	2.06 (1.05–4.06)	.04	0.86 (.41–1.77)	.67
Macrolides, lincosamides, or streptogramins	1 (1.3)	5 (2.4)	2 (1.8)	5 (2.4)	0.53 (.06–4.90)	.57	0.80 (.16–4.12)	.79
Aminoglycosides	6 (7.9)	10 (4.8)	4 (3.6)	8 (3.9)	1.64 (.57–4.71)	.36	1.00 (.30–3.32)	1
Fluoroquinolones	15 (19.7)	19 (9.2)	8 (7.1)	18 (8.7)	2.39 (1.13–5.05)	.02	0.88 (.36–2.12)	.77
Other anti- <i>Staphylococcus</i> agents ^f	1 (1.3)	2 (1.0)	1 (0.9)	3 (1.4)	1.30 (.12–14.5)	.83	0.67 (.07–6.41)	.73
Other antimicrobials ^g	12 (15.8)	25 (12.1)	9 (8.0)	27 (13.0)	1.31 (.63–2.74)	.47	0.61 (.27–1.36)	.23

Table 1 continued.

Variable	MRSA, No. (%) ^a		MSSA, No. (%) ^a		Univariate Analyses			
	Cases (n = 76)	Controls (n = 207)	Cases (n = 112)	Controls (n = 208)	MRSA: Cases vs Controls		MSSA: Cases vs Controls	
					OR (95% CI)	P Value ^b	OR (95% CI)	P Value ^b
Other follow-up variable ^c								
Strict isolation	17 (22.7)	42 (20.5)	19 (17.8)	33 (16.4)	1.13 (.59–2.17)	.71	1.06 (.56–2.00)	.87
Contact isolation	20 (26.7)	50 (24.5)	25 (23.4)	45 (22.4)	1.27 (.63–2.56)	.51	1.22 (.66–2.25)	.76
Catheter	17 (22.4)	31 (15.0)	14 (12.5)	26 (12.5)	1.74 (.87–3.49)	.12	1.07 (.52–2.22)	.85
Tracheostomy	10 (13.2)	27 (13.0)	15 (13.4)	28 (13.5)	0.95 (.44–2.06)	.90	1.06 (.55–2.03)	.87
Aseptic dressing	11 (14.5)	20 (9.7)	15 (13.4)	18 (8.7)	1.59 (.72–3.52)	.25	1.63 (.76–3.51)	.21
Enteral nutrition	17 (22.7)	28 (13.6)	16 (14.7)	25 (12.4)	1.73 (.87–3.46)	.12	1.27 (.65–2.50)	.48
Manual evacuation of fecal impaction	14 (18.7)	24 (11.7)	23 (21.3)	24 (11.8)	1.87 (.91–3.85)	.09	2.21 (1.14–4.24)	.02
Body-washing assistance	67 (89.3)	163 (79.5)	97 (90.0)	157 (77.7)	2.60 (1.09–6.18)	.03	3.22 (1.44–7.19)	.004
Urination device	22 (29.3)	44 (21.5)	33 (30.3)	37 (18.3)	1.53 (.85–2.75)	.16	1.95 (1.12–3.40)	.02
Wound swabbing	28 (36.8)	56 (27.1)	43 (38.4)	55 (26.4)	1.55 (.89–2.70)	.12	1.83 (1.10–3.03)	.02

Abbreviations: CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; LTCF, long-term care facility; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*; OR, odds ratio.

^a Percentages are based on the numbers of patients whose data were available (ie, excluding missing data; see [Supplementary Table 2](#)).

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c Compared with medullary or peripheral neurologic disorder.

^d Compared with less intensive care at admission.

^e Exposed at least once since admission.

^f Including glycopeptides, fosfomycin, and linezolid.

^g Including tetracyclines, pipemidic acid, polymyxins, fusidic acid, metronidazole, sulfonamides, nitrofurans derivatives, and rifampicin.

Table 2. Multivariable Analyses of MRSA and MSSA Cases vs Controls

Variable	MRSA: Cases vs Controls				MSSA: Cases vs Controls			
	Full Model ^a		Final Adjusted Model ^b		Full Model ^a		Final Adjusted Model ^b	
	OR (95% CI)	P Value	OR (95% CI)	P Value	OR (95% CI)	P Value	OR (95% CI)	P Value
Demographics								
Male sex	2.07 (1.01–4.23)	.047	2.09 (1.10–3.98)	.03	0.62 (.36–1.08)	.09
Age, y								
18–29	Reference	.16
30–49	0.94 (.34–2.61)	
50–69	0.58 (.21–1.61)	
≥70	1.39 (.43–4.53)	
Baseline clinical characteristic								
More intensive care at admission ^c	2.75 (1.23–6.10)	.01	3.24 (1.74–6.04)	<.001
Skin lesions at admission	0.97 (.49–1.92)	.93
History (before admission)								
Previous hospitalization	2.67 (.74–9.64)	.13
Previous ICU stay	1.57 (.79–3.12)	.20
Previous antibiotic therapy	1.14 (.57–2.29)	.71
Antimicrobial use^d								
β-lactams	0.75 (.31–1.81)	.53
Fluoroquinolones	2.33 (1.00–5.45)	.05	2.17 (1.01–4.67)	.049
Other follow-up variable^d								
Catheter	1.02 (.45–2.31)	.97
Enteral nutrition	0.56 (.20–1.56)	.27
Manual evacuation of fecal impaction	1.15 (.43–3.07)	.79	1.11 (.47–2.63)	.81
Body-washing assistance	1.13 (.40–3.21)	.81	2.58 (1.04–6.36)	.04	2.85 (1.27–6.42)	.01
Urination device	1.01 (.44–2.35)	.98	1.54 (.77–3.09)	.22	1.79 (1.01–3.18)	.047
Wound swabbing	1.13 (.53–2.43)	.76	1.57 (.80–3.08)	.19

Abbreviations: CI, confidence interval; ICU, intensive care unit; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; OR, odds ratio.

^a Multivariable full models correspond to models including all the variables with Wald test *P* value <.20 in univariate analyses.

^b Final adjusted models correspond to models including all the remaining variables showing significant OR estimates after manual backward-stepwise selections.

^c Compared with less intensive care at admission.

^d Exposed at least once since admission.

acquisition (ie, body-washing assistance and urination device) reflect frequent contacts with healthcare workers, suggesting that factors involved in interindividual transmission are risk factors for *S. aureus* acquisition, regardless of the methicillin resistance phenotype. That possibility is supported by univariate analysis identification of body-washing assistance as significantly associated with MRSA and MSSA acquisitions.

The methods used to investigate MRSA colonization or infection risk factors have differed widely across studies, especially regarding study design (cross-sectional or longitudinal), adjustment for the at-risk period or comorbid conditions, and the control group definition, which could lead to biased evaluation of antibiotic impact. For example, using MSSA-colonized

patients as controls could overestimate the association between antibiotic use and MRSA colonization [23]. To date, almost no well-designed epidemiologic studies have ever been undertaken to provide evidence of an association between previous antibiotic exposure and the risk of MRSA acquisition. The case-control study design usually uses the same control group for pathogen-resistant and pathogen-sensitive risk-factor analyses [21]. In the present study, we compared MRSA and MSSA cases with different control groups, to match cases and controls according to 3 important confounding variables (center, date of first nasal swab sample, and exposure time), making the controls more representative of the source population from which MRSA and MSSA cases originated. Although the choice

of 2 separate control groups may affect comparison of risk factors between the 2 case-control analyses, the fact that our 2 control groups shared numerous patients rendered the results of the 2 analyses much more comparable.

