

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur  
et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
**Département de microbiologie**

### Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en sciences Biologiques  
**Spécialité: Microbiologie Appliquée**

## *Thème*

**Recherche d'*Helicobacter pylori* dans les  
biopsies gastrique au niveau du CHU-TO**

Présenté par : Mlle **BOUHEDDOU** Karima

Dirigé par: **Dr HOUALI** Karim Maitre de conférences A

Co-encadré par: **Dr AZAM** Maitre assistante A

Soutenu le 15/06/2015

## **Jury:**

**Président:**Mr N .MEDJKOUNE

M.A.A à l'UMMTO.

**Examineur :** Mlle N. MEGUENI

M.A.A à l'UMMTO.

**Examineur :** Dr D.TAGZOUT

M.A.A au CHU-TO.

Promotion 2012/2013

**REMERCIEMENTS**

**ET**

**DÉDICACE**

Ce manuscrit résume un travail de deux années effectuées au sein de l'hôpital CHU NEDIR Mohamed. Cet aboutissement n'aurait pas été possible sans l'aide de DIEU et la présence directe et indirecte de nombreuses personnes. C'est dans ces quelques lignes, que le mot MERCI prendra tout son sens.

*En premier lieu, je tiens à remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.*

*Mes remerciements et ma reconnaissance les plus sincères aux Dr HOUALI Karim pour les encouragements, les conseils et surtout la disponibilité. Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos nombreuses obligations professionnelles.*

*Je saisis cette occasion pour vous exprimer ma profonde gratitude tout en vous témoignant de mon respect.*

*Mes remerciements vont également vers ma co-promoteur Dr AZAM pour sa précieuse collaboration et sa disponibilité ainsi que vers toute l'équipe du laboratoire de microbiologie du C.H.U. NEDDIR Mohamed de Tizi-Ouzou.*

*Mes remerciements vont également vers Dr TAGZOUI et pour Dr MITICHE pour m'avoir accueillie au sein du service gastroentérologie et pour leurs précieuse collaboration, leurs soutiens et leurs disponibilité tout au long de mon stage effectué à l'unité endoscopie digestive, et pour l'obtention des prélèvements qui ont permis de réaliser ce travail. Veuillez accepter l'expression de ma gratitude et de mes plus sincères remerciements.*

*Mes remerciements les plus sincères s'adressent à une personne extraordinaire, sans qui, je ne serais jamais arrivée là où j'en suis aujourd'hui. Mr MEDJKOUNE NADIR, les quelques phrases que je me permets ici de vous adresser ne suffisent pas pour exprimer tout le respect, la reconnaissance et l'affection que j'éprouve envers vous. Merci pour votre optimisme, votre patience admirable, votre énorme soutien, et pour vos vivaces encouragements.*

*Je tiens également à remercier Dr DJENANE pour m'avoir ouvert son laboratoire et m'avoir permis de suivre ma formation au sein du service microbiologie Mustapha BACHA –Alger.*

*Mes vifs remerciements à toute l'équipe du laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques du CHU-TO qui travaille à pied d'œuvre et qui nous aide dans nos recherches.*

*Je tiens aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir et leur expérience durant tout notre cursus universitaire et permis ainsi d'atteindre le niveau scientifique nécessaire pour la réalisation de ce travail.*

**Mes chers parents** je vous adresse ici toute mon affection et ma plus profonde estime. Merci de m'avoir menée là où j'en suis aujourd'hui. Les mots me manquent et je ne pourrais jamais vous remercier suffisamment pour tout l'amour, les sacrifices, la tendresse et la confiance que vous m'avez témoignée. Merci d'avoir pu comprendre et supporter ma distance et pour m'avoir laissé la liberté de m'envoler et de suivre mon propre chemin...

Votre m'avez beaucoup manqué au cours de ces dernières années et cet achèvement je vous le dois.

**A mon frère KOCEILA**

Ne vois pas en moi un exemple à suivre mais à dépasser. Puisseons-nous rester toujours aussi unis dans la tendresse, solidaires dans la vie et fidèles à l'éducation que nos chers parents ont su nous inculquer.

Tous mes vœux de réussite et de bonheur!

Je remercie tous mes amis et particulièrement NESRINE, KHALÉD et KAHINA AIDER qui ont toujours été à mes côtés et m'ont soutenu psychologiquement. Notre amitié est une histoire sacrée, elle est plus qu'une fraternité.

Un remerciement particulier à une personne très cher d'une valeur exceptionnelle, je dédie ce mémoire pour toi cher da3chouchi (ABD ELHADI REKROUK), ta présence ma vraiment aidé, tes conseil et té encouragement m'ont tellement aider à avancer, je remercie Dieu de t'avoir mis sur mon chemin ,merci pour ta présence .

# SOMMAIRE

<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>LISTE DES FIGURES</b>	
<b>LISTE DES TABLEAUX</b>	
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b>	
<b>RESUME</b>	
<b>INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>ÉTUDES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
<b>CHAPITRE 1 : <i>HELICOBACTER PYLORI</i></b>	
1- Historique de la découverte de la bactérie	3
2- Caractéristiques générales	4
2-1 Taxonomie actuelle	4
2-2 Caractères morphologiques	5
2-3 Croissance et caractères cultureux	6
2-4 Caractéristiques biochimiques et physiologiques	6
2-5 Caractéristiques génotypiques	6
3- Epidémiologie	7
4- Les facteurs de risque et d'acquisition de l'infection par <i>H.pylori</i>	7
5- Réservoir de <i>H.pylori</i>	7
6- Mode de transmission	8
6-1 Transmission direct	8
6-2 Transmission indirect	8
7- Pathologies associées à l'infection à <i>Helicobacter pylori</i>	9
7-1 Rappels anatomo-histologique de l'estomac	9
7-1-1 Anatomie descriptive de l'estomac	9
7-1-2 Histologie de l'estomac	10
7-2 Pathologies associées à <i>H.pylori</i>	11
7-2-1 Ulcère gastro-duodéal	13
7-2-2 Gastrite atrophique et métaplasie intestinale	14
7-2-3 Lymphome gastrique du MALT	15
7-2-4 Cancer gastrique	16
<b>CHAPITRE 2 : MECANISME PHYSIOPATHOLOGIQUE DE L'INFECTION A <i>H.PYLORI</i></b>	
1- Facteurs de virulence	19
1-1 Facteurs de virulence important pour la colonisation de l'hôte	19
1-1-1 Mobilité et chimiotactisme	19
1-1-2 Résistance à l'acidité gastrique	20
1-1-3 Le lipopolysaccharide (LPS)	21
1-2 Facteurs d'adhérence	22
2- Facteurs de virulence majeurs	23
2-1 Inflammation et lésions tissulaires	23
2-1-1 La cytotoxine vacuolisante Vac A	23

2-1-2	Effets physiopathologiques	24
2-2	L'îlot de pathogénicité Cag A	27
3-	Déterminismes pathologiques associées à <i>H.pylori</i>	29
3-1	Facteurs de l'hôte	30
3-2	Facteurs environnementaux	32
4-	Physiopathologie et évolution vers le stade néoplasique	32

### **CHAPITRE 3 : DIAGNOSTIC DE L'INFECTION A *H.PYLORI***

1-	Diagnostic par des méthodes invasives	35
1-1	Analyse anatomohistologique	35
1-2	Biologie moléculaire	36
1-3	Tests rapides à l'uréase (TRU)	36
1-4	Culture bactérienne	37
2-	Diagnostic par des méthodes non invasives	37
2-1	Sérologie	37
2-2	Test rapide à l'urée marquée	37
2-3	Recherche d'antigène dans les selles	38
3-	Traitement de l'infection à <i>H.pylori</i>	38
3-1	Traitement séquentiel	39
3-2	La quadrithérapie bismuthée (OBMT)	39

## **ÉTUDES EXPERIMENTALES**

<b>MATERIELS ET METHODES</b>	43
<b>RESULTATS ET DISCUTOINS</b>	
<b>CONCLUSION</b>	69
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	70
<b>ANNEXES</b>	
<b>GLOSSAIRE</b>	

**LISTES DES FIGURES**  
**ET**  
**DES TABLEAUX**

<b>N°</b>	<b>Titre de la figure</b>	<b>Page</b>
<b>Figure N°01</b>	Photo de Warren et Marshall.	3
<b>Figure N°02</b>	Examen microscopique d'une culture après coloration de Gram.	5
<b>Figure N°03</b>	Visualisation de <i>H.pylori</i> en microscopie électronique.	5
<b>Figure N°04</b>	Anatomie de l'estomac.	9
<b>Figure N°05</b>	Histologie de l'estomac.	10
<b>Figure N°06</b>	Gastrite érythémateuse diffuse positive à <i>H.pylori</i> .	12
<b>Figure N°07</b>	Gastrite antrale positive à <i>H.pylori</i> .	12
<b>Figure N°08</b>	Gastrite érosive et nodulaire positive à <i>H.pylori</i> .	12
<b>Figure N°09</b>	Évaluation de la gastrite à <i>H.pylori</i> selon la classification de Sydney.	13
<b>Figure N°10</b>	Ulcère gastrique prépylorique (A), multiple ulcère bulbaire (B).	14
<b>Figure N°11</b>	Lymphome gastrique du MALT, chez une patiente de 46 ans, visualisé par endoscopie et histologie.	15
<b>Figure N°12</b>	Rôle d' <i>H.pylori</i> dans le développement des pathologies gastroduodénales basé sur la cascade proposée par Correa.	16
<b>Figure N°13</b>	Représentation schématique d'un modèle de la génération du cancer épithélial gastrique par les cellules souches.	17
<b>Figure N°14</b>	Coupe histologique des deux types d'adénocarcinome gastrique.	18
<b>Figure N°15</b>	Structure de L'uréase de <i>H.pylori</i> .	20
<b>Figure N°16</b>	Structure du lipopolysaccharide de <i>H.pylori</i> .	21
<b>Figure N°17</b>	Organisation génétique du gène vac A.	24
<b>Figure N°18</b>	Effets pathologiques de VacA sur les cellules de l'hôte.	26
<b>Figure N°19</b>	Modèle du fonctionnement de l'appareil de sécrétion de type VI de <i>H.pylori</i> .	27
<b>Figure N°20</b>	Rôle de l'Ilot Cag et de la protéine Cag A.	28
<b>Figure N°21</b>	Déterminisme pathologique lie à <i>H.pylori</i> .L'évolution vers le cancer gastrique est la conséquence d'une interaction complexe entre les facteurs bactériens, de l'hôte et environnementaux.	34
<b>Figure N°22</b>	Visualisation <i>H.pylori</i> sur coupe histologique après coloration HE grossissement100.	35

<b>Figure N°23</b>	Test de l'urease en milieu Uree –Indol.	36
<b>Figure N°24</b>	Culture de <i>H.pylori</i> obtenue après trois jours d'incubation sur boîte au sang.	37
<b>Figure N°25</b>	Principe du test respiratoire à l'urée marquée au C <sup>13</sup> .	38
<b>Figure N°26</b>	Algorithme des trois lignes de traitement de l'infection à <i>H.pylori</i> recommandées en France.	40
<b>Figure N°27</b>	Prélèvement de biopsie gastrique par endoscopie digestive haute (FOGD).	44
<b>Figure N°28</b>	Observation microscopique d'un frottis préparé à partir d'une biopsie gastrique et colorée par la méthode de Gram.	50
<b>Figure N°29</b>	Mise en évidence du test à l'uréase.	51
<b>Figure N°30</b>	Aspect des colonies de <i>H.pylori</i> sur gélose Columbia au sang frais.	51
<b>Figure N°31</b>	Aspect microscopique d' <i>H.pylori</i> après coloration de Gram.	52
<b>Figure N°32</b>	Mise en évidence de la catalase.	53
<b>Figure N°33</b>	Mise en évidence de l'oxydase	53
<b>Figure N°34</b>	API Campylobacter.	54
<b>Figure N°35</b>	Visualisation de <i>H.pylori</i> sur coupe histologique après coloration HE.	54
<b>Figure N°36</b>	Effectif des hommes positifs à <i>H.pylori</i> .	56
<b>Figure N°37</b>	Effectif des femmes positives à <i>H.pylori</i> .	56
<b>Figure N°38</b>	Répartition des résultats selon le site de prélèvement.	57
<b>Figure N°39</b>	Répartition des patients infectés par <i>H.pylori</i> selon le type de pathologie gastrique.	58
<b>Figure N°40</b>	Aspect endoscopique d'une gastrite antrale érythémateuse, érosive et nodulaire	59
<b>Figure N°41</b>	Aspect endoscopique d'un ulcère gastrique.	59
<b>Figure N°42</b>	Aspect endoscopique d'un adénocarcinome gastrique (Au niveau de l'angulus).	59
<b>Figure N°43</b>	Aspect histopathologique d'une métaplasie intestinale.	60
<b>Figure N°44</b>	Taux de positivité selon le teste utilisé.	60
<b>Figure N°45</b>	Carcinome a cellules indépendantes en bague de chaton coloré par la méthode HE.	66

<b>N°</b>	<b>Titre du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Taux de positivité globale à <i>H.pylori</i> après culture	55
<b>Tableau 2</b>	Répartition des résultats en fonction du sexe	55
<b>Tableau 3</b>	Présence d' <i>H.pylori</i> dans le différent siège de prélèvement	56
<b>Tableau 4</b>	Tableau représentant l'association entre <i>H.pylori</i> et les différents types de pathologies gastriques	58
<b>Tableau 5</b>	Répartition des résultats selon la sensibilité des tests utilisés	60

ADN :	Acide desoxyribonucléique.
ALP (A/ B):	Adhésion associated protein A et B.
ARN:	Acide ribonucléique.
ARNm:	Acide ribonucléique messenger.
BabA:	Blood group antigen binding adhesion.
BMCD:	<i>Bone Marrow-Derived Cells</i> , cellules originaires de la moelle osseuse.
cagPAI :	Ilot de pathogénicité cag.
COX :	Enzyme pro-inflammatoire de la famille des cyclo-oxygénase.
CO <sub>2</sub> :	Dioxyde de carbone.
C0:	Degré Celsius.
DupA :	Duodenal ulcer promoting gène.
EHS :	Enterohepatic Helicobacter species. (Espèces de Helicobacter entérohépatique).
EHSG:	European Helicobacter study groupe.
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay.
FISH:	Fluorescence in situ hybridation.
FOGD:	Fibroscopie oesophago - gastro –duodénale.
Fla A:	Flagelline majeure A.
Fla B:	Flagelline mineure B.
H.E:	Hématoxyline éosine.
<i>H. pylori</i> :	<i>Helicobacter pylori</i> .
IARC:	Agence internationale de recherche sur le cancer.
IFN :	Interféron.
IL :	Interleukine.
IPP :	Inhibiteurs de la Pompe à Proton.
KDa:	Kilodalton.
LB :	Lymphocytes B.
Le :	Antigène Lewis.
LPS :	Lipopolysaccharide.
LT :	Lymphocytes T.
MALT :	<i>Mucosa Associated Lymphoid Tissue</i> , tissu lymphoïde associé aux muqueuses.
MH:	Muller Hinton.
NF- B:	Nuclear Factor B.
NHPH:	Non – <i>H. pylori Helicobacter</i> .
NK:	Natural killer.

OipA:	Outer inflammatory protein.
OMP :	Outer membrane protein.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
ON :	Oxyde nitrique.
PAMP:	Pathogen-associated molecular patterns.
PCR:	Polymerase Chain Reaction.
PG:	Peptidoglycane.
pH:	force d'Hydrogène.
PN:	Polynucleaires.
RGO:	Reflux gastro-oesophagien.
SabA:	Sialic acid binding adhesion.
SHP:	Tyrosine phosphatase.
SSTIV:	Système de sécrétion de type IV.
Th:	T helper.
TLR:	Toll-Like receptor.
TNF:	Tumor necrosis factors.
VacA:	Vacuolating cytotoxin A.

## Résumé

*H.pylori* est une bactérie répandue dans tous les pays et dans tous les continents. A l'échelle mondiale, sa prévalence est supérieure à 50%. Cette bactérie constitue un problème de santé publique notamment dans les pays en voie de développement. L'infection entraîne une gastrite pouvant évoluer vers des formes sévères d'ulcération et de transformation maligne. L'*H.pylori* est classé comme agent carcinogène de classe I par l'IARC. Une étude prospective a été conduite d'Avril à Décembre 2014 sur un total de 45 patients qui consultaient dans le service de médecine interne et le service de gastroentérologie au Centre hospitalo-universitaire CHU NEDIR Mohamed. Cette étude avait pour objectif de diagnostiquer *H.pylori* par des techniques invasives (Test rapide à l'uréase, culture et examen histologique).

Notre série a démontré que sur un total de 45 patients atteints de pathologies gastriques associées à *H.pylori*, 13% (n= 06 )se sont avérés positifs après culture et 80% (n=36) positive à l'examen histologique des biopsie et que la positivité à *H.pylori* était de 82% (n= 19) chez les femmes et de 77% (n=17) chez les hommes selon les résultats d'histologie. Notre étude a démontré également que *H.pylori* est impliquée dans 71% (n= 32) des gastrites, 4% (n= 2)des ulcères et 24% (n=11) des cancers gastrique (Uniquement 2 sont avérés positifs après culture). Cet agent à l'origine de ces différentes pathologies gastriques a comme siège préférentiel l'antre gastrique avec un taux de 57% (n=26) de notre population.

La recherche de cette bactérie par l'examen histologique reste l'examen de référence pour le diagnostic de l'infection dans notre étude. L'étude anatomo-pathologique des biopsies gastrique permet non seulement de détecter *H.pylori*, mais aussi d'évaluer les lésions histologiques associées et de diagnostiquer d'éventuel cancer parfois à un stade précoce par la découverte de lésions précancéreuse telle que l'atrophie, la métaplasie intestinale et la dysplasie.

La culture de *H.pylori* avec étude de la sensibilité aux antibiotiques est recommandée chaque fois que possible et particulièrement après échec d'un traitement d'éradication. Cette technique reste délicate à cause des caractères exigent de la bactérie en milieu de transport, et milieu de culture, dans notre étude, sur un total de 45 patients uniquement 06 cultures était positives à *H.pylori* cela est du au manque de moyens et au contraintes rencontrées lors de la conservation des biopsies.

**Mots clés :** *H.pylori*, cancer gastrique, gastrite, culture bactérienne.

## Abstract

*H.pylori* is a bacterium spread in all the countries and all the continents. On a worldwide scale, its prevalence is higher than 50%. This bacterium constitutes public health problems in particular in the countries in the process of development. The infection involves a gastritis being able to evolve to severe forms of ulceration and malignant transformation. *H.pylori* is classified like carcinogenic agent of class I by the IARC. An exploratory study was led from April to December 2014 on a total of 45 patients who consulted in the service of internal medicine and the service of gastroenterology in the Teaching hospital university hospital NEDIR Mohamed. This study aimed to diagnose *H.pylori* by invasive techniques (fast Test with urease, culture and histological examination).

Our series showed that on a total of 45 patients reached of gastric pathologies associated with *H.pylori*, 06 proved to be positive after culture and that positivity with *H.pylori* is of 82% among women and 77% at the men according to the results of histology.

Our study also showed that *H.pylori* is implied in 71% of the gastritides, 4% from the ulcers and gastric 24% of cancers (Only 2 are proven positive after culture). This agent at the origin of these various gastric pathologies has like sits preferential the gastric cave with a rate of 57%.

The search for this bacterium by the histological examination remains the examination of reference for the diagnosis of the infection in our study. The anatomo-pathological study of the biopsies gastric not only makes it possible to detect *H.pylori*, but also to evaluate the associated histological lesions and to diagnose possible cancer sometimes at an early stage by the precancerous discovery of lesions such as the atrophy intestinal metaplasia and dysplasia.

The culture of *H.pylori* with study of the sensitivity to antibiotics is recommended each time possible and particularly after failure of a treatment of eradication.

This technique remains delicate because of characters require bacterium in medium of transport, culture and conditions of conservation.

**Keywords:** *H.pylori*, gastric cancer, gastritis, bacterial culture.

# INTRODUCTION

Jusqu'au début des années 80, une éventuelle implication bactérienne dans les pathologies gastriques n'avait jamais été envisagée. Seul le rôle de l'hyperacidité gastrique liée au stress et à d'autres facteurs environnementaux et génétiques était pris en considération, avec comme conséquence la prescription de quantités astronomiques d'antiacides à de très nombreux patients durant des générations, sans jamais parvenir à éviter les rechutes. La récente découverte (1983) de l'implication d'*Helicobacter pylori* (*H.pylori*) dans l'étiologie des pathologies gastriques par Barry James Marshall et John Robin Warren a révolutionné le monde de la gastroentérologie avec en prime l'attribution, en 2005, du Prix Nobel de Médecine et de Physiologie à ces imminents chercheurs Australiens. Il est aujourd'hui clairement établi que toute colonisation de la muqueuse de l'estomac par *H.pylori* entraîne une gastrite pouvant évoluer vers des formes plus sévères d'ulcération ou de transformation maligne. *H.pylori* est la seule espèce bactérienne reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant cancérigène pour l'Homme. L'infection est généralement acquise dans l'enfance et perdure pendant des dizaines d'années. Près de la moitié de la population mondiale est infectée dont 78% en Algérie (Joutei et *al.*, 2010). Cette bactérie vient en tête des facteurs déclencheurs du cancer de l'estomac, qui vient en deuxième position des cancers les plus répandus en Algérie. On estime que 8 personnes sur 10, en Algérie, sont porteurs de la bactérie, soit 90% de la population. Le cancer de l'estomac est plus répandu chez les personnes âgées de 50 à 60 ans dont les hommes sont les plus touchés par cette pathologie. Les prévisions de l'Institut national de Santé Publique font état de 45000 nouveaux cas de cancer par an, soit 120 cas pour 100.000 habitants, tandis que celui du cancer de l'appareil digestif est de 20 cas pour 100.000 habitants (4000 cas /an) (Santé-Mag,2013). Le diagnostic de l'infection peut se faire par différentes méthodes. Le gros avantage de la culture (méthode invasive) est la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Actuellement le taux de succès d'éradication de l'infection est à son plus bas niveau, notamment en raison de la résistance aux antibiotiques.

