

Journal pré-épreuve

Analyse comparative des protocoles d'assainissement de surface sur les structures des communautés bactériennes en milieu hospitalier

Tilman E. Klassert, Cristina Zubiria-Barrera, Robert Neubert, Magdalena Stock, Antony Schneegans, Mercedes López, Dominik Driesch, Gregor Zakonsky, Petra Gastmeier, Hortense Slevogt, Rasmus Leistner

IIP : S1198-743X(22)00109-4

EST CE QUE JE: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.02.032>

Référence: CMI 2859

Apparaître dans: ***Microbiologie clinique et infection***

Date de réception : 20 août 2021

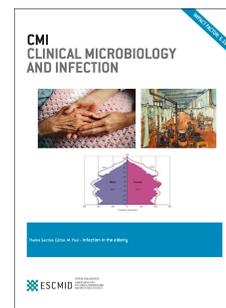
Date de révision : 10 février 2022

Date d'acceptation : 20 février 2022

Veillez citer cet article comme suit : Klassert TE, Zubiria-Barrera C, Neubert R, Stock M, Schneegans A, López M, Driesch D, Zakonsky G, Gastmeier P, Slevogt H, Leistner R, Comparative analysis of surface sanitization protocols on the bacterial les structures communautaires en milieu hospitalier, *Microbiologie clinique et infection*, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.02.032>.

Il s'agit d'un fichier PDF d'un article qui a subi des améliorations après acceptation, telles que l'ajout d'une page de couverture et de métadonnées, et la mise en forme pour la lisibilité, mais ce n'est pas encore la version définitive de l'enregistrement. Cette version fera l'objet d'une révision, d'une composition et d'une révision supplémentaires avant d'être publiée dans sa forme finale, mais nous fournissons cette version pour donner une première visibilité à l'article. Veuillez noter que, pendant le processus de production, des erreurs peuvent être découvertes qui pourraient affecter le contenu, et toutes les clauses de non-responsabilité qui s'appliquent à la revue s'appliquent.

© 2022 Le(s) Auteur(s). Publié par Elsevier Ltd pour le compte de la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses.



Analyse comparative des protocoles d'assainissement de surface sur les structures des communautés bactériennes en milieu hospitalier

Tilman E. Klassert^{1*}, Cristina Zubiria-Barrera¹, Robert Neubert¹, Madeleine Stock¹, Antony Schneegans¹, Mercedes Lopez², Dominik Driesch³, Gregor Zakonski⁴, Petra Gastmeier⁵, Hortense Slevogt^{1,6 †}, Rasmus Leistner^{5 †}

1)Hôpital universitaire d'Iéna, ZIK Septomics, Host Septomics, Iéna, Allemagne

2)Institut universitaire des maladies tropicales et de la santé publique des îles Canaries, Université de La Laguna, Espagne

3)BioControl Jena GmbH, Iéna, Allemagne

4)Charité CFM Facility Management GmbH, Berlin, Allemagne

5)Institut d'hygiène et de médecine environnementale, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Allemagne

6)Département de médecine respiratoire, Medizinische Hochschule Hannover, Allemagne

*Auteur correspondant : Tilman E Klassert, Hôpital universitaire de Jena, ZIK Septomics, Host Septomics, Jena, Allemagne.

Adresse e-mail : Tilman.Klassert@med.uni-jena.com (T. Klassert)

†Contribué à parts égales

Journal Pre-proof

ABSTRAIT

Objectifs: En hygiène hospitalière, on ne sait toujours pas dans quelle mesure la contamination de surface pourrait représenter un réservoir potentiel d'agents pathogènes nosocomiaux. Cette étude examine les effets des différentes stratégies d'assainissement sur les structures microbiennes et l'environnement équilibré du microbiome environnemental en milieu clinique.

Méthodes : Trois régimes de nettoyage (désinfectants, détergents et probiotiques) ont été appliqués ensuite dans 9 chambres de patients indépendantes dans un service de neurologie (Charité, Berlin).

Les procédures d'échantillonnage hebdomadaires comprenaient 3 sites environnementaux différents : sol, poignée de porte et couler. Caractérisation du microbiote environnemental et détection de la résistance aux antibiotiques (ARG) ont été réalisées par *ARNr 16S* séquençage et tests multiplex Taq-Man qPCR, respectivement.

Résultats: Nos résultats ont montré un déplacement du microbiote environnemental intrinsèque après assainissement probiotique, qui a atteint une signification statistique dans les échantillons d'évier (médiane 16S-copies d'ARNr = 138,3 ; IQR : 24,39-379,5) par rapport aux mesures de désinfection traditionnelles (Copies médianes d'ARNr 16S = 1343 ; IQR : 330,9-9479 ; $p < 0,05$). Cet effet était concomitant avec une augmentation significative des métriques de diversité alpha à la fois dans le plancher ($p < 0,001$) et dans le couler des échantillons ($p < 0,01$) au cours de la stratégie probiotique. Nous n'avons pas observé d'assainissement-changement dépendant de l'abondance relative des agents pathogènes sur tout site testé, mais une réduction du nombre total d'ARG dans les échantillons d'évier lors du nettoyage probiotique (moyenne ARGs/échantillon : $0,095 \pm 0,067$) par rapport à la stratégie de désinfection (moyenne ARG/échantillon : $0,386 \pm 0,116$; $p < 0,01$).

Conclusion : Les données présentées dans cette étude suggèrent la désinfection probiotique comme stratégie intéressante dans la gestion de l'hygiène hospitalière à approfondir et à valider dans des études cliniques randomisées.

INTRODUCTION

Les infections nosocomiales (IAS) restent l'un des principaux défis des soins de santé dans le monde (1). En Europe, une incidence annuelle de 3 millions d'IAS conduit à plus de décès dans les hôpitaux de soins que toutes les autres maladies infectieuses sous surveillance au niveau européen (1, 2).

