

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



# THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

## DOCTORAT

Spécialité : Génomique microbienne.

Par

**Saadi Somia**

Thème :

---

*Application de la génomique pour l'analyse des communautés bactériennes  
présentes dans quelques hôpitaux à Chlef*

---

Soutenue le 22 / 09 /2025, devant le jury composé de :

BEKARA Mohamed El Amine	MCA	Université de Chlef	Président
ALLEM Rachida	Professeur	Université de Chlef	Rapporteur
BOUAZZ Belaid	Professeur	Université de Tizi-Ouzou	Examinateur
KHAMES Mammar	Professeur	Université de Médéa	Examinateur
ZIANI Mouna	MCA	Université de Chlef	Examinatrice
SETTI Benali	Professeur	Université de Chlef	Examinateur
SEBAIHIA Mohammed	Professeur	Université de Chlef	Invité

## REMERCIEMENTS

---

**J**e tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse. Ce travail n'aurait pas pu voir le jour sans leur soutien et leurs encouragements.

Tout d'abord, je remercie chaleureusement ma directrice de thèse, Professeur ALLEM Rachida, pour sa guidance, ses conseils avisés et sa patience tout au long de ce parcours. Ses encouragements et sa rigueur scientifique ont été essentiels à la réalisation de cette recherche.

Mes remerciements s'adressent également aux membres de jury:

**Dr. BEKARA** Mohamed El Amine Maitre de conférences à l'université de Chlef, qui me fait l'honneur d'être le président de jury de ma thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

**Pr. BOUAZZA** Belaid professeur à l'université de Tizi-Ouzou d'avoir accepté de consacrer votre temps à cette thèse. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

**Pr. KHAMES** Mammam professeur à l'université de Médéa, pour avoir accepté la lourde tâche de lire ce manuscrit et d'examiner mon travail.

**Pr. SETTI** Benali Professeur à l'université de Chlef, d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez recevoir mes sincères remerciements.

**Dr. ZIANI** Mouna Maitre de conférence et à l'université de Chlef, d'avoir accepté de juger ce travail. Recevez ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour vos qualités scientifiques et humaines.

**Pr. SEBAIHIA** Mohammed Professeur à l'université de Chlef et Laboratoire de Biologie Moléculaire, Génomique et Bioinformatique. Veuillez recevoir mes remerciements.

Je suis également reconnaissant envers Dr. Merouane A, Pr Aichouni A, Pr.Bakkali M pour leur soutien précieux.

Je remercie mes amis et collègues pour leur amitié, leur soutien moral et les moments de convivialité qui ont été des bouffées d'oxygène durant ces années de travail intense.

Je remercie également mes parents, mon mari, mon frère et mes sœurs pour leurs encouragements et conseils qui m'ont soutenu pendant tous mon cursus académique. Enfin, je remercie toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de cette thèse et dont je n'ai pas pu mentionner le nom ici.

Merci à tous.

Les infections nosocomiales constituent un problème majeur de santé publique en Algérie, notamment à Chlef, où la contamination des surfaces hospitalières joue un rôle clé dans leur propagation. L'objectif de cette étude était de caractériser la communauté bactérienne présente dans les environnements hospitaliers. L'étude de cette contamination a été menée entre novembre 2016 et mars 2018 à l'EPH Sœur Badj (SB) et l'EPH Frère Khelif (FKH) sur 384 échantillons prélevés sur des surfaces souvent négligées lors du nettoyage quotidien (lits d'hospitalisation, téléphones de service, appareillage médical et poignées de porte). L'analyse microbiologique a conduit à l'isolement de 281 souches bactériennes (108 à SB et 173 à FKH), confirmées par le séquençage de l'ARN 16S. La contamination bactérienne a atteint 33,92 % à SB et 52,90 % à FKH, avec une prévalence élevée pour les lits (47,22 % à SB et 43,93 % à FKH), suivie par l'appareillage médical (31,48 % à SB et 32,95 % à FKH). Les Enterobacteriaceae dominaient (42,59 % à SB et 93,88 % à FKH), avec *E.coli* comme espèce la plus fréquente (10,40 % à SB et 11,11 % à FKH). Les Staphylococcus représentaient 32,40 % des isolats à SB et 34,10 % à FKH, dont *S.aureus* (12,72 % à SB et 15,74 % à FKH). Les bactéries non fermentaires étaient également présentes en proportions similaires dans les deux hôpitaux (19,44 % à SB et 19,07 % à FKH). L'analyse statistique ( $\chi^2 = 12,000$  ;  $p = 0,213$ ) a révélé que la répartition bactérienne sur les différentes surfaces échantillonnées n'était pas significativement différente. Les tests d'antibiogramme ont mis en évidence une résistance élevée des Staphylococcus à la pénicilline G (78,72 %) et à l'ampicilline (61,70 %). Les Enterobacteriaceae présentaient des taux de résistance alarmants à la pipéracilline (80 % à SB et 100 % à FKH), bien qu'elles restent totalement sensibles à l'imipénème (100 %). Ces résultats soulignent l'urgence de renforcer l'hygiène hospitalière, d'améliorer la désinfection des surfaces souvent négligées et d'instaurer une surveillance microbiologique rigoureuse pour limiter la dissémination des bactéries multirésistantes.

**Mots clés:** Surfaces hospitalières, communauté bactérienne, infections nosocomiales, identification biochimique, séquençage d'ARN16S, antibiogramme.

تشكل العدوى المرتبطة بالمستشفيات مشكلة صحية عامة كبرى في الجزائر، ولا سيما في الشلف، حيث تلعب الأسطح الملوثة في المستشفيات دورًا رئيسيًا في انتشارها. وتمثل الهدف من هذه الدراسة في توصيف المجتمع البكتيري الموجود في البيئات الاستشفائية وقد تم إجراء دراسة حول هذه الأسطح الملوثة ما بين نوفمبر 2016 ومارس 2018 على مستوى المؤسسة العمومية الاستشفائية الأخت بادجي (SB) والمؤسسة العمومية الاستشفائية الأخ خليف (FKH)، وشملت 384 عينة مأخوذة من أسطح غالبًا ما تُهمل أثناء التنظيف اليومي (أسرة الاستشفاء، هواتف الخدمة، الأجهزة الطبية، ومقابض الأبواب).

أدت التحاليل الميكروبيولوجية إلى عزل 281 سلالة بكتيرية 108 في SB و 173 في FKH، تم تأكيدها بواسطة تسلسل ARN 16S. بلغت نسبة التلوث البكتيري 33,92% في SB و 52,90% في FKH، مع انتشار كبير على مستوى الأسرة 47,22% في SB و 43,93% في FKH، تليها الأجهزة الطبية 31,48% في SB و 32,95% في FKH.

كانت Enterobacteriaceae هي الطائفة المهيمنة (42,59% في SB و 93,88% في FKH)، مع اعتبار *E.coli* النوع الأكثر شيوعًا 10,40% في SB و 11,11% في FKH مثلت Staphylococcus نسبة 32,40% من العزلات في SB و 34,10% في FKH، من بينها 12,72% *S. aureus* في SB و 15,74% في FKH كما تم تسجيل وجود بكتيريا غير مخمرة بنسب متقاربة في كلا المؤسستين (19,44% في SB و 19,07% في FKH).

أظهر التحليل الإحصائي ( $\chi^2 = 12,000$ ) ؛ ( $p = 0,213$ ) أن توزيع البكتيريا على الأسطح المختلفة لم يكن ذا دلالة إحصائية كبيرة. أما اختبارات التحسس للمضادات الحيوية فقد أظهرت مقاومة عالية لدى Staphylococcus تجاه Pénicilline G (78,72%) و Ampicilline (61,70%) أما Enterobacteriaceae فقد أظهرت نسب مقاومة مثيرة للقلق تجاه Piperacilline (80% في SB و 100% في FKH)، لكنها ظلت حساسة تمامًا تجاه Imipénème (100%).

تُبرز هذه النتائج الحاجة الملحة لتعزيز النظافة في المستشفيات، وتحسين عمليات تطهير الأسطح التي تُهمل غالبًا، ووضع نظام صارم للرقابة الميكروبيولوجية للحد من انتشار البكتيريا المتعددة المقاومة.

**الكلمات المفتاحية:** الأسطح الاستشفائية، المجتمع البكتيري، العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية، التعرف البيوكيميائي، تسلسل rRNA 16 S، مقاومة المضادات الحيوية.

Nosocomial infections are a major public health concern in Algeria, particularly in Chlef, where contaminated surfaces play a crucial role in their spread. This study aimed to characterize the bacterial community present in hospital environments. Between November 2016 and March 2018, a study was conducted in EPH Sœur Badj (SB) and EPH Frère Khelif (FKH) to analyze 384 samples taken from surfaces often neglected during daily cleaning, including hospital beds, service phones, medical equipment, and door handles. Microbiological analysis led to the isolation of 281 bacterial strains (108 in SB and 173 in FKH), whose identities were confirmed using 16S rRNA sequencing. The results showed a high contamination rate of 33.92% in SB and 52.90% in FKH, with hospital beds being the most contaminated surfaces (47.22% in SB and 43.93% in FKH), followed by medical equipment (31.48% in SB and 32.95% in FKH). The most dominant bacterial family was Enterobacteriaceae, representing 42.59% in SB and 93.88% in FKH, with *E.coli* being the most frequently isolated species (10.40% in SB and 11.11% in FKH). Staphylococcus was also highly prevalent (32.40% in SB and 34.10% in FKH), with *S. aureus* showing the highest pathogenic potential (12.72% in SB and 15.74% in FKH). Non-fermenting bacteria were present in similar proportions in both hospitals (19.44% in SB and 19.07% in FKH), highlighting their significant presence on hospital surfaces. Statistical analysis using SPSS indicated no significant differences in bacterial distribution across the sampled surfaces ( $\chi^2 = 12.000$ ,  $p = 0.213$ ), suggesting homogeneous contamination in both hospitals. Antibiotic resistance testing revealed high resistance levels in Staphylococcus to penicillin G (78.72%) and ampicillin (61.70%), while Enterobacteriaceae showed extreme resistance to piperacillin (80% in SB and 100% in FKH) but remained fully sensitive to imipenem (100%). These findings emphasize the urgent need to reinforce hospital hygiene protocols, improve the disinfection of neglected surfaces, and establish strict microbiological monitoring to curb the spread of multidrug-resistant bacteria and enhance patient safety.

**Key words:** Hospital surfaces, bacterial community, nosocomial infections, biochemical identification, 16S rRNA sequencing, antibiotic resistance.

**Remerciment**

**Résumé**

**ملخص**

**Abstract**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

**Introduction générale** ..... 1

## **Synthèse bibliographique**

I. Environnement hospitalier	6
1. Définition	6
2. Contamination de l'environnement par les microorganismes	6
2.1 Air	7
2.2 Eau	8
2.3 Surface	9
3. L'environnement hospitalier, un réservoir potentiel des microorganismes impliqués dans les IN	10
II. Les infections nosocomiales	11
1. Définition:	11
2. Modes de contamination	12
3. Facteurs favorisant les infections associées aux soins	14
4. Types d'infections nosocomiales:	15
4.1 Infections urinaires:	16
4.2 Infections des voies urinaires associées au cathéter	16
4.3 Infections du site opératoire	16
4.4 Infections pulmonaires nosocomiales	16

## TABLE DE MATIERE

---

4.5 Septicémies .....	17
5. Les pathogènes responsables des IN .....	18
5.1 Bactéries .....	18
5.1.1 Classification des bactéries en milieu hospitalier .....	20
5.1.2 Les différents types de bactéries .....	21
5.2 Parasites .....	25
5.3 Champignons .....	25
5.4 Virus .....	26
6. Les résistances aux antibiotiques .....	29
7. Impact économique des IN .....	33
7.1 Différents coûts engendrés par les IN .....	34
7.1.1 Coût direct .....	34
7.1.2 Coût de la prévention .....	35
7.1.3 Coût indirect .....	37
7.1.4 Coût intangible .....	37
7.2 Estimation des coûts des infections nosocomiales en Algérie .....	37
7.3 Les obstacles entravant la lutte contre les IN en Algérie .....	38
8. Les méthodes d'identification microbienne .....	40
8.1 Historique .....	40
8.2 Méthodes d'identification basées sur les milieux chromogènes .....	41
8.3 Caractérisation phénotypique basée sur la morphologie, la physiologie, la chimie et les caractéristiques biochimiques (culture dépendante) .....	41
8.4 Microscopie .....	43
8.5 Spectrométrie de masse .....	43
8.6 Les méthodes moléculaires .....	44
8.6.1 16S rRNA PCR-Sequencing .....	44
8.6.2 Real-Time PCR .....	46

8.6.3 Random Amplification of Polymorphic DNA–RAPD-PCR .....	47
8.6.4 Restriction Fragment Length Polymorphism–RFLP .....	47
8.6.5 Amplified Fragment Length Polymorphism–AFLP .....	48
8.6.6 Pulsed-Field Gel Electrophoresis–PFGE .....	49
8.6.7 Whole-Genome Sequencing (WGS).....	50
8.6.8 La métagénomique .....	51

**Partie expérimentale**

<b>I. Matériel et méthodes .....</b>	<b>53</b>
1. Présentation des lieux d'étude .....	54
1.1 Hôpital Sœurs Badj .....	54
1.2 Hôpital Frères Khelif .....	54
2. Méthodologie .....	55
2.1 Échantillonnage .....	55
2.2 Analyse au laboratoire .....	60
2.2.1 Caractérisation microbiologique .....	60
2.2.1.1 Isolement et purification des souches .....	60
2.2.1.2 Identification bactérienne.....	60
2.2.1.3 Antibiogramme des souches isolées .....	62
2.2.2 Identification moléculaire .....	64
2.2.2.1 Extraction d'ADN .....	65
2.2.2.2 Amplification PCR.....	67
2.2.2.3 Electrophorèse de l'ADN .....	67
2.2.2.4 Purification des produits de la PCR .....	67
2.2.2.5 Séquençage du gène de l'ARNr 16S .....	68
2.2.2.6 Analyses bioinformatique .....	71
2.3 Conservation des souches.....	73
2.4 Analyses statistiques .....	72

## TABLE DE MATIERE

---

<b>II. Résultats et discussion</b> .....	74
1. Isolement et identification des souches isolées dans les deux hôpitaux .....	75
2. Caractérisation biochimique .....	75
2.1 Staphylococcus .....	78
2.2 Les Enterobacteriaceae .....	82
2.3 Les bactéries non fermentaires (NFGNB) .....	87
2.4 Les <i>Bacillus spp</i> .....	90
3. Caractérisation moléculaire .....	91
4. Répartition des contaminants dans les deux hôpitaux FKH et SB .....	99
4.1 Selon les surfaces hospitalières étudiée .....	99
4.2 Selon les souches identifiées .....	102
4.3 La comparaison entre les deux hôpitaux .....	105
5. Analyse statistique .....	105
6. La sensibilité aux antibiotiques .....	105
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	117
<b>Références bibliographiques</b> .....	120
<b>Productions scientifiques</b> .....	145
<b>ANNEXES</b> .....	146

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 1:</b> Infections nosocomiales d'origine endogène. ....	13
<b>Figure 2:</b> Infections nosocomiales d'origine exogène. ....	14
<b>Figure 3:</b> Prévalence des pathogènes responsables d'infections nosocomiales. ....	19
<b>Figure 4:</b> Processus d'adhésion et de croissance des bactéries en biofilm sur une surface hospitalière. ....	20
<b>Figure 5:</b> la distribution des régions variable et hyper-variables, ainsi que des régions conservées, du gène de l'ARN 16S. ....	45
<b>Figure 6 :</b> Présentation de deux lignes de la méthode moléculaire Metagénomique. ....	52
<b>Figure 7 :</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de lits d'hospitalisation. ....	57
<b>Figure 8 :</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de téléphone de service. ....	57
<b>Figure 9 :</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de poignée de porte. ....	58
<b>Figure 10:</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de générateur d'hémodialyse. ....	58
<b>Figure 11:</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de la table chauffante de bébé. ....	59
<b>Figure 12:</b> Écouvillonnage en stries sur la surface de pouce seringue. ....	59
<b>Figure 13 :</b> Capture d'écran de la grille d'identification API20 E. ....	62
<b>Figure 14 :</b> Différences structurelles entre dNTP et ddNTP. ....	69
<b>Figure 15:</b> Schéma récapitulatif des étapes de séquençage selon la méthode de Sanger. ....	70
<b>Figure 16 :</b> Distribution des GNB and GPB isolées dans les deux hôpitaux. ....	76
<b>Figure 17 :</b> Aspect de la galerie API Staph, inoculée par la souche SXX1 après l'incubation à une température 30°C pendant 24 heures. ....	76
<b>Figure 18 :</b> Une capture d'écran montrant l'affichage de l'onglet d'identification de la souche SXX1 par le logiciel Galerie web. ....	77
<b>Figure 19 :</b> La distribution des groupes bactériens identifiés dans les deux hôpitaux. ....	78
<b>Figure 20:</b> Profil d'électrophorèse des produits amplifiés des isolats testés par PCR sur gel d'agarose 1% avec les amorces F27, R1429. ....	92
<b>Figure 21:</b> Profil électrophorèse des produits amplifiés des isolats testés par PCR sur gel d'agarose 1% avec les amorces F27, R1429. ....	93
<b>Figure 22:</b> Chromatogramme de la séquence codant pour le gène de l'ARNr 16S des souches ECS11. ....	94
<b>Figure 23:</b> Résultats d'alignement pair de la souche SMK3 par BLAST avec les bases de données. ....	97
<b>Figure 24:</b> Résultats d'alignement pair de la souche PZK5 par BLAST avec les bases de données. ....	99
<b>Figure 25:</b> Répartition des souches en fonction des surfaces sélectionnées. ....	101

## LISTE DES FIGURES

---

<b>Figure 26:</b> Fréquence des souches identifiées à partir des prélèvements de surface dans l'hôpital FKH. ....	103
<b>Figure 27:</b> Fréquence des souches identifiées à partir des prélèvements de surface dans l'hôpital SB. ....	103
<b>Figure 28 :</b> Résultats d'antibiogramme de la souche <i>A.baumannii</i> ABS8.....	113

## LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau 1:</b> Les pathogènes les plus fréquemment isolés dans les infections nosocomiales, selon le type d'infection et la région. ....	28
<b>Tableau 2:</b> Déterminants de résistance aux aminosides et aux quinolones identifiés en Algérie .....	32
<b>Tableau 3:</b> Le coût des produits d'hygiène utilisés dans le cadre de la prévention (DA) .....	36
<b>Tableau 4 :</b> Les caractéristiques comparatives entre les trois approches de marqueurs moléculaires. RFLP, RAPD, AFLP .....	49
<b>Tableau 5:</b> Les services cliniques et médico-techniques dans l'Hôpital SB .....	54
<b>Tableau 6:</b> Les services cliniques et médico-techniques dans l'Hôpital FKH .....	55
<b>Tableau 7:</b> Récapitulation des données relatives aux prélèvements dans l'Hôpital FKH .....	56
<b>Tableau 8 :</b> Récapitulation des données relatives aux prélèvements dans l'Hôpital SB .....	56
<b>Tableau 9:</b> les types de galeries utilisées selon les différents groupes bactériens .....	61
<b>Tableau 10:</b> Liste des antibiotiques testés sur les Entérobactéries et les Pseudomonas spp. ...	63
<b>Tableau 11 :</b> Liste des antibiotiques testés sur Acinetobacter spp .....	63
<b>Tableau 12:</b> Liste des antibiotiques testé sur Staphylococcus spp. ....	64
<b>Tableau 13:</b> Liste des antibiotiques testés sur les Bacillus spp. ....	64
<b>Tableau 14:</b> Le programme thermique de la PCR réalisée. ....	66
<b>Tableau 15:</b> Les réactifs utilisés pour la PCR Big Dye .....	70
<b>Tableau 16:</b> Le programme thermique de la PCR Big Dye réalisée .....	71
<b>Tableau 17:</b> Répartition des staphylocoques sur les surfaces hospitalières EPH FKH .....	79
<b>Tableau 18:</b> Répartition des staphylocoques sur les surfaces hospitalières dans EPH SB. ....	79
<b>Tableau 19 :</b> Répartition des entérobactéries sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH. .	83
<b>Tableau 20:</b> Répartition des entérobactéries sur les surfaces hospitalières dans EPH SB. ....	84
<b>Tableau 21 :</b> Répartition des NFGNB sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH. ....	88
<b>Tableau 22:</b> Répartition des NFGNB sur les surfaces hospitalières dans EPH SB. ....	89
<b>Tableau 23:</b> Répartition des bacillus sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH. ....	90
<b>Tableau 24:</b> Répartition des bacillus sur les surfaces hospitalières dans EPH SB. ....	91
<b>Tableau 25:</b> Les concentrations des extraits d'ADN des souches isolées. ....	91
<b>Tableau 26:</b> Résultats de l'annotation des souches par BLAST, taux de similitude et valeur E .....	95
<b>Tableau 27:</b> Représentation des résultats de résistances aux d différentes antibiotiques chez les isolats du genre Saphylococcus. ....	108
<b>Tableau 28:</b> Représentation des résultats de l'antibiogramme des différentes souches de Pseudomonas et Enterobacteries .....	111

## LISTE DES TABLEAUX

---

**Tableau 29:** Représentation des résultats de l'antibiogramme des souches de *A.baumannii* .....  
.....114

**Tableau 30:** Représentation des résultats de l'antibiogramme des souches de *Bacillus ssp.*114

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

- **ADN** : Acide DésoxyriboNucléique
- **AFLP** : Amplified Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de Longueur des Fragments Amplifiés)
- **AK** : Amikacin
- **AMP** : Ampicilline
- **API** : Analytical Profile Index (Profil Analytique Indexé)
- **ARN** : Acide RiboNucléique
- **AST** : Antimicrobial Susceptibility Testing (Test de Sensibilité aux Antimicrobiens)
- **ATM** : Aztréonam
- **BLAST** : Basic Local Alignment Search Tool
- **BLSE** : Bêta-Lactamase à Spectre Élargi
- **C.T.S** : Centre de Transfusion Sanguine
- **CAUTI** : Catheter-Associated Urinary Tract Infections (Infections des voies urinaires associées au cathéter)
- **CAZ** : Ceftazidime
- **CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire
- **CIP** : Ciprofloxacine
- **CL** : Colistine
- **CLIN** : Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales
- **CLUSTAL X** : Outil de comparaison et d'alignement de séquences multiples
- **CTX** : Céfotaxime
- **CX** : Cefoxitin
- **CX** : Cefoxitin
- **DA** : Dinar Algérien
- **dATP** : Désoxyadénosine Triphosphate
- **dCTP** : Désoxycytidine Triphosphate
- **ddATP** : Dideoxyadénosine Triphosphate
- **ddCTP** : Dideoxycytidine Triphosphate
- **ddGTP** : Dideoxyguanosine Triphosphate
- **ddTTP** : Dideoxythymidine Triphosphate
- **dGTP** : Désoxyguanosine Triphosphate
- **DM** : Dispositif Médical
- **dNTP** : Désoxyribonucléotides Triphosphates
- **dTTP** : Désoxythymidine Triphosphate

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

- **EHS** : Établissement Hospitalier Spécialisé
- **EIA** : Techniques Immunoenzymatiques
- **ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- **EPH** : Établissement Public Hospitalier
- **EPH FKH** : Établissement Public Hospitalier Frère Khélif
- **EPH SB** : Établissement Public Hospitalier Sœur Badj
- **ERV** : Entérocoques Résistants à la Vancomycine
- **ESI** : Electrospray Ionization (Ionisation par Électrospray)
- **FKH** : Frère Khélif (Nom d'un hôpital)
- **GC** : Chromatographie en Phase Gazeuse
- **GEN** : Gentamicine
- **GIT** : Tractus Gastro-Intestinal
- **GNB** : Bactéries à Gram Négatif (Gram-Negative Bacteria)
- **GPB** : Bactéries à Gram Positif (Gram-Positive Bacteria)
- **H** : Hypervariables
- **IAS** : Infections Associées aux Soins
- **IASS** : Infections Associées aux Soins de Santé
- **IN** : Infections Nosocomiales
- **IPM** : Imipénème
- **K** : Kanamycine
- **LB Agar** : Luria-Bertani Agar (Milieu de culture bactérien)
- **LBNR** : Laboratoire de Bioresources Naturelles
- **MALDI-TOF** : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight
- **MDR** : Multi-résistance aux Médicaments
- **MgCl<sub>2</sub>** : Chlorure de Magnésium
- **MHA** : Gélose Mueller-Hinton
- **Minicolonne SV** : Minicolonne de purification des acides nucléiques
- **NCBI** : National Center for Biotechnology Information
- **NFGNB** : Bacilles Gram-Négatifs Non Fermentaires)
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- **ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie
- **OTU** : Operational Taxonomic Unit (Unité Taxonomique Opérationnelle)
- **OX** : Oxydase
- **P** : Pénicilline G

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

- **P** : Pipéracilline
- **PAVM** : Pneumonie Acquisée sous Ventilation Mécanique
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction (Réaction en Chaîne par Polymérase)
- **PED** : Pays en Développement
- **PFGE** : Pulsed-Field Gel Electrophoresis (Électrophorèse en Champ Pulsé)
- **R** : Résistant
- **RAISIN** : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales
- **RAM** : Résistance aux Antimicrobiens
- **RAPD** : Random Amplified Polymorphic DNA (ADN Polymorphe Amplifié au Hasard)
- **RDP** : Ribosomal Database Project
- **RFLP** : Restriction Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction)
- **RT-PCR** : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (PCR en temps réel avec transcription inverse)
- **S** : Sensible
- **SARM** : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méricilline
- **SB** : Sœur Badj (Nom d'un hôpital)
- **SPSS** : Statistical Package for the Social Sciences
- **SRAS-CoV-2** : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère - Coronavirus 2
- **ToB** : Tobramycine
- **U.M.C** : Urgence Médico-Chirurgicale
- **USA** : United States of America
- **USD** : United States Dollar
- **USI** : Unité de Soins Intensifs
- **V** : Variables
- **VA** Vancomycine
- **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine
- **WGS** : Whole-Genome Sequencing (Séquençage de Génome Complet)

# *Introduction générale*

Les infections nosocomiales, également connues sous le nom d'infections associées aux soins de santé (IASS), représentent une préoccupation majeure dans le domaine de la santé depuis de nombreuses années. Ces infections se manifestent généralement chez les patients pendant ou après 48 heures de leur séjour dans un établissement de santé, tels que les hôpitaux, les cliniques, les maisons de retraite et autres structures médicales **(Ducel et al., 2002; Monegro et al., 2023)**. Elles sont particulièrement redoutées en raison de leur potentiel à provoquer de graves complications, à prolonger la durée de séjour des patients jusqu'à l'engagement du pronostic vital **(Murni et al., 2013)**.

Les IASS, loin d'être un problème circonscrit à une région spécifique, transcendent les frontières nationales, affectant de manière universelle les systèmes de soins de santé. Elles représentent une menace persistante qui requiert une attention constante et des mesures de prévention efficaces. Ces infections peuvent émerger de différentes origines, témoignant de leur complexité et de leur insaisissabilité en milieu hospitalier **(Suleyman et al., 2018; Otter et al., 2020)**. Elles englobent non seulement la contamination endogène, c'est-à-dire lorsque les propres micro-organismes du patient provoquent l'infection, mais également des sources exogènes variées, parmi lesquelles figurent l'air, l'eau, les surfaces hospitalières, le matériel des soins, les dispositifs médicaux, les visiteurs et le staff médical **(Greenwood et al., 2012; Afle et al., 2019; Jose et al., 2023)**.

Les surfaces hospitalières, qui englobent un large éventail d'éléments correspondent à toutes les surfaces fréquemment utilisées par contact cutané et sont représentées, entre autres, par tous les objets de support entourant le patient tels que les étagères et barrières latérales des lits, les supports de perfusion, les accoudoirs et les chaises, mais aussi les interrupteurs et panneaux, ordinateurs ou instruments médicaux, téléphones et poignées de portes **(Boyce et al., 2007; Weber et al., 2013; Cobrado et al., 2017; Bhatta et al., 2018)**. Ces surfaces jouent un rôle crucial dans la transmission des micro-organismes infectieux, certains de ces agents pathogènes peuvent persister pendant de longues périodes pouvant aller jusqu'à plusieurs mois **(Kramer et al., 2006 ; Garcia-Cruz et al., 2012 ; Sserwadda et al., 2018 ; Afle et al., 2019)**.

En effet, ces surfaces colonisées agissent comme des réservoirs constants et des vecteurs potentiels de maladies, posant un risque pour ceux qui entrent en contact avec elles,

il s'agit d'un risque qui peut être plus ou moins important, notamment selon la nature des micro-organismes impliqués.

L'implication des surfaces environnementales dans la propagation des maladies a été soulignée à plusieurs reprises, il a été démontré qu'un patient qui réside dans une chambre d'hôpital précédemment occupée par un patient infecté court un plus grand risque de développer une infection associée à ces mêmes micro-organismes (**Otter et al., 2013; Mitchell et al., 2015**).

Les agents pathogènes responsables de ces infections comprennent particulièrement des espèces bactériennes suivies par des espèces fongiques et des virus (**Sikora et Zahra, 2023**). Les bactéries pouvant avoir une source exogène ou endogène, les infections opportunistes sont très courantes chez les patients immunodéprimés. Les bactéries multi-résistantes sont fréquemment observées dans les IASS et sont associées à une mortalité importante (**Sievert et al., 2013 ; Jernigan et al., 2020**).

L'ampleur du problème des IASS est significative à l'échelle mondiale. Chaque année, des millions de patients contractent des IASS dans les hôpitaux du monde entier, ce qui entraîne des centaines de milliers de décès (**Allegranzi et al., 2011**). Selon l'OMS en 2023, 5 % à 15 % des patients admis dans des établissements de court séjour contractent une IASS à un moment donné. Cette situation est particulièrement préoccupante dans les pays en voie de développement, où les infrastructures hospitalières peuvent être sous-financées, les normes d'hygiène moins strictes et les ressources limitées (**Murni et al., 2013; Rodríguez et al., 2017**).

La pandémie de Covid-19 a ajouté une complexité aux infections nosocomiales, La pandémie éclatée à la fin de l'année 2019, a ajouté une dimension nouvelle et urgente à la lutte contre les infections nosocomiales. Les hôpitaux ont été soumis à une pression sans précédent pour traiter les patients atteints de COVID-19, ce qui a accentué la nécessité de maintenir des environnements hospitaliers propres et sûrs. Les protocoles de nettoyage et de désinfection des surfaces ont été renforcés dans le monde entier pour prévenir la propagation du virus, soulignant ainsi l'importance cruciale des surfaces hospitalières dans la transmission des infections (**Li et al., 2021 ; Richterman et al., 2021**).

L'Algérie, en tant que pays en voie de développement, se trouve confrontée à des défis considérables dans la lutte contre les IASS. Un problème préoccupant réside dans le manque

de recherches et de données disponibles concernant la prévalence et la caractérisation des bactéries présentes sur les surfaces hospitalières du pays (**Bouguenoun et al., 2016; Zenati et al., 2016**). Cette lacune de connaissances entrave grandement la capacité de l'Algérie à mettre en place des mesures de prévention efficaces.

En effet, l'absence de données précises rend difficile l'identification des principales menaces bactériennes et l'évaluation des facteurs de risque spécifiques au contexte algérien. Cela compromet la sécurité des patients et le bien-être du personnel médical, tout en augmentant les coûts de traitement et la durée des hospitalisations.

Des mesures de prévention telles que la désinfection des surfaces et une bonne hygiène des mains peuvent jouer un rôle majeur dans l'interruption de la transmission des pathogènes liés aux soins de santé (**Weber et al., 2010; Garcia-Cruz et al., 2012; Otter et al., 2020**).

De plus, il est important de contrôler la présence de ces micro-organismes dans différentes zones des unités de soins afin d'évaluer l'efficacité des processus de désinfection (**Mehta et al., 2014; Ong et al., 2020**).

Indéniablement, la caractérisation moléculaire des pathogènes responsables des infections nosocomiales fournit des informations précieuses pour le contrôle de la contamination de l'environnement hospitalier (**Russotto et al., 2015 ; Bhatta et al., 2018**). Cependant, le degré de contribution de la contamination continue des surfaces au développement des infections associées aux soins de santé n'est pas clair et les approches de contrôle restent incertaines (**Doll et al., 2018**).

Il existe peu d'informations sur la prévalence des bactéries circulant dans les hôpitaux algériens, et très peu d'études ont exploré ce domaine (**Bouguenoun et al., 2016 ; Zenati et al., 2016**). De plus, il n'existe pas de données publiées sur la contamination des surfaces hospitalières négligées lors des procédures de nettoyage et de désinfection. À notre connaissance, cette étude pourrait être considérée comme le premier rapport traitant ce sujet dans les hôpitaux publics algériens.

Les principaux objectifs de notre travail visent à:

✓ Combler les lacunes de connaissances actuelles concernant les infections nosocomiales en Algérie,

- ✓ Déterminer la diversité bactérienne présente sur les surfaces hospitalières, d'identifier de manière phénotypique basée sur la caractérisation biochimique et la caractérisation de l'antibiorésistance des souches isolées,
- ✓ Confirmer l'identification par le séquençage du gène codant pour l'ARN ribosomale 16S.
- ✓ Evaluer l'efficacité des protocoles de nettoyage et de désinfection en place.

La démarche adoptée pour atteindre les objectifs de la thèse a nécessité l'organisation de notre manuscrit en trois chapitres :

Le premier chapitre du document comprend une revue bibliographique sur les infections nosocomiales et les techniques appliquées pour identifier les germes responsables. Ce chapitre est subdivisé en trois parties distinctes : La première partie est consacrée aux surfaces hospitalières et à leur impact sur la transmission des infections. La deuxième partie aborde les infections nosocomiales et les agents pathogènes responsables. La troisième partie expose les méthodes utilisées pour l'identification des agents nosocomiaux impliqués dans les infections.

Le deuxième chapitre concerne les spécificités du matériel et de la méthodologie adoptée pour la caractérisation de la communauté bactérienne présente sur les surfaces des hôpitaux de Chlef. Ce chapitre comprend un protocole expérimental détaillant les différentes étapes d'échantillonnage ainsi que les analyses biochimiques et moléculaires réalisées, leurs principes et démarches.

Le troisième chapitre expose les résultats obtenus et développe une discussion générale où une signification est donnée à nos résultats tout en les comparant avec ceux d'études similaires.

Enfin, une conclusion générale récapitule brièvement le cheminement de la recherche et propose des perspectives pour des recherches futures.

# *Synthèse bibliographique*

## I. Environnement hospitalier:

L'environnement hospitalier représente un danger pour les patients admis à l'hôpital. Selon Cholley et *al.* (2013), ce risque est associé d'une part à la diversité, à la richesse et à la nature des agents bactériens, fongiques et/ou viraux présents dans cet environnement, et d'autre part à la vulnérabilité des patients face à l'infection en raison de la rupture de l'intégrité cutanéomuqueuse, de l'immunodéficience secondaire à la thérapeutique ou à la maladie qui justifie l'hospitalisation, ainsi qu'à l'invasive nature des méthodes thérapeutiques et/ou diagnostiques utilisées.

### 1. Définition:

Les milieux hospitaliers sont des établissements de soins où un personnel soignant peut prendre en charge des personnes malades ou victimes de traumatismes trop complexes, pour être traités à domicile ou dans le cabinet médical (Chiaradia, 2019), mais en même temps l'hôpital est également un lieu où l'on peut contracter des maladies infectieuses (Bounab et *al.*, 2011).

L'environnement hospitalier regroupe l'eau (de réseau, et de dialyse), l'air (médical ou atmosphérique), les aliments, et toutes les surfaces inertes et vivantes qui entrent en contact avec les patients, les visiteurs ou le personnel médical dans une structure hospitalière (les mains du personnel, le linge, les déchets, les dispositifs médicaux) (Le Heurt et *al.*, 1995 ; Bosi, 2000 ; Cavallo et *al.*, 2002).

### 2. Contamination de l'environnement par les microorganismes :

Lister (1867) a démontré l'importance de la contamination de l'environnement dans le risque d'infection au bloc opératoire. En effet, il soupçonnait la présence des microbes dans les plaies chirurgicales et il a suggéré une stérilisation de l'air par dispersion de brouillard d'eau carbolique sur et autour des tables d'opération, cette stérilisation avait un effet préventif aussi bien curatif sur les infections des plaies chirurgicales (Pitt et Aubin, 2012).

D'après Barbut et Neyme (2006), la colonisation des contaminants dans le milieu hospitalier est très répandue et pour la réduire et la contrôler, des mesures contraignantes, complexes et coûteuses sont nécessaires. Cette colonisation varie qualitativement et quantitativement dans le temps et d'un établissement hospitalier à un autre et parfois au sein d'un même établissement, et aussi selon les services, les patients, les soins, le nettoyage, et les techniques pratiquées dans la structure hospitalière. De ce fait, le milieu hospitalier est décrit donc comme un réservoir d'organismes à partir duquel des infections nosocomiales peuvent se développer et être une source des phénomènes épidémiologiques (Talon, 1999).

L'environnement hospitalier est régulièrement colonisé par divers microorganismes responsables des infections nosocomiales et qui constituent de véritables niches écologiques d'origine humaine qui peuvent être issus de patients, du personnel soignant et des visiteurs (flore digestive, respiratoire, et cutanée) ou d'origine environnementale (air, eau, surface) (Astragneau et Lucet, 1998 ; Bertrou et al., 2000). Les bactéries, les virus et autres microorganismes sont présents un peu partout dans l'air, les sols, l'eau, la peau (Kahlouche, 2018).

### 2.1 Air:

L'hôpital est considéré comme un lieu où les malades et les soignants se rencontrent avec les microorganismes qu'ils portent. Il existe un risque potentiel de contamination de l'air par les microorganismes pathogènes, dans les conditions normales; l'air intervient comme vecteur de nombreux micro-organismes (bactéries, virus, moisissures et levures) et pas comme source de pathogénicité. Les germes véhiculés par l'air sont d'origine environnementale (flore saprophyte) et humaine (flore commensale humaine) (Desenclos, 2008).

La transmission de ces microorganismes se fait à l'aide des supports de différentes tailles : les poussières, les squames cutanées (dans les cas des brûlures de 3<sup>ème</sup> degré), les petites particules de salive libérées pendant la toux et les éternuements. Après quelques minutes, les grosses particules sédimentent tandis que les plus petites peuvent rester en suspension plusieurs minutes jusqu'à des heures, ou elles peuvent diffuser et pénétrer dans les

alvéoles pulmonaires des patients et de personnel médical par inhalation (**Barbut et Neyme, 2006**).

Selon la turbulence aérienne, les germes sédimentent spontanément en plusieurs heures, mais lorsque l'air de la pièce est agité (ouverture de porte et des fenêtres, aération conditionnée, mouvements des personnes), les germes sont remis en suspension (**Aliabadi et al., 2011**).

### 2.2 Eau:

La consommation d'eau dans les établissements sanitaires est particulièrement très importante, que ce soit pour boire, laver les patients, laver les mains ou rincer les équipements médicaux et le nettoyage (**Herault, 1999**).

Les risques majeurs liés à la consommation de l'eau sont infectieux, selon l'organisation \*Infection Control Today\* (**Hanlin et Myers, 2018**), les microorganismes présents dans l'eau ou colonisant les systèmes d'installation hydrique et véhiculés par les canalisations de distribution peuvent causer un effet pathologique principalement au niveau digestif et provoquent une contamination intra hospitalier, donc l'eau joue le rôle d'un réservoir émetteur et un vecteur des infections nosocomiales. Les bactéries en cause peuvent être: les bacilles à Gram négatif, *Entérocoques*, *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Yersinia enterocolitica* ainsi que des bactéries plus spécifiques de l'environnement hospitalier telles que *Clostridium difficile*, *Serratia marcescens*, et *Legionella* qui s'installe surtout dans les réservoirs d'eau chaude ainsi que la présence quasi permanente de *Pseudomonas aeruginosa* dans les siphons d'installation sanitaire (**Gavaladà et al., 2019 ;Brahimi .2020**).

Les principales causes de contamination microbiologique de l'eau en général sont liées : à la contamination initiale du réseau de distribution public, ou du réseau de distribution interne de l'hôpital ; stagnation de l'eau dans les bras morts du réseau où il y aura formation de biofilm, dans les réservoirs, et même dans certains équipements; ainsi que les travaux de maintenance effectués sur le réseau et le non-respect des règles d'hygiène (**Brahimi .2020**).

### 2.3 Surface:

Les surfaces hospitalières par définition sont toutes surfaces inertes présentes au niveau des établissements de soin pouvant être touchées par les patients, le personnel médical et les visiteurs, mobilier comme les lits hospitaliers, bureaux, chaises, les accessoires inclus les portes, les poignets, les interrupteurs, les téléphones des services, les robinets, les chariots, et le matériel médical. Plusieurs études scientifiques montrent que la colonisation des microorganismes dans les surfaces hospitalières existe et joue un rôle très important dans la transmission de nombreux pathogènes liés à l'infection nosocomiale telle que les SARMs, les *Entérocoques*, *Clostridium difficile*, les *Acinetobacters* et les norovirus (**Weber et Rutala, 2013**). La contamination de ces surfaces inertes se fait soit par contact direct par les microorganismes ou bien par sédimentation des particules en suspension dans l'air (**Lucet et Astragneau, 1998**). Il a été estimé que 40 à 60% des agents pathogènes qui causent des infections nosocomiales provenaient de la propre flore endogène du patient, et 20 à 25% sont dus à des modifications de la flore causées par l'utilisation d'antibiotiques et 20% proviennent d'autres sources environnementales (**Barbut et Neyme, 2006 ; Weber et al., 2013**).

La contamination de l'environnement est une source potentielle d'agents pathogènes pouvant être transmis par contact. Une étude a révélé que les robinets d'eau, les poignées de porte et les surfaces de travail des hôpitaux contenaient le plus grand nombre de microbes (**Tagoe et Desbordes, 2012**). L'équipement et l'environnement du patient sont des sources potentielles et doivent être maintenus propres.

La répartition de la contamination des surfaces est souvent hétérogène et dépend aux nombreux facteurs:

- a) **La nature des surfaces** : l'adhérence est en fonction de la nature du support (métal, polymère, plastique, cuivre), à la texture (lisse ou rugueuse), et l'état de la surface (usure, corrosion). Des preuves scientifiques démontrent que les surfaces contenant au moins 60% de cuivre permettent la diminution de 90% de la charge microbienne et du risque de transmission des infections nosocomiales (**Sharpe et Schmidt, 2011**).

Par exemple, le norovirus, qui provoque un grand nombre de décès due à la gastro-entérite, est rapidement détruit sur les surfaces en cuivre, alors qu'il existe encore sur les surfaces en plastique ou en acier inoxydable et continue de se diviser pendant plusieurs semaines (**Warnes et Keevil, 2013**).

Concernant la texture, Mann et *al.*, (**2014**) ont prouvé que par rapport à la surface lisse, les surfaces à micro-pattern (MP) peuvent réduire la colonisation des *Staphylococcus aureus* sensibles à la méthicilline (MSSA) et *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (MRSA).

**b) Le degré de salissure de la surface**, en particulier leur contenu en matières organiques et la qualité des désinfections et de nettoyage (**Bertrou et al., 2000**).

**c) La nature et la durée de vie des différents germes** sur une surface inerte, leur capacité d'adhérence (sécession de l'adhésine) et la formation d'un biofilm, ainsi que leur capacité à résister aux conditions défavorables par le phénomène de sporulation (**Warnes et Keevil, 2013**).

**d) La structure de microorganismes** dont la présence éventuelle d'appendices : flagelles, pilis, curlis (appendices composés de fibres flexibles), aidant à la motilité et le déplacement des bactéries sur les surfaces inanimées pendant plusieurs mois. Par exemple, les curlis ont un rôle dans l'adhésion de *E. coli* sur des surfaces inertes de toute nature et expliquent partiellement la grande capacité colonisatrice de cette bactérie (**Vidal et al., 1998**).

### **3. L'environnement hospitalier, un réservoir potentiel des microorganismes impliqués dans les IN:**

Les microorganismes qui colonisent le milieu hospitalier sont très divers d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux (**Weber et Rutala, 1997**), on trouve les bactéries, les levures, les champignons filamenteux, les virus et les parasites, et peuvent appartenir à des espèces opportunistes qui ne manifestent leur toxicité et leur virulence que pour les personnes immunodéprimées dont les défenses immunitaires sont affaiblies, ou à des espèces pathogènes strictes pour l'homme (**Bosi. 2002**).

La capacité de provoquer une infection hospitalière dépend de la virulence du germe, de sa quantité, ou sa concentration, et les modes de transmission et de contamination (hydrique, aérienne, par contact des surfaces), et surtout la réceptivité de l'hôte (son état immunitaire comme les immuno-suppresseurs, les comorbidités actives; par exemple l'âge, et la dénutrition) (Weber *et al.*, 2010).

### **II. Les infections nosocomiales:**

Les infections nosocomiales (IN) plus précisément appelées infections liées aux procédures de soins, représentent aujourd'hui une préoccupation centrale des professionnels de santé, elles représentent un problème réel de la santé publique dans le monde entier (Lemiech-Mirowsk *et al.*, 2023). Selon l'OMS (2022), chaque année, des centaines de millions de patients sont affectés par des infections nosocomiales, ce qui entraîne la mort d'un patient sur 10 parmi les patients infectés, et que dans les hôpitaux de soins aigus, sept patients sur 100 dans les pays à revenu élevé et 15 patients sur 100 dans les pays à revenu faible ou intermédiaire contractent au moins une infection nosocomiale pendant leur séjour à l'hôpital. De plus, jusqu'à 30% des patients en soins intensifs sont touchés par des infections nosocomiales, avec une incidence de deux à 20 fois plus élevée dans les pays à revenu faible ou intermédiaire que dans les pays à revenu élevé.

D'après OMS (2020), en 2019, un quart des établissements de santé n'étaient pas équipés de services d'approvisionnement en eau de base, ce qui a entraîné un risque accru d'infections pour 1.8 milliard de personnes, y compris les professionnels de santé et les patients.

#### **1. Définition:**

Les infections nosocomiales (IN), aussi appelées infections hospitalières est définie selon les recommandations du Comité du Conseil de l'Europe en 1984 et l'OMS (2002) comme toute infection acquise à l'hôpital, et qui n'était ni en incubation, ni présente à l'admission du malade, due à des micro-organismes, cliniquement et bactériologiquement identifiable, qui affecte soit le malade au cours d'une hospitalisation ou consultation externe ou en traitement ambulatoire (RAISIN, 2013), soit le personnel médical et auxiliaire et les

visiteurs (**Astagneau et Lepoutre, 2002**), du fait de son activité, que les symptômes de la maladie apparaissent ou non, pendant que l'intéressé se trouve à l'hôpital.

Pour qu'une infection soit considérée comme nosocomiale, une période de 48 heures minimum post admission à l'hôpital est nécessaire (**Epelboin et Macey, 2009**).

En effet, la première définition a été remise en question par Silvestri et d'autres, qui pensaient que l'infection ne peut être appelée infection nosocomiale que lorsque le germe responsable de l'infection était absent dans sa flore au moment de l'admission du patient. Selon eux, cette définition conduirait à une surestimation du nombre réel d'infections hospitalières (**Silvestri et al., 2005**).

Les infections de plaies opératoires et chirurgicales (si des prothèses ont été posées), survenues dans les 30 jours ou un an suivant l'intervention sont considérées comme des infections nosocomiales. Cependant, il est conseillé de vérifier dans chaque situation douteuse, la probabilité d'un lien causal entre l'hospitalisation et l'infection (**OMS, 2015**).

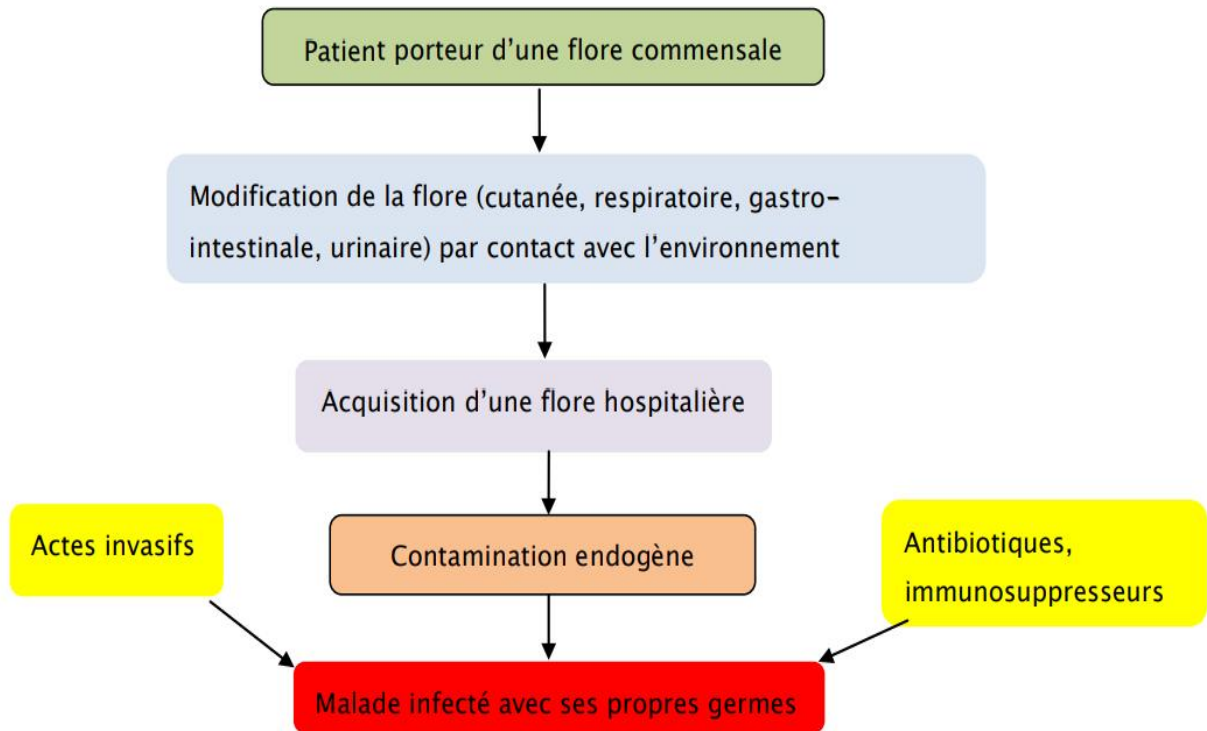
### **2. Modes de contamination:**

Peu importe son mode de propagation, la situation médicale du patient favorise l'apparition d'une infection nosocomiale (**Kahlouche, 2018**).