L'éradication de *H.pylori* est difficile car les antibiotiques utilisés doivent parvenir dans le mucus gastrique et y atteindre une concentration bactéricide malgré le milieu acide qui diminue leur activité. En outre,*H.pylori* a une capacité élevée de variation génomique, responsable de l'émergence fréquente de résistance sous la pression de sélection des antibiotiques. Ces contraintes expliquent que les traitements d'éradication doivent associer deux antibiotiques et un traitement antisécrétoire à forte posologie pour élever le pH intra gastrique (Conférence de consensus,1999).

Dans ce contexte que s'inscrit notre étude dont les objectifs sont les suivants :

- Nous nous sommes attachés dans cette étude à préciser la corrélation entre la présence de l'adénocarcinome gastrique et la présence de *H.pylori* par la mise en évidence directe de cette bactérie à partir de biopsies gastriques prélevées chez les malades qui présentaient une symptomatologie évocatrice d'une pathologie gastroduodénale.
- Evaluer la prévalence de *H.pylori* chez les ulcéreux et les adénocarcinomes.
- Isolement et caractérisation phénotypique et biochimique d' *H.pylori* à partir des biopsies gastriques de malades porteurs d'ulcère gastrique et d'adénocarcinome gastrique.
- Examen anatomopathologique et cytologique des biopsies gastriques prélevées par endoscopie digestive haute.
- Tester la sensibilité des souches isolées avec certains antibiotiques les plus couramment utilisés dans les schémas d'éradication (Imidazolés, Macrolides, Cyclines Amoxicilline).

Le travail que nous allons faire pour atteindre ces objectifs comprend trois parties :

- Une première partie constituée par un ensemble de rappels d'ordre bibliographique.
- La deuxième partie rappelle les principales caractéristiques biochimiques et microbiologiques de *H.pylori*. Les principaux facteurs de virulence bactériens sont détaillés ainsi que les diverses pathologies associées à la bactérie.
- Une troisième partie correspond à notre travail personnel, constituée par l'exposé de notre méthodologie et les résultats obtenus et la conclusion.

**ÉTUDES BIBLIOGRAPHIQUES**

## CHAPITRE 1 : *HELICOBACTER PYLORI*.

### 1- Historique de la découverte de la bactérie :

En 1906, un médecin allemand, Walter Krienitz, a observé pour la première fois des bactéries spiralées dans l'estomac d'un patient atteint d'un cancer (Ricketts *al.*, 2006). Les scientifiques de l'époque étant convaincus de la stérilité de l'estomac, vu la très forte acidité qui y règne, n'accordent pas d'importance à cette observation pensant qu'il ne peut s'agir que de contaminants. (Mégraud, 2005). Ce n'est qu'au début des années 1980 que de telles bactéries sont cultivées et étudiées : Robin Warren, un pathologiste australien constate la présence de bactéries spiralées, dans la moitié des biopsies gastriques qu'il prélève. Il fait l'hypothèse qu'elles sont à l'origine de gastrites chroniques et d'ulcères gastroduodénaux, pathologies que l'on pensait, jusque-là, liées au stress ou à la nourriture épicée (Ferrand, 2009). Intéressé par ces résultats, Barry Marshall, un étudiant de Robin Warren, a été le premier à réussir à cultiver cette bactérie en 1982 (Marshall and Warren, 1984; Mégraud, 2005). De par ses similarités avec *Campylobacter jejuni*, cet organisme a tout d'abord été dénommé *Campylobacter pylori*. Cependant, différentes études portant sur les caractères génétiques (séquences des ARNr 16S, pourcentage de G+C) et phénotypiques (morphologie, structure, composition en acides gras, activités enzymatiques) ont permis d'individualiser cette bactérie dans un nouveau genre, et de la renommer *H. pylori* (Goodwin *et al.*, 1989).

*H. pylori* est classé carcinogène de type I par l'Organisation Mondiale de la Santé et aujourd'hui, il est considéré comme l'agent étiologique principal des cancers liés aux infections bactériennes (Parkin *et al.*, 2005). La découverte de *H. pylori* a valu le prix Nobel de médecine à ces deux chercheurs australiens (**Figure N°01**) et maintenant, il est clairement établi que toute colonisation de la muqueuse gastrique par *H. pylori* entraîne un état inflammatoire de gastrite, pouvant évoluer vers des formes plus sévères d'ulcération (ulcères gastriques et duodénaux) ou de transformation maligne (cancer gastrique et lymphome du MALT).



Figure N°01 : Photo de Warren et Marshall.

## 2- Caractéristiques générales :

### 2-1 Taxonomie actuelle :

La classification actuelle de l'espèce *H.pylori* montre une appartenance au règne des Eubactéries, à l'embranchement des *Proteobacteria*, à la classe des *Epsilonproteobacteria*, à l'ordre des *Campylobacterales*, à la famille des *Helicobacteraceae* et enfin au genre *Helicobacter* (Garrity et al., 2005). La méthode de référence pour la détection et l'identification des espèces du genre *Helicobacter* est apportée par des techniques de biologie moléculaire en particulier par l'étude de la séquence de l'ARN 16S (Okoliet al., 2009).

Aujourd'hui, au moins 31 membres de ce genre autres que *H.pylori* ont été décrits (Haesebrouck et al., 2009). En fonction du tropisme de ces bactéries, les espèces du genre *Helicobacter* peuvent être classées en deux groupes : les espèces gastriques et les espèces entérohépatiques (entérohépatique *Helicobacter* species, EHS). Toutes les espèces gastriques possèdent une uréase à l'inverse de la plupart des EHS (Pot et al., 2007). Les espèces gastriques, comme *H. heilmannii*, semblent posséder un pouvoir pathogène et être responsables de gastrites, d'ulcérations gastriques, de carcinomes ou de lymphomes (Boyanova et al., 2007; Nishikawa et al., 2007; Qualia et al., 2007). Plusieurs espèces d'EHS ont été associées à un spectre pathologique large allant de l'inflammation au cancer du tractus digestif et du système hépatobiliaire et à un risque augmenté de calculs biliaires (Bohr et al., 2007; Pandey, 2007; AbuAl-Soud et al., 2008; Vivekanandan and Torbenson, 2008).

### ; Autres espèces du genre *Helicobacter* :

A ce jour, on dénombre une quarantaine de *Helicobacter* autres que *H.pylori* (NHPH = Non-*H.pylori Helicobacter*). Certaines espèces ont un tropisme gastrique; la majorité est cependant constituée d'espèces entéro-hépatiques.

- **Espèces gastriques :**

Des NHPH avec une morphologie spiralée ont été détectés chez de très rares patients (< 0,5%) ayant subi une endoscopie (Holck et al., 1997; Solnick et al., 1993). Initialement tous regroupés sous le vocable *H. heilmannii*, le séquençage a permis de caractériser 5 principales

espèces que l'on retrouve aussi au niveau de l'estomac des animaux (Haesebrouck et al., 2009), *H.suis*, espèce la plus fréquente chez l'homme, isolée pour la première fois par une équipe vétérinaire belge à partir de l'estomac d'un porc (Baele et al., 2008).

*H. felis*, retrouvé chez les chats et les chiens. L'homme serait un hôte occasionnel.

*H. bizzozeronii*, cultivé pour la première fois en 1996 (Andersen et al., 1996) et identifié comme tel, quelques années plus tard (Jalava et al., 2001). *H. salomonis*, isolé également de l'estomac des chiens et *Candidatus Helicobacter heilmannii*, nom proposé par l'équipe du Professeur Ducatelle (Belgique), en cours de reconnaissance (Smet et al., 2011).

- **Espèces entéro-hépatiques :**

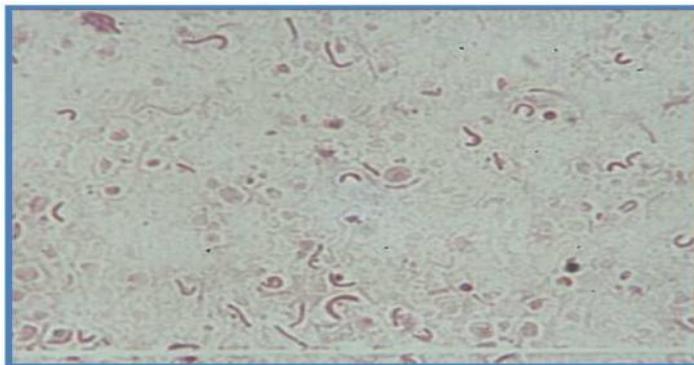
Elles sont retrouvées dans le tractus intestinal et le foie des mammifères et des oiseaux. Elles peuvent occasionner des inflammations ou des affections malignes chez des individus présentant un déficit immunitaire. Les principales espèces retrouvées chez l'homme sont:

*H. canadensis*, *H. canis*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. pullorum*, *H. rappini* et *H. winghamensis* (Jay et al., 2001, Laharie et al., 2009).

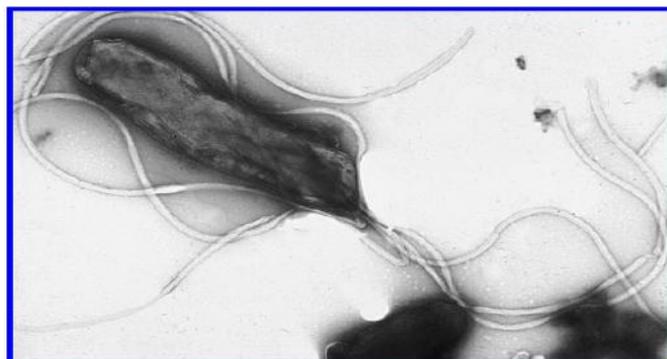
## 2-2 Caractères morphologiques :

*H. pylori* est une bactérie de forme hélicoïdale découverte dans une zone de l'estomac proche du pylore, d'où son nom, sa définition se résume en 3 mots : hélico (du Grec hélikoïde, qui veut dire spiralé), bacter (bâtonnet) ; pylori désigne le pylore ce qui donne un bâtonnet spiralé du pylore (Bigard, 2004). Elle se présente sous forme d'un bacille à Gram négatif spiralé ou incurvé de 2,5 à 5 micromètres de long sur 0,5 à 1 micromètre de large (Denis et al., 2007). In vitro sur gélose au sang des Petites colonies, de taille uniforme, translucides se forment et les organismes peuvent être caractérisés morphologiquement par la coloration de Gram et de leur spirale typique ou l'apparence en forme de tige (**Figure N°02**). La bactérie ne forme pas de spores mais peut adopter une forme coccoïde lorsqu'elle atteint la phase stationnaire de croissance, Ces formes coccoïdes sont censés représenter une adaptation à un milieu hostile; ils semblent être plus résistants et peuvent permettre à l'organisme de survivre pendant des périodes en dehors de l'hôte humaine ou dans les matières fécales (O'Rourke et Günter, 2001).

Au microscope électronique révèle que la bactérie possède 3 à 6 flagelles polaires et engagés conférant une motilité et permettant un mouvement de rotation caractéristique rapide (mouvement péritriche) dans la muqueuse gastrique visqueuse lui assurant ainsi une meilleure colonisation (O'Toole et al., 2000) A l'extrémité distale de ses flagelles on observe un disque ou bulbe que l'on retrouve dans aucune autre espèce d'*Helicobacter* (**Figure N°03**).



**Figure N°02:** Examen microscopique d'une culture après coloration de Gram. *H. pylori* apparaît sous diverses formes: bacillaire, incurvé, en U en C ou en O.  
(Photo de VY. Miendje, CHU-Brugmann)



**FigureN°03:** Visualisation de *H. pylorien* microscopie électronique  
(Photo du prof. Yutaka Tsutsumi, université de Fujita, Japon).

### 2-3 Croissance et caractères cultureux :

*In vivo*, la croissance de *H. pylori* est difficile et lente (2 à 7 jours en atmosphère microaéroophile à 37°C) et nécessite des milieux riches additionnés de sang, de sérum ou de suppléments d'enrichissement (Owen, 1995). La bactérie est sensible à la composition gazeuse de l'environnement et ne pousse que dans une atmosphère microaérobie, typiquement composée de 5% d'oxygène, 5% de dioxyde de carbone, 2% d'hydrogène et 88% d'azote, et une température comprise entre 33 et 40°C (Megraud *et al.*, 1985; Owen, 1995).

### 2-4 Caractères biochimiques et physiologiques :

*H. pylori* possède des enzymes antioxydantes que sont la superoxyde dismutase et la catalase qui protègent les bactéries des radicaux libres lui permettant une résistance au stress oxydatif généré par la réponse immunitaire ainsi que d'autres éléments de défense tels que l'alkylhydroperoxydase (Kusters *et al.*, 2006). Elle peut également résister à l'acidité gastrique en hydrolysant l'urée en ammoniac, grâce à son urease très active. L'activité de l'uréease bactérienne est cliniquement importante, car elle constitue la base de plusieurs tests invasifs et non invasifs pour diagnostiquer l'infection (Sheila E Crowe, 2013).

Elle a un métabolisme respiratoire et trouve son énergie principalement dans la phosphorylation oxydative, elle est caractérisée par l'incapacité à fermenter les sucres et à hydrolyser l'hippurate (Megraud *et al.*, 1985; Owen, 1995). Elle dispose d'un cytochrome oxydase, des amidases, peptidases, phosphatases alcalines, phosphatase acide, ADNase, gamma glutamyltranspeptidase, leucine aminopeptidase et lipase estérase, *H. pylori* est RM et VP négatifs (Ferrand, 2009).

### 2-5 Caractéristiques génotypiques :

*H. pylori* compte parmi les espèces bactériennes présentant le plus grand polymorphisme génétique (Taylor *et al.*, 1992; Jiang *et al.*, 1996; Linz *et al.*, 2007). Cette diversité génétique permet à *H. pylori* d'adapter son génotype à celui de son hôte (Israe *et al.*, 2001b; Giannakis *et al.*, 2008) et est probablement à l'origine de la variabilité de son pouvoir pathogène.

Le génome de *H. pylori* est séquencé depuis 1997 : il possède 1 667 867 paires de bases codant pour 1590 protéines essentielles. Environ 30% des gènes de *H. pylori* sont spécifiques à l'espèce et une grande variabilité génétique peut être retrouvée entre les différentes souches. Cette hétérogénéité se manifeste par des taux de mutation et de recombinaison importants, par l'acquisition d'ADN étranger (endogène ou exogène à l'espèce) et par des différences au niveau de l'organisation des gènes. *H. pylori* possède environ 1200 gènes communs à toute l'espèce et 200 à 400 gènes présents de manière variable chez les différentes souches (Gressmann *et al.*, 2005; Josenhans *et al.*, 2007; Salama *et al.*, 2000). La majorité des gènes variablement présents est retrouvée dans la zone de plasticité et dans l'îlot de pathogénicité *cag* (De Reuse and Bereswill, 2007).

L'importance des taux de mutation qui est de l'ordre de  $6,2-9,2 \times 10^{-7}$ , et de recombinaison serait due au manque d'efficacité du système de réparation de *H.pylori* (Bjorkholmet *al.*, 2001).

De plus, *H.pylori* peut posséder des plasmides ou des systèmes d'import d'ADN qui lui permettent d'augmenter son adaptabilité (Hofreuter and Haas, 2002; Karnholz *et al.*, 2006). Ainsi, les analyses *in silico* ont permis de montrer que les gènes de ménage ou de virulence peuvent être transférés entre bactéries. Ces gènes peuvent provenir d'autres espèces du genre *Helicobacter* mais également d'autres genres bactériens (Ferrand, 2009).

### 3- Epidémiologie :

L'infection à *H.pylori* est extrêmement commune à travers le monde : de 20 à 90 % des individus adultes sont infectés selon les pays. Sa prévalence est très élevée dans les pays en voie de développement ou elle peut atteindre 90% alors qu'elle peut ne pas dépasser 20% dans les pays industrialisés (Krejs, 2010). En effet, sa prévalence est > 90% en Asie, Amérique latine et pays en voie de développement, de 50 à 70% en Europe de l'Est et de 30% environ dans les pays Occidentaux (Biomnis, 2012).

Dans une étude menée entre 2003 et 2004, les chercheurs du CHU del'Hussein-Dey ont dévoilé une extrême fréquence de l'infection chronique par *H.pylori* dans la population générale. Sur un échantillon de 400 enfants et 431 adultes, il a été retrouvé une prévalence moyenne de 37% chez l'enfant (56% à l'âge de 16 ans) et de 86% chez l'adulte (96% pour les adultes de plus de 50 ans). Selon les conclusions de ces travaux, en Algérie la séroprévalence est très élevée, acquise très tôt dans l'enfance (Guechi, 2008).

Une fois acquise, elle persiste durant des décades voire toute la vie si absence de traitement, représentant ainsi un risque évolutif pour l'individu colonisé. Les données épidémiologiques : le réservoir bactérien, le risque d'infection au sein de la population, les circonstances et modes de transmission etc.... apporteront autant de précisions nécessaires pour le contrôle et la prévention de cette infection.

### 4- Les facteurs de risque de l'acquisition de l'infection par *H.pylori*:

Ils sont fréquemment liés à l'état socio-économique défavorable des familles, on entend par là le niveau économique qui détermine la taille du logement (partage des lits pendant l'enfance) et son niveau sanitaire, le risque d'infection est accru lorsque plusieurs personnes sont en contact étroit, c'est le cas d'une famille nombreuse (plusieurs enfants dans la même chambre, ce qui est très courant en Afrique) (Malaty *et al.*, 1996 ; Brown *et al.*, 2000). Ces conditions sont améliorées dans les pays industrialisés.

### 5- Réservoir de *H.pylori*:

Le seul réservoir significatif de *H.pylori* est l'estomac humain, bien que la bactérie soit retrouvée chez le chat domestique et certains primates (Ferrand, 2009). Néanmoins la bactérie a été retrouvée au niveau du duodénum, de l'œsophage, du rectum, des selles, de la salive et de la plaque dentaire. A ce jour, contrairement à l'estomac humain, l'isolement de *H.pylori* à partir des selles (Thomas *et al.*, 1992 ; Kelly *et al.*, 1994, Haggerty *et al.*, 2003 ); du vomit

(Parsonnet et al., 1999) ou de l'eau contaminée (Lu et al., 2002) a pu être effectuée dans de très rares cas. Plus récemment, il a été mentionné que *H.pylori* peut coloniser la vésicule biliaire et des voies biliaires.

## 6- Mode de transmission :

L'étude de la voie de transmission de l'infection à *H.pylori* est délicate à cause de son caractère asymptomatique dans la plupart des cas. On estime d'ailleurs que 70 % des infections sont asymptomatiques. La plus forte prévalence étant observée dans les communautés (familles ou institutions) de personnes ayant des contacts rapprochés ce qui explique la transmission interhumaine de personne à personne. L'infection est acquise durant la petite enfance le plus souvent par une transmission intra-familiale (mère/enfant, fratrie). Tout se joue au stade de l'enfance : si un individu n'est pas infecté avant l'âge de 10 ans, le risque qu'il le soit plus tard est très faible (Megraud, 2002).

### 6-1 Transmission direct :

Les sources les plus probables de transmission directe de l'infection sont :

- **La voie oro-orale :** Ce mode de transmission peut être potentialisé par les habitudes alimentaires spécifiques, tels que la prémastication des aliments par la mère avant l'alimentation des enfants qui est ainsi considérée comme la figure clé de transmission à la descendance (Kivi et al., 2006 ; Vale et al., 2010).

- **La voie gastro-orale :** Un taux élevé d'infection active à *H.pylori* a été détecté dans la fratrie des enfants infectés présentant des épisodes de vomissements (Luzza et al., 2000 ; Perry et al., 2006) confortant l'hypothèse d'une forte transmission de l'infection dans les communautés d'enfants où les régurgitations et vomissements sont fréquents (Axon, 1995). L'hypothèse gastro-orale explique aussi l'observation d'une plus forte prévalence de l'infection à *H.pylori* chez les gastro-entérologues effectuant des endoscopies (Mitchell et al., 1989 ; Lin et al., 1994 ; Velasco Elizade et al., 2007).

- **La transmission féco-orale :** Pour avoir une conséquence sur cette transmission, faut-il encore que ces bactéries soient viables. La survie de la bactérie est sans doute possible en cas de transit accéléré comme cela a été montré chez des nourrissons atteints de diarrhée et chez des adultes chez qui la diarrhée avait été induite (Perry et al., 2006).

### 6-2 Transmission indirecte :

L'homme pourrait aussi s'infecter indirectement via l'alimentation, les eaux non traitées, les animaux; cependant, il n'est pas encore prouvé que ce soient des véhicules naturels ou primaires de la transmission (Malaty et al., 2007, Vale et al., 2010).

Connaitre l'épidémiologie d'une infection et le mode de transmission de son agent est essentiel pour proposer des mesures de santé publique visant à limiter la diffusion de la maladie et donc à maîtriser ses conséquences pathologiques.