Ce problème est encore aggravé par la montée de la multirésistance aux médicaments nosocomiaux. pathogènes, tels que les multirésistants *Staphylococcus aureus* (SARM) (2). Une médiane annuelle Le fardeau de plus de 148 000 MRSA-HAI dans l'UE/EEE entraîne plus de 7 000 décès chaque année (2).

La contamination de l'environnement hospitalier est une question très débattue en hygiène hospitalière, car elle reste à déterminer dans quelle mesure différentes surfaces pourraient représenter un réservoir potentiel pour pathogènes cliniquement pertinents et constituent une source potentielle de transmission des IAS (3-8). Ainsi, les programmes d'assainissement de l'environnement clinique sont surveillés comme des étapes essentielles pour la prévention et le contrôle des infections hospitalières (9). Cependant, les désinfectants traditionnels ont montré plusieurs limites majeures. D'un côté, ils ne sont pas efficaces contre la recontamination de la surface nettoyée, c'est-à-dire que la désinfection est très limitée dans le temps. Tel des phénomènes de recontamination ont été rapportés dès les 30 premières minutes après désinfection (10). D'autre part, les désinfectants peuvent conduire à la sélection de produits résistants. souches bactériennes, non seulement contre le désinfectant lui-même (11), mais aussi contre divers agents antimicrobiens (11-13). Ces limites se traduisent par une persistance de la contamination au fil du temps avec une augmentation concomitante des microbes résistants dans l'environnement clinique. Dans De plus, les désinfectants ont un effet dangereux sur l'environnement (14).

Ces dernières années, la « santé » des surfaces hospitalières a été repensée, portée par l'urgence besoin d'une solution efficace et durable pour l'assainissement des hôpitaux. Un nouveau concept de la santé des surfaces repose sur l'hypothèse que le remplacement des bactéries par des

les microbes pourraient être plus efficaces pour le contrôle des agents pathogènes que les mesures de désinfection (15, 16). Ainsi, une approche d'assainissement basée sur des détergents éco-durables avec des probiotiques *Bacillespores* a été récemment étudié pour son application potentielle aux soins de santé-surfaces connexes (7). Les premières études ont rapporté une amélioration significative de l'agent pathogène contrôlé sur les surfaces par rapport aux mesures de désinfection traditionnelles (17, 18). En outre, la désinfection probiotique s'est avérée sans danger pour les patients (19) et n'a pas sélectionné des souches bactériennes résistantes (7). Une étude interventionnelle multicentrique pourrait encore suggérer l'efficacité clinique de cette approche, car l'utilisation de la désinfection probiotique traduit par une diminution significative des infections nosocomiales (8).

Bien que les bénéfices de ces stratégies probiotiques aient été démontrés, il n'est pas encore clair dans quelle mesure l'inoculation massive d'espèces bactériennes particulières affecte la structure et l'équilibre écologique de l'environnement. De plus, la composition du microbiome environnemental sur différentes stratégies d'assainissement n'a pas été étudié dans le cadre clinique. La plupart des études microbiologiques sur les stratégies de contrôle des infections ont reposent sur des méthodes dépendantes de la culture, qui ne sont pas capables de couvrir toute la diversité des microbiote environnemental (20). Dans cette étude, nous avons utilisé *ARNr 16S* séquençage des gènes approches pour caractériser le microbiote bactérien sur différentes surfaces de l'hôpital environnement. Les données longitudinales ont ensuite été soumises à des comparaisons complètes entre différentes stratégies d'assainissement (désinfectants, détergents et probiotiques) pour mesurer leur effet potentiel sur les structures de la communauté microbienne et sur l'incidence de déterminants de la résistance aux antibiotiques dans le microbiome hospitalier.

MÉTHODES

Conception de l'étude et collecte d'échantillons

Cette étude a été conçue pour étudier l'impact de trois protocoles de désinfection différents sur le microbiome environnemental d'un service de neurologie à la Charité – Universitätsmedizin Berlin. Les régimes de nettoyage suivants ont été appliqués par la suite pendant des périodes de 3 mois chacun : désinfectants, détergents et probiotiques (les détails sont présentés dans Suppl. Fig. S1). Les surfaces ont été nettoyées quotidiennement avec des produits spécifiques : Inclin Pro 0,5% (ECOLAB) pour désinfection; Brial Top 0,5% (ECOLAB) comme détergent ; et *Bacilles*-contenant des détergents 0,5% (CHRISAL) en tant que probiotiques (voir suppl. Tableau S1 pour les détails de la souche). L'échantillonnage microbien a été effectué une fois par semaine dans 9 chambres de patients indépendantes et inclus 3 différents sites environnementaux et matériaux de surface : sol (linoléum), poignée de porte (acier) et évier (céramique). L'échantillonnage du matériel patient comprenait des écouvillons nasaux et rectaux. Tous les patients ont donné leur consentement éclairé écrit conformément à la Déclaration d'Helsinki et à l'éthique locale commission (Ethikausschuss Campus Charité – Mitte ; agrément EA1/387/16).

Extraction d'ADN et *ARNr 16S* quantification des gènes

L'ADN de tous les échantillons a été extrait avec le kit innuPrep Bacteria DNA + Lysis Booster (Analytik Jena, Allemagne) en suivant les instructions du fabricant. Cette ADN validée la méthode d'extraction (21) sans procédures de lyse mécanique a été choisie afin de minimiser l'impact de l'extrinsèque *Bacilles* spores contenues dans les produits probiotiques (voir suppl. figure S2). De cette façon, le microbiome environnemental "intrinsèque" pourrait être caractérisé de manière comparable entre les trois protocoles de désinfection. La biomasse bactérienne dans le

échantillons a été mesuré par quantification de la *ARNr 16S* copies de gènes à l'aide d'une approche qPCR comme décrit ailleurs (21). Des méthodes détaillées peuvent être trouvées dans le matériel supplémentaire.

ARNr 16S séquençage d'amplicon de gène

La construction de la bibliothèque et le séquençage ont été effectués comme décrit ailleurs (21, 22, 23).