Our study had some limitations. First, detection of *S. aureus* acquisition was based only on standard microbiologic techniques, without recourse to molecular methods (eg, real-time polymerase chain reaction) that can increase detection sensitivity. We were reassured to find t008, t777, and t002 as the most prevalent *spa* types, which is consistent with the *spa* types circulating in France and Europe [36, 37]. Moreover, only nasal swab samples were used to determine the presence of *S. aureus*. Although the combined nasal and skin (axilla and groin) swab samples were shown to be more sensitive than nasal swab samples alone [38], we decided not to use wound swabbing in the MRSA/MSSA case definitions because we focused on acquisition of colonization, and *S. aureus* presence in wounds might indicate infection. Furthermore, wounds were not systematically swabbed, so their use could introduce a selection bias, if the swabbed patients were more likely to receive antibiotics. An imperfect *S. aureus* detection sensitivity from perineal and nasal swab samples at inclusion could result in including false-negative patients, thus biasing our cohort selection. Similarly, a missing or false-negative nasal swab sample during follow-up could yield misclassification of cases as controls, making them more alike and thus underestimating the ORs. Nevertheless, after exclusion of patients who acquired *S. aureus* 1 week after study inclusion or those receiving antibiotic therapy at admission, multivariable analyses yielded similar results, thereby reinforcing our findings.

Second, colonization pressure was not evaluated and, therefore, could not be used to adjust our models for the MRSA and MSSA burden. However, we chose to match by center and date of first nasal swab sample to limit potential confounding by colonization pressure.

Third, our findings in LTCFs might not be generalizable to all hospital settings. However, the association we found between fluoroquinolone use and MRSA acquisition expands previous knowledge on risk factors for MRSA colonization/infection in tertiary care hospitals [17–19, 25–27], reinforcing the notion that antibiotic stewardship is essential, whatever the setting. Antibiotic use being rather intensive and inappropriate in LTCFs [39], it may differ from that in tertiary care hospitals.

In conclusion, *S. aureus* cross-transmission in LTCFs can be controlled by improving hygiene, particularly hand washing. Notably, the effect of fluoroquinolones on MRSA acquisition represent another determinant of MRSA diffusion. Nevertheless, their effect on the other stages of MRSA diffusion (persistent colonization and transmission) remains to be investigated. Our findings should encourage reconsideration of the importance of cautious fluoroquinolone use.

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Clinical Infectious Diseases* online (<http://cid.oxfordjournals.org>). Supplementary materials consist of data provided by the author that are published to benefit the reader. The posted materials are not copyedited. The contents of all supplementary data are the sole responsibility of the authors. Questions or messages regarding errors should be addressed to the author.

Notes

Acknowledgments. We thank all the investigators and healthcare workers who participated in the study and GenoScreen (Lille, France) for *spa* typing of the strains. We also thank Janet Jacobson for editorial assistance.

Financial support. This work was supported by the French Clinical Research Program (grant AOR06009); Institut Pasteur; Direction Générale de l'Armement (2012–2015) and École des Hautes Études en Santé Publique (PhD fellowship to C. C.); and the French government's Investissement d'avenir program, Laboratoire d'Excellence "Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases" (grant ANR-10-LABX-62-IBED).

Potential conflicts of interest. All authors: No reported conflicts.

All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

References

1. von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study group. *N Engl J Med* **2001**; 344:11–6.
2. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* **2005**; 5:751–62.
3. Luzzar MA, Coles GA, Faller B, et al. *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *N Engl J Med* **1990**; 322:505–9.
4. Nguyen MH, Kauffman CA, Goodman RP, et al. Nasal carriage of and infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Ann Intern Med* **1999**; 130:221–5.
5. Desai D, Desai N, Nightingale P, Elliott T, Neuberger J. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is associated with an increased risk of infection after liver transplantation. *Liver Transpl* **2003**; 9:754–9.
6. Balm MN, Lover AA, Salmon S, Tambyah PA, Fisher DA. Progression from new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation to infection: an observational study in a hospital cohort. *BMC Infect Dis* **2013**; 13:491.
7. Jevons MP. "Celbenin"-resistant staphylococci. *Br Med J* **1961**; 1:972–3.
8. Grundmann H, Aires-de-Sousa M, Boyce J, Tiemersma E. Emergence and resurgence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a public-health threat. *Lancet* **2006**; 368:874–85.
9. Pittet D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med* **1995**; 155:1177–84.
10. Cosgrove SE, Qi Y, Kaye KS, Harbarth S, Karchmer AW, Carmeli Y. The impact of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* bacteremia on patient outcomes: mortality, length of stay, and hospital charges. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**; 26:166–74.
11. Kock R, Becker K, Cookson B, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill* **2010**; 15:19688.
12. Alexander EL, Morgan DJ, Kesh S, et al. Prevalence, persistence, and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York Hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* **2011**; 70:37–44.
13. Asensio A, Guerrero A, Quereda C, Lizan M, Martinez-Ferrer M. Colonization and infection with methicillin-resistant *Staphylococcus*

- aureus*: associated factors and eradication. *Infect Control Hosp Epidemiol* **1996**; 17:20–8.
14. Bassetti M, Trecarichi EM, Mesini A, et al. Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *Clin Microbiol Infect* **2012**; 18:862–9.
 15. Bilavsky E, Lerman Y, Rabinovich A, et al. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to European rehabilitation centres—a prospective study. *Clin Microbiol Infect* **2012**; 18: E164–9.
 16. Pittet D, Allegranzi B, Sax H, et al. Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices. *Lancet Infect Dis* **2006**; 6:641–52.
 17. Harbarth S, Liassine N, Dharan S, Herrault P, Auckenthaler R, Pittet D. Risk factors for persistent carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* **2000**; 31:1380–5.
 18. Dziekan G, Hahn A, Thune K, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital: investigation of nosocomial transmission using a matched case-control study. *J Hosp Infect* **2000**; 46:263–70.
 19. Salangsang JA, Harrison LH, Brooks MM, Shutt KA, Saul MI, Muto CA. Patient-associated risk factors for acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary care hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2010**; 31:1139–47.
 20. Lee BY, Bartsch SM, Wong KF, et al. The importance of nursing homes in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among hospitals. *Med Care* **2013**; 51:205–15.
 21. Kaye KS, Harris AD, Samore M, Carmeli Y. The case-case-control study design: addressing the limitations of risk factor studies for antimicrobial resistance. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**; 26:346–51.
 22. Blot S, De Bacquer D, Hoste E, et al. Influence of matching for exposure time on estimates of attributable mortality caused by nosocomial bacteremia in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**; 26:352–6.
 23. Harris AD, Karchmer TB, Carmeli Y, Samore MH. Methodological principles of case-control studies that analyzed risk factors for antibiotic resistance: a systematic review. *Clin Infect Dis* **2001**; 32:1055–61.
 24. Merrer J, Santoli F, Appere de Vecchi C, Tran B, De Jonghe B, Outin H. "Colonization pressure" and risk of acquisition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a medical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2000**; 21:718–23.
 25. Graffunder EM, Venezia RA. Risk factors associated with nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *J Antimicrob Chemother* **2002**; 49: 999–1005.
 26. Weber SG, Gold HS, Hooper DC, Karchmer AW, Carmeli Y. Fluoroquinolones and the risk for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients. *Emerg Infect Dis* **2003**; 9:1415–22.
 27. Ernst EJ, Raley G, Herwaldt LA, Diekema DJ. Importance of control group selection for evaluating antimicrobial use as a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2005**; 26:634–7.
 28. Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* **2008**; 61:26–38.
 29. Knight GM, Budd EL, Whitney L, et al. Shift in dominant hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) clones over time. *J Antimicrob Chemother* **2012**; 67:2514–22.
 30. Acar JF, Goldstein FW. Trends in bacterial resistance to fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* **1997**; 24(Suppl 1): S67–73.
 31. Bisognano C, Vaudaux PE, Lew DP, Ng EY, Hooper DC. Increased expression of fibronectin-binding proteins by fluoroquinolone-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* **1997**; 41:906–13.
 32. Bisognano C, Vaudaux P, Rohner P, Lew DP, Hooper DC. Induction of fibronectin-binding proteins and increased adhesion of quinolone-resistant *Staphylococcus aureus* by subinhibitory levels of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* **2000**; 44:1428–37.
 33. Venezia RA, Domaracki BE, Evans AM, Preston KE, Graffunder EM. Selection of high-level oxacillin resistance in heteroresistant *Staphylococcus aureus* by fluoroquinolone exposure. *J Antimicrob Chemother* **2001**; 48:375–81.
 34. O'Sullivan NP, Keane CT. Risk factors for colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among nursing home residents. *J Hosp Infect* **2000**; 45:206–10.
 35. Kupfer M, Jatzwauk L, Monecke S, Mobius J, Weusten A. MRSA in a large German University Hospital: male gender is a significant risk factor for MRSA acquisition. *GMS Krankenhhyg Interdiszip* **2010**; 5:pii:Doc 11.
 36. den Heijer CD, van Bijnen EM, Paget WJ, et al. Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis* **2013**; 13:409–15.
 37. Dauwalder O, Lina G, Durand G, et al. Epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones collected in France in 2006 and 2007. *J Clin Microbiol* **2008**; 46:3454–8.
 38. Lucet JC, Chevret S, Durand-Zaleski I, Chastang C, Regnier B; Multicenter Study Group. Prevalence and risk factors for carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at admission to the intensive care unit: results of a multicenter study. *Arch Intern Med* **2003**; 163:181–8.
 39. Nicolle LE, Bentley DW, Garibaldi R, Neuhaus EG, Smith PW. Antimicrobial use in long-term-care facilities. SHEA Long-Term-Care Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2000**; 21:537–45.