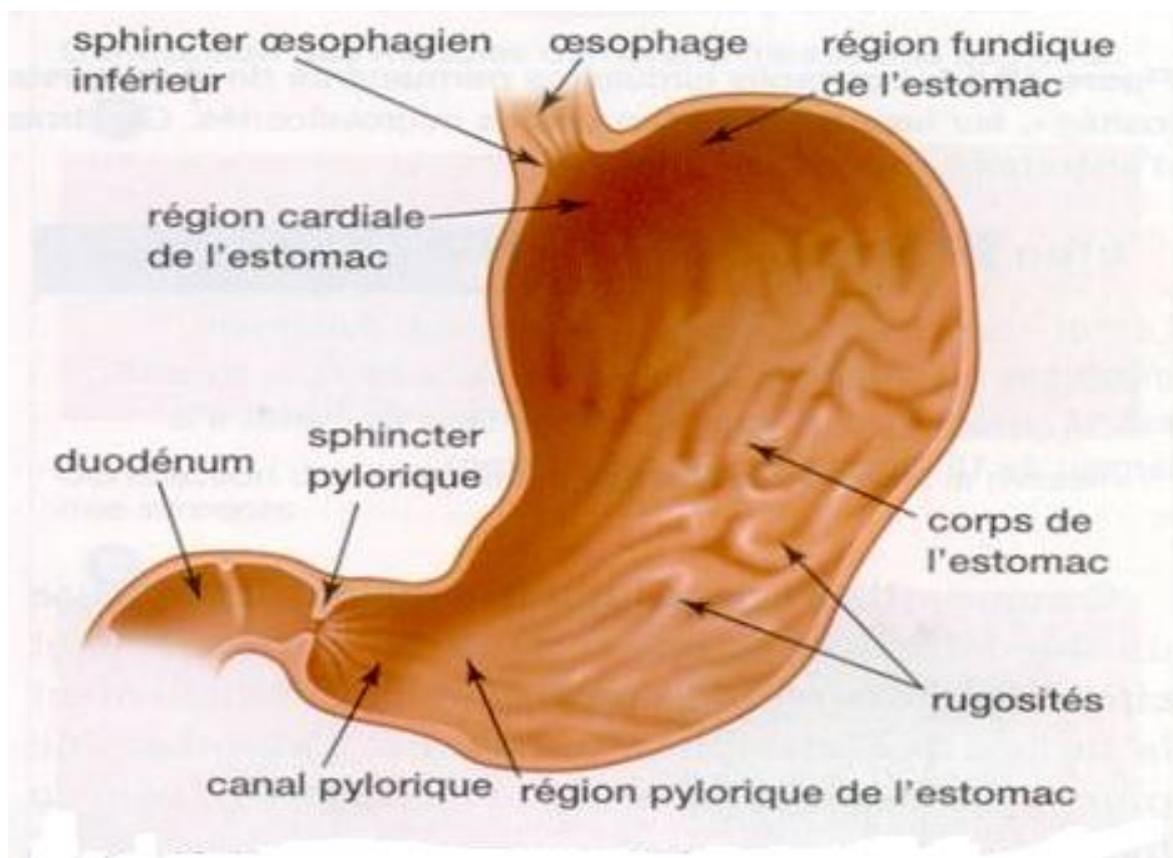
## 7- Pathologies associées à l'infection à *Helicobacter pylori* :

### 7-1 Rappel anatomo-histologique de l'estomac :

#### 7-1-1 Anatomie descriptive de l'estomac :

L'estomac est la portion du tube digestif en forme de poche, située entre l'œsophage et le duodénum. Chez l'être humain, l'organe est en forme de J majuscule. A l'âge adulte il fait environ 15 cm de haut, contient 0,5 litre à vide, et peut contenir jusqu'à 4 litres. L'estomac est en rapport anatomique avec le foie, la rate, le pancréas, le diaphragme et les intestins.

- Il présente une ouverture en haut, **le cardia** qui permet la jonction avec l'œsophage.
- **Le fundus** de l'estomac ou grosse tubérosité est mince et moins épais que les autres parties. Il a une principale fonction sécrétrice et comporte des glandes gastriques sur un quart de son épaisseur.
- **L'antre**, ne sécrète ni enzymes ni acide chlorhydrique, mais reçoit ces produits avec les aliments, continuant la décomposition commencée plus haut. Sa musculature est beaucoup plus importante, ce qui fait que son action est beaucoup plus mécanique que sécrétrice.
- La partie inférieure, **pylore**, comprend le muscle sphincter pylorique, qui permet la sortie cadencée du chyme gastrique dans le duodénum. Tout comme le cardia, un sphincter qui empêche le reflux du contenu duodénal vers l'estomac (**Figure N°04**) (Sherwood, 2006).



**Figure N°04 :** Anatomie de l'estomac (Sherwood., 2006).

**7-1-2 Histologie de l'estomac :**

Sur le plan histologique, la paroi interne de l'estomac est constituée de différentes couches (Figure N°05):

- **La muqueuse :** C'est la première couche en contact avec le bol alimentaire. Elle est constituée par l'épithélium et la lamina propria ainsi que d'une fine couche de muscle lisse la séparant de la sous-muqueuse. Elle est recouverte de mucus.

- **La sous-muqueuse :** Constituée d'une couche de tissu conjonctif fibreux et vascularisé assurant l'irrigation des cellules gastriques.

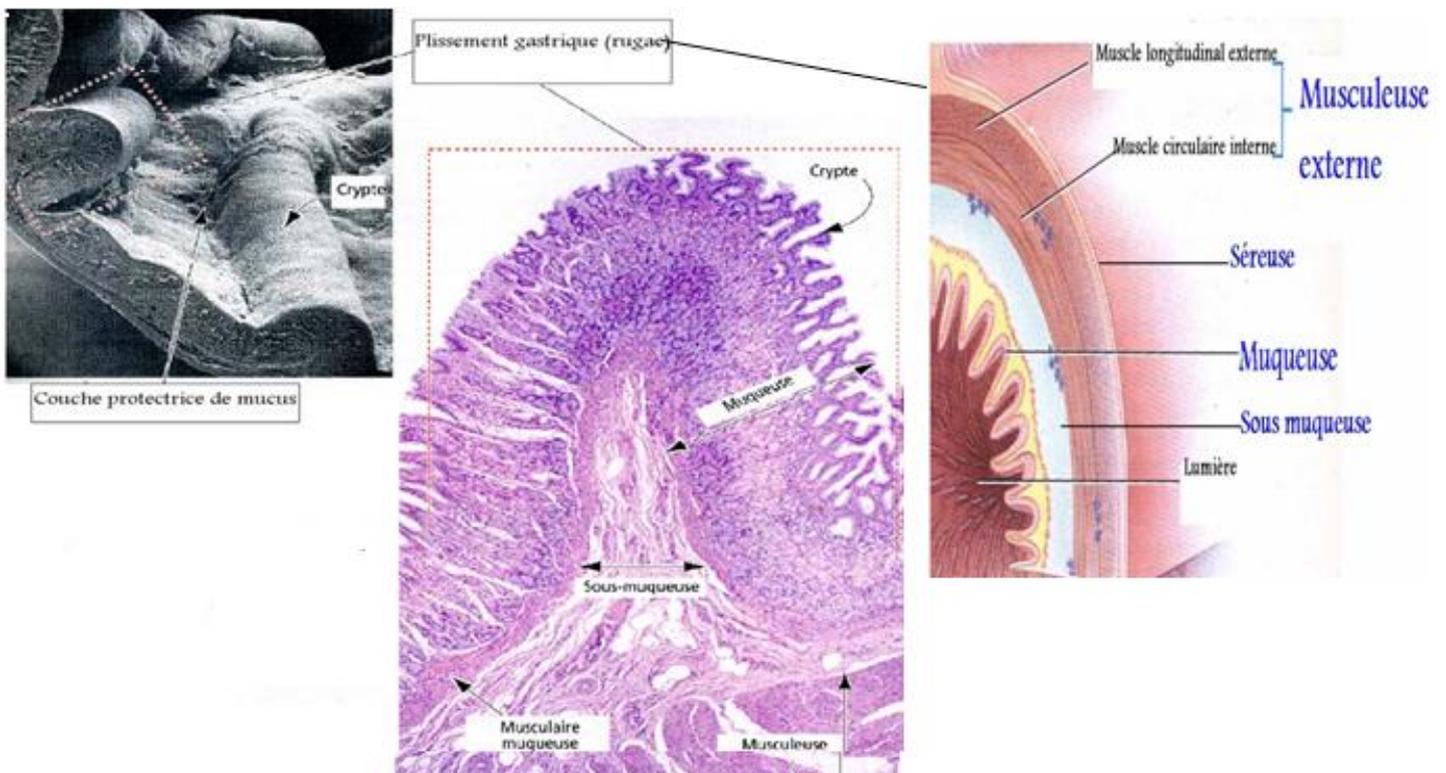
- **La couche musculaire:** Constituée de 3 couches de fibres:

- La couche musculaire oblique interne est responsable du mouvement de brassage mécanique des aliments. Cette couche est spécifique à l'estomac et n'est présente dans aucun autre organe du système digestif. La paroi musculaire interne de l'antre est plus épaisse que celle du fundus assurant des contractions plus forcées.

- La couche musculaire circulaire qui est également plus forte au niveau de l'antre. Cette couche est concentrique à l'axe longitudinal de l'estomac.

- La couche musculaire longitudinale externe.

- **La séreuse :** elle est composée de plusieurs couches de tissu conjonctif en continuité avec le péritoine qui recouvre la totalité de la paroi externe de l'estomac.



**Figure N°05** : Histologie de l'estomac (Sherwood, 2006; Kierszenbaum,2006).

## 7-2 Pathologies associées à l'infection par *H.pylori* :

Chez toutes les personnes infectées, la colonisation de la muqueuse de l'estomac par *H.pylori* entraîne une inflammation de la muqueuse gastrique définie par des lésions endoscopiques dénommée gastrite. Elle peut être cliniquement latente. Le plus souvent, asymptomatique (> 70% de cas) ou bien se manifester par des épigastralgies (douleur épigastrique, de la partie supérieure de l'abdomen). L'endoscopie et les biopsies montrent des lésions souvent diffuses, multiples et de degré variable : lésions érythémateuses et muqueuse d'aspect pétéchiale (Causse, 2013) (**Figure N°06**), odème et lésions purpuriques (rougeur) (**Figure N°07**), érosions et nodules superficiels (**Figure N°08**).

La physiopathologie de l'infection à *H.pylori* se manifeste par deux phases :

- **Phase aigue :**

Elle apparaît après ingestion, pénétration et déplacement de *H.pylori* dans le mucus grâce aux flagelles. L'activité uréasique de *H.pylori* permet sa survie en milieu acide en alcalinisant le milieu ambiant grâce à la production d'ammoniac.

20% des bactéries adhèrent aux cellules épithéliales par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. *H.pylori* provoque une diminution de la couche de mucus, fragilisant ainsi la muqueuse et lèse l'épithélium en produisant des cytotoxines ou des enzymes protéolytiques induisant l'altération des jonctions intercellulaires.

Cette phase est caractérisée par une inflammation aigue avec présence de polynucléaires. L'IL-8 sécrétée par les cellules épithéliales en réponse à l'infection par *H.pylori* permet le recrutement des polynucléaires neutrophiles qui, en phagocytant les bactéries, vont libérer des substances toxiques entretenant les lésions. Cette phase est de courte durée.

L'infection aigue s'accompagne d'une séroconversion avec la présence très transitoire des IgM, suivie d'une réponse IgG qui perdure alors tout le temps de l'infection (Skouloubris et Labigne, 1999 ; Soubhani et al., 2000 ; Lamarque et al., 2003) .

- **Phase chronique :**

En absence d'éradication, une phase chronique survient. Elle est caractérisée par une inflammation chronique active et une réponse immunitaire spécifique. Les polynucléaires persistent mais l'infiltrat inflammatoire est alors plutôt, constitué de cellules mononuclées, macrophages et lymphocytes T.

La présence de follicules lymphoïdes est fréquente et très importante chez l'enfant. La stimulation immunitaire, qui entretient la réaction de la muqueuse, semble due à la libération par *H.pylori* de nombreux facteurs immunogènes (Skouloubris et Labigne, 1999 ; Soubhani et al., 2000 ; Lamarque et al., 2003).

Cet état inflammatoire ainsi que la persistance de la bactérie sont des étapes clés dans le passage de la gastrite aigue vers une gastrite chronique (Kusters et al., 2006) (**Figure N°09**).



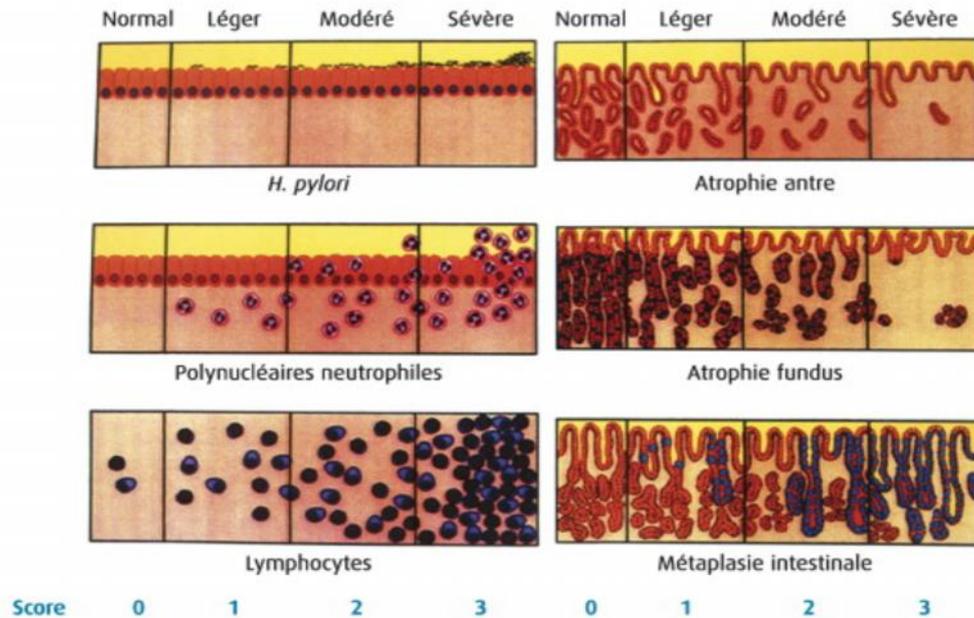
**Figure N°06** : Gastrite érythémateuse diffuse positive à *H.pylori*(Causse, 2013).



**Figure N°07** : Gastrite antrale positive à *H.pylori*(Causse, 2013).



**Figure N°08** : Gastrite érosive et nodulaire positive à *H.pylori*(Causse, 2013).



**Figure N°09:** Évaluation de la gastrite à *H.pylori* selon la classification de Sydney (Dixon et al., 1996).

Dans 10 à 20% des cas, la gastrite chronique évoluera vers des formes aiguës avec notamment des pathologies gastroduodénales telles que l'ulcère gastroduodéal (Marshall et al., 1984), le cancer gastrique ou le lymphome du MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) à faible degré de malignité (Wotherspoon et al., 1991). L'évolution de la gastrite chronique va varier en fonction de la localisation de l'infection (Graham, 1989 ; Correa, 1992 ; Uemera et al., 2001). Une gastrite à prédominance antrale est caractérisée par une hypersécrétion acide (El Omar et al., 1995). Elle évoluera dès lors vers un risque accru d'ulcère duodéal (pas de cancer gastrique). Une infection du fundus entraînera une hyposécrétion acide due à une raréfaction des cellules pariétales; elle évoluera vers l'ulcère gastrique, puis vers une gastrite atrophique chronique avec risque de cancer gastrique. Dans ce cas, l'hypergastrinémie réactionnelle jouerait un rôle essentiel dans la croissance tumorale par son effet trophique (Hansson et al., 1996).

### 7-1-1 Ulcères gastro-duodéal :

Les ulcères gastriques et duodénaux se caractérisent par des lésions d'au moins 0,5cm de diamètre pénétrant jusqu'à la couche musculaire. Ces deux types d'ulcères sont fortement associés à *H. pylori* et se développent dans les sites où l'inflammation est la plus sévère (Kusters et al., 2006).

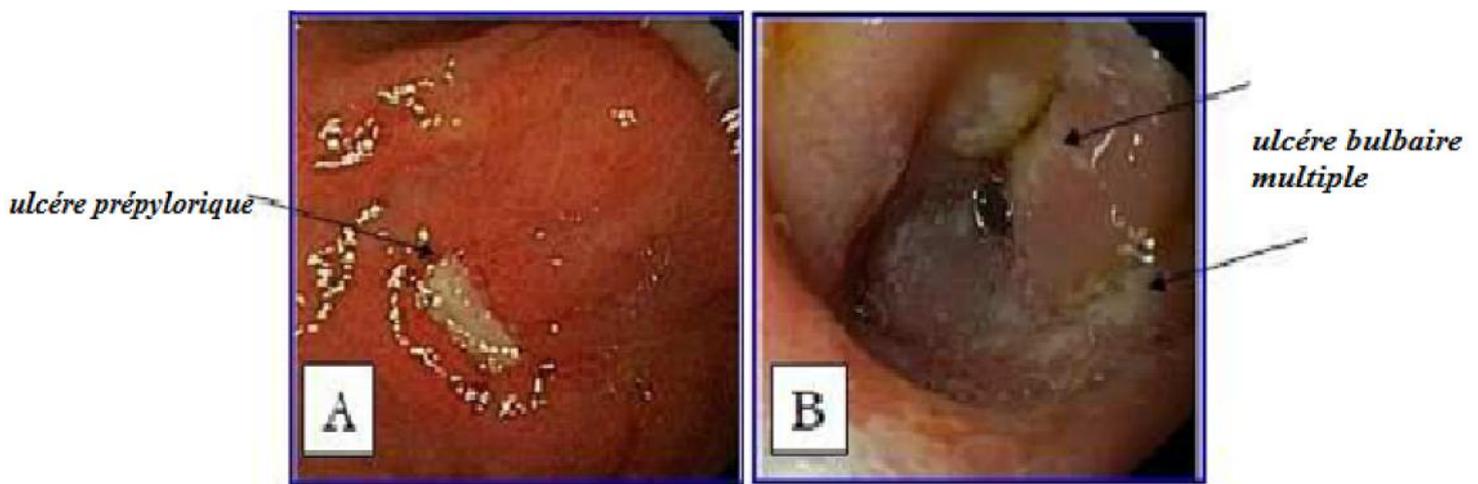
• **L'ulcère gastrique :** Est localisé vers l'antré, plus précisément dans la région de transition entre le corps de l'estomac et l'antré. L'ulcère gastrique résulte d'une pangastrite associée à une normochlorhydrie ou une hypochlorhydrie (Atherton, 2006) (**Figure N° 10A**).

• **L'ulcère duodéal** : Est localisé au niveau du bulbe duodéal qui est le plus exposé à l'acidité gastrique. La gastrite à prédominance antrale associée à une hyperchlorhydrie entraîne le développement de l'ulcère duodéal (Atherton, 2006).

Les patients atteints d'ulcère duodéal présentent des scores d'inflammation très élevés, des niveaux élevés de gastrine et d'acidité (el-Omar et *al.*, 1995).

La combinaison de ces facteurs physiopathologiques ainsi qu'un défaut de rétrocontrôle de la sécrétion acide contribuent fortement au développement de l'ulcère duodéal qui finalement est la résultante directe de l'inflammation de la muqueuse gastrite et indirecte par le biais de l'infection par *H.pylori*.

Les sujets qui développent des ulcères duodénaux sont protégés du risque de développement du cancer gastrique. L'infection pourrait également jouer un rôle dans l'apparition de polypes gastriques (Furuta and Delchier, 2009) (**Figure N°10B**).



**FigureN°10** : ulcère gastrique prépylorique (A), multiple ulcère bulbaire (B)  
(Furuta and Delchier, 2009).

### 7-1-2 Gastrite atrophique et métaplasie intestinale :

L'inflammation chronique induite par *H.pylori* peut entraîner une destruction des glandes gastriques et une perte de l'architecture normale de la muqueuse gastrique ce qui provoque la mise en place d'un épithélium de type intestinal.

Cet état de gastrite atrophique et métaplasie intestinale a lieu chez 50% des patients infectés par *H.pylori* et aux endroits où l'inflammation est la plus sévère (Kuipers et *al.*, 1995).

Le risque de développer une gastrite atrophique dépend de la distribution de l'inflammation chronique active. Les patients chez qui la production d'acide est diminuée montrent une progression plus rapide vers l'atrophie (Kuipers et *al.*, 1996).

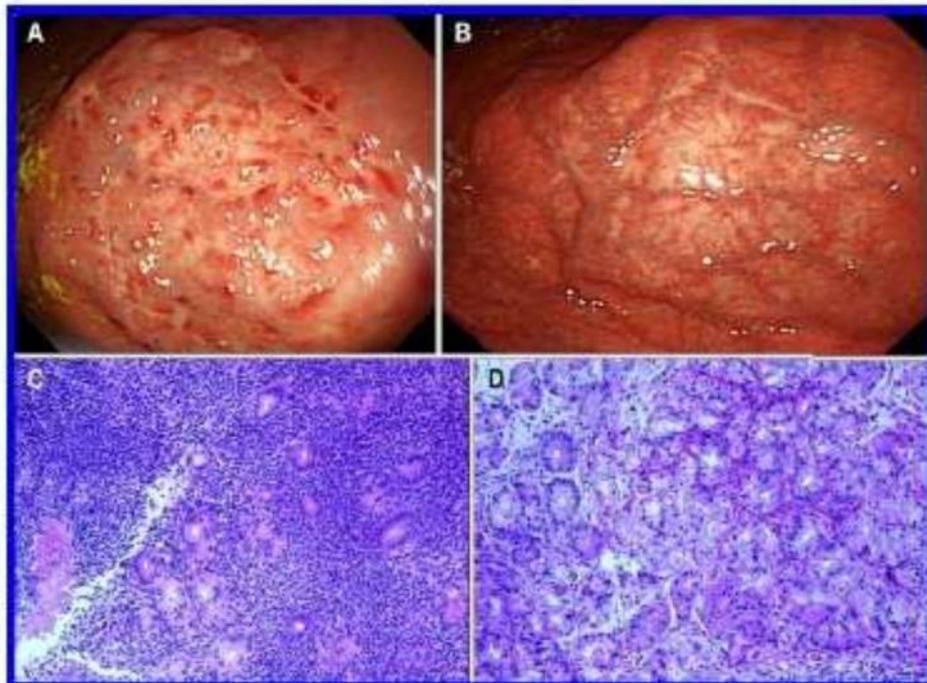
Les régions de métaplasie intestinale s'amplifient au cours du temps et augmentent considérablement le risque de cancer gastrique en fonction de la sévérité de l'atrophie (El-Omar et *al.*, 1997).

### 7-1-3 Lymphomes gastriques du MALT :

A l'état normal, la muqueuse gastrique est quasiment dépourvue de lymphocytes. L'infection à *H.pylori* a pour conséquence un afflux de lymphocytes de type B qui ont les caractéristiques des lymphocytes normalement présents au niveau des plaques de Peyer. La stimulation inflammatoire secondaire à l'infection à *H.pylori* peut aboutir à la formation de follicules lymphoïdes réactionnels. Lorsque ces follicules réactionnels sont nombreux, un aspect micronodulaire de la muqueuse gastrique peut être observé en endoscopie. Le lymphome gastrique du MALT (« *Mucosa Associated Lymphoma Tissue* ») correspond à une prolifération monoclonale des lymphocytes B de la zone marginale des follicules lymphoïdes.

L'éradication de *H.pylori* entraîne, dans 70 à 80% des cas, la régression de lymphomes gastriques du MALT de faible degré de malignité (Bayerdorffer et al., 1995).