Les fichiers Fastq résultants ont été démultiplexés avec les scripts QIIME v1.9.1 (24) et filtrés pour le élimination des contaminants potentiels comme décrit ailleurs (21, 25). Affectation taxonomique a été réalisée à l'aide de la base de données SILVA REF NR 99 (version 132) (26). Cooccurrence des analyses de réseau pour mesurer les interactions non aléatoires entre les bactéries ont été réalisées avec le logiciel SparCC v.0.1.0 (27). Le statut de pathogénicité de la bactérie a été défini dans conformément à leur référence dans les bases de données KEGG Pathogens et ISID (voir aussi suppl. Tableau S2). Les ensembles de données générés pour cette étude sont disponibles dans la base de données SRA sous le nom numéro d'accès : PRJNA774945 [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA774945>].

Détection du gène de résistance aux antibiotiques (ARG)

La présence de 12 ARG (tableau suppl. S3) conférant une résistance aux bêta-lactamines, aux quinolones ou polymyxines a été analysée tout au long de l'étude. Déterminants suivants ont été adressés : *blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA48*, *blaVIM*, *blaCMY*, *blaGES*, *blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTX-M1*, *qnrB1*, *mcr1etmeca*. Pour leur détection, des tests Taq-Man multiplex personnalisés ont été réalisées comme décrit précédemment (21).

Statistiques

Toutes les analyses comparatives (tests ANOVA, Permanova et Kruskal-Wallis) entre la désinfection les protocoles ciblaient uniquement les 7 dernières semaines de chaque régime de nettoyage afin de permettre au microbiote pour s'adapter aux différents produits d'assainissement pendant les 6 premières semaines après

changement de régime. Cette période a été choisie sur la base d'observations antérieures de dynamique du microbiote environnemental (21). Des analyses statistiques et des présentations graphiques ont été réalisées à l'aide de GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, États-Unis). Tests statistiques et paramétrages sont détaillés dans le matériel supplémentaire.

RÉSULTATS

Impact des protocoles d'assainissement de surface sur les structures de la communauté bactérienne

La charge bactérienne a été quantifiée sur les différents sites environnementaux à l'aide de *ARNr 16S* PCR. En accord avec nos découvertes précédentes (21), les échantillons d'évier ont montré le taux bactérien le plus élevé charge, suivi de la poignée de porte. La biomasse la plus faible a été détectée au sol (Suppl. Fig. S3). Lorsque la biomasse bactérienne a été comparée entre différents régimes de nettoyage, une légère diminution du microbiote intrinsèque a été observée après des mesures d'assainissement probiotiques (voir suppl. Tableau S4). Cet effet était le plus prononcé dans les échantillons d'éviers nettoyés avec des probiotiques (Copies médianes d'ARNr 16S = 152,3 ; IQR : 24,38-379,5), atteignant une signification statistique lorsque par rapport aux puits lors de la désinfection traditionnelle (copies médianes d'ARNr 16S = 1343 ; IQR : 330.9-9479 ; $p < 0,05$; figure 1A). Dans une étape suivante, nous avons analysé si la dépendance à l'assainissement la variabilité de la biomasse était associée à des changements structurels des communautés microbiennes. Le l'analyse au niveau de la classe n'a révélé qu'une variation limitée de la composition de la communauté les semaines et les blocs de régime de lavage. En général, les structures communautaires étaient très spécifique au site et cohérent dans le temps (Fig. 1B). Le sol était dominé par *Moraxellacée*, les échantillons de poignée de porte par *Entérobactéries* et *Staphylococcie*, et l'évier par *Streptococcées* et *Veillonellacées* (figure 1B). Cependant, l'analyse de la diversité alpha ont révélé des différences significatives dans les indices de Shannon associés à la communauté entre différentes stratégies de désinfection. Le protocole de désinfection a conduit aux valeurs de diversité les plus faibles

du microbiote environnemental sur les trois sites testés. La stratégie probiotique a montré la plus grande diversité au sol et dans l'évier, qui a été considérablement augmentée en comparaison à la stratégie de désinfection ($p < 0,005$ et $p < 0,01$, respectivement ; Fig. 2A). A la poignée de porte, les protocoles probiotiques et détergents ont montré une diversité accrue, bien que seulement ce dernier a atteint une signification statistique par rapport à la désinfection conventionnelle mesurée ($p < 0,05$; Fig. 2A). Les différences observées ont été confirmées par les résultats obtenus après des comparaisons par paires des métriques de diversité bêta dans un espace PCoA (Fig. 2B). Les analyses Permanova ont révélé des différences dans la distribution PCoA entre les stratégies de désinfection, en particulier entre les échantillons traités au désinfectant et les échantillons traités aux probiotiques, comme indiqué par une ségrégation importante sur les trois surfaces testées (Permanova ; $p < 0,001$ pour le sol et la poignée de porte, $p < 0,01$ pour les échantillons de lavabo). En revanche, les échantillons des patients qui occupent les chambres testées n'ont pas montré de stratification significative entre les différents régimes de nettoyage (Suppl. Fig. S4). Ainsi, les métriques de diversité alpha et bêta suggèrent un impact significatif du protocole de désinfection sur les structures de la communauté bactérienne dans le milieu hospitalier. Afin d'approfondir spécifiquement ces différences, des analyses plus poussées à un niveau taxonomique inférieur ont été réalisées.

Effet sélectif des stratégies d'assainissement sur des taxons bactériens spécifiques

Au niveau du genre, les taxons les plus représentatifs sur chaque type de surface n'ont pas changé de manière significative dans différentes stratégies de désinfection (Fig. 3A). Le test de Kruskal-Wallis a ensuite été appliqué sur les données d'abondance relative pour détecter ces taxons avec des différences significatives entre les régimes de nettoyage (suppl. Tableau S5). Les taxons significativement modifiés sont illustrés à la figure 3B. Ceux-ci comprenaient, entre autres, une abondance réduite de *Pseudomonas* sur toutes les surfaces testées lors du nettoyage probiotique, et une augmentation de

Anaérococcus observé dans des échantillons de poignées de porte et d'évier au cours de la même stratégie de désinfection (Fig. 3B). Dans l'ensemble, il y avait une quantité très limitée de taxons montrant des changements significatifs entre les régimes de nettoyage. De plus, les structures globales de la communauté bactérienne n'ont pas changer considérablement d'une stratégie d'assainissement à l'autre, tel que mesuré par les analyses de réseau et leurs coefficients de regroupement et indices de modularité associés (Suppl. Fig. S5).