Les origines principales des agents pathogènes nosocomiaux peuvent être deux :

#### **A. Une origine endogène:**

C'est à dire que le patient s'infecte avec ses propres germes (la flore commensale), soit *in situ*, soit à partir de l'environnement immédiat (Figure 1). Les germes responsables peuvent être ceux du tractus digestif, de la peau, des muqueuses. Dans ce type d'origine, les bactéries multi-résistantes sont de plus en plus retrouvées (**Rossolini et al., 2008 ; Libertucci et Young, 2019**).

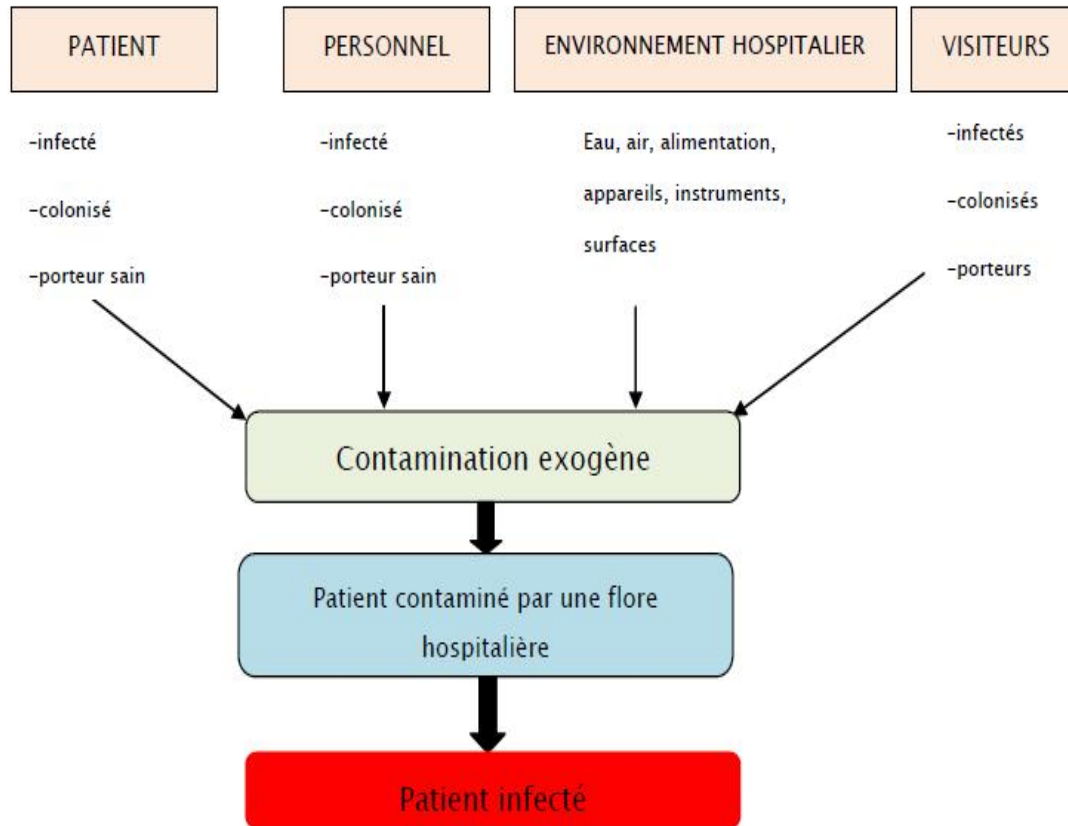


**Figure 1:** Infections nosocomiales d'origine endogène (Lemsanni, 2016).

**B. Une origine exogène:**

Le germe responsable de l'infection nosocomiale provient de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant, visiteurs, l'environnement, les dispositifs médicaux, locaux (Horan *et al.*, 2008).

La transmission est le plus souvent manuportée (par contact direct), dont le rôle des mains du personnel soignant, des visiteurs et des patients est de permettre le transfert passif des microorganismes d'un patient à un autre (infection «croisée»), ou via l'environnement, objets ou équipements médicaux (par contact indirect) (Figure 2). Dans ce type de contact, la transmission peut s'effectuer par voie aérienne, par voie hydrique, ou par l'intermédiaire d'un support contaminé (Saidoun, 2021).



**Figure 2:** Infections nosocomiales d'origine exogène (Lemsanni, 2016).

### 3. Facteurs favorisant les infections associées aux soins:

Les infections associées aux soins sont favorisées par des facteurs intrinsèques qui sont propres au malade et des facteurs extrinsèques (Angoue, 2020).

#### A. Facteurs intrinsèques:

Ces facteurs sont représentés par l'âge avancé ou prématurité, la gravité des pathologies motivant l'hospitalisation, la malnutrition, le déficit immunitaire et le score de gravité (Angoue, 2020).

### **B. Facteurs extrinsèques:**

Il s'agit de la concentration importante des germes en milieu hospitalier, l'importance des procédures invasives diagnostiques ou thérapeutique, le nombre élevé de personnels donnant les soins aux malades (transmission croisée), le défaut d'application des règles d'hygiène et d'asepsie, ainsi que le manque de ressources humaines et les techniques dans les pays en voie de développement (**Monnet, 2011**).

Dans les soins de santé modernes, les procédures et interventions chirurgicales invasives, les dispositifs médicaux à demeure et les prothèses sont associés à ces infections. L'étiologie des IAS dépend de la source ou du type d'infection et de l'agent pathogène responsable, qui peut être bactérien, viral ou fongique (**Sikora, 2023**).

### **4. Types d'infections nosocomiales:**

Selon le Centre du Contrôle des maladies (CDC), les infections nosocomiales sont généralement classées en 13 types en fonction de leur site d'infection. Infections du site opératoire, des voies respiratoires, du sang, infections fongiques, infections des voies urinaires, du système nerveux central, pneumonie nosocomiale, y compris les infections bactériennes et la pneumonie virale, *Mycobacterium tuberculosis*, l'aspergillose pulmonaire du légionnaire, sont quelques types des infections nosocomiales qui peuvent être rencontrées (**Letica-Kriegel et al., 2019**). D'après une enquête menée en établissements de santé en France en 2017 sur la prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux, les quatre principales localisations d'infections nosocomiales sont en ordre décroissant : les infections urinaires (28.47%), les infections du site opératoire (15.92%), les pneumonies (15.63%) puis les bactériémies (11.43%) (**Daniau et al., 2018**).

Selon Zeroual (**2010**), la fréquence et l'origine des IN varient considérablement en fonction de la région étudiée aussi bien que selon le type de service hospitalier et de patients concernés, ainsi, chaque service a ses propres spécificités et son « écologie microbienne ».

### 4.1 Infections urinaires:

Les infections urinaires nosocomiales sont courantes dans l'univers médical et font partie des infections bactériennes fréquentes, mais surtout celles qui sont associées au cathéter est l'infection nosocomiale la plus courante, dont le risque d'infection urinaire augmente avec l'augmentation de la durée du cathétérisme (Ducla, 2023).

### 4.2 Infections des voies urinaires associées au cathéter (CAUTI):

Le facteur de risque le plus critique de CAUTI est la durée du cathétérisme. Le protocole opératoire ou d'insertion, tel que le non-respect des techniques aseptiques, est un autre facteur de risque modifiable. Les caractéristiques des patients qui prédisposent à un risque accru sont le sexe féminin, la paraplégie, les maladies cérébrovasculaires, l'âge avancé, le diabète, les antécédents d'infection urinaire au cours de l'année précédente et l'utilisation récente d'antibiotiques dans les 90 jours (Letica-Kriegel et al., 2019 ;Ducla, 2023).

Toutefois, la simple présence d'hémocultures positives chez un patient portant un cathéter, sans porte d'entrée évidente sera considéré comme bactériémie primaire et non liée à la présence du cathéter (Letica-Kriegel et al., 2019).

### 4.3 Infections du site opératoire:

Les infections de la plaie opératoire (qui sont généralement superficielles à l'origine) et les infections profondes qui affectent les organes sont distincts dans cette catégorie. Selon Ducel (2002), les interventions chirurgicales pour implanter une prothèse ou pour une transplantation peuvent entraîner des infections nosocomiales très tardives, allant jusqu'à un an après l'opération.

### 4.4 Infections pulmonaires nosocomiales:

Selon le haut conseil de la santé publique (2010), les infections pulmonaires sont parmi les plus fréquentes des infections acquises à l'hôpital, avant ou après les infections urinaires selon les études (Tiv et al., 2010). Elles sont classées en deux catégories :

- La pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM): ce type d'infection est en majorité associé à la mise en œuvre d'une ventilation mécanique, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, ou de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection, ce qui représente un véritable problème dans les unités de soins intensifs (USI) (**Letica-Kriegel et al., 2019; Monnet 2011; Saidoun, 2021**).

- La pneumonie qui se produit en l'absence de ventilation mécanique, pour lesquelles il peut être difficile et parfois impossible de réaliser un diagnostic microbiologique, voire radiologique (**Caneiras et al., 2019**).

Les principaux agents pathogènes responsables de PAVM sont *S. aureus*, *P. aeruginosa* et les Entérobactérales. La présence de *S.aureus* ou de *S. pneumoniae* est principalement responsable de PAVM dites précoces (survenant dans les 5 premiers jours post-intubation). En revanche, *P.aeruginosa* ou *A.baumannii*, sont responsables de PAVM tardives (qui se produit après 5 jours) (**Filali, 2022**).

### 4.5 Septicémies:

La majorité des cas de septicémies nosocomiales sont liés à l'utilisation de DM, que ce soit à travers des dispositifs intra-vasculaires ou des cathéters centraux ou périphériques (**Ducel et al., 2002**).

Selon Markwart et al. (**2020**), chaque année, plus de 24.4% des patients atteints d'une septicémie liée aux soins de santé d'origine nosocomiale et 52.3% des patients traités dans une unité de soins intensifs perdent la vie. Les décès sont multipliés par deux ou trois chez les patients atteints d'infections résistantes aux antimicrobiens, chez les nouveau-nés et dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

Parmi les autres IN moins fréquentes et/ou de moindre gravité, il y'a les infections de la peau et des tissus mous, les gastro-entérites (principalement touchant les enfants), les infections de la sphère oto-rhino-laryngée (ORL), telles que les sinusites ou les conjonctivites, ainsi que les infections post-partum de la sphère génitale (**Ducel, 2002**).

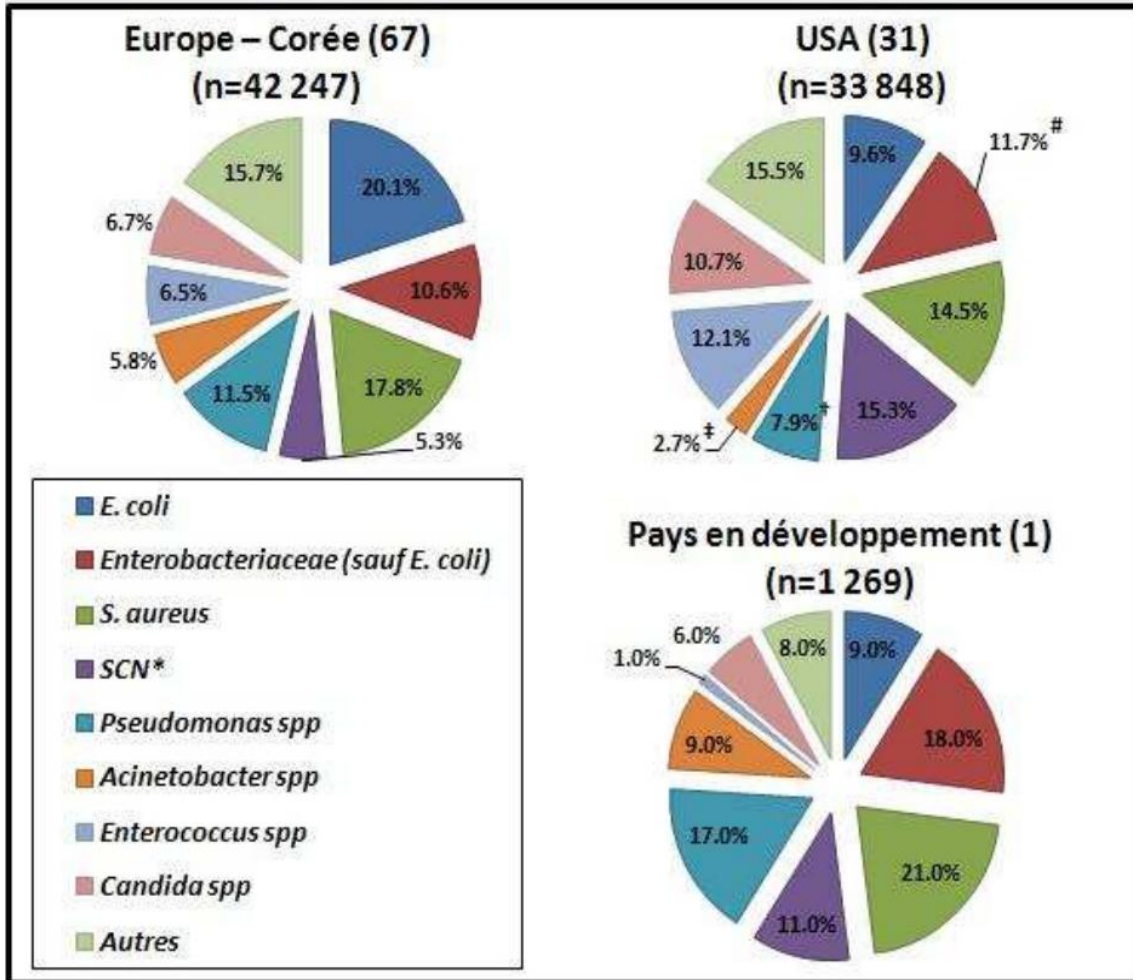
### 5. Les pathogènes responsables des infections nosocomiales:

Les infections nosocomiales sont la première cause de morbidité et de mortalité (**Daniau et al., 2018**). Elles sont généralement causées par divers agents pathogènes acquises au sein d'un établissement de soins: des bactéries, des champignons, des virus et des parasites (**Nimer, 2022**).

Ces agents infectieux varient selon les populations de patients, les types d'établissements de santé, et le pays (**Koumedjina, 2019**).

#### 5.1 Bactéries:

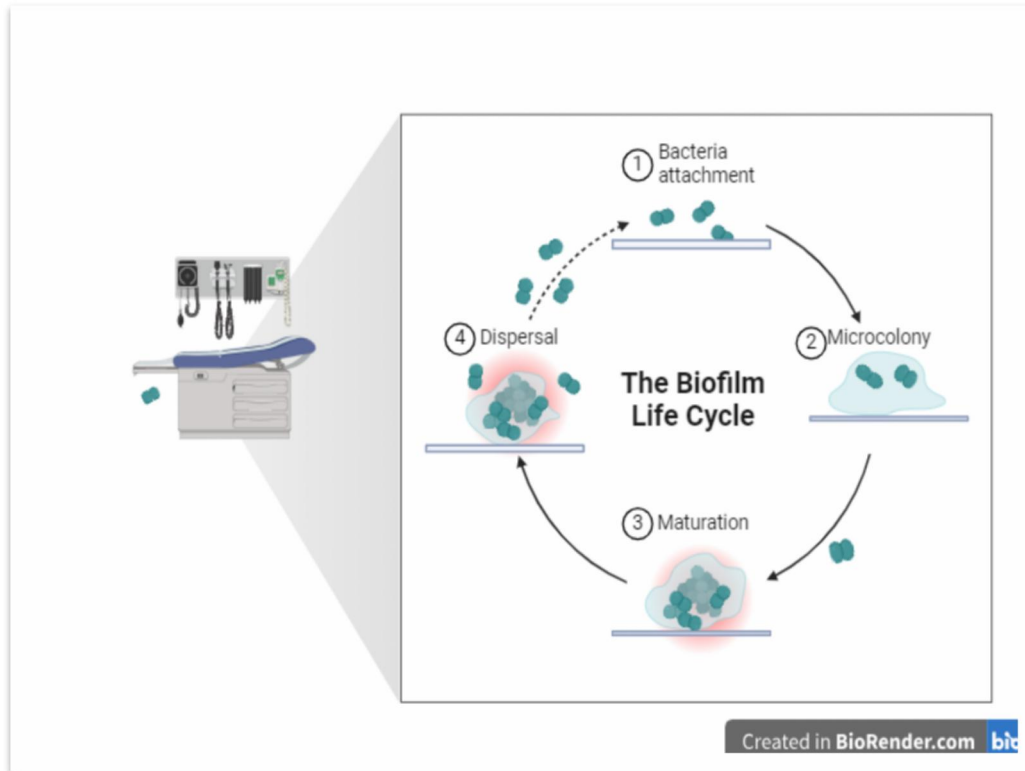
La plupart des pathogènes responsables d'IN sont des bactéries (**Figure 3**) (**Allegranzi et al., 2011; OMS, 2020**). Elles jouent un rôle potentiel dans les infections hospitalières et représentent la moitié des germes isolés dans le cadre d'infections nosocomiales dans le monde en contrairement aux autres microorganismes. Assez de données précises sont disponibles sur l'implication des bactéries dans l'infection liée aux soins (**Figure 3**), ces microorganismes sont les plus remarquables dans les infections hospitalières parce qu'ils sont très souvent résistants aux antibiotiques. Les phénomènes de l'antibiorésistance sont très nombreux, où sont capables d'échanger entre eux des informations de résistance par la transformation plasmidique (**Koumedjina, 2019**).



\*SCN : Staphylococci coagulase négatif; † *P. aeruginosa* seulement; ‡ *A. baumannii* seulement.  
 # Données regroupant les fréquences de *K. pneumoniae* (5,8%), *K. oxytoca* (1,1%) et *Enterobacter spp* (4,8%) seulement, le reste des *Enterobacteriaceae* étant classées dans "Autres".

**Figure 3:** Prévalence des pathogènes responsables d'infections nosocomiales (Monnet, 2011).

De plus, les bactéries suite à leurs morphologies inclus les pili et les fimbria aussi leur capacité de formation des biofilms (Figure 4) peuvent subsister sur des surfaces pendant plusieurs jours voire des semaines et des mois comme les bactéries à Gram positif, telles que *Enterococcus spp.*, *S.aureus* ou *S.pyogenes* (Kramer et al., 2006).



**Figure 4:** Processus d’adhésion et de croissance des bactéries en biofilm sur une surface hospitalière (Illustration réalisée par BioRender, d’après **Kramer et al., 2006**).

### 5.1.1 Classification des bactéries en milieu hospitalier :

Deux types de bactéries sont distingués, pouvant être présents dans l’environnement des patients et dans les établissements hospitaliers:

#### A. Des bactéries d’origine humaine (la flore commensale) :

La flore bactérienne commensale est un ensemble des bactéries qui vivent à l’intérieur ou sur un organisme, principalement les muqueuses : peau, tube digestif, arbre respiratoire, et appareils génitaux chez les personnes saines. Elle est présente dès la naissance et se régénère rapidement, dont chez un être humain en bonne santé adulte héberge  $10^{14}$  cellules bactériennes en permanence sans provoquer de troubles. Elle joue plusieurs rôles : contribuent à la protection de la peau, protecteur significatif en empêchant la colonisation par des micro-organismes pathogènes. Amélioration du système immunitaire, entrent dans le processus de

digestion et les équilibres des épithélia (pH, biofilm, synthèse de vitamine, digestion de la cellulose) (Walter et Ley, 2011; Zhang et al., 2015).

Une infection peut être causée par certaines bactéries commensales si les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies. Par exemple, les staphylocoques cutanés coagulase-négatifs provoquent des infections sur cathéter vasculaire et *Escherichia coli* présentes dans l'intestin sont la cause la plus courante d'infections urinaires (Ducel et al., 2002).

### **B. Des bactéries d'origine environnementale (flore saprophyte):**

Les bactéries saprotrophes sont des bactéries environnementales qui vivent généralement dans le sol et elles se nourrissent de matière organique, elles agissent comme des décomposeurs importants (Anderson et al., 1985).

Certaines bactéries saprotrophes comme les entérobactéries peuvent être des vecteurs de maladies d'origine alimentaire. Ce sont des agents pathogènes courants en médecine et en agriculture, car ils se déplacent facilement entre les individus via la consommation ou d'autres modes d'exposition, tels que le contact avec les excréments (Kupriyanov et al., 2010).

#### **5.1.2 Les différents types des bactéries :**

##### **A. Bacilles Gram négatif fermentants:**

###### **❖ Les *Entérobactéries*:**

Les entérobactéries peuvent coloniser certains sites lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies (site d'insertion d'un cathéter, d'une canule, sonde urinaire) et provoquer des infections graves (Bouillard et al., 2005).

###### **➤ *Enterobacter*:**

Plusieurs espèces de ce genre sont responsables des infections nosocomiales : *E.sakazakii*, *E.cloacae*, *E. aerogenes*. Les espèces de ce genre sont souvent présentes dans les unités de soins intensifs et sont à l'origine de 8.6% des infections nosocomiales selon les

Centres pour le Contrôle et prévention des maladies (CDC) des Etats-Unis (**Boyce et al., 2004**).

➤ ***Klebsiella pneumoniae:***

*K. pneumoniae* est une bactérie commensale de l'intestin et des voies respiratoires. C'est un agent pathogène responsable d'infections nosocomiales responsable d'infections broncho-pulmonaires, urinaires, bactériémies, infections méningées post-traumatiques ou post-chirurgicale) (**Lau et al., 2008**).

D'après Aracil-García et al. (**2017**), *K.pneumoniae* possède une multirésistance, notamment les aminosides, les céphalosporines de troisième génération, et les carbapénèmes.

➤ ***Escherichia Coli:***

Ces bacilles à Gram négatif aérobies peuvent se retrouver également au niveau des muqueuses de l'homme et de l'animal (**Saidoun, 2021**). C'est le pathogène le plus isolé dans les infections urinaires nosocomiales (**Ducel et al., 2002 ; Monnet, 2011**).

### **B. Bacilles Gram négatifs non fermentants:**

➤ ***Pseudomonas aeruginosa:***

C'est un pathogène opportuniste, commensal et environnemental, mais peut occasionnellement passer à un état pathogène, provoquant des infections difficiles à traiter (**Palmer et Whiteley, 2015**).

*P.aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire, est adaptable à différents environnements, couvrant une grande variété d'habitats, y compris le corps humain, le sol, l'eau, les canalisations, l'environnement hospitalier, dont la propagation de nouvelles infections provenant de ce milieu nécessite une attention particulière afin de minimiser le risque d'infection nosocomiale par cet agent pathogène (**De sousa et al., 2021**).

Ce pathogène est caractérisé par son pouvoir d'adaptation et sa capacité de former un biofilm. En 2017, l'OMS l'a classée parmi les trois bactéries les plus dangereuses pour la santé

humaine. Selon Filali (2022), elle peut aussi causer à l'hôpital des infections respiratoires de type pneumonies nosocomiales ou pneumopathies acquises sous ventilation mécanique, de bactériémies, d'infections de plaies (surtout chez le grand brûlé, après une chirurgie ou sur escarres), d'infections urinaires (le plus souvent sur sonde) ou encore de méningites post chirurgicale.

➤ ***Acinetobacter baumannii:***

Parmi les principales bactéries responsables d'infections chez l'humain est *Acinetobacter baumannii*, elle colonise la flore cutanée, pouvant être présente surtout dans les unités de soins intensifs. Elle est largement distribuée dans le sol, l'eau et déchets. Elle est retrouvée également dans la peau, oropharynx, tractus gastro-intestinal (GIT) et respiratoire, tractus d'individus normaux, l'affirmant comme une flore normale des voies respiratoires et de la peau humaine (Sohail et al., 2016).

*A.baumannii* provoque un certain nombre d'infections potentiellement mortelles chez les patients hospitalisés (Kyriakidis et al., 2021).

Au cours des dernières années, cet agent pathogène a présenté une multi résistance aux médicaments (MDR), principalement en raison d'un abus massif d'antibiotiques et d'une mauvaise gestion, ce qui rend très difficile à sélectionner un médicament approprié pour traiter les infections causées par ce pathogène (Fishbain et Peleg, 2010).

➤ ***Legionella:***

Les diverses espèces de *Legionella* représentent un risque spécifiquement hospitalier, pouvant provoquer des pneumopathies (endémiques ou sporadiques) par inhalation d'aérosols impliquant de l'eau contaminée (climatisation, douches, aérosols a visée thérapeutique) (Gleason et Cohn, 2022).

### C. Cocci Gram positif:

#### ➤ Les staphylocoques:

L'espèce la plus fréquente dans les infections du site opératoire est le *Staphylococcus aureus* (Staphylocoque doré) ( **Pal et al., 2019**).

*S. aureus* se trouve sur la peau et les muqueuses (le plus souvent la zone nasale) de la plupart des individus sains (y compris les souches résistantes aux médicaments telles que le SARM) (**Boucher et Corey, 2008**). Cependant, certaines populations ont tendance à avoir des taux plus élevés de colonisation par *S. aureus* (jusqu'à 80%), comme les travailleurs de la santé, les personnes qui utilisent régulièrement des aiguilles, les patients hospitalisés et les personnes immunodéprimées (**Rasigade et Vandenesch, 2014**).

*S. aureus* peut provoquer diverses infections potentiellement graves si elle pénètre dans la circulation sanguine ou dans les tissus internes, dont la transmission se fait généralement par contact direct, impliquant d'autres méthodes de transmission dans d'autres infections tels que les vecteurs passifs. Ces germes sont les plus isolés dans les septicémies en néonatalogie, pouvant être responsables d'infections cutanées et muqueuses, ainsi que de septicémies (**Taylor et Unakal, 2023**).

#### ➤ Les entérocoques:

Les Espèces *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont généralement responsables de certaines infections nosocomiales.

Ils sont résistants à un grand nombre d'antibiotiques, dont des résistances aux glycopeptides (Vancomycine), de plus ils possèdent de nombreuses résistances naturelles (**Saidoun, 2021**).

### D. Bacilles Gram positif:

#### ➤ *Clostridium difficile*:

C'est un bacille anaérobie à Gram positif dont les souches pathogènes ont la capacité de produire deux toxines (tdcA et tdcB) (**Olsen et al., 2019 ; Murray et al., 2020**).

Ce pathogène est la principale cause de diarrhées nosocomiales associées aux antibiotiques chez l'adulte de près de 10%, dans les pays industrialisés .Il existe entre 1 et 3% de porteurs sains dans le monde (**Barbut et al., 2007 ;Barbut et al., 2015**). |

### 5.2 Parasites:

De nombreux parasites jouent un rôle opportuniste et entraînent des infections nosocomiales (**Ducel, 2002**).

Il existe trois types de parasites: microorganismes unicellulaires (protozoaires, microsporidies), helminthes multicellulaires (vers), ectoparasites tels que la gale et les poux (**Chelsea et Petri, 2023**).

Les infections parasitaires causées par des protozoaires et des helminthes sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées dans le monde. Ces parasites se transmettent facilement chez l'adulte et l'enfant, comme l'espèce de protozoaires flagellés *Giardia lamblia* qui est responsable d'une parasitose intestinale (**Chelsea et Petri, 2023**).

L'espèce *Sarcoptes scabiei var. hominis* considéré comme agent de la gale est un ectoparasite qui constitue un problème de santé publique dans tous les pays, quel que soit leur statut socio-économique (**Thomas et al., 2020**).

### 5.3 Champignons:

Plus aux bactéries, les levures et surtout les champignons filamenteux s'adaptent aussi très bien à la survie et la multiplication dans l'environnement hospitalier (**ANAES, 2000**).

Les infections fongiques se classent au quatrième rang des infections hospitalières. Ce type d'infection est liée aux insuffisances encore évidentes observées lors du traitement des maladies fongiques, parmi elles, il y'a les mycotoxicoses causées par *Aspergillus* et les mycotoxicoses superficielles ou profondes causées par la levure *Candida* (**Arnould et Le Floch, 2015**). Ces agents pathogènes fongiques sont généralement associés à des infections opportunistes chez les patients immunodéprimés et ceux porteurs de dispositifs à demeure, tels que des cathéters centraux ou des cathéters urinaires (**Magill et al., 2018**).

Au total, les espèces de *Candida* constituent le quatrième agent pathogène le plus courant parmi tous les types d'IAS (**Weiner et al., 2016**). Cependant, la contamination de l'environnement par *Aspergillus spp.* comme germes aéroportés présent dans les poussières et le sol est également préoccupante et en particulier lors de la construction d'hôpitaux (**Sabino et al., 2019**).

De plus, *Candida* est aussi le deuxième agent pathogène isolé des hémocultures aux États- Unis, ainsi, une augmentation des infections liées à *C.albicans* et *C. parapsilosis* est enregistrée chez l'enfant, une candidose sur deux est diagnostiquée. Cette augmentation est liée à la diffusion de *Candida parapsilosis* en hématologie et néonatalogie (**Festekjian et Neely, 2011**).

Ainsi *C.auris* pose un problème sérieux en tant qu'organisme multirésistant émergent à l'échelle mondiale avec une morbidité et une mortalité élevées en raison de difficultés de diagnostic et de taux élevés d'échec thérapeutique (**Weiner et al., 2016**).

La contamination fongique se fait essentiellement par inhalation de spores, mais aussi elle peut atteindre directement une zone vulnérable comme les plaies ou brûlures cutanées, les zones opérées et les prothèses (**Arnould et Le Floch, 2015**).

### 5.4 Virus:

Une transmission des infections virales en milieu hospitalier se fait par transfusions, dialyse, injections, et endoscopie pour de nombreux virus, notamment ceux des hépatites B et C, par contre, le virus respiratoire syncytial, les rotavirus et les entérovirus sont transmis par contact main bouche et par voie fécoorale. D'autres virus incluent la grippe, le VIH, le rotavirus et le virus de l'herpès simplex (**Ducel. 2002**). Les hépatites B et C sont généralement transmises par des pratiques d'injection dangereuses (**OMS, 2016**).

Certains virus survivent de façon plus ou moins prolongée dans l'environnement, comme le virus respiratoire syncytial ou les rotavirus. Ainsi, les rotavirus qui sont capables de survivre plusieurs jours sur les mains et à 10 jours ou plus sur les surfaces sèches et non

poreuses dans un environnement faiblement humide (< 50%), contre 6 heures pour le virus respiratoire syncytial (**Wilde et al., 1992**).

Les infections virales de l'environnement hospitalier sont le plus souvent à cause du réservoir humain (patients ou le personnel hospitalier), pouvant prendre la forme d'une épidémie, dont la fréquence des ces infections virales nosocomiales est très sous-estimée car leur recherche est techniquement difficile à réaliser. Certains groupes à risque par ces infections sont les jeunes enfants, les vieillards, les immunodéprimés, les transplantés d'organes, les polytransfusés, les hémophiles et les hémodialysés (**Pozzetto et Berthelot, 1997**).

La prédominance des infections virales chez les nourrissons, qu'elles soient épidémiques ou non, est une des particularités du monde pédiatrique (**Burgard et al., 2013**). Le **tableau 1** représente les pathogènes les plus fréquemment isolés en fonction du type d'IN et la région.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**Tableau 1:** Les pathogènes les plus fréquemment isolés dans les infections nosocomiales, selon le type d'infection et la région (Monnet, 2011).

	Pays industrialisés						Pays en voie de développement			Infections DM-associées (USA)		
	Europe			USA			N (isolats)	Pathogènes	%	N (isolats)	Pathogènes	%
	N (isolats)	Pathogènes	%	N (isolats)	Pathogènes	%						
Ensemble des infections nosocomiales	42 247	<i>Enterobacteriaceae</i>	30.7%	33 848	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	29.8%	1 269	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	32.0%		Non renseigné	
		<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	23.1%		<i>Enterobacteriaceae</i>	21.3%		<i>Enterobacteriaceae</i>	27.0%			
		<i>Pseudomonas spp</i>	11.5%		<i>Enterococcus spp</i>	12.1%		<i>Pseudomonas spp</i>	17.0%			
Infections nosocomiales au sein des USI	13 954	<i>Enterobacteriaceae</i>	29.3%		Non renseigné		1 382	<i>Enterobacteriaceae</i>	27.0%		Non renseigné	
		<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	28.8%					<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	22.0%			
		<i>Pseudomonas spp</i>	17.2%					<i>Acinetobacter spp</i>	19.0%			
Infections urinaires	1 710	<i>Enterobacteriaceae</i>	63.3%	1466*	<i>Enterobacteriaceae</i>	68.0%	531**	<i>Enterobacteriaceae</i>	85.0%	9 377	<i>Enterobacteriaceae</i>	34.1%
		<i>Enterococcus spp</i>	13.3%		<i>Enterococcus spp</i>	16.0%		<i>Pseudomonas spp</i>	6.0%		<i>Candida spp</i>	21.0%
		<i>Pseudomonas spp</i>	9.0%		<i>Pseudomonas spp</i>	7.0%		<i>Enterococcus spp</i>	4.0%		<i>Enterococcus spp</i>	14.9%
Infections du site opératoire		Non renseigné		7 025	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	43.7%	1 078	<i>Enterobacteriaceae</i>	44.2%		Non renseigné	
					<i>Enterobacteriaceae</i>	35.6%		<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	26.5%			
					<i>Enterococcus spp</i>	11.2%		<i>Pseudomonas spp</i>	16.7%			
Infections pulmonaires	10 538	<i>Enterobacteriaceae</i>	31.8%		Non renseigné		459	<i>Pseudomonas spp</i>	29.0%	5 960	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	25.7%
		<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	18.7%					<i>Acinetobacter spp</i>	24.0%		<i>Enterobacteriaceae</i>	21.7%
		<i>Pseudomonas spp</i> <sup>‡</sup>	18.2%					<i>Enterobacteriaceae</i>	21.0%		<i>Pseudomonas spp</i> <sup>‡</sup>	16.3%
Septicémies	4 315 <sup>♠</sup>	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	39.4%	11 428 <sup>♠</sup>	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	44.0%	825	<i>Staphylococcus spp</i> <sup>†</sup>	36.0%		Non renseigné	
		<i>Enterobacteriaceae</i>	23.4%		<i>Enterococcus spp</i>	16.0%		<i>Acinetobacter spp</i>	18.0%			
		<i>Pseudomonas spp</i>	7.9%		<i>Enterobacteriaceae</i>	12.4%		<i>Enterobacteriaceae</i>	18.0%			
					<i>Candida spp</i>	11.8%						

† *S. aureus* + Staphylococci coagulase négatif ; ‡ *P. aeruginosa* seulement ; \* Amérique du Nord ; \*\* Amérique latine ; <sup>♠</sup> Infections au sein des USI.

### 6. Les résistances aux antibiotiques

Ce qui distingue les IN des infections communautaires, c'est le fort taux de résistances aux antibiotiques parmi les pathogènes impliqués, constituant un problème sérieux (**Jernigan et al., 2020**). Cependant, la prévalence des résistances diffère selon les pathogènes (**Monnet, 2011**).

Selon Lax et Gilbert (**2015**), la propagation de la résistance aux antimicrobiens en milieu hospitaliers, l'utilisation généralisée et l'accumulation d'antibiotiques dans l'environnement au cours des dernières décennies ont entraîné cette crise mondiale de bactéries résistantes aux antibiotiques.

Après une période de forte efficacité contre les maladies infectieuses, les bactéries s'adaptent aux antibiotiques et deviennent résistantes, pour cela, les antibiotiques se présentent de moins en moins efficaces face à certaines infections bactériennes (**Kandouli, 2015**). Pour être efficace, un antibiotique doit être en mesure de détecter sa cible à l'intérieur de la bactérie. Si la cible est modifiée ou remplacée de sorte que l'antibiotique n'est plus capable de se lier à elle, la bactérie devient alors résistante (**Monnet, 2011**).

Les antibiogrammes montrent une importante résistance aux différents antibiotiques, avec une résistance de 93.75% pour l'ampicilline, et une sensibilité à la colistine de 81.81% , à titre d'exemple, les infections nosocomiales dans l'unité de réanimation médicale du Centre hospitalo-universitaire (CHU) d'Annaba sont dominées par le genre *Candida* et des bactéries multi résistantes à différents antibiotiques et antifongiques (**Benzaid, 2022**).

Chez les bactéries à Gram positif, les *S.aureus* sont résistants à la méticilline et la rifampicine. Tandis que, les Enterococci possédant déjà plusieurs résistances naturelles (céphalosporines, sulfamides et à un niveau plus bas d'aminosides), peuvent encore développer des résistances à l'ampicilline et à la vancomycine (**Monnet, 2011**).

Du côté des bactéries à Gram négatif, elles se distinguent par leur grande résistance à la production de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Les souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes sont de plus en plus fréquentes, tandis qu'environ 1/5 des souches de *P. aeruginosa* sont résistantes à plusieurs antibiotiques. Chez *E. coli*, l'émergence de souches combinant des résistances à un grand nombre d'antibiotiques a été détecté (**Chen et al., 2014**).

La bactérie *A.baumannii* est connue d'une part, par son adaptation et sa capacité de coloniser presque toutes les surfaces et de survivre dans l'environnement rendant très difficile son éradication, et d'autre part, par sa capacité à développer une multirésistance acquise soit par des mutations, soit par des éléments génétiques (**Evans et al., 2013**). De plus, elle est naturellement sensible à la majorité des antibiotiques, ou il existe des souches qui possèdent maintenant des résistances à tous les antibiotiques (**Monnet, 2011**).

De nombreux gènes de résistance aux antibiotiques, de formation de biofilms ont été détectés dans les génomes des microbes présents dans les échantillons fécaux des deux nourrissons, expliquant potentiellement comment certains organismes sont capables de persister dans un environnement aussi régulièrement stérilisé (**Lax et Gilbert, 2015**).

D'après Kandouli (**2015**), la résistance aux antibiotiques chez les bactéries est influencée par la régulation de l'expression des porines et les mécanismes de diffusion de substances. Cependant, une membrane externe composée de LPS et de phospholipides chez les bactéries à Gram négatif, forme une barrière et empêche la pénétration des antibiotiques hydrophobes entraînant une résistance naturelle à ces antibiotiques, le plus souvent à bas niveau.

L'augmentation du nombre de bactéries résistantes nécessite la mise en place de méthodes de détection rapides afin de déterminer leurs profils de susceptibilité et de résistance. Le séquençage haut-débit apporte des solutions efficaces à ces problématiques (**Ashton et al., 2015**). Cette augmentation rapide de la résistance est en grande partie due au transfert de gènes de résistance AMR entre taxons par le biais du transfert latéral des gènes LGT (**Gillings et al., 2012**).

La plupart des antibiotiques ont été isolés à l'origine à partir de bactéries vivant dans le sol, qui portaient également des gènes de résistance aux antimicrobiens les protégeant de leurs propres métabolites ce qui suggère que les écosystèmes microbiens naturels contiennent un vaste

réservoir de RAM qui peut être acquis par les agents pathogènes dont l'écosystème humain est peut-être le plus important de tout le transfert de RAM (**Lax et Gilbert, 2015**).

L'étude des génomes de pathogènes multirésistants a ainsi permis de mieux décrire les principaux modes de transmission des déterminants de la résistance par l'échange d'éléments génétiques mobiles, notamment chez des isolats cliniques d'*Enterobacteriaceae*, d'*A.baumannii* et de *P.aeruginosa*. Ces éléments génétiques mobiles, codant parfois pour de multiples gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds, permettent à ces BMR de persister dans les milieux hospitaliers et de résister à presque tous les antibiotiques communément prescrits (**Diene et al., 2014**). La découverte et la distribution de ces gènes en Algérie est représentée sur le **tableau 2**.

**Tableau 2:** Déterminants de résistance aux aminosides et aux quinolones identifiés en Algérie (Tani et Arlet, 2014)

Références	Journal	Espèces concernées	Enzymes décrites	Lieu
Bogaerts et al. [108]	J Antimicrob Chemother	<i>Enterobacteriaceae</i>	ArmA	NP
Touati et al. [39]	Diagn Microbiol Infect Dis	<i>Enterobacter cloacae</i>	QnrB	Béjaia
labadene et al. [45]	J Antimicrob Chemother	<i>E. cloacae</i>	QnrB1 ; QnrB4 ; QnrS1	Alger ; Tizi-Ouzou ; Tlemcen
labadene et al. [48]	Med Mal Infect	<i>Salmonella enterica</i>	AAC[3']-II	Tizi-Ouzou
Meradi et al. [46]	Pathol Biol	Enterobacteriaceae	QnrB1 ; AAC[6']-Ib ; AAC[6']-Ib-cr	Annaba
Naas et al. [109]	J Antimicrob Chemother	<i>S. enterica</i>	ArmA	Constantine
Naas et al. [110]	Int J Antimicrob Agents	<i>S. enterica</i>	ArmA	Constantine
Bouzidi et al. [111]	J Antimicrob Chemother	<i>Salmonella non-Typhi</i>	ArmA	Annaba
Gharout-Sait et al. [51]	Afr J Microbiol Res	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>E. cloacae</i>	QnrB1 ; QnrS1 ; AAC[6']-Ib-cr	Béjaia
Baba Ahmed-KaziTani et al. [38]	Microb Drug Resist	<i>E. coli</i> ; <i>K. pneumoniae</i> ; <i>E. cloacae</i>	AAC[3']-II, AAC[6']-Ib-cr, QnrB2 ; Sul1 ; Sul2 ; <i>dfrA1</i> ; <i>dfrA12</i> ; <i>aadA2</i>	Tlemcen
Touati et al. [67]	Antimicrob Agents Chemother	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>aadB</i> ; <i>aacA4</i>	NP
Mesli et al. [75]	Int J Infect Dis	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>aac[3]-I</i> ; <i>aadA</i> ; <i>ant[2']-I</i> ; <i>aph[3']</i> ; <i>aac[6']-Ib</i>	NP

NP : non précisé.

### 7. Impact économique des infections nosocomiales

Plus de 1.4 millions de patients sont touchés par les infections nosocomiales à travers le monde. En Algérie, tout comme dans tous les autres pays du monde, ces maladies engendrent autant d'inquiétudes que d'interrogations. Les infections nosocomiales affectent plus de 30% des patients hospitalisés en Algérie. Dans de nombreux cas, le patient ne meurt pas en raison de sa maladie, mais plutôt en raison d'infections répandues en milieu hospitalier. Il est donc nécessaire de mettre en place des mesures de lutte et de prévention en raison de ce taux alarmant (**Boulahouat et Aliziane, 2020**).

Les IN entraînent des conséquences sur le plan médical mais aussi sur le plan économique (**Albrecht, 2015**). L'impact économique est non négligeable, que ce soient les coûts directs (journées d'hospitalisation, médicaments, examens supplémentaires), ou les coûts indirects difficiles à estimer, ces coûts sont associés à l'arrêt de travail pendant l'hospitalisation et la convalescence, ou les soins ultérieurs qui pourraient être nécessaires (**Monnet, 2011; Albrecht, 2015**).

D'après Rondeau et Bertezene (**2013**), un surcoût de 2591 euros a été évalué pour les patients atteints d'un IN dont 397 euros attribuable aux coûts sociaux et 1141 euros aux coûts médicaux indirects.

Un autre cas d'infection entraîne des coûts supplémentaires allant de 12000 à 35000 \$ par patient, en fonction du type d'infection et des caractéristiques du patient. En outre, il est important de prendre en compte le coût des programmes de prévention (**Boulahouat et Aliziane, 2020**).

Les infections nosocomiales entraînent des coûts supplémentaires, allant de 1000 à 12 000 USD en moyenne par épisode selon les pays (**Forrester et al., 2022**), ce qui fait peser un lourd fardeau économique considérable sur les systèmes de santé et représentent des dépenses directes importantes pour les patients et les familles.

Selon Boulahouat et Aliziane (**2020**), le coût pour prendre en charge un seul cas d'infection nosocomiale en milieu hospitalier en Algérie peut atteindre 15% du budget annuel du service de chirurgie dans un hôpital. La prise en charge d'une infection nosocomiale peut coûter environ 800000 dinars pour l'état.

Autre fois, lorsque les infections nosocomiales se manifestaient, elles se guérissaient rapidement, mais les bactéries étaient également sensibles aux traitements. Cependant, aujourd'hui la majorité des bactéries sont devenues résistantes aux antibiotiques, ce qui nécessite des traitements plus longs. La résistance aux antimicrobiens entraîne un coût annuel d'environ 1.2 milliard USD pour les systèmes de santé. **(Boulahouat et Aliziane, 2020)**

À titre d'exemple, environ 75 % des ordonnances de médicaments antimicrobiens dans les établissements de soins de longue durée sont inappropriées, tandis que les politiques permettant de lutter contre l'utilisation inappropriée des antimicrobiens et la résistance aux antimicrobiens, telles que le bon usage des antimicrobiens et la lutte contre les maladies infectieuses, restent peu utilisées ou peu optimales **(Eze et al., 2022)**.

De plus, selon Casini et al. **(2019)**, la majorité des infections résistantes aux antibiotiques sont contractées dans les établissements de santé et que 75% des années de vie ajustées sur l'incapacité attribuables à la résistance aux antimicrobiens sont causées par des infections nosocomiales.

### **7.1 Différents coûts engendrés par les IN**

Afin d'évaluer l'impact socioéconomique des IN, différents coûts doivent être évalués. Par exemple en réanimation, les IN sont susceptibles d'accroître pour conséquence de la durée de séjour, le traitement de l'infection et de ses complications éventuelles, avec les conséquences économiques associées notamment : les coûts médicaux, liés à la consommation de soins hospitaliers; les coûts pharmaceutiques post hospitaliers et les coûts sociaux (invalidité, rééducation) **(Lemsanni, 2016)**.

#### **7.1.1 Coût direct**

D'après Caughey **(2014)**, ce coût est lié par la prolongation de la durée d'hospitalisation, comprenant les charges communes et les dépenses d'hôtelleries (les frais liés à la nourriture, au blanchiment du linge des patients, les frais liés à l'électricité) ainsi que le coût des antibiotiques et des examens para-cliniques.

En France, les coûts sont évalués de 338 € en moyenne pour une infection urinaire à 35.185 € pour une septicémie en soins intensifs. Le coût des IN évitables dans ce service

oscille entre 23 millions d'euros et un peu plus de 200 millions d'euros (**Lydia et Meriem, 2017**).

Une étude en 2002 réalisée en Italie, a évalué le coût des infections nosocomiales aboutissant à un coût de 223.716 € pour un établissement de 270 lits (**Vasselle, 2006**).

En Espagne, une enquête réalisée en même année, a évalué le surcoût de l'IN à 2.646 € par patient dans un service d'orthopédie et à 404 € dans le service de gynécologie (**Vasselle, 2006**).

Aux Etats-Unis, en 2007 l'IN a généré une dépense élevée de 4.2 milliards de dollars, comparativement à celle de la France (2 milliards d'euros) et celle en Angleterre (près de 1 milliard de livres sterling) (**Vasselle, 2006**).

En 2009, au CHU Fattouma Bourguiba de Monastir en Tunisie, une étude prospective a examiné 21 cas d'infections (12 en réanimation médicale et 9 aux urgences chirurgicales). Cette enquête a évalué un surcoût de 12.536 DT/patient. Tandis que le surcoût aux urgences chirurgicales a atteint 8.517 DT/patient (**Mansour et Zouhie, 2009**).

Au Maroc, un surcoût moyen de 23.426,5 DH/patient a été estimé dans une enquête rétrospective menée en 2010 en niveau de service de réanimation médicale au CHU Ibn Rochd à Casablanca (**Soulami, 2010**).

En Algérie, une étude rétrospective réalisée en niveau du CHU de Tizi Ouzou Nedir au sein du service de réanimation médicale sur 10 cas d'infections nosocomiales durant l'année 2008, constatant un coût de 17 460.50 DA pour une journée d'hospitalisation par patient infecté, donc une IN entraîne, en moyenne, un coût de 226.986,5 DA/patient pour un nombre moyen de 13 jours supplémentaires (**Lydia et Meriem, 2017**).