Annexe B. Article II

Fluoroquinolone Impact on Nasal Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Colonization Durations in Neurologic Long-Term-Care Facilities

Clotilde Couderc,^{a,b,c} Anne C. M. Thiébaud,^{a,b,c} Christine Lawrence,^d Coralie Bouchiat,^{e,f,g,h,i} Jean-Louis Herrmann,^{d,j,k} Jérôme Salomon,^{a,b,c,d} Didier Guillemot,^{a,b,c,d} for the Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group

Institut Pasteur, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Paris, France^a; INSERM, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Paris, France^b; Université Versailles St-Quentin, UMR 1181 Biostatistics, Biomathematics, Pharmacoepidemiology and Infectious Diseases (B2PHI), Montigny le Bretonneux, France^c; AP-HP, Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France^d; Université Lyon 1, International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France^e; INSERM, U1111 International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France^f; École Normale Supérieure de Lyon, International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France^g; CNRS, UMR 5308 International Center for Infectiology Research (CIRI), Lyon, France^h; Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, Franceⁱ; Université Versailles St-Quentin, U1173, Saint-Quentin-en-Yvelines, France^j; INSERM, U1173, Montigny le Bretonneux, France^k

***Staphylococcus aureus* nasal carriage is a risk factor for subsequent infection. Estimates of colonization duration vary widely among studies, and factors influencing the time to loss of colonization, especially the impact of antibiotics, remain unclear. We conducted a prospective study on patients naive for *S. aureus* colonization in 4 French long-term-care facilities. Data on nasal colonization status and potential factors for loss of colonization were collected weekly. We estimated methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) and methicillin-sensitive *S. aureus* (MSSA) colonization durations using the Kaplan-Meier method and investigated factors for loss of colonization using shared-frailty Cox proportional hazards models. A total of 285 *S. aureus* colonization episodes were identified in 149 patients. The median time to loss of MRSA or MSSA colonization was 3 weeks (95% confidence interval, 2 to 8 weeks) or 2 weeks (95% confidence interval, 2 to 3 weeks), respectively. In multivariable analyses, the methicillin resistance phenotype was not associated with *S. aureus* colonization duration ($P = 0.21$); the use of fluoroquinolones (hazard ratio, 3.37; 95% confidence interval, 1.31 to 8.71) and having a wound positive for a nonnasal strain (hazard ratio, 2.17; 95% confidence interval, 1.15 to 4.07) were associated with earlier loss of MSSA colonization, while no factor was associated with loss of MRSA colonization. These results suggest that the methicillin resistance phenotype does not influence the *S. aureus* colonization duration and that fluoroquinolones are associated with loss of MSSA colonization but not with loss of MRSA colonization.**

Staphylococcus aureus is a human commensal bacterium and a common cause of hospital-acquired infections, ranging from mild skin infections to bacteremia. The anterior nares are the most common *S. aureus* niche, although the presence of extranasal sites of colonization is increasingly recognized (1, 2). Approximately 30 to 50% of humans are asymptotically colonized with *S. aureus*, and nasal carriage is a major risk factor for subsequent infection (3, 4). However, the role of long-term nasal *S. aureus* persistence remains unknown. Notably, persistent but not intermittent nasal *S. aureus* carriage is a risk factor for continuous peritoneal dialysis-related infections (5). Moreover, long-term methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) carriers remain at risk for subsequent infection and death (6).

Estimates of MRSA colonization duration vary widely among studies (7–15) and range from 12 days (8) to 40 months (13). A meta-analysis estimated that the median time to clearance was 88 weeks after documented, untreated MRSA colonization (16). Some factors associated with a longer MRSA colonization duration have already been identified, e.g., ≥ 2 MRSA-positive body sites or a skin break at readmission (9, 14, 17), prior fluoroquinolone use (17), human immunodeficiency virus positivity (18), and household contacts with MRSA, young age, or *spa* type t002 (9). Conversely, self-sufficiency in daily activities (10) or having an antibiotic-treated documented infection (9) was associated with a shorter MRSA carriage time.

This study was undertaken in long-term-care facilities (LTCFs) to evaluate prospectively nasal *S. aureus* (MRSA and/or methicillin-sensitive *S. aureus* [MSSA]) colonization duration and identify factors influencing the time to loss of colonization.

MATERIALS AND METHODS

Settings and study design. The Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) study is a prospective cohort of patients naive for *S. aureus* colonization established in France from January 2008 to October 2010 in 4 neurologic LTCFs. Patients were included if they

Received 8 June 2015 Returned for modification 11 August 2015

Accepted 23 September 2015

Accepted manuscript posted online 28 September 2015

Citation Couderc C, Thiébaud ACM, Lawrence C, Bouchiat C, Herrmann J-L, Salomon J, Guillemot D, for the Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group. 2015. Fluoroquinolone impact on nasal methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization durations in neurologic long-term-care facilities. *Antimicrob Agents Chemother* 59:7621–7628. doi:10.1128/AAC.01338-15.

Address correspondence to Clotilde Couderc, clotilde.couderc@gmail.com, or Didier Guillemot, didier.guillemot@pasteur.fr.

Supplemental material for this article may be found at <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01338-15>.