A un stade plus avancé de malignité, la guérison par éradication de *H.pylori* est plus aléatoire, sans doute du fait de l'accumulation d'anomalies génétiques cellulaires irréversibles (Ng et al., 2000 ; Du, 2011) (**Figure N° 11**).



**Figure N° 11:** Lymphome gastrique du MALT, chez une patiente de 46 ans, visualisé par endoscopie et histologie (Suzuki et al., 2009).

- (A) Endoscopie réalisée 1 mois après éradication de *H.pylori*. Lésion nodulaires montrant des spots rouges dans le fond de l'image.
- (C) Image histologique correspondante, coloration Hematoxylin éosine. Infiltrat de cellules lymphocytaires formant des lésions lympho-épithéliales.
- (B) Endoscopie réalisée 22 mois après éradication. Régression des lésions.
- (D) Image histologique correspondante. Nette régression de l'infiltrat de cellules mononuclées.

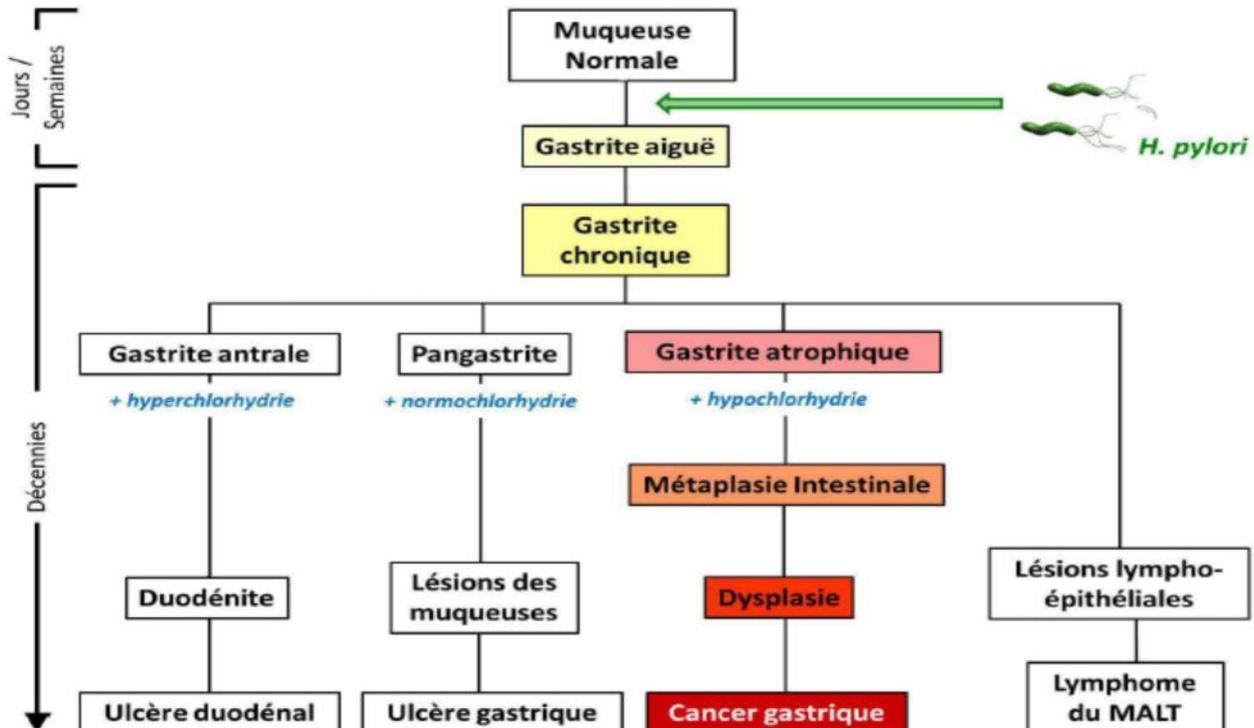
### 7-1-4 Cancer gastrique :

L'infection par *H.pylori* et l'inflammation chronique qui en résulte est une étape importante dans l'initiation et le développement du cancer gastrique.

En général, il est à noter que la colonisation par *H.pylori* provoque une forte réponse immunitaire systémique, la création d'un environnement avec une inflammation chronique réduit l'acidité de l'estomac qui favorise la croissance d'autres bactéries dans l'environnement gastrique, le maintien de l'inflammation et de réduire ainsi le taux de vitamine C dans le jus gastrique. L'inhibition de la sécrétion d'acide gastrique est favorable à une modification de l'antra, initiant une atrophie gastrique et la métaplasie intestinale, qui caractérisent les lésions précancéreuses (Kim KK et al., 2009).

*H.pylori* est à l'origine d'une inflammation chronique de la muqueuse gastrique qui évolue lentement vers des stades pré-néoplasiques, l'atrophie gastrique, la métaplasie intestinale, la dysplasie puis le carcinome gastrique (Varon et al., 2009). L'évolution de ces lésions histopathologiques est connue sous le nom de « cascade de Correa », en référence à l'auteur qui fut le premier à la décrire avant la découverte de *H.pylori* (Correa et al., 1975; Peek and Blaser, 2002) (**Figure N°12**).

Il est maintenant admis que l'éradication de *H.pylori* a le potentiel de prévenir l'évolution vers l'adénocarcinome gastrique (Malfertheiner et al., 2005).



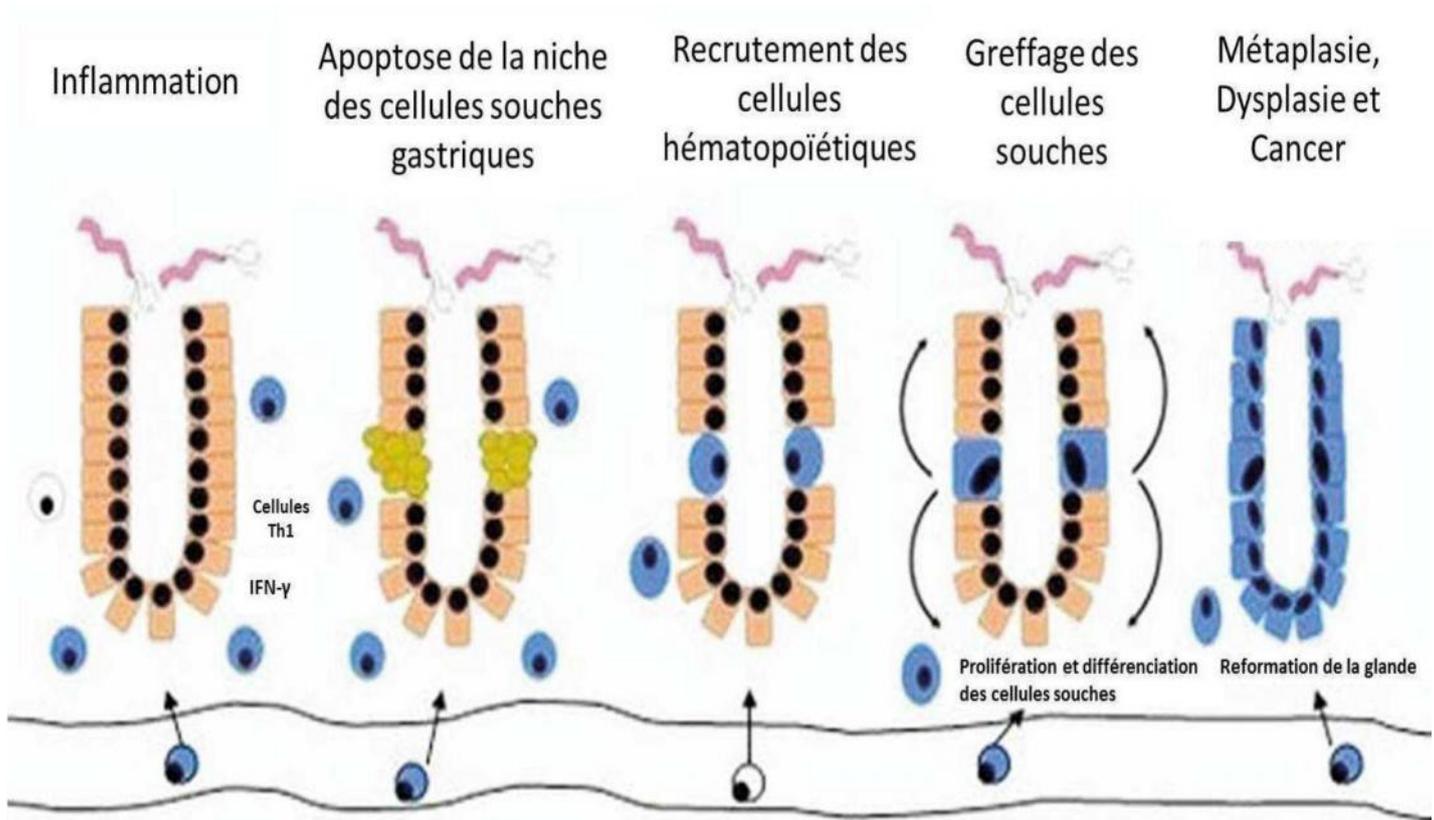
**Figure N°12** : Rôle d'*H.pylori* dans le développement des pathologies gastro-duodénales basé sur la cascade proposée par Correa (Correa, 1996).

#### a. L'atrophie gastrique.

L'atrophie gastrique est définie par une perte des structures glandulaires de la muqueuse gastrique, associée à une perte des cellules spécialisées et ainsi à une diminution des fonctions sécrétoires de l'estomac (Dixon et *al.*, 1996).

**b. La métaplasie intestinale.**

La métaplasie intestinale correspond au remplacement de cellules épithéliales gastriques par des cellules de type intestinal (**Figure N° 13**).



**Figure N°13 :** Représentation schématique d'un modèle de la génération du cancer épithélial gastrique par les cellules souches (modifiée d'après Houghton et *al.*, 2005).

La métaplasie intestinale résulte probablement de la différenciation de cellules souches progénitrices locales en cellules du type de l'intestin grêle ou du côlon du fait des conditions environnementales.

La métaplasie intestinale est caractérisée par la présence au niveau de la glande gastrique de cellules de type intestinal, à savoir des cellules caliciformes qui produisent le mucus nécessaire à l'évacuation des matières solides et à la protection de la muqueuse (ou « goblet cells »), des cellules de Paneth impliquées dans la défense vis-à-vis des pathogènes présents dans la lumière intestinale et des entérocytes qui assurent la fonction d'absorption (Jass and Filipe, 1981).

**c. La dysplasie.**

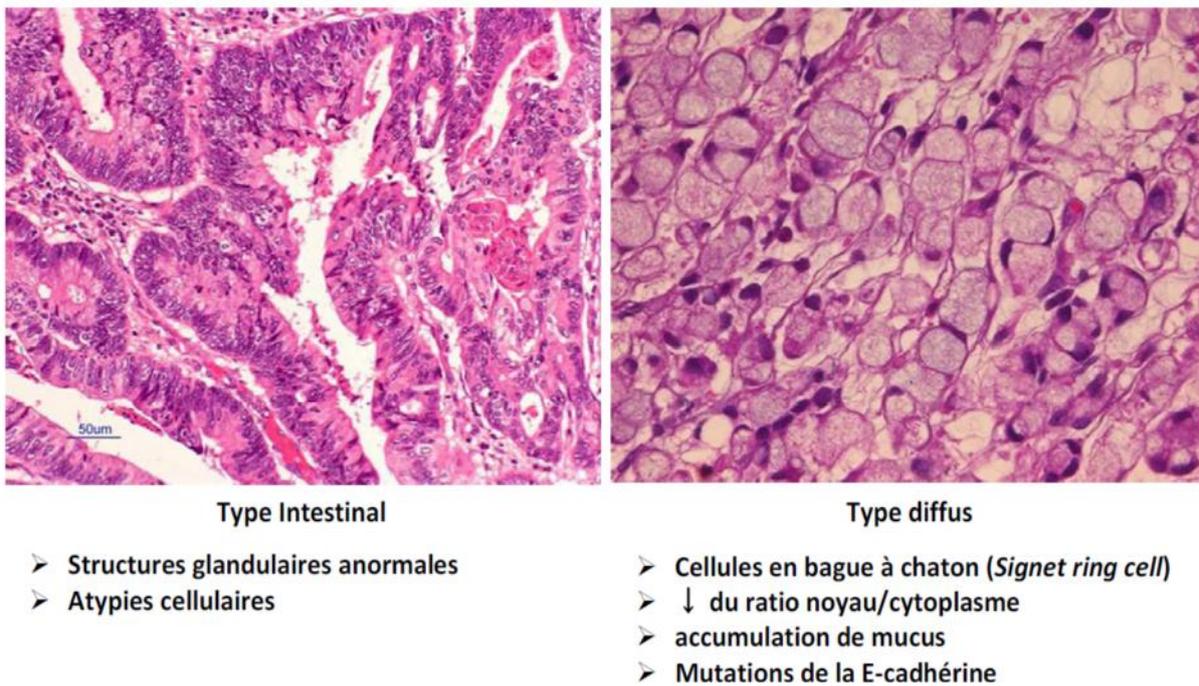
La dysplasie gastrique est caractérisée par des variations dans la taille, la forme et l'orientation des cellules épithéliales. On observe également un élargissement, une atypie des noyaux, et une distorsion au niveau de l'arrangement glandulaire.

**d. L'adénocarcinome gastrique.**

Environ 1 million de cas de cancer gastrique sont diagnostiqués par an, classant ce cancer 4ème à l'échelon mondial. En France, le cancer gastrique est la troisième cause de mortalité par le cancer digestif (Ferlay et *al.*, 2010).

Sur le plan histologique, le carcinome gastrique se présente sous deux formes : le cancer gastrique diffus composé de cellules néoplasiques individuelles infiltrantes qui ne forment pas de structures glandulaires et l'adénocarcinome de type intestinal qui progresse à travers une série d'étapes histologiques (Correa, 1996; Wroblewski et *al.*, 2010).

Ce dernier est initié par la transition d'une muqueuse normale vers une gastrite chronique superficielle suivie d'une atrophie gastrique et d'une métaplasie intestinale pour enfin engendrer une dysplasie et un adénocarcinome (Sipponen et *al.*, 2000) (**Figure N° 14**).



**Figure N°14** : Coupe histologique des deux types d'adénocarcinome gastrique (Wroblewski et *al.*, 2010).

## CHAPITRE 2 : MECANISME PHYSIOPATHOLOGIQUE DE L'INFECTION A *H.PYLORI*.

### 1- Facteurs de virulence :

*H.pylori* est particulièrement bien adapté à la colonisation de la muqueuse gastrique grâce à de nombreux facteurs bactériens tels qu'une uréase et des flagelles. D'autres facteurs sont responsables d'une inflammation locale au site de colonisation tels que le lipopolysaccharide (LPS), des adhésines, un appareil de sécrétion de type IV (T4SS) et une cytotoxine VacA. L'intervention de ces différents facteurs bactériens amène à l'affaiblissement de la barrière épithéliale et à des lésions gastriques apparentes lors de l'observation par endoscopie de l'estomac. De tout cela, cag PAI est le plus puissant et le composant de virulence le plus étudié (Yamaoka, 2010).

Les différences observées dans l'évolution de l'infection par *H.pylori*, gastrites superficielle, atrophie gastrique, ulcères ou cancers, proviennent sans doute de trois facteurs distincts, à savoir le fond génétique de l'hôte, les facteurs environnementaux mais surtout les facteurs de virulence bactériens. Depuis la découverte de la bactérie, de nombreuses études ont essayé de répondre aux deux questions suivantes :

- Existe-t-il des souches de *H.pylori* plus virulentes que d'autres ?
- Existe-t-il des facteurs de virulence spécifiquement impliqués dans l'évolution de l'infection par *H.pylori* vers un développement tumoral ?

#### 1-1 Les facteurs de virulence importants pour la colonisation de l'hôte :

Les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique se protègent de l'acidité gastrique en sécrétant continuellement du mucus il est produit par les cellules cardiales, pyloriques et fundiques (cellules du collet). Le mucus gastrique correspond à un ensemble de glycoprotéines, formant une couche extracellulaire de 1 à 1,5 mm d'épaisseur qui tapisse toute la muqueuse gastrique. Ce mucus forme donc une barrière de protection contre l'acidité gastrique, puisque le pH à la surface de la barrière est de 1.5 alors qu'il est de 7.4 en zone profonde au contact des cellules. Afin d'échapper à l'environnement hostile que représente la lumière de l'estomac, *H.pylori* va coloniser la muqueuse gastrique en traversant la couche de mucus grâce notamment à son uréase, ses flagelles, sa forme incurvée particulière et ses adhésines.

##### 1-1-1 Mobilité et chimiotactisme :

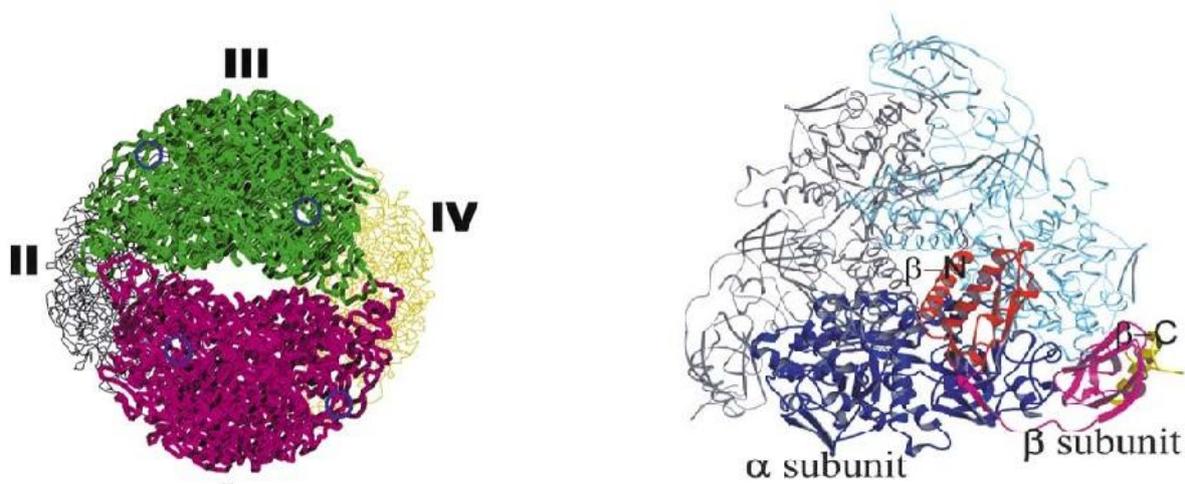
La mobilité de *H.pylori* est un facteur indispensable à la colonisation de la muqueuse gastrique par la bactérie. Des mutants aflagellés de *H.pylori* sont incapables de persister dans la muqueuse gastrique de porcelets mais génèrent une réponse immunitaire témoignant de leur survie transitoire dans l'estomac (Eaton et al., 1992). *H.pylori* possède 5 à 7

flagelles polaires engainés de 3  $\mu\text{m}$  de long et une morphologie spiralée qui lui permettent, lors de son ingestion, d'abrégier son séjour dans le suc gastrique, de pénétrer dans la couche de mucus et de s'y mouvoir. La mobilité de *H.pylori* dans le mucus gastrique est assurée par la machinerie flagellaire dont la fonctionnalité requiert l'expression d'une quarantaine de gènes identifiés dans le génome de *H.pylori* (Tomb et al., 1997). Ce chimiotactisme permettrait à la bactérie de se placer dans un milieu favorable à son développement. L'uréase pourrait également jouer un rôle dans le chimiotactisme bactérien (Hazell et al., 1986; Nakamura et al., 1998).

### 1-1-2 Résistance à l'acidité gastrique :

L'environnement gastrique est un environnement hostile à la majorité des microorganismes, cependant *H.pylori* est capable d'y survivre et de s'y développer. Cette résistance à l'acidité gastrique est essentiellement due à la présence de l'uréase. Le pourcentage de la masse protéique représenté par cette enzyme correspond à 6 à 10% de la masse totale bactérienne, montrant le rôle essentiel de cette molécule (Labigne and De Reuse, 1996). Elle hydrolyse l'urée présente dans l'environnement gastrique en permettant la production d'ammoniac et de dioxyde de carbone. L'ammoniac produit par l'uréase capte un proton pour former l'ammonium, ce qui permet à la bactérie de maintenir son pH intracellulaire proche de la neutralité. La production d'ammonium participerait également à l'endommagement de la barrière épithéliale gastrique afin de récupérer des nutriments et des ions essentiels (Smoot et al. 1990).

L'uréase est codée par un opéron bicistronique comprenant les gènes de structures de l'apoenzyme (*ureA* et *ureB*) et cinq gènes (*ureIEFGH*) dont les produits participent à l'activation de l'apoenzyme par incorporation des ions nickel. Des données de cristallographie montrent que l'uréase de *H.pylori* forme un complexe dodécamérique (UreA ; UreB) contenant 12 sous-unités catalytiques (UreB) fixant chacune 2 ions de nickel (24 ions/molécule) et formant un complexe sphérique extrêmement compact, conférant à l'enzyme une résistance à l'acidité (Ha et al. 2001). Une des caractéristiques uniques de l'opéron uréasique de *H.pylori* est liée à la présence du gène *ureI* codant une protéine membranaire qui forme au niveau de la membrane cytoplasmique un pore à urée qui s'ouvre à pH acide permettant le transport efficace de l'urée et donc une adaptation rapide à un environnement acide (Weeks et al., 2000). L'uréase et la protéine *ureI* sont essentiels pour la colonisation de la muqueuse gastrique de différents modèles animaux (Ferrero et al. 1992; Eaton and Krakowka 1994; Skouloubris et al., 1998; Bury-Mone et al., 2001; Mollenhauer-Rektorschek et al., 2002) (Figure N°15).



**Figure N°15** : Structure de l'uréase de *H.pylori*.

A: structure tertiaire; B: assemblage d'odécamérique (Ha et al., 2001).

**1-1-3 Le lipopolysaccharide (LPS) :**

Les LPS sont des lipoglycanes phosphorylés retrouvés au niveau de la membrane externe des bactéries à Gram négatif et qui possèdent des propriétés immuno-modulatrices et immunostimulantes.