### 7.1.2 Coût de la prévention

En 2007, le programme de prévention des hôpitaux en France a coûté 100 millions d'euros (**Mezher, 2010**). En 2003, en Italie, il a été effectué une comparaison entre le coût des infections nosocomiales et celui de leur prévention dans un établissement de soins. Selon **Vasselle (2006)**, le coût du programme de prévention pour cet établissement est estimé à 128.727 €, tandis que le coût des infections nosocomiales s'élèverait à 223 .716 €.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Au Maroc, dans l'enquête citée précédemment de Souлами (2010), le coût de la prévention était de 2.760 DH/patient. Une autre étude réalisée entre 2010 et 2011 à l'hôpital Hassan II de Fès, dans le service de réanimation médicale et des urgences chirurgicales, a révélé un coût de 294.252 DH pour la prévention en réanimation médicale et de 210.000 DH pour le service des urgences chirurgicales (Suso, 2012).

En Tunisie, un coût de prévention de 97 245.61 DT a été estimé au sein de la réanimation médicale du CHU Fattouma Bourguiba et 62 113.2 DT aux urgences chirurgicales (Mansour et Zouhie, 2009).

En Algérie, une autre étude réalisée au sein du service de réanimation médicale du CHU de Tizi Ouzou Nedir montrent clairement que le coût des produits d'hygiène utilisés dans le cadre de la prévention (840 526.83 DA) est 12 fois plus faible que le surcoût total des infections nosocomiales (6 801 556.61DA) (Lydia et Meriem, 2017).

Le coût des produits d'hygiène utilisés dans le cadre de la prévention (DA) sont présentés dans le **tableau 3**.

**Tableau 3:** Le coût des produits d'hygiène utilisés dans le cadre de la prévention (DA) (Lydia et Meriem, 2017).

Moyen de prévention	Prix unitaire (DA)	Consommation hebdomadaire	Prix hebdomadaire (DA)	Prix total (DA)
Gants purifiés (boîte de 100)	590.00	9 boîtes	5 310.00	69 030.00
Gants stériles (boîte de 50)	1 950.00	3 boîtes	5 850.00	76 050.00
Gel antiseptique hydroalcoolique (5 L)	4 990.05	1 bidon	4 990.05	64 870.65
Gel antiseptique hydroalcoolique (500 ml)	940.68	3 flacons	2 822.04	36 686.52
Savon antiseptique et hygiénique (5 L)	4.469.40	1 bidon	4 469.40	58 102.20
Désinfectant des surfaces hautes (1 L)	1.394.64	2 flacons	2 789,28	36 260.64
Désinfectant à pulvériser des surfaces (1L)	1 867.32	2 flacons	3 734.64	48 550.32
Désinfectant des sols (5 L)	5 820.75	1 bidon	5 82.75	75 669.75
Nettoyant pré-désinfectant (5 L)	8 289.45	1 bidon	8 289.45	107 762.85
Désinfectant à froid des instruments (5 L)	3 135.60	1 bidon	3 135.60	40 762.80
Désinfectant des surfaces par voie aérienne (5 L)	11 623.95	1 bidon	11 623.95	151 111.35
Solution désinfectante des sols (5 L)	5 820.75	1 bidon	5 820.75	75 669.75
<b>Total</b>	<b>50 892.59</b>	/	<b>64 655.91</b>	<b>840 526.83</b>

### 7.1.3 Coût indirect

Selon Lydia et Meriem (2017), le coût indirect englobe le coût lié aux conséquences de l'infection nosocomiale sur le patient et ses proches (frais d'hospitalisation, frais de transport, coût de l'absentéisme au travail, coût de l'aide domestique), sur l'établissement de soins (augmentation des besoins en personnel, temps perdu dans le traitement d'une infection évitable), et sur la société (frais d'hospitalisation pris en charge par la mutuelle).

### 7.1.4 Coût intangible

Le coût intangible est de nature qualitative et subjective (baisse de productivité du patient dans son travail, détérioration des conditions de vie, stress, augmentation de la charge de travail du personnel soignant) (Lydia et Meriem, 2017).

## 7.2 Estimation des coûts des infections nosocomiales en Algérie (études réalisées)

Selon une recherche menée par Soukeha et Benkddour (1997) au CHU de Beni Messous, les résultats suivants ont été révélés :

- Le coût est évalué à 60000 Da, en moyenne, pour les patients ayant attrapé une infection nosocomiale pendant un séjour hospitalier de 20 jours.
- Les coûts supplémentaires liés aux infections nosocomiales s'élèvent à 12319558 Da.
- Les coûts des analyses médicales supplémentaires liées à ces infections ont atteint 13800Da.
- Des dépenses estimées à 1756995.58 Da pour l'ensemble des patients ayant contracté des infections au niveau du service de réanimation.

Une autre étude visant à estimer les coûts directs liés aux infections nosocomiales du site opératoire a été réalisée, au CHU Mustapha Pacha à Alger, dont 25 ont été victimes d'infections parmi 472 patients hospitalisés (Djerir et al., 2004).

L'estimation du coût était comme suit :

- Chaque patient opéré doit payer 370 Da par jour pour l'antibiotique, ce qui équivaut à 2220 Da pour une période de 6 jours et à 1047840 Da pour 472 patients opérés.

- Les antibiotiques ont un coût supplémentaire de 3008.1 DA pour chaque patient, ce qui équivaut à 75202.5 Da pour 25 patients infectés. Le coût global supplémentaire est donc évalué à 1123042.5 Da.

Une autre étude avait pour objectif l'évaluation du coût de la prise en charge de l'infection nosocomiale au sein du service de réanimation médicale du CHU de Tizi Ouzou Nedir (**Lydia et Meriem, 2017**). Cette étude a permis de calculer les coûts directs et indirects dus à l'IN, un surcoût de 6 652 915.17 DA a été estimé (350 153 .43 DA/patient), avec un coût de 35 294.18 DA (1.857,58 DA/patient) pour les examens para-cliniques et 1 549 489.94 DA (81 552.10 DA/patient) pour les anti-infectieux.

L'absentéisme au travail a entraîné un déficit d'au moins 46.200 DA (6.600 DA/patient) en raison de la prolongation des hospitalisations.

Le calcul de ces coûts permet de sensibiliser et d'alerter les établissements sur les conséquences lourdes de ses infections sur le plan économique mais aussi et surtout sur le plan humain (morbidité / mortalité) ; afin de mettre en place des stratégies de prévention pour lutter contre ces infections, permettant ainsi de diminuer les pertes engendrées par ces dernières (**Kessi, 2022**).

### 7.3 Les obstacles entravant la lutte contre les IN en Algérie

Le manque de coordination et la faible organisation du travail est l'une des obstacles, car la surveillance et la lutte contre les infections nosocomiales nécessitent un travail collectif avec une collaboration pluridisciplinaire dirigée par le Comité de Lutte contre les infections nosocomiales (CLIN) de l'hôpital (**Baghdadi et al., 2020**), dont les cliniciens, les aide soignants, les blanchisseries, les services de bio-nettoyage, les services d'épidémiologie et de médecine préventive) font partie de ce comité (**Saidoun, 2021**).

Les insuffisances financières et matérielles, car les enquêtes microbiologiques constituent un outil laborieux, coûteux et les techniques sont malheureusement peu

standardisées (**Boulahouat et Aliziane., 2020 ; Baghdadi et al., 2020**), et même la collectivité coûte cher en raison du manque de moyens de diagnostic.

La négligence des mesures préventives par les professionnels de santé, la méconnaissance totale des patients sur les infections nosocomiales et l'absence d'une culture de prévention et de sensibilisation sur les risques d'infections nosocomiales sont à l'origine de la prolifération du risque infectieux au niveau des établissements de santé en Algérie (**Boulahouat et Aliziane, 2020**).

Des études ont montré que la mise en œuvre de programmes de prévention et de contrôle des infections peut réduire la durée du séjour et éviter des coûts supplémentaires. Les hôpitaux peuvent éviter entre 12 000 et 223 000 IAS et économiser entre 142 millions et 4.25 milliards de dollars par an grâce aux mesures de prévention des infections (**Schmier et al., 2016**). Cependant, de gros efforts ont été déployés par les programmes de prévention et de contrôle des infections pour développer des systèmes de surveillance et des méthodes de contrôle des infections dans le monde (**Storr et al., 2017**).

La surutilisation d'antibiotiques expose non seulement les patients à un risque de développer des effets secondaires des médicaments et des ICD, mais contribue également à aggraver le problème de la résistance aux antimicrobiens (**Weiner et al., 2016**). Pour cela les patients doivent être informés de l'utilisation appropriée des antibiotiques et des indications permettant de prévenir un éventuel abus d'antibiotiques (**Schmier et al., 2016**).

Pour lutter contre les IN, les établissements associés au Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales (CLIN) ont déployé de nombreuses mesures de préventions. Parmi les principales concernent l'hygiène des mains (**Gauzere, 2012**). Cette dernière est l'aspect le plus important du contrôle des infections et de la prévention des infections nosocomiales (IAS). Malheureusement, le lavage des mains est de plus en plus négligé dans les PED, ce qui contribue à l'émergence et à la propagation d'IN (**Allegranzi et al., 2011**).

Ainsi, des mesures d'hygiène doivent être appliquées afin d'éviter la contamination entre les patients immunodéprimés par le port de bavette pour les malades toussant, hospitalisation dans des secteurs à part ou au moins désinfection approfondie des chambres (**Dorbani, 2022**).

L'absence de documentation microbiologique est inexistante; même les études réalisées dans ce domaine dans les pays en développement en général et en Algérie en particulier sont rares (**Chabni et al., 2019**).

### 8. Les méthodes d'identification microbienne

L'identification des micro-organismes est indissociable de la taxonomie, science de la description, de la classification et de l'inventaire du vivant (**Guerra-García et al., 2008**). Les origines de la taxonomie remontent à Aristote et ont été définies par Carl Linnaeus avec son système de classification binomiale. L'association entre identification et taxonomie est cruciale en microbiologie, où la variété des micro-organismes est très vaste (**Godfray, 2002 ; Enghoff, 2009**). Les progrès technologiques, notamment dans le domaine de la biologie moléculaire, ont renforcé les techniques d'identification tout en approfondissant la compréhension de la diversité des microbes. La taxonomie est donc le cadre conceptuel et méthodologique indispensable pour une identification précise des micro-organismes, ce qui est crucial pour de nombreuses applications scientifiques et médicales. (**Bisen et al., 2012**)

#### 8.1 Historique

Au cours des dernières décennies, les scientifiques ont cherché des moyens plus efficaces pour identifier les micro-organismes (**Bisen et al., 2012**). Pendant longtemps, la classification phénotypique était la norme, mais elle était sujette à des incertitudes et des difficultés (**Donelli et al., 2013**). Par exemple, des divergences de typage ont été observées dans les groupes de *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus casei* (**Yeung et al., 2002**). Les méthodes phénotypiques, telles que les réactions basées sur le pH et les profils enzymatiques, étaient couramment utilisées (**Lagieret al., 2015**). Ces approches étaient limitées par leur capacité à différencier de manière précise les espèces bactériennes.

Au tournant du 21<sup>e</sup> siècle, les outils moléculaires et les bases de données de séquences ont émergé, permettant une identification plus précise des micro-organismes (**Lagier et al., 2015**). L'avènement de la biologie moléculaire dans les années 1940 et le développement de la PCR en 1985 ont ouvert la voie à de nouvelles méthodes basées sur l'ADN (**Madigan et al., 2012**). Des approches telles que le séquençage de l'ARN 16S et l'hybridation ont été développées, permettant une identification plus précise des espèces bactériennes. Ces avancées ont eu un impact significatif sur des domaines tels que l'écologie microbienne, la

phylogénie et l'analyse du génome fonctionnel (Breitwieser, et *al.*, 2019 ; Franco-Duarte et *al.*, 2019).

Les progrès récents dans l'identification des micro-organismes ont été marqués par le développement de méthodes moléculaires et omiques, permettant une caractérisation plus précise et à haut débit des communautés microbiennes (Breitwieser, et *al.*, 2019).

### **8.2 Méthodes d'identification basées sur les milieux chromogènes**

Les méthodes d'identification traditionnelle basées sur des procédures de culture dans différents milieux visent initialement à obtenir une culture pure afin d'énumérer, isoler et identifier un micro-organisme particulier. Ces méthodes se sont largement utilisées pendant de nombreuses années et continuent d'être utilisées jusqu'à nos jours, notamment dans certaines routines de laboratoire médical pour détecter et caractériser un pathogène spécifique. Il est important de souligner que cette approche permet d'identifier le micro-organisme à partir des réactions des milieux utilisées avec les métabolites que produit le microorganisme lui-même (Franco-Duarte et *al.*, 2019).

La caractérisation microbiologique basée uniquement sur la culture est incomplète et présente des difficultés importantes, telles que la lenteur des résultats et la non-cultivabilité de certaines espèces microbiennes, ce qui limite sa pertinence dans les cas où une identification rapide est essentielle. En fait, selon les écologistes microbiens, jusqu'à présent, moins de 0,1 % des phylotypes identifiés par l'analyse moléculaire communautaire sont présents en culture de laboratoire (Madigan et *al.*, 2012).

### **8.3 Caractérisation phénotypique basée sur la morphologie, la physiologie, la chimie et les caractéristiques biochimiques (culture dépendante)**

Les méthodes biochimiques traditionnelles constituent un ensemble de techniques fondamentales utilisées pour identifier et caractériser les microorganismes. Ces méthodes, sont largement utilisées depuis des décennies, jouent un rôle crucial dans divers domaines tel que le domaine médical, industriel et alimentaire où la précision est primordiale.

Ces techniques classiques offrent à la fois des données quantitatives et qualitatives sur la diversité microbienne, mais se sont laborieuses et prennent du temps, nécessitant plusieurs

jours pour obtenir des résultats. Il est également possible d'obtenir des faux positifs, , surtout avec des espèces microbiennes similaires.

Dans le cadre de ces méthodes traditionnelles, Les approches phénotypiques sont couramment utilisées, où les microorganismes sont caractérisés par des réactions à divers produits chimiques. Selon O'Hara en (2005), les microorganismes sont identifiés en se basant sur la détection visuelle de la croissance microbienne en présence de substrats, en comparant les résultats à des témoins via une carte de Wickerham.

Les techniques immunoenzymatiques (EIA), tels que l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), une technique classique également impliquée pour l'identification, utilise les propriétés catalytiques des enzymes pour détecter et quantifier les réactions immunologiques. C'est une technique hétérogène très utilisée dans les analyses cliniques. Bien que leur utilisation soit limitée à certaines espèces bactériennes en raison de leur coût élevé (Alhajj, 2023).

D'autres méthodes très utiles. Les systèmes d'index de profil analytique (API), comme l'API 20E, API 20NE API Staph ont été largement employés comme des méthodes de référence jusqu'à une période récente, offrent une identification microbienne détaillée basée sur une série de réactions biochimiques. Chaque réaction vise à détecter une activité enzymatique particulière ou une voie métabolique chez le microorganisme testé. Les résultats de ces tests sont ensuite interprétés à l'aide d'une base de données ou d'un logiciel associé, fournissant une identification probable de l'espèce microbienne en fonction du profil de réaction (Altheide, 2020).

L'émergence de systèmes automatisés tels que le système Vitek® dans les années 1970 a permis de réduire à la fois le temps et la subjectivité associés à la lecture des réactions des tests. Ces systèmes fournissent une identification bactérienne simultanée ainsi que des profils de test de sensibilité aux antimicrobiens (AST), offrant ainsi une approche plus rapide et plus fiable pour l'identification des microorganismes. Le système Vitek basé sur une technique de microdilution en bouillon entièrement automatisée qui utilise une atténuation de la lumière mesurée par un scanner optique afin de détecter la croissance ou l'absence de croissance (Puttaswamy et al., 2018).

L'évolution des connaissances en biochimie et l'amélioration des équipements plus avancés ont fait disparaître l'usage de ces méthodes classiques. De nouvelles méthodes biochimiques plus contemporaines ont été mises au point à leur place, présentant de nombreux bénéfices par rapport aux méthodes traditionnelles basées sur la culture.

### 8.4 Microscopie

Le microscope est un outil crucial pour l'identification des micro-organismes dans les échantillons naturels, permettant d'analyser leur morphologie, leur mouvement et leur structure cellulaire. Elle est particulièrement utile pour différencier entre diverses bactéries telles que les streptocoques, les staphylocoques et les bacilles (**Murray et al., 2007**). La microscopie seule ne suffit pas, pour plusieurs raisons : les cellules de petite taille sont difficiles à identifier, les procaryotes varient en taille et certaines cellules sont proches des limites de résolution, et il est difficile de différencier les cellules vivantes des cellules mortes ou inanimées (**Madigan et al., 2012**). De plus, la microscopie ne révèle pas la diversité phylogénétique des micro-organismes dans l'habitat étudié.

En combinaison avec d'autres instruments comme la microscopie électronique, la technique s'avère plus prometteuse. D'après des recherches récentes, l'utilisation de la microscopie à fluorescence avec des sondes spécifiques peut permettre d'identifier les bactéries de manière plus précise en utilisant des marqueurs spécifiques à certaines espèces ou groupes bactériens. (**McGoverin et al., 2021**).

### 8.5 Spectrométrie de masse

Les méthodes de spectrométrie de masse sont devenues très prisées pour le typage des microorganismes en raison de leur rapidité, de leur coût abordable, de leur simplicité et de leur capacité à s'appliquer à une vaste gamme de microorganismes.

C'est une technique qui analyse les composants chimiques d'un échantillon. Elle repose sur la mesure précise des masses moléculaires et des taux de charge des ions présents dans l'échantillon (**He et al., 2023**).

La mise au point de ces méthodes de MS, ainsi que l'apparition de nouveaux outils d'analyse, de traitement et de visualisation des données, ont également contribué à améliorer la compréhension des systèmes biologiques (**Jannetto et Danso, 2020**).

Ces progrès permettent maintenant d'étudier différents ensembles de biomolécules, tels que les protéines, les lipides, les glucides et les acides aminés, ce qui renforce encore plus l'intérêt de la spectrométrie de masse (He et al., 2023). En outre, cette méthode peut être associée à diverses autres techniques d'ionisation et de séparation, comme la chromatographie en phase gazeuse (GC), la spectrométrie de masse en mode temps de vol avec ionisation par désorption laser assistée par matrice (MALDI-TOF) (Hou et al., 2019). Les techniques d'électromigration et l'ionisation par électrospray (ESI) (Pino et al., 2020).

### 8.6 Les méthodes moléculaires

L'émergence de la biologie moléculaire a apporté de nombreux outils et techniques pour l'identification, la caractérisation et le typage des microorganismes (Sinha et al., 2018; Zhang et al., 2021). Auparavant, l'identification et la caractérisation des espèces bactériennes étaient largement effectuées par des méthodes phénotypiques et biochimiques, qui reposaient sur l'isolement préliminaire et la culture (Altheide, 2020). Bien que ces méthodes continuent de jouer un rôle dans certains contextes, les techniques basées sur les molécules ont apporté des informations sans précédent sur l'identification et le typage bactériens. De plus, La popularité et la disponibilité des outils moléculaires pour le génotypage microbien ont entraîné des analyses à haut débit, des résultats très sensibles, plus précis et différenciés, et des délais de réalisation rapides (Adzitey et al., 2013 ; Franco-Duarte et al., 2019).

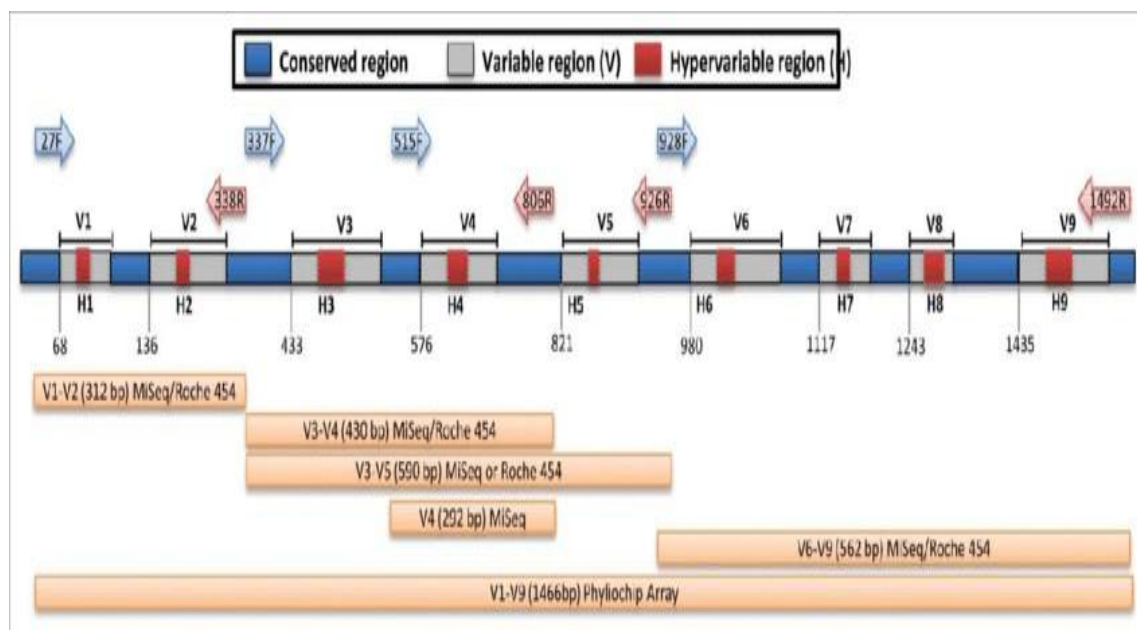
La plupart de ces méthodes d'identification moléculaires sont basées sur une variation de l'analyse de l'ADN, soit par amplification soit par séquençage. Ces techniques varient de méthodes assez basiques qui utilisent l'amplification de l'ADN à des méthodes plus complexes qui utilisent l'analyse de fragments de restriction, le séquençage des gènes spécifiques et des génomes entiers (Galluzzi et al., 2007).

#### 8.6.1 16S rRNA PCR-Sequencing

Une méthode moléculaire standard, basée sur deux approches ; l'amplification et le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. Ce gène est une molécule exceptionnellement conservée de l'ADN bactérien largement présente dans toutes les cellules bactériennes (Clarridge, 2004), et hautement spécifique à chaque espèce, ce qui constitue une base solide pour l'identification des bactéries et aider à différencier entre les espèces (Figure 5). Le gène de l'ARNr 16S est responsable de la traduction des messages génétiques en protéines fonctionnels. (Byrne et al., 2018). De cette manière, l'ARN ribosomal fait partie de tous les

systèmes d'autoréplication ; il est aisément isolé ; sa séquence évolue lentement au fil du temps, ce qui permet de détecter la parenté entre des espèces très éloignées (Fox *et al.*, 1977)

De 2001 à 2007, 215 nouvelles espèces bactériennes ont été découvertes grâce au séquençage du gène de l'ARNr 16S, dont 29 ont été classées dans de nouveaux genres (Wang *et al.*, 2015).



**Figure 5:** la distribution des régions variable et hyper-variables, ainsi que des régions conservées, du gène de l'ARN 16S (Shahi *et al.*, 2017).

Cette méthode consiste à amplifier le gène de l'ARNr 16S par PCR utilisant des amorces universelles, qui englobent les régions conservées (notées en bleu), variables et hypervariables (notées de V1 à V9 et de H1 à H9) utilisées pour la comparaison taxinomique (Figure 5). Selon Clarridge (2004), les séquences d'amorces sont accessibles gratuitement sur Internet, puis à le séquencer sur l'une des nombreuses plates-formes, y compris la méthode de sanger, le pyroséquençage 454 (Hamady *et al.*, 2008), l'Illumina HiSeq et MiSeq (Bartram *et al.*, 2011), et l'Ion Torrent (Whiteley *et al.*, 2012), et à le comparer avec des bases de données de référence telles que le Projet de base de données ribosomique (RDP) II (<http://rdp.cme.msu.edu/>) et GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) est possible de récupérer à partir de ces bases de données les séquences d'espèces apparentées pour l'analyse phylogénétique comparative. Des outils de comparaison de séquences comme BLAST et

CLUSTALX sont employés afin de synchroniser plusieurs séquences de gènes de l'ARNr 16S. (Vishakha *et al.*, 2019; Church *et al.*, 2020).

D'après les recommandations pour la classification bactérienne, les souches qui ont moins de 97 % de similarité dans la séquence du gène de l'ARNr 16S sont considérées comme des espèces bactériennes distinctes. En revanche, celles qui ont plus de 97 % de similarité doivent être classées selon une méthode alternative (Wang *et al.*, 2015b).

L'approche 16S rRNA PCR-Sequencing est non seulement plus rapide que les méthodes traditionnelles basées sur la culture, et elle est également bénéfique pour l'identification de bactéries qui sont difficiles à cultiver en laboratoire (Kai *et al.*, 2019).

L'approche 16S rRNA PCR-Sequencing est rapide et bénéfique pour identifier les bactéries difficiles à cultiver. (Kai *et al.*, 2019). Mais, elle rencontre des limitations majeures : elle ne peut pas distinguer les espèces très proches, telles que *Psychrobacter maricola* et *Psychrobacter submarinus*, avec une similitude de séquence de 99,9 % (García-López *et al.*, 2014). De plus, cette méthode est insuffisante pour différencier les niveaux taxonomiques inférieurs, comme les souches et les sous-souches, limitant ainsi sa capacité à caractériser précisément la diversité microbienne (Ellermann *et al.*, 2017).

### 8.6.2 Real-Time PCR

La RT-PCR, connue sous le nom de PCR quantitative, est un processus enzymatique utilisé *in vitro* pour l'amplification d'une région d'ADN sélectionnée sur plusieurs ordres de grandeur, générant des milliers, voire des millions de copies d'un segment d'ADN spécifique. Elle offre une corrélation fiable entre le nombre initial de séquences cibles (avant l'amplification par PCR) et la quantité d'amplicon accumulée dans un cycle PCR spécifique (Arya *et al.*, 2005; Artika *et al.*, 2020).

Cette méthode présente de multiples bénéfices par rapport à la PCR classique, tels que la sensibilité et une précision plus élevées, ainsi que la possibilité de surveiller l'amplification de l'ADN en temps réel grâce à l'intensité de fluorescence, ce qui évite le besoin de techniques de détection post-PCR, minimisant ainsi le risque de contamination croisée due aux amplicons précédents (Artika *et al.*, 2020).

La PCR en temps réel a bouleversé la détection et la quantification des acides nucléiques cibles et a été utilisée dans de nombreuses applications telles que l'étude de

l'expression génique, la détection des mutations, la détection et la mesure des agents pathogènes y compris le virus SRAS-CoV-2, la détection des organismes génétiquement modifiés, la surveillance de la dégradation microbienne, l'identification des espèces et la spécification des parasites (**Deepak et al., 2007; Artika et al., 2022**).

### 8.6.3 Random Amplification of Polymorphic DNA–RAPD-PCR

L'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe (RAPD)-PCR est une technique qui utilise des amorces courtes (de 8 à 12 nucléotides de long) avec des séquences arbitraires qui se lient de façon aléatoire à l'ADN modèle. Cela entraîne une augmentation des zones spécifiques et répétitives de l'ADN matrice, ce qui offre un profil unique pour l'identification des bactéries (**Jones et Kortenkamp, 2000**). Ensuite, les produits amplifiés subissent une électrophorèse standard sur gel d'agarose afin de produire des empreintes digitales RAPD uniques. L'utilisation de la RAPD-PCR permet d'identifier et de classification d'une variété d'espèces bactériennes qui n'ont pas encore été identifiées ou pour lesquelles aucune donnée de séquence préalable n'est disponible. En outre, il est possible de la réaliser directement à partir de bactéries entières, sans avoir besoin d'isoler l'ADN (**Baker et al., 2016**).

Le typage RAPD, qui se base sur des amorces aléatoires universelles, offre une solution viable pour identifier des marqueurs moléculaires spécifiques à un gène, et a également été employé comme outil pour identifier la diversité génétique des micro-organismes. (**Jones et Kortenkamp, 2000; Abdollahniya et al., 2018**).

### 8.6.4 Restriction Fragment Length Polymorphism–RFLP

Approche moléculaire utilisée pour identifier les souches bactériennes en se basant sur des empreintes digitales uniques générées par des variations dans les séquences d'ADN homologues. RFLP, basée sur la PCR, fait appel à une restriction enzymatique découpe les amplicons d'ADN amplifiés en fragments de différentes tailles. Ces fragments sont ensuite séparés par électrophorèse pour produire un motif de bandes distinct pour chaque souche bactérienne. Les variations dans ces motifs indiquent la diversité des souches bactériennes. Lorsque deux souches sont étroitement liées, leurs motifs de bandes seront similaires, voire identiques (**Perry et al., 2011 ; Franco-Duarte et al., 2019**).

Cette méthode est particulièrement utile pour l'épidémiologie moléculaire des épidémies infectieuses. Grâce à elle, il est possible de déterminer si plusieurs cas ou patients sont associés à une même épidémie, de retracer la source de l'épidémie et d'identifier les souches bactériennes incriminées. **(Franco-Duarte et al.,2019)**

### 8.6.5 Amplified Fragment Length Polymorphism–AFLP

La technologie AFLP ressemble à la technologie RFLP dans la mesure où l'ADN génomique est d'abord fragmenté à l'aide d'enzymes de restriction. cette technologie a été brevetée en Europe en 2000 par Keygene (Wageningen, NL) (**Şahin et al., 2022**).

Le protocole AFLP se distingue du RFLP en amplifiant et en visualisant les fragments par PCR, en utilisant des amorces spécifiquement conçues pour se lier aux séquences des sites de restriction aux extrémités des fragments **(Franco-Duarte et al., 2019 ; Şahin et al., 2022)**. Seules quelques séquences de restriction sont amplifiées de manière sélective, suivies par l'analyse des empreintes digitales AFLP par électrophorèse sur gel. Cela génère un ensemble de fragments d'ADN distincts issus d'un unique génome bactérien. **(Franco-Duarte et al., 2019)**.

L'AFLP offre l'avantage d'être une technologie précieuse pour étudier les relations génétiques au sein d'un pool de matériel génétique. Elle permet d'obtenir des données de marqueurs qui soutiennent la sélection de variétés commerciales pour leur enregistrement, même en l'absence d'une connaissance préalable de la séquence du génome (**Şahin et al., 2022**).

Les techniques RFLP, RAPD et AFLP sont toutes des techniques de polymorphisme de l'ADN utilisées pour identifier des variations génétiques. Chacune d'entre elles a ses propres avantages et inconvénients. La technique RFLP est la plus ancienne et la plus établie, mais elle nécessite une grande quantité d'ADN et peut être difficile à mettre en œuvre. Les techniques RAPD et AFLP sont plus récentes et plus faciles à mettre en œuvre, mais elles peuvent donner des résultats moins fiables **(Denman et al., 2006 ; Franco-Duarte et al., 2019)**.

Le choix de la technique à utiliser dépendra de l'application spécifique. Si une grande précision est requise, la technique RFLP est le meilleur choix. Si une grande quantité d'ADN n'est pas disponible, ou si la technique doit être facile à mettre en œuvre, les techniques RAPD ou AFLP peuvent être des choix plus appropriés **(Franco-Duarte et al., 2019)**. Le

**tableau 4** résume les différences et les similitudes entre les trois techniques de marqueurs moléculaires

**Tableau 4** : Les caractéristiques comparatives entre les trois approches de marqueurs moléculaires RFLP, RAPD, AFLP (Franco-Duarte et al., 2019; Şahin et al., 2022).

Caractéristique	RFLP	RAPD	AFLP
Type de marqueur	Dominant	Codominant	Dominant
Approche	Non basée sur la PCR	Basée sur la PCR	Combinaison de RFLP et RAPD
Besoins en enzymes de restriction	Nécessaires	Pas nécessaires	Nécessaires (coupeurs fréquents et coupeurs rares)
Quantité d'ADN requise	Grande	Faible	Faible
Amorces	Pas nécessaires	Utilisation d'amorces arbitraires multiples, conduisant à des résultats peu fiables	Utilise uniquement deux amorces et donne des résultats reproductibles
Règles d'utilisation des enzymes de restriction	Pas de règles strictes	Pas d'enzymes de restriction nécessaires	Combinaison d'enzymes de restriction

### 8.6.6 Pulsed-Field Gel Electrophoresis–PFGE

L'électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE) est une méthode robuste de génotypage, basée sur la séparation des larges fragments d'ADN jusqu'à 10 Mb, tels que des génomes entiers, après leur digestion par des enzymes de restriction spécifiques. Elle implique l'application de ces molécules d'ADN sur une matrice de gel d'agarose soumise à un champ électrique qui change périodiquement de direction (Sharma-Kuinkel et al., 2016).

Les avantages de cette technique incluent la capacité à analyser des fragments d'ADN bactérien sur une échelle bien plus grande que celle des méthodes conventionnelles par enzymes de restriction. Il est ainsi possible d'obtenir une représentation complète du chromosome bactérien sur un seul gel, avec un profil de restriction hautement reproductible. Les fragments d'ADN résultants sont distincts et bien résolus, permettant de mettre en

évidence les différences et les similitudes entre les isolats (**Sharma-Kuinkel et al., 2016 ; Franco-Duarte et al., 2019**).

### 8.6.7 Whole-Genome Sequencing (WGS)

La progression des technologies de séquençage est divisée en trois générations différentes. Dans les années 1980, le séquençage de Sanger a été utilisé comme base pour le séquençage de l'ADN. La deuxième génération était le séquençage massivement parallèle via des plateformes comme Illumina et Ion Torrent, qui ont bouleversé les capacités de séquençage à haut débit. À l'heure actuelle, les technologies de troisième génération permettent de séquençer à longues lectures et à molécules uniques (**Hawkins, 2017**). L'une des premières séquences complètes du génome humain a été réalisée avec succès lors du projet du génome humain, marquant une étape majeure en l'an 2000 (**Akintunde et al., 2023**).

Le séquençage du génome complet (WGS) devient la méthode privilégiée pour le diagnostic moléculaire et génétique. Cette approche est très accessible pour le génotypage des microorganismes. Par rapport à d'autres méthodes génétiques, le WGS offre la possibilité de séquençer l'ensemble du génome, permettant la détection de pratiquement toutes les variantes dans les régions codantes et non codantes ce qui permet d'acquérir une connaissance approfondie a la plupart des variations génomiques et élimine le besoin de tests génétiques séquentiels. La méthode offre un volume de données important et le traitement de ces données nécessite une infrastructure informatique. Le résultat d'une seule analyse de WGS comprend environ 5 millions de variantes, et l'interprétation des données implique un personnel spécialisé en bioinformatique (**Franco-Duarte et al., 2019; Brlek et al., 2024**).

Depuis le séquençage du génome humain en 2003, les avancées technologiques ont considérablement réduit les coûts de séquençage passant d'environ 1 million de dollars en 2007 à 1000 \$ en 2014 et est aujourd'hui d'environ 600 \$ (**Akintunde et al.,2023**), et permettant l'adoption généralisée de techniques de nouvelle génération telles que WES et WGS. Ces techniques offrent une haute précision et une rapidité accrue par rapport aux tests traditionnels, bénéficiant notamment aux programmes de dépistage des nouveau-nés et à la détection de mutations génétiques chez les enfants atteints de maladies rares (**Schmitz et al., 2022; Nurchis et al., 2022**).

### 8.6.8 La métagénomique

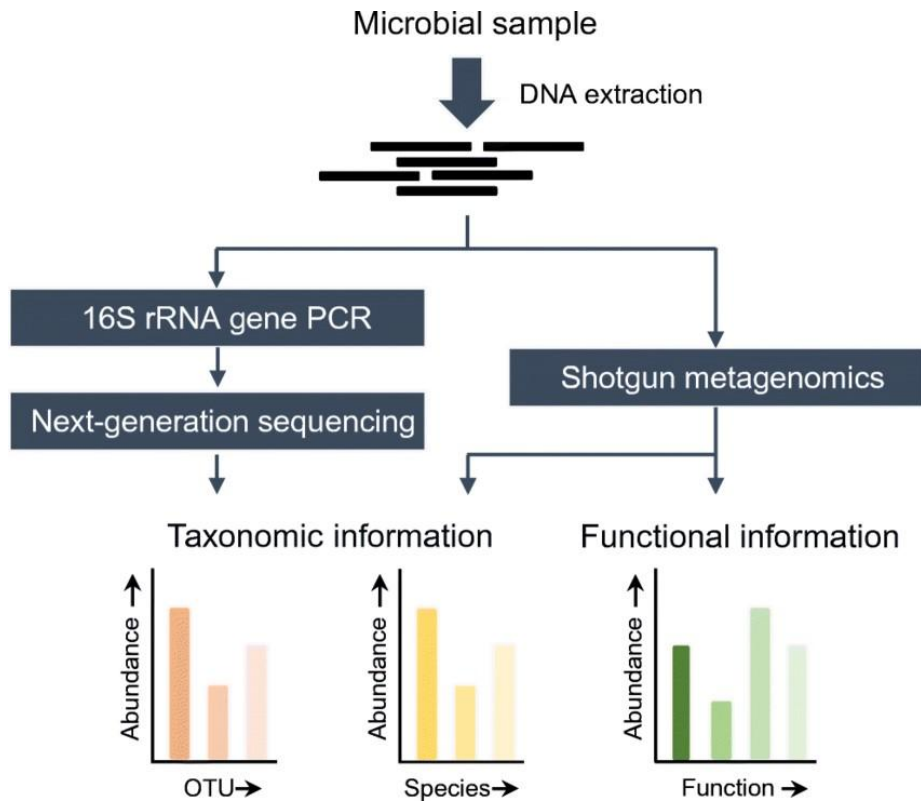
Appelée aussi génomique des communautés ou génomique environnementale, est l'étude de l'ensemble des séquences d'ADN extraites de communautés multi-espèces prélevées dans l'environnement qui représente les métagénomomes quelle que soit la nature de l'échantillon et l'abondance des entités microbiennes **(Baussand et Carbone 2006)**.

Cependant, plus de 99% des bactéries sont non cultivables, mais avec l'approche «métagénomique», il est possible de séquencer l'ADN de toutes les bactéries présentes dans un milieu donné (sol, eau, tube digestif de l'homme et des animaux, échantillons cliniques). **(Diene et al., 2014)**.

La génomique bactérienne, permet l'étude des génomes bactériens (leur structure, leur évolution, la fonction des gènes codés et leur régulation), elle est principalement basée sur l'isolement et la culture d'une bactérie donnée. La culture pure est une étape essentielle pour étudier sa virulence, sa pathogénicité ou sa résistance **(Archana et al., 2024)**.

Elle joue également un rôle dans la compréhension de la part biochimique des microbes dans les environnements atypiques ainsi que de leurs interactions avec d'autres facteurs environnementaux **(Dash et Das, 2018)**.

Une analyse typique du métagénome peut suivre deux approches principales. La première consiste à amplifier spécifiquement le gène 16S rRNA à partir de l'ADN extrait de l'échantillon, puis à séquencer les amplicons à l'aide des techniques de NGS. La seconde approche, dite métagénomique shotgun, repose sur le séquençage direct de l'ensemble de l'ADN fragmenté, sans étape d'amplification ciblée. Dans les deux cas, les données générées sont traitées à l'aide d'une vaste gamme d'algorithmes bioinformatiques afin d'explorer la composition taxonomique et/ou le potentiel fonctionnel de l'échantillon analysé. **(Dash et Das, 2018; Boers et al., 2019) (Figure 6)**.



**Figure 6** : Présentation de deux lignes de la méthode moléculaire Metagénomique  
(Boers et al., 2019).

Bien que ces approches présentent des avantages et des limites différents, le choix de la technologie utilisée est influencé par divers facteurs tels que le type d'échantillon (clinique ou de recherche, espèce unique ou espèces multiples), la profondeur et la précision des résultats obtenus, les ressources et les coûts, ainsi que les délais d'exécution prévus (Schmitz et al., 2022).

# *Matériel et méthodes*

**I. Matériel et méthodes**

**1. Présentation des lieux d'étude :**

**1.1 Hôpital Sœurs Badj :**

L'établissement public hospitalier SB est une infrastructure sanitaire ayant un caractère administratif et une autonomie financière. Il a été construit conformément au décret exécutif n° 11/357 du 17 octobre 2011 à la wilaya de Chlef, avec une capacité d'accueil de 240 lits.

Cet établissement assume un ensemble d'activités hospitalières qui se résument dans : le diagnostic, le dépistage, la prévention et la cure ; et la garantie de la formation du personnel paramédical. Il dispose des services cliniques et médico-techniques suivants : **(Tableau 5).**

Les services d'hémodialyse et des urgences ont été inaugurés en 2016 par le ministre de la Santé.

**Tableau 5:** Les services cliniques et médico-techniques dans l'Hôpital SB

<b>Services</b>	<b>Unités</b>	<b>Capacité</b>
Anatomie pathologie	- Hospitalisation hommes et femmes - Dialyse	12 générateurs fonctionnels
Anesthésie réanimation	- Hospitalisation hommes et femmes	20
Chirurgie générale	- Hospitalisation hommes et femmes	50
Chirurgie orthopédique	- Hospitalisation hommes et femmes	50
Chirurgie urologique	- Hospitalisation hommes et femmes	30
Neurochirurgie	- Hospitalisation hommes et femmes	30
Ophthalmologie	- Hospitalisation hommes et femmes - Chirurgie ambulatoire	20
Oto-rhino-laryngologie	- Hospitalisation hommes et femmes - Chirurgie ambulatoire	20
Rééducation fonctionnelle	- Hospitalisation hommes et femmes	20

**1.2 Hôpital Frères Khelif :**

L'établissement public hospitalier des FKH a été construit après le séisme du 10 Octobre 1980 à Chlef, sa structure est en préfabriqué. Avec une superficie couverte utile 10.520 m<sup>2</sup> et une capacité de 186 lits, dispose 10 services **(Tableau 6).**

L'hôpital connaît des travaux de reconstruction dédié principalement à la prise en charge de la femme et de l'enfant à travers ses services de maternité-gynécologie et de

pédiatrie, également des travaux d'aménagement sont en cours afin de doter l'hôpital d'un nouveau service des urgences médico-chirurgicales, d'une capacité de 186 lits, il connaît des travaux de reconversion en hôpital mère-enfant.

**Tableau 6:** Les services cliniques et médico-techniques dans l'Hôpital FKH.

Services	Unités	Capacité
Gynéco obstétrique	Hospitalisation femmes	32 lits
Maternité	Hospitalisation femmes	35 lits
Soins intensifs	Hospitalisation hommes et femmes	13 lits
Pédiatrie	Hospitalisation enfants	25 lits
Néonatalogie	Hospitalisation nouveau-né	36 lits
U.M.C	Hospitalisation hommes et femmes	6 lits
Hémodialyse	Hospitalisation hommes et femmes	08générateurs
Radiologie	Unité techno médicale	01
C.T.S	Unité techno médicale	01
Pharmacie	Unité techno médicale	01

## 2. Méthodologie:

### 2.1 Échantillonnage:

La collection des échantillons a été réalisé entre la période, Novembre 2016 à Mars 2018 au niveau des hôpitaux FKH et SB.

Selon la norme ISO 14698-1 : 2003 (**Annexe 1**), nous avons utilisé la méthode d'écouvillonnage dont l'objectif est la recherche des germes bactériens sur des surfaces bien précises négligées par le protocole de nettoyage quotidien de chaque hôpital (les poignets des portes, les téléphones des services, les lits d'hospitalisation et l'appareillage médicale inclus, pousse seringue, couveuse bébé, table chauffante de réanimation de bébé, générateur de hémodialyse, ECG, le Scope, Masques aérosols, Masques oxygène, stéthoscopes autoscopies, le matériel d'intubations, les chariots d'urgence.

Dans les deux hôpitaux, SB et FKH, l'échantillonnage a été réalisé uniquement dans quatre services hospitaliers. Au total, 192 prélèvements ont été effectués dans chaque hôpital (**Tableau 7 et 8**).

**Tableau 7:** Récapitulation des données relatives aux prélèvements dans l'Hôpital FKH.

Les services	Les poignets	Les lits d'hospitalisation	Le téléphone de service	L'appareillage médical
Hémodialyse	09	13	11	15
Gynécologie	11	10	12	09
Néonatalogie	08	13	14	13
Pédiatries	20	12	11	11
Total	48	48	48	48

**Tableau 8 :** Récapitulation des données relatives aux prélèvements dans l'Hôpital SB

Les services	Les poignets	Les lits d'hospitalisation	Le téléphone de service	L'appareillage médical
Urologie	14	18	09	10
Médecine interne F/H	12	11	13	17
Chirurgie et Réanimation	12	10	15	11
Cardiologie	10	09	11	10
Total	48	48	48	48

Les surfaces hospitalières sélectionnées pour cette étude ont été choisies de manière réfléchie et regroupées en quatre catégories distinctes :

**A. Lits d'hospitalisation (Figure 7) :**

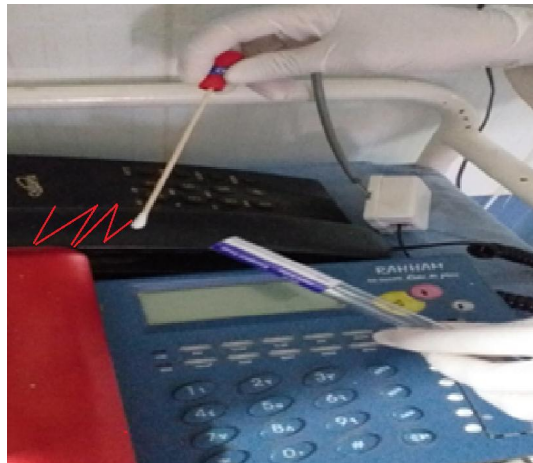
Les lits d'hospitalisation sont des équipements indispensables au bon fonctionnement des établissements de santé. Ils sont fabriqués à partir de divers matériaux tels que l'acier, le plastique et le bois afin d'assurer leur solidité, leur durabilité, leur confort et leur hygiène. Étant en contact direct avec les patients, le personnel médical et les visiteurs, les lits ne sont souvent pas correctement nettoyés et désinfectés de manière régulière.



**Figure 7 :** Écouvillonnage en stries sur la surface de lits d'hospitalisation.

**B. Téléphones de service (Figure 8):**

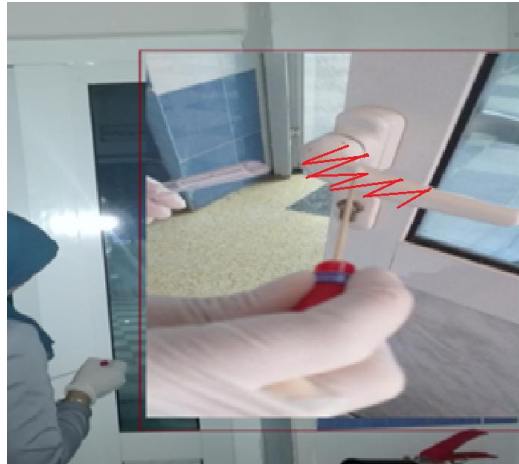
Les téléphones de service sont fabriqués en plastique, sont souvent négligés par les protocoles de nettoyage quotidiens. Bien qu'ils ne soient en contact qu'avec le standardiste de chaque service, leur importance en tant que source potentielle de contamination ne doit pas être sous-estimée.



**Figure 8 :** Écouvillonnage en stries sur la surface de téléphone de service.

**C. Poignées des portes (Figure 9) :**

Toutes les poignées sélectionnées sont fabriquées en acier. Elles sont en contact avec un large éventail de personnes au sein de l'hôpital, y compris les patients, le personnel médical et les visiteurs. Ces poignées sont nettoyées quotidiennement pour maintenir un niveau élevé d'hygiène.



**Figure 9 :** Écouvillonnage en stries sur la surface de poignée de porte.

**D. Appareillages médicaux (Figure 10, 11,12) :**

Les équipements médicaux, fabriqués à partir d'une variété de matériaux tels que l'acier, le plastique, le cuivre et la silicone, sont en contact avec le personnel médical et les patients. Ils sont nettoyés quotidiennement ainsi qu'après chaque utilisation pour réduire les risques de transmission d'agents pathogènes.



**Figure 10:** Écouvillonnage en stries sur la surface de générateur d'hémodialyse.



**Figure 11:** Écouvillonnage en stries sur la surface de la table chauffante de bébé



**Figure 12:** Écouvillonnage en stries sur la surface de pousse seringue.

Cette classification et la sélection des surfaces étudiées sont le résultat d'une analyse minutieuse afin de mieux comprendre les différents niveaux de contamination potentielle dans un environnement hospitalier.

Les écouvillons stériles étaient humidifiés dans un liquide stérile isotonique, ces écouvillons étaient passés sur des surfaces définies en stries parallèles rapprochées en les faisant tourner légèrement, puis sur les mêmes surfaces en stries perpendiculaires selon Garcia-Cruz et *al* (2012) (Figure 7, 8, 9, 10, 11,12). Alors les écouvillons étaient remis dans les étuis protecteurs et étaient transmis directement au laboratoire de département de biologie de l'université de Chlef dans un délai d'un quatre d'heure.