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

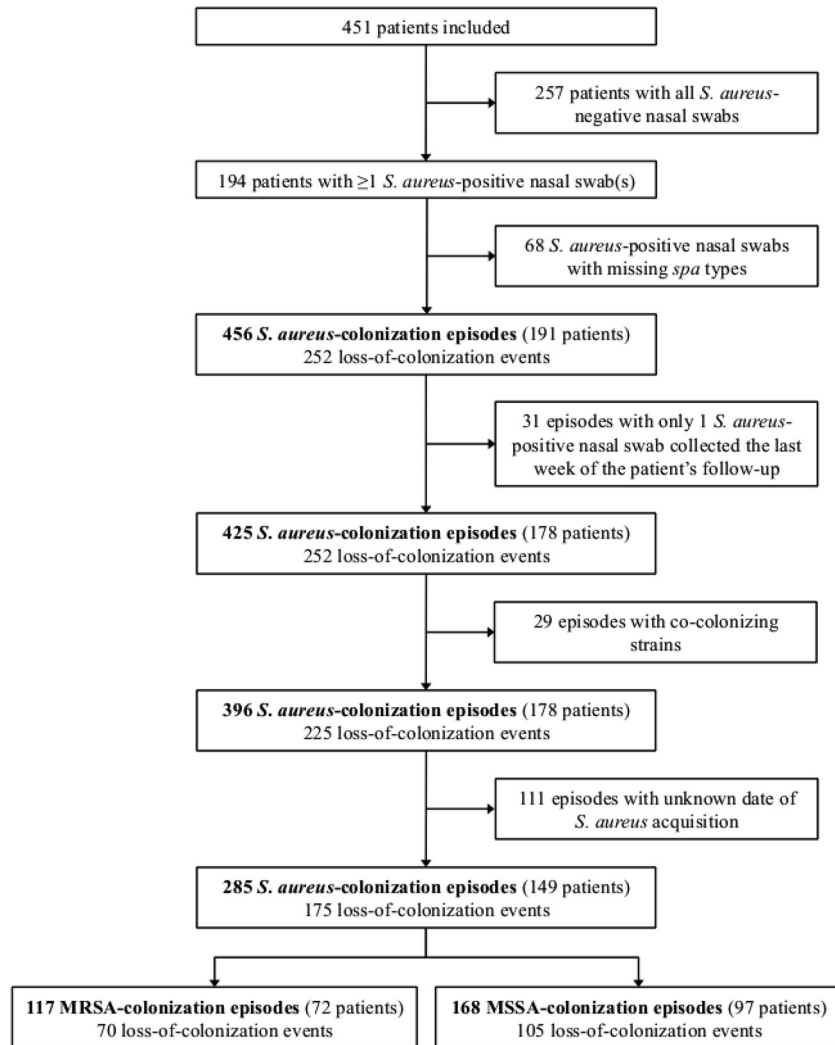


FIG 1 Flowchart of the study population.

were not colonized with *S. aureus* at admission (negative nasal and perineal swab specimens), ≥ 18 years old, and hospitalized for a neurologic disorder with an expected stay of ≥ 2 months, as detailed previously (19). An institutional review board (Comité de Protection des Personnes Île-de-France XI) approved the study protocol (reference 07032); no written informed consent was obtained from the patients because the study interventions were standard care. Authorization was also obtained from the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (French Data Protection Agency; reference 907302).

Each patient was tested weekly for his or her status of nasal colonization with *S. aureus*. At inclusion, sociodemographic data (sex and age) and diabetes mellitus status were recorded. Every week, a standardized questionnaire was used to collect prospective data on strict isolation (single room or cohorting), contact isolation, use of an invasive medical device (catheter, tracheostomy, enteral nutrition, and/or urination device), body-washing assistance, and wound swabbing for *S. aureus* identification. Daily antimicrobial use was recorded either in computerized pharmacy records or on specific standardized questionnaires. Antibiotics were classified as follows: fluoroquinolones (Anatomical Therapeutic Chemical Group J01MA), aminoglycosides (J01G), and other anti-MSSA agents (including β -lactamase-resistant penicillins [J01CF], combined penicillins and β -lactamase inhibitors [J01CR], third- and fourth-generation cephalosporins [J01DD/DE], and carbapenems [J01DH]). Macrolides,

lincosamides, streptogramins, and other anti-*S. aureus* agents (including vancomycin, fusidic acid, fosfomicin, and rifampin) were rarely prescribed and were not considered in the analyses.

Microbiologic techniques. To assess *S. aureus* colonization, an alginate swab was rotated inside each nostril and then placed in Stuart's transport medium (Transwab; Medical Wire and Equipment) and kept at room temperature until arrival at the Microbiology Laboratory of Raymond-Poincaré University Hospital. Screening for MRSA and antimicrobial susceptibility testing were performed as previously described (20). To determine *S. aureus* clonal diversity, all strains isolated from positive nasal swabs were subjected to *spa* typing.

Definition of colonization episodes. A colonization episode was defined as the period between the acquisition and loss of colonization with a given *S. aureus* strain. *S. aureus* strains were defined by their methicillin resistance phenotype and *spa* type. *S. aureus*-positive swabs for which the *spa* type was not identified were considered missing samples for the analyses. *S. aureus* strain acquisition was defined as a positive nasal swab following either negative nasal and perineal swabs at admission or following two consecutive nasal swab specimens negative for that strain during follow-up. This definition and missing samples meant that the date of colonization acquisition was unknown for many episodes and data for those episodes were excluded from the analyses (Fig. 1).

The event of interest was the loss of *S. aureus* colonization, defined as two consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain. The time to loss of colonization was the number of weeks from the date of acquisition of a given strain. Episodes were right censored during follow-up at the last positive swab when consecutive missing samples prevented a precise loss-of-colonization determination or at the end of observation.

Statistical analyses. Median MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization durations were estimated using the Kaplan-Meier method to account for right-censored observations. Associations between factors and the loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization were investigated using Cox proportional hazards models (21). Because a patient could have several colonization episodes, a shared-frailty term was used to model a lack of independence between a given patient's events (22). Episodes with a single *S. aureus*-positive nasal swab collected during the last week of the patient's follow-up were not analyzed, because survival analysis requires that each episode be observed over some nonnull time interval.

Isolation precautions, the use of an invasive medical device, body-washing assistance, antibiotic use, and having one or several *S. aureus*-positive wounds were included as time-dependent covariates in the models. We distinguished wounds colonized with the nasal strain (i.e., the strains had the same methicillin resistance phenotype and the same *spa* type) from wounds colonized with a nonnasal strain (i.e., the strains had different methicillin resistance phenotypes and/or *spa* types). For nasal swabs positive for two cocolonizing strains, we created a time-dependent covariate (having another nasal *S. aureus* strain) for exposure to the strain different from that of the ongoing episode. Time-dependent covariates were analyzed as binary variables (exposed/nonexposed), and exposure was defined for the time interval between the collection of two nasal swab specimens. The dates of antibiotic prescriptions were compared with the estimated dates of *S. aureus* acquisition and loss of colonization, which were considered the midpoint between the times for the last negative and the first positive nasal swabs and the midpoint between the times for the last positive and the first negative nasal swabs, respectively.

Hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated for all variables. Those associated with time to loss of colonization in univariate analyses (2-sided $P < 0.20$) were included in the multivariable models and maintained in the final models when their HR estimates remained statistically significantly associated (2-sided $P < 0.05$) with loss of colonization using a manual backward stepwise procedure, yielding the final adjusted models. All univariate and multivariable models were adjusted for center and fitted with the Efron method for handling ties (23). Interactions between the strain's methicillin resistance phenotype and all the covariates remaining in the final model of loss of *S. aureus* colonization were systematically evaluated.

Sensitivity analyses (i) included only the first colonization episode per patient, (ii) used survival time recorded as calendar dates (i.e., nasal swabbing dates) rather than the time to loss of colonization, where time zero corresponded to the time of *S. aureus* acquisition (for this approach, episodes with an unknown date of acquisition could be included because the event of interest was the loss of *S. aureus* colonization on a given calendar date rather than the time from acquisition), and (iii) defined the loss of *S. aureus* colonization as three consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain.

Analyses were performed using SAS (version 9.3) software (SAS Institute, Cary, NC). The PHREG procedure and the RANDOM statement were used to fit a shared-frailty model to clustered data with normally distributed random effects.

