

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : écologie microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

---

**Infections nosocomiales à *Clostridium difficile***  
**Rôle du biofilm dans la pathogénécité et l'antibiorésistance.**

---

Présenté par : Brahimi Choubeila Nihed

Le 21/06/2023

Boudinar Nedjla

Chouaib Rahil Belkis

Jury d'évaluation :

Encadrant : BOULTIFAT Linda (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Présidente : MERGOUD Lilia (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : AMOKRANE Sirine (MRA - CRBT, Constantine 1).

Année universitaire  
2022 – 2023

## *Remerciements*

*Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme Boultifat Linda, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnelle, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements s'adressent également à Mme MERGOUD Lilia (M.A.A-UFM C1) ainsi que Mme AMOKRANE Sirine (M.R.B- CRBT) d'avoir accepté de juger notre travail.*

*A tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charge académique et professionnelle.*

## *Dédicace*

*À Maman, pour tout l'amour et le soutien inconditionnel que tu m'as apporté tout au long des étapes de ma vie. Je ne sais comment te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi, c'est grâce à toi si j'en suis arrivée là. Cette journée marque l'aboutissement de ces années de travail, j'espère te rendre fière. Que Dieu te garde pour moi.*

*À PAPA, parce que tu m'as transmis les valeurs du travail, de la rigueur et de l'ambition. Tu m'as toujours soutenue et aidée à avoir confiance en moi lorsque j'en avais besoin.*

*À tous mes frères et mes sœurs*

*À tous mes amis.*

*À tous les membres des familles : Chouaib, Brahimi, Boudinar*

*À vous chers lecteurs.*

## TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations et acronymes.....	i
Liste des figures .....	ii
Liste des tableaux .....	iv
Introduction .....	1

## SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHYQUE

### CHAPITRE 1 : LES INFECTIONS NOSOCOMIALES à *Clostridium difficile*

1. Infections nosocomiales .....	3
1.1. Définition.....	3
1.2. Infection à <i>Clostridium difficile</i> .....	3
1.2.1. Caractéristiques microbiologiques de <i>Clostridium difficile</i> .....	4
1.2.2. Morphologie de <i>Clostridium difficile</i> .....	5
1.2.3. Taxonomie de <i>Clostridium difficile</i> .....	6
1.2.3. Taxonomie de <i>Clostridium difficile</i> .....	7
1.3. Mode de transmission.....	9
2. Manifestations cliniques de la colite à <i>Clostridium difficile</i> .....	9
2.1. La diarrhée post-antibiotique « simple » sans colite avérée.....	9
2.2. La colite pseudomembraneuse.....	9
3. Mécanismes conduisant à la colite à <i>Clostridium difficile</i> .....	10
3.1. Colonisation de tube digestif .....	10
3.2. Pathogénicité .....	12
4. Epidémiologie .....	12
5. Facteurs de risque.....	13
5.1. Facteurs liés aux antibiotiques et autres médicaments .....	13
5.2. Facteurs liés l'hôte.....	14
5.3. Facteurs liés à l'environnement.....	15

6. Facteurs de virulence de <i>C. difficile</i> .....	15
6.1. Production des toxines A et B .....	15
6.2. Mécanisme d'action des toxines A et B .....	16
6.3. Facteurs de virulence secondaires pour <i>C. difficile</i> .....	17
6.4. Autres facteurs de virulence de <i>C. difficile</i> .....	19

## CHAPITRE 2 : LE BIOFILM DE Clostridium difficile

1. Introduction .....	23
2. Historique .....	23
3. Définition du biofilm.....	24
4. Localisation .....	25
5. Biofilm et l'homme .....	26
6. Caractéristiques des biofilm .....	26
7. Etapes de la formation d'un biofilm.....	27
8. Composition de la matrice du biofilm.....	28
9. Quorum-sensing .....	29
10. Biofilm de <i>Clostridium difficile</i> .....	29
11. Clostridies et les biofilms naturels .....	29
12. Formation du biofilm <i>in vivo</i> .....	30
13. Localisation des toxines dans la matrice du biofilm .....	31
14. Cycle sporal dans le biofilm.....	31
15. Rôle des différents facteurs intervenant dans la formation des biofilms de <i>C. difficile</i> .....	32
15.1. Rôle de la réponse au stress .....	32
15.2. Rôle des interactions entre le microbiote intestinal et <i>C. difficile</i> .....	34
15.3. Rôles de la mobilité et de la surface bactérienne.....	35
16. Biofilms de <i>C. difficile</i> et résistance aux antibiotiques .....	35

## CHAPITRE 3 : TRAITEMENTS ET PRÉVENTION DES INFECTIONS

### NOSOCOMIALES LIEES à *C. difficile*

1. Traitement des infections nosocomiales .....	37
1.1. Mesures générales.....	37
1.2. Traitement d'un premier épisode d'une ICD.....	38
1.3. Traitement d'une première récurrence et de récurrence multiples à <i>C. difficile</i> .....	39
2. Nouvelles approches thérapeutiques .....	40
3. Prévention des infections nosocomiales.....	41
3.1. Prévention passive .....	41
3.2. Prévention active .....	42
3.3. Prévention par vaccination .....	43
3.4. Prévention des récurrences .....	44
4. Prévention des infections nosocomiales.....	44
Références bibliographiques .....	45
Résumés	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS ET ACRONYMES

ADN : acide désoxyribo nucléotidique

ARN : acide ribo nucléotidique

ATB : antibiotique

BHI : *Brain Heart infusion*

CCD : colite à *Clostridium difficile*

CD : *Clostridium difficile*

CDC : *center for disease control*

C-di-GMp : bis (3'-5')- Cyclic dimeric guanosine monophosphate

CMI : *Concentration minimal inhibitrice*

CPM : colites pseudomembraneuses

CRP : *Protéine C-réactive*

CV : cristal violet

DOC : desoxycholate

DPD : directives psychiatriques Anticipées

EPS : exopolysaccharides

ES : établissement de santé

FDA: *food and drug admonistration*

GFM : *germ free mouse*

GFTF : groupe français de transplantation de microbiote fécale

IAS : infections associées aux soins

ICD : infection à *Clostridium difficile*

IN : Infection Nosocomiale

IPP : inhibiteurs de la Pompe à Protons

JH : journées d'hospitalisation

Kb: kilobases

KD: kilo deltan

MET : metabolic Equivalent of Task ou Équivalent métabolique)

NAG: n-acétyl-glucosamine

NAP1: *north american pulsotype 1*

OMS : organisation mondiale de la santé

PALOC: pathogénicité locus

Pb : paire de base

PCI : prévention et control des infections

PCR : *polymerase chain réaction*

PGA : *professional golfers association*

PH : potentiel hydrogène

PR : PCR-ribotype

QS : quorum Sensing

SlpA : protéine A de la couches S

SOS : *Save Our Souls*

TcdA et TcdB : toxin *Clostridium difficile* A , toxin *Clostridium difficile* B

TLR : *Toll-like Receptors*

TMF : transplantation de microbiote fécale

USI : unité de Soins Intensifs



## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Clostridium difficile (microscope optique x 1000) .....	5
Figure 2 : arbre phylogénétique montrant la relation de C .difficile avec d'autres espèces de Clostridium.....	7
Figure 3 : aspect endoscopique d'une colite pseudomembraneuse.....	10
Figure 4 : colonisation du tube digestif Par Clostridium difficile.....	11
Figure 5 : représentation schématique du locus de pathogénicité de <i>C .difficile</i> .....	16
Figure 6 : détails d'un biofilm.....	24
Figure 7 : colonie en coupe .....	25
Figure 8 : étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien .....	28
Figure 9 : traitement des infections à Clostridium difficile .....	38

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : résumé des facteurs de virulence de Clostridium difficile .....	22
---	----

# **Introduction**

De nos jours, les maladies infectieuses représentent une des premières causes de mortalité dans le monde. Elles sont causées par des microorganismes parasitaires, c'est-à-dire nuisibles pour la santé de l'homme. L'Hôpital peut être considéré comme un écosystème où l'homme malade, affaibli et traumatisé entre en contact avec un univers microbien parfois redoutable et risque ainsi de contracter une infection que l'on qualifie de nosocomiale ou hospitalière. Les infections nosocomiales (IN) ou infections associées aux soins (IAS) sont devenues aujourd'hui un sujet d'actualité, d'où elles constituent un sérieux problème de santé publique, générateur de coûts humains (morbidité et mortalité) et socioéconomiques importants.

*Clostridium difficile* est la cause infectieuse la plus fréquente de diarrhée d'origine nosocomiale, et son importance en tant qu'agent pathogène des maladies diarrhéiques, contractées en ambulatoire, ne cesse d'augmenter. Les infections à *C. difficile* sont associées à une morbidité et une mortalité élevée, et s'accompagnent d'un large spectre de symptômes cliniques, allant de la diarrhée légère à la colite toxique sévère. Les formes d'évolution clinique sévère et le taux élevé de récurrence constituent des défis thérapeutiques particuliers.

La bactérie qui est un pathogène entérique est un bacille à Gram positif, anaérobie strict est capable de former des spores. Malgré son caractère anaérobie, *C. difficile* est très persistante dans l'environnement grâce à sa capacité à former des spores. En étant très résistantes aux conditions hostiles, il n'est pas surprenant de trouver des spores de *C. difficile* dans les milieux naturels (sol, rivières), domestiques (salles de bain, surfaces) ainsi que certains produits de consommation (viande, légumes). Les hôpitaux et les établissements de soins de longue durée ne font pas exception, et c'est ainsi qu'on les considère comme des réservoirs d'infections. Cette dernière se fait généralement lorsque la flore intestinale bactérienne normale est altérée, par la prise d'antibiotiques dans le contexte de traitement d'une infection quelconque.

La formation de biofilm qui protège les bactéries des stress intestinaux et des antibiotiques contribue à la pathogénèse et à la persistance de *C. difficile* favorisant ainsi la

colonisation intestinale et la récurrence de l'infection à *C. difficile*. En fait, la croissance du biofilm est considérée comme une menace sérieuse en raison de l'augmentation connexe de la résistance bactérienne qui rend l'antibiothérapie souvent inefficace. La prise en charge thérapeutique repose sur des algorithmes décisionnels prenant en compte la sévérité de la colite, le nombre d'épisodes et les facteurs de risque de récurrences. La difficulté à identifier ces critères constitue souvent un frein à la mise en œuvre d'un traitement adapté.

Dans ce contexte, l'objectif visé par cette étude est de mettre en exergue le risque de contamination nosocomiale par *C. difficile* ainsi que les surcoût financier et humain engendrés par ces infections qui devraient être des éléments majeurs, de sensibilisation des décideurs à la mise en œuvre d'une politique de prévention basés sur des protocoles d'hygiène et d'asepsie comme approche systématique qui doit être appliquée quotidiennement.

**Chapitre 01**  
**Les infections**  
**nosocomiales à *C. difficile***

## 1. Infections nosocomiales

### 1.1. Définition

Le terme « nosocomial » provient du mot grec *nosos* « maladies » et *komein* « soigner ». Les infections nosocomiales sont définies comme les accidents infectieux contractés par les malades hospitalisés. Il s'agit donc des maladies dues à des agents pathogènes infectieux, incluant bactéries, champignons, parasites, virus et prions (Berche *et al.*,1998).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une infection nosocomiale ou infection hospitalière peut être définie comme une infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. Il s'agit alors d'une infection survenant chez un patient à l'hôpital au dans un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni ne présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement (Khelili, 2020).

Les infections nosocomiales sont un problème majeur de santé publique, à l'origine d'un grand nombre d'entre elles, *Clostridioides difficile* (*C. difficile*), une bactérie entéropathogène pouvant entraîner des diarrhées sévères, dans les hôpitaux et les établissements de soins de longue durée (Oberkanpf *et al.*, 2022).

### 1.2. Infection à *Clostridium difficile*

*Clostridium difficile* (*C. difficile*) appelé également *Clostridioides difficile* est un bacille à Gram positif anaérobie sporulé responsable de 15 à 25 % des diarrhées survenant au cours ou au décours d'un traitement antibiotique et de plus de 95 % des cas de colites pseudomembraneuses (CPM) (Barbut et Petit,2001 ; Lyerly *et al.*,1988). C'est la première cause de diarrhées infectieuses nosocomiales chez l'adulte. Les infections liées à *C. difficile* (ICD) peuvent se compliquer d'un choc septique, d'un mégacôlon toxique (dilatation massive du côlon), voire d'une perforation colique. La mortalité imputable aux ICD varie de 0,6 à 1,5 %, mais peut atteindre 35 à 50 % en cas de complications de CPM (Morris *et al.*,1990 ; Olson *et al.*,1994). Les deux principaux facteurs de risque d'ICD sont l'âge supérieur à 65 ans et

l'antibiothérapie. Dans plus de 90 % des cas, les ICD surviennent au cours ou au décours d'une antibiothérapie. Les antibiotiques facilitent l'implantation de la bactérie dans le tube digestif et/ou son émergence. Seules les souches toxigènes (qui produisent simultanément, dans la grande majorité des cas, les toxines A et B) sont pathogènes. La contamination par *C. difficile* a lieu par voie féco-orale et sa transmission de personne à personne s'effectue directement par manuportage ou à partir d'un environnement contaminé. *C. difficile* est un germe sporulé capable de persister pendant plusieurs semaines dans l'environnement du patient infecté.

L'incidence des ICD à l'hôpital varie de 1 à 10 pour 1 000 admissions. Les ICD diagnostiquées à l'hôpital sont d'origine nosocomiale dans environ 70 % des cas. Elles surviennent volontiers sous forme d'épidémies, notamment dans les services de réanimation, de maladies infectieuses, d'hématologie et de gériatrie. La fréquence des infections communautaires à *C. difficile* est moins bien connue : le suivi d'une cohorte de 266 patients traités par antibiotiques par leur médecin généraliste a permis d'estimer la fréquence des ICD à 1,5 % (Baugerie *et al.*, 2003).

Depuis 2003, cette bactérie est l'objet d'un regain d'intérêt lié à l'émergence et la dissémination, en Amérique du Nord puis en Europe, d'un clone particulièrement virulent appelé 027 en référence à son profil en PCR ribotypage, ou NAP1 (Nord Amérique Pulsotype 1) en référence à son pulsotype en électrophorèse en champ pulsé, responsable de formes clinique sévères (Barbut *et al.*, 2007).

### 1.2.1. Caractéristiques microbiologiques de *C. difficile*

*C. difficile* est un bacille à Gram positif anaérobie (figure1) mis en évidence par Hall et O'Toole, (1935). Certaines souches dites toxigènes sont sécrétrices de toxines pathogènes, d'autres ne le sont pas. La production de toxines varie d'une souche à l'autre. Elle est aussi influencée par la nature du milieu de culture ou par l'alimentation. Deux toxines différentes dans leur structure et leurs effets ont été décrites et respectivement désignées toxine A (entérotoxine) et toxine B (cytotoxine). En pratique, la grande majorité des souches de *C. difficile* coproduisent la toxine A et la toxine B. Seules 2 % des souches environ ne produisent que la toxine B (souches *toxA*<sup>-</sup> *toxB*<sup>+</sup>). Sur le plan génomique, les gènes des



toxines A et B sont situés sur un même locus de pathogénicité appelé PaLoc. Ces gènes codent pour une toxine A de 308 kD et une toxine B de 207 kD. La toxine A est constituée d'une chaîne polypeptidique unique de poids moléculaire de 308 kD, tandis que la toxine B a un poids moléculaire d'environ 207 kD. Toutes deux ont été clonées et séquencées. Les deux toxines ont des structures primaires similaires et possèdent 50 % d'acides aminés en commun. Les toxines A et B sont à l'origine du pouvoir pathogène de *C. difficile*. Leur principale cible est le colonocyte qu'elles affectent par plusieurs mécanismes que nous décrirons plus bas (Buyse *et al.*, 2005).



Figure 1 : *Clostridium difficile* (microscope optique x 1000) (Buyse *et al.*, 2005).

### 1.2.2. Morphologie

Les cellules végétatives de *C. difficile* mesurent entre 3 à 5 µm de long et 1,5 à 2 µm de large : au microscope, le bâtonnet apparaît seul, par paires ou en courtes chaînes. En général, le germe est Gram positif, mais les colonies plus matures peuvent présenter une variabilité de coloration de Gram (Aktories et Wilkins, 2000 ; Brazier et Borriello, 2000 ; Pechine *et al.*, 2005). Cette variabilité de la coloration de Gram peut être due au fait que les cellules âgées et mourantes deviennent significativement plus minces et plus diffuses, et plus friables à la coloration de Gram (Beveridge, 1990).

La bactérie produit des colonies irrégulières et plates de 2 à 9 mm de diamètre, avec une marge lobée et un aspect lisse, brillant et blanc grisâtre sur un milieu Brain Heart Infusion (BHI) à 7% de sang (Hall et OToole, 1935 ; Hafiz et Oakley, 1976).

La majorité des souches de *C. difficile* sont mobiles avec des flagelles péritriches et des fimbriae multiples (Hafiz et Oakley, 1976 ; Borriello, 1998). Dans des conditions de croissance défavorables, *C. difficile* produit des spores allongées subterminales qui sont légèrement plus larges que le corps de la cellule (Hafiz et Oakley, 1976).