Pour déterminer si l'abondance relative d'agents pathogènes spécifiques a changé différentes stratégies de désinfection, les données de séquençage ont été analysées à l'aide de la sous-classification option genre implémentée dans la base de données SILVA. Seuls 3 agents pathogènes fréquents (présents dans plus de 20 % des échantillons) ont pu être identifiés dans les données de séquençage au niveau de l'espèce : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Escherichia coli*. Cependant, nous ne pouvions détecter tout changement significatif de leur abondance relative entre les différents nettoyages régimes (Suppl. Fig. S6).

Influence des régimes de nettoyage sur la diffusion de l'ARG

Conformément à notre étude précédente (21), les quantités les plus élevées de résistance aux antibiotiques des déterminants ont été détectés dans les échantillons de sol. Cette observation était constante dans tous 9 chambres testées (Suppl. Fig. S7). Au total, 9 des ARG ont été détectés dans l'un des échantillons testé. Parmi ces ARG, *mecAa* été omniprésent sur toutes les surfaces. D'autres ARG étaient principalement détecté sur un type de surface spécifique, tel que *blaVIMetblaNDM* au sol et *blaCMY* dans les échantillons d'évier (Fig 4A). Lorsque l'occurrence ARG a été comparée entre différents régimes de désinfection, une réduction significative du nombre d'ARG a été observée dans le couler les échantillons pendant les probiotiques (ARG moyens/échantillon : $0,095 \pm 0,067$) et les détergents (moyenne ARG/échantillon : $0,127 \pm 0,037$) stratégies de désinfection par rapport à la désinfection stratégie (ARG moyens/échantillon : $0,386 \pm 0,116$; $p < 0,01$; Fig. 4B). C'était particulièrement frappant

pendant le protocole probiotique, car 7 des 9 chambres analysées n'ont montré la présence d'aucun de l'ARG testé pendant cette fenêtre de désinfection particulière. Lorsque chaque ARG spécifique l'incidence a été analysée indépendamment, des différences significatives entre les régimes de nettoyage n'ont été détectés que pour *mecA* (Suppl. figure S8). Par rapport à la désinfection conventionnelle mesures, l'approche probiotique a permis de réduire *mecA* sur toutes les surfaces, atteignant signification statistique sur les échantillons de puits (Fig. 4C). Tel que mesuré par des prélèvements rectaux et nasaux, la réduction dépendante du nettoyage probiotique des ARG dans l'environnement n'était que partiellement détecté dans des échantillons de patients et n'a pas atteint une signification statistique entre la désinfection protocoles (Suppl. Fig. S9).

DISCUSSION

Cette étude caractérise de manière exhaustive les changements de composition du microbiome dans l'environnement clinique selon différents protocoles de désinfection. Dans l'ensemble, le microbiome des structures communautaires du milieu hospitalier ont été stables pendant toute la durée de l'étude, les taxons les plus représentatifs de chaque type de surface sont restés inchangés à travers les différents protocoles de désinfection. Seuls les genres mineurs ont modifié leur abondance relative entre différents régimes de nettoyage, et ceux-ci n'incluaient aucun des trois plus abondants pathogènes détectés dans cette étude. Cependant, nos résultats ont montré que la stratégie probiotique conduit à un déplacement de la biomasse absolue du microbiote intrinsèque et à une augmentation de ses métriques de diversité alpha. Ces effets ont atteint une signification statistique dans la majorité des échantillons des pièces testées. De plus, nos données ont montré une réduction significative de la charge totale d'ARG dans les échantillons d'évier pendant le nettoyage probiotique par rapport à stratégies de désinfection traditionnelles. En particulier la prévalence de *mecA* pourrait être significative réduite lors de l'application de protocoles de nettoyage probiotiques.

Le concept d'utilisation de micro-organismes non pathogènes pour contrecarrer la croissance d'autres espèces bactériennes a été introduit il y a plus de dix ans et baptisé « biocontrôle » (28). Tandis que l'efficacité des probiotiques chez les patients gravement malades n'est pas concluante (29), son application à l'eau des systèmes (30) ou des fermes d'élevage (31) ont été signalés comme réussis. Ces dernières années, plusieurs "in vitro" et des études interventionnelles ont suggéré son application en milieu hospitalier comme alternative prometteuse aux mesures de désinfection (8, 18), et a signalé son utilisation comme sans danger pour les malades (19). Cependant, l'impact de telles mesures de lutte biologique sur les structures microbiennes et l'équilibre écologique de l'environnement hospitalier n'avait pas encore été analysé jusqu'à présent. Nos résultats sur le déplacement médié par les probiotiques du microbiote environnemental intrinsèque par *Espèces de Bacillus*. sont conformes aux mécanismes *in vitro* étudiés montrant une réduction sélective de taxons spécifiques basés sur le principe d'exclusion compétitive (18, 32). En conséquence d'un tel déplacement, la quantité absolue de taxons bactériens spécifiques, y compris les agents pathogènes potentiels, pourraient être réduites et remplacées par des bactéries non pathogènes. Alors que l'intrinsèque absolu biomasse microbienne est diminuée, notre étude montre que la structure de la communauté et les abondances relatives de ses membres restent pour la plupart inchangées. Par ailleurs, la communauté la condition physique n'a pas changé de manière significative selon les différentes stratégies de nettoyage, comme l'a évalué analyses de réseau. On pourrait supposer cependant que l'augmentation de la biodiversité sur le nettoyage probiotique pourrait se traduire par une meilleure résilience de l'environnement écosystèmes (33).