RESULTS

Study population. Among the 451 patients naive for *S. aureus* colonization at admission and included in the ASAR study, 194 (43.0%) had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab specimens during follow-up (Fig. 1), and the 149 patients included in the analyses were from centers 1 to 4: 17 (11.4%), 53 (35.6%), 50 (33.6%), and

TABLE 1 Characteristics of the 149 patients colonized with *Staphylococcus aureus*

Variable	Value
No. (%) of patients at center ^a :	
1	17 (11.4)
2	53 (35.6)
3	50 (33.6)
4	29 (19.5)
No. (%) of male patients	
Median (IQR) ^b age (yr)	52.6 (39.2–61.8)
Median (IQR) no. of colonization episodes	1 (1–2)
Median (IQR) follow-up duration (wk)	20 (13–35)

^a French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^b IQR, interquartile range.

29 (19.5%) patients, respectively (Table 1). Their median age was 52.6 years (range, 18.7 to 86.5 years), and 101 (67.8%) were male. The median follow-up duration was 20 weeks (range, 4 to 65 weeks), and the median number of colonization episodes per patient was 1 (range, 1 to 12). Figure S1 in the supplemental material reports the results for the nasal swabs obtained from each patient during follow-up. At admission, the characteristics of the patients included in the analyses were comparable to those of the 45 patients that acquired *S. aureus* and were excluded from the analyses (data not shown).

Considering the 194 patients who had ≥ 1 *S. aureus*-positive nasal swab specimens during follow-up, the protocol called for a total of 4,728 swab specimens to be obtained (1 per week), but 450 (9.5%) were missing. The rate of missing data (8.5%) was similar for the 149 patients analyzed.

Colonization episodes. During follow-up, 285 *S. aureus* colonization episodes (117 episodes with MRSA colonization and 168 episodes with MSSA colonization) were identified in 149 patients; among those episodes, loss of colonization occurred in 175 (61.4%) (70 [59.8%] and 105 [62.5%] for MRSA and MSSA colonization episodes, respectively).

The median Kaplan-Meier-estimated time to loss of *S. aureus* colonization was 3 weeks (95% CI, 2 to 4 weeks). The respective median times to loss of MRSA and MSSA colonization were 3 weeks (95% CI, 2 to 8 weeks) and 2 weeks (95% CI, 2 to 3 weeks), respectively. Figure 2 shows the estimated Kaplan-Meier curves of the MRSA or MSSA colonization duration. A loss of colonization occurred after 1 week for 156 (54.7%) episodes: 63 (53.8%) MRSA colonization episodes and 93 (55.4%) MSSA colonization episodes.

Seventy-two *spa* types were identified, with the most predominant *spa* types being t008, t777, and t002 (Table 2). Among the 285 *S. aureus* strains, 152/168 (90.5%) MRSA strains and 4/117 (3.4%) MSSA strains were fluoroquinolone resistant.

Among the 149 patients, 44 (29.5%) were colonized with ≥ 2 different *S. aureus* strains, including 1 patient who was colonized with 5 different ones. Forty-three (28.9%) patients had ≥ 2 colonization episodes with the same *S. aureus* strain during their follow-up.

Factors influencing time to loss of colonization. Among 315 *S. aureus*-positive wound swab specimens collected from 96 colonization episodes, 215 (68.3%) were colonized with the nasal

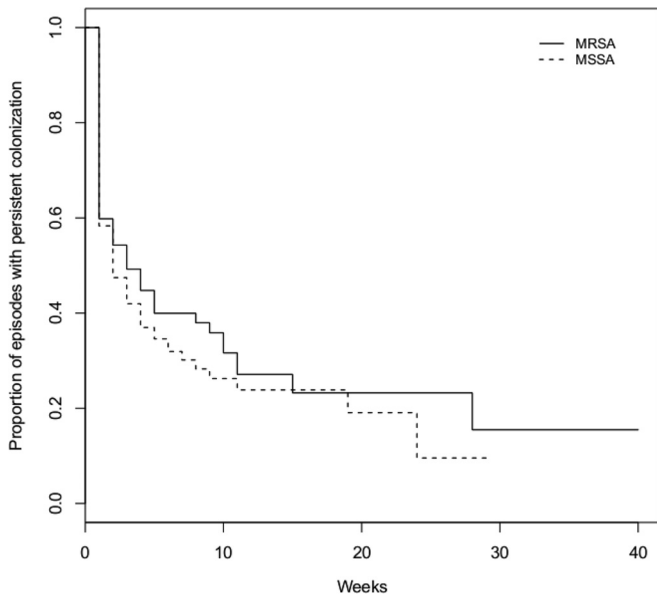


FIG 2 Estimated Kaplan-Meier curves of MRSA or MSSA colonization duration.

strain. Among the 100 wounds colonized with a nonnasal strain (45 wounds colonized with MRSA, 55 wounds colonized with MSSA), the methicillin resistance phenotype of the nonnasal strain differed from that of the nasal strain for 78. Only 12 patients (8 MRSA and 9 MSSA colonization episodes) received fluoroquinolones during their colonization episodes, 6 patients (4 MRSA and 3 MSSA colonization episodes) took aminoglycosides, and other anti-MSSA agents were prescribed to 13 patients (9 MRSA and 9 MSSA colonization episodes).

Univariate Cox analyses identified only the adjusting center variable ($P = 0.025$) to be significantly associated with loss of MRSA colonization (Table 3). Fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were significantly associated with earlier loss of MSSA and *S. aureus* colonization. The methicillin resistance phenotype did not impact the *S. aureus* colonization duration ($P = 0.21$).

Multivariable analyses retained fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound as being significantly and independently associated with earlier loss of MSSA colonization and retained fluoroquinolone use, a nonnasal strain-positive wound, and *spa* type t571 as being significantly and independently associated with earlier loss of *S. aureus* colonization (Table 4). No

interaction between fluoroquinolone use and the methicillin resistance phenotype was found in the final model of loss of *S. aureus* colonization ($P = 0.31$).

Considering the first colonization episode per patient, only *spa* type t2903 or t571 was an independent factor for loss of MRSA or *S. aureus* colonization, respectively (see Table S1 in the supplemental material). Using survival time recorded as calendar dates, fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were significantly and independently associated with earlier loss of *S. aureus* colonization (see Table S2 in the supplemental material). Those risk factors were not significant for MSSA episodes, while the use of other anti-MSSA agents was independently associated with earlier loss of colonization. Finally, when the loss of *S. aureus* colonization was defined as three consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain, fluoroquinolones were independently associated with loss of MSSA and *S. aureus* colonization, a wound positive for a nasal strain and *spa* type t2903 were independently associated with loss of MRSA and *S. aureus* colonization, *spa* type t571 was independently associated with loss of *S. aureus* colonization, and a wound positive for a nonnasal strain was independently associated with loss of MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization (see Table S3 in the supplemental material).

DISCUSSION

Our study showed that estimates of nasal MRSA and MSSA colonization durations were similar and that fluoroquinolone use and a wound positive for a nonnasal strain were independently and significantly associated with shorter MSSA colonization durations. Notably, the methicillin resistance phenotype was not associated with longer duration of *S. aureus* colonization, suggesting that in the human population, *S. aureus* fitness, which depends on bacterial growth and clearance rates, is not influenced by methicillin susceptibility and, thus, that the biologic cost associated with methicillin resistance might be limited. Although methicillin resistance was inversely associated with the growth rate *in vitro* (24), the compensatory mutations that can counterbalance the cost conferred by resistance may be differently selected *in vivo* (25) and, by extension, in the human population. Studies examining whether MRSA and MSSA strains compete for nasal colonization have yielded conflicting results (26–29): some found no evidence of competition, while others showed that MSSA colonization protected against MRSA acquisition in the nares.