### 1.2.3. Taxonomie de *Clostridium difficile*

*Clostridium difficile* appartient à la classe bactérienne Clostridia dans le phylum des Firmicutes, l'ordre Clostridiales, la famille Clostridiaceae et le genre *Clostridium* (He, 2012). Il s'agit d'un groupe de bactéries phylogénétiquement très diversifié (Collins *et al.*, 1994 ; Kalia *et al.*, 2011).

Selon des estimations basées sur des composés chimiques (2-méthylhopanoïdes) trouvés dans les membranes des cyanobactéries, le groupe *Clostridium* aurait évolué il y a environ 2,34 milliards d'années (Sheridan *et al.*, 2003 ; Hegarty *et al.*, 2016). *C. difficile* ayant évolué au cours des 1,1-85 millions d'années passées, n'a été reconnu comme pathogène qu'il y a 40 ans (Bartlett *et al.*, 1978 ; He *et al.*, 2010). La figure 1 montre un arbre phylogénétique qui illustre les relations évolutives de *C. difficile* avec les autres espèces de *Clostridium* (He, 2012). Yutin et Galperin, (2013) ont proposé de réordonner les espèces en six nouveaux genres, de changer le nom de *C. difficile* en *Pepto Clostridium difficile* sur la base de 168 séquences d'ARNr et de protéines ribosomique.

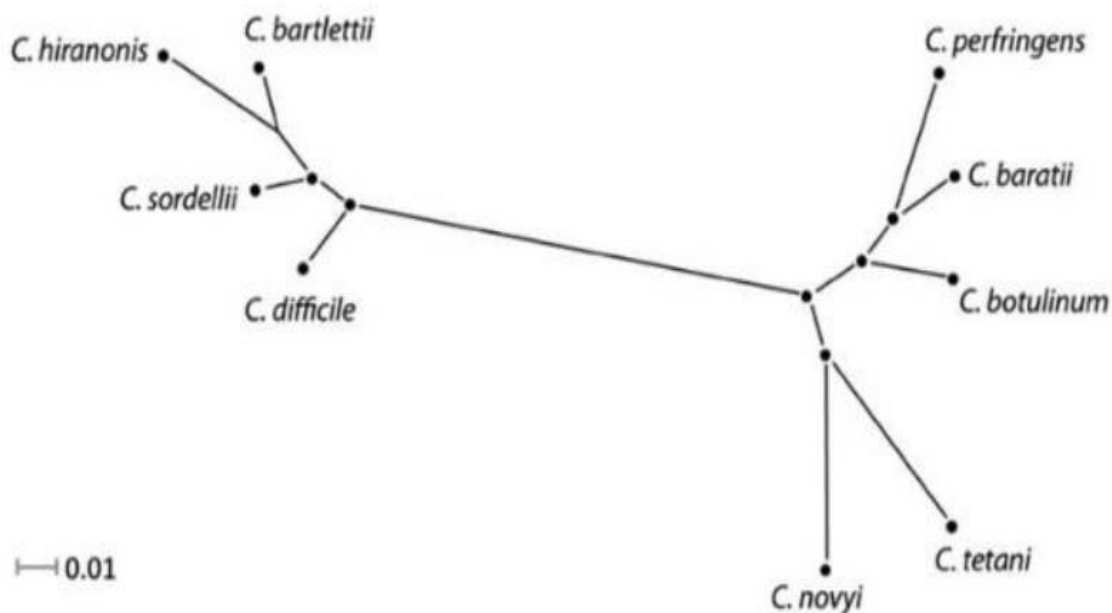


Figure 2 : arbre phylogénétique montrant la relation de *C. difficile* avec d'autres espèces de *Clostridium* (Sarao, 2016).

#### 1.2.4. Écologie de *Clostridium difficile*

Les espèces *C. difficile* sont généralement des organismes environnementaux inoffensifs. Comme pour plusieurs autres espèces bactériennes, l'intervention humaine a atténué les conditions pouvant entraîner une morbidité et une mortalité humaines importantes. Il s'agit d'un compromis entre la résistance à la colonisation par la flore intestinale normale par des agents antibactériens. Puisque l'ingestion est nécessaire, il doit y avoir une source biologique, et l'environnement est une possibilité (Stanley *et al.*, 2006). Les résultats ont montré un taux global positif de 7,1 %, avec des résultats attendus sur le sol (21 %), les animaux domestiques (7 %) et les hôpitaux (20 %). Les résultats les plus significatifs étaient 87,5 % d'eau de rivière et 46,7 % d'eau de lac positive pour *C. difficile*, 50 % d'étangs, 2,4 % de légumes crus et 2,2 % de surfaces dans les maisons privées.

*Clostridium difficile* ne se développe dans le tractus intestinal de l'adulte que lorsque la flore normale a été altérée ou compromise, généralement par des antibiotiques. D'autres

médicaments, tels que les agents antinéoplasiques, modifient également la flore intestinale, ce qui prédispose les patients à une infection par cet agent pathogène. Chez les personnes en bonne santé, le taux de portage intestinal est de 3 % ou moins, avec des taux légèrement plus élevés signalés au Japon (Mulligan, 1988). Contrairement à son faible taux de portage chez les adultes, *C. difficile* est présent chez un grand nombre de nourrissons et est (ou devrait être) considéré comme un membre de la microflore normale. L'organisme et ses toxines peuvent être détectés dans un pourcentage élevé de nourrissons (dans certaines études, 50 % ou plus). Le niveau d'unités formatrices de colonies et de toxines dans les selles de nourrissons en parfaite santé peut être comparable aux niveaux observés dans les selles d'adultes atteints d'une maladie grave à *C. difficile*. On ne comprend pas pourquoi il y a cette différence de susceptibilité à la maladie entre les nourrissons et les adultes (Mulligan, 1988).

L'organisme persiste dans l'environnement à l'état de spore, ce qui le rend extrêmement difficile à éradiquer. Dans les chambres des patients atteints de *C. difficile*, l'organisme peut être isolé à partir du linge, des rideaux, des livres, des murs et des surfaces du sol. La plupart des études sur cet organisme se sont concentrées sur sa présence dans le tractus intestinal, où il provoque la maladie. Cependant, *C. difficile* a également été isolé dans les voies génito-urinaires (Hafiz et Oakley, 1975). On soupçonne que les nourrissons ont tendance à être colonisés par l'organisme par le biais de sources environnementales.

*Clostridium difficile* a été isolé chez une grande variété d'animaux. De nombreux animaux (chevaux, chameaux, vaches, ânes, lapins, animaux domestiques tels que les chiens, les chats et les oiseaux) sont porteurs d'un faible nombre de l'organisme mais ne deviennent pas malades. Ils développent des maladies intestinales similaires à celles observées chez l'homme. Les hamsters sont extrêmement sensibles à cet organisme et à ses toxines, et développent un début aigu de maladie intestinale se manifestant principalement par une cœliaque fatale. C'est pourquoi les hamsters sont le modèle animal de choix et se sont révélés précieux pour en apprendre davantage sur la pathogénèse et les aspects thérapeutiques de la maladie. Les souris traitées aux antibiotiques peuvent également développer la maladie, mais chez elles, la maladie se développe plutôt sous la forme d'une colite chronique. C'est pourquoi certains chercheurs pensent que le modèle murin reproduit plus fidèlement l'apparition de la maladie

chez l'homme. Les chevaux et les porcs traités avec des antibiotiques peuvent également développer une maladie intestinale à *C. difficile* (Stanley *et al.*, 2006).

### 1.3. Mode de transmission

*C. difficile* est retrouvé chez les nouveau-nés, les adultes porteurs sains et les patients présentant une diarrhée associée à *C. difficile*. La transmission du germe est directe ou indirecte, essentiellement manu portée. La dissémination de *C. difficile* peut se faire de malade à malade, par l'intermédiaire du personnel soignant (présence du germe sous les ongles, sous les bagues...) mais aussi par l'environnement.

Les formes végétatives de la bactérie meurent rapidement après exposition à l'air, mais les spores produites lorsque la bactérie rencontre des conditions défavorables à sa survie ont la capacité de subsister pendant plusieurs mois en milieu ambiant. Il s'agit là d'un mode préoccupant de dissémination du germe (Buyse *et al.*, 2005).

## 2. Manifestations cliniques de la colite à *Clostridium difficile*

Il existe 2 groupes distincts de manifestation digestive: la diarrhée post-antibiotiques (de sévérité relative) et la colite pseudomembraneuse.

### 2.1. La diarrhée post-antibiotique « simple » sans colite avérée

Le tableau clinique consiste en une diarrhée fécale (au moins 3 selles non formées par jour, sans glaires ni sang visibles). Une fièvre modérée est possible, mais il n'y a pas d'altération marquée de l'état général. Si une endoscopie colique était pratiquée (elle n'est pas nécessaire dans ce contexte clinique), elle mettrait en évidence une muqueuse d'aspect normal ou au plus un érythème, sans pseudomembrane ni ulcération (Seksik, 2019).

### 2.2. La colite pseudomembraneuse

La présentation clinique de la colite pseudomembraneuse est plus bruyante : elle débute par une diarrhée liquide abondante (> 7 selles/jour), faite de selles hétérogènes en général non sanglantes. Elle est souvent accompagnée de fièvre (> 65 %) et de douleurs abdominales (70 %). Une hyperleucocytose et un syndrome biologique inflammatoire (élévation nette du taux sérique de la protéine C réactive) sont habituels. La radiographie de

l'abdomen sans préparation peut montrer une aérocolie diffuse. À l'endoscopie, la muqueuse colique est recouverte de plaques surélevées jaunâtres (pseudomembranes) éparses ou confluentes selon le stade de la maladie (Figure3). Elles sont constituées de débris cellulaires, de mucus, de fibrine et de leucocytes. Dans plus de deux tiers des cas, les lésions intéressent notamment le rectum et peuvent donc être visualisées aussi bien par une simple rectoscopie au tube rigide que par une coloscopie courte.



Figure 3 : aspect endoscopique d'une colite pseudomembraneuse (Seksik, 2019).

### 3. Mécanismes conduisant à la colite à *Clostridium difficile* (CCD)

#### 3.1. Colonisation du tube digestif

*Clostridium difficile* se transmet par voie oro-fécale, soit directement par manutention soit à partir de l'environnement contaminé par l'homme ou certains hôtes animaux. Les spores de *Clostridium difficile* sont très résistantes et sont les véhicules des formes végétatives qui, elles, ne résistent ni à l'oxygène de l'environnement ni à l'acidité gastrique. Dans le tube digestif, la capacité des spores à croître et à coloniser l'intestin est fortement influencée par le microbiote et son activité métabolique. Par exemple, les changements induits par une prise d'antibiotique dans la structure du microbiote peuvent générer un environnement propice à cette colonisation. L'adhésion des spores est suivie d'une germination et d'une



colonisation des espèces végétatives. La germination des spores en formes végétatives est dépendante de facteurs d'hôtes, tels que les acides biliaires primaires

(acide taurocholate). La colonisation est dépendante elle aussi de facteur d'hôtes, tels que certains récepteurs de l'immunité innée : les Toll-like Receptors (TLR) TLR-4 et 5, MYD88 et NOD1 dont l'expression est induite par le peptidoglycane, la flagelline et d'autres molécules de surface de *Clostridium difficile* (Smits, 2016) Ces formes végétatives ayant ainsi colonisé le tube digestif vont ensuite exprimer leurs facteurs de virulence dont la production de toxines. La sporulation des formes végétatives aura lieu dans le côlon avant l'élimination dans l'environnement pour un nouveau cycle de colonisation (Figure 4) (Seksik,2019).

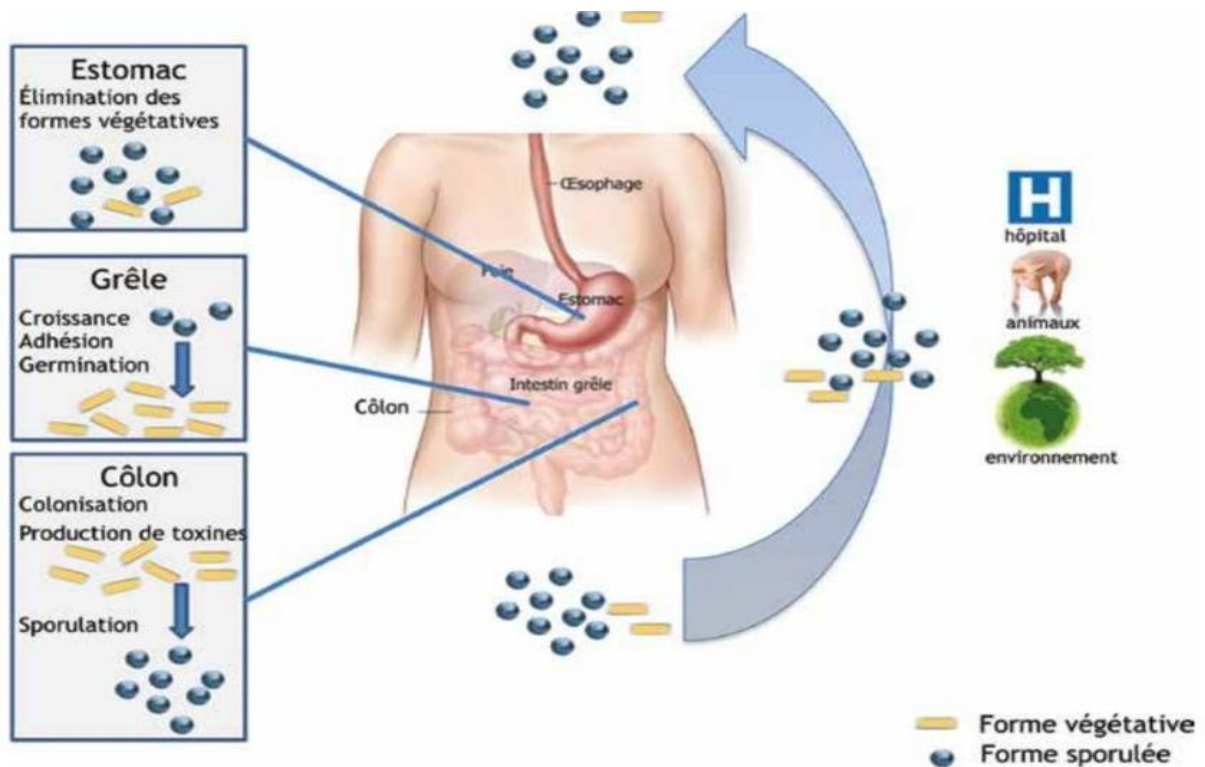


Figure 4: colonisation du tube digestif par *Clostridium difficile* (Seksik, 2019).

### 3.2. Pathogénicité

Seules les souches de *Clostridium difficile* toxino-gènes sont pathogènes. Il existe sur le génome des souches pathogènes un locus codant pour des toxines : *TcdA* pour la toxine A, *TcdB* pour la toxine B, et 3 gènes de régulations dont *TcdC*, gène répresseur de l'expression des toxines A et B [1]. Il existe un autre locus codant pour les gènes d'une toxine binaire. Une fois sécrétées, les toxines A et B se lient, puis pénètrent dans les cellules de l'épithélium colique et entraînent une cascade d'évènement conduisant à la synthèse de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires, au recrutement de neutrophiles, à la rupture des jonctions serrées, la sécrétion hydro-électrolytique et en fin à la mort cellulaire par apoptose et par nécrose. La nécrose est habituellement associée aux CCD sévères. La toxine B est donc capable à elle seule de rendre compte de la pathogénèse des CCD (Smits, 2016 [2]).

### 4. Epidémiologie

L'épidémiologie des ICD a considérablement changé depuis le début des années 2000. Une augmentation des formes sévères d'ICD et des épidémies de grande ampleur ont d'abord été observées en Amérique du Nord. Ces épidémies ont été associées à l'émergence d'un clone de PCR-ribotype 027 peu fréquent jusque-là. Il a rapidement disséminé dans plusieurs hôpitaux européens, notamment dans le Nord de la France où la première épidémie a été décrite en 2006. D'autres épidémies ont été rapportées en Bretagne et en région Provence-Alpes Côte d'Azur. Ce clone a disséminé sur l'ensemble du territoire français et demeure actuellement endémique dans les établissements de santé du Nord. En Europe, le PCR-ribotype 027 est toujours le principal PCR-ribotype retrouvé (18% des souches isolées chez les patients hospitalisés en Europe) (Eckert et Barbut, 2010).

Une étude Française conduite en 2009 (étude ICD-RAISIN) avait montré que l'incidence des ICD dans les établissements de santé (ES) Français était de 2,28 pour 10 000 journées d'hospitalisation (JH) en court séjour. En 2013, l'incidence retrouvée était de 3,6 pour 10 000 JH en France (étude EUCLID, European, multi-centre, prospective bi-annual point prevalence



study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea), incidence plus basse que la moyenne européenne (7,9 pour 10 000 JH). L'incidence des ICD augmente régulièrement depuis 10 ans (données nationales du programme de médicalisation des systèmes d'information (PMSI)). Cette évolution est probablement liée à une vraie augmentation des ICD mais aussi à l'amélioration des méthodes de diagnostic et à une plus grande vigilance des cliniciens qui vont prescrire plus systématiquement la recherche de *C. difficile* en cas de diarrhées nosocomiales (Rica, 2012).