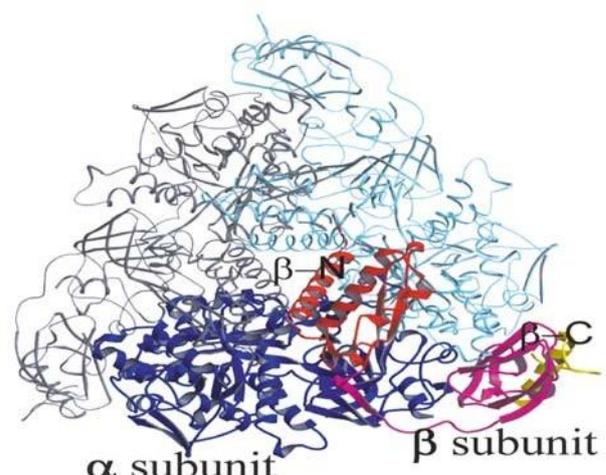
Les LPS de *H.pylori* sont considérés comme étant des facteurs de virulence importants. Par exemple, en s'associant à une adhésine, le LPS de *H.pylori* est capable de se lier à la laminine qui est un composant de la matrice extracellulaire retrouvé au niveau de la membrane basale (Chaput and Bonecca, 2006) (**Figure N°16**).

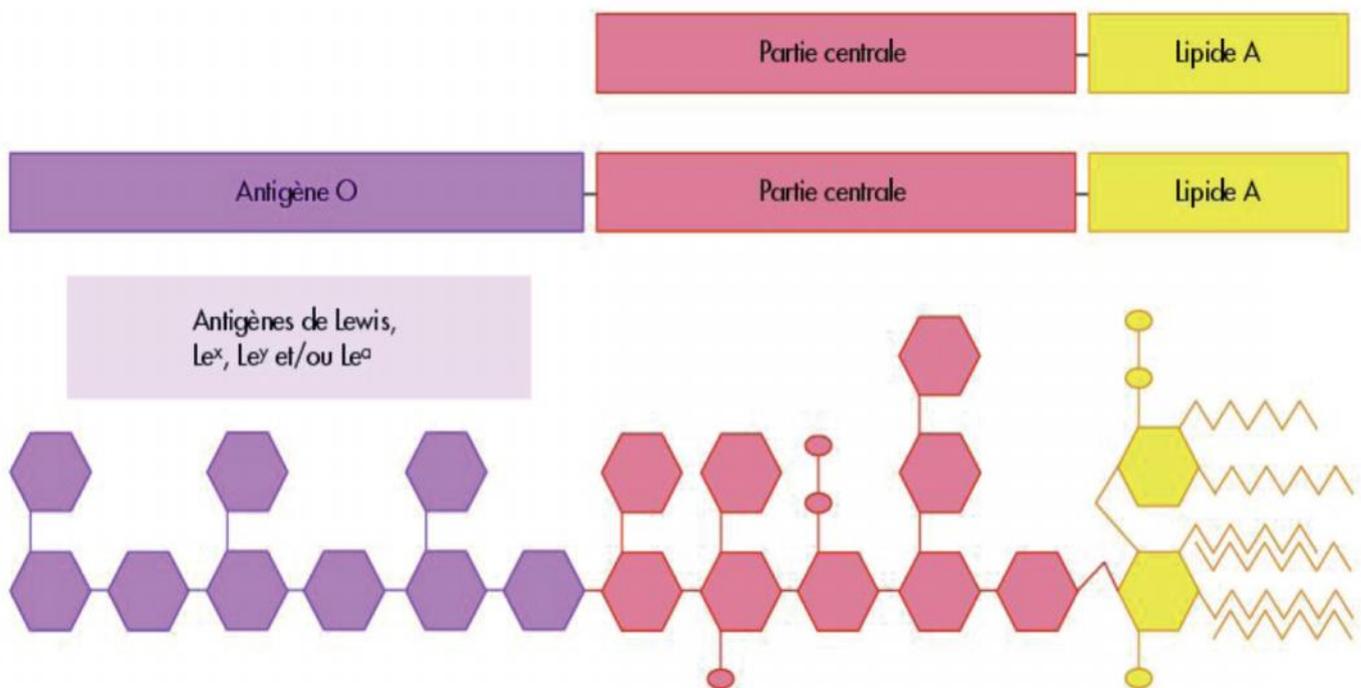
Cette interaction LPS-laminine inhibe la reconnaissance d'une glycoprotéine par la laminine, ce qui entraîne une perte de l'intégrité de la muqueuse gastrique et par la suite une apoptose cellulaire (Slomiany et al., 1991).

Un autre aspect particulier du LPS de *H.pylori* est le fait que la chaîne O du LPS a une composition similaire aux antigènes de type Lewis X ou Y des groupes sanguins également retrouvés au niveau des cellules épithéliales gastriques (Vandenbroucke-Grauls and Appelmelk, 1998).

Ceci a pour conséquence un échappement à la réponse immunitaire, favorisant la colonisation et l'adhésion cellulaire tout en contribuant ainsi à la chronicité de l'infection et à l'apparition d'une atrophie gastrique (Appelmelk et al., 2000; Appelmelk et al., 1996; Moran, 1996).

Les interactions des LPS de *H.pylori* avec leurs récepteurs, notamment les TLR, ont été examinées il a été montré que le LPS de *H.pylori* pourrait être un ligand du TLR2 dont l'activation induit, via une cascade de voies de signalisation, l'activation de NF- $\kappa$ B et l'induction de chimiokines (Smith et al., 2011).





**Figure N°16:** Structure du lipopolysaccharide de *H.pylori* (Chaput and Bonecca, 2006).

### 1-2 Facteurs d'adhérence :

Les capacités d'adhérence bactérienne sont indispensables à une bonne colonisation et à la persistance de l'infection. En effet, *H.pylori* doit adhérer aux cellules épithéliales gastriques pour éviter d'être éliminé par les mouvements péristaltiques gastriques et du mucus (Finlay and Falkow, 1997), seule les cellules épithéliales gastriques possèdent des récepteurs spécifiques pour les adhésines de *H.pylori*. L'adhérence bactérienne constitue ainsi la première étape de pathogénicité en mettant intimement en contact la bactérie et la cellule cible et permet des interactions directes entre bactéries et cellules hôtes. Ce contact permet l'injection de différents facteurs de pathogénicité (toxines et autres) et une récupération des nutriments libérés par les cellules cibles.

En premier lieu, il semblerait que les molécules majeures impliquées dans l'adhérence soient de nature protéique. La première protéine définie comme adhésine a été BabA (*Bloodgroup antigen binding protein*) (Ilver et al., 1998). Le gène correspondant peut exister sous deux formes alléliques : *babA1* et *babA2* qui diffèrent par la présence chez les souches *babA2* d'un codon initiateur de la traduction. Cette différence permet aux souches *babA2* d'exprimer une adhésine fonctionnelle qui se lie avec les antigènes Lewis b, présents sur les cellules épithéliales gastriques (Ilver et al., 1998). Les souches *babA2* sont significativement associées aux pathologies les plus graves comme l'ulcère et l'adénocarcinome (Gerhard et al., 1999; Oleastro et al., 2003; Prinz et al., 2001). La deuxième adhésine majeure de *H.pylori* est SabA (*Sialic acid-binding adhesin*). Cette adhésine se lie à un lipide particulier (*sialyl-dimeric-Lewis x glycosphingolipid*) présent à la surface des cellules épithéliales (Mahdavi et al., 2002). SabA serait également l'agent agglutinant des érythrocytes

et des neutrophiles (Aspholm et al., 2006; Unemo et al., 2005). La reconnaissance des neutrophiles par SabA permettrait leur activation, et donc un relargage de radicaux oxygénés et azotés, induisant des lésions épithéliales (Unemo et al., 2005; Yoshikawa and Naito, 2000). De manière intéressante, ces deux adhésines majeures, ainsi que les différentes protéines de membranes externes, semblent pouvoir moduler leur expression en fonction du contexte environnemental (Yamaoka et al., 2006). Ainsi, la protéine BabA pourrait être modulée par variation de phase et variation antigénique *in vivo* facilitant l'adhérence à l'épithélium et permettre une infection chronique (Solnick et al., 2004). De la même façon, l'expression de SabA semble très dépendante du pH (Goodwin et al., 2008). Deux lipoprotéines ont également été impliquées dans l'adhérence bactérienne AlpA et AlpB (*Adhesion associated protein A* et B). Leur récepteur cellulaire est inconnu mais leur implication dans la pathogénicité de la bactérie est démontrée. Ces lipoprotéines peuvent induire des dommages au niveau gastrique en modulant des voies de signalisation pro-inflammatoire, et l'adhérence bactérienne est diminuée si elles sont mutées (Lu et al., 2007; Odenbreit et al., 2002).

Enfin, l'analyse du génome de *H.pylori* a permis d'identifier plusieurs catégories de gènes impliqués dans l'adhérence, en particulier ceux codant 32 protéines de membranes externes dénommées OMP (*Outer Membrane Protein*) qui pourraient permettre une diversité dans le profil bactérien des protéines de surface (Tomb et al., 1997). Ces protéines de membrane externe sont classées en 5 familles : Hop/Hor, Hof, Hom, FecA/Frp et Hef (Almet et al., 2000). Leurs extrémités N et C terminales sont très conservées, et leur rôle est difficile à estimer dû au manque de connaissances de leurs récepteurs spécifiques. Nous avons montré que l'une de ces protéines de surface, HomB, joue un rôle important dans l'adhérence cellulaire d'une part, mais également dans l'induction d'une réponse pro-inflammatoire. La présence de cette protéine a été associée à la maladie ulcéreuse chez l'enfant et chez l'adulte, et pourrait donc correspondre à un nouveau marqueur de souches virulentes (Oleastro, 2008).

## **2- Facteurs de virulence majeurs :**

Les facteurs de virulence bactériens jouent un rôle déterminant dans l'issue de l'infection et ceci est dû à la vaste hétérogénéité génétique présente chez *H.pylori*. Les polymorphismes génétiques touchant VacA et CagA, parmi d'autres, influent sur l'évolution clinique de la pathologie. Les souches associant les allèles *s1/m1* de VacA présentent une forte activité cytotoxique et sont associés aux lésions graves (Tee et Lambert, 1995). La présence de CagA est également associée au développement d'ulcère duodénalet d'adénocarcinome gastrique (Parsonnet et al., 1997).

### **2-1 Inflammation et lésions tissulaires :**

#### **2-1-1 La cytotoxine vacuolisante VacA :**

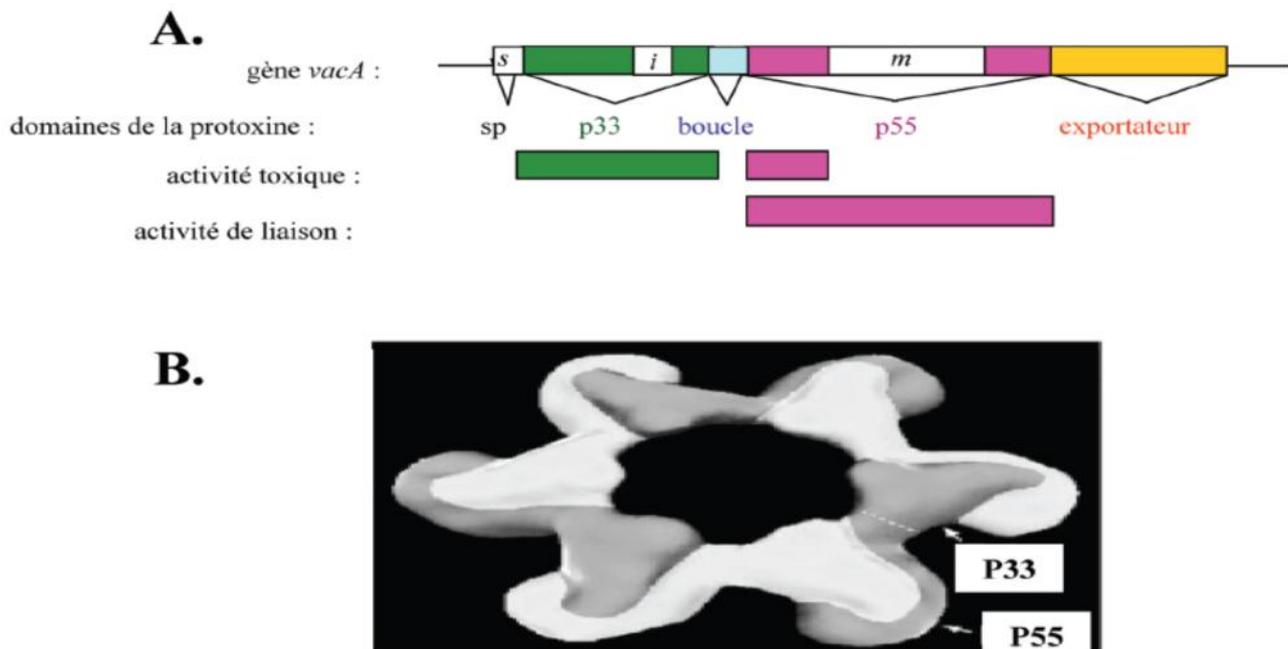
VacA est un facteur de virulence majeur chez *H.pylori*. La protéine VacA a la particularité d'être une cytotoxine multifonctionnelle, incluant entre autres une vacuolisation cellulaire, la formation de canaux membranaires, la perturbation des fonctions endosomales/lysosomales, l'apoptose et un effet immuno-suppresseur. La capacité de la toxine à former des pores anioniques est une caractéristique importante de son mécanisme d'action (Isomoto et al., 2010).

; **Structure :**

Le gène *vacA* code pour une protéine précurseur de 140 kDa qui est maturée en une toxine d'environ 88 kDa (**Figure N°17A**). La toxine est libérée dans le milieu extracellulaire ou peut être retenue à la surface bactérienne (Telford et al., 1994).

Les monomères de VacA peuvent s'agencer en une structure de plus de 900 kDa dite "en fleur", de 6 à 7 pétales constitués chacun par l'association des deux polypeptides de 33 et 55 kDa (monomère de 88kDa) (Lupetti et al. , 1996; Reyrat et al., 1999) (**Figure N°17B**).

La forme oligomérique de VacA présente une faible activité sauf lorsqu'elle est exposée à pH acide ou alcalin, pH auxquels la protéine se monomérise (Cover et al. , 1997). La toxine de *H.pylori* possède donc des propriétés remarquables qui pourraient lui permettre d'optimiser dans le milieu gastrique son action délétère vis-à-vis de l'épithélium.



**Figure N°17 :** Organisation génétique du gène *vacA* (A) et structure tridimensionnelle de la protéine VacA (B) (Reyrat et al., 1999).

A. Représentation schématique de l'organisation du gène *vacA* sujet à un polymorphisme au niveau de :

- I) La région « s » codant pour la séquence signal de la protéine (allèle s1 fonctionnel et l'allèle non fonctionnel s2)
- II) La région « i » (allèles i1 et i2) et iii) la région « m » située au milieu du gène (allèles m1 et m2).

B. Modèle de l'agencement multimérique en forme de « fleur » (Reyrat et al., 1999).

## 2-1-2 Effets physiopathologiques :

### a. Vacuolisation des cellules eucaryotes :

Il a été observé que des surnageant de culture de *H.pylori* étaient capables d'induire *in vitro* la formation de larges vacuoles intracellulaires dans des cellules, activité qui a été attribuée ultérieurement à la protéine VacA (Leunk et al., 1988).

L'utilisation de la protéine purifiée et activée par l'acidité, ou l'expression du gène *vacA* dans la cellule eucaryote, permet d'induire la vacuolisation en présence de bases faibles, telle que le chlorure d'ammonium (Cover and Blaser, 1992). VacA est capable d'agir dans la cellule eucaryote sous forme d'oligomères ou de monomères.

L'administration intragastrique chez la souris d'une dose massive de la protéine VacA purifiée permet d'observer des dommages de la muqueuse gastrique ainsi qu'une inflammation (Cover and Blanke, 2005).

Cependant, cette dose de VacA ne correspond pas à des conditions physiologiques pouvant être rencontrées chez l'homme. La toxine VacA forme des pores dans des bi-couches lipidiques et sur des membranes plasmiques : des monomères de VacA, activés à pH acide et insérés dans une bi-couche lipidique, se réassocient au niveau membranaire pour former un pore hexamérique impliqué dans un transport d'anions (Iwamoto et al., 1999; Szabo et al., 1999). Après endocytose des spores de surface, ils sont traités au niveau des compartiments endosomaux tardifs, qui subissent un gonflement osmotique pour devenir de larges vacuoles (Papini et al., 1994). Les vacuoles induites par VacA portent les marqueurs des endosomes tardifs et des lysosomes et ne sont pas létales pour les cellules. Cependant, la protéine VacA engendre des dégâts au niveau du compartiment endosomal tardif (Cover and Blanke, 2005).

### b. Induction de l'apoptose :

La protéine VacA engendre d'autres phénomènes cytotoxiques tels que l'induction de l'apoptose. Lorsque des cellules en culture sont traitées avec la protéine VacA purifiée, il a été observé une réduction du potentiel transmembranaire mitochondrial et la libération de cytochrome c (Kimura et al., 1999; Willhite et al., 2003; Willhite and Blanke, 2004). Ces deux effets sont caractéristiques d'un affaiblissement de la perméabilité membranaire mitochondriale et suggèrent l'initiation d'une mort cellulaire et une activation d'une réponse pro-inflammatoire (El-Omar et al., 2008). Des fusions de la partie N terminale de VacA avec un fluorochrome ont permis de mettre en évidence la localisation mitochondriale de VacA (Galmiche et al., 2000).

### c. Action immunosuppressive :

Elle est suggérée par : i) une altération dans la maturation du phagosome, mais la survie de *H.pylori* ne semble pas modifiée que le gène *vacA* soit exprimé ou non (Zheng and Jones, 2003), ii) une altération de la capacité à présenter les antigènes par les lymphocytes B (Molinari et al., 1998), iii) une inhibition de la prolifération et de la maturation des lymphocytes T (Gebert et al., 2003; Sundrud et al., 2004; Torres et al., 2007) et B (Torres et al., 2007). L'activité immunosuppressive observée de VacA a conduit certains auteurs à

proposer pour cette toxine un rôle dans la persistance de *H. pylori* dans l'estomac (Figure N°18).

**d. Autres effets de la protéine VacA :**

D'autres effets de la protéine VacA ont été observés :

Tuo *et al.* ont montré que VacA inhibait la sécrétion de bicarbonates au niveau de la muqueuse duodénale induite par la prostaglandine E2 en stimulant le relargage d'histamines, et donc pourrait par ce mécanisme contribuer au développement de l'ulcère duodénal (Tuo *et al.*, 2009).

- affaiblissement des jonctions intercellulaires (de Bernard *et al.*, 2005) qui permettrait le passage de nutriments pour la bactérie vers la lumière gastrique.

- stimulation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, IL1, TNF-alpha, IL6, IL10, IL13 et cyclo-oxygénase 2 (Supajatura *et al.*, 2002; de Bernard *et al.*, 2005).

Récemment, Hisatsune a montré que VacA augmentait la production et la sécrétion d'IL8, un important médiateur dans le processus pathologique (Hisatsune *et al.*, 2008). Malgré l'abondance d'effets cytotoxiques observés *in vitro*, le rôle de VacA *in vivo* n'est pas clarifié. L'inoculation par voie oro-gastrique de la toxine VacA purifiée ou des souches de *H. pylori* produisant cette protéine à des souris, provoquait des lésions de l'épithélium gastrique chez ces animaux (Ghiara *et al.*, 1995).

Des études similaires réalisées dans d'autres modèles animaux (porcelets et gerbilles) n'ont pas permis de confirmer le rôle de VacA dans la genèse de lésions épithéliales. Bien que le gène *vacA* ne soit pas nécessaire pour la colonisation dans un modèle animal, une souche produisant une cytotoxine fonctionnelle possède un avantage compétitif sur une souche dépourvue de cytotoxine VacA (Salama et al., 2001).