The median time to loss of MRSA colonization of 3 weeks observed in the present study was shorter than that described previously (9–15). Several explanations could account for the variability of MRSA colonization duration: different health care set-

TABLE 2 *spa* type distribution according to methicillin resistance phenotype^a

<i>spa</i> type	No. (%) of episodes or patients					
	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	Episodes ($n = 117$)	Patients ($n = 72$)	Episodes ($n = 168$)	Patients ($n = 97$)	Episodes ($n = 285$)	Patients ($n = 149$)
t008	38 (32.5)	27 (37.5)	26 (15.5)	17 (17.5)	64 (22.5)	42 (28.2)
t777	27 (23.1)	19 (26.4)	9 (5.4)	9 (9.3)	36 (12.6)	26 (17.4)
t002	7 (6.0)	6 (8.3)	11 (6.5)	8 (8.2)	18 (6.3)	14 (9.4)
t571	0	0	12 (7.1)	9 (9.3)	12 (4.2)	9 (6.0)
t2903	12 (10.3)	6 (8.3)	0	0	12 (4.2)	6 (4.0)
Others	33 (28.2)	26 (36.1)	110 (65.5)	70 (72.2)	143 (50.2)	95 (63.8)

^a Abbreviations: MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

TABLE 3 Univariate shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization^f

Variable	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
Patient characteristics						
Center ^c						
1	Reference	0.025	Reference	0.42	Reference	0.006
2	0.55 (0.27–1.10)		0.76 (0.42–1.38)		0.63 (0.41–0.97)	
3	0.36 (0.18–0.72)		0.62 (0.34–1.15)		0.47 (0.31–0.73)	
4	0.34 (0.12–0.98)		0.62 (0.31–1.24)		0.49 (0.29–0.84)	
Male sex	1.84 (0.87–3.89)	0.11	1.20 (0.76–1.90)	0.43	1.40 (0.96–2.03)	0.08
Age ≥ 60 yr	0.84 (0.46–1.52)	0.56	1.41 (0.89–2.24)	0.14	1.07 (0.75–1.51)	0.73
Diabetes mellitus	0.86 (0.34–2.18)	0.74	0.82 (0.45–1.50)	0.52	0.83 (0.50–1.36)	0.45
Bacterial characteristics						
Methicillin resistance	NA		NA		0.82 (0.60–1.12)	0.21
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types	Reference	0.19	Reference	0.29	Reference	0.11
t002	1.70 (0.45–6.39)		1.53 (0.65–3.57)		1.39 (0.71–2.71)	
t008	0.66 (0.31–1.42)		1.33 (0.71–2.50)		0.80 (0.53–1.20)	
t777	1.44 (0.69–3.00)		0.88 (0.33–2.33)		1.15 (0.72–1.83)	
t571			2.16 (1.02–4.58)		2.17 (1.08–4.36)	
t2903	1.65 (0.61–4.48)				1.37 (0.64–2.93)	
Antimicrobials used						
Fluoroquinolones	1.65 (0.49–5.56)	0.42	3.23 (1.26–8.33)	0.015	2.48 (1.19–5.17)	0.016
Aminoglycosides	1.06 (0.14–8.07)	0.95	2.03 (0.26–15.76)	0.50	1.40 (0.34–5.77)	0.64
Other anti-MSSA agents ^d	0.94 (0.28–3.11)	0.91	1.66 (0.63–4.38)	0.31	1.32 (0.63–2.76)	0.46
Other follow-up variables						
Strict isolation	0.78 (0.32–1.90)	0.58	1.00 (0.53–1.90)	1.00	0.93 (0.55–1.55)	0.77
Contact isolation	0.50 (0.22–1.12)	0.09	1.28 (0.74–2.22)	0.37	0.89 (0.57–1.40)	0.61
Invasive medical device use ^e	0.79 (0.45–1.40)	0.42	1.18 (0.78–1.79)	0.44	1.04 (0.74–1.44)	0.84
Body-washing assistance	0.88 (0.48–1.60)	0.67	1.18 (0.76–1.83)	0.45	1.04 (0.74–1.48)	0.81
Having a wound positive for a nasal strain	0.65 (0.35–1.22)	0.18	0.85 (0.49–1.47)	0.56	0.79 (0.53–1.18)	0.25
Having a wound positive for a nonnasal strain	1.88 (0.92–3.86)	0.09	2.12 (1.13–3.96)	0.019	2.04 (1.28–3.25)	0.003
Having another nasal <i>S. aureus</i> strain			2.75 (0.64–11.89)	0.18	1.01 (0.24–4.16)	0.99

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Including β-lactamase-resistant penicillins (Anatomical Therapeutic Chemical Group, J01CF), combinations of penicillins and β-lactamase inhibitors (J01CR), third- and fourth-generation cephalosporins (J01DD/DE), and carbapenems (J01DH).

^e Including catheter, tracheostomy, enteral nutrition, and/or urination device.

^f Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*; NA, not applicable.

tings (acute care facilities versus LTCFs), definitions of loss of colonization, follow-up times, frequencies of *S. aureus* sampling, and numbers of anatomical sites screened; the use of *spa* typing to identify strains; and the treatment used to decolonize the patients. Some authors investigated the MRSA colonization duration in rehospitalized patients (8, 12–14). The designs of those studies might have overestimated loss-of-colonization times, if the lag time between discharge and readmission was long. In addition, some exclusion criteria may prevent the accurate estimation of loss-of-colonization times, including shorter colonization episodes, in the analyses. For example, one study excluded patients readmitted ≤3 months postdischarge, resulting in an estimated median time to MRSA clearance of 8.5 months (14), whereas another excluded transient carriers, defined as patients having only 1 MRSA-positive culture and a negative culture within a week (9). Others investigated the MRSA colonization duration at different times after hospital discharge, e.g., 6 months after the initial de-

tection of MRSA, yielding longer colonization duration estimates (10, 15, 30). However, one study conducted in a rehabilitation center estimated the median nasal carriage time to be 44 days, which is not very different from our estimate (7). Moreover, a recent study that collected specimens from patients with MRSA skin and soft tissue infections and their household members for MRSA surveillance cultures every 2 weeks for 6 months reported median MRSA colonization duration of 21 days, a finding which is also close to our findings (31).

Pertinently, fluoroquinolone use in the present study was associated with earlier loss of MSSA colonization but not with loss of MRSA colonization. Fluoroquinolones act mainly against MSSA and not against MRSA (32), which could explain that observation. Consistently, 96.6% of the colonizing MSSA strains were fluoroquinolone sensitive, while 90.5% of the colonizing MRSA strains were fluoroquinolone resistant. Although not statistically significant, the fluoroquinolone effect also favored shorter MRSA

TABLE 4 Multivariable shared-frailty Cox proportional hazards regression models for loss of MRSA, MSSA, or *S. aureus* colonization^d

Variable	MRSA		MSSA		<i>S. aureus</i>	
	HR ^a (95% CI)	<i>P</i> value ^b	HR (95% CI)	<i>P</i> value	HR (95% CI)	<i>P</i> value
Center ^c						
1	Reference	0.025	Reference	0.82	Reference	0.18
2	0.55 (0.27–1.10)		1.17 (0.57–2.41)		1.00 (0.58–1.72)	
3	0.36 (0.18–0.72)		0.95 (0.45–2.00)		0.71 (0.41–1.23)	
4	0.34 (0.12–0.98)		0.95 (0.42–2.15)		0.65 (0.33–1.27)	
<i>spa</i> type						
Other <i>spa</i> types					Reference	0.025
t002					1.48 (0.76–2.86)	
t008					0.75 (0.50–1.12)	
t777					1.12 (0.71–1.78)	
t571					2.31 (1.16–4.57)	
t2903					1.72 (0.81–3.63)	
Fluoroquinolones			3.37 (1.31–8.71)	0.012	2.75 (1.32–5.76)	0.007
Having a wound positive for nonnasal strain			2.17 (1.15–4.07)	0.016	2.32 (1.44–3.74)	<0.001

^a All analyses were adjusted for center.

^b Boldface *P* values represent statistically significant differences.