L'enquête nationale Française de prévalence des infections associées aux soins (IAS) réalisée en 2012 montre que *C. difficile* est au 9ème rang des IAS. En Europe, selon l'europrévalence de prévalence des infections associées aux soins (IAS) (2012), les infections gastro-intestinales nosocomiales représentaient 7,7% des IAS et 48% de ces infections sont dues à *C. difficile*. Cette dernière est responsable de 15 à 25% cas de diarrhées post-antibiotiques (ATB) et de plus de 95% cas de colites pseudomembraneuses. Depuis 2003 et après l'apparition du clone 027, la CDI est devenue plus fréquente et plus grave. Compte tenu de cet impact, il a été décidé d'étudier cette affection de manière détaillée et prospective au sein du Groupe Hospitalier Edouard Herriot. Elle est associée à la même exposition à l'ATB que l'ICD nosocomiale. Par la suite, sur la base d'une étude rétrospective, le sexe, la protéine c-réactive (CRP) et l'exposition aux fluoroquinolones ont été identifiés comme étant associés à une ICD sévère chez les patients traités en unité de soins intensifs (USI) (Eckert et Barbut, 2010).

## 5. Facteurs de risque

Les facteurs de risque d'une infection à *C. difficile* sont nombreux. De façon générale, ce sont des facteurs en relation avec la prise de médicaments et plus particulièrement d'antibiotiques, et/ou des facteurs liés à l'hôte et à son environnement.

### 5.1. Facteurs liés aux antibiotiques et autres médicaments

Les infections à *C. difficile* sont des infections nosocomiales qui surviennent, en général, après un traitement antibiotique. Le microbiote digestif de barrière serait rompu sous l'action des antimicrobiens, ce qui favoriserait l'implantation et la prolifération de la bactérie. En cas de colonisation par une souche toxigène, la production de toxines est à l'origine des lésions associées. Les traitements antibiotiques constituent un risque majeur d'ICD. Dans les

années 70, la clindamycine représentait le plus haut facteur de risque pour les infections à *C. difficile* ; mais la diminution de la fréquence de son utilisation par la suite a permis de minimiser les risques d'infections qui lui étaient associés. Puis à la fin des années 80 et au début des années 90, les bêta-lactamines et les céphalosporines surtout celles de la 3ème génération sont devenues les antibiotiques les plus à risque. Plus récemment, ce sont les fluoroquinolones à large spectre qui ont été associées aux risques d'infection à *C. difficile*. De manière générale les antibiotiques peuvent induire des infections à *C. difficile*. Même la vancomycine et le métronidazole qui sont les deux antibiotiques de choix pour le traitement des ICD. La durée du traitement antibiotique, ainsi que l'association de différents antibiotiques, semblent toutefois jouer un rôle important (Barbut, 2004).

Le risque d'infection à *C. difficile* est également accentué par un traitement aux anti-acides, plus particulièrement les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP). Ce risque est évalué à 2,5 fois plus chez des patients traités par des IPP (Yearsley *et al.*, 2006; Aseeri *et al.*, 2008 ) que chez des patients non traités. Un tel risque est encore plus important quand le traitement par IPP est associé à une antibiothérapie ou à une chimiothérapie avec 43,2 fois plus de risque (Cunningham *et al.*, 2003). De la même façon Dial *et coll.* (2005) ont également démontré une augmentation du risque d'infection à *C. difficile* suite à la prise d'IPP (2,9 fois plus d'infections) et suite à la prise d'antihistaminiques H2 (2,1 fois plus d'infections). Ils rapportent, de plus, un taux non négligeable d'infections liées à la prise de médicaments anti-inflammatoires non-stéroïdiens. Une autre étude a permis de décrire un cas de colite à *C. difficile* associée à un traitement par un antiherpétique, le valacyclovir (Andres *et coll.*, 2009).

## 5.2. Facteurs liés à l'hôte

Les personnes âgées, surtout de plus de 65 ans, sont considérées comme une population à risque d'infections à *C. difficile*. Cette prédisposition pourrait être due à la diminution de la réponse immunitaire, à des pathologies sous-jacentes plus sévères, des traitements antibiotiques fréquents, des hospitalisations fréquentes ou encore à la modification de l'écosystème digestif. La mortalité liée à l'infection par *C. difficile* est dépendante de l'âge. En effet, des patients de 61-70 ans, 71-80 ans et des patients de plus de 80 ans présentent respectivement 4,3 %, 9.4 % et 13.5 % de risque de mortalité, contre 2,5 % de risque pour des patients de moins de 60 ans (Karas,Enoth et Aliyu, 2010). Ces taux peuvent être plus ou

moins biaisés par le risque de mort naturelle vu l'âge avancé de ces personnes, mais ils reflètent néanmoins une importante augmentation du risque lié à l'infection à *C. difficile*.

D'autres facteurs de risque d'ICD liés à l'hôte ont été également décrits comme la gravité de la pathologie sous-jacente (Bartlett, 1994 ; Hookman et Barkin,2009). Les antécédents de chirurgie digestive ou de maladies inflammatoires intestinales (Hookman et Barkin, 2009; Issa *et al.*, 2007), les transplantations (Resnik et Lefevre,1999 ; Kawecki *et al.*, 2007 ; Kurd, 2008) et la chimiothérapie (Emoto *et al.*, 1996).

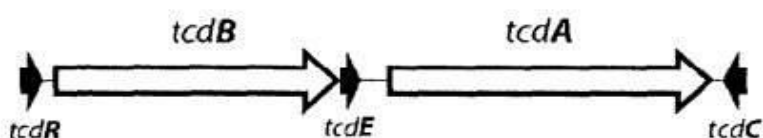
### 5.3. Facteurs liés à l'environnement

L'acquisition de *C. difficile* est favorisée par la promiscuité avec des patients porteurs ou par contact avec le personnel soignant ou l'environnement hospitalier. Des hospitalisations prolongées ou répétées, l'admission dans certains services hospitaliers ou les soins intensifs sont autant de facteurs qui peuvent augmenter le risque d'infection (Chang *et al.*, 2008). Cela est probablement dû à la dissémination et la persistance des spores de *C difficile*, en plus de la fragilité des personnes hospitalisées et le recours fréquent aux antibiotiques.

## 6. Facteurs de virulence de *C. difficile*

### 6.1. Production des toxines A et B

Le pouvoir pathogène de *C. difficile* provient essentiellement de deux facteurs de virulence principaux : toxines A (TcdA) et B (TcdB) (Genth *et al.*, 2008). Ces deux toxines sont produites par tous les isolats virulents, mais certaines souches peuvent produire l'une ou l'autre des deux toxines (Voth et Ballard, 2005). Récemment, il a été démontré que la toxine B joue un rôle essentiel dans la virulence de *C. difficile*, du moins dans un modèle murin (Lyras *et al.*, 2009). Les gènes des deux toxines (*tcdA* et *tcdB*) se trouvent à une place bien précise du chromosome bactérien appelé locus de pathogénicité (PaLoc). Sur ce dernier, on retrouve également un gène codant pour un régulateur positif (*TcdR*) et négatif (*TcdC*) qui contrôlent l'expression des toxines dans le temps. Finalement, un gène codant pour une protéine TcdE est situé entre *tcdA* et *tcdB*. Les toxines de *C. difficile* ne possédant pas de peptide-signal permettant leur sécrétion, il est à supposer que TcdE y joue un rôle au niveau de la perméabilité membranaire, ou du moins facilite la sécrétion (Tan *et al.*, 2001).

Figure 5: Représentation schématique du locus de pathogénécité de *C.difficile*

(19kb) (Ognjen, 2010)

Le régulateur positif TcdR est un facteur alternatif qui régule positivement l'expression des gènes de toxines ainsi que l'expression de son propre gène (Dupuy *et al.*, 2008). L'expression des toxines TcdA et TcdB ainsi que le régulateur positif TcdR se fait lorsque la bactérie atteint la phase stationnaire. À l'opposé, le régulateur négatif TcdC est exprimé durant la phase exponentielle. Le produit de ce gène interfère avec le complexe TcdR-ARN polymérase afin d'empêcher la reconnaissance des promoteurs associés aux gènes de toxines (Dupuy *et al.*, 2008). Le gène *tcdE* encode une protéine qui présente une forte homologie avec les halines, protéines de phages impliquées dans la lyse bactérienne suite à un cycle lytique. Les analyses bio-informatiques ont montré que la protéine TcdE partage une similarité en séquence d'acides aminés avec plusieurs halines de phages provenant de différentes espèces bactériennes (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus thermophilus*, *S. pneumoniae*, etc). Également, une structure similaire est observée lorsqu'on compare une haline avec la protéine TcdE en fonction des régions hydrophiles et hydrophobes. Finalement, la surproduction de TcdE à partir d'un vecteur d'expression chez *Escherichia coli*, a comme conséquence de diminuer la turbidité de la culture, confirmant ainsi son rôle dans la lyse bactérienne (Tan *et al.*, 2001).

## 6.2. Mécanisme d'action des toxines A et B

De par leur activité spécifique, les toxines A et B ont été classées dans la famille des Clostridial Glucosylating Toxins (Aktories et Just, 2005). La synthèse des toxines est dépendante de la phase de croissance bactérienne ainsi que divers signaux externes, incluant la température, la présence de glucose ou certains acides aminés, l'acide butyrique et certains antibiotiques (Voth et Ballard, 2005 ; Emerson *et al.*, 2008 ; Gerber *et al.*, 2008). Tel que

discuté plus haut, les toxines sont probablement sécrétées avec l'aide de la protéine TcdE, encodée sur le PaLoc bactérien. La liaison des toxines à un récepteur cellulaire spécifique sur les cellules épithéliales intestinales de l'hôte (différent pour chaque toxine) provoque l'endocytose de ces dernières. Dans la cellule, l'endosome est acidifié ce qui provoque un changement de conformation de la toxine menant à l'autoclivage et au relâchement du domaine actif. Ce dernier, libéré dans le cytoplasme, va effectuer une monoglucosylation des GTPases de la famille des protéines Rho, qui sont impliquées dans la régulation de la synthèse du cytosquelette d'actine. Le résultat, qu'on appelle effet cytopathique, se présente sous forme de la perte d'intégrité et l'arrondissement cellulaire causé par l'apoptose des cellules (Genth *et al.*, 2008). Il a été démontré que la toxine A induit la mort cellulaire par la voie intrinsèque (voie mitochondriale d'apoptose), qui est indépendante des récepteurs de mort cellulaire (death receptor-independent) et de la cascade des caspases (Matte *et al.*, 2009). Également, l'implication des toxines A et B dans l'induction de la réponse inflammatoire a été étudiée. Ainsi, une stimulation TcdA-TcdB - dépendante des mastocytes a été observée suivi d'un relâchement des cytokines proinflammatoires, notamment l'interleukine-8 (IL 8) (Wershil *et al.*, 1998 ; Meryer *et al.*, 2007). D'autres médiateurs d'inflammation, induits par la présence de TcdB, ont été décrits, dont TNF- $\alpha$  et  $\gamma$ -interféron. La contribution de ces derniers dans l'apparition des symptômes résultants d'une infection à *C. difficile* a été mise en évidence (Rocha *et al.*, 1997 ; Ishida *et al.*, 2004).

### 6.3. Facteurs de virulence secondaires pour *C. difficile*

Mis à part les toxines A et B qui constituent les principaux facteurs de virulence, plusieurs autres gènes semblent être impliqués à diverses étapes de la pathogenèse. L'étape préliminaire d'une infection implique une adhésion efficace des bactéries aux cellules épithéliales. Chez *C. difficile*, cette étape se fait via les protéines de surface cellulaire (SLPs, surface layer proteins) (CaIabi *et al.*, 2001 ; Karjalainen *et al.*, 2001). Un précurseur commun est exprimé par le gène *slpA* avant de subir des modifications post-traductionnelles et ainsi donner naissance à deux SLPs matures, une de masse moléculaire élevée et l'autre de faible masse (CaIabi *et al.*, 2001). D'autres études ont mis en évidence le rôle spécifique des SLPs de masse moléculaire élevée dans l'adhésion bactérienne aux cellules épithéliales humaines (CaIabi *et al.*, 2002). Également, il a été démontré que les flagelles de *C. difficile*, en plus de jouer un rôle dans la motilité, sont impliqués dans l'adhésion (Tasteyre *et al.*, 2001). De plus,

l'implication de certaines protéines de surface (e.g. Cwp66) dans l'adhésion a été mise en évidence (Waligora *et al.*, 2001). Ainsi, les SPLs, les flagelles et certaines protéines de surface cellulaires constituent des facteurs importants dans la virulence de *C. difficile*.

Un autre déterminant probablement important dans la pathogenèse bactérienne est la résistance à la phagocytose. Cette résistance provient généralement de la présence d'une capsule de polysaccharides qui entoure les bactéries. La capsule ne joue pas un rôle vital pour la bactérie et en l'absence de celle-ci, la division bactérienne n'est pas affectée. Par contre, la capsule constitue un facteur important dans le pouvoir pathogène, car elle protège la bactérie du système immunitaire de l'hôte et empêche la phagocytose ainsi que l'activation de la voie alterne du système du complément. *C. difficile* possède une capsule qui peut varier en épaisseur, mais qui ne semble pas influencer la virulence *in vitro* (Borriello *et al.*, 1990 ; Davies *et al.*, 1990 ; Bolliero, 1990). L'implication biologique de la présence d'une capsule autour de *C. difficile* n'est pas encore connue, mais on peut supposer qu'elle va jouer un rôle important dans la virulence comme c'est le cas chez d'autres bactéries pathogènes telles que *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Plusieurs enzymes hydrolytiques et protéolytiques sont exprimés à divers stades de la pathogenèse et sont soupçonnés de contribuer à la virulence de *Clostridium difficile* (Ahmed *et al.*, 1993 ; Hammerschmidt *et al.*, 1996 ; Varvio *et al.*, 2009). De telle manière, des enzymes ayant une activité de sulphatase, hyaluronidase, collagénase, héparinase et autres ont été identifiés chez *C. difficile*. D'une part, ces différentes enzymes peuvent être impliquées dans la destruction du tissu de l'hôte lors de l'invasion bactérienne, ce qui peut faciliter la colonisation et l'établissement d'une infection. D'autre part, en dégradant certaines structures de l'épithélium de l'hôte, ces enzymes hydrolytiques peuvent relâcher des sucres et autres éléments nutritifs que *C. difficile* est capable d'assimiler (Seddon *et al.*, 1990). Plus spécifiquement, une protéine de surface, la protéase Cwp84, a été caractérisée dernièrement chez *C. difficile* (Janoir *et al.*, 2007). Il s'agit d'une protéine associée à la surface cellulaire, impliquée dans la dégradation des principaux constituants de la matrice extracellulaire (fibronectine, vitronectine et laminine) chez l'hôte. Cette activité de dégradation peut provoquer des lésions sévères au niveau de l'épithélium entérique et entraîner des inflammations et autres complications, tels que les pseudomembranes.

Le dernier déterminant impliqué dans la pathogenèse de *C. difficile* et pour lequel le rôle n'a pas été étudié de manière exhaustive, est la toxine binaire CDT. À l'opposé des toxines A et B qui sont impliquées dans la glucosylation des GTPases de la famille Rho, la toxine binaire exhibe une activité d'actine-ADP-ribosyltransférase (Goncalves *et al.*, 2004). Cette activité enzymatique a comme conséquence d'inhiber la polymérisation des monomères d'actine. La prévalence de cette toxine binaire est estimée à environ 6% parmi les souches de *C. difficile* (Goncalves *et al.*, 2004 ; Geric *et al.*, 2006). Plusieurs autres souches pathogènes possèdent également une actine-ADP-ribosyltransférase, comme c'est le cas chez *C. botulinum* (toxine C2), *C. perfringens* (toxine iota), *C. spiroforme* (toxine CST) et *B. cereus* (vegetative insecticidal proteins, VIP) (Barth, 2004). Il a été démontré que la toxine binaire CDT de *Clostridium difficile* induit la formation de projections membranaires sur les cellules épithéliales grâce à une activité de dépolymérisation de microfilaments cellulaires. Ceci a comme conséquence la formation d'un treillis dense à la surface cellulaire qui piège les bactéries d'une manière non spécifique et augmente l'adhérence bactérienne à l'épithélium entérique (Schwan *et al.*, 2009). Malgré tous les facteurs de virulence mentionnés plus haut, *C. difficile* n'était pas un pathogène particulièrement problématique avant 2001, l'année de l'émergence d'une souche hypervirulente.

#### 6.4. Autres facteurs de virulence de *C. difficile*

*C. difficile*, comme toute autre bactérie de l'embranchement des Firmicutes, peut se présenter sous forme de cellules végétatives et d'endospores. Le morphotype des spores de *C. difficile* n'est pas aussi bien connu que celui des autres bactéries sporulantes à l'exemple de *Bacillus spp.* Les cellules végétatives passent à un stade dormant lorsque des conditions défavorables, telles que le manque de sources de nutriments, notamment de carbone et d'azote, l'exposition à l'oxygène, des conditions très acides et des températures élevées, entravent leur processus de reproduction mais aussi leur survie, et elles ne présentent aucune activité métabolique dans cet état. Leurs endospores sont très résistantes aux conditions difficiles telles que la dessiccation, les températures élevées jusqu'à la matière de la bactérie (ADN), une épaisse couche de kératine, du peptidoglycane, une membrane cellulaire, très peu d'eau et des nutriments provenant du cytoplasme. La structure de la surface des spores comprend leur exosporium, mais les protéines de surface qui leur sont associées ne sont pas



encore complètement connues et constituent des sujets de recherche potentiels pour de futures études. (Setlow. et Setlow., 1980 ; Nicholson *et al.*, 2000; Setlow, 2006).

