

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de CONSTANTINE 3-Salah Bounider

Faculté de médecine Belkacem Bensmail  
Département de pharmacie



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Docteur en pharmacie

### THEME

# LE RÔLE DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC DES INFECTIONS À

*Clostridium difficile*

**Réalisé et présenté par :**

AYECHE Hadjer

DIB Oumaima

ZIOU Sofia

**Membres de jury :**

Dr. ZITOUNI Sihem

Dr. BOUKHELKHAL Amira

**Encadré par :**

Dr. MEKHOUKH Naoual

Maitre Assistante En Microbiologie

Maitre assistante En Microbiologie

Maitre Assistante En Biochimie

**Présidente**

**Examinatrice**

**Année universitaire : 2022/2023**

## Table des matières :

Liste des figures.....	X
Liste des tableaux.....	XII
Liste des abréviations.....	XIII
Introduction .....	1
Chapitre I : Généralités sur les infections à <i>C.difficile</i> .....	3
1. Historique.....	3
2. Présentation de la bactérie .....	6
2.1 Taxonomie.....	6
2.2 Caractères morphologiques .....	6
2.3 Caractères cultureux .....	7
2.4 Caractères biochimiques .....	8
2.5 Caractères génétiques .....	9
3. Epidémiologie des infections à <i>C.difficile</i> .....	10
3.1 Habitat-réservoir et transmission.....	10
3.2 Emergences des nouvelles souches épidémiques .....	12
3.2.1 La souche nap1 027 .....	12
3.2.2 La souche PCR ribotype 078/126.....	13
3.2.3 Autres souches émergentes .....	14
3.3 Situation épidémiologique : le nouveau visage de <i>C.difficile</i> .....	15
3.3.1 Les Etats-Unis et Canada .....	15
3.3.2 L'Europe .....	17
3.3.3 L'Asie .....	20
3.3.4 L'Algérie.....	22
3.4 Apparition de nouvelles populations à risque .....	22
3.4.1 Les infections communautaires .....	22

3.4.2	Les femmes enceintes .....	23
3.4.3	La population pédiatrique .....	24
3.5	Mortalité associée aux ICD.....	25
3.6	L'impact économique des ICD .....	26
<b>4.</b>	<b>Facteurs de virulence .....</b>	<b>28</b>
4.1	Les toxines TcdA et TcdB .....	28
4.1.1	Le PaLoc .....	28
4.1.2	Structure des toxines.....	29
4.1.3	Mécanisme d'action des toxines.....	30
4.2	La toxine binaire (CDT).....	31
4.2.1	Régulation de la toxine binaire (CDT) .....	31
4.2.2	Mécanisme d'action de la toxine binaire (CDT).....	31
4.3	La spore.....	33
4.4	Facteurs de colonisation.....	33
4.4.1	Les adhésines.....	33
4.4.2	Protéines de la liaison à la matrice extracellulaire .....	35
4.4.3	La protéine de choc thermiqueGrole .....	35
4.5	Les flagelles.....	35
<b>5.</b>	<b>Le microbiote intestinal .....</b>	<b>37</b>
<b>6.</b>	<b>Physiopathologie.....</b>	<b>39</b>
6.1	Première étape : altération du microbiote intestinal .....	39
6.2	Deuxième étape : contamination par une souche de <i>C.difficile</i> toxinogène .....	40
<b>7.</b>	<b>Les facteurs de risque.....</b>	<b>42</b>
7.1	Facteurs liés à l'hôte .....	43
7.2	Facteurs liés à l'environnement.....	44
7.3	Facteurs de risque d'acquisition communautaire .....	45
7.4	Facteurs de risque de récurrences d'ICD .....	46
<b>8.</b>	<b>L'aspect clinique.....</b>	<b>49</b>

8.1	Portage asymptomatique .....	49
8.2	Manifestations digestives .....	49
8.2.1	Diarrhées post antibiotiques « simples » sans colite avérée .....	49
8.2.2	Colites pseudomembraneuses (CPM).....	50
8.3	Les Récidives .....	53
<b>9.</b>	<b>Traitement .....</b>	<b>54</b>
9.1	Mesures générales.....	54
9.2	Traitement du premier épisode.....	54
9.2.1	Diarrhée simple .....	54
9.2.2	Diarrhée sanglante .....	55
9.2.2.1	Antibiothérapie .....	55
9.2.2.2	Traitement chirurgical.....	56
9.3	Traitement des récurrences .....	57
9.3.1	Traitement de la première récurrence .....	57
9.3.2	Traitement après des récurrences multiples (> 1 ère récurrence) .....	57
9.4	Traitements en développement.....	59
9.5	Critère de guérison.....	60
<b>10.</b>	<b>Prévention.....</b>	<b>61</b>
<b>Chapitre II: Le diagnostic microbiologique de <i>C.difficile</i> .....</b>		<b>64</b>
<b>1.</b>	<b>Recommandations sur la prescription de la recherche de <i>C.difficile</i> dans les selles ....</b>	<b>64</b>
1.1	Définition d'un cas d'ICD.....	64
1.1.1	Indication de la recherche .....	64
1.1.2	Répétition de la recherche.....	66
1.1.3	Contrôle post-thérapeutique .....	66
<b>2.</b>	<b>Prélèvements des échantillons de selles .....</b>	<b>67</b>
<b>3.</b>	<b>Transport et conservation de selles .....</b>	<b>68</b>
<b>4.</b>	<b>Méthodes diagnostiques disponibles dans le laboratoire .....</b>	<b>69</b>
4.1	Examen microscopique .....	70