^c French centers 1 to 4 (city in France) were, respectively, Maritime Hospital (Berck), Raymond-Poincaré University Hospital (Garches), Jacques-Calvé Center (Berck), and Sainte-Barbe Center (Fouquières-lès-Lens).

^d Abbreviations: CI, confidence interval; HR, hazard ratio; MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA, methicillin-sensitive *S. aureus*.

colonization durations. Moreover, no interaction between fluoroquinolone use and the methicillin resistance phenotype was found in the final model of loss of *S. aureus* colonization, suggesting that the association between fluoroquinolone use and colonization duration did not differ according to the strain's methicillin resistance phenotype. In contrast, Harbarth et al. reported that prior fluoroquinolone therapy was independently associated with MRSA persistence (17). However, our definition of persistence and fluoroquinolone exposure as a time-dependent covariate differed, enabling assessment of short-term effects (1 week) on the loss of colonization.

Having a wound positive for a nonnasal strain was independently and significantly associated with shorter MSSA or *S. aureus* colonization durations. Univariate analysis indicated the same trend for MRSA colonization durations ($P = 0.09$). *S. aureus* is frequently isolated from hospitalized patients' wounds and may be a source of cross-contamination with the anterior nares (33, 34). A nonnasal strain isolated from a wound may compete with the nasal strain and thereby shorten the nasal *S. aureus* colonization duration. Indeed, some reported observations suggested microbial competition during nasal colonization (26, 27, 35). However, among the 50 *S. aureus* colonization episodes immediately followed by a colonization episode with a different strain, only 5 (10%) were concomitant with colonization of a wound with a nonnasal strain corresponding to that of the subsequent episode.

In earlier investigations, skin lesions or >1 MRSA-positive body sites were predictors of prolonged MRSA colonization (11, 12, 14, 17, 36, 37). We did not include the same variables, but a wound positive for a nasal strain favored longer MRSA, MSSA, and *S. aureus* colonization durations in univariate analyses, albeit not significantly. Our results suggesting opposite effects of having a wound colonized with a nasal or nonnasal strain on the colonization duration highlight the importance of distinguishing between them.

The major strength of our prospective study was the use of a protocol that allowed precise estimation of the *S. aureus* colonization duration, i.e., weekly sampling of patients with a relatively long duration of monitoring (median follow-up, 5 months), made possible by the study setting in LTCFs, where the average stay is 3 months. Moreover, similar results were found when the loss of *S. aureus* colonization was defined as 3 consecutive nasal swab specimens negative for the episode strain, indicating the good sensitivity of the *S. aureus* detection method. Furthermore, *spa* typing enabled the better characterization of the *S. aureus* strains and thereby provided more precise estimates of the colonization duration for each episode. Lastly, the use of shared-frailty models ensured maximum exploitation of the data. Standard survival analysis requires independent data, and the simplest way to study recurrent events is to examine only the time to the first event. That first sensitivity analysis failed to find any association between fluoroquinolone use or a nonnasal strain-positive wound and earlier loss of *S. aureus* or MSSA colonization, thereby illustrating the advantage of this methodology. Conversely, when the sensitivity analyses used survival time recorded as calendar dates, fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were independent risk factors for loss of *S. aureus* colonization, supporting our main analysis outcome.

This study has several limitations. First, missing data made us exclude 111 colonization episodes from the analyses, to avoid underestimating their durations. Moreover, if a patient had been repeatedly colonized with the same strain, we could have considered the episode to be several colonization episodes because of missing data, while it might have been a single episode. In that context, only the colonization episode for which the acquisition interval was known was included, perhaps underestimating colonization durations, even if right censoring was considered in the survival analysis. In contrast, our definition of loss of colonization, intended to avoid possible false-negative swabs, might have overestimated colonization durations.

Second, although colonization pressure was not evaluated, all analyses were adjusted for center to limit potential confounding by colonization pressure. Moreover, because of interval censoring, we could not discern whether a patient was colonized for 1 week or decolonized and then recolonized very rapidly because of a given strain's high colonization pressure. Nevertheless, 43 (28.9%) patients had ≥ 2 episodes of colonization with the same *S. aureus* strain during follow-up, suggesting that the persistent carriage frequently described in the literature could be the result of recolonization (4, 38). Furthermore, our second sensitivity analysis using calendar time to better control colonization pressure yielded results consistent with those from our main analysis.

Third, only nasal swab samples were used to determine *S. aureus* colonization status, as the study protocol did not include swabbing of extranasal body sites. Identification of the strains was based only on *spa* typing and methicillin susceptibility, whereas whole-genome sequencing would have increased the resolution of *S. aureus* characterization. Moreover, no information regarding the treatment used for *S. aureus* decolonization was collected during the study, which prevented us from considering this variable in the analyses.

In conclusion, for the LTCF patient cohort described here, the estimated median times to loss of MRSA or MSSA colonization were similar, while fluoroquinolone use and a nonnasal strain-positive wound were independent predictors of the loss of MSSA colonization. These results suggest that fluoroquinolone use shortens the MSSA colonization duration, but fluoroquinolone use is also a risk factor for MRSA acquisition (19); therefore, it is essential that they be prescribed with caution in health care facilities. Finally, because a longer duration of colonization has important implications for infection control policies and patient care and may be associated with an increased risk of infection, further research on the natural history of nasal and extranasal *S. aureus* colonization and on this bacterium's fitness is needed.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the other members of the ASAR Study Group (A. S. Alvarez, P. Azouvi, C. Bernède-Bauduin, I. Bertucci, F. Delmer, P. Denys, C. Dupont, O. Le Minor, C. Ligier, A. Petit, J. G. Previnaire, L. Remy, T. Sorel, and P. Tronchet), all the health care workers who participated in the study, J. O'Quigley, P. Saint Pierre, L. Watier, E. Cécilia-Joseph, S. Escolano, and F. Leroy for their statistical advice, and GenoScreen (Lille, France) for *spa* typing of the strains. We also thank Janet Jacobson for editorial assistance.

This work was supported by the French Clinical Research Program (grant number AOR06009) and by a grant from the Institut Pasteur. C.C. received a Ph.D. fellowship from the Direction Générale de l'Armement (DGA, 2012-2015) and the École des Hautes Études en Santé Publique. This study has received funding from the French Government's Investissement d'Avenir program, Laboratoire d'Excellence, Integrative Biology of Emerging Infectious Diseases (grant number ANR-10-LABX-62-IBEID).

We report no conflicts of interest.