La survie de *C. difficile* dans l'environnement est due à la persistance de ses spores sur les surfaces en présence d'oxygène. Les spores de *C. difficile* peuvent survivre dans l'environnement pendant des années ; lorsque les conditions de croissance souhaitées sont réunies, elles sont capables de germer et de retourner à leur état actif (Bruns *et al.*, 2010). Les spores peuvent germer lorsque leurs récepteurs se lient à un germinant spécifique, puis des cations monovalents (H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) et une grande quantité d'acide dipicolinique de calcium sont libérés, suivis par l'hydrolyse du cortex peptidoglycannique des spores. Au cours de cette dernière étape, la teneur en eau de la spore augmente pour atteindre le même niveau que les cellules végétatives. Le noyau se dilate et l'activation de la production d'enzymes et du métabolisme se produit (Setlow, 2003).

La compréhension de la germination et du mécanisme de cette transformation aide les chercheurs qui travaillent sur des produits thérapeutiques destinés à inhiber l'ICD chez l'homme ou l'animal. Les spores résistantes de *C. difficile* sont présentes sur les surfaces de différents environnements et, à ce jour, on ne sait pas quelle situation exacte provoque la germination des spores. Des études menées par Wilson (1983) ont montré que la présence d'acides biliaires comme le taurocholate sont des facteurs clés pour ressusciter les spores dormantes. Ensuite, en 2008, Sorg et Sonenshein ont déterminé que les acides biliaires et la glycine sont des facteurs de cogermination. Ils ont montré que l'acide biliaire secondaire, le désoxycholate, empêche la germination. Ils ont émis l'hypothèse que l'une des raisons pour lesquelles un hôte sain n'est pas infecté est que la concentration de désoxycholate dans l'organisme est trop élevée est que la concentration de désoxycholate est élevée dans son tractus intestinal.

Parmi la flore bactérienne normale de l'intestin, certaines espèces, dont *Clostridium scindens*, transforment les acides biliaires primaires en acides biliaires secondaires et protègent contre les infections (Rupnik, 2015). Au contraire, dans un microbiote perturbé, les sels biliaires secondaires ne sont pas produits pour entrer en compétition avec les sels biliaires et, par conséquent, la germination n'est pas inhibée. Sorg et Sonenshein (2008) ont également constaté que, outre l'absorption élevée de sels biliaires primaires par le côlon, il existe une



concentration plus élevée de dérivés de cholate dans le gros intestin malgré l'état anaérobie du côlon, ce qui rend les conditions propices à la croissance des cellules végétatives de *C. difficile* et à la colonisation du gros intestin.

Tableau 1 : résumé des facteurs de virulence de *Clostridium difficile* (Salas, 2020).

Facteur	Mécanisme\Fonction	Risque \Association
<i>tcdC</i> et toxine binaire	Production de niveaux élevés de toxines A et B dans des souches hypervirulentes	Pathogénicité accrue <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>
Locus <i>agrI</i> (régulateur de gène accessoire)	Régulation positive de la production de toxine A et de toxine B, indépendante du <i>tcdC</i>	Régulation de la virulence, associée à une colonisation accrue
Biofilm	Niche de survie de <i>C. difficile</i> avec des communautés multispécifiques Accumulation de toxines et de biomasse dans des souches variantes régulées par la détection du quorum Accumulation de spores	Longue persistance \ protection de <i>C. difficile</i> Sensibilité réduite aux antibiotiques
SlpA (protéine A de la couche S)	Présence et sous-unités de faible poids moléculaire avec variabilité de séquence dans les souches Hypervirulentes	Adhésion accrue à la muqueuse intestinale
Cwp84 (protéine de la paroi cellulaire <sup>84</sup> )	Clivage d'adhésines, telles que S1Pa pour l'assemblage de la couche paracrystalline Dégénération de plusieurs protéines de la matrice extracellulaire (fibronectine, laminine, vitronectine) Production d'un biofilm plus épais dans des souches à haute activité protéolytique associée à Cwp84	Libération et dissémination de <i>C. difficile</i> chez l'hôte Augmente l'adhérence et la colonisation Amélioration de la virulence et de l'adhésion hôte-pathogène ; maintenance de CDI
Spores	Développement de morphotypes structuraux des couches d'exospore les plus externes (fines ou épaisses) L'expression du régulateur sporulant <i>spo0A</i> est associée à une production élevée de spores et à la formation de biofilms	Associé aux interactions hôte - spore, différences d'affinité avec les cellules épithéliales Transmission de l'ICD et maintien de <i>C. difficile</i> chez l'hôte , malgré le traitement antibiotique

## **Chapitre 02**

### **Le biofilm de *Clostridium difficile***

## 1. Introduction

Les bactéries peuvent adopter deux modes de vie radicalement différents :

- soient elles sont à l'état planctonique : elles sont isolées et flottent dans le milieu ;
- soit elles sont à l'état sessile. Les bactéries sont alors attachées à une surface et vivent en communauté au sein d'un biofilm.

Elles passent d'un mode de vie à un autre au cours de la maturation. Les cellules planctoniques deviennent sessiles suite à un stress (par exemple, lorsque les nutriments commencent à être limités dans le milieu). Elles adhèrent alors à une surface et changent leur phénotype. L'expression de nombreux gènes change, ce qui conduit à des modifications métaboliques (Branger, 2007).

La physiologie bactérienne à l'intérieur du biofilm est alors profondément différente de celle rencontrée chez les bactéries planctoniques. L'état planctonique pourrait se réduire au passage de la bactérie d'une surface à l'autre (99 % des bactéries seraient à l'état sessile dans les milieux naturels). Certaines souches des bactéries de laboratoire ont perdu leur capacité à former des biofilms, soit par les cultures et sélections successives de bactéries planctoniques, soit par la perte de leurs plasmides naturels connus pour favoriser la formation de biofilm. Cette constatation explique probablement leur mise en évidence tardive (Branger, 2007).

## 2. Historique

Le terme de biofilm a été utilisé pour la première fois en 1943 par Zobell. C. E. L'existence des biofilms était connue, notamment dans les écosystèmes naturels, puis par ses applications, comme par exemple dans l'épuration des effluents ; mais les outils d'investigation disponibles ne permettaient pas de les observer *in situ*. Or cette étape est indispensable pour comprendre leur formation et leur fonctionnement.

L'utilisation de la microscopie confocale à balayage laser, dans les années 1990, a permis l'observation *in situ* des biofilms dans toute leur épaisseur sans modifier leur état. Characklis et Marshall (1984) ont pu ainsi donner la première définition du biofilm et infirmer plusieurs hypothèses communément admises jusque-là, comme par exemple la présence de cellules mortes en profondeur alors qu'elles sont juste dans un état physiologique spécifique et la structure désorganisée du biofilm, avec un empilement anarchique de cellules au fur et à

---

mesure de leur multiplication, alors même que le biofilm est très organisé et possède un véritable langage chimique (Branger, 2007).

### 3. Définition du biofilm

Un biofilm est un ensemble de microorganismes, soit de la même espèce, soit d'espèces différentes, qui vivent en symbiose et forment une communauté. Il constitue un ensemble de cellules isolées et de micro colonies de cellules filles, associées entre elles et/ou aux surfaces. Cet ensemble est contenu dans une matrice constituée d'exopolysaccharides bactériens, de matières organiques et non organiques, ainsi que clés macromolécules piégées du milieu environnant (Branger, 2007).

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules bactériennes attachées à une surface et intégrées dans une matrice polymérique (Costerton *et al.*, 1999 ; Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Les bactéries peuvent adhérer à une surface biotique (par exemple, les cellules des muqueuses) ou à une surface abiotique (par exemple, le sol ou l'équipement de la ferme, de l'abattoir ou de l'usine de transformation). Le biofilm n'est pas toujours un film continu (tapis), on observe parfois un développement en « patch » (Figure 6).

Les biofilms ne sont pas simplement des microorganismes immobilisés sur les surfaces. Cette organisation permet à des organismes unicellulaires d'adopter un comportement comparable à celui d'un tissu eucaryote avec communication entre cellules via des signaux Chimiques, échanges de matériel génétique, interactions métaboliques.

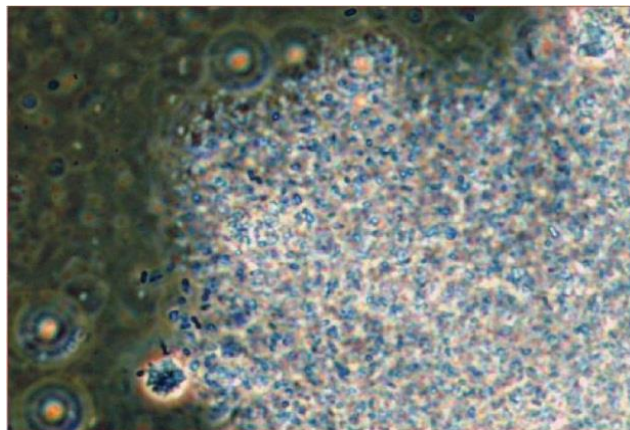


Figure 6: détails d'un biofilm (x 1 250) (Branger, 2007).

---

#### 4. Localisation

Les biofilms sont présents dans les milieux aqueux ou exposés à l'humidité. Ils peuvent se développer sur tous les supports exposés, même occasionnellement, à de l'eau et des éléments nutritifs. En effet, les micro-organismes sont capables d'utiliser de multiples substrats. Ils se développent sur n'importe quel type de surface naturelle ou artificielle qu'elle soit minérale (roche, interfaces air-liquide...) ou organique (peau tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielle (canalisations, surfaces alimentaires, coques des navires) ou médicale (prothèses, cathéters, valves cardiaques). Il est même possible à un biofilm d'adhérer sur des matériaux « anti-adhésifs » comme le polytétrafluoroéthylène (ou Téflon). Sur les milieux de culture solides, les colonies peuvent aussi être considérées comme des biofilms. Les bactéries s'organisent à l'intérieur en fonction de la concentration en substances nutritives et en déchets du métabolisme. Ceux-ci se répartissent en fonction de gradients inversés. L'intérieur de la colonie contient de nombreuses bactéries en dormance et seul l'extérieur est encore actif. La figure montre la distribution possible des bactéries en fonction de leur état physiologique (Branger, 2007).

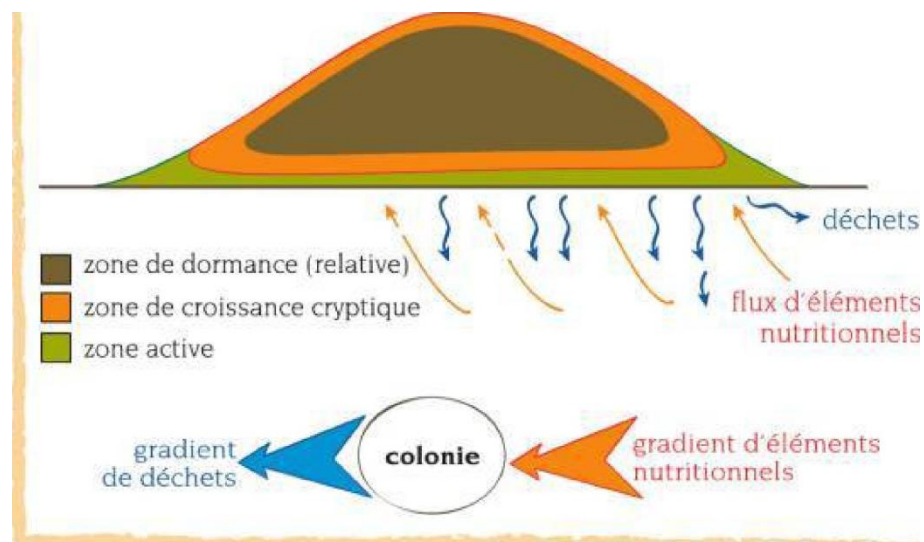


Figure 7 : colonie en coupe (Branger, 2007).

## 5. Biofilm et l'homme

Le tractus gastro-intestinal abrite  $10^{+14}$  bactéries, qui seraient associées et structurées en biofilm (Macfarlane G.T et Macfarlane S, 2000 ; Macfarlane *et Coll.*, 2011). Toutefois, peu de publications rapportent la présence d'un biofilm dans le tractus gastro-intestinal. Ces microbiotes ou biofilms sont bénéfiques pour l'individu. Ils sont constitués majoritairement par des micro-organismes non pathogènes. Toutefois, des pathogènes tels que *C. difficile*, *C. perfringens*, *Listeria monocytogenes* peuvent être présents dans le microbiote intestinal résident, en quantité minoritaire sans conséquence pour la santé du porteur. En revanche, une altération du microbiote intestinal permettrait la prolifération de ces micro-organismes pathogènes et la survenue d'infections pouvant être mortelles (Monk *et al.*, 2004 ; Kleessen et Blaut, 2005 ; Ludwig *et al.*, 2009 ).

## 6. Caractéristiques des biofilms

La capacité à former un biofilm est reconnue comme une caractéristique de nombreux micro-organismes. On estime que 80 % de la biomasse microbienne de notre planète réside sous forme de biofilm. Les biofilms bactériens isolés dans divers environnements présentent des caractéristiques communes (Costerton *et al.*, 1999 ; Hall-Stoodley *et al.*, 2004). Les cellules bactériennes sont maintenues ensemble par une matrice polymérique composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques (Yannick, 2014).

Le développement du biofilm se fait en réponse à des signaux extracellulaires, présents dans l'environnement ou produits par les cellules bactériennes ; le biofilm protège les bactéries du système immunitaire de l'hôte, de la dessiccation et des biocides (antibiotiques et désinfectants). Cette dernière caractéristique est particulièrement importante. La présence de biofilms peut entraver le traitement adéquat de l'animal ou une désinfection efficace des surfaces (Costerton *et al.*, 1999 ; Van Houdt et Michiels, 2010).

## 7. Etapes de la formation d'un biofilm

La formation d'un biofilm comporte plusieurs étapes. Le biofilm peut se former très rapidement, en quelques heures ; la plaque dentaire en est un bon exemple. Les bactéries doivent d'abord adhérer à une surface biotique ou abiotique. A cette étape, les bactéries nécessitent généralement la présence de molécules ou de structures particulières à la surface

---

(par exemple, fimbriae, flagelle). Ensuite, les cellules bactériennes se regroupent, se multiplient et forment des microcolonies (Coster ton *et al.*, 1999 ; Hall-Stoodley *et al.*, 2004).

Au cours de la phase de maturation du biofilm, les bactéries synthétisent un exopolysaccharide et d'autres constituants de la matrice polymérique. Le biofilm mature représente une structure complexe et les bactéries de différentes régions du biofilm peuvent exprimer des gènes différents. L'étape finale de la formation du biofilm est le détachement et la dispersion des cellules bactériennes (Kaplan, 2010). Ces cellules ont la capacité d'adhérer à de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm. Le détachement des cellules peut être déclenché par différents facteurs : perturbations mécaniques (par exemple, force de cisaillement, abrasion), dégradation enzymatique de la matrice polymérique (par exemple, dispersine B), dégradation enzymatique du substrat sur lequel le biofilm est fixé (par exemple, hyaluronidase), induction de la motilité, production de surfactants (par exemple, rhamnolipides) et libération d'exopolysaccharides.

Il est bien connu que les bactéries réagissent à de multiples signaux environnementaux (par exemple, la concentration en nutriments) ainsi qu'à la densité des cellules bactériennes, un phénomène mieux connu sous le nom de *quorum sensing*, et que cela influencera les différentes étapes de la formation du biofilm (Karatan *et al.*, 2009).

Le détachement et la dispersion des cellules bactériennes d'un biofilm jouent un rôle important dans la transmission des bactéries des réservoirs environnementaux à un hôte (animal ou humain), dans la transmission entre les hôtes et dans la propagation de l'infection au sein d'un hôte (Yannick, 2014).

---



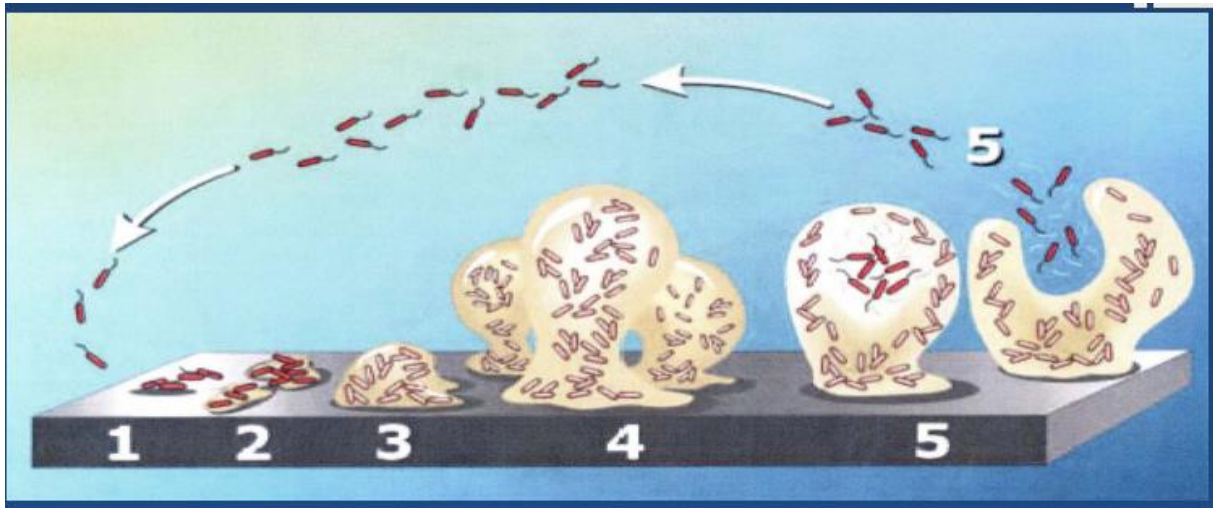


Figure 8 : étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien

(Dapa et Unnikrishnan, 2013).