Parmi les taxons qui ont montré une variation significative entre les régimes de nettoyage, *Pseudomonas* et *Anaérocoque* étaient les genres les plus abondants. En général, *Anaérocoque* sont principalement commensaux du microbiome humain (34), tandis que le genre *Pseudomonas* comprend plusieurs espèces pathogènes et opportunistes (35). Fait intéressant, lorsque l'on compare différents

fenêtres de désinfection, *Anaérococquea* montrée la présence la plus élevée lors du nettoyage probiotique, pendant que *Pseudomonas* était le plus important lors de la désinfection. Cela pourrait être associé à la capacité déclarée de *Espèces de Pseudomonas*. s'adapter et développer une résistance à divers désinfectants (36, 37). Cependant, dans cette étude, nous n'avons pas détecté de désinfection significative. L'augmentation dépendante des abondances relatives d'agents pathogènes lors du dépistage des données de séquençage à niveau des espèces. Fait intéressant, la recherche de déterminants spécifiques de la résistance aux antibiotiques a permis l'identification de la *mecA* gène aussi significativement réduit dans l'environnement clinique après traitement probiotique. Ce gène est responsable de la résistance à la méthicilline et largement diffusé dans *S. aureus* populations (38). La réduction de *mecA* peut être partiellement expliquée par le principe d'exclusion compétitive déclenché par les probiotiques, car la réduction de la biomasse dans les échantillons de puits pourrait également se traduire par une diminution du total *S. aureus* compte et donc en corrélation avec la réduction *mecA* détection dans ces échantillons.

Notre étude présente certaines limites, notamment l'incapacité de faire la distinction entre le vivant et bactéries mortes et une quantité limitée d'ARG qui ont été testés. De plus, les données ont été générées à partir d'un service d'un seul centre de santé.

Les données présentées dans cette étude suggèrent la désinfection probiotique comme stratégie intéressante dans la gestion de l'hygiène hospitalière et devrait être analysée plus en détail dans des études multicentriques plus vastes. De plus, des études cliniques randomisées avec comme point final les infections nosocomiales sont nécessaires pour valider davantage l'impact de nos observations.

DÉCLARATION DE TRANSPARENCE

Les auteurs D. Driesch et G. Zakonsky ont été employés par les sociétés BioControl Jena GmbH et Charité CFM Facility Management GmbH, respectivement. Prof. Dr H. Slevogt rapporte des subventions et des contrats de/avec Gerbion, fzmb GmbH, BioControl GmbH et Viromed, tous sans rapport avec le travail soumis. Les autres auteurs déclarent que la recherche a été menée en l'absence de toute relation commerciale ou financière pourrait être interprété comme un conflit d'intérêts potentiel.

LE FINANCEMENT

Ce projet a été soutenu par le ministère fédéral de l'Éducation et des Sciences (Bundesministerium für Bildung und Forschung) dans le cadre d'InfectControl 2020 (Projet KARMIN - 03Z0818C) et une bourse de la Jürgen Manchot Stiftung à RN.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Moira Stark, Elke Lemke, Jennifer Golembus, Solvy Wolke et Ignacio R. Zubiria Pineda pour leur excellente assistance technique. Ce travail fera partie du doctorat thèse de CZB.

ACCÈS AUX DONNÉES

Les jeux de données générés pour cette étude sont disponibles dans la base de données SRA [Bioproject PRJNA774945; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/PRJNA774945>].

CONTRIBUTION

TEK, RL, PG et HS ont conçu et conçu l'étude et les expériences. TEK et CZB ont écrit le manuscrit. TEK, CZB, RN, AS et ML ont réalisé les expériences. TEK, CZB, MS, PG et HS a analysé les données. PG, GZ, HS et RL ont coordonné la collecte des échantillons à la Charité (Berlin). Tous les auteurs ont révisé et édité le manuscrit. Tous les auteurs ont contribué à la article et approuvé la version soumise.