REFERENCES

- Williams REO. 1963. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev* 27:56–71.
- McKinnell JA, Huang SS, Eells SJ, Cui E, Miller LG. 2013. Quantifying the impact of extranasal testing of body sites for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at the time of hospital or intensive care unit admission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 34:161–170. <http://dx.doi.org/10.1086/669095>.
- von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. 2001. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med* 344:11–16. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200101043440102>.
- Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 5:751–762. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70295-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70295-4).
- Nouwen JL, Fieren MW, Snijders S, Verbrugh HA, van Belkum A. 2005. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int* 67:1084–1092. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00174.x>.
- Datta R, Huang SS. 2008. Risk of infection and death due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term carriers. *Clin Infect Dis* 47:176–181. <http://dx.doi.org/10.1086/589241>.
- Aeilts GD, Sapico FL, Canawati HN, Malik GM, Montgomerie JZ. 1982. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization and infection in a rehabilitation facility. *J Clin Microbiol* 16:218–223.
- Haverkate MR, Derde LP, Brun-Buisson C, Bonten MJ, Bootsma MC. 2014. Duration of colonization with antimicrobial-resistant bacteria after ICU discharge. *Intensive Care Med* 40:564–571. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-014-3225-8>.
- Larsson AK, Gustafsson E, Nilsson AC, Odenholt I, Ringberg H, Melander E. 2011. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization after diagnosis: a four-year experience from southern Sweden. *Scand J Infect Dis* 43:456–462. <http://dx.doi.org/10.3109/00365548.2011.562530>.
- Lucet JC, Paoletti X, Demontpion C, Degraeve M, Vanjak D, Vincent C, Andreumont A, Jarlier V, Mentre F, Nicolas-Chanoine MH, Staphylococcus aureus Resistant a la Meticilline en Hospitalisation a Domicile (SARM HAD) Study Group. 2009. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in home care settings: prevalence, duration, and transmission to household members. *Arch Intern Med* 169:1372–1378. <http://dx.doi.org/10.1001/archinternmed.2009.217>.
- Marschall J, Muhlemann K. 2006. Duration of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage, according to risk factors for acquisition. *Infect Control Hosp Epidemiol* 27:1206–1212. <http://dx.doi.org/10.1086/507917>.
- Mattner F, Biertz F, Ziesing S, Gastmeier P, Chaberny IF. 2010. Long-term persistence of MRSA in re-admitted patients. *Infection* 38:363–371. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-010-0038-8>.
- Sanford MD, Widmer AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. 1994. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 19:1123–1128. <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/19.6.1123>.
- Scanvic A, Denic L, Gaillon S, Giry P, Andreumont A, Lucet JC. 2001. Duration of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after hospital discharge and risk factors for prolonged carriage. *Clin Infect Dis* 32:1393–1398. <http://dx.doi.org/10.1086/320151>.
- Vriens MR, Blok HE, Gigengack-Baars AC, Mascini EM, van der Werken C, Verhoef J, Troelstra A. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among patients after hospital discharge. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26:629–633. <http://dx.doi.org/10.1086/502592>.
- Shenoy ES, Paras ML, Noubary F, Walensky RP, Hooper DC. 2014. Natural history of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE): a systematic review. *BMC Infect Dis* 14:177. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-177>.
- Harbarth S, Liassine N, Dharan S, Herrault P, Auckenthaler R, Pittet D. 2000. Risk factors for persistent carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 31:1380–1385. <http://dx.doi.org/10.1086/317484>.
- Alexander EL, Morgan DJ, Kesh S, Weisenberg SA, Zaleskas JM, Kaltsas A, Chevalier JM, Silberzweig J, Barron Y, Mediavilla JR, Kreiswirth BN, Rhee KY. 2011. Prevalence, persistence, and microbiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage among hemodialysis outpatients at a major New York hospital. *Diagn Microbiol Infect Dis* 70:37–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.005>.
- Couderc C, Jolivet S, Thiébaud ACM, Ligier C, Remy L, Alvarez AS, Lawrence C, Salomon J, Herrmann JL, Guillemot D, Antibiotic Use and *Staphylococcus aureus* Resistant to Antibiotics (ASAR) Study Group. 2014. Fluoroquinolone use is a risk factor for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in long-term care facilities: a nested case-control study. *Clin Infect Dis* 59:206–215. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciu236>.

20. Alvarez AS, Remy L, Allix-Beguec C, Ligier C, Dupont C, Le Minor O, Lawrence C, Supply P, Guillemot D, Gaillard JL, Salomon J, Herrmann JL. 2014. Patient nostril microbial flora: individual-dependency and diversity precluding prediction of *Staphylococcus aureus* acquisition. *Clin Microbiol Infect* 20:70–78. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12208>.
21. Cox DR. 1972. Regression models and life-tables. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 34:187–220.
22. Amorim LD, Cai J. 2015. Modelling recurrent events: a tutorial for analysis in epidemiology. *Int J Epidemiol* 44:324–333. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyu222>.
23. Hertz-Picciotto I, Rockhill B. 1997. Validity and efficiency of approximation methods for tied survival times in Cox regression. *Biometrics* 53: 1151–1156. <http://dx.doi.org/10.2307/2533573>.
24. Ender M, McCallum N, Adhikari R, Berger-Bachi B. 2004. Fitness cost of SCCmec and methicillin resistance levels in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 48:2295–2297. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.6.2295-2297.2004>.
25. Bjorkman J, Nagaev I, Berg OG, Hughes D, Andersson DI. 2000. Effects of environment on compensatory mutations to ameliorate costs of antibiotic resistance. *Science* 287:1479–1482. <http://dx.doi.org/10.1126/science.287.5457.1479>.
26. Dall'Antonia M, Coen PG, Wilks M, Whiley A, Millar M. 2005. Competition between methicillin-sensitive and -resistant *Staphylococcus aureus* in the anterior nares. *J Hosp Infect* 61:62–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2005.01.008>.
27. Huang SS, Datta R, Rifas-Shiman S, Kleinman K, Placzek H, Lankiewicz JD, Platt R. 2011. Colonization with antibiotic-susceptible strains protects against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* but not vancomycin-resistant enterococci acquisition: a nested case-control study. *Crit Care* 15:R210. <http://dx.doi.org/10.1186/cc10445>.
28. Krebes J, Al-Ghusein H, Feasey N, Breathnach A, Lindsay JA. 2011. Are nasal carriers of *Staphylococcus aureus* more likely to become colonized or infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to a hospital? *J Clin Microbiol* 49:430–432. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02039-10>.
29. Landelle C, Iten A, Uckay I, Sax H, Camus V, Cohen G, Renzi G, Schrenzel J, Pittet D, Perrier A, Harbarth S. 2014. Does colonization with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* protect against nosocomial acquisition of methicillin-resistant *S. aureus*? *Infect Control Hosp Epidemiol* 35:527–533. <http://dx.doi.org/10.1086/675825>.
30. Rogers C, Sharma A, Rimland D, Stafford C, Jernigan J, Satola S, Crispell E, Gaynes R. 2014. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an acute care facility: a study to assess epidemiologic features. *Am J Infect Control* 42:249–253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2013.09.008>.
31. Cluzet VC, Gerber JS, Nachamkin I, Metlay JP, Zaoutis TE, Davis MF, Julian KG, Royer D, Linkin DR, Coffin SE, Margolis DJ, Hollander JE, Mistry RD, Gavin LJ, Tolomeo P, Wise JA, Wheeler MK, Bilker WB, Han X, Hu B, Fishman NO, Lautenbach E. 2015. Duration of colonization and determinants of earlier clearance of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 60:1489–1496. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/civ075>.
32. Hooper DC. 2002. Fluoroquinolone resistance among Gram-positive cocci. *Lancet Infect Dis* 2:530–538. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(02\)00369-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(02)00369-9).
33. Almeida GC, dos Santos MM, Lima NG, Cidral TA, Melo MC, Lima KC. 2014. Prevalence and factors associated with wound colonization by *Staphylococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* in hospitalized patients in inland northeastern Brazil: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis* 14: 328. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-328>.
34. Bessa LJ, Fazio P, Di Giulio M, Cellini L. 2015. Bacterial isolates from infected wounds and their antibiotic susceptibility pattern: some remarks about wound infection. *Int Wound J* 12:47–52. <http://dx.doi.org/10.1111/iwj.12049>.
35. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR. 2010. The human nasal microbiota and *Staphylococcus aureus* carriage. *PLoS One* 5:e10598. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0010598>.
36. MacKinnon MM, Allen KD. 2000. Long-term MRSA carriage in hospital patients. *J Hosp Infect* 46:216–221. <http://dx.doi.org/10.1053/jhin.2000.0807>.
37. Robicsek A, Beaumont JL, Peterson LR. 2009. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 48:910–913. <http://dx.doi.org/10.1086/597296>.
38. van Belkum A, Verkaik NJ, de Vogel CP, Boelens HA, Verveer J, Nouwen JL, Verbrugh HA, Wertheim HF. 2009. Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis* 199:1820–1826. <http://dx.doi.org/10.1086/599119>.