## 8. Composition de la matrice du biofilm

La matrice du biofilm est fortement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. Elle peut être constituée de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, de surfactants, de lipides, de glycolipides et de cations (Kara tan *et al.*, 2009 ; Flemming et Wingender, 2010). La composition de la matrice varie en fonction de l'espèce bactérienne et des conditions de croissance. L'un des exopolysaccharides les plus courants est un polymère de B-1,6-N-acétyl-D-glucosamine (polyglucosamine, PGA ou NAG). Ce polymère est présent dans plusieurs espèces bactériennes, notamment *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia pestis*, *Bordetella spp.* et *Actinobacillus spp.* La cellulose, un polymère de glucose linéaire, est également fréquemment présente dans plusieurs espèces et genres bactériens, notamment *E. coli*, *Salmonella*, *Enterobacter* et *Pseudomonas*. Il existe plusieurs autres polysaccharides, notamment le glucane chez *Streptococcus mutans* et l'alginate chez *Pseudomonas* (Yannick, 2014).

## 9. Quorum-sensing

Des molécules signal, appelées auto-inducteurs, sont sécrétées par les bactéries et leur permettent de communiquer au sein du biofilm. Les bactéries peuvent ainsi évaluer la densité cellulaire locale. L'évaluation est le *sensing*, la densité cellulaire correspond au *quorum*. Le *quorum-sensing* (QS) est une régulation population dépendante. La perception d'une

concentration seuil des molécules signal permet l'initiation d'une réponse concertée de la population bactérienne qui va en réponse exprimer des gènes impliqués dans divers mécanismes cellulaires comme la sporulation, la virulence, le biofilm (Pantaleon, 2015).

#### 10. Biofilm de *Clostridium difficile*

L'infection à *Clostridium difficile* (ICD) est une importante maladie associée aux soins de santé dans le monde, survenant principalement après un traitement antimicrobien. Les antibiotiques administrés pour traiter un certain nombre d'infections peuvent favoriser la colonisation par *C. difficile* du tractus gastro-intestinal et, par conséquent, l'ICD. Une augmentation des isolats cliniques multi-résistants à plusieurs antibiotiques et leur sensibilité réduite aux molécules antibiotiques les plus couramment utilisées ont rendu le traitement de l'ICD plus compliqué, permettant la persistance de *C. difficile* dans l'environnement intestinal. Il a été suggéré que la colonisation intestinale et la formation de biofilms contribuent à la pathogénèse et à la persistance de *C. difficile*. En fait, la croissance du biofilm est considérée comme une menace sérieuse en raison de l'augmentation connexe de la résistance bactérienne qui rend l'antibiothérapie souvent inefficace (Vuotto *et al.*, 2018).

#### 11. Clostridies et les biofilms naturels

Dans les biofilms isolés dans différents environnements, tels que les sédiments marins, le sol, l'eau, les excréments, les clostridies sont identifiées par différentes techniques dont le pyroséquençage. La détection des clostridies dans ces biofilms multi-espèces suggère que les membres de cette classe bactérienne, au mode de vie anaérobie, se multiplient et se développent au sein de biofilms. Des échantillons de sédiments marins issus de différents sites géographiques ont été utilisés, afin d'étudier le rôle des populations anaérobies et aérobies présentes sur les sédiments. Des Firmicutes, et notamment la classe des clostridies, ont ainsi été détectés. Lorsque les sédiments sont placés en conditions d'anoxie, la population des clostridies augmentait au cours du temps, au sein de la population microbienne formant le microphytobenthos (biofilm photosynthétique sur les sédiments marins). Dans l'environnement, les conditions aérobies et anaérobies varient au sein du biofilm ainsi qu'au cours du temps. En effet, les bactéries photosynthétiques produisent de l'oxygène utilisé par la population aérobie de la communauté. La population anaérobie, composée de clostridies, dégrade des matières organiques de haut poids et bas poids moléculaire. Les déchets

---

organiques, comme l'éthanol ou l'acétate, sont utilisés comme source de carbone par le reste de la communauté. Les clostridies participeraient à la disponibilité de nutriments et donc à la survie et au développement du microphytobenthos (Pantaleon, 2014).

## 12. Formation du biofilm *In vivo*

La formation de biofilms ou de microcolonies, par les espèces de *C. difficile* permet d'influencer leur capacité à persister dans l'intestin. La matrice du biofilm autoproduit est connue pour protéger les bactéries en leur fournissant un environnement propice. Les matrices du biofilm sont généralement constituées de substances polymériques extracellulaires (EPS), qui comprend principalement des protéines, de l'ADN et des polysaccharides. Dans une étude réalisée avec la souche hautement virulente R20291 de *C. difficile* marquée avec un anticorps contre les bactéries totales, une matrice de biofilm complexe a été observée avec seulement quelques bactéries individuelles colorées. Cela suggère que le biofilm compact peut de composants bactériens associés à la surface ou sécrétés ou sécrétés et peut être impénétrable aux anticorps.

Les traitements de la matrice à la protéinase K et la DNase I ont inhibé la formation de biofilms et ont provoqué le désassemblage des biofilms préformés. Cela a également montré que les protéines ainsi que l'ADN externe font partie de la matrice du biofilm. En outre, la coloration du biofilm avec un dérivé synthétique du polysaccharide PSII de surface de *C. difficile* a révélé la présence de composants polysaccharidiques dans la matrice du biofilm. Dans l'ensemble, les données montrent clairement que les biofilms de *C. difficile* sont constitués d'une matrice épaisse de biofilm à plusieurs composants. L'impénétrabilité du biofilm a été proposé comme une caractéristique des biofilms bactériens qui contribuent à échapper aux réponses immunitaires au cours de l'infection, ainsi qu'à la résistance aux antibiotiques *in vivo* (Dapa et Unnikrishnan, 2013).

## 13. Localisation des toxines dans la matrice du biofilm

L'accumulation de toxines dans le biofilm et leur éventuelle localisation dans des zones spécifiques du biofilm peuvent faciliter l'ICD. Les différentes localisations de l'accumulation de la toxine dans le biofilm peuvent indiquer la méthode d'administration de la toxine à l'hôte. L'acheminement potentiel de la toxine vers l'interface épithéliale biofilm-hôte pourrait permettre à la toxine de créer le plus de dommages épithéliaux. Par ailleurs, si la

---

toxine est située près des bords de la matrice du biofilm, des morceaux de la matrice peuvent se détacher pour délivrer la toxine à l'hôte. Enfin, la toxine peut être associée à des cellules, et celles-ci peuvent avoir besoin de migrer vers la surface de la muqueuse de l'hôte pour introduire la toxine et créer des lésions épithéliales (Laning, 2012). Variation des toxines du biofilm dans le temps

Il est raisonnable que la quantité de toxines augmente dans le biofilm avec l'augmentation des protéines. Par ailleurs, la quantité de toxines peut être corrélée à la population de cellules végétatives par rapport aux spores dans le biofilm. On peut s'attendre à des niveaux de toxine plus élevés dans les jeunes biofilms, qui sont principalement constitués de cellules végétatives. Les cellules végétatives produisent des toxines, alors que les spores n'en produisent pas (Laning, 2012).

#### 14. Cycle sporal dans le biofilm

La sporulation de *C. difficile* est plus importante dans le biofilm que dans une culture planctonique. Dawson *et Coll.* (2012) ont montré que la sporulation au sein du biofilm était impliquée dans les étapes tardives du biofilm. Dans le biofilm âgé de trois jours de la souche R20291, les spores constituent 12,5 % de la biomasse de *C. difficile* alors que dans le biofilm de six jours, *C. difficile* est à 80 % sous forme de spores. Ces résultats montrent bien que le biofilm permettrait de garder en dormance les spores de *C. difficile* et retarder leur germination. La formation d'un biofilm dans l'intestin pourrait donc être un mécanisme pour favoriser la formation de spores et permettre leur dissémination dans l'environnement. Cette augmentation de la sporulation dans le biofilm expliquerait le fort taux de récurrence de l'infection (Pantaleon, 2014).

#### 15. Rôle des différents facteurs intervenant dans la formation des biofilms de *C. difficile*

##### 15.1. Rôle de la réponse au stress

Les bactéries réagissent aux facteurs de stress, tels que des conditions défavorables et fluctuantes, en modifiant l'expression des gènes pour s'adapter à de nouveaux environnements (Erill *et al.*, 2007).

---

La formation de biofilms par les bactéries est reconnue comme une réponse au stress, car la production d'une matrice extracellulaire protège les cellules bactériennes des pressions externes telles que le stress oxygénique et les antibiotiques. Plusieurs facteurs au sein du biofilm peuvent contribuer à la récalcitrance aux antibiotiques, comme la polarité de la matrice qui inhibe la diffusion des médicaments et la réduction de l'activité métabolique au sein des cellules qui empêche l'absorption des antibiotiques dans les cellules. On sait que les concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques provoquent une réaction de stress chez de nombreux bacilles, notamment *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* et *Staphylococcus aureus*, où elles entraînent également une augmentation de l'expression des facteurs de virulence. Lors de certaines études réalisées avec des souches de *C. difficile* sensibles à des antibiotiques tels que le métronidazole, il a été remarqué qu'elles produisent beaucoup plus de biofilms en présence de concentrations sub-inhibitrices de cet antibiotique. Les processus de régulation et les mécanismes qui sous-tendent cette observation n'ont pas été confirmés dans ces études ; toutefois, il a été constaté que des concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques déclenchaient la réponse au stress chez d'autres bactéries. Par conséquent, le traitement de l'ICD avec des concentrations plus faibles d'antibiotiques inefficaces pourrait aggraver l'état de la maladie ou conduire à une récurrence (Taggart *et al.*, 2021).

Un schéma de réponses au stress induisant des changements morphologiques est observé dans de nombreuses espèces bactériennes. Par exemple, une mutation de perturbation du gène *prkC* chez 630 $\Delta$ erm a permis au mutant de produire un biofilm significativement plus important dans des conditions de stress induites par les sels biliaries ( $p < 0,05$ ). Le gène *prkC* code pour une enzyme sérine/thréonine (Ser/Thr) kinase associée à la membrane avec deux domaines de liaison à la pénicilline et de Ser/Thr kinase-associée (PASTA), mais sa fonction n'a pas encore été caractérisée chez *C. difficile*. La souche mutante *prkC* a produit un biofilm significativement plus important après 24 heures, mais uniquement en présence de composés qui stressent l'enveloppe cellulaire, comme le sel biliaire DOC ou l'antibiotique polymyxine B (Cuenot *et al.*, 2019).

La protéine DnaK est également un composant important de la réponse au stress de *C. difficile* et a également été trouvée dans la matrice du biofilm. Il s'agit d'un chaperon moléculaire qui facilite le repliement des protéines et qui est régulé à la hausse dans des conditions de stress thermique. Une mutation d'insertion dans le gène *dnak* de la souche 630Aerm a perturbé la production de *Dnak* et a généré une souche moins thermotolérante qui présentait une

---

croissance sous-optimale à 37°C et une motilité réduite due très probablement à l'absence de flagelles à la surface des cellules, comme l'a révélé le MET (Metabolic Equivalent of Task ou Équivalent métabolique) Entrer

. Cependant, la perturbation du gène *dnaK* a également entraîné une augmentation significative de la formation de biofilms, ainsi qu'une élongation d'environ 50 % des cellules en bâtonnets filamenteux (Jain *et al.*, 2017).

Des effets similaires ont été observés lorsque d'autres éléments de la réponse au stress de *C. difficile* ont été étudiés. La réponse SOS est un réseau de régulation au sein de la réponse au stress des cellules bactériennes qui réagit aux dommages cellulaires et, en particulier, aux dommages de l'ADN. La réponse SOS est régulée par les protéines LEXA et RecA. Le répresseur transcriptionnel global, *LexA*, arrête temporairement la division cellulaire chez *C. difficile* et active les processus de réparation de l'ADN cellulaire. La perturbation du gène *LexA* chez *C. difficile* R20291 a entraîné l'apparition de cellules allongées et filamenteuse, ainsi qu'une augmentation de la production de biofilms par rapport à la souche mère. Ces observations sont similaires à celles faites avec le mutant *dnaK* chez 630Aerm, soulignant ainsi les effets du stress sur la formation de biofilms (Megan *et al.*, 2021).

### 15.2. Rôle des interactions entre le microbiote et *C. difficile*

Les entéropathogènes sont souvent capables de former des biofilms simples ou mixtes dans le tractus gastro-intestinal. La Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH) et le séquençage de l'ARNr 16 ont confirmé que *C. difficile* peut intégrer des communautés dans le cæcum, et que ces communautés sont associées à la couche externe de mucus (Semenyuk *et al.*, 2015). Les membres prédominants de ces communautés sont des Bacteroidetes et des Firmicutes dans lesquels *C. difficile* est minoritaire (Semenyuk *et al.*, 2015). Des bactéries telles que *C. scindens* sont connues pour limiter la colonisation de *C. difficile* dans des modèles *in vivo*, mais elles peuvent favoriser la formation de biofilms de *C. difficile in vitro* en produisant du COD à partir du cholate (Buffie *et al.*, 2015 ; Dubois *et al.*, 2019). Cela indique une relation plus complexe qu'on ne le pensait entre ces deux bactéries. L'appauvrissement de *C. scindens* dans l'intestin au cours d'une antibiothérapie favorise l'ICD en arrêtant la production de COD. Après le traitement de l'ICD, *C. scindens* peut produire des concentrations sub-inhibitrices de COD lorsque sa population est rétablie, et ces

---



concentrations pourraient induire la formation d'un biofilm par *C. difficile*. D'autres bactéries peuvent également favoriser la formation de biofilms lorsqu'elles sont cultivées avec *C. difficile*. En particulier, *Finegoldia magna* et *Fusobacterium nucleatum* qui favorisent la formation de biofilms en co-cultures avec *C. difficile* (Engevik *et al.*, 2021 ; Donelli *et al.*, 2012). La synergie avec cette dernière est basée sur une interaction entre les flagelles de *C. difficile* et l'adhésine RadD de *F. nucleatum* (Engevik *et al.*, 2021). Cette interaction est importante car il existe une corrélation positive entre la présence de la bactérie *F. nucleatum*. Dans l'intestin et l'ICD (Engevik *et al.*, 2021). En outre, un consortium composé de *B. thetaiotaomicron*, *B. fragilis*, *S. warneri* et *C. parapsiloris* a également favorisé la formation de biofilms d'espèces mixtes avec *C. difficile*. D'autre part, *B. fragilis* en co-culture avec d'autres bactéries telles que *L. rhamonosus*, *B. longum* et *B. breve* peut également réduire la formation de biofilms de *C. difficile* (Jamal *et al.*, 2018). Outre les bactéries, les champignons peuvent jouer un rôle dans le développement de l'ICD, car des études récentes ont identifié un bactériome associé aux champignons qui affecte cette infection. En outre, le bactériome associé aux champignons favorise les biofilms d'*E. Coli* et de *P. aeruginosa*. Des voies métaboliques et de communication spécifiques ont été associées à ces microbiomes, notamment le métabolisme de l'acide linoléique et le quorum sensing médié par l'autoinducteur-3, ce qui suggère une communication trans-royaume. Globalement, les interactions complexes des consortiums dicteront les résultats de la colonisation de *C. difficile* et la formation de biofilms, qui pourraient être spécifiques à la souche et non prévisibles à partir d'interactions entre deux espèces (Meza-Torres *et al.*, 2021).

### 15.3. Rôles de la mobilité et de la surface bactérienne

Un rôle dans l'adhésion de *C. difficile* aux cellules coliques a été décrit pour plusieurs facteurs de surface comme les protéines Cwp, la couche S ou le flagelle. Dapa *et Coll.* (2013) ont mis en évidence un rôle de la couche S dans la formation du biofilm de la souche R20291. En effet, un mutant délété du gène *cwp84* construit dans la souche R20291 de *C. difficile* est affecté négativement dans la formation du biofilm par rapport à la souche parentale. La couche S du mutant *cwp84* est immature, d'où la conclusion de Dapa *et Coll.* qu'une couche S mature était requise pour la formation d'un biofilm épais et robuste par *C. difficile*. La mobilité est impliquée dans les biofilms de *C. difficile* et *C. perfringens*. Les gènes *pilC* et *pilT* sont impliqués dans la mobilité de *C. perfringens*. Ces deux gènes codent le pili de type IV et leur délétion induit un défaut de mobilité mais aussi un défaut de formation du biofilm.