### 2.2 Analyse au laboratoire :

#### 2.2.1 Caractérisation microbiologique :

##### 2.2.1.1 Isolement et purification des souches :

Tous les écouvillons ont été immédiatementensemencés en surface sur plusieurs milieux de cultures solides différents : LB Agar, Chapman, gélose au Cétrimide et de la gélose à l'Eosine au Bleu de Méthylène. L'isolement des bactéries a été réalisé selon le protocole décrit par Sanders (2012).

**NB:**

La composition de chaque milieu et de chaque solution utilisés dans ce travail est indiquée dans le tableau (Annexe 2), tous ces milieux et solutions sont autoclaves à 121°C pendant 15 minutes.

Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 24h à 37°C. Après la période d'incubation, la procédure de purification de souches isolées est effectuée par un repiquage successif sur les mêmes milieux de culture.

##### 2.2.1.2 Identification bactérienne :

L'identification et la purification des souches ont été effectuées suivant plusieurs étapes successives, basée sur les études suivantes :

#### A. Etude macroscopique :

C'est une étude basée sur l'observation macroscopique de la colonie bactérienne directement à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire. Elle permet de décrire la taille, l'apparence, la couleur, la consistance, le contour, l'opacité et la forme de la colonie bactérienne (Denis *et al.*, 2007).

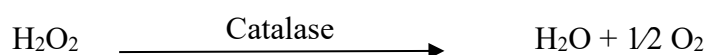
#### B. Etude microscopique :

Elle est basée sur la coloration de Gram (Denis *et al.*, 2007) dont le but de déterminer le type de la paroi bactérienne si c'est Gram-positif ou Gram-négatif, les bactéries Gram-négatif colorées en rose et les bactéries à Gram positif sont violettes. Et aussi la forme des bactéries si elles sont coques ou bacilles (Annexe 3).

**C. Etude physiologique :**

**a. Test de la catalase**

La détection de la présence de la catalase chez les bactéries isolées a été effectuée par l'utilisation de peroxyde d'hydrogène à 30%. La catalase est une enzyme respiratoire qui catalyse la libération des molécules d'eau et d'oxygène à partir du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre, une colonie bactérienne en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes. La réaction est positive en présence d'une réaction d'effervescence, révélant le dégagement d'oxygène. **(Baghaee-Ravari et al., 2011)**

**b. Test d'oxydase**

Ce test est basé sur la recherche de la présence ou l'absence de l'enzyme cytochrome oxydase qui réduit l'O<sub>2</sub>. À l'aide de disques Oxydase (OX) qui sont des disques de papier absorbant imprégnés de. Le disque prend une couleur violette, si la bactérie possède une oxydase, en cas d'absence de la coloration après quelques secondes, la bactérie est oxydase négative **(Schaad et al., 2001; Baghaee-Ravari et al., 2011)**.

**D. Etude biochimique :**

Suite aux tests précédents, une cascade de tests biochimiques est réalisée par les galeries API spéciales pour chaque genre bactérien : API 20E, API 20 STAPH, API20NE (BioMerieux, France) **(Tableau 9)**.

**Tableau 9:** les types de galeries utilisées selon les différents groupes bactériens

La galerie	Genre bactérien détecté
API STAPH	Les staphylococcies
API 20E	Les grams négatifs non exigeants (les entérobactéries)
API 20NE	Les bacilles Gram négatif non fermentaires
API20E Bacillus	Les bacillus

Le système API (Appareils et Procédés d'Identification) est un système miniaturisé et standardisé pour l'identification bactérienne, comporte un ensemble de 20 cupules de tests biochimiques contenant des substrats déshydratés.

Toutes les cupules sont inoculées avec une suspension bactérienne saline avec une densité convenable. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par les virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture des codes obtenus est faite à l'aide du logiciel d'identification développé sur le site UPBM le Lab (<https://lab.upbm.org/identifieur/>) (Figure 13).

api	STAPH	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
+																						
-																						
?																						

**Figure 13 :** Capture d'écran de la grille d'identification API20 E

### 2.2.1.3 Antibiogramme des souches isolées :

Cette technique de microbiologie vise à tester la sensibilité ou la résistance d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs antibiotiques supposés. Elle a été effectuée par la méthode de diffusion de disques sur gélose Muller-Hinton (MHA) (Ozgumus et al., 2007).

Selon les normes préconisées par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013), le milieu gélosé MHA a été ensemencé par une suspension bactérienne d'une culture pure de 24h par la technique d'écouvillonnage, en tournant la plaque de 60° jusqu'à ensemencement de la totalité de la surface, puis les

différents disques d'antibiotiques sont déposés sur cette gélose en respectant la distance entre les antibiotiques.

Après 24h d'incubation à 37°C, la lecture se fait en mesurant avec précision les différents diamètres des zones d'inhibition autour des disques (mm), et comparés aux valeurs critiques «d» et «D» de chaque disque d'antibiotique. Les souches ont été classées en catégorie sensible (S) ou résistante (R) selon les valeurs interprétative de l'antibiogramme.

Divers familles d'antibiotiques ont été testées, ils ont été sélectionnés selon les souches isolées. Leurs concentrations et leurs familles sont représentées dans les **tableaux 10, 11, 12 et 13.**

**Tableau 10 :** Liste des antibiotiques testés sur les Entérobactéries et les Pseudomonas spp.

Famille	Antibiotique	Charge du disque (µg)	Abréviation	Diamètres critiques (mm)			
				<i>Enterobacteriales</i>		<i>Pseudomonas spp</i>	
				S ≥	R <	S ≥	R <
Pénicilline	Pipéracilline	30	P	20	17	18	18
Céphalosporines	Céfotaxime	5	CTX	20	17		
	Ceftazidime	10	CAZ	22	19	17	17
	Cefoxitin	30	CX	19	15	-	-
Carbapénèmes	Imipénème	10	IPM	22	17	20	20
Monobactames	Aztréonam	30	ATM	26	21	18	18
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5	CIP	25	22	26	26
Aminosides	Amikacine	30	AK	18	15	18	15
	Gentamicine	10	GEN	17	14	15	15
	Tobramycine	10	ToB	17	14	16	16

**Tableau 11 :** Liste des antibiotiques testés sur Acinetobacter spp

Famille	Antibiotique	Charge du disque (µg)	Abréviation	Diamètres critiques (mm)	
				<i>Acinetobacter spp</i>	
				S ≥	R <
Pénicilline	Pipéracilline	100	P	21	18
Céphalosporines	Céfotaxime	30	CTX	23	15
	Ceftazidime	30	CAZ	18	15

## MATERIEL ET METHODES

Carbapénèmes	Imipénème	10	IPM	24	21
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5	CIP	50	21
Aminosides	Amikacine	30	AK	19	17
	Gentamicine	10	GEN	17	17
	Tobramycine	10	ToB	17	17

**Tableau 12:** Liste des antibiotiques testé sur *Staphylococcus spp.*

Famille	Antibiotique	Charge du disque (µg)	Abréviation	Diamètres critiques (mm)	
				<i>Staphylococcus spp</i>	
				S ≥	R <
Pénicilline	Pénicilline G	1U	P	26	26
	Ampicilline	2U	AMP	18	18
Céphalosporines	Cefoxitin	30	CX	22	22
	Ciprofloxacine	5	CIP	21	24
	Kanamycine	30	K	22	24
Fluoroquinolones	Gentamicine	10	GEN	22	22
Aminosides	Tobramycine	10	ToB	22	22

**Tableau 13:** Liste des antibiotiques testés sur les *Bacillus spp.*

Famille	Antibiotique	Charge du disque (µg)	Abréviation	Diamètres critiques (mm)	
				<i>Bacillus spp</i>	
				S ≥	R <
Pénicilline	Penicilline G	15	P	29	18
	Ampicilline	10	AMP	21	16
Carbapénèmes	Imipénème	10	IPM	24	17
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	5	CIP	25	22
Aminosides	Gentamicine	10	GEN	17	17
Polypeptide	Colistine	50	CL	15	15
Glycopeptide	Vancomycine	30U	VA	17	17

### 2.2.2 Identification moléculaire :

Les caractéristiques morphologiques et biochimiques sont souvent insuffisantes pour une identification précise de certains genres bactériens (AbuObeid et al., 2018), ce qui limite l'efficacité de ces approches classiques. C'est pourquoi il est préconisé d'utiliser des outils moléculaires plus sophistiqués pour une identification complète, précise et fiable de ces bactéries qui sont difficile à classer. Ces données soulignent donc l'importance d'avoir recours à des méthodes plus avancées pour caractériser ces bactéries.

Afin de confirmer les résultats des galeries API obtenus, une analyse moléculaire a été réalisée par le séquençage du gène codant la sous-unité ribosomale 16S ARN.

Plusieurs études ont accordé une importance particulière à l'identification génétique des bactéries, le séquençage du gène codant la sous-unité 16S ARN constitue un outil privilégié pour la caractérisation moléculaire des bactéries en raison de la persistance de cette région avec une stabilité élevée et à l'abri des mutations (**Johnson et al., 2019**). Dans les projets moléculaires, y compris dans notre étude, les amorces de Weisburg également appelées **27F** et **1492R** sont couramment utilisées pour l'amplification de la région ARNr 16S. Elles permettent d'amplifier une séquence d'environ 1500 paires de bases du gène ARNr 16S.

Ces amorces permettent une amplification de la majorité des bactéries connues et sont donc très couramment utilisées pour l'identification bactérienne à l'aide de PCR et le séquençage (NGS) (**Weisburg et al., 1987**).

### 2.2.2.1 Extraction d'ADN :

Les isolats bactériens ont été cultivés pendant une nuit dans le milieu LB à 37°C. Les cellules ont été obtenues à partir de 5 ml de culture et ont été sédimentées par centrifugation (6000× g pendant 5 min). L'ADN génomique bactérien a été extrait à l'aide du kit commercial d'extraction et purification d'ADN Wizard (Promega, États-Unis) conformément aux directives du fabricant.

Cette procédure a été réalisée selon le protocole du fabricant, comme suit :

- Mettre en suspension les sédiments de chaque isolat dans 600 µL du tampon d'extraction, Nucleic Lysis Solution dans un tube eppendorf.
- Homogénéisation des suspensions pendant une minute, puis incuber à 85 °C pour 05 minutes et refroidir à une température ambiante (25°C à 27°C).
- Ajouter 03 de RNAase µLm pour la dégradation des RNA, Fermer et inverser le tube eppendorf 2 à 5 fois pour bien mixer le mélange
- Incuber les eppendorfs dans un incubateur à 37°C pendant 30 à 60 min
- Laisser refroidir à une température ambiante, puis ajouter 200 µL de Protein Précipitation solution et vortex à haute vitesse pendant 20sec.
- Incuber au froid durant 5 min et centrifuger à 13000× g durant 3 min

- Transférer les surnagants dans les eppendorfs propres contenant 600 µL d'Isoporopropanol et mélanger doucement.
- Centrifuger à 13000 × g pendant 30min et verser le surnagent pour récupérer les culots puis laisser sécher sur un papier propre absorbant.
- Ajouter 600 µL d'éthanol et mélanger brièvement, puis centrifuger à 13000 × g pendant 15 min.
- Verser l'éthanol et laisser les eppendorfs ouverts jusqu'au séchage complet de l'éthanol.
- Elution de l'ADN par 15 µL de la solution de réhydratation.

La quantité et la qualité de tous les extraits d'ADN ont été vérifiées par le spectrophotomètre NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, États-Unis) et ont été stockées à -20°C (**Sambrook et al., 2000**).

### 2.2.2.2 Amplification PCR :

Le gène qui code pour l'ARNr 16S a été amplifié pour tous les isolats bactériens en utilisant les deux amorces bactériennes universelles :

**27 F** (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') et

**1492 R** (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (**Weisburg et al., 1991**).

Le mélange réactionnel de 50 µL comprenait 1X Go Taq Buffer (Promega, USA), 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mM de chaque dNTP, 1 U d'ADN polymérase Hot Start Taq (Promega, États-Unis), 0.5 µM de chaque amorce et 5 µL de matrice d'ADN.

Les réactions ont été réalisées dans un gradient Eppendorf Mastercycler sous-programme thermique de PCR suivant (**Tableau 14**):

**Tableau 14:** Le programme thermique de la PCR réalisée.

Étape de PCR	Température	durée	Nombre de cycle
Dénaturation initiale	94°C	10 min	1 cycle
Dénaturation	94°C	45 s	35 cycles
Annelage (hybridation)	55 -56°C	60s	
Extension(Elongation)	72°C	60s	
Extension final	72°C	10min	1cycle

### 2.2.2.3 Electrophorèse de l'ADN

Dans le but de vérifier la présence des amplifiât par rapport à leur taille ; 5 µL d'amplifiât de chaque réaction mélangé avec 2 µL de Loading Dye (Thermo Scientific 6X DNA Loading Dye) ont été analysés sur gel d'agarose 1% avec 1% de bromure d'éthidium (Gel Doc XR+ System, Biorad, USA)

La migration s'est effectuée sous une tension de 120 Volts pendant 30min dans un tampon d'électrophorèse TAE 0.5X (P. Y. Lee. 2012).

Les bandes d'ADN ont été visualisées sur un Trans \_illuminateur (UV First Light®) sous UV et leurs tailles moléculaires ont été déterminées par le marqueur de taille (Invitrogen 100 bp DNA Ladder).

### 2.2.2.4 Purification des produits de la PCR :

La purification des amplifias avant le séquençage est une étape indispensable. Chaque gène codant pour l'ARNr 16S amplifié a été purifié à l'aide du kit Wizard PCR clean up system (Promega, USA), cette étape permet de purifier l'ADN et éliminer les amorces, les dNTPs, les enzymes et les sels inutilisés et récupérer l'ADN pure pour le séquencer.

La purification des produits de PCR a été effectuée conformément au protocole fourni par le fabricant, comme suit :

- 1) Ajoutez 45 µL de Membrane Binding Solution aux produits de PCR.
- 2) Insérez la Minicolonne SV dans le Tube de Collecte
- 3) Transférez le mélange de produit PCR préparé dans l'assemble de la Minicolonne.
- 4) Incubez à température ambiante 25°C à 27°C pendant 1 minute
- 5) Centrifugez à 16 000 × g pendant 1 minute.
- 6) Jetez le liquide de filtration et réinsérez la Minicolonne dans le Tube de Collecte.
- 7) Ajoutez 700 µl de Membrane Wash Solution (plus éthanol).

- 8) Centrifugez à  $16\ 000 \times g$  pendant 1 minute. Jetez le liquide de filtration et réinsérez la Minicolonne dans le Tube de Collecte.
- 9) Pour un deuxième lavage, ajoutez  $500\ \mu\text{l}$  de Membrane Wash Solution (plus éthanol). Centrifugez à  $16\ 000 \times g$  pendant 5 minutes.
- 10) Videz le tube de Collecte et refaites tourner l'ensemble de la colonne pendant 1 minute avec le couvercle du microcentrifugeur ouvert pour permettre l'évaporation de tout résidu d'éthanol.
- 11) Transférez soigneusement la Minicolonne dans un tube eppendorf propre de  $1,5\ \text{ml}$ .
- 12) Ajoutez  $50\ \mu\text{l}$  d'eau ultra pure sans Nucléase à la Minicolonne. Incubez à température ambiante pendant 1 minute. Centrifugez à  $16\ 000 \times g$  pendant 1 minute.

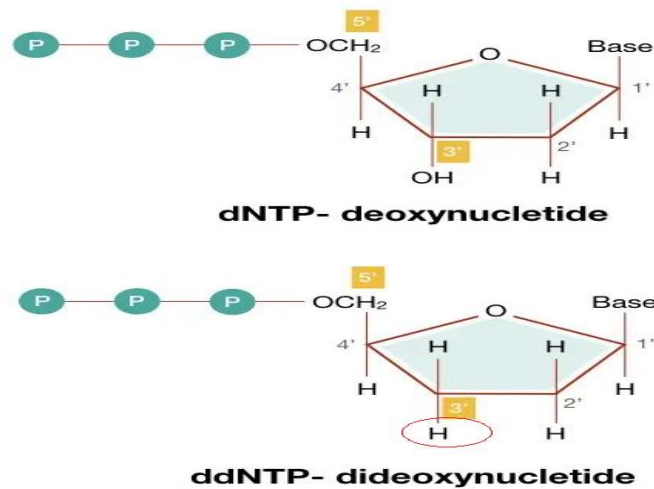
### 2.2.2.5 Séquençage du gène de l'ARNr 16S :

Les produits de la PCR purifiés obtenus dans l'étape précédente ont été séquencés par la technologie Sanger avec un séquenceur d'ADN ABI PRISM 3700 d'Applied Biosystems (GATC biotechnologie, Allemagne) en utilisant le kit BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix (Applied Biosystems).

Le principe de la méthode de Sanger est d'utiliser de petits oligonucléotides (amorces) complémentaires d'une partie du fragment d'ADN à séquencer pour initier la polymérisation de l'ADN. L'extension d'amorce est réalisée par le fragment de Klenow (une ADN polymérase I sans activité exonucléase  $5' \rightarrow 3'$ ) et est maintenue par l'ADN polymérase thermostable utilisée pour la PCR. Quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) et l'un des quatre didésoxyribonucléotides (ddATP, ddCTP, ddGTP ou ddTTP) ont été ajoutés à faible concentration. (**Fred Sange et Nicklen .1977; Heather et Chain. 2016**)

Ces didésoxyribonucléotides agissent comme des terminateurs de chaîne : une fois incorporés dans la chaîne nouvellement synthétisée, ils empêchent une extension supplémentaire car ils n'ont pas d'extrémité 3'-OH (uniquement de l'hydrogène au lieu d'un groupe hydroxyle) (**Figure 14**). Cette terminaison intervient notamment au niveau nucléotidique correspondant au didésoxyribonucléotide incorporé dans la réaction. Pour un séquençage complet d'un même fragment d'ADN, la réaction est répétée quatre fois en

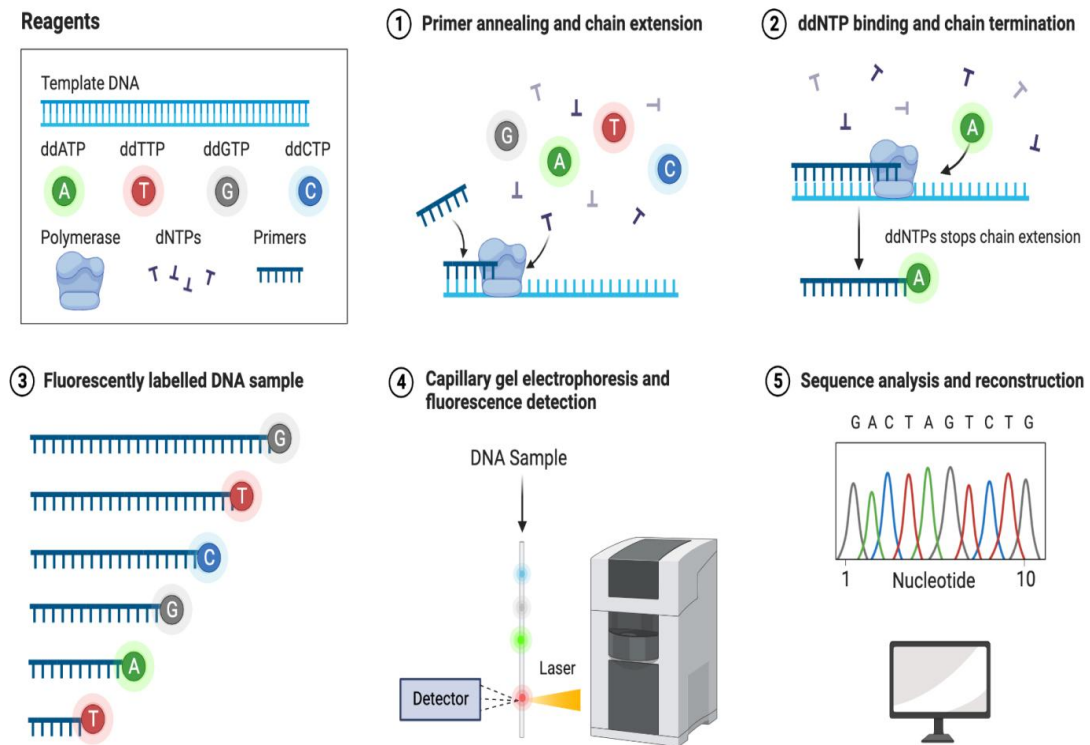
parallèle, en utilisant quatre didésoxyribonucléotides différents (**Chidgeavadze et Beabealashvili .1984**)



**Figure 14 :** Différences structurelles entre dNTP et ddNTP (**Chauhan.2020**).

Les étapes du séquençage de Sanger, illustrées dans la (**Figure 15**), se déroulent comme suit :

1. Initiation de l'élongation : Une ADN polymérase catalyse l'extension de la chaîne d'ADN matrice en incorporant des désoxyynucléotides triphosphates (dNTPs) classiques ainsi que, de manière occasionnelle, des didésoxyynucléotides triphosphates (ddNTPs).
2. Arrêt de l'élongation : Lorsqu'un ddNTP fluorescent est intégré à l'extrémité du brin en croissance, il empêche toute addition ultérieure de nucléotides en raison de l'absence de groupement 3'-OH, stoppant ainsi l'élongation de la séquence.
3. Génération de fragments d'ADN : Comme cette terminaison peut se produire à différentes positions de la séquence cible, un ensemble de fragments d'ADN de longueurs variées est produit, chacun étant marqué par un fluorochrome spécifique correspondant au dernier nucléotide incorporé.
4. Séparation et détection : Les fragments d'ADN ainsi générés sont séparés par électrophorèse capillaire en fonction de leur taille. Un laser excite les fluorophores, permettant la détection des signaux fluorescents, qui sont ensuite analysés pour reconstituer la séquence de l'ADN cible.



**Figure 15:** Schéma récapitulatif des étapes de séquençage selon la méthode de Sanger (Ona, 2020).

Les produits de PCR purifiés ont été séquencés dans les deux sens direct et inverse dans des réactions séparées et en double. Pour cela deux réactions de séquençage ont été réalisées pour chaque amplifiât purifié, une réaction avec l’amorce **27F** et l’autre avec l’amorce **1492R**.

Pour l’incorporation des fluorochromes une deuxième réaction de PCR a été effectuée. Chaque réaction contient un mélange réactionnel d’un volume total de 20 µl (**Tableau 15**).

**Tableau 15:** Les réactifs utilisés pour la PCR Big Dye

Réactifs	Volume (µL)
ADN matrice	4µl
<b>27F</b> (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ou <b>1492R</b> (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')	1 µl

BigDye Terminator v3.1 Ready Reaction Mix	2 µl
Tampon	3 µl
H <sub>2</sub> O	10 µl

Les réactions d'amplification ont été réalisées dans un gradient Eppendorf Mastercycler sous-programme thermique PCR suivant (**Tableau 16**).

**Tableau 16:** Le programme thermique de la PCR Big Dye réalisée

Etape de PCR	Température	durée	Nombre de cycle
Dénaturation initiale	96°C	1 min	1 cycle
Dénaturation	96°C	10 s	25 cycles
Annelage (hybridation)	50°C	5s	
Extension(Elongation)	60°C	4 min	
Extension final	60°C	5 min	1cycle

Les produits de séquençage ont été purifiés en utilisant une méthode de précipitation à l'éthanol pour éliminer les réactifs non incorporés et assurer une charge neutre. Les produits de séquençage ont été ensuite lavés dans 80 µl de mélange de précipitation d'éthanol (3 µl de NaAc, 62.5 µl d'éthanol à 95 % et 14.5 µl d'eau) et l'ADN a été sédimenté par centrifugation (13 000 g, 15 min). Le culot a été à nouveau lavé dans 200 µl d'éthanol à 75 % et centrifugé (13 000 g, 5 min). Le culot d'ADN a été séché à l'air et réhydraté dans 15 µl de formamide, puis suivie par une électrophorèse capillaire par ABI PRISM 3700 Applied Biosystems (GATC biotechnologie, Allemagne).

### 2.2.2.6 Analyses bioinformatiques

Deux séquences directes et deux séquences inverses pour chaque échantillon ont été assemblées, alignées et corrigées à l'aide de Bionumerics v3.5 software (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) (<https://www.applied-maths.com/bionumerics>) afin d'obtenir

une séquence composite. La qualité de chaque trace de séquence a été évaluée visuellement et les séquences de mauvaise qualité ont été supprimées.

La visualisation des séquences obtenues a été réalisée par SNAPGENE Viewerv 5.3.2 (<https://www.snapgene.com/Snapgne-Viewer/>)

La confirmation d'identification des bactéries a été réalisée par annotation, par alignements pair des séquences, les séquences ont été comparées en utilisant BLAST (Basic Alignment Search Tool) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) développé au NCBI (Altschul et *al.*, 1990). Contre la base de données Genbank du NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) , pour rechercher la similitude des séquences avec toutes les séquences disponibles dans les bases de données.

La bactérie à l'origine de la séquence a été identifiée en la faisant correspondre avec la séquence ayant le score d'identité maximal le plus élevé dans les bases de données et avec une similitude plus ou égale à 97%.

### 2.3 Conservation des souches :

Les isolats purs sont conservées à -80°C dans des eppendorfs contenant 1ml de bouillon nutritifs avec 20 % de glycérol (Pegg .2015) dans le laboratoire LBNR pour des études supplémentaires.

### 2.4 Analyses statistiques :

Les analyses statistiques sont Utilisées pour déterminer s'il existe une relation significative entre deux variables catégorielles (nominales ou ordinales) dans un échantillon de données.

Dans notre étude, le test du Chi carré a été utilisé pour vérifier si la distribution des espèces bactériennes était homogène à travers la contamination et les différentes surfaces négligées écouvillonnées, en utilisant le logiciel statistique de sciences sociales 16.0 pour Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Nous proposons les deux hypothèses ( $H_0$  et  $H_1$ ) pour la relation entre les résultats de la distribution des espèces bactériennes et les surfaces hospitalières (**Annexe 4**).

**H<sub>0</sub>** : pas d'association significative entre la distribution des bactéries et les surfaces hospitalières.

**H<sub>1</sub>** : il existe une association significative entre la distribution des bactéries et les surfaces hospitalières.

## *Résultats et discussion*

### II. Résultats et discussion

#### 1. Isolement et identification des souches isolées dans les deux hôpitaux :

Au cours de la période de novembre 2016 à Mars 2018, 384 échantillons ont été évalués à partir de quatre types différents de surfaces hospitalières (les lits d'hospitalisation, les téléphones de chaque service, l'appareillage médical et les poignées des portes) dans les deux hôpitaux. Plus précisément, 192 échantillons ont été prélevés à l'hôpital SB, et 192 à l'hôpital FKH.

#### 2. Caractérisation biochimique

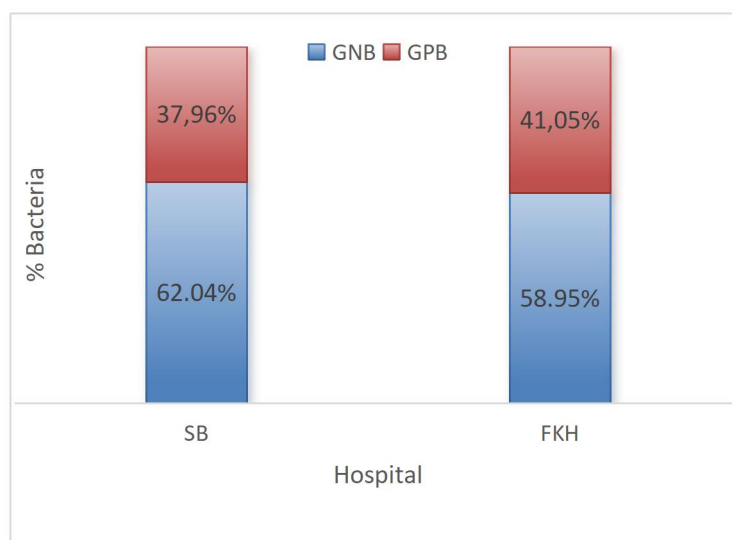
Après l'incubation à 37 C° pendant 24 heures, la majorité des prélèvements se sont avérés poly-microbiens avec plusieurs colonies poussées sur les différents milieux utilisés.

Les colonies présentant des caractéristiques culturelles et morphologiques, pouvant être suspectées d'appartenir à un groupe bactérien, elles ont été retenues, purifiées et soumises à des tests d'identification biochimique (coloration de Gram, des tests de catalase et d'oxydase, Galerie API).

Au total 281 isolats ont été isolés à partir de différentes surfaces hospitalières inanimées dans les services de soins après le nettoyage quotidien, 108 isolats ont été isolés dans l'hôpital SB et 173 isolats au niveau de l'hôpital FKH.

La première étape d'identification bactérienne, la coloration de gram a permis de diviser les 281 isolats en deux grands groupes bactériens, 37.96 % étaient bactéries gram positif et 62.04 % étaient Gram négatif dans l'hôpital SB. Quant à l'hôpital FKH les résultats étaient de 41.05 % GPB et 58.95 % GNB (**Figure 16**).

Les bactéries gram négative (GNB) sont la source la plus potentielle d'infections nosocomiales que les bactéries gram positif (GPB) (**Ghadiri et al., 2012 ;Bakkali et al., 2015 ;Aiesh et al 2023 ;Gaub et Rahman, 2023**), dans notre étude les GNB représente un taux très élevé que les GPB dans les deux établissements de santé.



**Figure 16 :** Distribution des GNB and GPB isolées dans les deux hôpitaux.

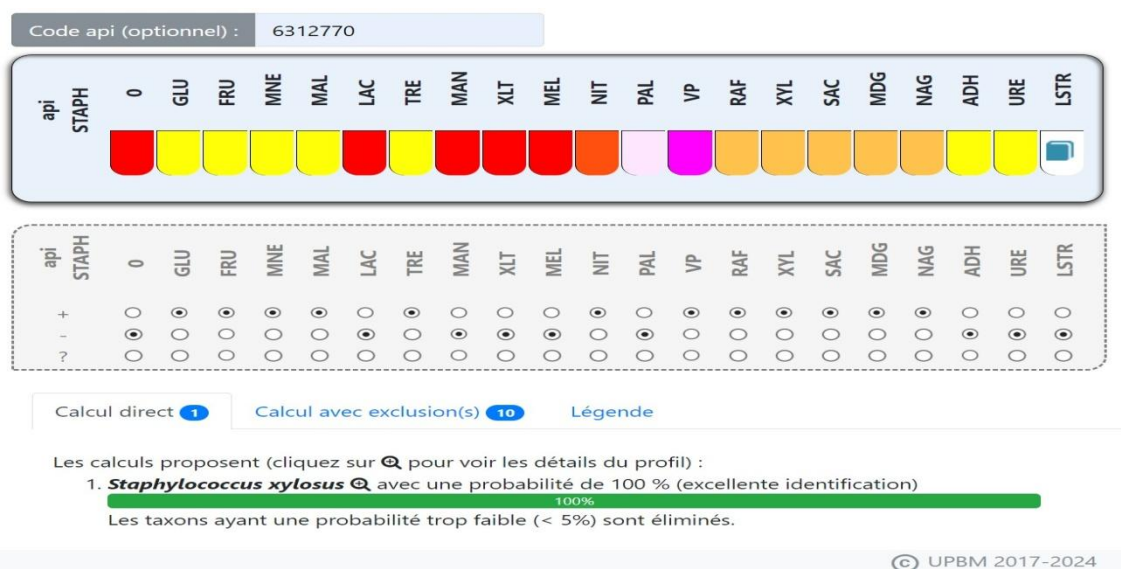
Selon le National Healthcare Safety Network des États-Unis, les GNB causent plus de 30 % des infections associées aux soins (**Hidron et al., 2008**). Les infections à GNB peuvent être très graves et difficiles à traiter en raison de leur résistance aux antibiotiques et de leur capacité à se propager rapidement, des données épidémiologiques prouvent que le taux de mortalité le plus élevée a été observée toujours chez les patients infectés pendant l'hospitalisation par les GNB que chez ceux infectés par le GPB (**Liu et al., 2020; Gauba et Rahman, 2023**).

Les 281 isolats ont été récupérés pour une identification plus poussée ; les trois types de galerie Api (*Api 20 E, Api 20 NE, Api STAPH*) et les deux tests complémentaires (oxydase, catalase) ont été utilisées pour une caractérisation biochimique approfondie (**Figure 17**).



**Figure 17 :** Aspect de la galerie API Staph, inoculée par la souche SXX1 après l'incubation à une température 37°C pendant 24 heures

Les résultats du profil numériques des souches inoculées sur la galerie API, sont exprimés à l'aide de logiciel Galerie web (<https://lab.upbm.org/identifieur/>) (Figure 18).

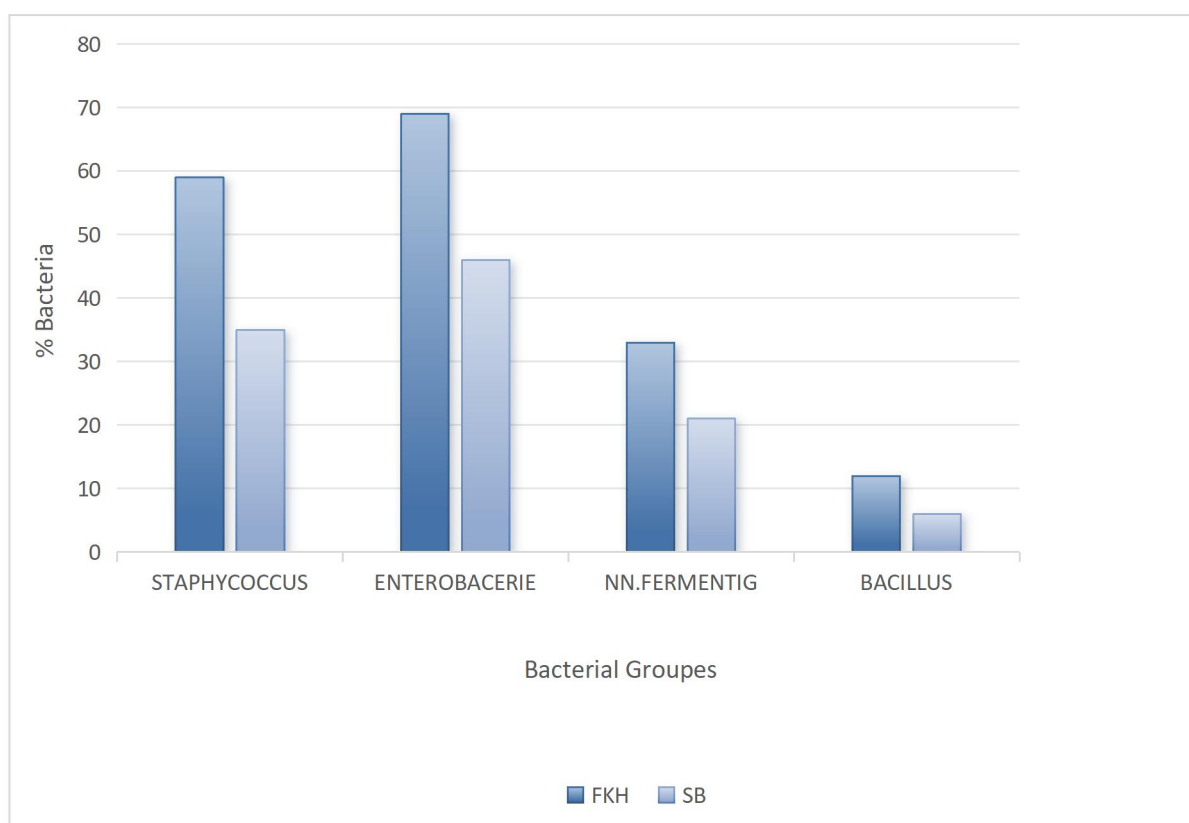


**Figure 18** : Une capture d'écran montrant l'affichage de l'onglet d'identification de la souche SXX1 par le logiciel Galerie web.

L'analyse des isolats basée sur les caractères cultureux, morphologiques et biochimiques a permis d'identifier les 281 isolats ces derniers appartenant au quatre grands groupes : Staphylococcus, Bacillus, Enterobacteria, et NFGNB (Figure 19).

Dans la répartition des souches isolées, nous constatons que le nombre total de souches est plus élevé à l'hôpital FHK qu'à l'hôpital SB. En ce qui concerne les staphylocoques, plus de souches de ce type ont été isolées à FHK qu'à SB. Pour les Enterobacteriaceae, l'hôpital FHK a également enregistré un nombre de souches plus élevé que l'hôpital SB, et les entérobactéries restent le type de souche le plus répandu dans les deux établissements (Figure 19).

Concernant les NFGNB, plus de souches ont été isolées à l'hôpital FHK qu'à l'hôpital SB, et il s'agit du troisième type de souche le plus fréquent à l'hôpital SB après les entérobactéries et les staphylocoques. En ce qui concerne les souches du genre Bacillus, leur nombre était plus élevé à l'hôpital SB qu'à l'hôpital FKH. Toutefois, Bacillus reste le genre bactérien le moins fréquent dans les deux établissements. (Figure 19).



**Figure 19 :** La distribution des groupes bactériens identifiés dans les deux hôpitaux

### 2.1 Staphylococcus

Au total, 94 souches de Staphylococcus ont été isolées sur milieu de culture gélose au sang à partir des surfaces hospitalières dans les deux hôpitaux : 32,40 % à l'hôpital SB et 34,10 % à l'hôpital FKH (**Figure 19**). Les Staphylococcus sont l'une des principales causes d'infection nosocomiale dans le monde et sont les plus répandues en milieu hospitalier, représentent un défi pour les pratiques de contrôle des infections dans la plupart des pays (**Lemmen et al., 2004**).

Dans l'EPH FKH, le genre Staphylococcus comprend six espèces : *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. xylosus*, *S. saprophyticus* et *S. cohnii*, avec des pourcentages variés (**Tableau 17**). En revanche, dans l'EPH SB, seulement quatre espèces ont été identifiées : *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. xylosus* et *S. saprophyticus*, (**Tableau 18**).

**Tableau 17:** Répartition des staphylocoques sur les surfaces hospitalières EPH FKH.

FKH.bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>S.haemolyticus</i>	1	3	-	2	6	3,47
<i>S.cohnii</i>	1	2	0	-	3	1,73
<i>S.epidermis</i>	2	3	2	4	11	6,36
<i>S.aureus</i>	5	9	4	4	22	12,72
<i>S.xylosus</i>	2	1	-	1	4	2,31
<i>S.saprophyticus</i>	3	2	2	6	13	7,51

**Tableau 18:** Répartition des staphylocoques sur les surfaces hospitalières dans EPH SB.

SB.Bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>S. epidermidis</i>	2	4	0	2	8	7,41
<i>S. aureus</i>	3	9	2	3	17	15,74
<i>S. xylosus</i>	-	2	-	1	3	2,78
<i>S. saprophyticus</i>	3	2	1	1	7	6,48

### ➤ *S. aureus*

Sur le milieu de culture gélose au sang les colonies de *S. aureus* apparaissent de couleur blanche jaunâtre. La coloration de Gram montrant des cocci mauve, en forme de grappe de raisin et en paires, cette bactérie est oxydase négative, catalase et coagulase positive.

L'identification bactérienne réalisée à l'aide des galeries Api STAPH nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches de staphylococcus isolées, cinq profils numériques code pour l'espèce *S.aureus* avec des pourcentages d'identité supérieur à 97% (**Annexe 5**).

*S.aureus* le plus dangereux de tous les nombreux staphylocoques fréquemment rencontrés, a marqué la proportion de contamination la plus élevée dans les deux hôpitaux SB et FK 12,72 % et 15,74 % respectivement (**Tableau 17, 18**).

Nos résultats sont en concordance avec des résultats rapportés par d'autres chercheurs africains en Ouganda 75,4 % (**Sserwadda et al., 2018**) et au Bénin 27,3 % (**Afle et al., 2019**). Selon **Maiga et al.**, cette espèce constitue la deuxième cause de septicémie et d'infections urinaires à Bamako (**Maiga et al., 2000**). A l'échelle national, l'incidence des infections nosocomiales à *S. aureus* était d'environ 6,27 pour 1000 jours

d'hospitalisation dans l'unité de néonatalogie de L'EHS de Tlemcen en Algérie **(Rebiahi et al., 2014)**.

Les *S.aureus* se sont des bactéries commensales colonisant naturellement le microbiote humain de la peau et des muqueuses chez les hôtes sains et immunodéprimés **(Chen et al., 2014 ; Russotto et al., 2015)**. Néanmoins, cette espèce est un pathogène opportuniste capable de produire un large éventail de toxines et provoque souvent des infections cutanées et des infections graves telles que la méningite, la pneumonie, des infections osseuses, le syndrome de choc endocardite et syndrome de choc toxique **(Oliveira et al., 2018 ;Yong et al., 2019)**.

D'autres espèces de staphylocoques ont également été isolées dans notre étude à partir des surfaces hospitalières des deux hôpitaux. Parmi celles-ci, nous retrouvons les staphylocoques à coagulase négative (SCoN) tels que *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* et *S. haemolyticus*.

La majorité des SCoN sont des bactéries opportunistes, principalement responsables d'infections nosocomiales. Trois facteurs favorisent l'apparition de ces infections : l'immunodépression, la présence de cathéters veineux ou de matériaux prothétiques. Parmi les SCoN isolées dans les deux établissements, *S.epidermidis* et *S.saprophyticus* sont les espèces les plus fréquemment isolées.

### ➤ *S. epidermidis*

Sur le milieu gélose au sang, les colonies sont très fines de couleur blanche. La coloration de Gram montrant des cocci de couleur violet, en paires sous forme de grappe de raisin, cette bactérie est catalase positif, coagulase et oxydase sont négatives.

Selon les résultats obtenus par la galerie Api STAPH, quatre profils numériques codent pour les 19 espèces de *S.epidermidis* **(Annexe 5)**, réparties en 11 espèces dans l'Hôpital FKH et en 8 espèces dans l'Hôpital SB **(Tableau 17 et 18)**.

Cette espèce est parmi les causes les plus répandues dans les infections sanguines dans les services de santé, elles provoquent fréquemment des septicémies chez les sujets porteurs de matériel étranger comme les cathéters intra-vasculaires, prothèses ostéo-articulaires et les boîtiers de stimulation cardiaque **(Lee et Anjum, 2022)**.

L'exopolysaccharide produit par *S. epidermidis* favorise son adhésion aux biomatériaux et entrave la pénétration des antibiotiques, rendant son élimination plus difficile **(Kodjikian et al., 2005)**.

### ➤ *S. hémolyticus*

Les colonies apparaissent en blanc sur le milieu gélose au sang, la coloration de gram met en évidence des cocci forme paires et tétrades de couleur violet, le test catalase est positif, oxydase et coagulase sont négatives.

Suite à la lecture des résultats des galeries, deux profils numériques codent pour 06 souches de *S.hémolyticus* (**Annexe 5**). Cette bactérie est la seconde espèce de genre staphylococcus responsable d'infections humaines, en particulier de suppurations, d'infections urinaires et de septicémies, elle était isolée seulement dans l'Hôpital FKH avec un pourcentage de 3.47 % (**Tableau 17**).

### ➤ *S. saprophyticus*

Sur le milieu gélose au sang, les colonies sont de couleur blanche, la coloration de gram a montré des cocci en paires de couleur violet, catalase est positive, oxydase est négative et aussi coagulase est négative.

L'analyse des résultats obtenus par la lecture des galeries Api STAPH donne 7 profils numériques qui codent pour les 20 espèces de *S. saprophyticus* (**Annexe 5**) dont 13 espèces à FKH et 7 espèces à SB (**Tableau 17 et 18**). Au sein des SCoN, *S.saprophyticus* est parmi les contaminants les plus fréquemment isolés en milieu hospitalier, elle est responsable de divers infections communautaires : par ses capacités à adhérer à l'épithélium vésical, elle provoque aussi des cystites chez les jeunes femmes.

### ➤ *S.xylosus*

Des colonies blanches apparaissent sur le milieu gélose au sang, sous microscope après la coloration de gram des cocci en amas de couleur violet ont été observés, la catalase est positive, oxydase et coagulase sont négatives.

Au total, trois profils numériques différents codent pour les 07 espèces de *S.xylosus* isolées (**Annexe 5**), dont 2.78 % et 2.31 % ont été isolées dans l'hôpital SB et l'hôpital FKH respectivement (**Tableau 18,17**).

*S.xylosus* se trouve fréquemment dans la peau et les muqueuses des animaux, en particulier les mammifères. Bien qu'elle soit considérée comme non pathogène, elle peut causer des infections nosocomiales, comme la pyélonéphrite chez les personnes

immunodéprimées et un cas de conjonctivite a été détecté au mali (**Al-Habibi et al., 2022**).

### ➤ *S. cohnii*

Sur le milieu gélose au sang, les colonies sont de couleur blanche, la coloration de gram donne des cocci en paires et en tétrades de couleur violet, la catalase est positive, oxydase est négative appartenant aussi au groupe SCoN.

Deux profils numériques codent pour *S.cohnii*, (**Annexe 5**) isolés que dans l'hôpital FKH avec un pourcentage de 1.73% (**Tableau 17**).

L'infection à *S.cohnii* chez l'homme est un événement inhabituel et très rare, les quelques cas d'infection à *S.cohnii* rapportés dans la littérature comprennent les bactériémies liées aux cathéters et aux prothèses chirurgicales, la cholécystite aiguë, l'abcès cérébral, l'endocardite, et la pneumonie (**Soldera et al., 2013**).

## 2.2 Les enterobacteriaceae

Les enterobacteriaceae est la famille pathogène la plus rencontrée dans notre étude, 42.59 % dans l'hôpital SB et 93,88 % dans l'hôpital FKH (**Figure 19**). Ce sont les plus souvent impliquées dans les infections humaines en particulier les infections nosocomiales.

Elles peuvent toucher différents systèmes du corps, notamment les voies urinaires, les poumons, l'abdomen, la circulation sanguine. Elles sont retrouvées partout, dans le sol et l'eau. Elles sont abondantes dans l'intestin de l'homme et des animaux, très mobiles et à croissance rapide. Elles comprennent un très grand nombre de genres et d'espèces (**Partridge, 2015**).

Les entérobactéries sont considérées comme la source principale d'infections communautaires et hospitalières en raison de leurs capacité à acquérir de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Lemmen et al., 2004 ; Peleg et al., 2010 ; Partridge, 2015**) avec possibilité de persister sur des surfaces sèches pendant des jours et des mois (**Kramer et al., 2006**).

### ➤ *Eschirichia coli*

Les colonies apparaissent de couleur vert foncé avec un reflet métallique sur le milieu EMB, l'observation sous microscope a montré des bacilles roses à Gram négatif.

Oxydase est négative et catalase est positive. Les résultats de la galerie Api 20E représentent cinq profils numériques qui codent pour l'espèce *E. coli* (**Annexe 5**).

*E. coli* est parmi les entérobactéries les plus isolées dans les deux hôpitaux FKH et SB respectivement 10.40 % et 11.11% (**Tableau 19, 20**). Cette bactérie caractérise naturellement l'intestin humain et provoque diverses infections opportunistes, telles que la diarrhée du voyageur et les infections des voies urinaires (**Aryee et al., 2018**). Nos résultats étaient différents par rapport aux enquêtes menées en Ouganda et en Iran mentionnant *K.pneumonia* comme l'entérobactérie la plus dominante dans les surfaces hospitalières (**Ekrami et al., 2011 ; Sserwadda et al., 2018**).

La principale cause d'infection à *E.coli* est la transmission oro-fécale. Par conséquent, le non-lavage des mains en milieu hospitalier peut entraîner une incidence accrue d'infections nosocomiales à *E.coli*, surtout chez les patients immunodéprimés (**Zhang et al., 2002**).

**Tableau 19** : Répartition des entérobactéries sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH.

FKH.bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>E.coli</i>	5	7	1	5	18	10,40
<i>K. pneumoniae</i>	-	3	-	3	6	3,47
<i>P. rettgeri</i>	2	2	-	3	7	4,05
<i>P.stuartii</i>	-	3	2	1	6	3,47
<i>S. odorifera</i>	-	1	-	2	3	1,73
<i>S. marscense</i>	-	4	-	1	5	2,89
<i>P. mirabilis</i>	-	6	-	2	8	4,62
<i>P. vulgaris</i>	-	3	-	2	5	2,89
<i>C. freundii</i>	-	-	2	-	2	1,16
<i>Shigella spp.</i>	1	3	-	2	6	3,47
<i>Pantoea spp.</i>	-	2	-	1	3	1,73

**Tableau 20:** Répartition des entérobactéries sur les surfaces hospitalières dans EPH SB.

SB.Bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>E. coli</i>	2	5	2	3	12	11,11
<i>K. pneumoniae</i>	-	3	-	4	7	6,48
<i>P. rettgeri</i>	1	4	-	2	7	6,48
<i>P. stuartii</i>	-	1	1	3	5	4,63
<i>S. marcescens</i>	-	-	-	2	2	1,85
<i>P. mirabilis</i>	-	2	-	2	4	3,70
<i>P. vulgaris</i>	-	2	-	-	2	1,85
<i>Shigella spp</i>	1	2	-	1	4	3,70
<i>Pantoea spp</i>	-	3	-	-	3	2,78

### ➤ *Klebsiella pneumoniae*

Sur le milieu EMB, des larges colonies muqueuses de couleur mauves ont été poussées, l'observation de Gram sous microscope donne des bacilles de couleur rose Gram négative, l'oxydase est négative et le catalase est positive.