RÉFÉRENCES

1. Carl Suetens SH, Jana Kolman, Liselotte Diaz Högberg. Enquête de prévalence ponctuelle des soins de santé infections associées et utilisation d'antimicrobiens dans les hôpitaux européens de soins aigus. Rapport de surveillance de l'ECDC <https://www.ecdc.europa.eu/en> ; 2013
2. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Décès attribuables et années de vie ajustées sur l'incapacité causés par des infections à bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'UE et l'Espace économique européen en 2015 : une analyse de modélisation au niveau de la population. *Les maladies infectieuses du Lancet*. 2019;19(1):56-66.
3. Allerberger F, Ayliffe G, Bassetti M, Braveny I, Bucher A, Damani N, et al. Désinfection de routine des surfaces dans les établissements de santé : faut-il le faire ? *Am J Infect Control*. 2002;30(5):318-9.
4. Otter JA, Yezli S, French GL. Le rôle joué par les surfaces contaminées dans la transmission des agents pathogènes nosocomiaux. *Contrôle des infections et épidémiologie hospitalière*. 2011;32(7):687-99.
5. Squeri R, Grillo O, La Fauci V. Surveillance et preuves de contamination en milieu hospitalier par des agents microbiens résistants à la méticilline et à la vancomycine. *J prev med hyg*. 2012;53(3):143-5.
6. Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. Le rôle de l'environnement de surface dans les infections associées aux soins de santé. *Opinion actuelle sur les maladies infectieuses*. 2013;26(4):338-44.
7. Caselli E, D'Accolti M, Vandini A, Lanzoni L, Camerada MT, Coccagna M, et al. Impact d'une intervention de nettoyage à base de probiotiques sur l'écosystème du microbiote des surfaces hospitalières : focus sur la remodulation du résistome. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148857.
8. Caselli E, Brusaferrero S, Coccagna M, Arnoldo L, Berlotti F, Antonioli P, et al. Réduction de l'incidence des infections nosocomiales par un système d'assainissement à base de probiotiques : étude d'intervention multicentrique, prospective. *PLoS One*. 2018;13(7):e0199616.
9. Danseur SJ. Comment évaluons-nous le nettoyage des hôpitaux ? Une proposition de normes microbiologiques pour l'hygiène des surfaces dans les hôpitaux. *Journal des infections hospitalières*. 2004;56(1):10-5.
10. D'Accolti M, Soffritti I, Mazzacane S, Caselli E. Lutte contre la RAM dans l'environnement des soins de santé : approches d'assainissement basées sur le microbiome et outils de surveillance. *Revue internationale des sciences moléculaires*. 2019;20(7):1535.
11. Bock L, Wand M, Sutton J. Activité variable des désinfectants à base de chlorhexidine contre les isolats cliniques de *Klebsiella pneumoniae* et les souches adaptées. *Journal des infections hospitalières*. 2016;93(1):42-8.
12. Baguette ME, Bock L, Bonney LC, Sutton JM. Mécanismes de résistance accrue à la chlorhexidine et de résistance croisée à la colistine suite à l'exposition d'isolats cliniques de *Klebsiella pneumoniae* à la chlorhexidine. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*. 2017;61(1):e01162-16.
13. Mahnert A, Moissl-Eichinger C, Zojer M, Bogumil D, Mizrahi I, Rattei T, et al. Résistances microbiennes d'origine humaine dans les environnements bâtis. *Communication naturelle*. 2019;10(1):1-12.
14. Kümmerer K. Médicaments dans l'environnement : émission de médicaments, d'aides au diagnostic et de désinfectants dans les eaux usées par les hôpitaux par rapport à d'autres sources – une revue. *Chimiosphère*. 2001;45(6-7):957-69.
15. Al-Ghalith GA, Knights D. Focus : Médecine personnalisée : Bygiene : Le nouveau paradigme de l'hygiène bidirectionnelle. *Le journal Yale de biologie et de médecine*. 2015;88(4):359.
16. Pettigrew MM, Johnson JK, Harris AD. Le microbiote humain : nouvelles cibles pour les infections nosocomiales et la résistance aux antibiotiques. *Annales d'épidémiologie*. 2016;26(5):342-7.
17. Vandini A, Temmerman R, Frabetti A, Caselli E, Antonioli P, Balboni PG, et al. Biocontrollo delle Superfici in Ospedali che utilizzano Prodotti Pulenti a Base Microbica.
18. Fauci VI, Costa G, Anastasi F, Facciola A, Grillo O, Squeri R. Une approche innovante de la désinfection hospitalière à l'aide de probiotiques : essais in vitro et sur le terrain. *Tourillon de technologie microbienne et biochimique*. 2015;7(3):160-4.
19. Caselli E, Antonioli P, Mazzacane S. Sécurité des probiotiques utilisés pour l'assainissement de l'environnement hospitalier. *J Hosp Infect*. 2016;94(2):193-4.

20. Lax S, Gilbert JA. Microbiote nosocomial et implications pour les infections nosocomiales. *Tendances de la médecine moléculaire*. 2015;21(7):427-32.
21. Klassert TE, Leistner R, Zubiria-Barrera C, Stock M, López M, Neubert R, et al. Dynamique de la colonisation bactérienne et dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier après la première occupation : une étude métagénomique longitudinale. *Microbiome*. 2021;9(1):1-17.
22. Klassert TE, Zubiria-Barrera C, Kankel S, Stock M, Neubert R, Lorenzo-Diaz F, et al. Colonisation bactérienne précoce et acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques chez les nouveau-nés. *Frontières en microbiologie cellulaire et infectieuse*. 2020;10:332.
23. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, et al. Analyse de la communauté microbienne à très haut débit sur les plateformes Illumina HiSeq et MiSeq. *La revue ISME*. 2012;6(8):1621-4.
24. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME permet l'analyse de données de séquençage communautaire à haut débit. *Méthodes naturelles*. 2010;7(5):335-6.
25. Zubiria-Barrera C, Stock M, Neubert R, Vester A, Kulle A, Schneegans A, et al. Une méthode de filtrage simple basée sur la séquence pour l'élimination des contaminants dans les approches de séquençage des amplicons d'ARNr 16S à faible biomasse. *Tourillon des méthodes microbiologiques*. 2020;178:106060.
26. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. Le projet de base de données de gènes d'ARN ribosomal SILVA : amélioration du traitement des données et des outils Web. *Recherche sur les acides nucléiques*. 2012;41(D1):D590-D6.
27. Friedman J, Alm EJ. Inférer des réseaux de corrélation à partir de données d'enquête génomique. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(9):e1002687. doi : 10.1371/journal.pcbi.1002687.
28. Falagas ME, Makris GC. Bactéries probiotiques et biosurfactants pour le contrôle des infections nosocomiales : une hypothèse. *Journal des infections hospitalières*. 2009;71(4):301-6.
29. Oudhuis GJ, Bergmans DC, Verbon A. Probiotiques pour la prévention des infections nosocomiales : efficacité et effets indésirables. *Opinion actuelle en soins intensifs*. 2011;17(5):487-92.
30. Temmerman R, Vervaeren H, Noseda B, Boon N, Verstraete W. Inhibition de *Legionella pneumophila* par *Bacillus* sp. *Ingénierie en sciences de la vie*. 2007;7(5):497-503.
31. Dünner B, Birrer S, Nathues C, Hässig M, Stephan R, Sidler X. Influence des probiotiques sur l'établissement d'une flore compétitive, ainsi que sur l'utilisation des antibiotiques et les paramètres de performance dans les élevages porcins. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*. 2017;159(8):429-35.
32. Stone W, Tolmay J, Tucker K, Wofsaardt GM. Désinfectant, savon ou nettoyage probiotique ? Diversité du microbiome de surface et exclusion compétitive du biofilm. *Microorganismes*. 2020;8(11):1726.
33. Xun W, Liu Y, Li W, Ren Y, Xiong W, Xu Z, Zhang N, Miao Y, Shen Q, Zhang R. Les fonctions métaboliques spécialisées des taxons clés soutiennent la stabilité du microbiome du sol. *Microbiome*. 31 janvier 2021;9(1):35. doi : 10.1186/s40168-020-00985-9.
34. Murphy EC, Frick IM. Cocci anaérobies à Gram positif-commensaux et pathogènes opportunistes. *Examens de microbiologie FEMS*. 2013;37(4):520-53.
35. Silby M, Winstanley C, Godfrey S.C, Levy, SB et Jackson. RW (2011).". Génomes de *Pseudomonas* : diversité et adaptabilité *FEMS Microbiol Rev*.35(4):652-80.
36. Tong C, Hu H, Chen G, Li Z, Li A, Zhang J. Les désinfectants chlorés favorisent la résistance microbienne chez *Pseudomonas* sp. *Recherche environnementale*. 2021;199:111296.
37. Sagripanti JL, Bonifacino A. Résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux désinfectants liquides sur les surfaces contaminées avant la formation de biofilms. *Journal de l'AOAC International*. 2000;83(6):1415-22.
38. Wielders C, Fluit A, Brisse S, Verhoef J, Schmitz F. Le gène *mecA* est largement diffusé dans la population de *Staphylococcus aureus*. *Journal de microbiologie clinique*. 2002;40(11):3970-5.