---

Le flagelle serait important pour les étapes tardives de la formation du biofilm de *C. difficile*. Il serait impliqué dans le maintien du biofilm mature (Pantaleon, 2014)

#### 16. Biofilms de *C. difficile* et la résistance aux antibiotiques

La tolérance aux antibiotiques associée aux biofilms est le résultat d'une myriade de facteurs, notamment le type d'antibiotique, l'espèce bactérienne, le stade du biofilm et la disponibilité des ressources. La capacité de former des biofilms permet à *C. difficile* de résister aux antibiotiques et aux stress oxydatifs.

Lorsque *C. difficile* est exposé à différents niveaux de vancomycine, un médicament couramment utilisé pour traiter l'ICD, les bactéries résistent mieux dans un biofilm que dans une culture planctonique. Dans un modèle d'intestin humain, le traitement à la vancomycine a permis de réduire la population planctonique de *C. difficile* à un niveau inférieur à la limite de détection, tandis que la population du biofilm est restée inchangée. En utilisant un modèle de biofilm de colonie, le traitement de biofilms de *C. difficile* cultivés sur des membranes de polycarbonate noir avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 100x du métronidazole, un autre médicament utilisé pour traiter l'ICD, a entraîné une diminution significative du nombre de bactéries par rapport à la vancomycine. Cependant, tant pour la vancomycine que pour le métronidazole, les biofilms n'ont fait que retarder la destruction et aucun des deux n'a réussi à réduire les spores viables. La fidaxomicine, un nouvel antibiotique efficace contre les infections récurrentes, à une CMI de 25 fois, a permis de réduire la viabilité des bactéries et des spores du biofilm d'environ 2,5 fois et 1,5 fois, respectivement. La surotomycine, un lipopeptide cyclique, a montré des capacités similaires, produisant une réduction de 3 fois des cellules végétatives et une réduction de 1,5 fois de la viabilité des spores, ce qui suggère une pénétration plus rapide et une plus grande capacité de perturbation de la fidaxomicine marquée par fluorescence par rapport à la surotomycine. Une autre étude à plus grande échelle, qui a testé des antimicrobiens, notamment la thuricine, la tigécycline, la vancomycine, la teicoplanine, la rifampicine et le nitazoxanide, contre diverses souches de *C. difficile* en mode sessile et planctonique, a montré que les combinaisons d'antimicrobiens par paire étaient plus efficaces que les traitements antibiotiques uniques contre les biofilms de la souche R20291, à l'exception du nitazoxanamide, dont l'efficacité était réduite lorsqu'il était combiné à la thuricine. La sensibilité aux médicaments ou aux combinaisons de médicaments

---



s'est avérée dépendre de la souche, les souches produisant des niveaux variés de biofilms *in vitro*.

En ce qui concerne les mécanismes sous-jacents à la résistance aux antibiotiques, la matrice dense du biofilm peut agir comme une barrière physique, offrant une résistance à la pénétration des antimicrobiens, et les biofilms perturbés étaient plus sensibles aux antibiotiques que les biofilms intacts. Paradoxalement, des concentrations sub-inhibitrices de métronidazole et de vancomycine induisent la formation de biofilms et réduisent apparemment la sensibilité aux antibiotiques. Il est donc possible que de faibles concentrations d'antibiotiques pourraient induire la production d'un biofilm de *C. difficile*, favorisant ainsi la persistance et la récurrence de l'infection (Meza-Torres *et al.*, 2021)

---

## **Chapitre 03**

# **Traitement et prévention des infections nosocomiales à *Clostridium difficile***

## 1. Traitement des infections nosocomiales

Le traitement d'une infection nosocomiale est variable selon l'espèce bactérienne et les symptômes qu'elle provoque. La prise en charge médicale varie d'un patient à un autre et le traitement employé est une antibiothérapie (soit un seul antibiotique soit plusieurs) (Charline, 2018). Des recommandations européennes et nord-américaines ont été récemment publiées concernant le schéma thérapeutique proposé pour une meilleure prise en charge de l'infection qui doit tenir compte de la sévérité clinique de l'infection. (Cohen *et al.*, 2010 ; Baur *et al.*, 2009).

### 1.1. Mesures générales

La prise en charge repose tout d'abord sur un certain nombre de mesures générales. Le diagnostic doit être posé rapidement pour traiter l'ICD au plus vite et éviter l'évolution vers les formes compliquées. Les troubles hydroélectrolytiques liés à la diarrhée doivent être corrigés si nécessaire et les antibiotiques pourvoyeurs arrêtés (pour les diarrhées simples, on observe une amélioration des symptômes dans 25% des cas en arrêtant toute antibiothérapie). Dans le cas où l'arrêt de toute antibiothérapie ne peut être envisageable car présence d'une infection sous-jacente, il faut privilégier une antibiothérapie à spectre étroit pour éviter de perturber l'écosystème digestif. Les ralentisseurs de la motilité intestinale doivent être évités et l'indication des IPP réévaluée. La dissémination des spores est limitée par la mise en place de précautions complémentaires « contact » qui reposent sur : le renforcement de l'hygiène des mains (le lavage des mains avec l'eau et le savon est la méthode optimale pour se débarrasser des spores par une action mécanique), le port des gants systématiquement pour tous les gestes de soins pour éviter de se contaminer avec les spores et la désinfection de l'environnement avec un produit sporicide jusqu'à la sortie du patient (Debast *et al.*, 2014).

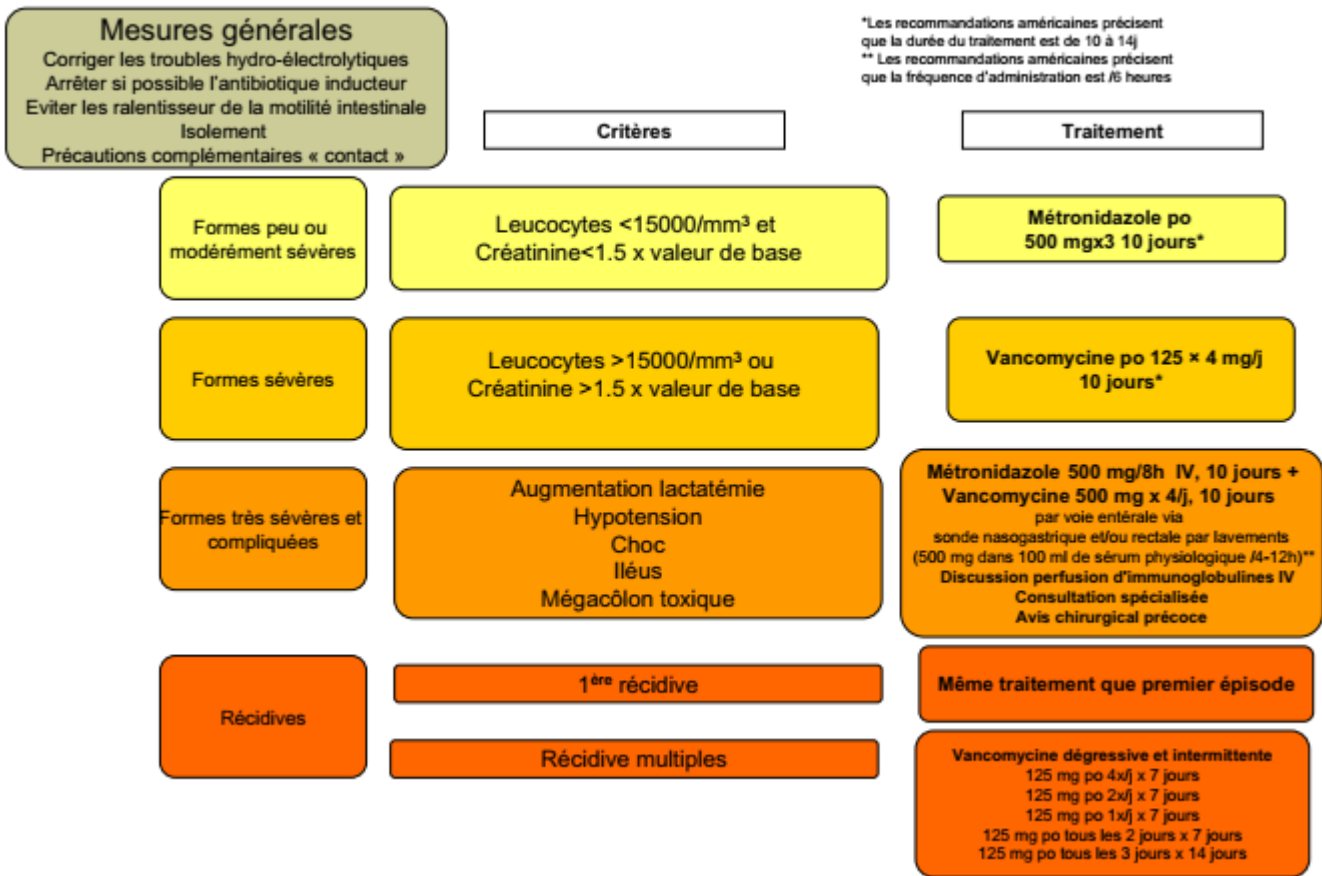


Figure 9 : traitements des infections à *Clostridium difficile* (Cohen *et al.*, 2010 ; Bauer *et al.*, 2010)

### 1.2. Traitement d'un premier épisode d'ICD

Le métronidazole (500 mg × 3/jour, 10 jours) est recommandé à l'heure actuelle comme le traitement de première intention des diarrhées simples et des colites peu sévères à *C. difficile*. Compte tenu du prix d'un traitement par vancomycine et du risque potentiel d'émergence d'entérocoques résistants à cet antibiotique, les indications d'un traitement par la vancomycine (125 mg × 4/jour, 10 jours) sont limitées soit aux patients présentant une symptomatologie sévère, soit à ceux qui ne répondent pas au métronidazole ou qui ont une intolérance à cet antibiotique.

En cas de formes compliquées (choc septique, mégacôlon toxique, iléus), il est recommandé de traiter par métronidazole intraveineux et par vancomycine par voie intracolique (lavement, sonde nasogastrique). En cas d'échec, la perfusion d'immunoglobulines

polyvalentes (200–400 mg/kg) peut être envisagée (Salcedo *et al.*, 2011). L'indication chirurgicale doit être discutée en cas de colite fulminante avec choc nécessitant l'utilisation de substances vasopressives, de perforation, de péritonite avec défaillance organique ou d'échec du traitement médical. C'est un traitement de sauvetage, consistant en une colectomie subtotalaire avec double stomie (iléostomie et sigmoïdostomie). Néanmoins, la mortalité préopératoire de cette chirurgie de sauvetage reste élevée, variant de 30 à 80 % (Jaber et Olafsson, 2008).

L'efficacité d'un traitement repose sur des critères cliniques (amélioration de la symptomatologie digestive) et biologiques (diminution très précoce, en cas d'efficacité thérapeutique, de la CRP). Les coprocultures de contrôles ne sont pas recommandées, car environ 30 à 40 % des patients qui sont considérés comme guéris cliniquement sont encore positifs en toxine et/ou en culture à l'issue d'un traitement.

### 1.3. Traitement d'une première récurrence et de récurrences multiples à *C. difficile*

Une récurrence répond bien en général à une nouvelle cure identique au traitement initial (vancomycine ou métronidazole ou même simple arrêt de l'antibiotique responsable). Cependant, certains patients présenteront des récurrences multiples posant un véritable défi thérapeutique. Aucune approche consensuelle n'existe pour ces patients mais plusieurs schémas thérapeutiques sont proposés. Une des approches les plus fréquemment utilisées consiste à administrer de la vancomycine à doses dégressives puis intermittentes (McFarland *et al.*, 2002). Mais aucune étude randomisée prospective n'a été réalisée à ce jour.

Une seconde approche qui peut être envisagée, bien que difficilement acceptable pour le patient, est l'administration de la flore fécale d'un donneur sain par sonde nasogastrique ou par lavements. Cette technique de transplantation de flore s'est avérée, dans quelques séries de cas, efficace pour traiter des rechutes multiples (Aas *et al.*, 2003).

Enfin, le rôle des probiotiques dans la prévention des récurrences multiples restent encore très controversés. Néanmoins, un essai contrôlé vs placebo chez des patients ayant déjà présenté une ou plusieurs rechutes a montré que la coadministration d'une antibiothérapie standard (vancomycine ou métronidazole) et de *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*) (1 g/j pendant

quatre semaines) diminuait de 50 % le taux de rechutes ultérieures (35 vs 65 %,  $p = 0,004$ ) (McFarland *et al.*, 1994).

## 2. Nouvelles approches thérapeutiques

L'augmentation de l'incidence, de la sévérité, des échecs cliniques et des récurrences d'ICD ont stimulé la recherche pharmaceutique pour le développement de nouvelles options thérapeutiques. Il y a plus d'une quinzaine d'essais cliniques en phase II ou III actuellement recensés par le site Clinical Trials du National Institute of Health. La plupart des approches proposées ont pour dénominateur commun de respecter le microbiote intestinal et de préserver son effet barrière. Les qualités recherchées parmi les nouveaux antibiotiques actuellement à l'étude sont en priorité :

- D'être au moins aussi efficace en termes de guérison clinique que la vancomycine, y compris sur les formes sévères d'infections ;
- D'entraîner significativement moins de récurrences.

La fidaxomicine (Optimer Pharmaceuticals and Astellas) a été approuvée en mai 2011 par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement des ICD. Il s'agit d'un macrocycle à 18 atomes de carbone qui présente un spectre d'activité étroit (bactéries à Gram positif) et une faible absorption digestive. Deux études internationales randomisées double insu de phase III comparant un traitement par fidaxomicine à la vancomycine (125 mg  $\times$  4/jour, 10 jours) ont abouti à des résultats semblables (Bartlett, 2009). L'efficacité clinique de la fidaxomicine à la fin du traitement est équivalente à celle de la vancomycine (88,2 vs 85,8 % dans l'essai 003 nord-américain). En revanche, le traitement par la fidaxomicine réduit de 40 % le taux de rechutes à 28 jours par rapport à la vancomycine (respectivement 15,4 vs 25,3 %). Par ailleurs, le temps de résolution de la diarrhée est plus court et la sélection d'entérocoques résistants à la vancomycine est moins fréquente par rapport au bras vancomycine (31 vs 7 %).

D'autres molécules proposées (ramoplanine, rifaximine, nitazoxanide) semblent présenter une excellente activité *in vitro* sur les souches de *C. difficile* et une efficacité clinique équivalente à celle de la vancomycine sur des modèles animaux de colites ou sur des petites séries de patients (Bartlett, 2009).

### 3. Prévention des infections à *C. difficile*

#### 3.1. Prévention passive

Des anticorps monoclonaux humanisés anti-toxine B ont été commercialisés pour la prévention des récurrences. Cette immunisation passive a montré son efficacité à travers deux essais de phase 3 randomisés en double aveugle versus placebo (MODIFY I et MODIFY II) selon le schéma suivant : les patients ayant un diagnostic d'ICD recevaient dans un premier temps un traitement standard choisi par le clinicien (vancomycine, métronidazole ou fidaxomicine) pendant dix jours puis ils étaient randomisés pour recevoir soit le bezlotoxumab soit le placebo. Le critère de jugement principal était le taux de récurrence à trois mois. L'administration intraveineuse en perfusion unique de bezlotoxumab à raison de 10mg/kg permet de faire passer le taux de récurrences à trois mois de 27% à 17% soit une réduction de 37% tant en conservant un profil de tolérance proche du placebo (Wilcox *et al.*,2017) La diminution du taux de récurrences était observée quel que soit le sous-groupe : patients âgés vs patients jeunes, 1ère récurrence vs récurrence multiple, infection sévère vs infection non sévère, infections nosocomiales vs infections communautaires et quel que soit le traitement initial ; vancomycine, métronidazole ou fidaxomicine.

L'indication de l'AMM obtenue en 2017 a néanmoins été restreinte à la prévention des rechutes dans une population présentant au moins l'un des facteurs de risque : âge 65 ans, antécédent d'ICD au cours des 6 mois précédents, ICD sévère, immunodépression (Anonymous,2018).Depuis le 09 juillet 2019, le bezlotoxumab commercialisé sous le nom de Zinplava® apparaît dans la liste des spécialités pharmaceutiques prises en charge en sus des prestations d'hospitalisation mentionnée à l'article L. 162-22-7 du code de la sécurité sociale. Au cours de ces deux essais une association entre le bezlotoxumab et un autre anticorps monoclonal, dirigé contre la toxine A, l'actoxumab, a été également testé. Les résultats obtenus avec l'association sont similaires à ceux obtenus avec le bezlotoxumab seul. Les auteurs ont conclu que l'ajout d'actoxumab n'avait pas amélioré l'efficacité par rapport au bezlotoxumab seul.

D'autres alternatives sont en cours d'évaluation. Gerding *et al* (2015), se sont intéressés au rôle des souches de *C. difficile* non toxigènes dans la prévention des récurrences. L'objectif de

leur étude était de déterminer l'innocuité, le taux de récurrence et le schéma posologique optimal d'administration de la souche non toxigène de *C. difficile* M3 (VP20621 ; NTCD-M3) dans la prévention des infections récurrentes à *C. difficile*. Suite à un premier épisode ou une récurrence d'ICD traité par vancomycine ou métronidazole, les patients étaient randomisés en deux groupes : un groupe recevant les spores de la souche NTCD-M3 et le deuxième le placebo. Cent soixante-treize patients ont été inclus dans cet essai phase 2. Chez les patients ayant reçu la souche M3, le taux de récurrence est de 10% alors qu'il est de 30% chez les patients ayant reçu le placebo.