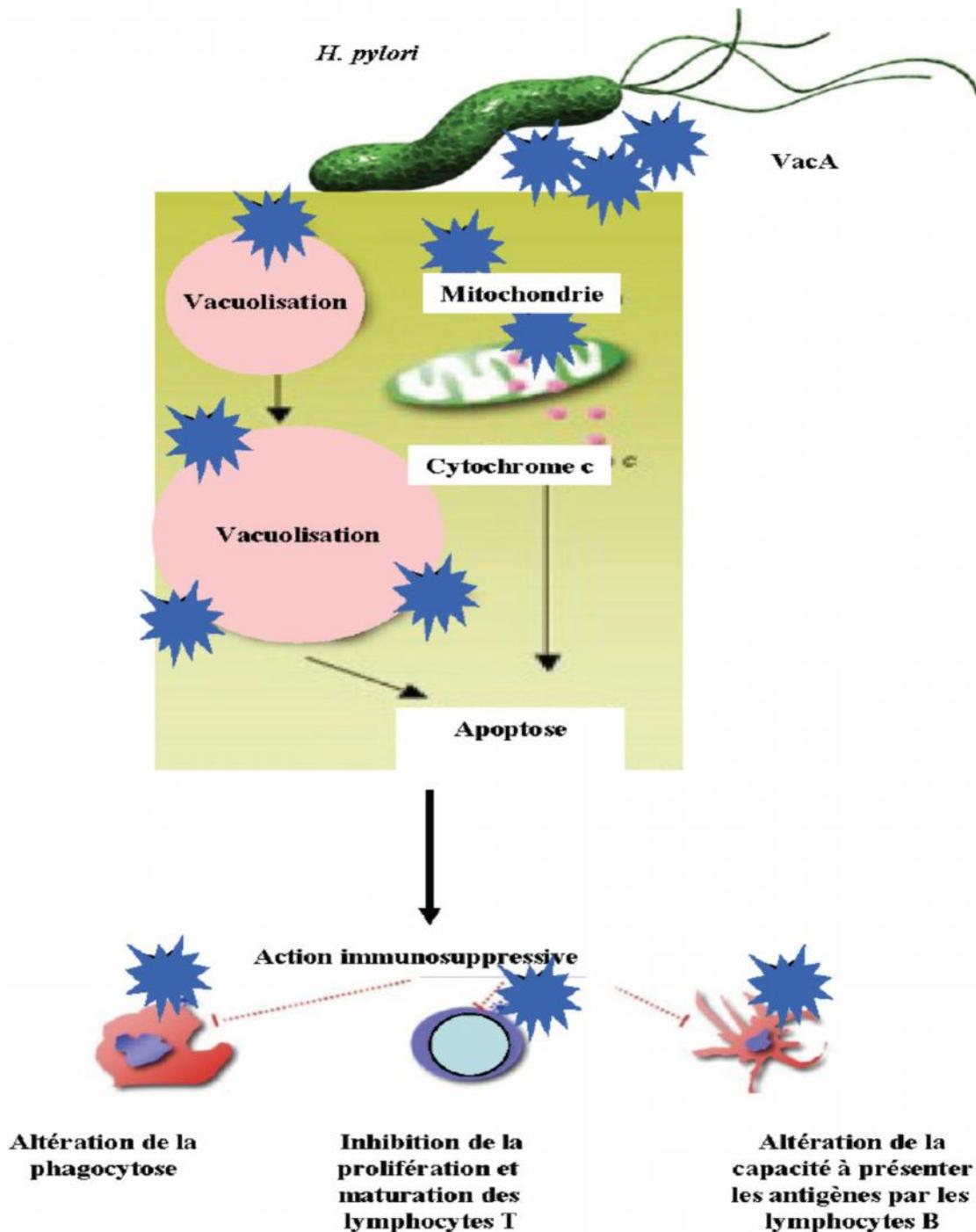
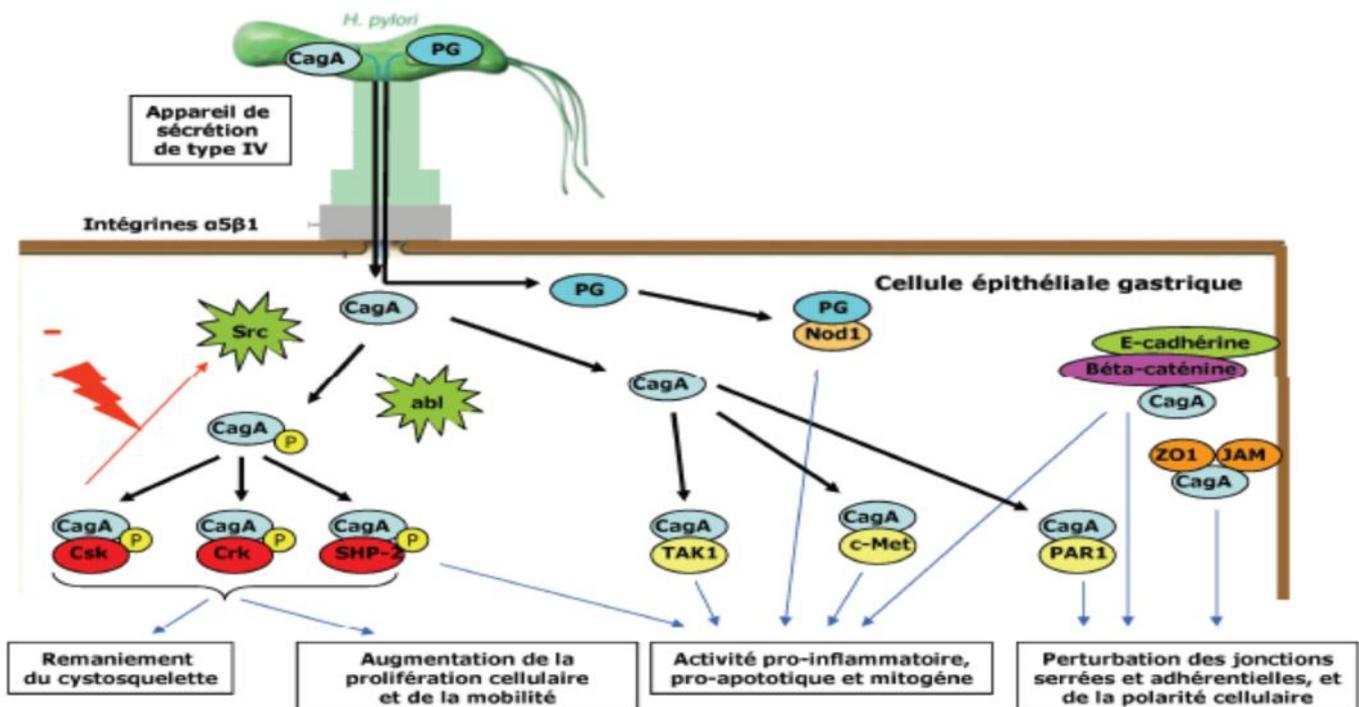


Figure N°18 : Effets pathologiques de VacA sur les cellules de l'hôte (Galmiche et al., 2000).

## 2-2 L'Ilot de pathogénicité CagA :

Les souches de *H.pylori* ont été classées en deux catégories : celles qui possèdent un îlot de pathogénicité *cag(cag PAI)* complet et fonctionnel et celles qui en sont totalement ou partiellement dépourvues (Covacci et al.,1999). Il semble que le *cagPAI* a été probablement importé dans le génome de *H. pylori* par transfert horizontal d'une autre espèce après la spéciation, tôt dans l'évolution de l'espèce (Gressmann et al.,2005; Olbermann et al.,2010).L'îlot de pathogénicité *cag(cagPAI)* est un groupe de gènes d'approximativement 40 kb il contient jusqu'à 32 gènes putatifs et code pour un système de sécrétion de type IV (TSS4) (Censini et al., 1996; Suerbaum and Josenhans,2007).

La cascade d'événements moléculaires présumés qui conduit à la tumorigenèse a été examiné de manière approfondie (Fox et al., 2006 ;Bauer et Meyer, 2011 ; Wessler et al., 2011 ), *cagA* code pour un système de sécrétion de type IV (SST4), « seringue » creuse qui relie le cytoplasme bactérien aux cellules épithéliales gastriques(Kwok et al., 2007 ; Kaplan et al., 2012) .*CagA* est injecté dans les cellules épithéliales gastriques de l'hôte via le T4SS, conduisant à la perturbation de la différenciation de l'épithélium, définie par la perte de la polarité apico-basale et l'adhérence cellule-cellule (Bagnoli et al., 2005) (**Figure N°19**). Le TSS4 est typiquement composé de l'assemblage de 11protéines (Vir B 1 à 11) couplées à une NTPase (VirD4) (Backert and Selbach,2008). Chez *H.pylori* plusieurs protéines sont associées à cette structure de base, même si le rôle de plusieurs d'entre elles est inconnu. Cependant, il est accepté que la protéine *CagF* joue un rôle de chaperonne dans la translocation de *CagA* (Couturier et al., 2006; Pattis et al.,2007). La protéine *CagL* assure quant à elle la spécificité du TSS4 pour les cellules hôtes en se liant aux intégrines cellulaires de type 5#1 (Kwok et al., 2007). *CagA* utilise l'intégrine 5 1 comme des récepteurs pour entrer dans les cellules en interagissant avec la phosphatidylsérine de la membrane (Murata-



Kamiya et al., 2010).

**Figure N°19** :Modèle du fonctionnement de l'appareil de sécrétion de type IV de *H.pylori*(Backert and Selbach ,2008).

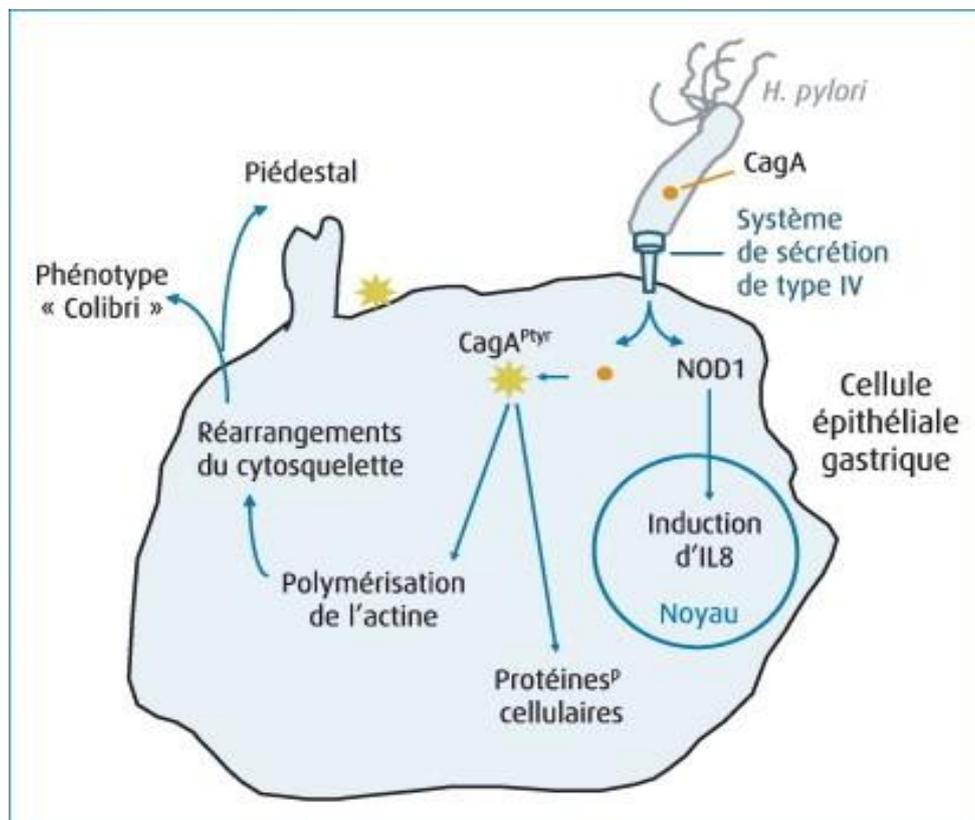
Une fois livré à l'intérieur de la cellule la protéine CagA est phosphorylée au niveau d'un résidu de tyrosine présent au niveau des motifs Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala(Epiya) par des kinases de la famille Src (Tammer et *al.*, 2007 ; Mueller et *al.*, 2012). CagA phosphorylée interagit ensuite avec une gamme de molécules de signalisation de l'hôte, tels que la tyrosine phosphatase SHP-2 (Higashi et *al.*,2002 ), qui se traduit par des changements morphologiques dans les cellules épithéliales ( Naumann,2005 ).

Les détails de ces interactions spécifiques ont fait l'objet de nombreux travaux de recherche; ces détails et leurs implications sont discutés dans plusieurs études récentes (Hata Keyan,2004), mais ils vont au-delà de la portée de cet examen. Le *cag* PAI affecte également la réponse immunitaire en raison de sa capacité à induire l'apoptose des cellules T (Paziak domanska et *al.*,2000).

L'interaction entre la structure de type IV et de la cellule hôte se traduit également par l'induction de cytokines pro-inflammatoires dans les cellules épithéliales (Odenbreit et *al.*,2000).

Initialement, on pensait que la protéine elle-même induit CagA ces cytokines pro-inflammatoires, mais on pense actuellement que CagA joue un rôle mineur, le cas échéant, dans leur activation (Al Ghoul, 2004).

Ils sont plus susceptibles induites par la fuite du peptidoglycane dans la cellule eucaryote comme un résultat de l'interaction intime avec la structure de type IV (**Figure N°20**).



**Figure N°20** :Rôle de l'îlot cag et de la protéine CagA (Megraud,2008).

Il est bien connu que CagA se lie et active SHP-2 phosphatase, perturbant l'adhésion cellulaire focale (Hatakeyama, 2008). CagA inhibe également le régulateur de polarité PAR1b/MARK2 kinase, ce qui entraîne une perte de la polarité des cellules épithéliales et joue un rôle dans la perturbation de l'architecture normale de l'épithélium (Hatakeyama, 2008). Un autre mécanisme hypothétique pour la rupture de jonctions adhérentes dans les cellules épithéliales gastriques est une protéine de surface TLR (récepteur Toll-like) 2 induite par l'activation de la calpaïne de la protéase, qui clive la E-cadhérine et permet d'augmenter la signalisation  $\beta$ -caténine (O'Connor et al., 2011). Récemment, *H.pylori* a été montré pour inactiver la tumeur gastrique suppresseur RUNX3 par la dégradation par le protéasome induit par le facteur de virulence CagA (Tsang et al., 2010), ou par l'inactivation de gènes par hyperméthylation du promoteur de *runx3* (Kitajima et al., 2008.; Tsang et al., 2011). Dans la même veine, CagA a également été montré pour induire la dégradation par le protéasome de p53 par liaison à un modulateur de la fonction de p53 et de suppresseur de tumeur, ASPP2 (Buti et al., 2011). CagA est également connu pour lier la E-cadhérine, en interférant ainsi avec la régulation normale de la  $\beta$ -caténine, une protéine dont la dysrégulation a été montrée pour entraîner la transdifférenciation de nombreuses lignées de cellules et une augmentation de la prolifération cellulaire (Murata-Kamiya et al., 2007).

L'infection par *H.pylori* peut aussi inhiber la sécrétion d'acide gastrique. Ceci est partiellement dû à l'inhibition de l'expression du gène de la pompe à protons par les gènes *cag* PAI dans les cellules pariétales (Saha et al., 2010). L'hypochlorhydria peut conduire à la colonisation gastrique par d'autres inducteurs d'inflammation bactériens, plus puissants, et cette inflammation accrue conduit au développement d'un adénocarcinome chez la souris (Zavros et al., 2002).

L'infection par *H.pylori* a été montrée pour stimuler les cellules souches mésenchymateuses (BMDC), dérivées de la moelle osseuse par l'intermédiaire de l'induction de la production de cytokine, un phénomène postulé pour fournir des cellules transdifférenciables à partir de laquelle les adénocarcinomes peuvent survenir (Ferrand et al., 2011).

Toutes ensemble, ces études suggèrent de nombreux mécanismes différents par lesquels l'infection par *H.pylori* peut conduire à une foule de changements dans l'épithélium de l'estomac menant finalement à la genèse du cancer. Alors que de nombreux "hits" sont nécessaires pour induire la cancérogenèse, l'un des mécanismes les plus importants est probablement l'induction de l'inflammation chronique par *H.pylori*.

### 3- Déterminismes pathologiques associées à *H.pylori* :

*H.pylori* est un pathogène qui réside au niveau de la couche de mucus recouvrant la muqueuse gastrique. En revanche, plusieurs études ont démontrés sa capacité à envahir les cellules épithéliales *in vitro* (Amieva et al., 2002; Chu et al., 2010) et *in vivo* chez l'homme et les singes (Semino-Mora et al., 2003) ainsi que chez les souris ayant développé une gastrite atrophique (Oh et al., 2005). *H.pylori* peut entrer en contact direct avec les cellules immunitaires de la lamina propria dans la majorité des cas de gastrite et de cancer gastrique (Moese et al., 2007). L'infection par *H.pylori* induit chez l'hôte, l'activation de réponses

immunitaires innées et acquises. Plusieurs chimiokines, cytokines et peptides antimicrobiens sont impliqués dans la modulation de ces réponses.

### 3-1 Facteurs de l'hôte

Les facteurs de virulence bactériens ne sont pas les déterminants absolus de l'évolution de l'infection vers des stades pathologiques sévères. Les polymorphismes génétiques de l'hôte touchant les gènes impliqués dans la réponse inflammatoire sont associés à une prédisposition au cancer gastrique et sont aussi impliqués dans le déterminisme pathologique. L'infection par *H.pylori* perturbe l'homéostasie gastrique et induit à la production de multiples cytokines inflammatoires à l'intérieur de la muqueuse gastrique, des composants tels que l'IL-1, TNF-, IL-10 et les génotypes sont associés à un risque accru de développer un cancer gastrique (El-Omar EM et al., 2000 ; Tu S et al., 2008).

#### ; Généralités sur les chimiokines et cytokines :

Les chimiokines sont des petites protéines (de 8 à 17 kDa) ayant pour fonction principale de stimuler et d'orienter la migration des leucocytes vers les sites d'inflammation. Elles sont produites d'une manière constitutive par plusieurs cellules ou en réponse à des infections bactériennes ou virales. Les chimiokines jouent un rôle dans plusieurs processus physiologiques et pathologiques tels que le développement embryonnaire ou l'inflammation (Rollins, 1997).

#### • IL1- :

La progression vers la carcinogénèse dépend de la nature de la réponse inflammatoire de l'hôte et d'une diminution de la sécrétion gastrique d'acide. La cytokine pro-inflammatoire IL1- est une molécule qui interagit avec ces 2 paramètres.

Son expression est augmentée dans la muqueuse gastrique infectée par *H.pylori* (Noach et al., 1994).

Les sujets ayant des polymorphismes d'expression élevée de l'IL1- ont un risque plus élevé de développer une hypochlorhydrie, une atrophie gastrique et un adénocarcinome gastrique (El-Omar et al., 2000).

De plus, l'IL-1 semble moduler la sécrétion acide dans la muqueuse enflammée en la diminuant (Takashima et al., 2001).

L'augmentation d'expression d'IL-1 est également fortement associée à l'intensité de l'inflammation et de l'atrophie gastriques (Hwang et al., 2002).

L'induction de l'IL-1- pro-inflammatoire au cours de l'infection par *H.pylori* associée à sa capacité d'inhibition de la sécrétion acide et sa régulation par des promoteurs ayant des polymorphismes particuliers qui mettent en avant le rôle critique que joue cette cytokine dans le développement de cancer gastrique.

#### • TNF :

Le Tumor necrosis factor (TNF) est aussi une cytokine pro-inflammatoire inhibant la sécrétion acide et surexprimée au cours de l'infection par *H.pylori* (Crabtree et al., 1991).

Des polymorphismes génétiques de cette cytokine sont associés au risque élevé de développement de cancer gastrique (El-Omar et al., 2003).

La contribution du TNF au développement du cancer gastrique se fait probablement par des mécanismes désignalisation impliquant la voie de la  $\beta$ -caténine (Oguma et al., 2008).

- **IL-10 :**

Les polymorphismes réduisant l'expression des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10 sont associés à un risque plus élevé de développement de cancer gastrique. Les effets combinatoires des polymorphismes touchant les gènes de l'IL-1, du TNF- $\alpha$  et de l'IL-10 sur le développement de cancer ont également été mis en évidence (El-Omar et al., 2003).

- **IL-8 :**

L'Interleukine 8 (IL-8 ou CXCL8) a été identifiée comme un facteur chimiotactique induisant la migration de PN, de basophiles et de Lymphocytes T (LT) (Baggiolini et al., 1989). L'expression de l'IL-8 est régulée par le facteur de transcription NF- $\kappa$ B. La production de l'IL-8 au cours de l'infection par *H.pylori* se fait essentiellement par les cellules épithéliales gastriques (Crabtree et al., 1994a; Crabtree et al., 1994b; Crabtree et al., 1994c; Noach et al., 1994; Fan et al., 1995; Sharma et al., 1995; Jung et al., 1997; Katagiri et al., 1997; Ogura et al., 1998; Nakachi et al., 2000). Cette chimiokine joue un rôle majeur dans le recrutement des cellules immunitaires vers le site de l'inflammation déclenchant une production abondante de médiateurs inflammatoires.

- **COX2 :**

*H.pylori* active les enzymes pro-inflammatoires de la famille cyclo-oxygénases (COX). Les cyclo-oxygénases catalysent des étapes clés dans la conversion de l'acide arachidonique en endopéroxyde (PGH<sub>2</sub>), substrat de nombreuses prostaglandine synthases qui catalysent la formation de prostaglandines (Gupta et al., 2001). Les prostaglandines régulent une multitude de processus physiologiques, y compris l'immunité et le développement (Gupta et al., 2001). L'expression de COX2 est inductible et stimulée par plusieurs facteurs de croissance et cytokines pro inflammatoires telles que TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  et l'IL-1 (Williams et al., 1997). L'expression de COX2 est augmentée *in vitro* (Romano et al., 1998; Juttner et al., 2003).

En présence de *H.pylori* et dans la muqueuse gastrique des sujets infectés (Sawaoka et al., 1998; Fu et al., 1999). COX2 est également sur-exprimée au cours des lésions malignes (Ristimaki et al., 1997; Sung et al., 2000). La capacité des produits de COX2 à provoquer la néoplasie est démontrée. Ces molécules stimulent la prolifération cellulaire en inhibant l'apoptose ce qui induit une rétention des cellules mutées, stimulent ainsi l'angiogenèse et la transformation cellulaire (Ohnishi et al., 2008; Ogiwara et al., 2009).

- **Sécrétion Acide :**

La pompe H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase est la pompe à proton gastrique primaire localisée dans des tubulo-vésicules dans le cytoplasme des cellules pariétales non stimulées. Après stimulation, la pompe H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase est recrutée vers la membrane apicale pour médier la sécrétion acide

(Forte et al., 1996). *H.pylori* peut inhiber ou stimuler la sécrétion d'acide en fonction du contexte de l'infection. L'infection aiguë est souvent associée à une hypochlorhydrie résultant d'une surproduction de la cytokine pro-inflammatoire IL-1 et de l'inhibition du promoteur de la sous-unité de la pompe H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase (Schubert et al., 2008). VacA induit aussi une hypochlorhydrie via la protéolyse de l'ezrine ce qui perturbe les interactions entre le cytosquelette et la membrane apicale, celles-ci étant nécessaires pour la translocation de la pompe H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase afin d'assurer la sécrétion acide (Wang et al., 2008). *H.pylori* peut également diminuer la sécrétion acide en réprimant l'expression de la sous-unité du gène codant l'H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase via l'activation et la translocation médiée par ERK1 et 2 de NF- $\kappa$ B dans le noyau (Saha et al., 2008). L'infection chronique par *H.pylori* peut induire une hypochlorhydrie ou une hyperchlorhydrie selon la distribution et la sévérité de la gastrite. La gastrite touchant l'ensemble de l'estomac est généralement associée à une hypochlorhydrie pouvant évoluer vers un cancer gastrique. À l'inverse, la gastrite à prédominance antrale provoque une hyperchlorhydrie qui peut conduire au développement d'un ulcère duodénal (Atherton, 2006).

### 3-2 Facteurs environnementaux :

La consommation excessive de sel semble être associée à un risque plus élevé de développement de cancer gastrique (Wroblewski et al., 2010). Des travaux effectués chez les gerbilles de Mongolie montrent un effet synergique entre un régime alimentaire riche en sel et le développement de lésions malignes et du cancer gastrique d'une part (Kato et al., 2006; Gamboa-Dominguez et al., 2007) et l'augmentation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL-6 et TNF d'autre part (Sun et al., 2006). Les mécanismes via lesquels le sel augmenterait le risque de développement de cancer ne sont pas entièrement élucidés. Il diminuerait probablement le seuil pour la transformation maligne au niveau de l'épithélium gastrique et permettrait l'accès d'éléments carcinogènes dans le tissu gastrique par altération de la muqueuse. La production de cytokines en réponse à un régime riche en sel pourrait également contribuer au processus de carcinogenèse. Une possibilité soulevée récemment est la modulation de l'expression génique de *H.pylori* par le sel. Des études récentes montrent en effet une augmentation de l'expression de CagA en fonction de la concentration saline (Loh et al., 2007; Gancz et al., 2008).