LÉGENDES DES FIGURES

Figure 1.- Analyse quantitative et compositionnelle des communautés bactériennes du sol, de la poignée de porte et de l'évier lors de différentes stratégies d'assainissement.

A) Analyse quantitative de la biomasse bactérienne à travers différents régimes de nettoyage (DIS=désinfectants ; DET=détergents ; PRO=probiotiques). Montrés sont les *ARNr 16S* copies de gènes dans chaque échantillon (médiane \pm IQR ; * $p < 0,05$). B) Résumé taxonomique des changements de composition de chaque site environnemental après différents protocoles d'assainissement. L'abondance relative des principaux taxons effondrés ($> 0,5\%$) au niveau de la famille est indiquée pour chaque semaine.

Figure 2.- Métriques de diversité du microbiote environnemental selon différentes stratégies d'assainissement.

A) Alpha-diversité de chaque site environnemental après différentes stratégies d'assainissement. L'indice de Shannon est illustré (Moyenne \pm SEM, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, ANOVA). B) Analyse des coordonnées principales de la diversité bêta à l'aide de distances Unifrac pondérées. Sont présentées des comparaisons par paires entre différentes stratégies de désinfection. La signification statistique a été calculée par Permanova (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,01$).

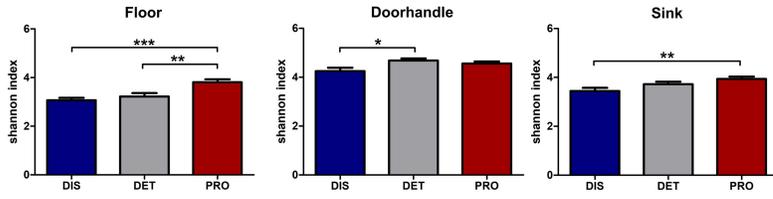
Figure 3.- Abondance relative de taxons bactériens spécifiques après différentes stratégies de désinfection.

A) L'abondance relative change avec le temps des genres les plus abondants. La taille des bulles représente l'abondance proportionnelle dans différentes stratégies de désinfection. B) La dynamique de l'abondance relative des taxons supérieurs a considérablement changé (au niveau du genre, avec une abondance relative $> 0,5\%$) dans les différents régimes de nettoyage.

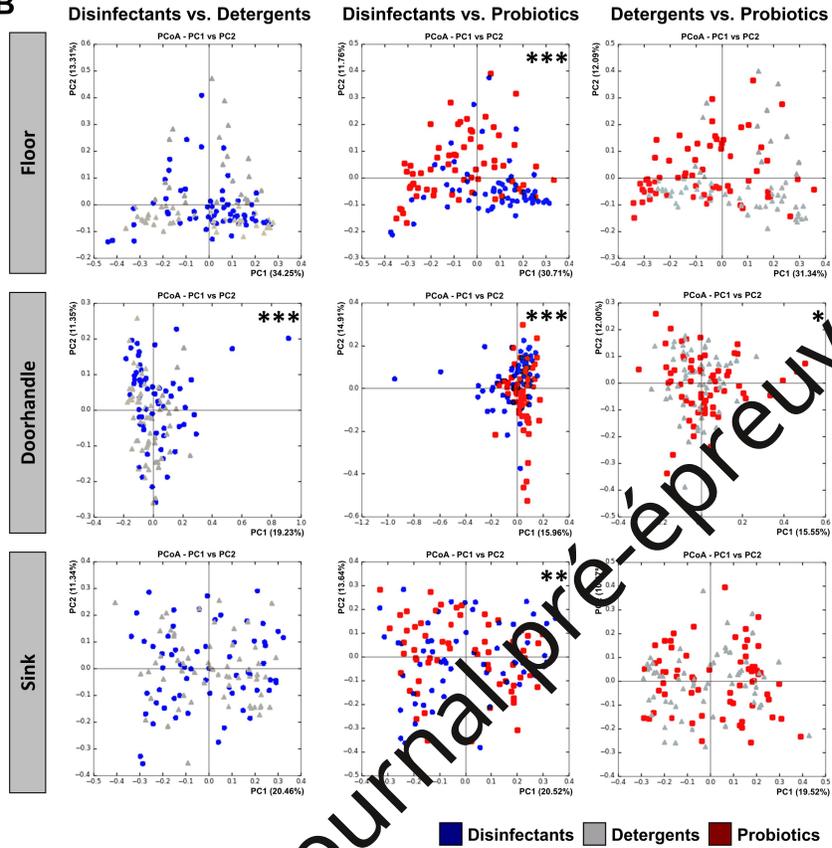
Figure 4.- Détection d'ARG en milieu hospitalier après différents protocoles de désinfection.