### 3.2. Prévention active

*C. difficile* est un germe nosocomial qui se transmet par manuportage avec un réservoir environnemental très important. La prévention s'organise sur deux axes : la prévention primaire de l'acquisition d'ICD et la prévention de la transmission croisée.

Il est nécessaire de renforcer les politiques de bon usage des antibiotiques (bon antibiotique, bonne indication, bonne dose et bonne voie d'administration, réévaluation à 48-72h..). En effet, la réduction de la prescription de certains antibiotiques (amoxicilline + acide clavulanique, clindamycine, fluoroquinolones, macrolides et céphalosporines de 2ème et 3ème génération) est corrélée à une diminution d'incidence d'ICD.

La prévention de la transmission horizontale repose sur un certain nombre de mesures : la mise en place de précautions « contact » : isolement des patients symptomatiques dans des chambres individuelles ou le regroupement des patients infectés dans le même secteur avec une équipe soignante dédiée, lavage adéquat des mains avec du savon et de l'eau, le port systématique de gants en vinyle qui ont été associé à une réduction de l'incidence de diarrhée à *C. difficile* (7,7 vs 1,5 pour 1000 patients,  $p < 0,015$ ) (Valiquette et al., 2007). (Johnson et Al., 1990) et le port de surblouse à manches longues lors des contacts avec le patient ou son environnement.

Le bio-nettoyage est également un élément-clé pour limiter la dissémination et la persistance des bactéries sporulées dans l'environnement. La contamination environnementale a été étudiée dans une étude américaine. Le taux de contamination est de 50% dans les chambres des patients symptomatiques, de 28 % dans les chambres des patients qui ne sont pas



symptomatiques et de 8% dans les chambres des patients chez qui la recherche de *C. difficile* est revenue négative. Cela prouve la grande capacité de dissémination de *C. difficile* sans doute portés par des patients précédents mais aussi le manque d'efficacité des procédures de bio-nettoyage pour éradiquer toutes les spores. (McFarland et al.,1989)

Un entretien comportant un nettoyage, un rinçage puis une désinfection à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% de chlore actif, c'est-à-dire de l'eau de Javel 2,6% diluée au 1/5ème (1 litre d'eau de Javel et 4 litres d'eau pour un volume final de 5 litres) permet de réduire de manière efficace la contamination environnementale. Les spores de *C. difficile* résistent à l'action des désinfectants conventionnels (alcools et les ammoniums quaternaires).

### 3.3. Prévention par la vaccination

Compte tenu du rôle central de la réponse immune de l'hôte, la vaccination apparaît comme une perspective thérapeutique intéressante. Les stratégies vaccinales envisagées reposent soit sur l'utilisation d'anatoxines seules ou en association avec certaines protéines de surface. L'objectif d'un vaccin ciblant à la fois les protéines de surfaces et les toxines est double : prévenir à la fois la pathologie digestive occasionnée par les toxines mais aussi la colonisation prolongée source de dissémination de la bactérie et de contamination de l'environnement des structures de soins. À ce jour, plusieurs laboratoires pharmaceutiques se sont engagés dans le développement et/ou la validation de leur propre vaccin (Merck, Sanofi–Aventis, Novartis et plus récemment Pfizer).

Un vaccin fondé sur l'utilisation d'une anatoxine (Sanofi Pasteur) a franchi les essais cliniques de phase I, qui ont porté sur plus de 200 sujets, visant à démontrer son innocuité et son immunogénicité. Ce vaccin a été testé avec succès chez trois personnes souffrant de récurrences multiples (Sougioultzis et al., 2005). Le 17 février 2009, Sanofi Pasteur a lancé en Angleterre et aux États-Unis une étude de phase II pour évaluer l'efficacité de ce vaccin pour prévenir les récurrences d'ICD après un premier épisode (US National Institute of Health, 2010).

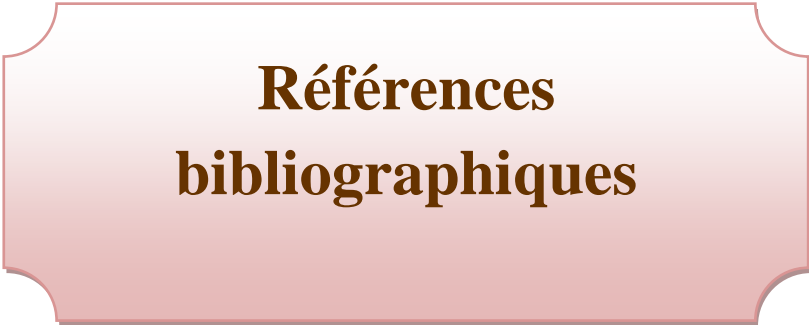
### 3.4. Prévention des récurrences

Concernant le cas particulier des récurrences, le Groupe Français de Transplantation de microbiote Fécal (GFTF) relayé par un consensus européen a récemment émis des recommandations concernant la transplantation de microbiote fécale (TMF). En effet, cette pratique est indiquée en prévention des CCD récurrentes à partir de la seconde récurrence (soit le 3<sup>e</sup> épisode) et après échec au minimum d'un traitement bien conduit par vancomycine ou fidaxomicine. Cette procédure donne des taux de succès supérieurs à 85 %<sup>29</sup>. En l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de situation contre-indiquant la TMF. La séquence thérapeutique comporte trois étapes : une antibiothérapie par vancomycine, une préparation colique et l'administration du microbiote qui peut se faire par lavement, au cours d'une coloscopie ou par une sonde naso-duodénale. Les critères de sélection du donneur ainsi que les procédures ont été proposés par le GFTF (secylic, 2019).

### 4. Prévention des infections nosocomiales

Bien que les IN soient redoutables, elles sont fort heureusement évitables. La réduction des IN nécessite entre autres, un environnement favorable (par exemple des salles de bain privées), des ressources humaines suffisantes pour prodiguer les soins, et un bon programme de prévention et de contrôle des infections (PCI). La PCI est définie comme une approche systématique et transversale, fondée sur des données probantes afin de prévenir les IN incluant la transmission des germes résistants aux antibiotiques

La PCI vise l'élimination des infections en brisant la chaîne de transmission. Elle est donc la pierre angulaire dans la lutte contre les IN. La chaîne de transmission fait référence aux nombreuses façons qu'ont les microorganismes à se propager et à se transmettre entre les patients, les professionnels de la santé et l'environnement. Les éléments de la chaîne de transmission sont nécessaires pour qu'une infection ait lieu. Afin de freiner la transmission, on applique des précautions dites standard pour protéger autant les patients que les professionnels de la santé. Ces précautions standard incluent l'hygiène des mains, le nettoyage de l'environnement, la sécurité d'injection et de médication, la gestion des déchets et l'éthique respiratoire.



**Références  
bibliographiques**

## Références

Aas J., Gessert CE., Bakken JS. 2003. Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clin Infect Dis* 36p:580–5.

Ahmed K., Dai A., Ichinose H *et al.*1993. "Neutrophil response to *Pseudomonas aeruginosa* in respiratory infection." *Microbiol Immunol* 37(7): 523-529.

Aktories K and Just I. 2005. "Clostridial Rho-inhibiting protein toxins." *Curr Top Microbiol Immunol* 291: 113-145.

Anonymous. Zinplava. European Medicines Agency. Disponible sur :

Barazier J. S., Borriello S. P. 2000. Microbiology, epidemiology and diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 250, 1-33.

Barbut F., Coignard B., Lalande V *et al.*2007 évolution récente des infections digestives à *Clostridium difficile* *epidemiology of Clostridium difficile* 027. (6) :233-24.

Barbut F., Collignon A., Butel M.-J. & Bourlioux P. 2015. Le transfert de flore digestive : une revue de la littérature. *Ann Pharm Fr.* 73(1): 13–2.

BarbutF, PetitJC. 2001.epidemiology of *Clostridium difficile*-associated infection.*Clin Microbiol Infec* ;7:405-10.

Bartlett J. G., Changg T. W., Gurwith M *et al.* 1978. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *New England Journal of Medicine*, 298, 531-534.

Bartlett J.G. 1994. *Clostridium difficile*: history of its role as an enteric pathogen and the current state of knowledge about the organism. *Clin Infect Dis* 1994 May; 18 Suppl 4: S265-72

Bartlett JG. 2009. New antimicrobial agents for patients with *Clostridium difficile* infections. *Curr Infect Dis Rep* 11p:21–8.

Bauer MP., Kuijper EJ., van Dissel JT.2009. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection (CDI). *Clin Microbiol Infect* 15p :1067–79.

Berche P., Gaillard I et Simonet M. 1998. Bactériologie : bactéries des infections humaines, Edition Flammarion, Paris, 290-295.

Beveridge T. J. 1990. Mechanism of gram variability in select bacteria. *J Bacteriol*, 172, 1609- 20.

Borriello S. P., Davies H. A. Kamiya S *et al.* 1990. "Virulence factors of *Clostridium difficile*." *Rev Infect Dis* 12 Suppl 2: S 185-191.

Borriello S.1998. Pathogenesis of ium *Clostridium difficile* infection. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 41, 13-19.

Branger A .2007. Quelques systèmes microbiens. Branger A., Richer M .M, Roustel S, Microbiochimie et alimentation. Educagri. P 343

Bruns A. H. W., Oosterheert J. J., Kuijper E. J. 2010. Impact of different empirical antibiotic treatment regimens for community-acquired pneumonia on the emergence of *Clostridium difficile*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(11), 2464–2471.

Buffie C.G., Bucci V., Stein R. R *et al.*2015.Precision Microbiome Restoration of Bile Acid-Mediated Resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*, 517, 205–208. [CrossRef]

Buyse S., Azoulay E., Barbut F *et al.* 2005. Infection à *Clostridium difficile* : physiopathologie, diagnostic et traitement. *Réa.* **14**(4): 255–263.

Calabi E., Ward B., Wren T *et al.*, 2001. "Molecular characterization of the surface layer proteins from *Clostridium difficile*." *Mol Microbiol* **40**(5): 1187-1199.

Charline. Infections nosocomiales : définition, traitement et prévention] en ligne] . Consulté le 09 juin 2023.<https://www.santé-sur-net.com>

*Clostridium difficile* Infection. *N Engl J Med.* 26 janv 2017;376(4)p:305-17.

Cohen SH., Gerding DN., Johnson S *et al.* 2010. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 31:431–55.

Collins M. D., Lawson P. A., Willems A *et al.* 1994. The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations. *Int J Syst Bacteriol*, 44, 812-26

Costerton J. W., Stewart P.S., and Greenberg E.P. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284:1318-1322.

Cuenot E, Garcia-Garcia T, Douche T, Gorgette O, Courtin P, Denis-Quanquin S, et al. The Ser/Thr Kinase PrkC participates in cell wall homeostasis and antimicrobial resistance in *Clostridium difficile*. *Infect Immun*. 2019; 87. <https://doi.org/10.1128/IAI.00005-19> PMID: 31085703 58.

Cunningham R., Dale B., Undy B *et al.* 2003. Proton pump inhibitors as a risk factor for *Clostridium difficile* diarrhoea. *J Hosp Infect* ;54(3):243-5.

Dapa T., Unnikrishnan M. 2013. Biofilm formation by *Clostridium difficile*. *Gut Microbes*, 4, 397–402. [CrossRef] [PubMed].

Davies H. A. and Borriello S.P. 1990. "Detection of capsule in strains of *Clostridium difficile* of varying virulence and toxigenicity." *Microb Pathog* 9(2): 141- 146.

Dawson L. F., Valiente E., Faulds-Pain A. 2012. Characterisation of *Clostridium difficile* biofilm formation, a role for Spo0A. *PLoS One* 7:e50527.

Dubois T., Tremblay Y.D.N., Hamiot A *et al.* 2019. A MicrobiotaGene

Dupuy B., Govind R., Antunes A *et al.* 2008. "*Clostridium difficile* toxin synthesis is negatively regulated by TcdC." *J Med Microbiol* 57(Pt 6) p: 685-689.

Eckert C., Barbut F. 2010. *Clostridium-difficile*-associated infections. *Med Sci (Paris)* Feb;26(2) p:153-8.

Emerson J. E., Stabler R. A., Wren B. W *et al.* 2008. "Microarray analysis of the transcriptional responses of *Clostridium difficile* to environmental and antibiotic stress." *J Med Microbiol* 57(Pt 6) p: 757-764.

Engevik M.A., Danhof H.A., Auchtung J *et al.* 2021. *Fusobacterium nucleatum* Adheres to *Clostridioides difficile* via the RadD Adhesin to Enhance Biofilm Formation in Intestinal Mucus. *Gastroenterology*. p:160, 1301–1314.e8. [CrossRef] [PubMed]

Erill I., Campoy S., Barbe´ J. 2007. Aeons of distress: An evolutionary perspective on the bacterial SOS response. *FEMS Microbiol Rev*; 31:637–56. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00082.x> PMID: 17883408

Flemming H.C., Wingender J. 2010. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* ;8 p:623–633.

Fuqua W.C., Winans S.C., Greenberg E.P. 1994. *Quorum Sensing* in Bacteria: The LuxR-LuxI Family of Cell Density-Responsive Transcriptional Regulators. *J Bacteriol*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC205046/>. <https://doi.org/10.1128/jb.176.2.269-275.1994> PMID: 8288518 94.

Genth H., Dreger S. C., Huelsenbeck J *et al.* 2008. "*Clostridium difficile* toxins: more than mere inhibitors of Rho proteins." *Int J Biochem Cell Bio!* **40**(4) p: 592-597.

Gerber M., Walch B., Loffler K *et al.* 2008. "Effect of sub-MIC concentrations of metronidazole, vancomycin, clindamycin and linezolid on toxin gene transcription and production in *Clostridium difficile*." *J Med Microbiol* **57**(Pt 6) p: 776-783.

Gerding DN., Meyer T., Lee C *et al.* 2015. Administration of spores of nontoxigenic *Clostridium difficile* strain M3 for prevention of recurrent *C. difficile* infection: a randomized clinical trial. *JAMA*. May 5 ;313(17)p:1719-27.

Gerie B., Carman, M. Rupnik, C. W *et al.* 2006. "Binary toxin-producing, large clostridial toxin-negative *Clostridium difficile* strains are enterotoxic but do not cause disease in hamsters." *J Infect Dis* **193**(8) p: 1143-1150.

Goncalves C., Decre D., Barbut F. 2004. "Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) from *Clostridium difficile*." *J Clin Microbiol* **42**(5):p1933-1939.

Hafiz S. et Oakley C. L. 1976. *Clostridium difficile*: isolation and characteristics. *J Med Microbiol*, 9, p:129-36.

Hall I. C. et O'toole E. 1935. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *American Journal of Diseases of Children*, 49,p: 390-402.

Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. 2004. Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* ;2 p :95–108

Hammerschmidt S., Muller H., Sillmann M *et al.* 1996. "Capsule phase variation in *Neisseria meningitidis* serogroup B by slipped-strand mispairing in the polysialyltransferase gene (*siaD*) : correlation with bacterial invasion and the outbreak of meningococcal disease." *Mol Microbiol* 20(6)p: 1211-1220.

He M. 2012. Genomic variation and evolution of *Clostridium difficile*. Doctor of Philosophy, University of Cambridge.

He M., SebahWia M., Lawley T. D., *et al.* . 2010. Evolutionary dynamics of *Clostridium difficile* over short and long-time scales. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 7527-32.

Hegarty J. P., Sangster W., Ashley R. E. 2016. Induction and Purification of *C. difficile* Phage Tail-Like Particles. In: ROBERTS, P. A. & MULLANY, P. (eds.) *Clostridium difficile: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer New York

<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zinplava>.

Ishida Y., Maegawa T., Kondo A *et al.* 2004. "Essential involvement of IFN-gamma in *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis." *J Immunol* 172(5) p : 3018-3025.

Issa M., Vijayapal A., Graham MB *et al.* 2007. Impact of *Clostridium difficile* on inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* ;5(3) p:345-51.

Jaber MR., Olafsson S., Fung WL *et al* 2008. Clinical review of the management of fulminant *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol* 103p:3195–203.

Jain S, Smyth D, O'Hagan BMG, Heap JT, McMullan G, Minton NP, *et al.* Inactivation of the *dnaK* gene in *Clostridium difficile* 630  $\Delta$ erm yields a temperature-sensitive phenotype and increases biofilm-forming ability. *Sci Rep* 2017 ;7

Jamal M., Ahmad W., Andleeb S *et al.* 2018. Bacterial Biofilm and Associated Infections. *J. Chin Med. Assoc.* 81, p: 7–11. [CrossRef] [PubMed]

Janoir C., Pechine S., Grosdidier C *et al.* 2007. "Cwp84, a surface-associated protein of *Clostridium difficile*, is a cysteine protease with degrading activity on extracellular matrix proteins." *J Bacteriol* 189(20): p:7174-7180.

Johnson S., Gerding DN., Olson MM *et al.* 1990. controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. *Am J Med.* Feb;88(2)p:137-40.



Kalia V., Mukherjee C., Bhushan T *et al.* 2011. Analysis of the unexplored features of rrs (16S rDNA) of the Genus *Clostridium*. BMC Genomics, 12, p: 1-35.

Kaplan JB.2010. Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J Dent Res* ;89 p:205–218.

Karas JA., Enoch DA., Aliyu SH.2010. A review of mortality due to *Clostridium difficile* infection. *J Infect* ;61(1)p:1-8.