6 profils numériques codent pour l'espèce *K.pneumonia* (**Annexe 5**). Cette bactérie est un agent pathogène nosocomial majeur qui se propage rapidement dans les hôpitaux du monde entier, représente 3.47% dans l'hôpital FKH et 6.48 % dans l'hôpital SB (**Tableau 19 et 20**)

*K.pneumoniae* peut causer plusieurs types d'infections nosocomiales, notamment la pneumonie, les infections du sang, les infections des plaies et la méningite. Cette espèce se transmet principalement dans les établissements de soins par contact personnel et, moins fréquemment, par contamination de l'environnement mais ne se propage pas dans l'air (**Caneiras et al., 2019**).

### ➤ *Providencia stuartii* et *Providencia rettgeri*

Des colonies translucides apparaissent sur le milieu EMB, la coloration de Gram met en évidence des bacilles roses Gram négative, catalase est positive, oxydase est négative.

Cinq profils numériques codent pour les 14 espèces de *P.rettgeri*, et deux profils numériques codent pour les 11 espèces de *P.stuartii* (**Annexe 5**).

La présence de *P. retguii* a été enregistrée dans les deux hôpitaux avec un taux global de 6,48 %. Plus précisément, ce taux s'élève à 3,47 % dans l'hôpital FKH et à 4,63 % dans l'hôpital SB. (**Tableau 19, 20**).

*P.stuartii* et *P.rettgeri*, sont des pathogènes opportunistes rares, et relativement peu étudiés, quoiqu'ils représentent 10 % des infections nosocomiales urinaires. Connue pour leur forte capacité à former des biofilms dans le tractus urinaire humain. Selon les rapports publiés par Johnson et *al.*, en **2020** ainsi en **2022** par l'équipe de Rajini, les infections causées par les deux uropathogènes *P.stuartii* et *P.rettgeri* sont toujours chroniques et trop souvent mortelles (6 à 33 % de mortalité) du fait de leur forte résistance intrinsèque aux antibiotiques et de leur capacité à former des biofilms (**Johnson et al., 2020; Rajni et al., 2022**).

### ➤ *Serratia odorifera*

Des colonies bombées allant du rose foncé au rouge se forment sur le milieu EMB. L'examen microscopique révèle la présence de bacilles roses à Gram négatif, positifs à la catalase et négatifs à l'oxydase. Un profil numérique identifiant les trois espèces de *S.odorifera* (**Annexe 5**), et qui ont été isolées seulement à l'hôpital FKH, représente un pourcentage de 1,73% (**Tableau 20**).

*S.odorifera* est rarement isolé chez l'homme, et les infections provoquées par cette bactérie sont peu fréquemment documentées. Des cas de septicémie causée par cette bactérie ont été signalés par Mermel et Spiegel en 1992, ainsi que par Cook et Lopez en 1998.

### ➤ *Serratia marscens*

Des colonies gonflées de couleur rose foncé se sont développées sur le milieu EMB. Les bactéries sont de forme bacillaire, Gram négatif, positives à la catalase et négatives à l'oxydase. Deux profils numériques ont été identifiés, correspondant à sept espèces différentes (**Annexe 5**), soit 2,89 % à l'hôpital FKH et 1,85 % à l'hôpital SB (**Tableau 19 et 20**).

*S.marscense* est une espèce largement répandue dans le sol, l'eau et les surfaces végétales. Cet agent pathogène opportuniste peut causer diverses infections, dont la bactériémie, la pneumonie, les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite et l'endocardite. Selon Biedenbach et *al.*, en **2004** elle est très associée à une résistance

antimicrobienne croissante et le taux de mortalité par la bactériémie causée par *S.marcescens* atteint 37 % chez les nouveau-nés et 44 % chez les nourrissons. Elle figure parmi les dix principales causes de bactériémie en Amérique du Nord.

### ➤ *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*

Des colonies de couleur grise émergent sur le milieu EMB, sous microscope, des bacilles de couleur rose à Gram négatif sont visibles, avec un test de catalase positif et un test d'oxydase négatif. 4 profils numériques correspondent à l'espèce *P.mirabilis* et trois à l'espèce *P. vulgaris* (**Annexe 5**).

Au total, 4,62 % de *P. mirabilis* et 3,70 % de *P. vulgaris* ont été isolés à l'hôpital FKH (**Tableau 19**), tandis que 2,89 % de *P.mirabilis* et 1,85 % de *P.vulgaris* ont été identifiés à l'hôpital SB (**Tableau 20**).

Le genre *Proteus* est naturellement présent dans l'environnement, fréquemment retrouvé dans le sol, les sources d'eau et les eaux usées. Il fonctionne principalement en tant que commensal dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux (**Jamil et al., 2023**)

Les deux espèces *P.mirabilis* et *P.vulgaris* sont capables de causer diverses infections humaines, y compris les infections des voies urinaires, les infections de plaies et les septicémies. Elles sont également capables de se déplacer rapidement sur des surfaces solides de manière coordonnée, ce qui contribue à sa virulence et à sa capacité de provoquer les infections nosocomiales dans les établissements de soin. (**Drzewiecka, 2016**)

### ➤ *Citrobacter freundii*

Sur le milieu EMB, des colonies de couleur brune ont été observées, la coloration de Gram au microscope a révélé des bacilles roses Gram négatif. Le test de catalase s'est avéré positif tandis que le test de l'oxydase était négatif. Un unique profil numérique correspond aux deux espèces de *C.freundii* (**Annexe 5**), et qui sont uniquement présentes à l'hôpital FKH (**Tableau 20**).

*C.freundii* est une espèce ubiquitaire, fréquemment présente dans le sol, l'eau, les aliments et le tractus intestinal humain. En tant qu'agent pathogène opportuniste, elle est associée à diverses infections chez les individus immunodéprimés, notamment des infections urinaires, des infections de plaies et des pneumonies (**Liu et al., 2018**).

### ➤ *Shigella spp.*

Des colonies transparentes apparaissent sur le milieu EMB, la coloration de Gram met en évidence des bacilles roses à Gram négatif, catalase positif, et oxydase négatif.

Trois profils numériques codent pour les 10 espèces de *Shigella spp* identifiées dans note étude (**Annexe 5**), dont 3.47 % ont été isolées à l'hôpital FKH et 3.7 % à l'hôpital SB (**Tableau 19 et 20**).

*Shigella spp* est reconnue comme l'une des principales causes de décès chez les enfants dans le monde, notamment en Asie, C'est une bactérie pathogène stricte responsable de diarrhée aiguë. Il n'y a pas de prédominance de genre ni de la prédilection raciale pour la shigellose. La transmission des shigelles se fait par voie fécale-orale, généralement par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, ou par contact direct avec des matières fécales infectées (**Sabour et al., 2022; Aslam et Okafor , 2023**).

### ➤ *Pantoea spp.*

Sur le milieu EMB, les colonies se présentent sous forme de colonies jaunâtres et muqueuses (fermentaire de lactose). Selon la coloration de Gram *Pantoea spp* est bacille à Gram négatif à catalase positive et oxydase négative. Un seul profil numérique code pour les 06 espèces (**Annexe 5**), dont 1.73 % ont été isolées à partir de l'hôpital FKH et 2.78 % dans l'hôpital SB (**Tableau 19, 20**).

*Pantoea spp* est une espèce phytopathogène, mais elle peut provoquer également des infections opportunistes chez les humains notamment des infections acquises dans la communauté, y compris les infections nosocomiales. Divers sites et organes peuvent être affectés par *Pantoea spp*, causant des infections de plaies, des infections du sang, des péritonites, des endocardites, des infections des voies urinaires et des méningites. Chez les enfants, en particulier les nouveau-nés, les infections a *Pantoea spp* ont une prédilection pour les voies respiratoires provoquant une insuffisance respiratoire et entraînant une mortalité très élevée (**Mani et Nair .2021**).

### **2.3 Les bactéries non fermentaires (NFGNB) :**

Les NFGNB constituent une source importante de maladies chez les humains, ce sont des bactéries largement répandues dans la nature, en particulier dans le sol, l'eau et surtout dans les environnements hospitaliers, elles peuvent être retrouvées sur des équipements tels que les ventilateurs et les appareils, ainsi que sur la peau du personnel de santé (**Mellmann et**

*al.*, 2009; Lakhani *et al.*, 2021). Des pourcentages presque similaires ont été observés dans les deux hôpitaux : 19,44 % à l'hôpital SB et 19,07 % à l'hôpital FKH (**Figure 19**).

Ces micro-organismes peuvent se transmettre horizontalement par des vecteurs passifs ou par contact avec les mains du personnel médical, ce qui souligne l'importance de leur identification. En effet, la plupart de ces organismes non fermentaires sont caractérisés par leurs résistances à de nombreux antibiotiques, ce qui les rend particulièrement préoccupants en termes de santé publique. (Mellmann *et al.*, 2009 ; Chawla *et al.*, 2013).

### ➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Sur la gélose au cétrimide, les colonies sont de couleur verte, l'observation microscopique a montré des bacilles roses Gram négatif, possède une oxydase et une catalase positive.

Six profils numériques codent pour les 24 espèces de *P.aeruginosa* (**Annexe 5**), 6.94% ont été isolées à l'hôpital FKH et 11.11 % à l'hôpital SB (**Tableau 21, 22**).

*P. aeruginosa* est une espèce ubiquitaire très répandue dans les environnements naturels, et c'est un agent pathogène opportuniste pour l'homme, elle provoque plusieurs infections, comme les infections urinaires, les infections associées aux brûlures, les infections respiratoires et la septicémie. Reconnue comme la principale cause de pneumonie associée à la ventilée dans les unités de soins intensifs. Au cours de ces dernières années, les infections nosocomiales causées par *P.aeruginosa* ont été identifiées comme un problème critique dans les hôpitaux en raison de leur résistance intrinsèque à de nombreuses classes d'antibiotiques et de leur capacité à développer une résistance pratique à tous les antibiotiques efficaces (Preeti *et al.*, 2019).

**Tableau 21** : Répartition des NFGNB sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH.

FKH.bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>P. aeruginosa</i>	-	5	-	7	12	6,94
<i>P. stutzeri</i>	-	4	-	2	6	3,47
<i>P. luotla</i>	-	2	-	-	2	1,16
<i>A. baumannii</i>	3	4	-	6	13	7,51

**Tableau 22:** Répartition des NFGNB sur les surfaces hospitalières dans EPH SB.

SB.Bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>P.aeruginosa</i>	3	5	-	4	12	11,11
<i>P.stutzeri</i>	-	-	-	1	1	0,93
<i>A.baumannii</i>	2	3	-	3	8	7,41

### ➤ *Pseudomonas stutzeri*

Des colonies très différenciées d'apparence ridées de couleur beige ont poussé sur le milieu gélose au citrimide, la coloration de Gram met en évidence des bacilles roses à Gram négative. Elles présentent une réaction positive à l'oxydase et à la catalase.

Trois profils numériques codent pour les 07 espèces de *P.stutzeri* isolées dans les deux hôpitaux (**Annexe 5**), soit 3.47 % à l'hôpital FKH, tandis qu'une seule espèce a été isolée à l'hôpital SB 0.92 % (**Tableau 21, 22**).

*P.stutuzei* est une bactérie ubiquitaire largement répandue dans l'environnement naturel. Également signalée comme un agent pathogène opportuniste causal de diverses infections nosocomiales comme les pneumonies, les méningites, les infections oculaires, les bactériémies, les ostéomyélites et les infections articulaires. Fait intéressant que la plupart des cas d'infection dues à *P.stutzeri* ont été signalées dans le bassin méditerranéen (**Lalucat et al., 2006; Shalabiet al., 2017**).

### ➤ *Pseudomonas luotla*

Sur le milieu gélose au citrimide, les colonies apparaissent de couleur jaune en forme ridée, la coloration de Gram a révélé la présence des bacilles colorés en rose à Gram négatif, les tests catalase et l'oxydase sont avérés positifs. Deux espèces de *P.luotla* ont été isolées uniquement à l'hôpital FKH 0.57 % (**Tableau 21**).

*P.luotla* est un pathogène opportuniste peu commun et rarement documenté. Les infections causées par cette bactérie sont souvent associées à des corps étrangers tels que les cathéters et les sondes. Elle provoque rarement des maladies humaines, bien qu'il ait été signalé comme cause de pancréatite, d'endocardite, de bactériémie, l'ostéomyélite, l'endocardite, les ulcères de jambe, la cellulite, l'endophtalmie postopératoire et la méningite (**Otto et al., 2013; Barry ,2021**).

### ➤ *Acinetobacter baumannii*

Des colonies grises apparaissent sur le milieu EMB, la coloration de Gram montre des coccobacilles de couleur rose à Gram négative, possèdent une catalase et une oxydase négative. Trois profils numériques codent pour les 21 espèces de *A.baumannii* (**Annexe 5**), dont 7.51% ont été isolées à l'hôpital FKH et 7.41% à l'hôpital SB (**Tableau 21, 22**).

*A.baumannii* est un germe ubiquitaire, retrouvé principalement dans les environnements humides, reconnu comme l'un des agents pathogènes nosocomiaux les plus pertinents sur le plan clinique. Il apparaît comme l'espèce NFGNB la plus fréquemment isolée dans les hôpitaux algériens (**Zenati et al., 2016**).

Les infections par *A.baumannii* sont difficiles à traiter et sont responsables d'une mortalité élevée, classée comme prioritaire par l'OMS en raison de sa capacité à disséminer et de persister dans l'environnement hospitalier et à acquérir rapidement des mécanismes de résistance qui conduisent à des impasses thérapeutiques. Elles provoquent divers nombre de maladies, telles que la pneumonie nosocomiale et communautaire, la septicémie, les infections cutanées, les infections des tissus mous, et les infections urinaires (**Yang et al., 2023**).

### 2.4 Les *Bacillus spp*

Des grandes colonies blanchâtres ont été poussées sur le milieu gélose au sang, la coloration de gram a révélé des grands bacilles de couleur mauve à gram positive. Deux profils numériques codent pour les 18 espèces de *Bacillus spp* (**Annexe 5**), 6.94 % ont été isolées dans l'hôpital FKH et 5.65 % dans l'hôpital SB (**Tableau 23 et 24**).

**Tableau 23:** Répartition des bacillus sur les surfaces hospitalières dans EPH FKH.

FKH.Bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>Bacillus spp.</i>	2	7	-	3	12	6,94

Ce genre bactérien est omniprésent. Il provoque rarement des maladies chez les hommes et sont plus fréquemment isolés en tant que contaminant de culture. Il peut causées de graves infections systémiques chez les patients immunodéprimés, y compris des infections oculaires, des pneumonies, des bactériémies, des méningites et des septicémies (**Al-Habibi et al., 2022; Bakri, 2022**).

**Tableau 24:** Répartition des bacillus sur les surfaces hospitalières dans EPH SB.

SB.Bacteria	P	L	T	A	T	%
<i>Bacillus spp</i>	-	4	-	2	6	5,56

### 3. Caractérisation moléculaire

Parmi les souches isolées dans les deux hôpitaux, une souche représentative de chaque groupe d'espèce a été sélectionnée afin de confirmer son identification de manière moléculaire par le séquençage du gène codant ARN 16S.

A cet effet, l'extraction de l'ADN génomique des souches en utilisant le kit Wizard (Selon les instructions du fournisseur) suivie par le dosage au Spectrophotomètre ont été réalisés comme l'étape initiale de l'identification génétique.

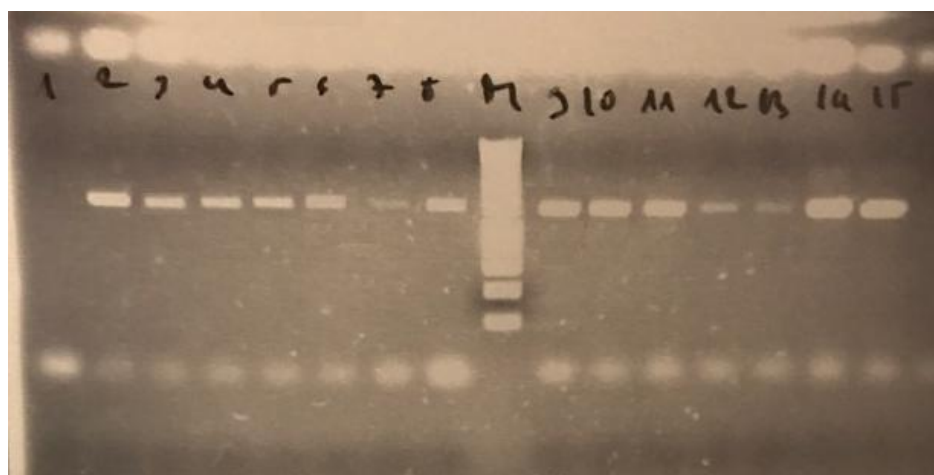
Les lectures du spectrophotomètre indiquaient que les extraits d'ADN des 24 souches sélectionnées étaient en bonne qualité et en quantité adéquates, avec des concentrations se situant entre 123 ng /  $\mu$ l et 809 ng /  $\mu$ l (**Tableau 25**).

**Tableau 25:** Les concentrations des extraits d'ADN des souches isolées.

Code de Souche	[ADN] en ng/ $\mu$ l	Code de souche	[ADN] en ng/ $\mu$ l
PMK6	125	ECS11	809
PVS2	298	SAS3	329
CFK1	247	SAK16	176
PAS9	123	SPK4	208
PAK7	203	SHK5	307
SMK3	256	SEK7	211
SOK1	650	SCK2	312
SPK1	157	SXS1	158
PRK2	344	PZK5	194
KPK4	375	PLK1	265
KPS1	331	ABS8	301
ECK17	162	BBS1	228

La région d'ADN, codant de la sous unité ribosomale 16S rRNA est amplifiée par la technique de la PCR. Les fragments amplifiés obtenus sont séparés selon le poids moléculaire par électrophorèse sur gel d'agarose 1%

Les résultats de la migration des fragments d'ADN amplifiés avec le marqueur de taille a révélé que la taille de ces fragments correspondent précisément à la bande spécifique de 1500 pb du marqueur de taille (**Figure 20 et 21**). Ces résultats sont en accord avec les études menées par Meriem *et al.*, en 2018 et Johnson *et al.*, en 2019.



**Figure 20:** Profil d'électrophorèse des produits amplifiés des isolats testés par PCR sur gel d'agarose 1% avec les amorces F27, R1429.

Piste 1 : contrôle négatif

Piste 2 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PMK6

Piste 3 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PVS2

Piste 4 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches CFK1

Piste 5 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PAS9

Piste 6 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PAK7

Piste 7 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SMK3

Piste 8 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SOK1

Piste 9 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SPK1

Piste10 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PRK2

Piste 11 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches KPK4

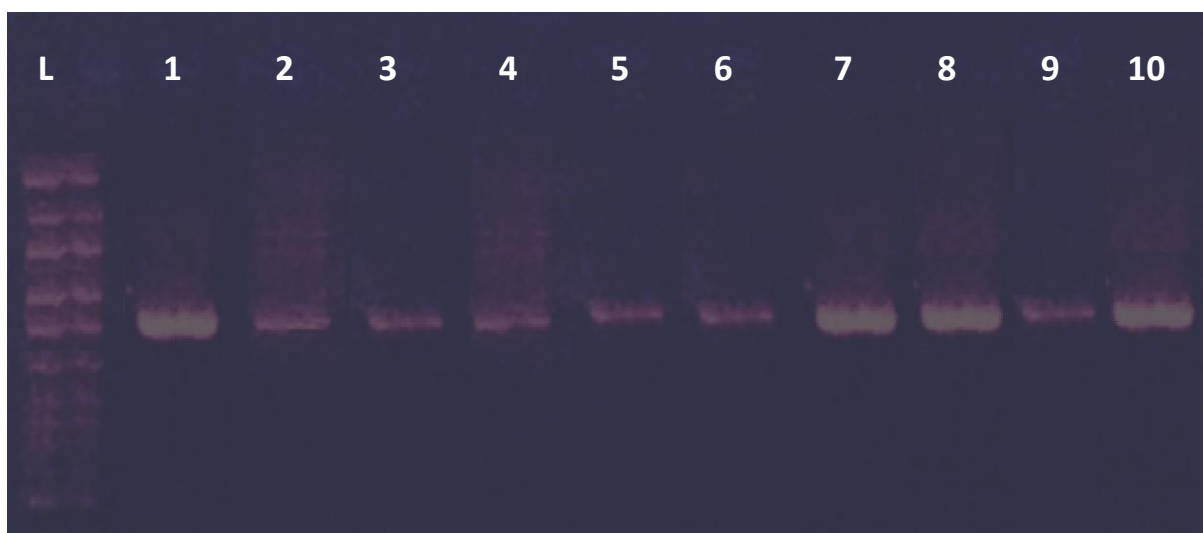
Piste 12 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches KPS1

Piste 13 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches ECK17

Piste 14 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches ECS11

Piste 15 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SAS3

Piste M : Le marqueur de taille 1kb (Eurogentec, belgium).



**Figure 21:** Profil électrophorèse des produits amplifiés des isolats testés par PCR sur gel d'agarose 1% avec les amorces F27, R1429.

Piste 1 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SAK16

Piste 2 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SPK4

Piste 3 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SHK5

Piste 4 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SEK7

Piste 5 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SCK2

Piste 6 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches SXS1

Piste 7 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PZK5

Piste 8 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches PLK1

Piste 9 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches ABS8

Piste 10 : ADN amplifié codant le gène de 16s rRNA des souches BBS1

Piste L: Marqueur de taille 1KB (Eurogentec, Belgium).

Les produits de PCR purifiés ont été séquencés dans les deux sens direct et inverse dans des réactions séparées et en double par la technologie Sanger avec un séquenceur d'ADN ABI PRISM 3700 d'Applied Biosystems (GATC biotechnologie, Allemagne).

Les deux séquences directes et inverses pour chaque échantillon ont été alignées à l'aide de Bionumerics v3.5 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium) (<https://www.applied-maths.com/download/software>) afin d'obtenir une séquence composite, La qualité de chaque trace de séquence a été évaluée visuellement et les séquences de mauvaise qualité ont été supprimées. Les 24 séquences nucléiques sont présentées sous format FASTA dans l'**Annexes 6**.

Les séquences de chaque souche ont été visualisées par SNAPGENE Viewer version 5.3.2 (<https://www.snapgene.com/Snapgne-Viewer/>) (Figure 22).



**Figure 22:** Chromatogramme de la séquence codant pour le gène de l'ARNr 16S de la souche ECS11.

La confirmation d'identification des bactéries a été réalisée par alignements pair des séquences consensus en utilisant BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) contre la base de données Genbank du NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). (Figure 23 et 24 )

En effet, chaque souche selon sa séquence a été identifiée en la faisant correspondre avec la séquence ayant le score d'identité maximal le plus élevé dans les bases de données et avec une similitude plus ou égale à 97%, le tableau indique le taux de similitude de chaque souche et leurs identités avec le E value calculé (est un paramètre qui décrit le nombre de résultats que l'on peut « s'attendre » à voir par hasard lors d'une recherche dans une base de données d'une taille particulière) (Tableau 26).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 26:** Résultats de l'annotation des souches par BLAST, taux de similitude et valeur E.

Code de souche	Identification biochimique	Acc N correspondant	% de similarite	Identification moléculaire (souche correspondante)	E.value	pb
PMK6	<i>P.mirabilis</i>	<a href="#">MK426652.1</a>	95,65%	<i>P.mirabilis</i> strain M17_J16	0.0	1422
PVS2	<i>P.vulgaris</i>	<a href="#">LC095662.1</a>	95.65%	<i>P.vulgaris</i> strain: U133.	0.0	1356
CFK1	<i>C. freundii</i>	<a href="#">KX156767.1</a>	99,64%	<i>C. freundii</i> strain K6	0.0	1351
SGS3	<i>Shigella spp</i>	<a href="#">KC920584.1</a>	100%	<i>Shigella sp.</i> Strain 09-A2	0.0	1425
PAS9	<i>P. aeruginosa</i>	<a href="#">DQ777865.1</a>	100%	<i>P. aeruginosa</i> strain PAO1	0.0	1335
PAK7	<i>P. aeruginosa</i>	<a href="#">LT797517.1</a>	95.69%	<i>P. aeruginosa</i> strain AT1RP4	0.0	1451
SMK3	<i>S. marscense</i>	<a href="#">MN319499.1</a>	87.58%	<i>S. marscense</i> strain VITHJ2	0.0	899
SPK1	<i>S. saprophyticus</i>	<a href="#">MT072203.1</a>	96.99%	<i>S. saprophyticus</i> strain CG8	0.0	1302
PRS2	<i>P.rettgeri</i>	<a href="#">LT899977.1</a>	97.59%	<i>P.rettgeri</i> strain HAMB1 1278	0.0	1306
KPK4	<i>K.pneumoniae</i>	<a href="#">OR976482.1</a>	98.35%	<i>K.pneumoniae</i> strain 411	0.0	1286
KPS1	<i>K.pneumoniae</i>	<a href="#">KX980439.1</a>	100%	<i>K.pneumoniae</i> strain RPK17	0.0	1260
ECS11	<i>E.coli</i>	<a href="#">MN900682.1</a>	98,40%	<i>E.coli</i> strain E. coli	0.0	1125
ECK17	<i>E.coli</i>	<a href="#">KF914394.1</a>	97,96%	<i>E.coli</i> strain KMS-1	0.0	1384
SAS3	<i>S.aureus</i>	<a href="#">CP047780.1</a>	100%	<i>S.aureus</i> strain UP_1539	0.0	1480
SAK16	<i>S.aureus</i>	<a href="#">CP047780.1</a>	100%	<i>S.aureus</i> strain UP_1539	0.0	1475
SPS4	<i>S. saprophyticus</i>	<a href="#">MT072203.1</a>	96,82%	<i>S. saprophyticus</i> strain CG8	0.0	1221

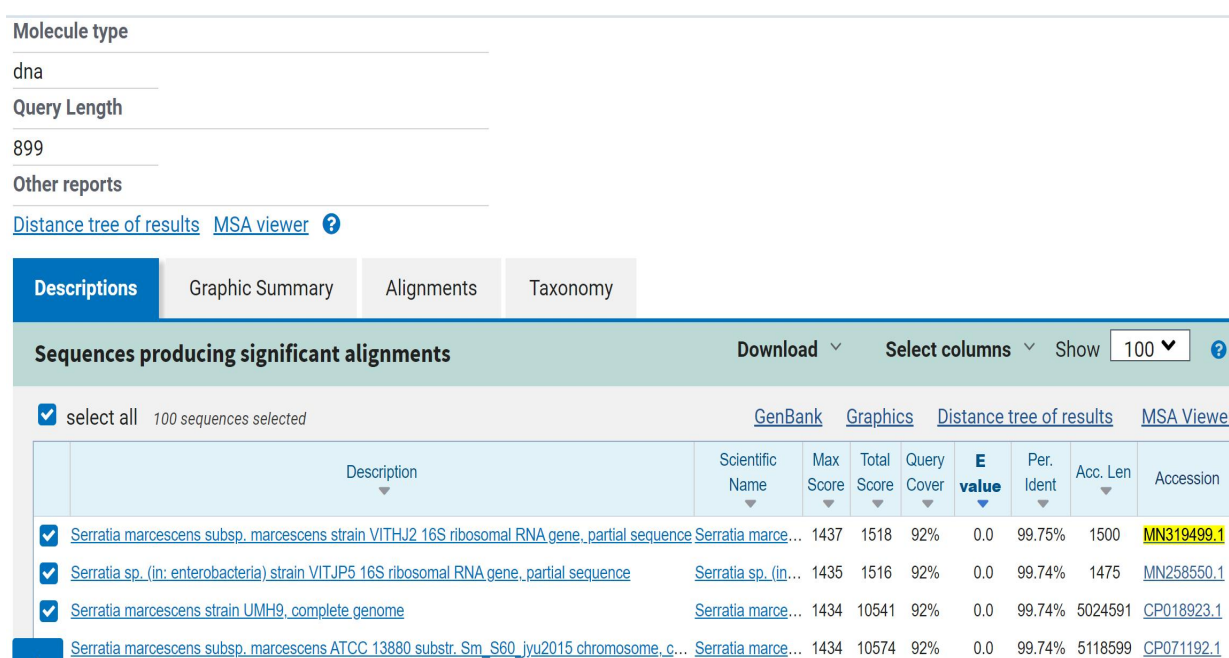
## RESULTATS ET DISCUSSION

SHK5	<i>S. haemolyticus</i>	<a href="#">MH017399.1</a>	96.40%	<i>S. haemolyticus</i> strain S5H246	0.0	1431
SEK7	<i>S. epidermidis</i>	<a href="#">MT071657.1</a>	97,44%	<i>S. epidermidis</i> strain ZJH	0.0	1281
SCK2	<i>S.cohnii</i>	<a href="#">MN696239.1</a>	100%	<i>S.cohnii</i> strain BVd12	0.0	1359
SXS1	<i>S. xylosus</i>	<a href="#">KY992565.1</a>	98.74%	<i>S. xylosus</i> strain 2B	0.0	1393
PZK5	<i>P. stutzeri</i>	<a href="#">MK439594.1</a>	99.72%	<i>Stutzerimonas stutzeri</i> strain QS16	0.0	1358
PLS1	<i>Pantoea spp</i>	<a href="#">MG601132.1</a>	97.77%	<i>Pantoea sp.</i> strain 20160112	0.0	1391
ABS8	<i>A. baumannii</i>	<a href="#">KU672376.1</a>	100.00%	<i>A. baumannii</i> strain MZ30V92	0.0	1377
BBS1	<i>Bacillus spp.</i>	<a href="#">MH569341.1</a>	99,86%	<i>Bacillus sp.</i> strain MP2 ,Zhao,K.2018	0.0	1498

## RESULTATS ET DISCUSSION

La bioinformatique s'est révélée être un outil essentiel pour valider nos résultats d'identifications biochimiques basées sur les galeries API. Les résultats d'annotation des séquences codantes pour l'ARNr16S ont confirmé nos conclusions initiales, renforçant ainsi la fiabilité de nos méthodes d'identification. Les 24 isolats étudiés ont présenté une similarité très élevée avec les séquences correspondantes dans les bases de données, avec une identité élevée et des valeurs E faibles.

Dans le cas de l'isolat SMK3, malgré sa séquence relativement courte de 899 pb, il a pu être identifié avec succès par BLAST, avec un E-value très bas ( $E = 0.000$ ) et une similitude de 99.75 % (**Figure 23**).



Molecule type  
dna  
Query Length  
899  
Other reports  
[Distance tree of results](#) [MSA viewer](#) ?

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100 ?

select all 100 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Serratia marcescens subsp. marcescens strain VITHJ2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Serratia marce...</a>	1437	1518	92%	0.0	99.75%	1500	<a href="#">MN319499.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Serratia sp. (in: enterobacteria) strain VITJP5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Serratia sp. (in...</a>	1435	1516	92%	0.0	99.74%	1475	<a href="#">MN258550.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Serratia marcescens strain UMH9, complete genome</a>	<a href="#">Serratia marce...</a>	1434	10541	92%	0.0	99.74%	5024591	<a href="#">CP018923.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Serratia marcescens subsp. marcescens ATCC 13880 substr. Sm_S60_jyu2015 chromosome, c...</a>	<a href="#">Serratia marce...</a>	1434	10574	92%	0.0	99.74%	5118599	<a href="#">CP071192.1</a>

**Figure 23:** Résultats d'alignement pair de la souche SMK3 par BLAST avec les bases de données.

En outre, la comparaison entre notre isolat *Pseudomonas stutzeri* PZK5 (1358 pb) et les autres séquences dans les bases de données a révélé une similarité remarquable de 99,72% et un E-value très faible de 0.0 avec la souche *Stutzerimonas stutzeri* strain QS169 identifiée par Chan en 2019 (**Figure 24**). Il convient de noter que *Stutzerimonas* est un genre récemment proposé au sein de la famille des Pseudomonadaceae, qui regroupe certaines espèces précédemment classées sous le genre *Pseudomonas*, notamment *Stutzerimonas stutzeri*, qui correspond à l'ancien groupe *Pseudomonas stutzeri* (**Gomila et al., 2022**).

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Stutzerimonas stutzeri strain QS169 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Stutzerimonas stutzeri</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1412	<a href="#">MK439594.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Stutzerimonas stutzeri strain RAS-L11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Stutzerimonas stutzeri</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1438	<a href="#">PQ564693.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Stutzerimonas stutzeri strain LS4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Stutzerimonas stutzeri</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1438	<a href="#">PQ564692.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Stutzerimonas stutzeri strain WWVII23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Stutzerimonas stutzeri</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1456	<a href="#">MH396749.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Stutzerimonas stutzeri strain E141 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Stutzerimonas stutzeri</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1427	<a href="#">MG725953.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas sp. strain TC-159 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pseudomonas sp.</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1444	<a href="#">OP087568.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas sp. strain TC-118 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pseudomonas sp.</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1447	<a href="#">OP087549.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pseudomonas sp. strain TC-58 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pseudomonas sp.</a>	2608	2608	100%	0.0	100.00%	1447	<a href="#">OP087539.1</a>

**Figure 24:** Résultats d'alignement pair de la souche PZK5 par BLAST avec les bases de données.

## 4. Répartition des contaminants dans les deux hôpitaux FKH et SB :

### 4.1 Selon les surfaces hospitalières étudiées

Le risque de propagation des infections nosocomiales et leur relation avec la contamination des surfaces hospitalières constituent un problème majeur de santé publique (**Habboush et al., 2023; Monegro et al., 2023**). La prévention des infections nosocomiales est essentielle pour fournir des soins de santé de haute qualité. Dans notre étude, la caractérisation biochimique et moléculaire a révélé une forte prévalence de contamination bactérienne associée aux différentes surfaces hospitalières, soit 56,25 % à l'hôpital SB et 90,10 % à l'hôpital FKH.

Dans les deux hôpitaux, Les lits d'hospitalisations ont été les surfaces les plus contaminées, représentant 43,93 % et 47,22 % dans FKH et SB respectivement (**Figure 25**). Cette forte contamination des lits est attribuée au contact direct et prolongé avec la flore microbienne des patients, ainsi au contact direct et quotidien avec les mains du personnel médicale et des visiteurs. De nombreuses études ont signalé le risque de la transmission des infections nosocomiales à travers les surfaces des lits dans les hôpitaux. (**Creamer et Humphreys, 2008; Boyle et al., 2019; Facciola et al., 2019**)

Les surfaces des lits d'hospitalisation peuvent agir comme des réservoirs potentiels pour les agents pathogènes. Dans notre étude, toutes les souches bactériennes isolées ont été trouvées avec des proportions variables sur les lits dans les deux hôpitaux (**Figure 24**).

La différence de distribution des contaminants entre les surfaces des lits des deux hôpitaux, FKH et SB, peut être expliquée par la matière de fabrication des lits et les conditions environnementales (**Kramer et al., 2006**).

En effet, les lits de l'hôpital FKH sont fabriqués en plastique, ce qui favorise la formation des biofilms en raison de sa surface plus lisse et moins poreuse. Les biofilms sont des communautés de microorganismes qui adhèrent fermement aux surfaces et peuvent protéger les bactéries contre les agents de nettoyage et les antibiotiques, les rendant plus résistantes et difficiles à éliminer (**Costa et al., 2019 ; Dancer, 2022**) Par conséquent, la présence de lits en plastique dans cet hôpital peut entraîner une plus grande persistance des contaminants bactériens sur les surfaces des lits (**Neely et Maley, 2000 ; Vickery, 2019**).

D'autre part, les lits de l'hôpital SB sont fabriqués en acier. Les surfaces en acier peuvent être moins favorables à la formation de biofilms par rapport au plastique, en raison de leur texture plus rugueuse et de leur capacité à être nettoyées et désinfectées plus facilement (**Weber et Rutala, 2013**).

Il est essentiel de noter que la différence dans la distribution des contaminants dans les lits entre les deux hôpitaux ne dépendent pas uniquement de la matière de fabrication des lits, mais aussi des protocoles de nettoyage et de désinfection, des pratiques d'hygiène, du type de patients admis et d'autres facteurs environnementaux spécifiques à chaque établissement de santé.

L'appareillage médical joue un rôle crucial dans le diagnostic, le traitement et les soins des patients. Néanmoins, il peut également représenter une source potentielle de transmission d'infections nosocomiales si les protocoles d'utilisation de nettoyage et de désinfection ne sont pas scrupuleusement respectés (**Ling et al., 2018 ; Jose et al., 2023**).

Notre étude a montré que l'appareillage médical était les surfaces les plus contaminées après les lits dans les deux hôpitaux, représentant 32,95 % à l'hôpital FKH et 31,48 % à l'hôpital SB (**Figure 24**). Cela peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment le contact direct avec les patients, la mobilité fréquente des appareils mobiles à travers diverses unités de soins et le comportement du personnel médical, où les mains du staff médical sont considérées comme le moyen le plus probable de transfert d'agents pathogènes (**Weber et al., 2013; Russotto et al., 2015 ; Chowdhury et al., 2018**). Une étude réalisée par **Fénelon et al.**, a rapporté que des stéthoscopes, des UCG et divers équipements hospitaliers ont été associés à la transmission de l'infection nosocomiale (**Fénelon et al., 2009**).

Les poignées des portes représentent des surfaces fréquemment sollicitées dans les environnements hospitaliers, et elles sont également considérées comme une source

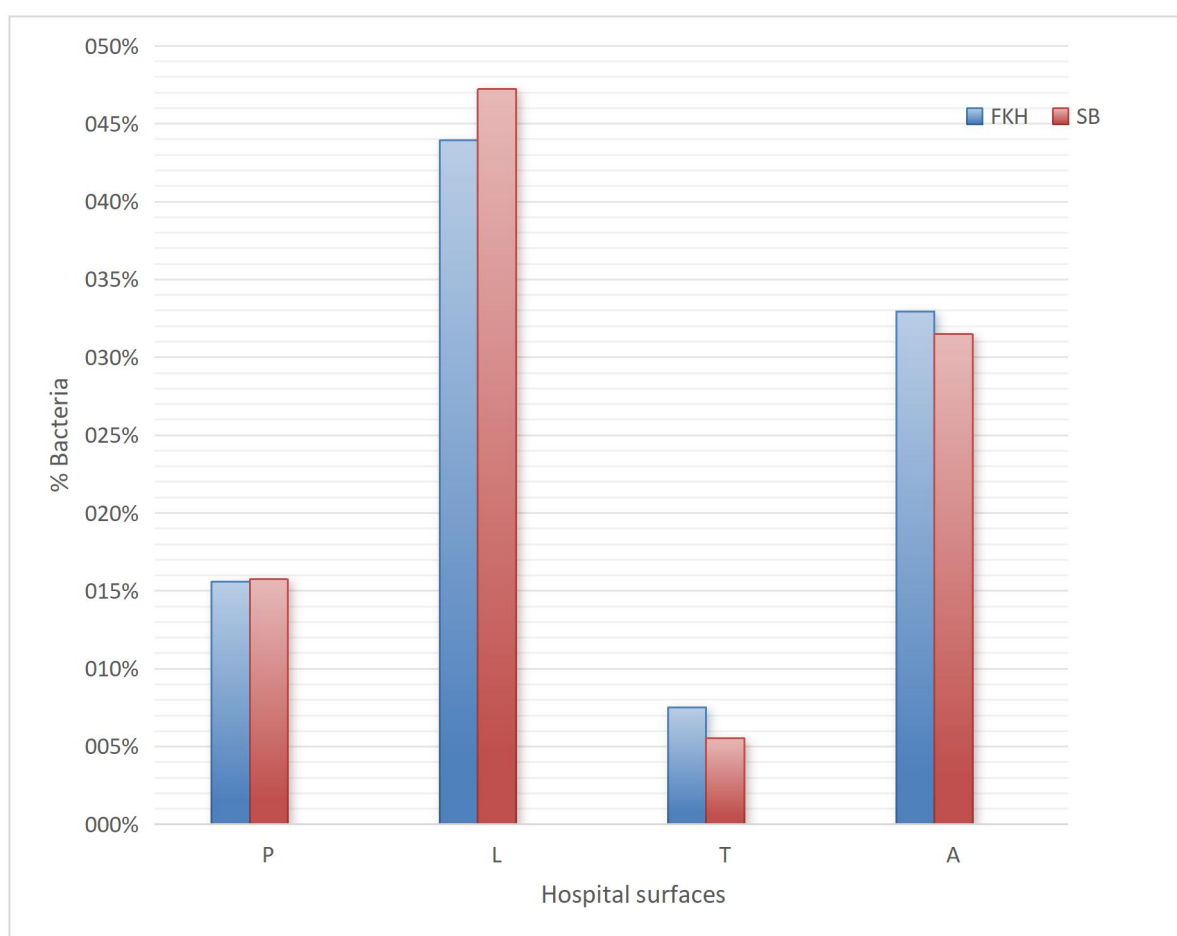
significative de contamination et de transmission d'infections nosocomiales. Cette situation découle de leur utilisation constante par diverses personnes, y compris le personnel médical, les patients et les visiteurs. En conséquence, les poignées des portes peuvent accumuler des microorganismes pathogènes provenant des mains potentiellement contaminées (**Bhatta et al., 2018; Cunningham et al., 2022**). Des recherches antérieures ont estimé que les mains du personnel soignant ou leurs gants présentent un risque de contamination d'environ 30 % à 50 % lorsqu'ils entrent en contact avec une surface contaminée par ces bactéries. Ce risque est équivalent à celui d'un contact direct avec le patient lui-même (**Otter et al., 2013 ; Chowdhury et al., 2018** ). Nos résultats, obtenus dans le cadre de cette étude, démontrent que la distribution des contaminants sur les poignées de porte dans deux hôpitaux était de 15,74 % à l'hôpital SB et de 15,60 % à l'hôpital FKH (**Figure 25**).

Ces constatations corroborent les conclusions d'études précédentes menées par (**Bhatta et al., 2018 ; Wojgani et al., 2012**), qui ont également mis en évidence le rôle potentiellement problématique des poignées de porte en tant que source de contamination nosocomiale. Certains types de surfaces de contact attirent particulièrement l'attention en raison de leur utilisation extrêmement fréquente et de la diversité des utilisateurs potentiels. Les poignées de porte et les plaques de poussée en font partie, comme le révèle une enquête menée dans plusieurs unités de soins intensifs dans un hôpital neurologique au Royaume-Uni que l'utilisation fréquente des poignées et des plaques de poussée, avec le personnel représentant plus de 80 % des utilisateurs de l'ensemble des portes observées (**Wojgani et al., 2012**).

De plus, Plusieurs autres facteurs semblent influencer la contamination des poignées de porte, notamment la manière dont elles sont manipulées (poussées ou tirées), ainsi que leur forme et leur surface totale (**Wojgani et al., 2012; Chowdhury et al., 2018; Cunningham et al., 2022**). Ces études mettent en évidence l'importance de prendre des mesures pour minimiser la contamination des poignées de porte et des surfaces similaires dans les environnements hospitaliers, contribuant ainsi à réduire la propagation des infections nosocomiales.

Les postes téléphoniques des différents services hospitaliers peuvent être une source importante d'infections nosocomiales, comme l'ont démontré plusieurs études qui ont révélé une contamination significative des claviers de téléphones et d'ordinateurs, ainsi que leur rôle potentiel dans la transmission des infections. Malheureusement, la désinfection de ces surfaces est souvent négligée (**Messina et al., 2013; Cavari et al., 2016; Jose et al., 2023**). Dans notre étude, les surfaces les moins contaminées étaient les téléphones fixes (TF)

avec 5,55 % à SB et 7,51% à l'hôpital FKH ,en raison de leur usage professionnel limité (**Figure 25**). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par Singh et *al.*, (**1998**). En revanche, les téléphones portables se sont avérés être une surface contaminée majeure dans de nombreuses études, devenant un vecteur significatif de propagation des infections en raison de leurs multiples utilisations telles que la consultation Web, l'application pour les soins aux patients (par exemple, le calcul de doses) (**Brady et al., 2009; Russotto et al., 2015 ;Lai et al., 2020 ; Di Mario, 2022** ).



**Figure 25:** Répartition des souches en fonction des surfaces sélectionnées.

P : poignées, L : lits d'hospitalisation, T : téléphones de services, A : Appareillage médicale.

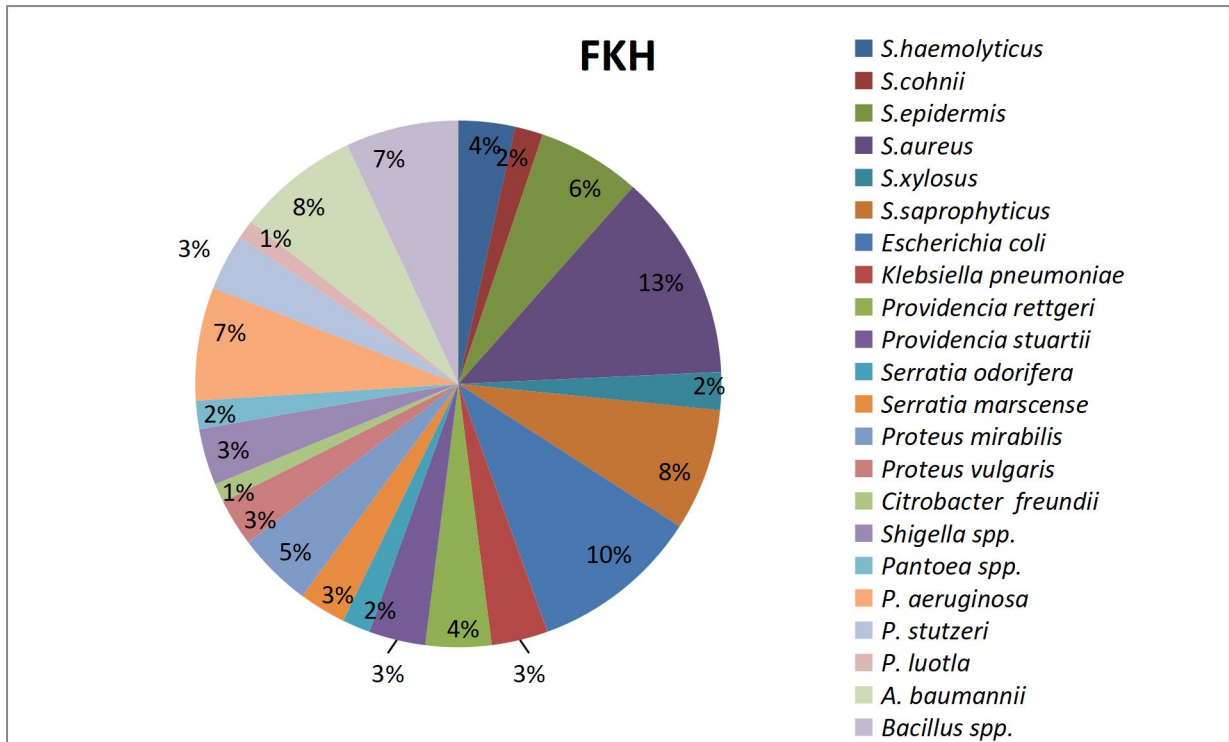
### 4.2 Selon les souches identifiées

La répartition des souches bactériennes au sein d'un hôpital est une préoccupation cruciale dans la lutte contre les infections nosocomiales. Notre étude approfondie a révélé des schémas de répartition significatifs au sein des deux hôpitaux examinés, mettant en lumière des variations substantielles dans les profils de contamination.