Le tabagisme augmente aussi le risque de développement de cancer gastrique. Les antioxydants naturels joueraient au contraire un rôle protecteur (Wroblewski et al., 2010). Aujourd'hui il est clairement établi que les effets combinatoires de plusieurs facteurs environnementaux augmentent les risques de développement du cancer gastrique chez les sujets infectés par *H.pylori*.

### 4- Physiopathologie et évolution vers le stade néoplasique :

*H.pylori* joue un rôle crucial dans le développement du cancer gastrique. Il existe deux grandes voies pour le développement du cancer gastrique par l'infection à *H.pylori*: l'action indirecte de *H.pylori* sur des cellules épithéliales gastriques par le biais de l'inflammation, et l'action directe des bactéries sur les cellules épithéliales grâce à la modulation de l'induction de la protéine (cagA, vacA) et la mutation du gène.

Les deux voies travaillent ensemble pour promouvoir la cancérogenèse gastrique. L'évolution vers le cancers gastrique est aussi la conséquence d'une interaction complexe entre les facteurs bactériens, de l'hôte et de l'environnement (Wrobloweski et *al.*, 2010).

Les facteurs pathologiques gastriques, induits par l'infection à *H.pylori* et les facteurs associés au risque de cancer, sont principalement l'atrophie de la muqueuse gastrique (Inoue et *al.*, 2000), l'hypochlorhydrie (El Omar et *al.*, 2000), l'augmentation de la prolifération cellulaire et une concentration basse en vitamine C (Kuipers et *al.*, 1999). La gastrite chronique atrophique induite par *H.pylori* constitue la première étape fondamentale de la séquence gastrite – atrophie – métaplasie intestinale – dysplasie – cancer (Kuipers et *al.*, 1997).

Le pouvoir pathogène de la bactérie, l'évolution propre des lésions de gastrite, et des facteurs alimentaires (excès d'apport en sel, diminution de la consommation de légumes et de produits frais à action anti-oxydante...) interviennent à des degrés divers tout au long du processus de cancérogenèse gastrique (**Figure N°21**) (Kuipers et *al.*, 1999).

Dans différentes populations, la prévalence de l'atrophie gastrique augmentée de 1 à 3% par an et les facteurs associés à son développement sont l'infection à un âge précoce, la production de cytotoxine cagA par les souches infectantes et la diminution de la sécrétion acide (Kuipers et *al.*, 1997).

Le stress oxydatif, principalement induit par les polynucléaires neutrophiles peut endommager l'ADN (micro-arrangements...), conduisant à l'altération de gènes de fonction (Sepluveda et *al.*, 2002).

Une des conséquences de cette action concerne les gènes suppresseurs de tumeur, tel que p53. La perte de leur fonction peut contribuer à la transformation maligne (Ernest, 2002).

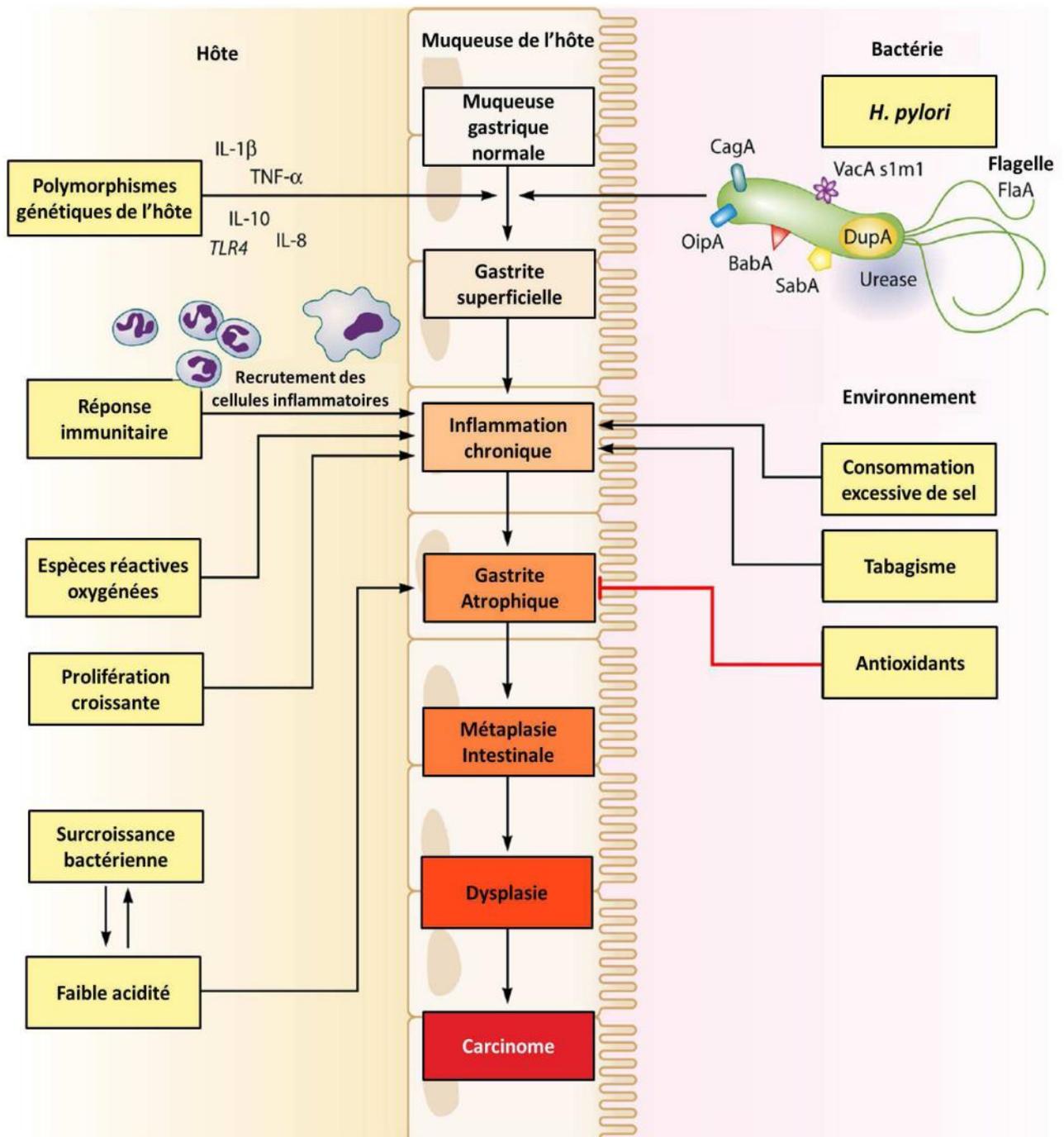
Ces données encore préliminaires signifient que la persistance de l'infection à *H.pylori* est un facteur déterminant de la transformation maligne à partir des lésions pré-cancéreuses que sont l'atrophie et la métaplasie intestinale (Sepluveda et *al.*, 2000).

Dans le modèle animal de la gerbille de Mongolie, exposée à une nitrosourée (MNU), le développement rapide d'un cancer gastrique a été observé après induction d'une gastrite suite à l'inoculation de *H.pylori* (Shimizu et *al.*, 2000).

L'éradication de *H.pylori* prévient le développement du cancer dans ce modèle expérimental. Des facteurs héréditaires prédisposent au cancer gastrique induit par l'infection à *H.pylori*, la fréquence de l'atrophie et de l'hypochlorhydrie étant nettement plus grande chez les patients ayant un antécédent familial de cancer gastrique (El Omar et *al.*, 2000).

Certains polymorphismes d'expression des cytokines (IL-1, TNF) augmentent la réponse inflammatoire de l'hôte. L'équipe de El-Omar a été la première à montrer que ces polymorphismes favorisent chez les patients infectés par *H.pylori* le développement de l'adénocarcinome gastrique et des états précancéreux: atrophie et hypochlorhydrie (El Omar et *al.*, 2000).

Ces données ont été confirmées dans d'autres populations et une étude portugaise a été récemment publiée montrant une association synergique entre les facteurs de virulence de la bactérie (gènes cagA et vacA) et certains polymorphismes des cytokines (IL-1B-511\*T et IL-1RN\*2/\*2) (Figuriredo et *al.*, 2002).



**Figure N°21 :** Déterminisme pathologique lié à *H. pylori*. L'évolution vers le cancer gastrique est la conséquence d'une interaction complexe entre les facteurs bactériens, de l'hôte et environnementaux (Wroblewski et al., 2010).

**; Diagnostic d'une infection à *H. pylori* :**

Les techniques de diagnostic d'une infection à *H. pylori* comprennent les méthodes microbiologiques, anatomopathologiques, immunologiques, et celles basées sur la mise en évidence de l'activité uréasique bactérienne. Ces méthodes sont soit invasives nécessitant une endoscopie avec biopsie, soit non invasives, c'est-à-dire, sans endoscopie (Korwin et Lozniewski, 2000).

## CHAPITRE 3 : DIAGNOSTIC DE L'INFECTION A H.PYLORI.

### 1- Diagnostic par des méthodes invasives :

#### 1-1 Analyse anatomo-histologique :

Les coupes sont colorées par diverses colorations, la plus répandue étant la coloration HE (hématoxyline-éosine). On peut aussi mettre en évidence les lésions histologiques de gastrite (**Figure N°22**).

Il est déconseillé de procéder au diagnostic d'une infection à *H.pylori* à partir de matériels biologiques obtenus suite à une endoscopie lorsque le patient prend des antibiotiques ou des anti-sécrétoires (les IPP en particulier). La recommandation générale est d'éviter ces médicaments les deux semaines précédant l'endoscopie (Jonkers et al., 1997a ; Mégraud et al., 1991). Le gros avantage de l'analyse anatomo-pathologique est qu'elle permet conjointement le dépistage de la gastrite et la recherche de complications, telles qu'atrophie, métaplasie, lymphome ou cancer.

Les principales limites de l'histologie sont la nécessité d'avoir de bons prélèvements pouvant mettre en évidence les surfaces épithéliales, et d'autre part, le manque de sensibilité. De nombreuses études révèlent que la qualité de l'examen dépend en effet de l'expertise de l'anatomo-pathologiste (Andrew et al., 1994; Christensen et al., 1992; El-Zimaity et al., 1997b). La sensibilité et la spécificité de l'examen peuvent être améliorées par immunohistochimie (Doglioni et al., 1997; Jonkers et al., 1997b).



**Figure N°22:** Visualisation *H.pylori* sur coupe histologique après coloration HE grossissement 100 (Marshall et al., 1985).

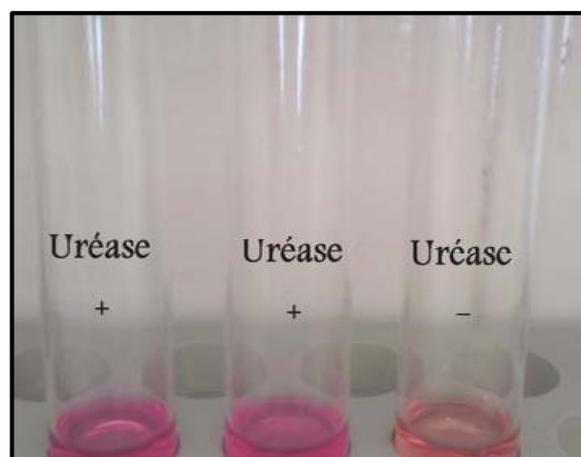
## 1-2 Biologie moléculaire

Comparé à la culture, l'un des principaux avantages des techniques de biologie moléculaire est l'absence de contraintes quant aux conditions préanalytiques. En effet, il n'est pas indispensable que les bactéries soient viables. Dans un premier temps, des techniques moléculaires de type Polymerase Chain Reaction (PCR) standard ont été proposées. Après extraction de l'ADN, l'amplification est effectuée en utilisant l'une ou l'autre amorce issue de différents gènes spécifiques de la bactérie : ARNr 16S, ARNr 23S, ureA, cagA, vac (Megraud et Lehours, 2007). Ces techniques ont une sensibilité comparable à celle de la culture et sont plus rapides. En outre, les produits PCR peuvent être utilisés à des fins de typage moléculaire. Les gros inconvénients, limitant l'usage de la PCR classique pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori*, sont les risques de contamination et l'absence de standardisation. Actuellement les techniques de PCR en temps réel sont largement utilisées.

Cette méthode est connue pour sa rapidité, sa sensibilité et sa possibilité de mettre en évidence toutes les formes de *H. pylori*, y compris les formes cocco des non cultivables ou les bactéries mortes (Razafimahefa et al., 2012).

## 1-3 Tests rapides à l'uréase (TRU)

Ces tests consistent à mettre en évidence l'activité uréasique de *H. pylori* en déposant la biopsie gastrique dans un milieu liquide (tests « maison » (Figure N°23), CUtest), semi-solide (CLOtest, HUTtest, etc.) ou sur une membrane (Pyloritek) contenant de l'urée et un indicateur de pH. En présence de *H. pylori*, la dégradation de l'urée en ammoniac provoque l'alcalinisation du milieu et donc le changement de couleur de l'indicateur de pH (Korwin et Lozniewski, 2000). Cette test a une sensibilité de 80% et une spécificité de 95% (Lamarque, 2000). Lors d'un premier dépistage et en dehors de tout traitement, la positivité de ce test peut être suffisante pour démarrer le traitement (Malfertheiner et al., 2007). C'est ainsi qu'il occupe une place de choix dans le diagnostic de l'infection à *H. pylori* dans les pays en développement. La sensibilité du TRU est diminuée en cas de faible densité bactérienne intragastrique (inférieure à 1000 et 10000 bactéries) ce qui explique qu'il ne peut être utilisé pour le contrôle d'éradication d'*H. pylori* (Monteiro et Megraud, 1999).



**Figure N°23** : Test de l'urease en milieu Uree-Indol (Weeks et *al.*,2000).

#### 1-4 Culture bactérienne

La culture est théoriquement l'examen de référence pour le diagnostic d'une infection à *H.pylori*. Elle permet essentiellement l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. (AmirTididani, 2003). La biopsie est dilacérée ou broyée puisensemencée en milieu solide (enrichi en suppléments et agents sélectifs).

Après une incubation de 2 à 5 jours à 37° C et dans une atmosphère appauvrie en oxygène, la croissance obtenue sur une gélose enrichie au sang se traduit par l'apparition de colonies translucides, non pigmentées d'un diamètre d'environ 1 mm(**Figure N°24**).



**Figure N°24** : Culture de *H.pylori* obtenue après trois jours d'incubation sur boîte au sang, colonie de 1mm transparente (Marshall, 1984).

#### 2- Diagnostic par des méthodes non-invasives :

Soulignons d'emblée que ces types de méthodes ne nécessitent pas l'obtention, au préalable de biopsie pour effectuer le test de dépistage de *H.pylori*.

##### 2-1 Sérologie

La réponse humorale à l'infection par *H.pylori* est caractérisée par la production d'anticorps spécifiques(principalement immunoglobulines (IgG, IgA, IgM), qui peuvent être détectés dans le sang, le plus souvent par des méthodes ELISA (Korwin et Lozniewski,2000).

La persistance, parfois prolongée, des anticorps dirigés contre *H.pylori*, ne permet pas de distinguer une infection encore active d'une infection asymptomatique.

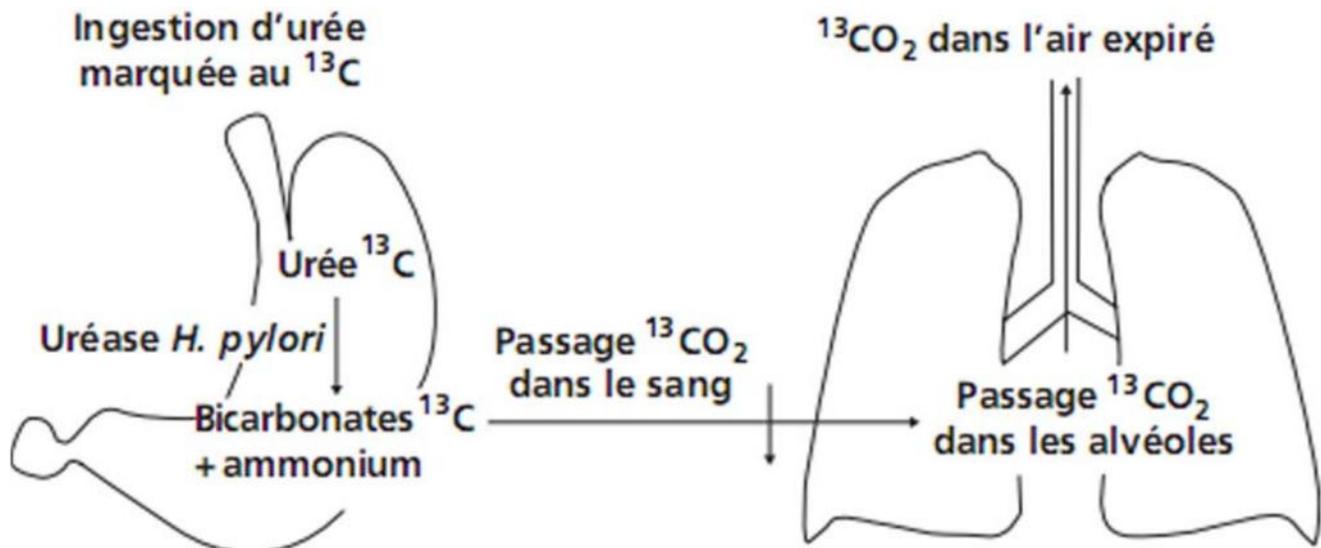
La sensibilité et la spécificité varient de 71 à 95%, selon les kits commercialisés (Mégraud et Lehours, 2007).Son principal usage consiste en des études épidémiologiques.

##### 2-2 Test respiratoire à l'urée marquée

Le test respiratoire fut le tout 1er des tests non-invasifs (Graham et *al.*, 1987).Il consiste à faire absorber au patient de l'urée marquée au <sup>13</sup>C puis à rechercher cet isotope dans le CO<sub>2</sub> expiré. Si le patient est infecté, l'urée est métabolisée par *H.pylori* et le <sup>13</sup>C expiré peut être détecté(**Figure N°25**).

Le patient doit être à jeun, et absorber une solution d'acide citrique (Helikit) ou de jus d'orange (Helicobacter test infai) avec l'urée marquée au  $C_{13}$  principalement afin de retarder la vidange gastrique et allonger les temps de contact entre l'uréase bactérienne et l'urée  $C_{13}$  (Biomnis, 2008).

Ce test, incontestablement le plus sensible (98%), présente l'avantage de rechercher la présence de la bactérie dans la totalité de l'estomac. Il est recommandé pour le contrôle d'éradication 4 semaines après l'arrêt d'un traitement (Malfertheiner et al., 2007).



**Figure N°25** : Principe du test respiratoire à l'urée marquée au  $C_{13}$   
(Malfertheiner et al., 2007).

### 2-3 Recherche d'antigène dans les selles

Basée sur l'élimination de *H.pylori* par les selles, cette méthode de diagnostic a été proposée en 1998 (Makrithis et al., 1998). La recherche d'antigène spécifique de *H.pylori* s'effectue sur selles fraîches ou conservées à basse température ou même congelées à  $-70^{\circ}C$ . Différents kits sont proposés à cet effet; ceux utilisant les anticorps monoclonaux offrent de meilleurs résultats (Blanco et al., 2008). En pratique, ce test peut servir au diagnostic primaire de l'infection mais s'avère surtout utile pour le contrôle de l'efficacité du traitement d'éradication. Assez pratique en pédiatrie, il pourrait être utilisé comme alternative au test respiratoire pour le contrôle d'éradication (Malfertheiner et al., 2007).

### 3- Traitement de l'infection à *H.pylori*

Depuis plus de 10 ans, le traitement probabiliste recommandé pour l'éradication de l'infection à *H.pylori* est la trithérapie IPP double dose, amoxicilline 1 g 2 fois par jour, clarithromycine 500 mg 2 fois par jour pendant 7 à 10 jours ou, en cas d'allergie à la pénicilline, la trithérapie IPP, métronidazole 500 mg 2 fois par jour, clarithromycine 500 mg 2 fois par jour (Lamouliatte et al., 2003). Les essais thérapeutiques qui se sont accumulés pendant la dernière décennie montrent à travers le monde une diminution de l'efficacité de cette trithérapie.

Cette perte d'efficacité est corrélée avec le taux de résistance à la clarithromycine et au métronidazole. Or en France, les taux de résistance à la clarithromycine et au métronidazole sont respectivement de plus de 20 % et de 40 à 60 % (Raymond *et al.*, 2010). De ce fait, on ne peut espérer un taux d'éradication supérieur à 70 % avec ces trithérapies classiques qui doivent donc être abandonnées. Il existe un consensus international pour adapter le traitement aux conditions locales de résistance à la clarithromycine notamment. En France, il est clair que les recommandations doivent aller vers des thérapeutiques qui permettent de s'extraire de cette problématique de la résistance primaire élevée à la clarithromycine.

La première solution est de tester la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques grâce soit à une culture classique des biopsies ou à la réalisation des techniques de diagnostic moléculaire des résistances à la clarithromycine et aux quinolones qui sont actuellement disponibles (Cambau *et al.*, 2009). Si ceci est possible, la trithérapie peut continuer à être utilisée avec la trithérapie classique en cas de sensibilité à la clarithromycine, la trithérapie IPP, amoxicilline, lévofloxacine 250 mg 2 fois par jour pendant 10 jours en cas de résistance à la clarithromycine et de sensibilité aux quinolones, la trithérapie IPP, amoxicilline, métronidazole 14 jours en cas de résistance à la clarithromycine et aux quinolones. Cette stratégie vient d'être testée dans un large essai thérapeutique en France avec des résultats qui devraient être supérieurs à 80 % d'éradication. Cependant, la culture étant de réalisation difficile et les tests moléculaires n'étant pas encore largement diffusés, il est indispensable de recommander un traitement probabiliste efficace. Sur la base des études dont on dispose à l'heure actuelle, 2 solutions peuvent être envisagées :

### 3-1 Traitement séquentiel

Il consiste à administrer pendant 5 jours IPP double dose + amoxicilline 1 g 2 fois par jour suivi de l'administration pendant les 5 jours suivants d'IPP double dose associés cette fois-ci à la clarithromycine 500 mg 2 fois par jour et au métronidazole 500 mg 2 fois par jour. Ce type de traitement a été rapporté notamment en Italie comme étant très efficace (supérieur à 80 % d'éradication) avec une légère diminution d'efficacité en cas de résistance à la clarithromycine.