Karatan E., Watnick P .2009. Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiol Mol Biol Rev* ;73 p:310–347.

Khelili K. 2021. Microbiologie des infections nosocomiales : Bactériologie-Virologie. Université frères mentouri constantine 1

Kleessen B., Blaut M. 2005. Modulation of gut mucosal biofilms. *Br J Nutr* 93 Suppl 1: S35-40.

Kurd MF, Pulido L, Joshi A, Purtill JJ, Parvizi J. *Clostridium difficile* infection after total joint arthroplasty: who is at risk? *J Arthroplasty* 2008 Sep;23(6) p:839-42.

Leung DY., Kelly CP., Boguniewicz M *et al* .1991. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 118p:633–7.

Leuzzi R., Baban S.T *et al.* 2013. Multiple factors modulate biofilm formation by the anaerobic pathogen *Clostridium difficile*. *J Bacteriol*; 195:545-55.

Lowy I., Molrine DC., Leav BA *et al* .2010. Treatment with monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxins. *N Engl J Med* 362p:197–205.

Ludwig W., Schleifer K.H., and Whitman William B. 2009. Revised road map to the phylum Firmicutes., p. 1-13. In Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer, and W. B. Whitman (ed.), *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: springer*, vol. 3. Springer New York.

Lyerly DM, Krivan HC, Wilkinq.,1998. TD.*Clostridium difficile* :its disease and toxins.Clin Microbiol Rev ;1:1-18

Macfarlane G.T., and Macfarlane. 2000. Growth of mucin degrading bacteria in biofilms. *Methods Mol Biol* 125p:439-52.

Macfarlane S., Bahrami B and. Macfarlane G.T. 2011. Mucosal biofilm communities in the human intestinal tract. *Adv Appl Microbiol* 75 p:111-43.

Matte I.D., Lane, E., Cote. A *et al.* 2009. "Antiapoptotic proteins Bcl-2 and Bel-XL inhibit *Clostridium difficile* toxin A-induced cell death in human epithelial cells." *Infect Immun* 77(12): p:5400-5410.

McFarland LV., Elmer GW., Surawicz CM 2002. Breaking the cycle: treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *Am J Gastroenterol* 97p:1769–75.

McFarland LV., Mulligan ME., Kwok RY *et al.* 1989. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med.* 26 janv p;320(4):204-10.

McFarland LV., Surawicz CM Greenberg RN *et al.* 1994 ..A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 271p:1913–8.

Ministère de la Santé et des Services Sociaux du Québec, M., *La prévention et le contrôle des infections nosocomiales - Cadre de référence à l'intention des établissements de santé et de services sociaux du Québec.* 2017 : Bibliothèque et Archives Canada, 2017.

Morris JB, Zollinger RM Jr., 1990. Stellato TA. Role of surgery in antibiotic-induced pseudomembranous enterocolitis. *Am J Surg* ;160 :535-9.

Nicholson W. L., Munakata N., Horneck, G., *et al.*, 2000. Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 64(3), 548–72. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.548-572.2000>

Obana N., Nakamura K., Nomura N. 2014. A sporulation factor is involved in the morphological change of *Clostridium perfringens* biofilms in response to temperature. *J Bacteriol* 196 : p :1540-50

Oberkamp M., Hamiot A., Altamirano P *et al.* 2022. Infection nosocomiales : Une Molécule clé dans l'adaptation de *clostridium difficile* à l'environnement intestinal *le journal de la recherche.* DOI : [10.1126/scisignal.abn8171](https://doi.org/10.1126/scisignal.abn8171) <https://doi.org/10.1038/nrmicro1288>

Olson MM, Shanholzer CJ, Lee JT Jr., Gerding DN. 1982-1991. Ten years of prospective *Clostridium difficile* -associated disease surveillance and traitement at the Minneapolis VA Medical center .infect Control HopsEpidemiol.1994;371-81.

Pantaleon V. 2014. *Le biofilm de C. difficile : Rôle des protéines de surface*.

Pechine Set Collignon A. 2005. Variability of *Clostridium difficile* surface proteins and specific serum antibody response in patients with *Clostridium difficile* associated disease. *J Clin Microbiol*, 43, p: 5018-25.

Proctor C.R., McCarron P.A., Ternan N.G. 2020. Furanone *quorum-sensing* inhibitors with potential as novel therapeutics against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Microbiol. Microbiology Society*. p:195– 206.

Resnik E., Lefevre CA.1999. Fulminant *Clostridium difficile* colitis associated with paclitaxel and carboplatin chemotherapy. *Int J Gynecol Cancer* ;**9**(6) p:512-4.

Rupnik M. 2015. clinical implications of basic research Toward a True Bacteriotherapy for *Clostridium difficile* Infection. Editor N Engl J Med, **372****16**(16),p:1566–1568. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr1500270>

Russell G., Kaplan J., Ferraro M *et al* .2010. Fecal bac- teriotherapy for relapsing *Clostridium difficile* infection in a child: a proposed treatment protocol. *Pediatrics* 126p: e239–e42.

Salas A. 2020. *Clostridium difficile* et les perturbation du microbiologie intestinale

Salcedo J ., Keates S., Pothoulakis C *et al* . 1997 ..Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut* 41p:366–70.

Sarao J.H. 2016.Understanding *Clostridium difficile* ADN the bacteriophages from the envirenment . Departement of infection, Immunity and inflammation. University of Leicester.

Schwan C., Stecher T., Tzivelekidis M. 2009. "*Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria." *PLoS Pathog* **5**(10): e 1000626.

Seksik P. 2019. Colite à *Clostridium difficile* : Quelle prise en charge en 2019 GASTRO ENTÉROLOGIE.

Seddon S.V et Hemingway I. 1990. "Hydrolytic enzyme production by *Clostridium difficile* and its relationship to toxin production and virulence in the hamster mode!" *J Med Microbiol* **31**(3) p:169-174.

Semenyuk E.G., Laning J., Foley P. F.2014. Spore formation and toxin production in *Clostridium difficile* biofilms. PLoS One 9: e87757.

Semenyuk, E.G., Poroyko V.A., Johnston P. F *et al.*, 2015. Analysis of bacterial communities during *Clostridium difficile* infection in the mouse. Infect. Immun. 83, p:4383–4391. [CrossRef]

Setlow B et Setlow P. 1980. Measurements of the pH within dormant and germinated bacterial spores. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **77**(5), 2474–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.772474.5>.

Setlow P. 2003. Spore germination. Current Opinion in Microbiology. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2003.10.001>

Setlow P. 2006. Spores of *Bacillus subtilis*: Their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 101, pp. 514–525). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x>

Sheridan P.P., Miteva V.I., Brenchley J.E. 2003. Phylogenetic analysis of anaerobic psychrophilic enrichment cultures obtained from a Greenland glacier ice core. Applied and Environmental Microbiology, 69, p: 2153-2160.

Slater R.T., Frost L.R., Jossi S.E *et al.* 2019. *Clostridioides difficile* LuxS Mediates Inter-Bacterial Interactions within Biofilms. Sci. Rep. 9, 9903. [CrossRef]

Smits W. K., Lyras D., Lacy D. B *et al.* *Clostridium difficile* infection. Nat. Rev. Dis. Prime Sougioultzis S., Kyne L., Drudy D *et al.* .2005 . *Clostridium diffi- cile* toxoid vaccine in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. Gastroenterology 128p:764–70.

Taggart M. G., Snelling W. J., Naughton P. J.*et al.*, 2021. Biofilm regulation in *Clostridioides difficile*: Novel systems linked to hypervirulence. *PLOS Pathogens*, 17(9), e1009817. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009817>

Tan K. S., Wee B Y and Song K.P.2001. "Evidence for holin function of tcdE gene in the pathogenicity of *Clostridium difficile*." *J Med Microbiol* **50**(7) p:613-619.

Tasteyre A., M. C., Barc A., Collignon H *et al.* 2001. "Role of FliC and FliD flagellar proteins of *Clostridium difficile* in adherence and gut colonization." *Infect Immun* **69**(12) p:7937-7940.

Tremblay Y. D. N., Hathroubi S., & Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens : Leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **78**(2), 110-116.

US National Institute of Health. 2010. Study of a *Clostridium difficile* toxoid vaccin (Acam-CDIFF) in subjects with *Clostridium difficile* infection. [cited; Available from: <http://clinical-trials.gov/cta/show/NCT00772343>].

Valiquette L., Cossette B., Garant M-P *et al.* 2007. Impact of a reduction in the use of high-risk antibiotics on the course of an epidemic of *Clostridium difficile*-associated disease caused by the hypervirulent NAP1/027 strain. *Clin Infect Dis*. 1 sept ;45 Suppl 2p: S112-121.

Van Houdt R., Michiels CW .2010. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J Appl Microbiol* ;109 p:1117–1131.

Varga J. J., Therit B., and Melville S.B. 2008. Type IV pili and the CcpA protein are needed for maximal biofilm formation by the gram-positive anaerobic pathogen *Clostridium perfringens*. *Infect Immun* 76p :4944-51.

Varvio S. L., Auranen K., Arjas E *et al.* 2009. "Evolution of the capsular regulatory genes in *Streptococcus pneumoniae*." *J Infect Dis* **200**(7) : 1144- 1151.

Vendeville A., Winzer K., Heurlier K *et al.* 2005. Making ‘sense’ of metabolism : autoinducer-2, LuxS and pathogenic bacteria. *Nat Rev Microbiol*; 3 p:383-96; PMID:15864263; [http:// dx.doi.org/10.1038/nrmicro1146](http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1146)

Voth D. E. and J. D. Ballard .2005. "*Clostridium difficile* toxins: mechanism of action and role in disease." *Clin Microbiol Rev* **18**(2)p: 247-263.

Vuotto C., Donelli G., Buckley A. 2018. *Clostridium difficile* biofilm. In *Updates on Clostridium Difficile* in Europe: Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health Volume 8; Mastrantonio, P., Rupnik M., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Germany, pp. 97–115. ISBN 978-3-319-72799-8. 39.

Waligora A. J., Rennequin C., Mullany P *et al.* 2001. "Characterization of a cell surface protein of *Clostridium difficile* with adhesive properties." *Infect Immun* **69**(4) p:2144-2153.

Wang Y., Wu, Y., Wang B *et al.* 2019. *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 protects mice against high-fat diet-induced obesity and liver injury via regulating host metabolism and gut microbiota. *Front. Microbiol.*, 10, 1161. [CrossRef]

Wershil B.K., Castagliuolo I., and C. Pothoulakis .1998. "Direct evidence of mast cell involvement in *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in mice." *Gastroenterology* **114**(5) p:956-964

Wilcox MH., Gerding DN., Poxton IR *et al.* 2018. Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent

World Health Organisation, W. *Health care without avoidable infections - The critical role of infection prevention and control.* 2016 October 17, 2020]; Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246235/WHO-HIS-SDS-2016.10-eng.pdf?sequence=1>.

Yearsley KA., Gilby L.J., Ramadas AV *et al.* 2006. Proton pump inhibitor therapy is a risk factor for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther* Aug 15;24(4) p:613-9.



## Résumé

Les infections nosocomiales sont un problème majeur de santé publique. Elles représentent une menace sanitaire importante à l'origine d'un grand nombre d'entre elles. *Clostridioides difficile* (*Clostridium difficile*), une bactérie entéropathogène opportuniste pouvant entraîner des diarrhées sévères, dans les hôpitaux et les établissements de soins de longue durée. Ces troubles digestifs ont généralement lieu à la suite d'une antibiothérapie affaiblissant la flore intestinale de l'hôte et favorisant la colonisation par *C. difficile*. La capacité de cette espèce à former des biofilms *in vivo* la protège des stress intestinaux et des antibiotiques, et représente un facteur de virulence très sévère en favorisant la colonisation de l'environnement intestinal. L'infection à *C. difficile* (ICD) est la cause d'environ 10 à 35% de tous les cas de diarrhée associée à une morbidité et une mortalité considérable. Le spectre de présentation de l'ICD va de la diarrhée légère et spontanément résolutive à la diarrhée grave, à la colite pseudomembraneuse et à la colite fulminante menaçant le pronostic vital, pouvant entraîner la mort. Il est alors essentiel d'identifier rapidement les patients présentant une ICD symptomatique, car la majorité d'entre eux réagissent rapidement à la thérapie antimicrobienne. La meilleure façon de prévenir l'infection est de mettre en œuvre des mesures de contrôle de l'infection et d'utiliser judicieusement les agents antimicrobiens.

Mots clés : *Clostridium difficile*, infections nosocomiales, biofilm, traitement, prévention



## Abstract

Hospital-acquired infections are a significant public health concern, particularly those caused by *Clostridioides difficile* (formerly known as *Clostridium difficile*). *C. difficile* is an enteropathogenic bacterium commonly found in hospitals and long-term care facilities, and it can lead to severe diarrhea. These digestive disorders often occur as a result of antibiotic therapy, which disrupts the normal intestinal flora, creating an environment conducive to *C. difficile* colonization. The ability of *C. difficile* to form biofilms within the intestines provides protection against intestinal stress and antibiotics, making it a potent virulence factor that enhances its ability to colonize the gut. *C. difficile* infection (CDI) accounts for approximately 10-35% of all cases of diarrhea, and it is associated with significant morbidity and mortality. CDI can manifest as mild, self-limiting diarrhea or progress to severe diarrhea, pseudomembranous colitis, and life-threatening fulminant colitis. Early identification of symptomatic CDI patients is crucial, as most individuals respond well to antimicrobial therapy. The most effective approach to preventing CDI is the implementation of rigorous infection control measures and the judicious use of antimicrobial agents.

Keywords: *Clostridium difficile*, nosocomial infections, biofilm, traitement, prévention

## ملخص

تمثل العدوى المكتسبة من المستشفيات تهديداً صحياً كبيراً، حيث ينتج عدد كبير منها بسبب الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*)، وهي بكتيريا تصيب الأمعاء التي يمكن أن تؤدي إلى الإسهال الشديد في المستشفيات ومرافق الرعاية طويلة المدى. عادة ما تكون هذه الاضطرابات الهضمية نتيجة العلاج بالمضادات الحيوية، مما يضعف الجراثيم المعوية للمضيف ويعزز انتشار الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*) إن قدرة هذا النوع على تكوين الأغشية الحيوية في جسم الكائنات الحية تحميها من الضغط المعوي والمضادات الحيوية، وتمثل عامل قوة و سمية شديدة للغاية، مما يعزز غزو منطقة الأمعاء. تعد عدوى الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*) سبباً لحوالي 10-35 % من جميع حالات الإسهال، المرتبطة بمعدلات أمراض ووفيات معتبرة، يتسع نطاق الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*) من الإسهال الخفيف الذي يحد من تلقاء نفسه إلى الإسهال الشديد والتهاب القولون الغشائي الكاذب والتهاب القولون الوشيك الذي يهدد الحياة . من الضروري التشخيص المبكر للمرضى الذين يعانون من أعراض الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*) بحيث يستجيب أغلبهم بسرعة للعلاج بمضادات البكتيريا . افضل طريقة للوقاية من العدوى هي اتخاذ تدابير مكافحة العدوى و حسن استخدام العوامل المضادة للبكتيريا .

الكلمات المفتاحية: الكلوستريديوم (*Clostridium difficile*)، التهابات المستشفيات، الاغشية الحيوية، العلاج، الوقاية.

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Filière : Sciences biologiques**

**Spécialité : Ecologie microbienne**

**Infections nosocomiales à *Clostridium difficile*  
Rôle du biofilm dans la pathogénécité et l'antibiorésistance**

**Résumé**

Les infections nosocomiales sont un problème majeur de santé publique. Elles représentent une menace sanitaire importante à l'origine d'un grand nombre d'entre elles Clostridioides *difficile* (*Clostridium difficile*), une bactérie entéropathgène pouvant entraîner des diarrhées sévères, dans les hôpitaux et les établissements de soins de longue durée. Ces troubles digestifs ont généralement lieu à la suite d'une antibiothérapie affaiblissant la flore intestinale de l'hôte et favorisant la colonisation par *C. difficile*. La capacité de cette espèce à former des biofilms *in vivo* la protège des stressés intestinaux et des antibiotiques, et représente un facteur de virulence très sévère en favorisant la colonisation de l'environnement intestinal. L'infection à *C. difficile* (ICD) est la cause d'environ 10 à 35% de tous les cas de diarrhée associée à une morbidité et une mortalité considérable. Le spectre de présentation de l'ICD va de la diarrhée légère et spontanément résolutive à la diarrhée grave, à la colite pseudomembraneuse et à la colite fulminante menaçant le pronostic vital, pouvant entraîner la mort. Il est alors essentiel d'identifier rapidement les patients présentant une ICD symptomatique, car la majorité d'entre eux réagissent rapidement à la thérapie antimicrobienne. La meilleure façon de prévenir l'infection est de mettre en œuvres des mesures de contrôle de l'infection et d'utiliser judicieusement les agents antimicrobiens.

**Mot clés :** *Clostridium difficile*, infections nosocomiales, biofilm, traitement, prévention

**Membres du jury :**

**Encadrant :** BOULTIFAT linda (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Présidente :** MERGOUD Lilia (MAA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Examineur :** AMOKRANE Sirine (MRA - CRBT, Constantine 1).

**Présenté par :** Brahimi choubela nihed

Boudinar Nedjla

Chouaib rahil belkis

**Année universitaire : 2022 -2023**