4.2	Mise en évidence de la bactérie.....	70
4.2.1	La glutamate déshydrogénase .....	70
4.2.2	La culture toxigénique (CT).....	72
4.2.2.1	Isolement de <i>C.difficile</i> .....	72
4.2.2.2	Identification.....	73
4.3	Mise en évidence des toxines .....	74
4.3.1	Le test de cytotoxicité des selles (CTA) .....	74
4.3.2	Méthodes immuno-enzymatiques.....	76
4.4	Les méthodes moléculaires .....	77
4.4.1	L'amplification génique.....	77
4.4.1.1	La PCR.....	77
4.4.1.2	La technologie LAMP.....	78
4.5	La sérologie .....	80
<b>5.</b>	<b>Proposition d'algorithmes diagnostiques.....</b>	<b>81</b>
5.1	Algorithme en trois temps.....	82
5.2	Algorithme en deux temps .....	83
5.3	Algorithme en un temps.....	83
<b>6.</b>	<b>Sensibilité aux antibiotiques .....</b>	<b>85</b>
	<b>Conclusion .....</b>	<b>86</b>
	<b>Bibliographie .....</b>	<b>88</b>
	<b>Résumé</b>	

## Résumé :

*Clostridium difficile* est un bacille à Gram positif anaérobie, sporulé, responsable de 15 à 25 % des diarrhées post-antibiotiques et de plus de 95 % des cas de colites pseudo-membraneuses. Les principaux facteurs de risque d'infections liées à *C.difficile* sont l'âge supérieur à 65 ans, l'administration d'antibiotiques et les antécédents d'hospitalisation. Le traitement antibiotique de l'ICD est basé sur la gravité de la maladie et repose sur l'utilisation de métronidazole, de vancomycine ou de fidaxomicine par voie orale. L'incidence des infections à *C.difficile* a beaucoup augmenté ces dernières années, en Amérique du Nord et en Europe, mettant au premier plan l'importance d'un diagnostic rapide et fiable. Celui-ci repose sur la mise en évidence des toxines ou d'une souche toxigène de *C.difficile* directement à partir des selles diarrhéiques. De nombreux tests sont disponibles, détectant soit les toxines, soit la bactérie ou ses composants, soit les gènes des toxines. Malgré le nombre important de tests microbiologiques à disposition, aucun ne satisfait à lui seul aux critères requis de rapidité, de simplicité, de sensibilité, de spécificité. Actuellement, le meilleur compromis est obtenu en adoptant un algorithme en deux étapes, voire trois étapes.

**Mots clés :** *Clostridium difficile*, colite pseudo-membraneuse, antibiotiques, tests microbiologiques.

## **Abstract :**

*Clostridium difficile* is a Gram-positive, anaerobic, spore-forming bacillus responsible for 15 to 25% of post-antibiotic diarrhea and over 95% of pseudomembranous colitis cases. The main risk factors for *C.difficile* infections are age over 65, antibiotic use, and a history of hospitalization. The antibiotic treatment for *C.difficile* infection is based on the severity of the disease and involves the use of metronidazole, vancomycin, or fidaxomicin orally. The incidence of *C.difficile* infections has significantly increased in recent years in North America and Europe, highlighting the importance of rapid and reliable diagnosis. The diagnosis relies on detecting toxins or a toxigenic strain of *C.difficile* directly from diarrheal stool samples. Several tests are available, detecting the toxins, the bacteria or its components, or the toxin genes. Despite the numerous microbiological tests available, none of them individually meet the required criteria of speed, simplicity, sensitivity, and specificity. Currently, the best compromise is achieved by adopting a two-step or even three-step algorithm.

**Key words :** *Clostridium difficile*, pseudomembranous colitis, antibiotic, microbiological tests.

## ملخص :

المطثية العسيرة هي عصية لاهوائية مكونة للجراثيم موجبة الجرام مسؤولة عن 15 إلى 25٪ من حالات الإسهال المرتبط بالمضادات الحيوية وعن جميع حالات التهاب القولون الغشائي الكاذب. عوامل الخطر الرئيسية لعدوى المطثية العسيرة العمر < 65 عامًا، والاستشفاء السابق والعلاج بالمضادات الحيوية. زاد معدل حدوث عدوى المطثية العسيرة بشكل ملحوظ في السنوات الأخيرة، في أمريكا الشمالية وأوروبا، مما يبرز أهمية التشخيص السريع والموثوق. ويستند هذا إلى الكشف عن السموم أو السلالة السامة من المطثية العسيرة مباشرة من براز الإسهال. تتوفر العديد من الاختبارات للكشف عن السموم أو البكتيريا أو مكوناتها أو جينات السموم. ومع ذلك، فإن تعدد الأساليب الموجودة تحت تصرفنا لا يسهل اختيار المختبرات، خاصة أنه حتى الآن لا تلبى أي من الطرق المستخدمة جميع التوقعات من حيث الحساسية والنوعية والسرعة والتكلفة. حاليًا، يتم الحصول على أفضل حل وسط من خلال اعتماد خوارزمية من خطوتين أو حتى ثلاث خطوات

**الكلمات المفتاحية:** المطثية العسيرة, التهاب القولون الغشائي الكاذب, المضادات الحيوية, الاختبارات الميكروبيولوجية.