A) Diagramme à barres illustrant l'expression ARG dans tous les échantillons environnementaux analysés. Les barres représentent le pourcentage d'échantillons avec une détection ARG positive. B) détection ARG à travers différentes stratégies de désinfection. Les nombres moyens d'ARG détectés dans chacune des 9 pièces analysées au cours des différentes fenêtres de désinfection sont indiqués. C) Graphique illustrant le pourcentage de positifs *mecA* échantillons détectés lors de chaque régime de nettoyage sur chaque site environnemental.

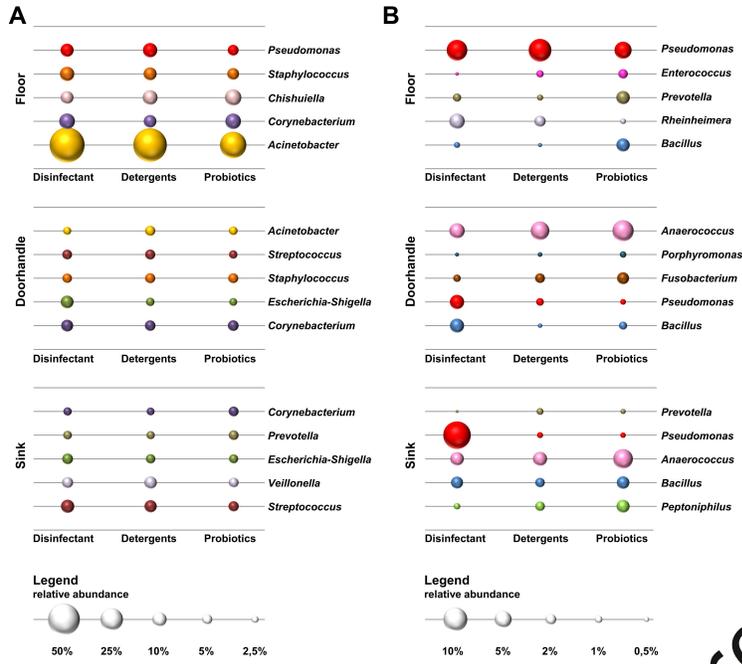
A



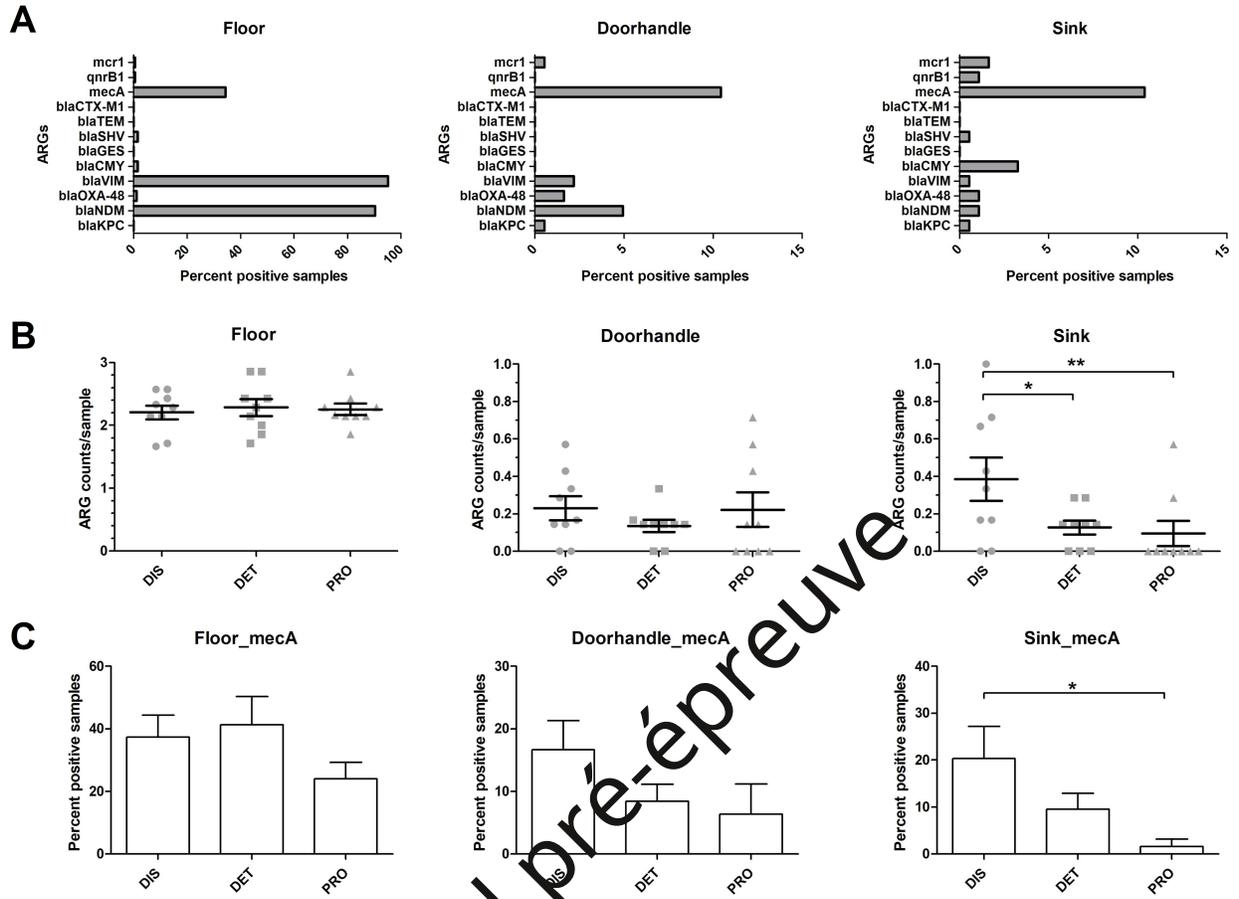
B



Journal pré-épreuve



Journal pré-épreuve



Journal Pré-épreuve