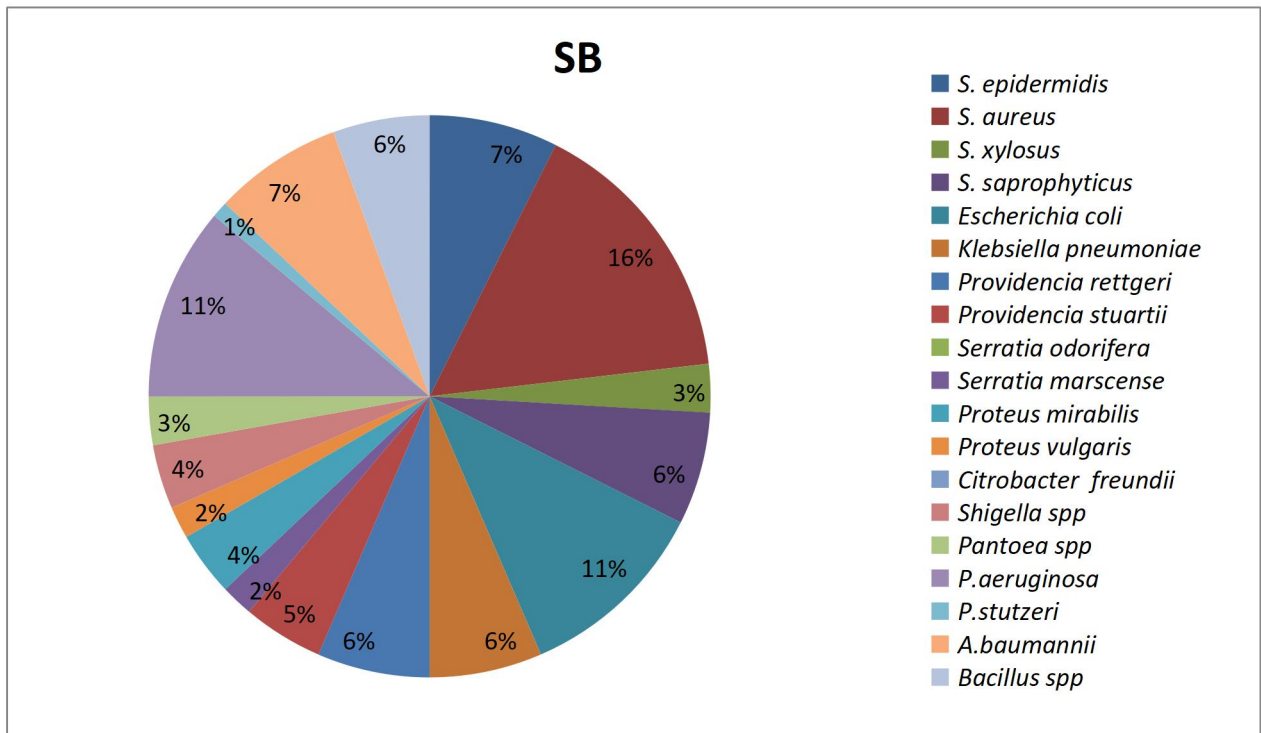
Plusieurs facteurs peuvent influencer la distribution des souches bactériennes sur les surfaces hospitalières. (Bhatta et al., 2018; Abrahame et al., 2021). Tout d'abord, les caractéristiques intrinsèques des souches elles-mêmes jouent un rôle essentiel. De plus, les protocoles de nettoyage et les pratiques d'hygiène du personnel médical sont des éléments critiques dans la prévention de la propagation des bactéries. Le type de matériaux utilisés pour les surfaces et la fréquence des contacts avec les patients et le personnel de l'hôpital sont également des facteurs déterminants (Afle et al., 2019; Dancer, 2019).

Notre recherche a montré que les deux hôpitaux, FKH et SB, présentaient des taux de prévalence plus élevés pour certaines souches bactériennes par rapport à d'autres. De plus, nous avons constaté la présence exclusive de certaines espèces bactériennes dans l'hôpital FKH. En particulier, *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *A.baumannii* se sont avérés plus répandus (Figure 26 et 27).

Cette prévalence accrue est attribuée en partie à leur capacité de former des biofilms, à adhérer fermement aux surfaces et à développer des résistances aux antibiotiques, ce qui les rend plus persistants et difficiles à éliminer. (Yong et al., 2019). La persistance de chaque espèce isolée est très variable selon les études, pouvant osciller de seulement quelques heures à plus d'un an comme *E. coli* et d'autre de 3 jours jusqu' un an et demi comme *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *A .baumannii*. Ces différences proviennent très probablement des différences de souches ou sérotypes, de la nature des surfaces, de la concentration bactérienne ou encore de divergences techniques dans les protocoles des tests. Toujours est-il que la plupart des pathogènes étudiés peuvent potentiellement persister plusieurs mois sur les surfaces inertes (Kramer et al., 2006 ; Otter et al., 2013).



**Figure 26:** Fréquence des souches identifiées à partir des prélèvements de surface dans l'hôpital FKH.



**Figure 27:** Fréquence des souches identifiées à partir des prélèvements de surface dans l'hôpital SB.

### 4.3 La comparaison entre les deux hôpitaux

L'observation d'une communauté bactérienne diversifiée dans les deux hôpitaux, avec plusieurs souches présentes sur différentes surfaces, est un constat important. Lorsque nous comparons les taux de contamination entre l'hôpital FKH et l'hôpital SB, il est essentiel de prendre en compte que L'hôpital SB, construit récemment en 2011, contraste avec l'hôpital FKH, dont la fondation remonte à 1890. Cette différence d'ancienneté et de conception des infrastructures hospitalières pourrait en partie expliquer le niveau de contamination plus élevé observé à l'hôpital FKH par rapport à l'hôpital SB .Cette différence dans l'âge et la conception des installations hospitalières peut expliquer en partie pourquoi l'hôpital FKH semble plus contaminé que l'hôpital SB.

La différence de contamination bactérienne entre l'hôpital FKH et l'hôpital SB peut être expliquée par plusieurs facteurs. Tout d'abord, les hôpitaux plus anciens comme FKH peuvent présenter des infrastructures plus anciennes avec des surfaces potentiellement plus usées. Ces surfaces usées sont plus propices à la formation de biofilms bactériens, qui sont des communautés de microorganismes adhérant fermement aux surfaces. En revanche, les hôpitaux nouvellement construits, comme SB, bénéficient des dernières avancées en matière de conception hospitalière axée sur la prévention des infections. Cela comprend l'utilisation de matériaux de surface antimicrobiens, de systèmes de ventilation améliorés, et des protocoles de nettoyage et de désinfection plus modernes et efficaces, qui réduisent la propagation des bactéries sur les surfaces (**Werkneh et Islam, 2023; Yong et Calautit, 2023**).

De plus, la gestion et l'entretien des installations hospitalières jouent un rôle clé dans la prévention des infections nosocomiales (**Werkneh et Islam, 2023**). Il est possible que l'hôpital FKH ait des protocoles de nettoyage et d'entretien moins efficaces en place en raison de contraintes budgétaires et de la complexité de sa structure, ce qui favorise la persistance des contaminants bactériens.

Un autre facteur à considérer est la nature des patients admis dans chaque hôpital. FKH étant spécialisé dans les soins maternels et infantiles, il pourrait avoir une patientèle différente de celle de SB, qui contient un large éventail de services médicaux. Cela peut influencer la prévalence de certaines souches bactériennes, car les besoins en soins et les traitements médicaux varient en fonction de la spécialisation de l'hôpital.

En somme, la différence de contamination entre les deux hôpitaux peut être attribuée à une combinaison de facteurs, notamment l'âge des installations, les normes de construction,

les protocoles de nettoyage, la gestion des installations et la nature des patients admis. Tous ces éléments contribuent à la complexité de la gestion des infections nosocomiales dans les hôpitaux.

### 5. Analyse statistique

L'analyse Statistique par SPSS des données, montre qu'il n'existe pas une relation significatif entre la répartition des espèces bactériennes et les surfaces échantillonnées, avec un test du chi carré donnant un résultat de  $\chi^2 = 12,000$  et une valeur de  $p = 0,213$  ce qui est supérieur au seuil généralement accepté de 0,05 ( $\chi^2 = 12,000$  ;  $p = 0,213 > 0,05$ ). Ces résultats suggèrent que les différences de répartition bactérienne observées entre les surfaces ne sont pas statistiquement significatives. (**Annexe 4**)

### 6. La sensibilité aux antibiotiques

L'antibiothérapie est la pierre angulaire pour traiter une infection. L'apparition et l'extension de la résistance aux antibiotiques rendent les choix difficiles. Parmi les différentes souches isolées, quelques espèces ont été testées pour leur sensibilités à plusieurs antibiotiques, l'antibiogramme a été effectué selon les normes préconisées par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-SFM, 2013**).

Parmi l'ensemble des isolats du genre *Staphylococcus* soumis à des tests d'antibiogramme, les résultats ont révélé des profils de résistance variés envers différents antibiotiques. La résistance la plus élevée a été enregistrée contre la pénicilline G, atteignant 78,72 % suivie de près par l'ampicilline, avec un pourcentage de 61,70 %. Par ailleurs, la tobramycine a présenté une résistance de 36,17 %, suivie de la cefoxitin, de la gentamicine, de la kanamycine avec le même taux de résistance 32,97 %, et de la ciprofloxacine 28,72 % (**Tableau 27**).

La résistance des *staphylococcus* à la pénicilline G et ampicilline concorde avec des études menées sur les surfaces hospitalière en Éthiopie en Neiger ou une résistance de 70 % à 100% a été rencontrée (**Kiros et al., 2021**).

Une résistance relativement plus faible a été observée contre la ciprofloxacine 28,72 %, ce résultat concorde avec des résultats obtenus à partir des équipements médicaux dans un établissement de santé en Kenya (**Maina et al., 2018**).

En ce qui concerne les espèces, une résistance totale a été observée chez toutes les souches de *S.haemolyticus* envers la pénicilline G et la tobramycine, atteignant 100 %. En outre, des niveaux de résistance de 50 % ont été notés envers l'ampicilline, la gentamicine, tandis que la céfoxitin et la ciprofloxacine ont montré une résistance de 33,33 %. Une résistance moindre, soit 16,66 %, a été enregistrée contre la kanamycine (**Tableau 27**).

La multirésistance observée chez les souches de *S.haemolyticus* souligne une préoccupation croissante associée à cette problématique au sein de cette espèce. Ces résultats sont en accord avec les tendances récentes, au cours desquelles divers chercheurs ont rapporté une augmentation de la fréquence des souches multirésistantes de *S.haemolyticus* (**Eltwisy et al., 2020**). Cette espèce se distingue par sa résistance renforcée aux antibiotiques par rapport à d'autres CoNS, et le spectre de résistance le plus étendu a été constaté parmi les souches isolées dans l'environnement hospitalier (**Czekaj et al., 2015**). La présence des gènes de résistance chez *S.haemolyticus*, ainsi que leurs propagations au sein de l'environnement hospitalier, représente un risque potentiel, car cette bactérie peut stocker et transmettre ces gènes de résistance à d'autres espèces nosocomiales (**Hosseinkhani et al., 2017 ; Eltwisy et al., 2022**).

Quant à *S.cohnii* et *S.xylosus*, une résistance significative à la pénicilline G a été observée, avec des taux atteignant respectivement 33,33 % et 57,14 %. En outre, ils ont également montré des niveaux de résistance à l'ampicilline de 33,33 % et 71,42 %, respectivement. En revanche, une large sensibilité a été observée dans tous les isolats de *S.cohnii* et de *S.xylosus* pour la céfoxitine, la ciprofloxacine, la kanamycine, la gentamicine et la tobramycine (**Tableau 27**).

*S. aureus* a montré une résistance plus élevée à la pénicilline G 87,17 % suivie du Ampicilline et kanamycine avec le même pourcentage de 64,25% (**Tableau 27**), ce qui a été documenté dans des études antérieures. (**Weldegebreal et al., 2019; Worku et al., 2018**). D'autre part, la plupart des isolats étaient sensibles à la gentamycine.

**Birru et al.**, ont également rapporté une sensibilité remarquable à la gentamycine de *S. aureus* en milieu hospitalier dans une étude similaire dans le nord-ouest d'Éthiopie (**Birru et al., 2021**).

Les souches de *S.saprophyticus* isolées dans notre étude présentent une sensibilité élevée à trois antibiotiques, à savoir la tobramycine, la céfoxitine et la ciprofloxacine. En revanche, une résistance significativement accrue est observée à la pénicilline G, atteignant

80% des souches testées. Par ailleurs, certaines souches manifestent une multirésistance, avec des taux de 35 %, 15 % et 30 % à l'ampicilline, la kanamycine et la gentamicine, respectivement (**Tableau 27**).

Ces résultats corroborent les conclusions de l'étude menée par **Martins et al., en 2018**, la virulence de cette espèce est directement associée à sa capacité à former des biofilms sur les surfaces de l'hôte, ainsi qu'à sa résistance aux antibiotiques.

Une prévalence notable de *S.epidermidis* multirésistant aux antibiotiques a été mise en évidence avec des pourcentages de résistance significatifs. Les taux de résistance observés étaient de 89,47 % pour l'ampicilline, 68,42 % pour la pénicilline G, 42,10 % pour la cefoxitine, 57,89 % pour la ciprofloxacine, 10,52 % pour la kanamycine, 36,84 % pour la gentamicine et 21,05% pour la tobramycine (**Tableau 27**)

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 27:** Représentation des résultats de résistances aux différents antibiotiques chez les isolats du genre *Staphylococcus*.

	Classe de l antibiotique						
	Pénicilline		Céphalosporines			Fluoroquinolones	Aminosides
	Pénicilline G	Ampicilline	Cefoxitin	Ciprofloxacine	Kanamycine	Gentamicine	Tobramycine
<i>Staphylococcus</i>	<b>Taux de Résistance n (%)</b>						
<i>S. haemolyticus (n=6)</i>	6 (100%)	3 (50%)	2 (33,3%)	2 (33,33%)	1 (16,66%)	3 (50%)	6 (100%)
<i>S. cohnii (n=3)</i>	1(33,3%)	1 (33,3%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0 (0%)
<i>S. epidermidis (n=19)</i>	13 (68,42%)	17 (89,47%)	8 (42,10%)	11 (57,89%)	2 (10,52%)	7(36,84%)	4 (21,05%)
<i>S. aureus (n=39)</i>	34 (87,17%)	25 (64,10%)	21 (53,84%)	14 (35,89%)	25 (64,10%)	5 (12,80%)	21 (53,84%)
<i>S. xylosus (n= 7)</i>	4 (57,14%)	5 (71,42%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>S.saprophyticus (n=20)</i>	16 (80%)	7 (35%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (15%)	6 (30%)	0 (0%)

Cette observation est cohérente avec les conclusions obtenues dans l'étude conduite par Eladli et ses collaborateurs, où une prévalence similaire de résistance aux antibiotiques a été rapportée pour la gentamicine et la ciprofloxacine (Eladli et al., 2019). D'autres résultats concordants ont été documentés dans différentes régions du monde. Au Mexique, des auteurs ont rapporté des niveaux de résistance similaires chez les souches de *S.epidermidis*, soulignant l'importance de la résistance aux antibiotiques dans différentes populations (Cabrera-Contreras et al., 2010). De plus, en Belgique, une équipe de recherche a également identifié des caractéristiques de résistance aux antibiotiques chez les isolats de *S.epidermidis*, mettant en lumière la prévalence mondiale de cette problématique (Cherifi et al., 2014).

Les profils de sensibilité des bacilles Gram-négatifs, avec *E. coli* en tant qu'isolat prédominant, ont révélé une faible résistance à cinq antibiotiques testés : la pipéracilline 13,33%, la céfotaxime 6,66%, la ceftazidime 6,66 %, l'imipénème 6,66 %, la cefoxitine 13,33 %, et l'aztréonam 13,33%. En revanche, une sensibilité totale de 100 % a été observée pour l'amikacine, la tobramycine et la gentamicine (Tableau 28). Ces résultats concordent avec des études menées en Éthiopie par Birru et al., en 2021 et Kiros et al., (2021), ainsi qu'au Maroc par Chaoui et al., 2019, qui ont également rapporté des schémas de résistance similaires.

Les souches de la famille Enterobacteriaceae ont présenté une résistance élevée à la pipéracilline, avec des taux de résistance de 80 % et 100 %. En revanche, elles ont montré une sensibilité totale à l'imipénème (Tableau 28). Ces résultats corroborent également ceux d'études menées au Cameroun en 2015 (Ebongue et al., 2015), montrant une similarité dans la sensibilité des entérobactéries à l'imipénème.

Pour les deux espèces du genre *Providencia*, une résistance variable a été observée contre tous les antibiotiques de la classe bêta-lactam, ainsi que contre la ciprofloxacine (Tableau 28). Les résultats sont conformes à ceux obtenus en Espagne par le groupe de *S.Guembe* (SGuembe et al., 2008).

En ce qui concerne les souches de genre *Proteus*, une résistance totale de 100% aux aminosides a été observée (Tableau 28).

L'antibiogramme de *C.freundii*, *P.stutzeri*, *Pantoea spp*, et *P.luotla* a révélé une forte sensibilité à tous les antibiotiques testés (100%) et une résistance extrême à la pipéracilline (100 %) (Tableau 28).

Quant aux espèces *S.marscense* et *S.odiofera*, une résistance totale de 100 % a été observée pour tous les aminosides testés et la pipéracilline, avec un taux moyen de sensibilité

au ciprofloxacine et aux autres bêta-lactames testés (**Tableau 28**). Ces résultats sont en accord avec ceux publiés au Maroc par **Chaoui et al., en 2019** .

Les BGNNF ont démontré une multirésistance à plusieurs antibiotiques. Notre étude a révélé un taux de résistance faible et variable, oscillant entre 4,76 % et 79,16 % (**Tableau 28**). En comparaison, des taux extrêmement élevés ont été rapportés dans des études menées en 2019 par Chaoui et al., au Maroc et par Darge et son équipe au Népal (**Darge et al., 2019**)..

*P.luotla* et *P.stutzeri*, les deux espèces du genre Pseudomonas, ont montré une sensibilité à tous les antibiotiques testés, à l'exception de la piperacilline qui a démontré une forte activité sur les isolats de ces deux espèces (**Tableau 28**). Des études menées par Park et al., en **2013** et par Barry en **2021** confirment que *P.luotla* et *P.stutzeri* ont un spectre de sensibilité aux antibiotiques très vaste.

*P.aeruginosa* présente des taux de résistance élevés contre les trois antibiotiques de la classe des céphalosporines 79,16 % ainsi que la piperacilline 75%. En revanche, les taux de résistance sont très faibles contre l'amikacine, la tobramycine, l'imipénème et l'aztréonam, variant entre 8,33 % et 12,5 % (**Tableau 28**). Les résultats du groupe de Darge sont similaires, sauf pour l'imipénème et l'amikacine, aux quels les souches isolées par ce groupe sont toutes sensibles (**Darge et al., 2019**).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 28:** Représentation des résultats de l'antibiogramme des différentes souches de *Pseudomonas* et *Enterobacteries*.

Souches	Classe des antibiotiques									
	Pénicilline	Céphalosporines			Carbapénèmes	Monobactames	Fluoroquinolone	Aminosides		
	Pipéracilline	Céfotaxime	Ceftazidime	Cefoxitin	Imipénème	Aztréonam	Ciprofloxacine	Amikacine	Gentamicine	Tobramycine
	<b>Taux de Résistance n (%)</b>									
<i>E.coli</i> n =30	4 (13,33%)	2 (6,66%)	2 (6,66%)	4 (13,33%)	2 (6,66%)	4 (13,33%)	12 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>K.pneumoniae</i> n=13	5 (38,46%)	4 (30,76%)	3 (21,42%)	5 (35,71%)	0 (0%)	4 (30,76%)	7 (53,84%)	5 (38,46%)	7(53,84%)	4(30,76%)
<i>P.rettgeri</i> n =14	5 (35,71%)	2 (14,28%)	1 (9,09%)	4 (36,36%)	0 (0%)	2 (14,28%)	5 (35,7%)	14 (100%)	14 (100%)	14 (100%)
<i>P.stuartii</i> n =11	4 (36,36%)	2 (18,18%)	1 (9,09%)	3 (27,27%)	0 (0%)	1 (9,09%)	7 (63,63%)	11(100%)	11(100%)	11(100%)
<i>S. odorifera</i> n =03	3 (100%)	0(0%)	0(0%)	2(66,66%)	0(0%)	0 (0%)	2 (66,66%)	3 (100%)	3 (100%)	3(100%)
<i>S. marscense</i> n =03	3 ( 100%)	0 (0%)	0 (0%)	1(33,33%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (66,66%)	3 (100%)	3(100%)	3(100%)
<i>P. mirabilis</i>	6	4	3	6	0	4	7	0	0	0

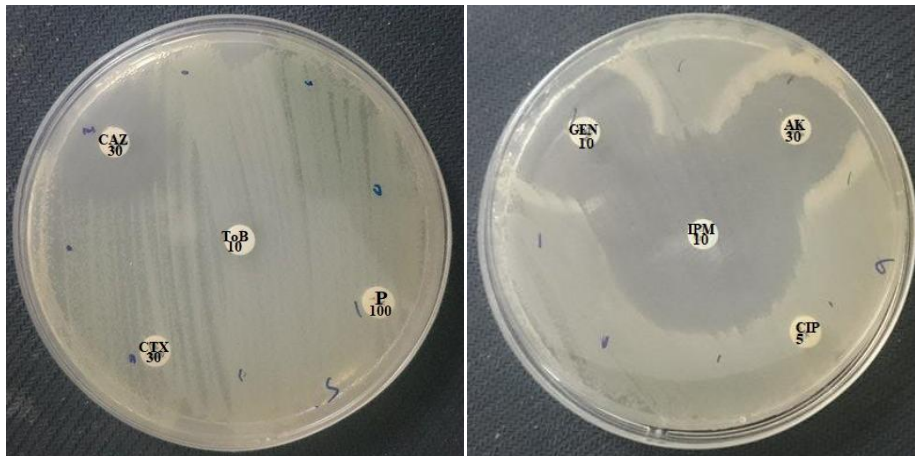
## RESULTATS ET DISCUSSION

<i>n</i> =12	(50%)	(33,33%)	(25%)	(50%)	(0%)	(33,33%)	(58,33%)	(0%)	(0%)	(0%)
<i>P. vulgaris</i>	7	2	2	5	0	2	2	0	0	0
<i>n</i> =07	(100%)	(28,57%)	(28,58%)	(71,42%)	(0%)	(28,57%)	(28,57%)	(0%)	(0%)	(0%)
<i>C. freundii</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>n</i> =02	(100%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)
<i>Shigella spp.</i>	8	1	2	0	0	0	1	2	3	1
<i>n</i> =10	(80%)	(10%)	(20%)	(0%)	(0%)	(0%)	(10%)	(20%)	(30%)	(10%)
<i>Pantoea spp.</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>n</i> =03	(66,66%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)
<i>P. aeruginosa</i>	18	19	19	19	2	3	11	3	11	3
<i>n</i> =24	(75%)	(79,16%)	(79,16%)	(79,16%)	(8,33%)	(12,5%)	(45,83%)	(12,5%)	(45,83%)	(12,5%)
<i>P. stutzeri</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>n</i> =07	(100%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)
<i>P. luotla</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>n</i> =02	(100%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)	(0%)

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les souches d'*A.baumannii* présentent des taux de résistance très faibles aux antibiotiques testés, avec une sensibilité marquée à l'amikacine, à la gentamicine, à la ceftazidime et à l'imipénème. En effet, aucune souche n'a montré de résistance à ces quatre antibiotiques (0 %). Seules quelques résistances ont été observées pour la piperacilline (28,57 %), la céfotaxime (19,04 %), la ciprofloxacine (19,04 %) et la tobramycine (14,28 %) (**Tableau 29**) (**Figure 28**).

Des profils de sensibilité similaires ont été rapportés dans d'autres études. En Éthiopie, (**Birru et al., 2021**) ont observé une forte sensibilité à l'imipénème et à l'amikacine. Au Népal, Bhatta et *al* en 2018 ont également noté une bonne efficacité de la gentamicine et de la ceftazidime. De même en 2023, à Taïwan, Su et *al* et Wu et *al* ont retrouvé des taux de sensibilité comparables.



**Figure 28** : Résultats d'antibiogramme de la souche *A.baumannii* ABS8.

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 29:** Représentation des résultats de l'antibiogramme des souches *A.baumannii*.

	Classe des antibiotiques							
	Pénicilline	Céphalosporines		Carbapénèmes	Fluoroquinolones	Aminosides		
	Pipéracilline	Céfotaxime	Ceftazidime	Imipénème	Ciprofloxacine	Amikacine	Gentamicine	Tobramycine
Souches	Taux de Résistance n (%)							
<i>A.baumannii</i> <i>n =21</i>	6 (28,57%)	4 (19,04%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (19,04%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (14,28%)

Les souches de *Bacillus spp* présentent des taux de multirésistance aux antibiotiques variant entre 11,11 % et 61,11 %. Toutes les souches se sont révélées extrêmement sensibles à la gentamicine, à la vancomycine et à la ciprofloxacine, avec une sensibilité de 100 % (**Tableau 30**). De manière similaire, Celandroni et son équipe ont rapporté dans leur étude que toutes les espèces de *Bacillus* étaient sensibles à la vancomycine et à la ciprofloxacine (Celandroni et *al.*, 2016 ; Fahim et *al.*, 2022).

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 30:** Représentation des résultats de l'antibiogramme des souches de *Bacillus spp.*

Classe de l'antibiotique							
	Pénicilline		Carbapénèmes	Fluoroquinolones	Aminosides	Polypeptide	Glycopeptide
	Penicilline G	Ampicilline	Imipénème	Ciprofloxacine	Gentamicine	Colistine	Vancomycine
Bacillus	<b>Taux de Résistance n (%)</b>						
<i>Bacillu spp</i> <i>n =18</i>	11 (61,11%)	4 (22,22%)	9 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (27,77%)	0 (0%)

En conclusion de cette étude, il est essentiel de souligner que la lutte contre les infections nosocomiales représente un défi collectif qui nécessite la coopération de tous les acteurs de la santé publique. Bien que ces infections existent depuis les premières structures de soins, leur identification a longtemps été difficile en raison d'un manque de connaissance de leurs causes. Les conséquences graves, notamment les nombreux décès dans des services hospitaliers tels que les maternités, les services de néonatalogie et de réanimation, ont rendu urgentes des solutions. Les recherches scientifiques se sont intensifiées pour comprendre les causes, les modes de contamination et de transmission des agents responsables de ces infections.

Notre étude, pionnière en Algérie, a mis en lumière l'importance des surfaces hospitalières comme vecteurs de transmission des infections nosocomiales. Les résultats montrent une forte prévalence de contamination bactérienne, avec des taux de 56,25 % à l'hôpital SB et 90,10 % à l'hôpital FKH. Les lits d'hospitalisation étaient les surfaces les plus contaminées, représentant respectivement 43,93 % et 47,22 % des cas à FKH et SB. Les appareils médicaux suivaient, avec des taux de 32,95 % à FKH et 31,48 % à SB. Les poignées de porte présentaient également une contamination notable, avec 15,74 % à SB et 15,60 % à FKH, tandis que les téléphones fixes étaient les moins contaminés, avec des taux de 5,55 % à SB et 7,51 % à FKH.

Sur un total de 281 isolats microbiens prélevés sur différentes surfaces hospitalières après nettoyage quotidien, 108 provenaient de l'hôpital SB et 173 de l'hôpital FKH. *S. aureus*, le plus dangereux des staphylocoques, était prédominant dans les deux hôpitaux avec des taux de contamination de 12,72 % à SB et 15,74 % à FKH. Enterobacteriaceae était la famille bactérienne la plus dominante, représentant 42,59 % des isolats à SB et 93,88 % à FKH, ce qui indique des problèmes d'hygiène personnelle et un nettoyage inefficace des surfaces. *E.coli* figurait parmi les entérobactéries les plus fréquentes. Les NFGNB étaient également répandues, avec des taux similaires de 19,44 % à SB et 19,07 % à FKH.

L'analyse des antibiogrammes des souches isolées a révélé la complexité croissante des défis liés à la résistance aux antibiotiques. L'émergence de souches multirésistantes, notamment chez *S.haemolyticus*, *S.epidermidis*, *S.aureus*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* et certaines souches d'Enterobacteriaceae comme *E.coli* et *K.pneumoniae*, représente une

menace sérieuse pour l'efficacité des traitements antibactériens. Les taux élevés de résistance observés, en particulier contre la pénicilline G, l'ampicilline et la céfoxitine, soulignent la nécessité de repenser les stratégies d'utilisation des antibiotiques et de promouvoir une utilisation plus prudente de ces agents thérapeutiques. Nos résultats, en accord avec des études antérieures réalisées dans différentes régions du monde, mettent en évidence l'ampleur mondiale de la résistance aux antibiotiques.

Cette étude souligne l'importance d'améliorer l'hygiène des mains du personnel médical et les stratégies de nettoyage et de désinfection pour réduire la propagation des agents pathogènes dans les hôpitaux. Des mesures préventives d'hygiène devraient également être intégrées dans les programmes éducatifs pour sensibiliser le public aux maladies pandémiques telles que le Covid-19. Donc, l'amélioration de la gestion des infections nosocomiales nécessite une approche globale et collaborative, visant à réduire les risques pour les patients et le personnel médical.

### **Perspectives et propositions d'études complémentaires :**

Cette étude souligne la fréquence importante de la contamination bactérienne des surfaces hospitalières et nous offre l'occasion d'envisager différentes perspectives et études supplémentaires dans ce domaine critique :

- ✓ Des études longitudinales pourraient être intéressantes afin de suivre l'évolution de la contamination bactérienne sur les surfaces hospitalières sur une période significative.
- ✓ Des études portant sur différents produits désinfectants et technologies, comme l'ultraviolet, l'ozone ou la vapeur.
- ✓ Des études sur le mode de transmission seraient nécessaires pour comprendre les mécanismes de propagation des bactéries entre les patients, le personnel médical, les visiteurs et les surfaces inertes.
- ✓ L'amélioration de la formation et de la sensibilisation du personnel hospitalier aux meilleures pratiques d'hygiène et de désinfection serait également cruciale.
- ✓ Il est également essentiel de mener une analyse approfondie de la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées.
- ✓ Il serait particulièrement utile d'effectuer une analyse métagénomique des échantillons prélevés sur les surfaces hospitalières pour décrire l'ensemble du microbiome présent sur les surfaces, incluant les bactéries non cultivables.

- ✓ Une analyse génomique des échantillons bactériens permettrait de repérer les gènes responsables de la virulence et de la résistance des souches bactériennes.

Pour résumer, ces recherches supplémentaires permettront d'approfondir notre compréhension des éléments qui contribuent aux infections nosocomiales en Algérie, d'améliorer les mesures de prévention et de contrôle, et de garantir une sécurité accrue des patients dans les établissements de santé. En mettant en place ces études, il sera possible de développer des stratégies plus performantes visant à diminuer la fréquence des infections nosocomiales.

### A

1. Abdollahniya, D., Hosseini, S. M., Baghbaderani, K. B., Mordadi, A., & Reza, M. (2018). Identification of *Lactobacillus* Species Isolated from Traditional Dairy Products Using RAPD-PCR. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5, 7–13.
2. Abraham, J., Dowling, K., & Florentine, S. (2021). Can Copper Products and Surfaces Reduce the Spread of Infectious Microorganisms and Hospital-Acquired Infections? *Materials*, 14, 3444.
3. Accréditation Nationale d'Évaluation en Santé (ANAES). (2000). Guide d'Analyse de la Littérature et Gradation des Recommandations.
4. Adzitey, F., Huda, N., & Ali, G. R. (2013). Molecular Techniques for Detecting and Typing Bacteria, Advantages, and Application to Foodborne Pathogens Isolated from Ducks. *3 Biotech*, 3, 97–107. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0074-4>
5. Afle, F. C. D., Agbankpe, A. J., Johnson, R. C., Houngbegnon, O., Houssou, S. C., & Bankole, H. S. (2019). Healthcare-Associated Infections: Bacteriological Characterization of the Hospital Surfaces in the University Hospital of Abomey-Calavi/So-Ava in South Benin (West Africa). *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3648-x>
6. Ahmed-Kazi Tani, Z. B., & Arlet, G. (2014). Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie [News of Antibiotic Resistance among Gram-Negative Bacilli in Algeria]. *Pathologie Biologie*, 62, 169–178.
7. Aiesh, B. M., Qashou, R., Shemmessian, G., & et al. (2023). Nosocomial Infections in the Surgical Intensive Care Unit: An Observational Retrospective Study from a Large Tertiary Hospital in Palestine. *BMC Infectious Diseases*, 23, 686.
8. Akintunde, O., Tucker, T., & Carabetta, V. J. (2023). The Evolution of Next-Generation Sequencing Technologies. *arXiv*, arXiv:2305.08724v1.
9. Albrecht, A. (2015). Les infections nosocomiales d'origine bactérienne, ce que doit savoir le pharmacien d'officine (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
10. Al-Habibi, M., Hefny, H., & El-Moghazy, A. N. (2022). Molecular Characterization and Prevalence of *Bacillus* Species Isolated from Egyptian Hospitals. *Microbes and Infectious Diseases*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/mid.2022.139527.1316>
11. Alhajj, M., Zubair, M., & Farhana, A. (2023). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK323103/>
12. Aliabadi, A. A., Rogak, S. N., Bartlett, K. H., & Green, S. I. (2011). Preventing Airborne Disease Transmission: Review of Methods for Ventilation Design in Health Care Facilities. *Advances in Preventive Medicine*, 2011, 124064. <https://doi.org/10.4061/2011/124064>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

13. Allegranzi, B., Nejad, S. B., Combescure, C., Graafmans, W., Attar, H., Donaldson, L., & Pittet, D. (2011). Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 377(9761), 228–241.
14. Allegranzi, B., Nejad, S. B., Combescure, C., Graafmans, W., Attar, H., Donaldson, L., & Pittet, D. (2011). Burden of Endemic Health-Care-Associated Infection in Developing Countries: Systematic Review and Meta-Analysis. *The Lancet*, 377(9761), 228–241.
15. Altheide, S. T. (2020). Biochemical and Culture-Based Approaches to Identification in the Diagnostic Microbiology Laboratory. *American Society for Clinical Laboratory Science*, ascls.119.001875. <https://doi.org/10.29074/ascls.119.001875>
16. Anderson, J. M., & Coûteaux, M. M. (1985). Soil Fauna and Climate Interactions on Decomposition in Terrestrial Ecosystems: The European Perspective. In *Ecological Interactions in Soil* (pp. 293–301).
17. Angoue, T. A. A. (2020). Prévalence des Infections Nosocomiales dans 10 Services du CHU du Point G (Doctoral dissertation, Thèse de médecine USTTB [Bamako], Mali).
18. Archana, Singh, S., Kumar, D., Kumar, V., Vaja, S., & Kumar, G. (2024). An Insight into Functional Metagenomics Profiling of Different Ecosystems. In *Microbiome Drivers of Ecosystem Function* (pp. 417–430). Elsevier.
19. Arnould, J. F., & Le Floch, R. (2015). Infections Fongiques des Brûlés: Revue. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 28(1), 21.
20. Artika, I. M., Wiyatno, A., & Ma'roef, C. N. (2020). Pathogenic Viruses: Molecular Detection and Characterization. *Infection, Genetics and Evolution*, 81, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104215>
21. Arya, M., Shergill, I. S., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., & Patel, H. R. H. (2005). Basic Principles of Real-Time Quantitative PCR. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 5, 209–219. <https://doi.org/10.1586/14737159.5.2.209>
22. Aryee, A., Härmälä, S., Shallcross, L., & Hayward, A. (2018). Risk Factors for Community-Acquired Escherichia coli Bacteraemia: A Systematic Review.
23. Ashton, P. M., Nair, S., Dallman, T., Rubino, S., Rabsch, W., Mwaigwisya, S., ... & O'Grady, J. (2015). MinION Nanopore Sequencing Identifies the Position and Structure of a Bacterial Antibiotic Resistance Island. *Nature Biotechnology*, 33(3), 296–300.
24. Aslam, A., & Okafor, C. N. (2022). Shigella. In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482337/>
25. Astagneau, P., & Lepoutre, A. (2002). La Mortalité Attribuée aux Infections Hospitalières. *Actualité et Dossiers en Santé Publique*, 38, 27–29.
26. Astragneau, P., & Lucet, J. C. (1998). Transmission des Infections Urinaires Nosocomiales: Principes et Prévention Technique Hospitalière.

### B

27. Baghdadi, I., Bengriche, L., Immessaoudene, F., Djebbar, D., Mougari, I., Bensalem, A., ... & Djenouhatk, K. (2020). Rôle du CLIN lors d'une infection nosocomiale dans un hôpital d'Alger Est. *Annales de Biologie Clinique*, 78(1), 74–78.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

28. Baker, J. C., Crumley, R. E., & Eckdahl, T. T. (2016). Laboratory Exercises: Random Amplified Polymorphic DNA PCR in the Microbiology Teaching Laboratory. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 8, 391–396.
29. Bakkali, E. L., Hmid, K., Kari, K. E., Zouhdi, M., Mzibri, E. L., & Laglaoui, A. (2015). Characterization of Bacterial Strains and Their Resistance Status in Hospital Environment. *Journal of Tropical Diseases*, 4(1), 180.
30. Bakri, M. M. (2022). Molecular Characterization and Prevalence of Bacillus Species Isolated from Saudi Hospitals. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 18(3), 444–454. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2022.10.016>
31. Barbut, F. (2015). How to Eradicate *Clostridium difficile* from the Environment. *Journal of Hospital Infection*, 89(4), 287–295.
32. Barbut, F., & Neyme, D. (2006). Les Difficultés d'Interprétation des Contrôles Microbiologiques Environnementaux. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2006(382), 27–32.
33. Barbut, F., Mastrantonio, P., Delmée, M., Brazier, J., Kuijper, E., Poxton, I., & European Study Group on *Clostridium difficile* (ESGCD). (2007). Prospective Study of *Clostridium difficile* Infections in Europe with Phenotypic and Genotypic Characterisation of the Isolates. *Clinical Microbiology and Infection*, 13(11), 1048–1057.
34. Barry, M. (2021). *Pseudomonas luteola* Bacteremia in Newly Diagnosed Systemic *Lupus Erythematosus*. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2021, 4051378. <https://doi.org/10.1155/2021/4051378>
35. Bartram, A. K., Lynch, M. D. J., Stearns, J. C., Moreno-Hagelsieb, G., & Neufeld, J. D. (2011). Generation of Multimillion-Sequence 16S rRNA Gene Libraries from Complex Microbial Communities by Assembling Paired-End Illumina Reads. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5569. <https://doi.org/10.1128/aem.05896>
36. Belhaj Soulami, O. (2010). Surcout de l'infection nosocomiale en réanimation médicale au CHU Ibn Rochd (À propos de 10 cas).
37. Benzaid, C., Tichati, L., Rouabhia, M., & Dahdouh, S. A. (2022). Prévalence des Infections Nosocomiales d'Origine Microbienne au Service de Réanimation du Centre Hospitalo-Universitaire de Annaba-Algérie. *Annales de Biologie Clinique*, 80(6).
38. Bertrou, A., Chapuis, C., & Hajjar, J. (2000). Relations Entre Contamination et Environnement Hospitalier. *Hygiènes (Lyon)*, 8(3), 143–146.
39. Birru, M., Mengistu, M., Siraj, M., Aklilu, A., Boru, K., Woldemariam, M., Biresaw, G., Seid, M., & Manilal, A. (2021). Magnitude, Diversity, and Antibigrams of Bacteria Isolated from Patient-Care Equipment and Inanimate Objects of Selected Wards in Arba Minch General Hospital, Southern Ethiopia. *Research Reports in Tropical Medicine*, 12, 39–49.
40. Bisen, P. S., Debnath, M., & Prasad, G. B. (2012). *Microbes in Applied Research: Current Advances and Challenges*. Wiley-Blackwell : Oxford, UK, p. 699
41. Boers, S. A., Jansen, R., & Hays, J. P. (2019). Understanding and Overcoming the Pitfalls and Biases of Next-Generation Sequencing (NGS) Methods for Use in the Routine Clinical Microbiological Diagnostic Laboratory. *European Journal of Clinical*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Microbiology & Infectious Diseases, 38(6), 1059–1070.  
<https://doi.org/10.1007/s10096-019-03520-3>
42. Bosì, C. (2000). Analyse Bactériologique de l'Environnement Hospitalier. In Précis de Bactériologie Clinique (pp. 408–437). ESKA.
  43. Bosì, C. (2002). Analyse Bactériologique de l'Environnement Hospitalier. In J. Freney, R. F. Renaud, J. Cavallo, G. Antoniotti, N. Baffoy, S. Guibnement-Coudras, & J. Hajjar (Eds.), Surveillance Microbiologique de l'Environnement dans les Établissements de Santé: Air, Eaux et Surfaces. Ministère Chargé de la Santé, DGS/DHOS, CTIN.
  44. Boucher, H. W., & Corey, G. R. (2008). Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Clinical Infectious Diseases, 46(Suppl. 5), S344–S349.
  45. Bouillard, L., Michel, O., Dramaix, M., & Devleeschouwer, M. (2005). Bacterial Contamination of Indoor Air, Surfaces, and Settled Dust, and Related Dust Endotoxin Concentrations in Healthy Office Buildings. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 12(2), 187–192.
  46. Boulahouat, M., & Aliziane, M. O. (2020). Le coût économique et social des infections nosocomiales en Algérie. Revue Nouvelle Économie, 11(1), 411-430.  
<https://asjp.cerist.dz/en/article/105748>
  47. Bounab Rahma, C., & Moufida, S. H. (2011). Isolement et Identification des Bactéries Responsables d'une Infection Nosocomiale Chez les Patients-Nouveaux Nés. (Mémoire en ligne). Université 8 Mai 1945 - Guelma, Algérie. <http://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/2625>
  48. Boyce, J. M., Havill, N. L., Kohan, C., Dumigan, D. G., & Ligi, C. E. (2004). Do Infection Control Measures Work for Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus? Infection Control & Hospital Epidemiology, 25(5), 395–401.  
<https://doi.org/10.1086/502412>
  49. Boyle, M. A., Kearney, A., Carling, P. C., & Humphreys, H. (2019). 'Off the Rails': Hospital Bed Rail Design, Contamination, and the Evaluation of Their Microbial Ecology. Journal of Hospital Infection, 103(1), e16–e22.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.01.017>
  50. **Brahimi, N., Cherafa, S., & Essalhi, H.** (2020). *Profil de résistance aux antibiotiques et capacité de formation de biofilm chez des bactéries isolées du milieu hospitalier* (Mémoire de Master). Université 8 mai 1945 - Guelma, Algérie.  
<http://dspace.univ-guelma.dz/jspui/handle/123456789/9111>
  51. Breitwieser, F. P., Lu, J., & Salzberg, S. L. (2019). A Review of Methods and Databases for Metagenomic Classification and Assembly. Briefings in Bioinformatics, 20(4), 1125–1136. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx120>
  52. Brlek, P., Bulić, L., Bračić, M., Projić, P., Škaro, V., Shah, N., Shah, P., & Primorac, D. (2024). Implementing Whole Genome Sequencing (WGS) in Clinical Practice: Advantages, Challenges, and Future Perspectives. Cells, 13(6), 504.  
<https://doi.org/10.3390/cells13060504>
  53. Bryce, A. N., Doocey, R., & Handy, R. (2021). Staphylococcus haemolyticus Meningitis and Bacteremia in an Allogenic Stem Cell Transplant Patient. IDCases, 26, e01259. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2021.e01259>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

54. Burgard, M., Grall, I., Descamps, P., & Zahar, J. R. (2013). Infecciones Nosocomiales en Pediatría. *EMC-Pediatría*, 48(2), 1–9.
55. Byrne, S. J., Butler, C. A., Reynolds, E. C., & Dashper, S. G. (2018). *Methods in Microbiology* (Vol. 45, O. Bacteria, Ed.). Academic Press.

### C

56. Cabrera-Contreras, R., Morelos-Ramírez, R., Galicia-Camacho, A. N., & Meléndez-Herrada, E. (2010). Antibiotic Susceptibility and Biofilm Production and Correlation to Methicillin-Resistant Genotype of *Staphylococcus epidermidis* Strains from a Mexican Hospital. *Proceedings of the 110th General Meeting of the American Society for Microbiology (ASM'10)*, 23–27.
57. Caneiras, C., Lito, L., Melo-Cristino, J., & Duarte, A. (2019). Community- and Hospital-Acquired *Klebsiella pneumoniae* Urinary Tract Infections in Portugal: Virulence and Antibiotic Resistance. *Microorganisms*, 7(5), 138. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050138>
58. Casini, B., Tuvo, B., Cristina, M. L., Spagnolo, A. M., Totaro, M., Baggiani, A., & Privitera, G. P. (2019). Evaluation of an ultraviolet C (UVC) light-emitting device for disinfection of high-touch surfaces in hospital critical areas. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(19), 3572.
59. Caughey, A. B., & Burchfield, D. J. (2014, February). Costs and cost-effectiveness of periviable care. In *Seminars in Perinatology* (Vol. 38, No. 1, pp. 56–62). WB Saunders.
60. Cavallo, J. D., Antoniotti, G., Baffoy, N., Guignement-Coudrais, S., Hajjar, J., Horn, C., & Le Gouhir, C. (2002). Surveillance Microbiologique de l'Environnement dans les Établissements de Santé: Air, Eaux et Surfaces. Ministère Chargé de la Santé, DGS/DHOS, CTIN.
61. Cavari, Y., Kaplan, O., Zander, A., Hazan, G., Shemer-Avni, Y., & Borer, A. (2016). Healthcare Workers' Mobile Phone Usage: A Potential Risk for Viral Contamination. *Surveillance Pilot Study. Infectious Diseases*, 48(6), 432–435. <https://doi.org/10.3109/23744235.2016.1148146>
62. Celandroni, F., Salvetti, S., Gueye, S. A., Mazzantini, D., Lupetti, A., Senesi, S., et al. (2016). Identification and Pathogenic Potential of Clinical *Bacillus* and *Paenibacillus* Isolates. *PLoS ONE*, 11(3), e0152831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152831>
63. Chabni, N., Regagba, D., Meguenni, K., Ghomari, S. M., & Smahi, M. C. (2015). Facteurs de risque de l'infection nosocomiale au niveau du service de néonatalogie polyvalente de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen à l'Ouest algérien, « étude cas-témoins ». *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 28(2), 71–79.
64. Chaoui, L., Mhand, R., Mellouki, F., & Rhallabi, N. (2019). Contamination of the Surfaces of a Healthcare Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria. *International Journal of Microbiology*, 2019, 3236526. <https://doi.org/10.1155/2019/3236526>
65. Chauhan, T. (2020, September 21). DdNTP in Sanger sequencing- what is it and why we use it? *Genetic Education*.
66. Chawla, K., Vishwanath, S., & Munim, F. C. (2013). Nonfermenting Gram-Negative Bacilli Other Than *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* Spp. Causing

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Respiratory Tract Infections in a Tertiary Care Center. *Journal of Global Infectious Diseases*, 5(4), 144–148. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.121996>
67. Chelsea, M., & William, A. (2023). Petri Jr. Malaria Infections: A Review. University of Virginia, School of Medicine, MSD Manual.
68. Chen, Z., Yu, D., He, S., Ye, H., Zhang, L., Wen, Y., & Chen, S. (2017). Prevalence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* in drinking water sources in Hangzhou City. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1133. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01133>
69. Cherifi, S., Byl, B., Deplano, A., Nagant, C., Nonhoff, C., Denis, O., & Hallin, M. (2014). Genetic characteristics and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* isolates from patients with catheter-related bloodstream infections and from colonized healthcare workers in a Belgian hospital. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-13-20>
70. Chiaradia, O. (2019). La gestion des ressources humaines dans le secteur hospitalier. Faculté des sciences économiques, sociales, politiques et de communication. In Taskin, L., & Perilleux, A.
71. Chidgeavadze, Z., & Beabealashvili, R. S. (1984). 2', 3'-Dideoxy-3'-aminonucleoside 5'-triphosphates are the terminators of DNA synthesis catalyzed by DNA polymerases. *Nucleic Acids Research*, 12, 1671–1686. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC318607/>
72. Cholley, P., Thouverez, M., Gbaguidi-Haore, H., Bertrand, X., & Talon, D. (2013). Application des méthodes de typage génomique au laboratoire d'hygiène. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(453), 65–70.
73. Chowdhury, D., Tahir, S., Legge, M., Hu, H., Prvan, T., Johani, K., Whiteley, G. S., Glasbey, T. O., Deva, A. K., & Vickery, K. (2018). Transfer of dry surface biofilm in the healthcare environment: The role of healthcare workers' hands as vehicles. *Journal of Hospital Infection*, 100, 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2018.04.005>
74. Church, D. L., Cerutti, L., Gurtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). Performance and application of 16S rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(4), e00039-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00039-19>
75. Clarridge, J. E. III. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 840–862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>
76. Cook, M. A., & Lopez, J. J., Jr. (1998). *Serratia odorifera* biogroup I: An emerging pathogen. *Journal of the American Osteopathic Association*, 98(9), 505–507.
77. Costa, D. M., Johani, K., Melo, D. S., Lopes, L. K. O., Lopes Lima, L. K. O., Tipple, A. F. V., Hu, H., & Vickery, K. (2019). Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: Epidemiology and potential impacts. *Letters in Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/lam.13145>
78. Creamer, E., & Humphreys, H. (2008). The contribution of beds to healthcare-associated infection: The importance of adequate decontamination. *Journal of Hospital Infection*, 69(1), 8–23. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.01.014>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

79. Cunningham, B., O'Neill, V., Devereux, M., McGann, D., & O'Hora, J. (2022). Use of a door handle disinfection system to reduce the risks associated with microbial loads on fomites in a healthcare setting. *Journal of Hospital Infection*, 130, 104–107. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.09.003>
80. Czekaj, T., Ciszewski, M., & Szewczyk, E. M. (2015). *Staphylococcus haemolyticus*—An emerging threat in the twilight of the antibiotics age. *Microbiology*, 161, 2061–2068. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000178>

### D

81. Dancer, S. J. (2022). How do biofilms affect surface cleaning in hospitals? *Hygiene*, 2(3), 132–135. <https://doi.org/10.3390/hygiene2030011>
82. Daniau, C., Léon, L., Blanchard, H., Bernet, C., Caillet-Vallet, E., Glorion, S., ... & Coignard, B. (2018). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017. Saint-Maurice: Santé Publique France.
83. Darge, A., Kahsay, A. G., Hailekiros, H., et al. (2019). Bacterial contamination and antimicrobial susceptibility patterns of intensive care unit medical equipment and inanimate surfaces at Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Mekelle, Northern Ethiopia. *BMC Research Notes*, 12, 621. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4661-6>
84. Dash, H. R., & Das, S. (2018). Molecular methods for studying microorganisms from atypical environments. In *Methods in Microbiology* (pp. 89–122). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2018.03.003>
85. De Sousa, T., Hébraud, M., Dapkevicius, M. L. E., Maltez, L., Pereira, J. E., Capita, R., ... & Poeta, P. (2021). Genomic and metabolic characteristics of the pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12892. <https://doi.org/10.3390/ijms222312892>
86. Deepak, S. A., Kottapalli, K. R., Rakwal, R., Oros, G., Rangappa, K., Iwahashi, H., Masuo, Y., & Agrawal, G. K. (2007). Real-time PCR: Revolutionizing detection and expression analysis of genes. *Current Genomics*, 8(4), 234–251. <https://doi.org/10.2174/138920207781386960>
87. Denman, S. E., Mitsumori, M., & McSweeney, C. S. (2006). RAPD, RFLP, T-RFLP, AFLP, RISA. In *Methods in Gut Microbial Ecology for Ruminants* (pp. 151–159). Springer-Verlag.  
des Biotechnologies de Monastir (pp. 87–94). Monastir, Tunisia.
88. Desenclos, J.-C. (2008). La transmission aérienne des agents infectieux. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 38(8), 449–451. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.06.015>
89. Di Mario, S., Dionisi, S., Di Simone, E., Liquori, G., Cianfrocca, C., Di Muzio, M., & Giannetta, N. (2022). Infections and smartphone use in nursing practice: A systematic review. *Florence Nightingale Journal of Nursing*, 30(2), 209–216. <https://doi.org/10.54614/FNJJN.2022.21190>
90. Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2014). Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(9), 831–838.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

91. Donelli, G., Vuotto, C., & Mastromarino, P. (2013). Phenotyping and genotyping are both essential to identify and classify a probiotic microorganism. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 24(1), 1–8. <https://doi.org/10.3402/mehd.v24.20105>
92. Dorbani, M. (2022, December). Contribution relative des différentes longueurs d'onde de la lumière pulsée à l'inactivation des spores bactériennes et fongiques. Avignon.
93. Drzewiecka, D. (2016). Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial Ecology*, 72(4), 741–758. <https://doi.org/10.1007/s00248-015-0720-6>
94. Ducel, G. (2002). Prevention of hospital-acquired infections: A practical guide. World Health Organization.
95. Ducla, H. (2023). Apport de la métagénomique à la compréhension des pathologies humaines: Évolutions et perspectives. *Sciences du Vivant [q-bio]*. [DUMAS-04156992].

