



Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Avis de Soutenance

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Madame SOUAD OIRDI ZAHIR

Discipline : Génétique et Biologie Moléculaire
Spécialité : Génétique et Biologie Moléculaire

Sujet de la thèse

Développement de la PCR-HRM pour la détection de la résistance de H.pylori à la clarithromycine et étude du polymorphisme du gène vac A chez des patients présentant différentes pathologies gastriques

Formation Doctorale " Sciences Médicales et Recherche Translationnelle"

Thèse présentée et soutenue le **jeudi 09 janvier 2025 à 15h** à la Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès, devant le jury composé de :

NOM ET PRÉNOM	TITRE	ÉTABLISSEMENT	
Sidi Adil IBRAHIMI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Président
My Mustapha ENNAJI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia	Rapporteur
Samira EL FAJIR	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Rapporteur
Abdeslam ASEHRAOU	PES	Faculté des Sciences d'Oujda	Rapporteur
Saad IBNSOUDA KORAICHI	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examineur
Laila CHBANI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Examineur
Bahia BENNANI	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès	Directeur de Thèse

Laboratoire de recherche : Pathologie Humaine Biomédecine et Environnement
Établissement : Faculté de Médecine et de Pharmacie et Médecine Dentaire de Fès



Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Résumé de la thèse

H. pylori est l'agent étiologique de diverses pathologies gastriques, telles que la gastrite, les ulcères gastriques et duodénaux et le cancer gastrique. L'infection par cette bactérie, classée cancérogène de type I par l'OMS, reste un problème majeur de santé publique. L'évolution de l'infection vers l'une ou l'autre de ces pathologies dépend de facteurs liés à l'hôte, de facteurs environnementaux, ainsi qu'aux facteurs de virulence de la bactérie dont le gène vacA. Le développement des pathologies gastriques graves est aussi lié à la persistance de l'infection suite à un échec thérapeutique et/ou au diagnostic tardif. En fait, l'échec thérapeutique peut être lié à la prescription d'antibiothérapie anti-H.pylori de manière aléatoire, sans détermination préalable du profil de résistance aux antibiotiques malgré l'évolution rapide de cette résistance à l'échelle internationale. Ainsi, l'objectif de cette étude est, d'une part, de développer un outil moléculaire sensible et rapide pour détecter la résistance de H. pylori à la clarithromycine (CLR), adapté pour les analyses de routine et d'autres part déterminer le profil génotypique du gène vacA des souches de H. pylori circulant dans la région de Fès (étude des régions c et d) et d'étudier l'association de ce gène avec la survenue des pathologies gastriques. Une PCR-HRM est développée pour la détection de la résistance de H. pylori à la CLR liée aux mutations A2143et/ou A2142 du gène 23S ARNr. Des plasmides portant le gène d'intérêt sont préparés et utilisés à cet effet. La sensibilité et la spécificité de la technique développée sont déterminées en utilisant le séquençage comme référence. La PCR-HRM est ensuite utilisée pour déterminer le taux de résistance à la CLR dans une étude rétrospective sur une série de biopsies gastriques H. pylori positifs. En parallèle, ces échantillons dont le polymorphisme des régions s, m et i du vacA a été préalablement déterminé, ont été utilisés pour l'étude des régions c et d de ce gène par des PCR spécifiques. Les différentes corrélations, génotypes vacA-pathologies, génotypes vacA-résistance à la CLR et résistance à la CLR-pathologies ont été réalisées par SPSS. La PCR-HRM développée a montré des taux de sensibilité et de spécificité élevés (100% et 99,5% respectivement) avec une capacité d'identification des souches hétéro-résistantessupérieure à celle du séquençage. L'application de cette technique sur 666 extraits d'ADN provenant de biopsies gastriques H. pylori positives, a révélé un taux de résistance à la CLR de 20,3%, marqué par une évolution annuelle. Cette résistance est exclusivement liée à la mutation A2143G. La caractérisation moléculaire de vacA-d effectuée sur les extraits d'ADN positifs à H. pylori a révélé une distribution similaire de vacA-d1(37,6%) et de vacA-d2(39,7%) avec



Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

un taux d'infections multiples de 22,1%. Alors que, la caractérisation de la région c de vacA a montré une prédominance de vacA-c2 (44,7%) comparé au vacA-c1 (16,5%) et aux infections multiples vacA-c1c2 (9%). Toutefois, la combinaison allélique des cinq régions de vacA (s, m, i, c et d) a montré une prédominance (36,6%) du génotype le moins virulent (vacA-s2m2i2c2d2) suivi de vacA-s1m1i1c1d1 (18,3%) et vacAs2m2i2c2d1 (12,9%). La corrélation génotype-pathologie a montré une association significative entre l'ulcère gastrique et le vacA-d1 alors que le cancer gastrique est significativement associé aux allèles - d2 et c2 de vacA séparément. Néanmoins, l'association de la combinaison allélique des cinq régions de vacA de H. pylori avec les pathologies a montré une association significative entre les combinaisons rares portant l'allèle vacA s2 et le cancer gastrique. La corrélation génotype vacA-résistance à la CLR a montré que les souches de génotype vacA-s1 (25,9%) se montrent les plus résistantes. Cependant, aucune association significative n'a été obtenue avec la combinaison allélique des cinq régions de vacA. Le taux de résistance déterminé est alarmant et implique d'une part que la triple thérapie à base de CLR est inadaptée dans le contexte actuel, et qu'il est primordial de tester la résistance de H. pylori à la CLR avant toute prescription thérapeutique. La PCR-HRM développée constitue un outil adéquat pour ce test et aussi pour la surveillance épidémiologique de la résistance locale de H. pylori à la CLR qui s'avère importante à réaliser. En se basant sur le gène vacA, la combinaison génotypique la plus prévalente de H. pylori circulant dans la région étudiée est la moins virulente (vacA-s2m2i2d2c2) avec une distribution variable suivant les pathologies. Les combinaisons génotypiques rares portant l'allèle vacA-s2 peuvent être considérées comme marqueurs de prédiction de l'évolution de l'infection vers le cancer gastrique. Mots clés : Helicobacter pylori, résistance clarithromycine, PCR-HRM, vacA, pathologies gastriques.