### E

96. Ebongue, C. O., Tsiazok, M. D., Mefo'o, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012 [Evolution of antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated at the Douala General Hospital from 2005 to 2012]. *Pan African Medical Journal*, 20, 227. <https://doi.org/10.11604/pamj.2015.20.227.4770>
97. Eladli, M. G., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., Kadaikunnan, S., Alobaidi, A. S., & Alyahya, S. A. (2019). Antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolated from patients and healthy students compared with antibiotic-resistant bacteria isolated from pasteurized milk. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1285–1290. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.06.001>
98. Ellermann, M., Carr, J. S., Fodor, A. A., Arthur, J. C., & Carroll, I. M. (2017). Characterizing and functionally defining the gut microbiota. In H. Martin, Y. Floch, & W. A. Ringel (Eds.), *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology* (pp. 15–25). Academic Press.
99. Eltwisy, H. O., Abdel-Fattah, M., Elsisy, A. M., Omar, M. M., Abdelmoteleb, A., & El-Mokhtar, M. A. (2020). Pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus* on primary human skin fibroblast cells. *Virulence*, 11(1), 1142–1157. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1809962>
100. Eltwisy, H. O., Twisy, H. O., Hafez, M. H., Sayed, I. M., & El-Mokhtar, M. A. (2022). Clinical infections, antibiotic resistance, and pathogenesis of *Staphylococcus haemolyticus*. *Microorganisms*, 10(6), 1130. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061130>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

101. Enghoff, H. (2009). What is taxonomy? An overview with myriapodological examples. *Soil Organisms*, 81, 441–451.
102. Epelboin, L., & Macey, J. (2009). *Maladies infectieuses et transmissibles*. Cahiers des ECN, éditions. Elsevier Masson.
103. Evans, B., Hamouda, A., & Amyes, S. G. B. (2013). The Rise of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Current Pharmaceutical Design*, 19(2), 223–238.
104. Eze, E., Gleasure, R., & Heavin, C. (2022). Worlds apart: a socio-material exploration of mHealth in rural areas of developing countries. *Information Technology & People*, 35(8), 99–141.

### F

105. Facciola, A., Pellicanò, G. F., Visalli, G., Paolucci, I. A., Venanzi Rullo, E., Ceccarelli, M., D'Aleo, F., Di Pietro, A., Squeri, R., Nunnari, G., & La Fauci, V. (2019). The role of the hospital environment in the healthcare-associated infections: A general review of the literature. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(3), 1266–1278. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201902\\_17020](https://doi.org/10.26355/eurrev_201902_17020)
106. Fahim, N. A. E., Ismail, G. A. E., Abdelaleem, M. B., Elanany, M., Saber, S. M., & El-Ashry, M. A. E. (2022). Identification, characterization, and antibiotic susceptibility testing for *Bacillus* species. *Iranian Journal of Microbiology*, 14(4), 484–494. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i4.10234>
107. Festekjian, A., & Neely, M. (2011). Incidence and predictors of invasive candidiasis associated with candidaemia in children. *Mycoses*, 54(2), 146–153. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2010.01929.x>
108. Fillali, W. (2022). *Analyse prospective par séquençage haut débit de souches de Pseudomonas aeruginosa d'origine respiratoire isolées au service de réanimation polyvalente du CHU de Limoges (Doctoral dissertation)*. University of Limoges.
109. Fishbain, J., & Peleg, A. Y. (2010). Treatment of *Acinetobacter* infections. *Clinical Infectious Diseases*, 51(1), 79–84. <https://doi.org/10.1086/653145>
110. Forrester, J. D., Maggio, P. M., & Tennakoon, L. (2022). Cost of health care-associated infections in the United States. *Journal of Patient Safety*, 18(2), e477–e479.
111. Fox, G. E., Woese, C. R., & Pechman, K. R. (1977). Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: Molecular approach to procaryotic systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 27(1), 44–57. <https://doi.org/10.1099/00207713-27-1-44>
112. Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., Kaushik, K. S., Salehi, B., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Antolak, H., Dybka-Stepień, K., Leszczewicz, M., Relison Tintino, S., Alexandrino de Souza, V. C., Sharifi-Rad, J., Coutinho, H. D. M., Martins, N., & Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050130>
113. Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., Kaushik, S., Salehi, B., Bevilacqua, A., ... & Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### G

114. Galluzzi, L., Magnani, M., Saunders, N., Harms, C., & Bruce, I. J. (2007). Current molecular techniques for the detection of microbial pathogens. *Science Progress*, 90(1), 29–50. <https://doi.org/10.3184/003685007780440521>
115. García-López, M.-L., Santos, J. A., Otero, A., & Rodríguez-Calleja, J. M. (2014). In *Encyclopedia of Food Microbiology* (C. A. Batt & M. L. Tortorello, Eds.), 1st ed., pp. 1–6. Academic Press.
116. Gauba, A., & Rahman, K. M. (2023). Evaluation of antibiotic resistance mechanisms in gram-negative bacteria. *Antibiotics*, 12, 1590. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111590>
117. Gaüzère, B. A., & Aubry, P. (2012). Dix-neuvième réunion du comité local, 29 Novembre 2011. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 105, 329–332.
118. Gavaldà, L., Garcia-Nuñez, M., Quero, S., Gutierrez-Milla, C., & Sabrià, M. (2019). Role of hot water temperature and water system use on Legionella control in a tertiary hospital: An 8-year longitudinal study. *Water Research*, 149, 460–466. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.11.014>
119. Getachew, H., Derbie, A., & Mekonnen, S. (2018). Surfaces and air bacteriology of selected wards at a referral hospital, Northwest Ethiopia: A cross-sectional study. *International Journal of Microbiology*, 2018, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2018/2895476>
120. Ghadiri, H., Vaez, H., Khosravi, S., & Soleymani, E. (2012). The antibiotic resistance profiles of bacterial strains isolated from patients with hospital-acquired bloodstream and urinary tract infections. *Critical Care Research and Practice*, 2012, 890797. <https://doi.org/10.1155/2012/890797>
121. Gillings, M. R., Gaze, W. H., Pruden, A., Smalla, K., Tiedje, J. M., & Zhu, Y. G. (2015). Using the class 1 integron-integrase gene as a proxy for anthropogenic pollution. *The ISME Journal*, 9(6), 1269–1279. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.222>
122. Gleason, J. A., & Cohn, P. D. (2022). A review of legionnaires' disease and public water systems—scientific considerations, uncertainties, and recommendations. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 240, 113906. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2021.113906>
123. Godfray, H. C. J. (2002). Challenges for taxonomy. *Nature*, 417, 17–19. <https://doi.org/10.1038/417017a>
124. Gomila, M., Mulet, M., García-Valdés, E., & Lalucat, J. (2022). Genome-based taxonomy of the genus *Stutzerimonas* and proposal of *S. frequens* sp. nov. and *S. degradans* sp. nov. and emended descriptions of *S. perfectomarina* and *S. chloritidismutans*. *Microorganisms*, 10(7), 1363.
125. Guerra-García, J. M., Espinosa, F., & García-Gómez, J. C. (2008). Trends in taxonomy today: an overview about the main topics in taxonomy. *Zoologica Baetica*, 19, 15–49.
- Guerra-García, J. M., Espinosa, F., & García-Gómez, J. C. (2008). Trends in taxonomy today: An overview about the main topics in taxonomy. *Zoologica Baetica*, 19, 15–19.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### H

126. Habboush, Y., Yarrarapu, S. N. S., & Guzman, N. (2023). StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.statpearls.com>
127. Hamady, M., Walker, J. J., Harris, J. K., Gold, N. J., & Knight, R. (2008). Error-correcting barcoded primers for pyrosequencing hundreds of samples in multiplex. *Nature Methods*, 5(3), 235–237. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1184>
128. Hanlin, J. H., & Myers, E. R. (2018). Healthcare plumbing systems are sources and vectors of infection for HAIs. *Infection Control Today*, 2018.
129. Hawkins, G. A. (2017). Analysis of human genetic variations using DNA sequencing. In *Basic Science Methods for Clinical Researchers* (pp. 77–98). Elsevier.
130. He, X., Chen, X., & Wang, Y. (2023). Mass spectrometry for assessing protein-nucleic acid interactions. *Analytical Chemistry*, 95(1), 115–127. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04353>
131. Heather, J. M., & Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, 107(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.11.003>
132. Hidron, A., Edwards, J., Patel, J., Horan, T., Sievert, D., Pollock, D., & Fridkin, S. (2008). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(11), 996–1011. <https://doi.org/10.1086/591861>
133. Horan, T. C., Andrus, M., & Dudeck, M. A. (2008). CDC/NHSN surveillance definition of healthcare-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *American Journal of Infection Control*, 36(5), 309–332. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2008.03.002>
134. Hosseinkhani, F., Emaneini, M., & van Leeuwen, W. (2017). High-quality genome sequence of the highly resistant bacterium *Staphylococcus haemolyticus*, isolated from a neonatal bloodstream infection. *Genome Announcements*, 5(18), e00683-17. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00683-1>
135. Hou, T. Y., Chiang-Ni, C., & Teng, S. H. (2019). Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(2), 404–414. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.001>

### J

136. Jamil, R. T., Foris, L. A., & Snowden, J. (2022, October 25). *Proteus mirabilis* infections. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.statpearls.com>
137. Jannetto, P. J., & Danso, D. (2020). Mass spectrometry. *Clinical Biochemistry*, 82, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.06.003>
138. Jernigan, J. A., Hatfield, K. M., Wolford, H., Nelson, R. E., Olubajo, B., Reddy, S. C., McCarthy, N., Paul, P., McDonald, L. C., Kallen, A., Fiore, A., Craig, M., Baggs, J. (2020). Multidrug-resistant bacterial infections in U.S. hospitalized patients, 2012–2017. *New England Journal of Medicine*, 382(14), 1309–1319. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1911939>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

139. Johnson, A. O., Forsyth, V., Smith, S. N., et al. (2020). Transposon insertion site sequencing of *Providencia stuartii*: Essential genes, fitness factors for catheter-associated urinary tract infection, and the impact of polymicrobial infection on fitness requirements. *mSphere*, 5(4), e00412-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00412-20>
140. Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B. Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., & Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
141. Jones, C., & Kortenkamp, A. (2000). RAPD Library Fingerprinting of Bacterial and Human DNA: Applications in Mutation Detection. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 20, 49–63.
142. Jones, C., & Kortenkamp, A. (2000). RAPD library fingerprinting of bacterial and human DNA: Applications in mutation detection. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 20, 49–63. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6866\(2000\)20:1<49::AID-TER4>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6866(2000)20:1<49::AID-TER4>3.0.CO;2-N)
143. Jose, A., Gizdavic-Nikolaidis, M., & Swift, S. (2023). Antimicrobial coatings: Reviewing options for healthcare applications. *Applied Microbiology*, 3(1), 145–174. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3010012>
- K**
144. Kahlouche, K. (2018). *Microsystème pour la nanomédecine: Application aux maladies nosocomiales et à la détection des agents pathogènes* (Doctoral dissertation, Université Bourgogne Franche-Comté; Université de Laghouat, Algérie).
145. Kai, S., Matsuo, Y., Nakagawa, S., Kryukov, K., Matsukawa, S., Tanaka, H., Iwai, T., Imanishi, T., Hirota, K., Matsuo, C. Y., et al. (2019). Rapid bacterial identification by direct PCR amplification of 16S rRNA genes using the MinION™ nanopore sequencer. *FEBS Open Bio*, 9, 548–557. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12637>
146. Kessi, R. (2022). *Impact économique de l'hygiène hospitalière sur le fonctionnement d'un établissement public hospitalier. Cas du CHU de Tizi-Ouzou* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
147. Kiros, T., Dامتie, S., Eyayu, T., Tiruneh, T., Hailemichael, W., & Workineh, L. (2021). Bacterial pathogens and their antimicrobial resistance patterns of inanimate surfaces and equipment in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Biomedical Research International*, 2021, 5519847. <https://doi.org/10.1155/2021/5519847>
148. Kodjikian, L., Roques, C., Campanac, C., Doleans, A., Baillif, S., Pellon, G., Renaud, F. N. R., Hartmann, D., Freney, J., & Burillon, C. (2005). Biofilms à *Staphylococcus epidermidis* à la surface des implants intraoculaires. *Journal Français d'Ophthalmologie*, 28(2), 224–230. [https://doi.org/10.1016/s0181-5512\(05\)81047-2](https://doi.org/10.1016/s0181-5512(05)81047-2)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

149. Koumedjina, K. V. (2019). Evaluation des mesures de prévention contre les infections nosocomiales dans le service des maladies infectieuses du CHU de Point G (Doctoral dissertation, USTTB).
150. Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 6(1), 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130>
151. Kupriyanov, A. A., Semenov, A. M., & Van Bruggen, A. H. C. (2010). Transition of enteropathogenic and saprotrophic bacteria in the niche cycle: Animals-excrement-soil-plants-animals. *Biology Bulletin*, 37, 263–267. <https://doi.org/10.1134/S1062359010030029>
152. Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 373. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030373>

### L

153. Lagier, J.-C., Hugon, P., Khelaifia, S., Fournier, P.-E., La Scola, B., Raoult, D. (2015). The rebirth of culture in microbiology through the example of culturomics to study human gut microbiota. *Clinical Microbiology Reviews*, 28, 237–264. <https://doi.org/10.1128/CMR.00010-14>
154. Lakhani, S. J., Mehta, S. J., Panjwani, D. M., & Lakhani, J. D. (2021). Microbiological profile of nosocomial infections due to gram-negative lactose non-fermentative bacteria in a teaching hospital of Gujarat. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(1), 396–401. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.1.36>
155. Lalucat, J., Bennasar, A., Bosch, R., García-Valdés, E., & Palleroni, N. J. (2006). Biology of *Pseudomonas stutzeri*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70, 510–547. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-06>
156. Lau, H. Y., Huffnagle, G. B., & Moore, T. A. (2008). Host and microbiota factors that control *Klebsiella pneumoniae* mucosal colonization in mice. *Microbes and Infection*, 10(12-13), 1283–1290. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.07.004>
157. Lax, S., & Gilbert, J. A. (2015). Hospital-associated microbiota and implications for nosocomial infections. *Trends in Molecular Medicine*, 21(7), 427–432. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2015.04.005>
158. Le Heurt, M., Gomila, H., Girot, S., & al. (1995). *Hygiène*. Masson. ISBN 10 : 2225848920 / ISBN 13 : 9782225848926.
159. Le, P., & S. P. (n.d.). E.H.S mère - enfant de Tlemcen “2009–2010.” Univ-Tlemcen.Dz. Retrieved August 16, 2023, from <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/2619/1/Surveillance-du-risque-infectieux-en-unitee-de-neonatalogie.pdf>
160. Lederberg, J., Shope, R. E., & Oaks, S. C. (1992). *Emerging infections: Microbial threats to health in the United States*. National Academies Press (US). <https://doi.org/10.17226/2114>
161. Lee, E., & Anjum, F. (2022). *Staphylococcus epidermidis*. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.statpearls.com>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

162. Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C.-Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *Journal of Visualized Experiments*, 62, e3923. <https://doi.org/10.3791/3923>
163. Lemiech-Mirowska, E., Kiersnowska, Z. M., Michałkiewicz, M., Depta, A., & Marczak, M. (2021). Nosocomial infections as one of the most important problems of the healthcare system. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 28(3), 361–366. <https://doi.org/10.26444/aaem/122629>
164. Lemiech-Mirowska, E., Michałkiewicz, M., Sierocka, A., Gaszyńska, E., & Marczak, M. (2023). The hospital environment as a potential source for *Clostridioides difficile* transmission based on spore detection surveys conducted at pediatric oncology and gastroenterology units. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(2), 1590. <https://doi.org/10.3390/ijerph20021590>
165. Lemmen, S. W., Hafner, H., Zolldann, D., Stanzel, S., Luttkicken, R. (2004). Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *Journal of Hospital Infection*, 56(3), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2003.11.004>
166. Lemsanni, M. (2016). Les infections nosocomiales en réanimation pédiatrique. (Doctoral dissertation, Université CADI AYYAD).
167. Letica-Kriegel, A. S., Salmasian, H., Vawdrey, D. K., Youngerman, B. E., Green, R. A., Furuya, E. Y., ... Perotte, R. (2019). Identifying the risk factors for catheter-associated urinary tract infections: A large cross-sectional study of six hospitals. *BMJ Open*, 9(2), e022137. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-022137>
168. Leulmi, Z., & Kandouli. (2015). Les *Proteus* incriminés dans les infections communautaires. (Doctoral dissertation, Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie).
169. Li, X., Wang, Q., Ding, P., Cha, Y. E., Mao, Y., Ding, C., Gu, W., Wang, Y., Ying, B., Zhao, X., et al. (2021). Risk factors and on-site simulation of environmental transmission of SARS-CoV-2 in the largest wholesale market of Beijing, China. *Science of The Total Environment*, 778, 146040.
170. Libertucci, J., & Young, V. B. (2019). The role of the microbiota in infectious diseases. *Nature Microbiology*, 4(1), 35–45. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0300-3>
171. Ligozzi, M., Bernini, C., Bonora, M. G., De Fatima, M., Zuliani, J., & Fontana, R. (2002). Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5), 1681–1686. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.5.1681-1686.2002>
172. Ling, M. L., Ching, P., Widitaputra, A., Stewart, A., Sirijindadirat, N., & Thu, L. T. A. (2018). APSIC guidelines for disinfection and sterilization of instruments in health care facilities. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 7, 25. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0308-2>
173. Lister, J. (1867). On the use of carbolic acid. *The Lancet*, 90(2301), 444.
174. Liu, J., Gao, Y., Wang, X., et al. (2020). Culture-positive spontaneous ascitic infection in patients with acute decompensated cirrhosis: Multidrug-resistant

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- pathogens and antibiotic strategies. *Yonsei Medical Journal*, 61(2), 145–153. <https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.2.145>
175. Liu, L. H., Wang, N. Y., Wu, A. Y., Lin, C. C., Lee, C. M., & Liu, C. P. (2018). *Citrobacter freundii* bacteremia: Risk factors of mortality and prevalence of resistance genes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(4), 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.08.016>
176. Lydia, B., & Meriem, B. (2017). Évaluation du coût des infections nosocomiales dans le service de réanimation médicale du CHU de Tizi Ouzou.

### M

177. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (Eds.). (2012). *Brock Biology of Microorganisms* (13th ed.). Pearson.
178. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2012). *Brock Biology of Microorganisms* (13th ed.). San Francisco.
179. Magill, S. S., O’Leary, E., Janelle, S. J., Thompson, D. L., Dumyati, G., Nadle, J., ... & Edwards, J. R. (2018). Changes in prevalence of healthcare-associated infections in US hospitals. *New England Journal of Medicine*, 379(18), 1732–1744. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal801557>
180. MAIGA II, E., EPOK J., DIARRA I., FONGORO S., ROCHEREAU A., & MAIGA, M. K. (2000). Les facteurs de risque des infections urinaires à l’hôpital du Point G à Bamako (Mali). *Mali Méd*, 15(4), 21–24.
181. Maina, C. W. (2020). Bacterial Contamination of Door Handles in Muranga District Hospital, Muranga County, Kenya. *International Journal of Advanced Research*, 8(Jan), 395–400. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/10387>
182. Maina, S. M., Nyerere, A. K., & Ngugi, C. W. (2018). Isolation of bacterial diversity present in medical waste and healthcare settings in hospitals in Kenya. *African Journal of Microbiology Research*, 12, 606–615. <https://doi.org/10.5897/AJMR2018.8876>
183. Mani, S., & Nair, J. (2021). *Pantoea* infections in the neonatal intensive care unit. *Cureus*, 13(2), e13103. <https://doi.org/10.7759/cureus.13103>
184. Mann, E. E., Manna, D., Mettetal, M. R., May, R. M., Dannemiller, E. M., Chung, K. K., ... & Reddy, S. T. (2014). Surface micropattern limits bacterial contamination. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 3, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13756-014-0047-1>
185. Mansour, F., & Zouhir, R. (2009). Les infections associées aux soins dans le service de réanimation médicale et des urgences chirurgicales. In Institut Supérieur
186. Markwart, R., Saito, H., Harder, T., Tomczyk, S., Cassini, A., Fleischmann-Struzek, C., ... & Allegranzi, B. (2020). Epidemiology and burden of sepsis acquired in hospitals and intensive care units: A systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Medicine*, 46, 1536–1551. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06092-0>
187. Martins, K. B., Ferreira, A. M., Mondelli, A. L., Rocchetti, T. T., & Cunha, M. D. S. D. (2018). Evaluation of MALDI-TOF VITEK® MS and VITEK® 2 system for

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- the identification of *Staphylococcus saprophyticus*. *Future Microbiology*, 13, 1603–1609. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0169>
188. Martins, K. B., Ferreira, A. M., Pereira, V. C., Pinheiro, L., De Oliveira, A., De Lourdes Ribeiro, et al. (2019). In vitro effects of antimicrobial agents on planktonic and biofilm forms of *Staphylococcus saprophyticus* isolated from patients with urinary tract infections. *Frontiers in Microbiology*, 10, 40. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00040>
189. McGoverin, C., Steed, C., Esan, A., Robertson, J., Swift, S., & Vanholsbeeck, F. (2021). Optical methods for bacterial detection and characterization. *APL Photonics*, 6(8), 080903. <https://doi.org/10.1063/5.0057787>
190. Mellmann, A., Bimet, F., Bizet, C., Borovskaya, A. D., Drake, R. R., Eigner, U., et al. (2009). High interlaboratory reproducibility of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based species identification of nonfermenting bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11), 3732–3734. <https://doi.org/10.1128/JCM.00999-09>
191. Mermel, L. A., & Spiegel, C. A. (1992). Nosocomial sepsis due to *Serratia odorifera* biovar 1. *Clinical Infectious Diseases*, 14(1), 208–210. <https://doi.org/10.1093/clinids/14.1.208>
192. Messina, G., Ceriale, E., Burgassi, S., Russo, C., Defranceschi, C., Mariani, L., Taddei, L., Lenzi, D., & Manzi, P. (2013). Impact of a disinfecting technique on microbial contamination of computer keyboards and telephone handsets. *Journal of Hospital Administration*, 2(4), 1–6. <https://doi.org/10.5430/jha.v2n4p1>
193. Mezher, H. (2010). Impact économique des infections nosocomiales et de l'isolement septique en France. *Human and Health*, (12), 41–44.
194. Monegro, A. F., Muppidi, V., & Regunath, H. (2023). Hospital-acquired infections. In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Updated February 12, 2023.
195. Monnet, T. (2011). Les infections nosocomiales : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause : Exemple de quelques techniques de diagnostic permettant cette identification précoce.
196. Murray, J. M., Appleton, P. L., Swedlow, J. R., & Waters, J. C. (2007). Evaluating performance in three-dimensional fluorescence microscopy. *Journal of Microscopy*, 228(3), 390–405.
197. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A., & Klein, J. O. (2015). *Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences.
198. Murray, W. D., Hofmann, L., Campbell, N. L., & Madden, R. H. (1986). *Clostridium lentocellum* sp. nov., a cellulolytic species from river sediment containing paper-mill waste. *Systematic and Applied Microbiology*, 8(3), 181–184.

## N

199. Neely, A. N., & Maley, M. P. (2000). Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(2), 724–726. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.2.724-726.2000>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

200. Nimer, N. A. (2022). Nosocomial infection and antibiotic-resistant threat in the Middle East. *Infection and Drug Resistance*, 15, 631–639. <https://doi.org/10.2147/IDR.S357402>
201. Nurchis, M. C., Riccardi, M. T., Radio, F. C., Chillemi, G., Bertini, E. S., Tartaglia, M., Cicchetti, A., Dallapiccola, B., & Damiani, G. (2022). Incremental net benefit of whole genome sequencing for newborns and children with suspected genetic disorders: Systematic review and meta-analysis of cost-effectiveness evidence. *Health Policy (Amsterdam, Netherlands)*, 126(4), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2022.03.001>

### O

202. O'Hara, C. (2005). Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic gram-negative bacilli. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(1), 147–162. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.1.147-162.2005>
203. Obara, B., Roberts, M. A. J., Armitage, J. P., & Grau, V. (2013). Bacterial cell identification in differential interference contrast microscopy images. *BMC Bioinformatics*, 14, 134. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-134>
204. Oliveira, D., Borges, A., & Simões, M. (2018). Staphylococcus aureus toxins and their molecular activity in infectious diseases. *Toxins*, 10(6), 252. <https://doi.org/10.3390/toxins10060252>
205. Olsen, M. A., Stwalley, D., Demont, C., & Dubberke, E. R. (2019). Clostridium difficile infection increases acute and chronic morbidity and mortality. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 40(1), 65–71. <https://doi.org/10.1017/ice.2018.285>
206. OMS. (2020). Conduite à tenir en matière de lutte anti-infectieuse pour la prise en charge sécurisée du corps d'une personne décédée dans le contexte de la COVID-19: Orientations provisoires, 4 septembre 2020 (No. WHO/2019-nCoV/IPC\_DBMgmt/2020.2). Organisation mondiale de la Santé.
207. OMS: Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique (2002). Retrieved from [http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002.12\\_fre.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2008/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12_fre.pdf)
208. Ona, S. (2020). Sanger sequencing. Retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates/figures/all/t-5ef132f6c7bcd500b388a9c3-sanger-sequencing>
209. Ong, S. W. X., Tan, Y. K., Chia, P. Y., Lee, T. H., Ng, O. T., Wong, M. S. Y., & Marimuthu, K. (2020). Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA*, 323(16), 1610–1612. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3227>
210. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2016). Lignes directrices de l'OMS sur l'utilisation de seringues sécurisées pour les injections intramusculaires, intradermiques et sous-cutanées dans les structures de soins. Organisation mondiale de la Santé.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

211. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2017). L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques [Press release].
212. Otter, J. A., Yezli, S., Barbut, F., & Perl, T. M. (2020). An overview of automated room disinfection systems: When to use them and how to choose them. In *Decontamination in Hospitals and Healthcare* (pp. 323–369). Elsevier.
213. Otto, M.-P., Foucher, B., Dardare, E., & G r me, P. (2013). Severe catheter-related bacteremia due to *Pseudomonas luteola*. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 43(4), 170–171. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.01.002>

### P

214. Pachori, P., Gothwal, R., & Gandhi, P. (2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units: A critical review. *Genes & Diseases*, 6(2), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
215. Pal, S., Sayana, A., Joshi, A., & Juyal, D. (2019). *Staphylococcus aureus*: A predominant cause of surgical site infections in a rural healthcare setup of Uttarakhand. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(11), 3600–3606. [https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe\\_1002\\_19](https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_1002_19)
216. Palmer, G. C., & Whiteley, M. (2015). Metabolism and pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* infections in the lungs of individuals with cystic fibrosis. In *Metabolism and Bacterial Pathogenesis* (pp. 185–213). Elsevier.
217. Park, S. W., Back, J. H., Lee, S. W., Song, J. H., Shin, C. H., Kim, G. E., & Kim, M. J. (2013). Successful antibiotic treatment of *Pseudomonas stutzeri*-induced peritonitis without peritoneal dialysis catheter removal in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Kidney Research and Clinical Practice*, 32(2), 81–83.
218. Partridge, S. R. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*, 47(3), 276–284. <https://doi.org/10.1097/PAT.0000000000000237>
219. Pegg, D. E. (2015). Principles of cryopreservation. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1257, pp. 3–19). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5_1)
220. Peleg, A. Y., & H, D. C. (2010). Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *New England Journal of Medicine*, 362(19), 1804–1813. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0904124>
221. Perry, R. T., Dwivedi, H., & Aissani, B. (2011). A simple PCR-RFLP method for genetic phase determination in compound heterozygotes. *Frontiers in Genetics*, 2, 108. <https://doi.org/10.3389/fgene.2011.00108>
222. Pino, L. K., Rose, J., O'Broin, A., Shah, S., & Schilling, B. (2020). Emerging mass spectrometry-based proteomics methodologies for novel biomedical applications. *Biochemical Society Transactions*, 48(5), 1953–1966. <https://doi.org/10.1042/BST20191091>
223. Pitt, D., & Aubin, J. M. (2012). Joseph Lister: Father of modern surgery. *Canadian Journal of Surgery*, 55(5), E8–E9. <https://doi.org/10.1503/cjs.007112>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

224. Pozzetto, B., & Berthelot, P. (1997). Les infections nosocomiales virales et leur prévention. *Virologie*, 1(6), 453–462.
225. Puttaswamy, S., Gupta, S. K., Regunath, H., Smith, L. P., & Sengupta, S. (2018). A comprehensive review of the present and future antibiotic susceptibility testing (AST) systems. *Arch Clin Microbiol*, 9(3).
226. Puttaswamy, S., Gupta, S. K., Regunath, H., Smith, L. P., & Sengupta, S. (2018). A comprehensive review of the present and future antibiotic susceptibility testing (AST) systems. *Archives of Clinical Microbiology*, 9, 83.

### R

227. Raina, T. V., Nayak, L., Ray, K., & Kumari, M. (2019). Polyphasic taxonomic approach for designation and description of novel microbial species. In S. Das & H. R. Dash (Eds.), *Microbial Diversity in the Genomic Era* (pp. 1–21). Academic Press.
228. Rajni, E., Jain, A., Garg, V. K., Sharma, R., Vohra, R., & Jain, S. S. (2022). *Providencia* causing urinary tract infections: Are we reaching a dead end? *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 26(4), 446–451. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-24163>
229. Raoofi, S., Pashazadeh Kan, F., Rafiei, S., Hosseinipalangi, Z., Noorani Mejareh, Z., Khani, S., et al. (2023). Global prevalence of nosocomial infection: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, 18(1), e0274248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0274248>
230. Rasigade, J. P., & Vandenesch, F. (2014). *Staphylococcus aureus*: A pathogen with still unresolved issues. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 510–514. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.017>
231. Rebiahi, S.-A., Rahmoun, M., Seddiki, S. M. L., Kadi, K., Belhadji, F., Chabni, N., & Kunkel, D. (2014). Infections nosocomiales causées par *Staphylococcus aureus* producteur de biofilm dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen, Algérie. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 27(5).
232. Richterman, A., Meyerowitz, E. A., & Cevik, M. (2021). Hospital-acquired SARS-CoV-2 infection: Lessons for public health. *JAMA*, 324(19), 2155–2156. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.11058>
233. Rodríguez-Acelas, A. L., de Abreu Almeida, M., Engelman, B., & Cañon-Montañez, W. (2017). Risk factors for healthcare-associated infection in hospitalized adults: Systematic review and meta-analysis. *American Journal of Infection Control*, 45(2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2016.08.023>
234. Rondeau, D., & Bertezene, S. (2013). Regards croisés sur les infections nosocomiales: de la responsabilisation juridique à l'évaluation des coûts. *Droit, Déontologie & Soins*, 13(3), 296–309.
235. Rossolini, G. M., & Mantengoli, E. (2008). Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2007.11.007>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

236. Russotto, V., Cortegiani, A., Raineri, S. M., & Giarratano, A. (2015). Bacterial contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit. *Journal of Intensive Care*, 3, 1. <https://doi.org/10.1186/s13613-015-0074-1>

### S

237. Sabino, R., Burco, J., Valente, J., Veríssimo, C., Clemons, K. V., Stevens, D. A., & Tell, L. A. (2019). Molecular identification of clinical and environmental avian *Aspergillus* isolates. *Archives of Microbiology*, 201, 253–257. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01761-7>
238. Sabour, S., Teimourpour, A., Mohammadshahi, J., Peeridogaheh, H., Teimourpour, R., Azimi, T., & Hosseinali, Z. (2022). Molecular detection and characterization of *Shigella* spp. harboring extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes in children with diarrhea in northwest Iran. *Molecular and Cellular Pediatrics*, 9(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s40348-022-00152-0>
239. Şahin, E. Ç., Aydın, Y., Gilles, T., Uncuoğlu, A. A., & Lucas, S. J. (2022). Concepts and applications of bioinformatics for sustainable agriculture. In *Bioinformatics in Agriculture* (pp. 455–489). Elsevier.
240. Saidoun, A. A. (2021). Surveillance des infections nosocomiales en pédiatrie au CHU Béni Messous d'Alger (Doctoral dissertation, Faculté de médecine d'Alger).
241. Sanders, E. R. (2012). Aseptic laboratory techniques: Plating methods. *JoVE*, 63, e3064. <https://doi.org/10.3791/3064>
242. Sanger, F., & Nicklen, S. A. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
243. Schmier, J. K., Hulme-Lowe, C. K., Semenova, S., Klenk, J. A., DeLeo, P. C., Sedlak, R., & Carlson, P. A. (2016). Estimated hospital costs associated with preventable health care-associated infections if health care antiseptic products were unavailable. *ClinicoEconomics and Outcomes Research*, 197–205.
244. Schmitz, J. E., Stratton, C. W., Persing, D. H., & Tang, Y. W. (2022). Forty years of molecular diagnostics for infectious diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(10), e0244621. <https://doi.org/10.1128/jcm.02446-21>
245. SGuembe, M., Cercenado, E., Alcalá, L., Marín, M., Insa, R., & Bouza, E. (2008). Evolution of antimicrobial susceptibility patterns of aerobic and facultative gram-negative bacilli causing intra-abdominal infections: Results from the SMART studies 2003-2007. *Revista Española de Quimioterapia*, 21(3), 166–173.
246. Shahi, S. K., Freedman, S. N., & Mangalam, A. K. (2017). Gut microbiome in multiple sclerosis: The players involved and the roles they play. *Gut Microbes*, 8(6), 607–615. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1349041>
247. Shalabi, A., Ehrlich, T., Schäfers, H.-J., & Becker, S. L. (2017). Infective endocarditis caused by *Pseudomonas stutzeri* in a patient with Marfan syndrome: Case report and brief literature review. *IDCases*, 10, 22–25. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2017.06.004>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

248. Sharma-Kuinkel, B. K., Rude, T. H., & Fowler, V. G., Jr. (2016). Pulse field gel electrophoresis. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1373, pp. 117–130). Springer. [https://doi.org/10.1007/7651\\_2014\\_191](https://doi.org/10.1007/7651_2014_191)
249. Sharpe, P. A., & Schmidt, M. G. (2011). Control and mitigation of healthcare-acquired infections: Designing clinical trials to evaluate new materials and technologies. *HERD: Health Environments Research & Design Journal*, 5(1), 94–115. <https://doi.org/10.1177/1937586711100500107>
250. Sievert, D. M., Ricks, P., Edwards, J. R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A., Kallen, A., Limbago, B., Fridkin, S., National Healthcare Safety Network (NHSN) Team, & Participating NHSN Facilities. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 34(1), 1–14. <https://doi.org/10.1086/668818>
251. Sikora, A., & Zahra, F. (2023). Nosocomial infections. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/>
252. Silvestri, S., Ralls, G. A., Krauss, B., Thundiyil, J., Rothrock, S. G., Senn, A., ... & Falk, J. (2005). The effectiveness of out-of-hospital use of continuous end-tidal carbon dioxide monitoring on the rate of unrecognized misplaced intubation within a regional emergency medical services system. *Annals of Emergency Medicine*, 45(5), 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2004.09.014>
253. Singh, V., Aggarwal, V., Bansal, S., Garg, S., & Chowdhary, N. (1998). Telephone mouthpiece as a possible source of hospital infection. *Journal of the Association of Physicians of India*, 46(4), 372–373.
254. Sinha, M., Jupe, J., Mack, H., Coleman, T. P., Lawrence, S. M., & Fraley, S. I. (2018). Emerging technologies for molecular diagnosis of sepsis. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(e00089-17). <https://doi.org/10.1128/CMR.00089-17>
255. Smith, J., Brown, A., & Johnson, M. (2021). Impact of hospital infrastructure on bacterial contamination. *Journal of Infection Control*, 45(3), 212–225.
256. Sohail, M., Rashid, A., Aslam, B., Waseem, M., Shahid, M., Akram, M., ... & Rasool, M. H. (2016). Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* clinical isolates and emerging antibiogram trends for nosocomial infection management. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49(3), 300–304.
257. Soldera, J., Nedel, W. L., Cardoso, P. R. C., & d’Azevedo, P. A. (2013). Bacteremia due to *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus* caused by infected pressure ulcer: Case report and review of the literature. *São Paulo Medical Journal*, 131(1), 59–61. <https://doi.org/10.1590/s1516-31802013000100010>
258. Sserwadda, I., Lukenge, M., Mwambi, B., Mboowa, G., Walusimbi, A., & Segujja, F. (2018). Microbial contaminants isolated from items and work surfaces in the post-operative ward at Kawolo General Hospital, Uganda. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-2980-5>
259. Storr, J., Twyman, A., Zingg, W., Damani, N., Kilpatrick, C., Reilly, J., ... & Allegranzi, B. (2017). Core components for effective infection prevention and control

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

programmes: new WHO evidence-based recommendations. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6, 1–18.

260. Su, P. W., Yang, E. C., Moi, S. H., Yang, C. H., & Chuang, L. Y. (2023). Prevalence of carbapenem resistance genes among *Acinetobacter baumannii* isolated from a teaching hospital in Taiwan. *Antibiotics*, 12(9), 1357. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091357>
261. Surveillance des infections nosocomiales en France: Résultats. (2013). In Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales (RAISIN).

### T

262. Tagoe, D. N., & Desbordes, K. K. (2012). Investigating potential sources of transmission of healthcare-associated infections in a regional hospital, Ghana. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 2(1), 20–24.
263. Talon, D. (1999). The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria. *Journal of Hospital Infection*, 43(1), 13–17. <https://doi.org/10.1053/jhin.1999.0664>
264. Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2023). *Staphylococcus aureus* infection. [Updated 2022 Jul 18]. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
265. Thomas, C., Coates, S. J., Engelman, D., Chosidow, O., & Chang, A. Y. (2020). Ectoparasites: Scabies. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 82(3), 533–548.
266. Tiv, M., Clinard, F., Guthmann, J. P., Gavazzi, G., Legris, C., Tillier, C., ... & Stoll, J. (2010). Couvertures vaccinales anti-pneumococciques et antitétaniques chez les résidents des établissements d'hébergement pour personnes âgées de Bourgogne et Franche-Comté, France, 2009. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 4, 129–132.
267. Toualbia, M., Bouras, D., & Kerkoud, M. (2018). Isolation, identification and characterization of *Lactobacillus plantarum* from camel milk and its antagonist effect against diarrheal bacteria. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(4), 283. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i4.1663>

### V

268. Vickery, K. (2019). Special issue: Microbial biofilms in healthcare: Formation, prevention, and treatment. *Materials*, 12, 2001. <https://doi.org/10.3390/ma12122001>
269. Vidal, O., Longin, R., Prigent-Combaret, C., Dorel, C., Hooreman, M., & Lejeune, P. (1998). Isolation of an *Escherichia coli* K-12 mutant strain able to form biofilms on inert surfaces: Involvement of a new *ompR* allele that increases curli expression. *Journal of Bacteriology*, 180(9), 2442–2449. <https://doi.org/10.1128/jb.180.9.2442-2449.1998>

### W

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

270. Walter, J., & Ley, R. (2011). The human gut microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. *Annual Review of Microbiology*, 65, 411–429. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091109.085730>
271. Wang, X., Jordan, I. K., & Mayer, L. W. (2015). Chapter 29 - A phylogenetic perspective on microbial pathogens. In M. Sussman, M. Y.-W. Tang, D. Liu, I. Poxton, & J. Schwartzman (Eds.), *Molecular Medical Microbiology* (pp. 517–536). Academic Press.
272. Warnes, S. L., & Keevil, C. W. (2013). Inactivation of norovirus on dry copper alloy surfaces. *PLOS ONE*, 8(9), e75017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075017>
273. Weber, D. J., & Rutala, W. A. (1997). Role of environmental contamination in the transmission of vancomycin-resistant enterococci. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 18(5), 306–309. <https://doi.org/10.1086/647281>
274. Weber, D. J., & Rutala, W. A. (2013). Understanding and preventing transmission of healthcare-associated pathogens due to the contaminated hospital environment. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 34(5), 449–452. <https://doi.org/10.1086/670789>
275. Weber, D. J., Anderson, D., & Rutala, W. A. (2013). The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 26(4), 338–344. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328363973d>
276. Weber, D. J., Rutala, W. A., Miller, M. B., Huslage, K., & Sickbert-Bennett, E. (2010). Role of hospital surfaces in the transmission of emerging healthcare-associated pathogens: Norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *American Journal of Infection Control*, 38(5), S25–S33. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2010.03.002>
277. Weiner, L. M., Webb, A. K., Limbago, B., Dudeck, M. A., Patel, J., Kallen, A. J., ... & Sievert, D. M. (2016). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 37(11), 1288–1301. <https://doi.org/10.1017/ice.2016.183>
278. Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., & Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*, 173(2), 697–703. <https://doi.org/10.1128/jb.173.2.697-703.1991>
279. Weldegebreal, F., Admassu, D., Meaza, D., & Asfaw, M. (2019). Non-critical healthcare tools as a potential source of healthcare-acquired bacterial infections in Eastern Ethiopia: A hospital-based cross-sectional study. *SAGE Open Medicine*, 7, 2050312118822627. <https://doi.org/10.1177/2050312118822627>
280. Werkneh, A. A., & Islam, M. A. (2023). Post-treatment disinfection technologies for sustainable removal of antibiotic residues and antimicrobial resistance bacteria from hospital wastewater. *Heliyon*, 9(4), e15360. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15360>
281. Whiteley, A. S., Jenkins, S., Waite, I., Kresoje, N., Payne, H., Mullan, B., Allcock, R., & O'Donnell, A. (2012). Microbial 16S rRNA Ion Tag and community

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- metagenome sequencing using the Ion Torrent (PGM) platform. *Journal of Microbiological Methods*, 91(1), 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.07.008>
282. Wilde, J., Van, R., Pickering, L., Eiden, J., & Yolken, R. (1992). Detection of rotaviruses in the daycare environment by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Journal of Infectious Diseases*, 166(3), 507–511. <https://doi.org/10.1093/infdis/166.3.507>
283. Winand, R., Bogaerts, B., Hoffman, S., Lefevre, L., Delvoye, M., Van Braekel, J., Fu, Q., Roosens, N. H., De Keersmaecker, S. C., & Vanneste, K. (2020). Targeting the 16S rRNA gene for bacterial identification in complex mixed samples: Comparative evaluation of second (Illumina) and third (Oxford Nanopore Technologies) generation sequencing technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(298). <https://doi.org/10.3390/ijms21010298>
284. Worku, T., Derseh, D., & Kumalo, A. (2018). Bacterial profile and antimicrobial susceptibility pattern of the isolates from stethoscope, thermometer, and inanimate surfaces of Mizan-Tepi University Teaching Hospital, Southwest Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 2018, 9824251. <https://doi.org/10.1155/2018/9824251>
285. World Health Organization Regional Office for the Eastern Mediterranean. (n.d.). World Health Organization - Regional Office for the Eastern Mediterranean. Retrieved September 30, 2023, from <https://www.emro.who.int/fr/surveillance-forecasting-response/infection-control/>
286. World Health Organization. (2015). World Health Organization guidelines on hand hygiene in health care: A summary of the WHO recommendations. Geneva: World Health Organization.
287. World Health Organization. (2022). WHO launches first-ever global report on infection prevention and control. Reveals that good IPC programmes can reduce healthcare infections by 70%. <https://www.who.int/news/item/2022-05-05-who-launches-first-ever-global-report-on-infection-prevention-and-control>
288. Wu, H. J., Xiao, Z. G., Lv, X. J., Huang, H. T., Liao, C., Hui, C. Y., Xu, Y., & Li, H. F. (2023). Drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: From molecular mechanisms to potential therapeutics (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 25(5), 209. <https://doi.org/10.3892/etm.2023.11908>
289. Yang, F., Chen, L., Liu, Y., Li, J., Wang, L., & Chen, J. (2019). Identification of microorganisms producing lactic acid during solid-state fermentation of Maotai flavour liquor. *Journal of the Institute of Brewing*, 125, 171–177. <https://doi.org/10.1002/jib.569>

## Y

290. Yang, N., Jin, X., Zhu, C., Gao, F., Weng, Z., Du, X., & Feng, G. (2023). Subunit vaccines for *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Immunology*, 13, 1088130. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1088130>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

291. Yeung, P. S. M., Sanders, M. E., Kitts, C. L., Cano, R., & Tong, P. S. (2002). Species-specific identification of commercial probiotic strains. *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1039–1051. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74190-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74190-X)
292. Yong, L. X., & Calautit, J. K. (2023). A comprehensive review on the integration of antimicrobial technologies onto various surfaces of the built environment. *Sustainability*, 15(4), 3394. <https://doi.org/10.3390/su15043394>
293. Yong, Y. Y., Dykes, G. A., & Choo, W. S. (2019). Biofilm formation by staphylococci in health-related environments and recent reports on their control using natural compounds. *Critical Reviews in Microbiology*, 45(2), 201–222. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2019.1573802>

### Z

294. Zenati, K., Touati, A., Bakour, S., Sahli, F., & Rolain, J. M. (2016). Characterization of NDM-1- and OXA-23-producing *Acinetobacter baumannii* isolates from inanimate surfaces in a hospital environment in Algeria. *Journal of Hospital Infection*, 92(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2015.10.012>
295. Zeroual, Z. (2010). Profil épidémiologique et bactériologique des infections nosocomiales (thèse de doctorat, Université Mohammed V, Faculté de Médecine et de Pharmacie – Rabat).
296. Zhang, S., Li, X., Wu, J., Coin, L., O'Brien, J., Hai, F., & Jiang, G. (2021). Molecular methods for pathogenic bacteria detection and recent advances in wastewater analysis. *Water*, 13(24), 3551. <https://doi.org/10.3390/w13243551>
297. Zhang, Y. J., Li, S., Gan, R. Y., Zhou, T., Xu, D. P., & Li, H. B. (2015). Impacts of gut bacteria on human health and diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(4), 7493–7519. <https://doi.org/10.3390/ijms16047493>

## Productions scientifiques

### A. Article Scientifique International

Somia Saadi, Rachida Allem, Mohammed Sebaihia, Abdelaziz Merouane & Mohammed Bakkali (2021): Bacterial contamination of neglected hospital surfaces and equipment in an Algerian hospital: an important source of potential infection, International Journal of Environmental Health Research, DOI: 10.1080/09603123.2021.1885631

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09603123.2021.1885631>

### B. Communication Affichée:

Somia Saadi; Rachida Allem; Mohammed Sebaihia; Abdelaziz Merouane & Mohammed Bakkali .Characterization of Bacterial community isolated from neglected hospital surfaces using ARN16S.The First International Seminar of Microbiology: Functional

Micro-ecology in the Service of Living Systems, September 20-21, 2023, Tiaret, Algeria,

## Annexe 1 : Les normes ISO

Type de recommandation	Prélèvement	Transport	Conditions de culture	Remarques
Norme ISO 14698-1 "Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - Maîtrise de la biocontamination"	L'écouvillon doit être humidifié préalablement à l'aide d'un milieu de rinçage stérile. Prélèvement par stries parallèles rapprochées sur la surface définie pour l'échantillonnage dans un sens puis dans un sens perpendiculaire au précédent tout en tournant l'écouvillon lentement. Mettre l'écouvillon dans un volume spécifié d'un liquide de rinçage et agiter. Nettoyer la surface écouvillonnée afin de retirer tout résidu de milieu de rinçage.	Pas de délai maximal. Le transport ne doit affecter ni la viabilité ni le nombre des microorganismes prélevés et maintenir le prélèvement à l'abri d'une contamination	Choix des milieux de culture et conditions d'incubation selon le type de microorganismes recherchés. Sauf indication contraire, utiliser des milieux de culture non sélectifs. Durée totale d'incubation de 2 à 5 jours pour les bactéries et de 5 à 7 jours pour les champignons.	Pas de notion de surface minimale à prélever en cm <sup>2</sup> .

**Annexe 2: Milieux de cultures utilisés :**

Les milieux de cultures sont stérilisés à l'autoclave, à une température de 120°C pendant 20 minutes.

Tampon TAE 10X (Tris Acétate EDTA) pour un volume final de 1 litre.

Dissoudre les différents composés chimiques dans 1 litre d'eau distillée.

La solution est 10 fois concentrée (10X).

Composition de TAE	Gramme Par litre
Tris à 400mM	48.46 g/l
Acide acétique	12.01 g/l
EDTA à 10mM	3.72 g/l

Composition de la gélose Cetrimide	Gramme Par litre
Peptone	20,00
Chlorure de magnésium	1,40
Sulfate dipotassique	10,00
Cetrimide (cetyltrimethylammonium bromide)	0,30
Glycérol	10 ml
Agar	13,60

Composition de la gélose EMB	Gramme Par litre
Peptone	10g
lactose	5 g
saccharose	5
hydrogénophosphate de potassium	2 g.
éosine Y	400 m
bleu de méthylène	65 mg

agar	13,5
------	------

Composition de la gélose Chapman	Par litre
peptone	10 g
extrait de bœuf	1 g
chlorure de sodium	75 g.
D-mannitol	10 g.
rouge de phénol	25 mg.
agar	15 g.

Composition de la gélose LB	Par litre
Extrait de levure	5.0 g
Peptone de caséine	10,0 g
Chlorure de sodium :	10,0 g
Agar :	12,0 g

### Annexe 3 : Les profils numériques des bactéries isolées

N	Code de galerie	Pourcentage d'identité %	Espèce
SAS1	6736151	93,2	<i>S. aureus</i>
SAS2	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAS3	6736153	97,8	<i>S. aureus</i>
SAS4	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAS5	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAS6	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAS7	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>

SAS8	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAS9	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAS10	6734253	98,2	<i>S. aureus</i>
SAS11	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAS12	6734253	95,2	<i>S. aureus</i>
SAS13	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAS14	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAS15	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAS16	6734253	98,1	<i>S. aureus</i>
SAS17	6736153	92	<i>S. aureus</i>
SAK1	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK2	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK3	6734253	97,2	<i>S. aureus</i>
SAK4	6736153	91,3	<i>S. aureus</i>
SAK5	6736155	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK6	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK7	6736155	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK8	6736155	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK9	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK10	6736153	95,2	<i>S. aureus</i>
SAK11	6736155	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK12	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK13	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK14	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK15	6736153	95,2	<i>S. aureus</i>
SAK16	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK17	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>

SAK18	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK19	6736155	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK20	6736151	98,3	<i>S. aureus</i>
SAK21	6726153	97,9	<i>S. aureus</i>
SAK 22	6736155	98,3	<i>S. aureus</i>

N	Code de galerie	Pourcentage	Espece
SPS1	2674003	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS2	2670013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS3	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS4	2250373	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS5	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS6	2250321	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPS7	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK1	2250373	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK2	2676213	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK3	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK4	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK5	2674003	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK6	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK7	2250373	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK8	2670013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK9	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK10	2674003	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK11	2250373	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK12	2674013	100	<i>S. saprophyticus</i>
SPK13	2674003	100	<i>S. saprophyticus</i>

N	Code de galerie	%	espece
SHK1	4630071	99,7	<i>S. haemolyticus</i>
SHK2	4631071	99,7	<i>S. haemolyticus</i>
SHK3	4730171	94,1	<i>S. haemolyticus</i>
SHK4	4630071	99,7	<i>S. haemolyticus</i>
SHK5	4730171	99,7	<i>S. haemolyticus</i>
SHK6	4730171	98,8	<i>S. haemolyticus</i>

N	Code de galerie	%	Espece
SES1	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SES2	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SES3	6705113	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SES4	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>
SES5	6705133	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SES6	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SES7	6705113	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SES8	6705133	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SEK1	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>
SEK2	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>
SEK3	6705113	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SEK4	6705133	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SEK5	6705133	99.6%	<i>S. epidermidis</i>
SEK6	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SEK7	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SEK8	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>
SEK9	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>

SEK10	6706133	99.4%	<i>S. epidermidis</i>
SEK11	6705033	99.7%	<i>S. epidermidis</i>

N	Code de galerie	%	Especie
SCK1	2274100	100%	<i>S.cohnii</i>
SCK2	2274100	100%	<i>S.cohnii</i>
SCK3	2274140	99.8%	<i>S.cohnii</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
SXS1	6307433	100%	<i>S. xylosus</i>
SXS2	6657713	100%	<i>S. xylosus</i>
SXS3	6307433	100%	<i>S. xylosus</i>
SXK1	6312770	100%	<i>S. xylosus</i>
SXK2	6312770	100%	<i>S. xylosus</i>
SXK3	6307433	100%	<i>S. xylosus</i>
SXK4	6307433	100%	<i>S. xylosus</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
ECS1	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECS2	5144432	99.4%	<i>E.coli</i>
ECS3	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS4	5104462	94%	<i>E.coli</i>
ECS5	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS6	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS7	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS8	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS9	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>

ECS10	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECS11	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECS12	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECK1	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK2	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK3	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK4	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK5	5004462	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK6	5144432	99.4%	<i>E.coli</i>
ECK7	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECK8	5104462	94%	<i>E.coli</i>
ECK9	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECK10	5144532	99.9%	<i>E.coli</i>
ECK11	5104462	94%	<i>E.coli</i>
ECK12	5104462	94%	<i>E.coli</i>
ECK13	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK14	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK15	5144432	99.4%	<i>E.coli</i>
ECK16	5104472	99.7%	<i>E.coli</i>
ECK17	5104462	94%	<i>E.coli</i>
ECK18	5104462	94%	<i>E.coli</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
KPS1	5215673	100%	<i>K.pneumoniae</i>
KPS2	5215272	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>
KPS3	5215272	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>
KPS4	5215273	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>

KPS5	5215673	100%	<i>K.pneumoniae</i>
KPS6	4215673	100%	<i>K.pneumoniae</i>
KPS7	4215273	99.7%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK1	5215273	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK2	5215272	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK3	4215273	99.7%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK4	5215673	100%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK5	4215673	100%	<i>K.pneumoniae</i>
KPK6	5215273	99.8%	<i>K.pneumoniae</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
PRS1	2274220	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS2	2264230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS3	2264230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS4	2274200	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS5	2274230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS6	2274220	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRS7	2274230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK1	2274232	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK2	2274200	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK3	2274220	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK4	2274230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK5	2264230	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK6	2274220	100%	<i>P.rettgeri</i>
PRK7	2274220	100%	<i>P.rettgeri</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
---	-----------------	---	--------

PSS1	0270200	88.7%	<i>P.stuartii</i>
PSS2	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSS3	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSS4	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSS5	0270200	88.7%	<i>P.stuartii</i>
PSK1	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSK2	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSK3	0270200	88.7%	<i>P.stuartii</i>
PSK4	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>
PSK5	0270200	88.7%	<i>P.stuartii</i>
PSK6	0270000	87.1%	<i>P.stuartii</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
SOK1	5247753	100%	<i>S. odorifera</i>
SOK2	5247753	100%	<i>S. odorifera</i>
SOK3	5247753	100%	<i>S. odorifera</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
SMS1	5317661	99.9%	<i>S.marscense</i>
SMS2	5317761	100%	<i>S.marscense</i>
SMK1	5317761	100%	<i>S.marscense</i>
SMK2	5317661	99.9%	<i>S.marscense</i>
SMK3	5317761	100%	<i>S.marscense</i>
SMK4	5317661	99.9%	<i>S.marscense</i>
SMK5	5317761	100%	<i>S.marscense</i>

N	Code de galerie	%	Espèce
---	-----------------	---	--------

PMS1	0737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMS2	1737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMS3	1736000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMS4	1736000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK1	0737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK2	1737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK3	1736000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK4	0736000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK5	1737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK6	1736000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK7	0737000	100%	<i>P.mirabilis</i>
PMK8	0737000	100%	<i>P.mirabilis</i>

N	Code de galerie	%	Espece
PVS1	0676033	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVS2	0676033	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVK1	0676330	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVK2	0676330	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVK3	0676031	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVK4	0676031	100%	<i>P.vulgaris</i>
PVK5	0676330	100%	<i>P.vulgaris</i>

N	Code de galerie	%	Espece
CFK1	2204533	90.6 %	<i>C. freundii</i>
CFK2	2204533	90.6 %	<i>C. freundii</i>

N	Code de galerie	%	Espece
---	-----------------	---	--------

SGS1	0004052	96.3%	<i>Shigella spp.</i>
SGS2	0004150	92%	<i>Shigella spp.</i>
SGS3	0004150	92%	<i>Shigella spp.</i>
SGS4	0004052	96.3%	<i>Shigella spp.</i>
SGK1	0004050	98.2%	<i>Shigella spp.</i>
SGK2	0004150	92%	<i>Shigella spp.</i>
SGK3	0004052	96.3%	<i>Shigella spp.</i>
SGK4	0004050	98.2%	<i>Shigella spp.</i>
SGK5	0004150	92%	<i>Shigella spp.</i>
SGK6	0004150	92%	<i>Shigella spp.</i>

N	Code de galerie	%	Especie
PTS1	3217072	99.2%	<i>Pantoea spp</i>
PTS2	3217072	99.2%	<i>Pantoea spp</i>
PTS3	0217072	95%	<i>Pantoea spp</i>
PTK1	1217072	97.2%	<i>Pantoea spp</i>
PTK2	3217072	99.2%	<i>Pantoea spp</i>
PTK3	0217072	95%	<i>Pantoea spp</i>

N	Code de galerie	%	Especie
PAS1	1350774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS2	1350774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS3	1340777	99.7%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS4	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS5	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS6	1350774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS7	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>

PAS8	1354576	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS9	1354576	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS10	1374476	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS11	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAS12	1354576	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK1	1350774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK2	1740774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK3	1340777	99.7%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK4	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK5	1340777	99.7%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK6	1740774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK7	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK8	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK9	1350774	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK10	1340777	99.7%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK11	1354576	100%	<i>P. aeruginosa</i>
PAK12	1374576	99.8%	<i>P. aeruginosa</i>

N	Code de galerie	%	Especie
PZS1	1044657	99.9%	<i>P. stutzeri</i>
PZK1	1046657	98.8%	<i>P. stutzeri</i>
PZK2	1044655	100%	<i>P. stutzeri</i>
PZK3	1044655	100%	<i>P. stutzeri</i>
PZK4	1046657	98.8%	<i>P. stutzeri</i>
PZK5	1044657	99.9%	<i>P. stutzeri</i>
PZK6	1044655	100%	<i>P. stutzeri</i>

N	Code de galerie	%	Espece
PLK1	1677655	99.8%	<i>P. luotla</i>
PLK2	1677655	99.8%	<i>P. luotla</i>

N	Code de galerie	%	Espece
ABS1	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABS2	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABS3	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABS4	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABS5	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABS6	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABS7	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABS8	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABK1	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABK2	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABK3	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABK4	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABK5	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABK6	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABK7	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABK8	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABK9	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABK10	0015042	99.9%	<i>A. baumannii</i>
ABK11	0005042	99%	<i>A. baumannii</i>
ABK12	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>
ABK13	0204042	98.5%	<i>A. baumannii</i>

N	Code de galerie	%	Especie
BBS1	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBS2	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBS3	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBS4	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBS5	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBS6	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK1	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBK2	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK3	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK4	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK5	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK6	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK7	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK8	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBK9	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBK10	64221224	94.7	<i>Bacillus spp.</i>
BBK11	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>
BBK12	64241224	87.3	<i>Bacillus spp.</i>

**Annexe 4 : Les séquences nucléotidiques codantes pour les gènes de 16s rRNA des 24 souches sélectionnées pour cette étude sous, format FASTA.**

**SHK5**

```
>AGAGTTGAANNNGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAACGACTTAAGAACAGACAAGGAGCTTGC
TCCTTTGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACTACCTATAAGACTGGGCGGTACCTG
ATAACTTCGGGAAACCGCCACTAAACCCGATAATATTTGCAACCGCATGGTTCGATAGTGAAAGCATGGT
TTTGTCTACTTATAGATGGACCCGCGCTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCGAC
GATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCCAACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCT
TCGGATCGTAAACTCTGTTATTAGGGAAGACGTGTAAGTAACTATGCACGTCTTGACGGTACCTAATCC
AATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAA
TTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAG
GGTCATTGGAAACTGTAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCG
CAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTCTAACTGACGCTGATGTGCGAAAGC
GTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGC
```

CCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAG  
 GAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGTTAATTGCAAGCAAGTGTAAGAACCCTACCAAATCTTGA  
 CATCCTTTGACAACCTCTAGAGATAGAGCCTTCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCG  
 TCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTAAGAAGTTGGGCACTCTA  
 ACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAGTTGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGG  
 GCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTCATGCTCGG  
 TGTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATC  
 ACGTGATCTTGTACACACCCGAATGCCCGTACACCACGAGAGTTTGTAAACACCCGACCATTAAAGGTAAC  
 AAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGCACACCTG

### SPK1

>GATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAGATAAGAGCTTGCTCCTTTGACGT  
 TAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAAACCGGAG  
 CTAATACCGGATAACATTTGGAACCGCATGGTTCTAAAGTGAAAGATGGTTTTGCTATCACTTATAGATG  
 GACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCRACGATACGTAGCCGACCTGAGA  
 GGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC  
 GCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACCTCTGTT  
 ATTAGGGAAGAACAAYGTGTAAGTAACCTGTGCACGTCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAA  
 CTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACC  
 AGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTA  
 GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGC  
 AGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGA  
 CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAAATCTTGACATCC  
 TTTGAAACTCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCA  
 GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTA  
 GTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC  
 CCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCATGCA  
 AATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGT  
 AATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCAGGCTTGTACACACCCGCCGTACACCACGAGA  
 GTTTTGTAACACCCGAACGAAGGTGGGACAAATGATTGGGGTGG

### SCK2

>AGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAACAGTAAGGAGCTTGCTCCTTTGAC  
 GTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCTATAAGACTGGAAATAACTCCGGGAAAACCGG  
 GGCTAATGCCGGATAACATTTAGAACCGCATGGTTCTAAAGTGAAAGATGGTTTTGCTATCACTTATAGA  
 TGGACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATACGTAGCCGACCTGA  
 GAGGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTT  
 CCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAACCTCTG  
 TTATTAGGGAAGAACAATGTGTAAGTAACCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAATACGTGC  
 CAGCAGCCGCGGACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCTAGGCGGTTTC  
 TAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGTCATTGGAAACTGGGAAACTTGAGTGAGAA  
 AGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAAAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTC  
 TGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACG  
 CCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGG  
 AGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTAACGCG  
 AAGAACCCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAAG  
 TGACAGGTGGTGCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAA  
 CCCTTAAACTTAGTTGCCAGCATTGTGGGGTGGTACTAAGTTGACTGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG  
 ATGACGTCAAATCATCATGTTAGCCAAGCCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAAT  
 ACAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCATGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGC  
 AACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGAGTTTGTAAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCATTATG  
 AGCTAGCCGTGCAAGGTGGGACAAATGATA

### SXS1

>GATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCAACAGATAAGGAGCTTGCTCCTTTGAAAGT  
 TAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAAACCGGAG  
 CTAATACCGGATAACATTTAGAACCGCATGGTTCTAAAGTGAAAGATGGTTTTGCTATCACTTATAGATG  
 GACCCGCGCCGTATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCGACGATACGTAGCCGACCTGAGA  
 GGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC

GCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTT  
 ATTAGGGAAGAACAATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAA  
 CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGC  
 GTAGGCGGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCTGGAAACTGGGAAAGACAAATGATTG  
 CTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACC  
 AGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTA  
 GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGC  
 AGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCCGAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGA  
 CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCC  
 TTTGAAACTCTAGAGATAGAGCCTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCA  
 GCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTAAGCTTAGTTGCCATCATTA  
 GTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCC  
 CCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAAAGGGCAGCTAAACCGGAGGTGATGCA  
 AATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAGAGA  
 GTTTGTAAACCCGAAGCCGGTGGAGTAACATTTATGGAGCTAGCCGTCGAAGGTGGGGGGTG

### ABS8

>CTTGCCCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCTTAGGAATCTGCCTATTAGTGGGGGACAACATGCCGAT  
 CTCGAAAGGGATGCTAATACCGCATACGTCTACGGGAGAAAGCAGGGGATCTTCGGACCTTGCGCTAAT  
 AGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTC  
 TGAGAGGATGATCCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAAT  
 ATTGGACAATGGGGGAACCCTGATCCTTTAAGCGAGGAGGAGGCTACTCTAGTTAATACCTAGRGTGCG  
 AGAATAAGCACCTGGACGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAGCGTTAATCG  
 GATTTACTGGGCGTAAAGGCTGGATCACCTCCTTACCGTAGGGGAACCTACTGGGGTGAAGTGAATGAC  
 GCGTGCAGTAGGCGGCTTATTAAGTCGGATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTCGATACT  
 GGTGAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAG  
 GAATACCGATGGCGAAAGGCAGCCATCTGGCCTAATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAA  
 CAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCTTTGAGGCTTTA  
 GTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAAAACTCAAATGAATTG  
 ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGATGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGCCTT  
 GACATACTAGAAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAATCTAGATACAGGTGCTGCATGGCTGT  
 CGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTCTTACTTGCACG  
 ATTTCCGATGGGAACCTTAAGGATACTGCCAGTACAACTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCAT  
 CATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGCTACAATGGTTCGGTACAAAGGGTTGCTACACAGCGATGT  
 GATGCTAATCTCAAAAAGCCGATCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATC  
 GCTAGTAATCGCGGATCAGAATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACC  
 ATGGGAGTTTTGTTGCACCAGAAGTAGCTAGCCTAACTGCAAAGAGGGGGCCGATG

### PVS2

>TTGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGCGGAA  
 AGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCGATAGAGGGGAAATACCGCATAATGTCTACCG  
 ACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCACTATCGGATGAACCCATATGAGAAGTAGGTAGCTTGCCATA  
 GGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAG  
 CCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCG  
 CAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGG  
 AAGGTGATAAGGTTAATACCCTTGTCAATTGACGTTACCCGCAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCA  
 GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTC  
 AATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATCTGAAACTGGTTGGCTATCTTTGG  
 GGTGGTAGAGGGGGGTAGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGC  
 GCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGG  
 TAGTCCACGCTGTAAACGATGTGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGT  
 TAAATCGACCCCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGCCCCGCACAAGC  
 GGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGCGAATCCTT  
 TAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGTCTGTTGTGA  
 AATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGTGATGGTGGGAACCT  
 AAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCGGGCTACACA  
 CGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGAACTCATAAAGTCTGTGCTA  
 TCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAAACCTTCGGG  
 GCTTACCACCTTTGTGATTCGTCTAAA

**PMK6**

>ACTAGGCTCAATTTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAAGTAATGCAAGTCGAGCGGTAACAGGAGAAAAGCTTG  
 CTTTCTTGCTGACGAGCGGGCGGACGGGTGAGTAATGTATGGGGATCTGCCGATAGAGGGGATAACTAC  
 TCGGTGGGAAAGCTAATACCGCATAATGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCTTCGGACCTTGCACTATCG  
 CCCATATGGGATGATGAATAGCTAGTAGGTGGGGTAAAGGCTCACCTAGGCGCCATTATCTAGCTGGTCT  
 GAGAGGATGATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATA  
 TGTAACCGTGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTAC  
 TTTCAGCGGGGAGGAAGGTGATAAGGTTAATACCCCTTGTCAATACCCCTTGACGTGCAGAAGAAGCACCGG  
 CTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGC  
 CAGGCACGGCGGTCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATCTGAAACTGG  
 TTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAA  
 TCCAGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG  
 ATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGATTTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTC  
 TAGGGCTAACCGTTAAATCGACCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGG  
 GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCACGCGAGATGCAAGAACCTTACCTACTCTTGACA  
 TCCAGCGAATCCTTTAGAGATAGAGGAGTGCCTTCGGGAACGCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTC  
 ACGGCTTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCACGT  
 GATGGTGGGAAC TCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCAT  
 CCTTAGGCCGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCAGATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAA  
 GCGGAAC TCAAAAGTCTGTGCTAGTCCACTGAAGTCGGAATCGCTCGGATTGGAGTCTGCAACTC  
 AGCGTAGATCAGATAATATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCATG  
 GGGGTGAAGTCGTCAAAGGGGA

**KPK4**

>GAGAGAGATTTGATCCTGGCTCTTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAGCACA  
 GAGAGCTTGCTCTCGGGTGACGAGCGGGCGGACGTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGTGAGTAATGTGCG  
 ATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGAGCAC  
 CTCATGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAACGGCTCACCTAGGCGACGATC  
 GCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGTCCCTA  
 GGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTG  
 TAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGGTGAGGTTAATAACCTCATCGATTGACGTTACCCGCAGAAGA  
 AGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGG  
 TGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAG  
 CAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGC  
 GTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAATCGACCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGA  
 ATTGACGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGG  
 TCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAC TGTGAGACAGGTGCTGCATGG  
 CTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGC  
 CAGCGGTTAGGCCGGGAAC TCAAAGGAGACTGGCATATACAAAGCCAGTGATAAAGGGGCTACACACGTGT  
 AGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTAGCCGGTATGTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG  
 AAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGAATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG  
 CACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGCTTACCCTTTGTGATT  
 CATGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAG

**KPS1**

>GATTTGAGAGAGATCCTGGCTCTTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACAGGTAGCCATGCAAGTCGAGCTAA  
 GAGAGCTTCGAGCGCTCTCGGGTGAGGCGGACGTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGGGTGAGTAAGTAACC  
 ATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCTCA  
 TGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTA  
 GCTGGCCACACTCTGAGAGGATGACCAGTGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGT  
 GGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTG  
 TAAAGCACTTTCAGCGGGGAGGAAGGCGGTGAGGTTAATAACCTCATCGATTGACGTTACCCGCAGAAGA  
 AGCACCGGCTAACTCCGTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTTCCGTCAGGATGT  
 GAAACCGGGCTCAAAGTCCCTGGGAAC TGCATTACAAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAG  
 CAAACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGATTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGC  
 GTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAATCGACCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGA  
 ATTGACGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGG

TCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAAGACAGGTGCTGCATGG  
 CAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGGCATATACAAAGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGG  
 GATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGAGAAGCGACCTCGCG  
 ACCTCATAAAGTAGCCAGAGCAAGCGGGGTATGTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCACTCGACTCCATGA  
 AAGTATCGCTAGTAATCGGACGTAGATGAATACGTTCCCGGGCCTTTCAGAATCAGCTACGGGTACACCG  
 CACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAAGTAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCCTTTGTGATT

### SAK16

>TTTATGATCCGGAGAGTTTTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAA  
 CGGACGAGAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGCTGACGAGTAACACGTGGATAACCTAC  
 GACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAATATTTTGAACCGCATGGTTCAAAAAGTGAA  
 AGACGGTCTTGCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCA  
 AAGGTCTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGAC  
 GGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTA  
 AGGCAACGATGCATAGCCGACCTGAGAGGGTGCATCGGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCT  
 ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGTTCCGGQ  
 TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGGCGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTCAAC  
 CGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTG  
 AAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGATGTG  
 CGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGT  
 TAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAG  
 GTTGAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGC  
 GAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAACCTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCGGGGGACAAA  
 GTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCA  
 ACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGACAAAACCGAGGAA  
 GTGGGGATGACATCAAATCATCATGCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAA  
 AGGGCAGCGAAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCCGGATTGTAGTCTGCAACT  
 CGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTT  
 GCCGTGCAAGGTGGGACAAATGATTGGGGTGAAGTGCATAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGGTGCGGCTGG  
 ATCACC

### SAS3

>CTCAGGATGATTTATGGAGAGACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGAAGCATGGTTCA  
 ACGGACGAGAAGCTTGTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGATAACCTACCTATAA  
 GACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAATATTTTGCATGGTAACCGTCAAAAAGTGAA  
 AGACGGTCTTGCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCA  
 AGGCAACGATGCATATTTGATCCTGGGCCGACCTGAGAGGGTGCATCGGCCACACTGGAACCTGAGACACGG  
 ACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATG  
 AAGGTCTTCGGATCGTAAAACCTCTGTTATTAGGGAAGAACATATGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGAC  
 GGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTA  
 TCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGGCGTTTTTTAAGTCTGATGTGAATCAACAGCCACGGC  
 CGTGGAGGGTCATTGGAACTGGAAAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTG  
 AAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGCTGATGTGACG  
 CGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGT  
 TAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAG  
 GTTGAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACGC  
 GAAGAACCTTACCAAATGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTTGAGATGTTGGGTTAAGT  
 GTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCA  
 ACCCTTAAGCTTAGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACT  
 GTGGGGATGACATCAAATCATCATGCCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACAA  
 AGGGCAGCGAAACCGCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAATCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTCAGCATG  
 CGATACGTTCCCGGGTCTTACGAGAGTTTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCTTTTAGGAGCCAG  
 TCGTAACAAGGTAGCCGTATCGGAAGATCACCTCCGCCGTGCAAGGTGGGACAAATGATTGGGGTGAATT  
 TGTGCGGCTGA

### PAS9

>AAGTTGTGATCTGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATAAGGGA  
 GCTTGCTCCTGGATTACGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACG  
 TCCGGAACCGGGCGCTAATACCGCATAACGCTCCTGAGGGAGAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTAT

CAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTAGGAGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCGTAAGTGG  
 CACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAGAATAAGCAC  
 CGGCTACTATCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAA  
 AGCGCGCTAGGTGGTTTCAGCAAGTTGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATCCAAAAC  
 TACTGAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAG  
 GAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAC  
 AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTACACGATGTGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAG  
 TGGCGCAGCTAACGCGATAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACTCAAAATGAATTGA  
 CGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACCTGGCCTTG  
 ACATGCTGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAGTACAGACACAGGTGCTGCATGGCTGTC  
 GTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTACTTAGCAGCA  
 CCTCGGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATC  
 ATGGCCCTTACGGCCAGGGCTACACACGTGCCGGTCCGATGACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGTATGA  
 GAGCTAATCCATAAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGTCGGGCGTGAAAATCG  
 CTAGTAATCGTGAATCAGAATGTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCA  
 TGGGAGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAACCGCAAGGGGGACGGTTACCACGGAGTGATCTGGGGT  
 GAGC

### PAK7

>GAACTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGCAGCAGGGGCTGTCAACACATGCAAGTCGAG  
 CTTAAGGGATGCTATGTGCCTGGATTGCAGCGGCGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGT  
 GGGGGATAACGTCCGAAGACGGCTAATACCGCACCGTACGTCCTGAGGGAGAAAAGTCGGATCTTCGGGGA  
 CCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCCGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGAT  
 CCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAAGTGCAGACACGGTCCAGACTCCTCACGGGAGGA  
 GCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCG  
 GATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCAACAG  
 AATAAGCACCGGCTAAGTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAC  
 TGGGCGTAAAGCGCGCGTAAGTGGTTTCAGCAAGCTTGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGC  
 ATCCAAAAGCTACTGAGCTAGAGTACGGAGGTGGTAGTAGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA  
 TATAGGAAGACCAGTGAACGCGGAAGGCGACCACCTGGACTGTAAGTGCAGACTGAGGTGCGAAAGCGTGGG  
 GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGCTAGCCGTTGGGATGTGCAATCCTTGA  
 GATCTTAGTGGCGCACGTAACGCGATAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACTCAAA  
 TGAATTGACGGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACCGGAAGAACCTTACC  
 TGGCCTTGACATGCTGAGAATTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACAGAGACACAGGTGCTGCA  
 TGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTACTT  
 TACCAGCACCTCGGGTGGGCGAGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCCGTTACAAAGGGTTGCCAAGCCACT  
 CTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCC  
 GCGAGTGGGAGCTAATCCATAAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGT  
 CGGAATCGCTAGTAATCGTGAATCAGAATGTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTTCACACCATGGG  
 AGTGGGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAACCGCAAGGGGGACGGTTACCA

### SMK3

>TTTCTCCCGAGCGGCGGGGTGTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCTTAACACATGCAAGTCGAGCGGTCT  
 AGCACAGGGGAGCTTGCTCCCTGGGTGACGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGAT  
 GGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTC  
 GGGCCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAATGGCTCACCTAGGCGAC  
 GATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGCCACACTGGAAGTGCAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAG  
 GCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCT  
 TCGGGTTGTAAAGCACTTTTCAGCGAGGAGGAAGGTGGTGGAGCTTAATACGTTTCATCAATTGACGTTACTC  
 GCAGAAGAAGCACCGGCTAAGTCCGTTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAA  
 TTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAA  
 CTGCATTTGAAACTGGCAAGCTAGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCG  
 TAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGC  
 GTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTACGACGCGGTTTTGTTAAGTCAAGCTAGATGTGTTA  
 CTACTCTTGACATCCAGAGAAGTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTCTCGTAGAGGGGG

**PRS2**

>GAAGTTGATTTGACGGTCAATGGGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGTAA  
 AGGGGAAGCTTGCTTCTCGGCTGACAGCGGCGGAAGTAATGTATGGGGATCTGCCCAGATAGAGGGGGACT  
 ATAATACTGAAACGGTAGCTAATACCGCATAATCTCTTAAACCGAGAGCAGGGGAACTTCGGTCCCAG  
 TTGCGCTTGAACATCGGACCATATGGGATTAGCTAGTAGGTGAGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCC  
 CTAGCTCTGAGGTGAGGATGATCCACACTGGGACTCTAACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCCAG  
 AGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCGGGGCG  
 TTGGTAAATACTTTTCAGTCGGGAGGAAGGCGTTGATGCTAATATCATCAACGATTGTTACCGACGAAAAC  
 AGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACT  
 GGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTGATTAAGTTAGATGTGAAATCCCCGGGCTTAACCTGGGAATGGCA  
 TCTAAGACTGGTCAGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCATGTGTAGCGTAGAGGGTGAAATGC  
 ATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAAGACTGACGCTCAGGTAAGCGTGGGCAAA  
 GAGCAAACAGGATTAGATACCCACTGGTAGTCCGCTGTAAACGATGTGATTTGAAGGTTGTTCCCTTGA  
 TGAATTGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACCGGAAGAACCCTTACC  
 TACTCTTGACATCGCGATAACTTAGCAGAGAGTGTGCTTTGCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCA  
 TGGCTGTGCTTGCCAGCGATTCCGGTCGGGAACTCAAGGTGATAGGAGACTGCCAAACCGGAGGAAGGTGG  
 ACGTCGTATACAAAGAGAAGCGACCTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACA  
 GCGAGAGCAAGCGAACTCATAAAGTACGCCTATTAACGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCACCATGT  
 TCACGGAGTGGGTTGCAAAGCCAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGCTTACCCTTGTGATTTCAG  
 AAGTCGCTGGGGTGATAACAAGGTAACCGTAGGGGAACCGCTTAATC

**BBS1**

>CAGGACGAAGCGCTGCGGCGTGTCTATTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAAAGTGGAGCTGCC  
 CCGGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACTTATGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGAGG  
 AGACCGAGCTAATACAGTTCCCGGATTTGAACCGCATGGTTCAAGGATGAAAGACGGTTTCGGCTCACGT  
 TCAGATTAGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCC  
 AGGGTGATCGCGACTGAGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCGTAAGG  
 GAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCGTTACCAGATGAAGGGTTTTTCGGATCGTAA  
 ATCTGGCTTGTAGGGAAGAACAAGTGCAAGAGTAACTGCTTGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAAGC  
 CGGGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGT  
 AAAGGGCTCGCAGGCGGTTTTCTTAAGTCTAGGGTCATTGGAAGATGTGAAAGCCCCCGGCTCGGGAAACCG  
 ACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATTCTGAACACGTGTAGCGGATGCGTAGAGATGTGG  
 AGAGACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGA  
 ACAGGATTAGATAACCACTGGTAGTCCACGCCGTAAGGGTTCGATGAGTGTAAAGTGTAGTTCCGCCCT  
 TAGTGCTTAAGCACTGCAGCTAACGCATCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAAT  
 TGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTC  
 TTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGGGCTTTCCAGGTGTCATGGTTCTTCGGGGACAGAGTGA  
 GTCGTCAAGCTCGTGTGCGTGGATGTTTTAAGTCCCGCAACGGGGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCA  
 GCATTACAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCA  
 TCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAGAAACAAAGGGCTGCGAGACCGCAAGG  
 TTTAGCCATCCCACAAAATCTGTTCTCAGTCGGATCGTCAGTCTGCAACTTATGACCCTGGGCTGGAAAT  
 CGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGCCTAATAATCCGGGCCCTGTACACACCGCCGTCACAC  
 AGTTTGCAACACCCGAAGTCCGTGAGGTAACCTTATGCTGAGCCAGCCGCCGAAGGGGTGCAGAATTGGG  
 GTGAAGTCGTAACAAGGGTTAACCGTATT

**ECK17**

>CGGATTCAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGAGGCCTAACACGGCCAACGTGCAAGTCGAG  
 AACAGGAAGAAGCTTGCTCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATG  
 GAGGGGGATAACTACTGGAACGGTAGCTAATACCTAACGTCGCAAGGCAACCAAAGAGGGGGACCTTCG  
 GGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACG  
 ATCCTAGCCTGGTCTGAGGAAGTGACCAGCCACACTGGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGTGAGAC  
 CAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCCTT  
 CGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTTACCGTACCCG  
 CAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAAT  
 TACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTTGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAAC  
 TGCATCTGATACTGGCAAGCTTGTGCTCGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGT  
 AGAGATCTGGAGGAACGGCCCTACCGGTGGCGAAGGCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCG

TGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCC  
 TTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTCGACCGCTGGGGAGTACGGCCGAAGGTTAAAACT  
 TACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGC  
 CAGCGAAGAACCAATGAATTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACT  
 TGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTATGTTGTGAAGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCT  
 TTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGA  
 CCCAGGGCGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGATACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGA  
 CCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACAAGTCGGAATC  
 GCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATATTCATGACTGGGGTTGAAGT

### ECS11

>AGGCTCAGATTATTGAAGAGTTTTGATCGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAA  
 AGGAAGAAGCTTGCTCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAGAGGGGGATAACTACAATACCGCTG  
 GAAACGGTAGCTATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGCGGACCTTGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCA  
 GATGGGATTATATAGGTAGGTGGGGCTCAAGACGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAGC  
 CACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGCAGCAGTGGGGAAATATTGGCGCCACAATGGAAGC  
 CTGATGCAACCATGCCCGGTGTATGAAGAAGCCCTTCGGGTTGTAAGTACAAAGTTAATATTTACAGCGG  
 GGAGGAAGGGAGTCTTTGCTCATTGACGTTACCCGAGAAGAAGCACCCGGCTAACTCCGTCCAAATAC  
 GGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGAGTCAGGTTTGTTAATGTG  
 AAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAA  
 TTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACGA  
 AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG  
 GCTTCCGGAGCTAACCGGTTACCGACGGGAGTACGGCCGACTGAGGTTAAAACTCAAATGAATGACGG  
 GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTCTACGGTCTTGACA  
 TCCACGGAAGCCTTCGGGAACCGTGTGCGTCCATGGTAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCG  
 CAACGAGCGCAACCCCTTATCCTCGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAA  
 TGGCGCATACAAAGAGAAGCGACGGTGAAGTCGCCAAATACGTTCCCGAATCGCTAGTAATCGTGGATCA  
 GAACTG

### CFK1

>GGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAGCACAGAGGAGCTTCTCC  
 TGTGACGATGGGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGA  
 AACGGTAGCTAATACCGCATAACGAGAGGGGGTTCGCAAGACCAAACCTTCGGGCTCTTGCCATCGGATG  
 TGCCAGATGGGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGA  
 GATGACCCAGCCACACTGGAACCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC  
 ACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCCGGTGTATGAAGAAGCCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTC  
 AGCGAGGAGGAAGGCGTTGTGGTTAATAACCGCAGCGATTGACGTTACTCGCAGAAGAAGCACCCGGCTAA  
 CTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCAC  
 GCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACCTGCATCCGAAACTGGCAGG  
 CTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACC  
 GGTGGCGAAGGCGGCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTGA  
 GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGA  
 GCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCATAATGAATGACGGGGC  
 CCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCA  
 GAGAACTTAGCAGAGATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGAGCT  
 CGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGCGTCAAGTGGGGATGATCATCATGGCCC  
 TTACGAGTAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCATATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGA  
 CCTCATAAAGTATGTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACATGAAGTCTCCGGAATCGCTAGTAA  
 TCGTGGATCAGAATGCCACGGAATATGCGTTCCCGGGCCTTGTCCCGTCAACACACCCGACCATGGGAGT  
 GGGTAGGTAGCGCAAAAAGAAGG

### SEK7

>GGCAGGATGAATGCGCGCGGCGTGCCTAATACATAGCGAACGCAAGTCGAGACGAGGAGCTTGCTCCTC  
 TGACGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGATAACCTACCTATAAGACTGGGATAACTTCGGGAAA  
 CCGGAGCTAATACCGGATAATATATTGAACCGCATGGTTCAATAGTGAAAGACGGTTTTGCTGTCACTTA  
 TAGATGGATCCGCGCCGATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGAC  
 CACAGAAGGTGGCCACACTGATCGGAACCTGAGTCCAGACTCGACACGCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA

TCTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAAAAC  
TCTGTTATTAGGGAAGAACAATGTGTAAGTAACTATGCACGTCTTGACGGTACCTAATCAGAAAAGCCAC  
GGCTAAGAACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAA  
GCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACT  
GGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGG  
AACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGGTAACGTGTCTACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACA  
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGGGGGTTCCGCCCTTAG  
TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGA  
CGGGGACCCGCAAGCGACGTGGGTTTTAATTCGAAAGCATGTGGCAACCGGAAGAACCTTACCAAATCTTG  
ACATCCTCTGACCCCTCTAGAGATAGAGTTTTCCCTTCATGGTTGTGCTCAGCTCGTGTGAGATGT  
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATAAGGTGGGGATGACGTCAAATCAT  
CATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACACAAGCAAATCCCATAGAATTGT  
TCTAAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTATATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCAT  
GCTACGGTGAATACACGAGAGA

### PZK5

>CTCAGATGGTGAACGCTGGCAGGCCTAGGCACACATGCAGGATGAAGTCGAGCGTGGAGCTTGCTCCAT  
GATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGACAACGTTTCGAGAAAAG  
ACGCTAATACCGCATAACGTCTACGGGAGAAAGTGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCT  
AGGTCCGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCCGTAACCTGGTCTGAGAATGGG  
ATCAGTCCACTGGATCCAGACTGAGACACGGACTCCTACGGGAGGGCGAAAGCCTGATCCACATGCCGC  
GCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAGTTAATGTTT  
GCTTGACGTTACCAACAGAATAAGCACCGGCTAACTTCGACCTTACCGGTTACACCATGGGAGGGGTTT  
TGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCGCTAGG  
TGTTTCGTTAAGTTGGATGTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACGTCATCCAAAACCTGGCGAGCTAGA  
GTATGGCAGAGGGTGGTGAATTTCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGG  
CGAAGGCCACCTGGAGGCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATAC  
CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAA  
CGCATTAAAGTCGACCGCCTGAGTACGGGGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCGCA  
CAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAA  
CCTTCGGAACTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTCAGCTCGTGTGTTTCCAGAGATGGATTGGTGC  
CGTGAGAAGTCCCCTATGTTGGGTTAACGAGCGCAACCCTTGTCCCTTAGTTACCAGCAGTTAAGGGTGG  
CACTCTAAGGAGACTGCCGTTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTAC  
GCTACACACGTGCTAGCCTGGGCAATGGTCGGTACAAAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCC  
ATAAAACCGATCGTAGTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGAGAATGTCACT  
ACGTTCCCTGCTCCAGAAGTAGGGCCTTC

### SGS3

>GGGTCTGGCGGCAGTCTACACATGCAAGTCGAACGGTAAACAGAGAAGCAGCTTGCTGCTTTCGCTGACG  
AGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAACTGCCTGATGGAGGGGATAACTACTGGAAAACGGTAGCT  
AATACCGCATAACGTGCGAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCAGATG  
GGATTAGCTAGTAGGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAG  
CCACACTGGAAGTACGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAAATGGGCG  
CAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGG  
AAGGGAGTAAAGTTAATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCA  
GCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTT  
TGTTAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACGTCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTC  
GTAGAGGGGGGTAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG  
GCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGG  
TAGTCCACGCCGTAAACGATGTGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGT  
TAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCGACAAGC  
GGTGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACCTTG  
TAGAGATACGAGGTTCCCTTCGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG  
AATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGAACTCA  
AAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAG  
GGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAG  
TGCGTCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCA  
GAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGAGAAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGCGCTTACCACTTTGTG  
ATTCATGACTGGGGTGAAGTCGTAAG

**PLS1**

```
>CTAGGGGAGGCACATGCAGTCGAACGGTAGCAGAAGAGCTCATGCTCTTCGGGTGACGAGTGGCGGACG
GGTGAGTAATGTCTGGGGATCTGCCCCGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATA
ACGTCGCAAGACCAAAGTGGGGGACCTTCGGGCCCTCACACCATCGGATGAACCCAGATGAGATTAGCTAG
TAGGTGGGGTAACGGCTCAACGATCCTAGGCGCTCTAGCTGGAGTCTGAGAGTGACCAGCCACACTGGAA
CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATG
CAGCCATGCCCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGAAAAG
GTTAATAACCTTTTTTCATTGACGTTACGCAGAAGAACCGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGT
AATACGGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTCTGTTAAGTCAG
ATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCCGGGAAGTGCATTTGAAACTGGCAGGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGG
TAGAATTCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCGACGAA
GGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTGCACTTGAGGTTGTGC
CCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAA
CTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAAC
CTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAAGTGTGAGACAGGT
GCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATC
TTTGTTGCCAGCGGTTCCGGCCGGGAAGTCAAAGGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAAGAGAAGCG
ACCTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCCTGCTAGTCCGGATCGGAGTCTGCAACTCGACTCCGT
GAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCATAGGTAGCTTAACCTTCGGGAGGGCGCTTACCC
```

**SPS4**

```
>TAAAGTGAAGGGAATCTAAAGATGGTTTTTGTCTATCACTTATAGATGGACCCGCGCCGTATAGCTAGTT
ACGGCTTACCAAGGCGACGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGAAGTGTGAGACACGG
TCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTTCCGCAATGGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGCGTAGG
CGTGAGTGATGAAGGGTTTTCCGGCTCGTAAAACCTCTGTTATTAGGGAAGAACAACGTTAAGTAACTGTG
CACGTTTACGGTACCTAATCAGAAAGCGTTTTCTTAAGTCTGGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC
CGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGATGTGAAAACCT
CACGGCTCAACCGTGGAGGGTCAATGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAAGTGGAAATCCAT
GTGTAGCGGTGAAATGCGCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGT
ACGCTGATGTGCGAAAGCGTGGGGATCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGA
GTGCTAAGTGTAGGGGGTTTTCCGCCCTTAGTGTCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTGGGGAGT
ACCTTACCAAACTTTGACATCCTTTGAAAACCTTAGAGATAGAGCCTTCCCCTTCAACGAGCCTCGTGT
CGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTCGAGATGTTGGGTTAAGT
TGGGCTTCCCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAGGTTGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTAAACACACGTGCTACAATTTCCATAA
GGACAATACAAAGGGCAGCTAAACCGCGAGGTCATGCAAATTTGTTCTCAGTTCGGATTGTGGGGTGAAGG
AGTCTGCAACTCGACTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGT
TCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGAAGCCGGTGGAGTAACCA
TTTATGGAGCTGTAAATGATTT
```

**Annexe 5 : L'analyse statistique par le logiciel SPSS**

Les deux tableaux suivant mentionnent la valeur minimale et la valeur maximale dans chaque surface (P, L, T, A) dans les deux EPH

Descriptive Statistics <sup>a</sup>				
	N	Minimum	Maximum	Sum
P	11	1	5	27
L	21	1	9	76

T	7	0	4	13
A	19	1	7	57
Valid N (listwise)	4			
a. Care units = Frère Khelif				

Descriptive Statistics <sup>a</sup>				
	N	Minimum	Maximum	Sum
P	8	1	3	17
L	15	1	9	51
T	5	0	2	6
A	15	1	4	34
Valid N (listwise)	4			
a. Care units = Soeur Badj				

### Chi -square

On propose les deux hypothèses ( $H_0$  et  $H_A$ ) pour la relation entre les résultats et les unités P, L, T, A

$H_0$  : pas d'association significative

$H_A$  : il existe une association significative

### 1er cas: si on analyse les deux hôpitaux ensembl

Case Processing Summary						
	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Care units * Results	8	100,0%	0	,0%	8	100,0%

Care units * Results Crosstabulation											
			Results								
			6	13	17	27	34	51	57	76	Total
Care units	P/48	Count	0	0	1	1	0	0	0	0	2
		Expected Count	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2
	L/48	Count	0	0	0	0	0	1	0	1	2
		Expected Count	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2
	T/48	Count	1	1	0	0	0	0	0	0	2
		Expected Count	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2
	A/48	Count	0	0	0	0	1	0	1	0	2
		Expected Count	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2	,2
Total	Count	1	1	1	1	1	1	1	1	1	8
	Expected Count	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	8,0

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	24,000 <sup>a</sup>	21	0,293
Likelihood Ratio	22,181	21	0,389
Linear-by-Linear Association	0,046	1	0,830
N of Valid Cases	8		

a. 32 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 0,25.

chi-square ou chi-deux ( $\chi^2$ )= 24,000

P= 0,293, cette valeur est supérieur à 0,05 donc on accepte l'hypothèse  $H_0$  qui veut dire pas d'association significative entre les résultats de culture et les différentes unités P, L, T, A.

**2eme cas: si on analyse les deux hôpitaux indépendamment**

#### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Hospital							
Frère Khelif	Care units * Results	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%
Soeur Badj	Care units * Results	4	100,0%	0	,0%	4	100,0%

Care units * Results Crosstabulation														
Hospital				Results							Total			
				6	13	17	27	34	51	57		76		
Frère Khelif	Care units	P/48	Count		0		1			0	0	1		
			Expected Count	,2		,2			,2	,2		1,0		
		L/48	Count		0		0			0	1	1		
			Expected Count	,2		,2			,2	,2		1,0		
		T/48	Count		1		0			0	0	1		
			Expected Count	,2		,2			,2	,2		1,0		
		A/48	Count		0		0			1	0	1		
			Expected Count	,2		,2			,2	,2		1,0		
		Total	Count		1		1			1	1	4		
			Expected Count		1,0		1,0			1,0	1,0	4,0		
		Soeur Badj	Care units	P/48	Count	0		1		0	0			1
					Expected Count	,2		,2		,2	,2			1,0
				L/48	Count	0		0		0	1			1
					Expected Count	,2		,2		,2	,2			1,0
T/48	Count			1		0		0	0			1		
	Expected Count			,2		,2		,2	,2			1,0		
A/48	Count			0		0		1	0			1		
	Expected Count			,2		,2		,2	,2			1,0		
Total	Count			1		1		1	1			4		
	Expected Count			1,0		1,0		1,0	1,0			4,0		

Chi-Square Tests				
Hospital		Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Frère Khelif	Pearson Chi-Square	12,000 <sup>a</sup>	9	0,213
	Likelihood Ratio	11,090	9	0,270
	Linear-by-Linear Association	0,045	1	0,832
	N of Valid Cases	4		
Soeur Badj	Pearson Chi-Square	12,000 <sup>a</sup>	9	0,213
	Likelihood Ratio	11,090	9	0,270
	Linear-by-Linear Association	0,005	1	0,946
	N of Valid Cases	4		
a. 16 cells (100,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 0,25.				

Pour les deux hôpitaux:

chi-square ou chi-deux ( $X^2$ )= 12,000

P= 0,213, cette valeur est supérieur à 0,05 donc on accepte l'hypothèse  $H_0$  qui veut dire: pas d'association significative entre les résultats obtenus et les différentes unités.