Cet impact limité de la résistance à la clarithromycine, contrairement à celui qui a été observé au cours des trithérapies, a fait recommander le traitement séquentiel par de nombreux auteurs. L'impact réel de la résistance à la clarithromycine reste cependant à étudier dans les pays à fort taux de résistance primaire à la clarithromycine tels que la France. (Graham *et al.*, 2010).

### 3-2 La quadrithérapie bismuthée (OBMT) :

Revenue récemment au premier plan depuis la mise à disposition de gélules triples contenant à la fois du bismuth, de la tétracycline et du métronidazole. L'administration concomitante d'oméprazole permet, après 10 jours de traitement, d'obtenir des taux d'éradication bactérienne très intéressants (voisins de 90 %).

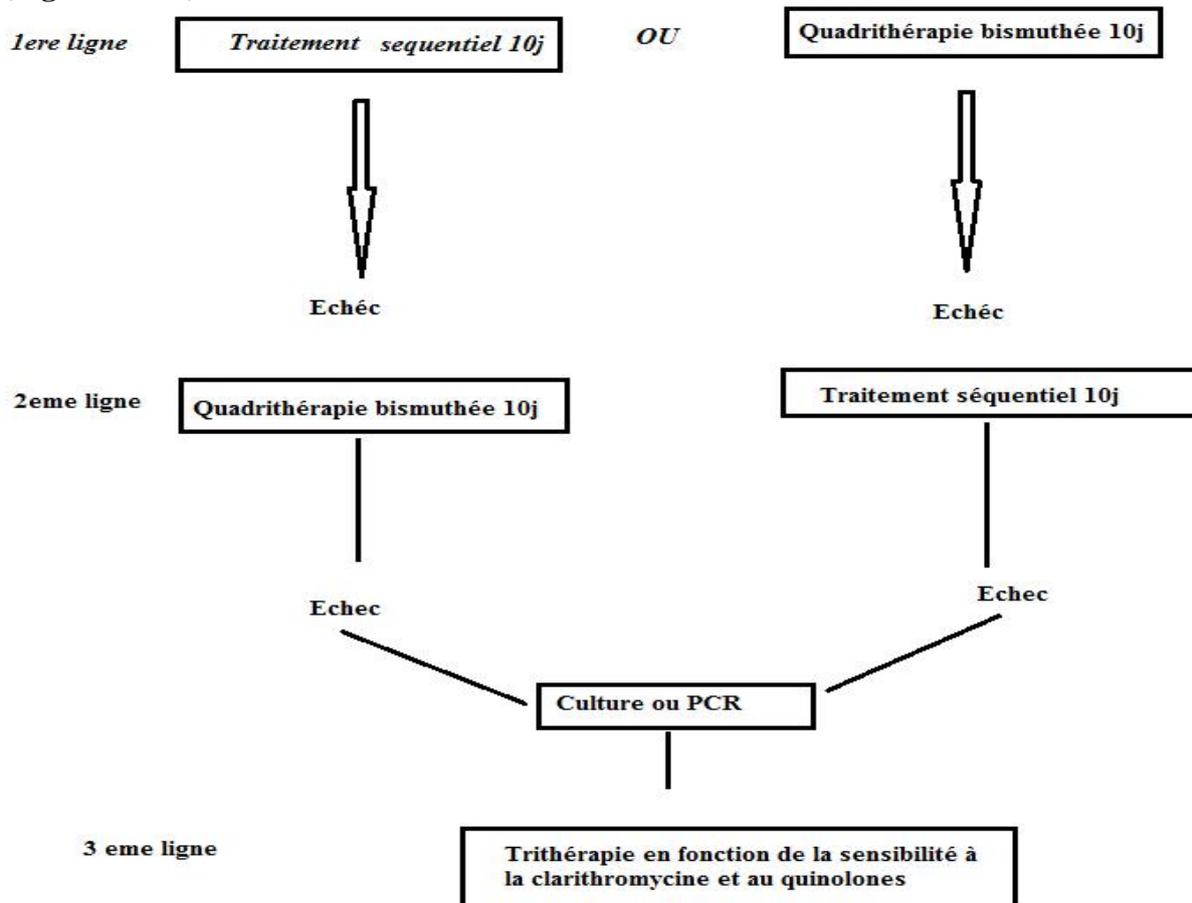
Ces résultats sont probablement en partie expliqués par l'absence de résistance à la tétracycline à l'heure actuelle et par le faible impact qu'a la résistance au métronidazole lorsqu'il est associé avec de la tétracycline et du bismuth. Elle ne contient pas de  $\beta$  lactamines

et peut donc être administrée aux malades allergiques à la pénicilline. La seule inconnue concerne la qualité de la tolérance au produit puisqu'il est nécessaire de prendre 14 comprimés par jour et que les antibiothérapies par tétracycline et métronidazole sont pas dénuées d'effets secondaires (Malfertheiner *et al.*, 2011).

**; Que faire en cas d'échec d'un traitement séquentiel ou de la quadrithérapie bismuthée ?**

Dans ce cas qui devrait être plus rare que celui actuellement observé avec la trithérapie, il est souhaitable d'étudier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques avant de prescrire un traitement de deuxième ligne. Lorsque cela est impossible, la règle devrait être de ne pas administrer de traitement contenant de la clarithromycine en cas d'échec initial du traitement séquentiel et également de ne pas ré-administrer de traitement contenant du métronidazole et/ou de la tétracycline en cas d'échec du traitement par quadrithérapie bismuthée. En cas d'échec du traitement de deuxième ligne, il apparaît indispensable de faire une endoscopie avec des biopsies pour étude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques par cultures avec étude notamment de la sensibilité à l'amoxicilline, la clarithromycine, le métronidazole, la tétracycline, les quinolones et la rifabutine. La stratégie finale sera établie bien sûr en fonction des résultats des sensibilités à ces différents antibiotiques.

La composition des différents traitements proposés avec les posologies des différents composants est donnée dans le tableau 3. Un algorithme des 3 lignes de traitement est proposé (Figure N° 26).



**Figure N°26 :** Algorithme des trois lignes de traitement de l'infection à *H.pylori* recommandées en France (Delchier, 2012).

**; Chez qui faut-il éradiquer *H. pylori* ?**

Les indications formelles d'éradication sont :

- Le lymphome gastrique du MALT ;
- La maladie ulcéreuse gastrique ou duodénale active, inactive ou compliquée ;
- Les gastrectomies partielles pour ulcère ou cancer ;
- Le cancer superficiel traité par résection endoscopique ;
- Les sujets apparentés au premier degré avec un patient atteint de cancer gastrique.

Dans tous ces cas, l'indication de l'éradication est formelle, et il convient toujours de proposer une 3e ligne thérapeutique en cas d'échec du traitement standard de 1re et 2e ligne. Dans tous les autres cas, le risque de cancer gastrique justifie désormais l'éradication. En effet, ces dernières années, le rôle carcinogène de *H.pylori* a été affirmé grâce à des études cas témoins puis grâce à des études japonaises de suivi endoscopique et à des études chinoises d'intervention. Le risque de cancer gastrique lié à *H.pylori* apparaît désormais comparable au risque du cancer du poumon lié au tabac. Le risque de cancer à long terme justifie de proposer chaque fois que l'infection est diagnostiquée, un traitement standard comprenant une première ligne et si nécessaire une 2e ligne de traitement. En cas d'échec, le traitement de 3e ligne devra ici être discuté avec le patient.

**ÉTUDES  
EXPÉRIMENTALE**

## **1- Cadre de l'étude :**

L'étude a été menée au Centre hospitalo-universitaire CHU Nedir Mohamed à Tizi-Ouzou

### **1-1 Déroulement de l'étude :**

#### **1-1-1 Période et type d'étude :**

C'est une étude prospective qui s'est déroulée sur une période de 9 mois (avril-décembre 2014). Elle inclut 45 patients, pris en charge au service de médecine interne et au service de gastro-entérologie pour investigation endoscopique de leur pathologie digestive haute.

#### **1-1-2 Critères d'inclusion :**

Nos patients, tous âgés de plus de 20ans, consultaient pour l'un des symptômes clinique suivant : hémorragie digestive haute (hématémèse)et/ou basse(méléna),une dyspepsie ulcéreuse, des épigastralgies, un reflux gastro-oesophagien(RGO), un ulcère bulbaire, un ulcère gastrique, une œsophagite, une gastrite, une bulbite, une duodénite et une tumeur gastroduodénale.

Un autre critère, une présence de lésions à l'endoscopie indique la biopsie

#### **1-1-3 Critères d'exclusion :**

Les patients exclus de l'étude sont les patients ayant pris un traitement d'éradication d'*H.pylori* durant les 3 derniers mois précédant la consultation.

#### **1-1-4 Collecte des données et des échantillons :**

Nous avons collecté au total 45 échantillons et sur chaque patient deux types de prélèvements ont été réalisés: une biopsie gastrique et un prélèvement sanguin. Chez chaque patient, deux biopsies ont été prélevées par le médecin gastroentérologue: une biopsie au niveau antrale et une au niveau du fundus gastrique.Les prélèvements ont été congelés à -34°C dans des pots stériles pour une étude ultérieure.

Des biopsies des mêmes patients qui présentaient une suspicion de gastrite et/ou d'adénocarcinome ont été transportées dans le laboratoire d'anatomopathologie pour une confirmation par l'examen histologique. Les biopsies ont été fixées dans 10% de formol tamponné, traités, inclus dans la paraffine et coupées et colorées à l'hématoxyline et à l'éosine (HE).

La recherche d'*H.pylori* par les différentes techniques (invasives et non invasives) a été réalisée chez les 45 patients. Nous allons prendre la culture comme examen de référence pour la recherche d'*H.pylori*, telle que rapporté dans la littérature. Cependant, les difficultés de mise au point de technique de culture rencontrées durant l'étude a affecté la majorité des cas. Nous allons tenir compte des résultats d'anapath pour la fiabilité de notre étude et pour évaluer la sensibilité et spécificité des examens réalisés.

Lediagnostic endoscopique est classé en gastrite, ulcère gastrique, et adénocarcinome.

## **2- Matériels et méthodes :**

### **2-1 Matériel :**

#### **2-1-1 Réactifs et milieux de culture :**

- Hélicobacter pylori sélective supplément (Dent) (vancomycine 5.0mg ;trimethroprim 2.5mg ;cefsulodin 2.5mg ; amphotericin b 2.5mg).
- Mélange PolyViteX (mélange de vitamine).
- Milieux de réaction Urée-Indole(**Annexe N°01**).
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (9,82 Mol/L).
- Disque d'oxydase (1% diméthyl para phénylène diamine).
- Alcool (70°).
- Violet de Gentiane.
- Lugol.
- Fushine.
- Solutions d'alcool à différentes concentrations (50%, 70%, 96%, 100%).
- Xylène (solvant organique).
- Paraffine (fondue).
- **Milieu de culture :**
  - Milieu columbia agar ; il s'agit d'un milieu gélosé à base de columbia contenant 10 % de sang de cheval additionné d'antibiotique (**Annexe N°01**).
  - Muller Hinton.

#### **2-1-2 Equipement du laboratoire comportant :**

##### **a- Appareillage :**

- Etuve réglé à 37c°.
- Hermo (-32c°).
- Congélateur.
- Jarre d'incubation.
- Un microscope optique.
- Appareil à circulation (Circulateur) ;
- Appareil à enrobage ;
- Microtome ;
- Bain marie ;
- Batterie de coloration hématoxyline-éosine (HE).

Le descriptif de ces appareils est représenté dans l'**Annexe N°06**

##### **b- Matériel nécessaire pour la manipulation :**

Lame et lamelle, pipettes pasteur, bistouris,seringue,boites de pétries, tubes urée-indole, eau physiologique, sachet micro aérophiles (GENbox).

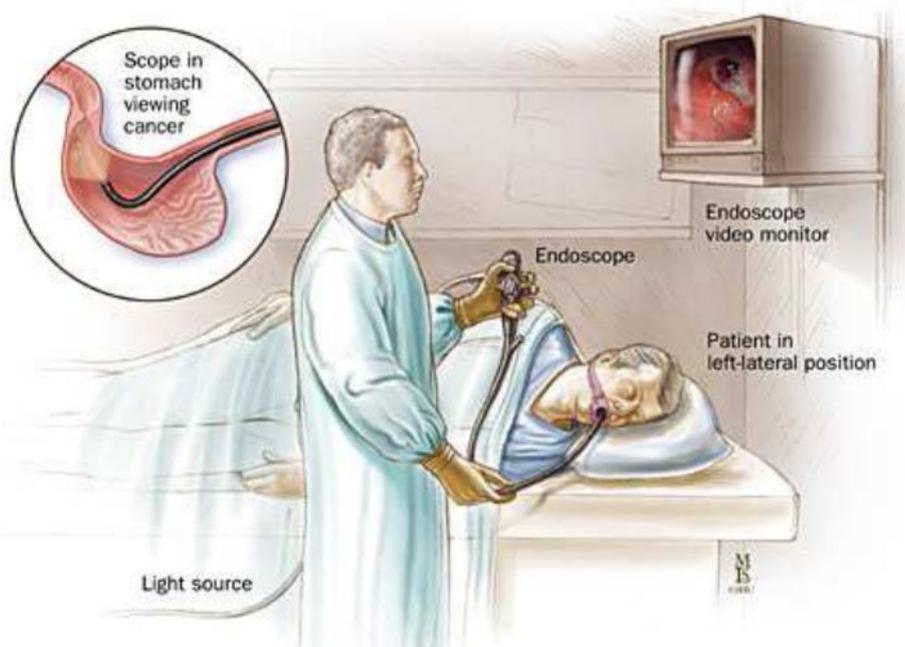
**c- Matériel biologique :**

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par des fragments de biopsie gastrique (1 échantillon par patient, antre de préférence).

**2-1-3 Collecte des biopsies et gestes endoscopiques :**

La fibroscopie est réalisée au service de gastro entérologie et au service de médecine interne, elle consiste à introduire un tube optique muni d'un système d'éclairage. Couplé à une caméra vidéo on peut ainsi retransmettre l'image sur un écran (**Figure N°27**).

Des patients (n=45) ayant subi une endoscopie digestive haute afin de prélever des biopsies gastriques de l'antre, au niveau du service gastrologie dirigée par la gastroentérologue Dr TAGZOUT dont une fiche technique est remplie contenant toutes les informations des patients examinés (**Voir Annexe 03**). Un fragment biopsique est mis dans le bouillon urée-indole pour détecter la présence de l'uréease et un fragment dans le formol à 4% pour l'examen anatomopathologique et cytologique. Pour l'isolement de *H.pylori* deux fragments sont mis dans de l'eau physiologique.



**Figure N°27 :** Prélèvement de biopsies gastriques par endoscopie digestive haute (FOGD).

**2-1-4 Acheminement au laboratoire :**

Les biopsies gastriques sont récoltées en salle d'endoscopie et immédiatement transportées au laboratoire, le délai de transport est compris entre 2h et 4h maximum. Si le délai de transport est supérieur à 4h, il est impératif de congeler les biopsies à -37°C dans un tube sec. Les prélèvements ne nécessitent pas de milieux de transport particuliers. Ils sont

déposés, lors de l'endoscopie, dans des tubes à essai contenant uniquement de l'eau physiologique stérile.

## **2-2 Méthode :**

### **2-2-1 Préparation de milieu de culture :**

On prépare le milieu de culture comme suite :

- 8.4g de poudre de Columbia est dissoute dans 200ml d'eau distillé.
- Régénération pendant 4h au bain marie.
- On laisse refroidir jusqu'à ce qu'ils deviennent tièdes puis on rajoute :
  - 20ml de sang humain ou bien de cheval.
  - 0.8ml de supplément HP (inhibe la croissance d'autre bactérie).
  - 2 ampoules de PVX (PVS).
- les boites coulées sont incubées à l'étuve 24h pour vérifier s'il ya d'éventuelle contamination.

### **2-2-2 Test rapide à l'uréase:**

Un fragment est mis dans un tube contenant de l'urée indole pour détecter l'activité uréasique qui montre la présence de la bactérie dans la biopsie. Le résultat positif est interprété par le changement de la couleur de l'urée- indole de l'orange au rose ou rouge après incubation à 37°C pendant 24h.

### **2-2-3 Ensemencement et caractérisation d'Hélicobacter :**

Cette partie a pour but d'isoler et caractériser des souches de *H.pylori*, responsable des pathologies gastriques à partir des biopsies gastriques. Les étapes de l'ensemencement de souches de *H.pylori* ont été mentionnées par la Société française de microbiologie, (2010).

#### **2-2-3-1 Broyage des biopsies :**

Cette étape consiste à une séparation maximale des bactéries au sein du fragment de la muqueuse gastrique, elle permet la dispersion des bactéries et leur libération des cellules à mucus. Chaque échantillon de biopsie gastrique préalablement immergé dans 1ml d'eau Physiologique stérile est broyé manuellement à l'aide d'un bistouri stérile.

#### **2-2-3-2 Culture bactérienne :**

Un aliquote du broyat est ensemencé sur le milieu Columbia ou bien MH (Muller Hinton) au sang frais avec supplément (préalablement coulé et incubé pendant 24 heures, à 37°C).

- On ensemence à l'aide d'une pipette en râteau en effectuant des mouvements circulaires sans toucher les bords de la boîte de Pétri. Les boîtes sont incubées à 37°C en atmosphère micro-aérobie (5 à 6% d'O<sub>2</sub>). L'atmosphère micro-aérophile est obtenue par l'usage des sachets micro aérophiles placés dans la jarre oxiode. La température optimale de culture est de 37°C.

En primo-culture, les colonies apparaissent en 3 à 12 jours sur gélose au sang. En subculture, la croissance est plus rapide (2 à 4 jours). Les primo-cultures doivent donc être incubées 12 jours et examinées toutes les 48h à partir du 3<sup>e</sup> jour.

Certaines cultures dégénèrent rapidement. Il convient donc de démarrer les subcultures dès que les colonies sont visibles.

Dans le cas de cultures pauvres, une subculture peut être tentée sur une petite surface de gélose (culture "en spot"). On peut également "ré-étaler les colonies" dans une autre zone du même milieu (à condition qu'il ne contienne aucun contaminant). Ces procédés favorisent la culture des souches difficiles.

- Aucun diagnostic différentiel n'est à envisager. *H.pylori* est la seule bactérie retrouvée dans l'estomac humain avec *H.heilmannii* qui ne pousse pas dans ces conditions. De façon exceptionnelle, le diagnostic différentiel peut se poser avec des *Campylobacter* mais ces derniers sont uréase négative.

### **2-2-3-3 Etude microscopique :**

L'étude microscopique ou bien l'examen direct est précédée d'une étape de coloration de Gram qui permet de voir l'aspect morpho-tinctoriale de la bactérie. Cette méthode permet de mettre en évidence *H.pylori* à la surface de l'épithélium de la muqueuse gastrique. La technique de coloration se déroule en plusieurs étapes :

- **Réalisation du frottis :**

- On dépose une goutte d'eau distillée sur une lame propre, à l'aide d'une seringue ou d'une pipette Pasteur.

- On prélève un fragment de biopsie, le déposer dans la goutte d'eau et l'étaler en effectuant des mouvements circulaires, à l'aide d'une pipette Pasteur puis on fixe à la chaleur sous bec benzen.

- **Coloration du frottis par la méthode de Gram:**

- On recouvre le frottis de Violet de Gentiane. On laisse agir 1 minute.

- On verse le lugol. On laisse agir 1 minute 30. Rinçage.

- On verse l'alcool (70°) goutte à goutte sur la lame jusqu'à recouvrir tout le frottis. On laisse agir 30 secondes, puis rinçage.

- On recouvre la lame de Fushine. On laisse agir 1 minute. Rinçage. Séchage. Observation au microscope optique.

- On dépose une goutte d'huile à immersion sur la lame.

- On observe à l'objectif x100.

### **2-2-3-4 Mise en évidence de la catalase :**

La catalase est une enzyme contenant du fer qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau (détoxification). La mise en évidence de la catalase est réalisée en présence d'eau oxygénée mise en contact avec la colonie. Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) signe la présence d'une catalase (**Figure N°32**).

; **Mode opératoire :**

- On dépose une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sur une lame propre.

On prélève une colonie avec une pipette Pasteur et on la dépose dans la goutte d'eau oxygénée. La présence de l'enzyme se traduit par le dégagement de bulles gazeuses.

**2-2-3-5 Mise en évidence de cytochrome oxydase :**

Une oxydase est une enzyme catalysant une réaction d'oxydo-réduction impliquant une molécule de dioxygène (O<sub>2</sub>) comme accepteur d'électron. Dans ces réactions, l'oxygène est réduit en eau (H<sub>2</sub>O) ou en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). (**Figure N°33**).

; **Mode opératoire :**

Ce test est réalisé en boîte de Pétri.

- On dépose un disque d'oxydase(diméthylparaphénylène diamine) sur un papier filtre (de type whatman par exemple). Puis on rajoute une goutte d'eau sur le disque.
- On prélève une colonie avec une pipette stérile, et on la dépose sous forme d'un trait sur ce front de diffusion, apparition au bout de quelque seconde d'une coloration bleu-mauve.

**2-2-3-6 Etude de la sensibilité aux antibiotiques :**

Après recherche et identification de *H.pylori*, nous procédons à l'étude de la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques habituellement prescrits dans les pathologies gastriques qui lui sont liées.

; **Antibiogramme par la méthode de diffusion sur gélose:**

La liste des antibiotiques testés sont :  
Amoxicilline, Ciprofloxacine, Tétracycline, Erythromycine, Acide nalidixique.

• **Préparation de l'inoculum :**

Une suspension de colonies fraîches (obtenue après 3 jours d'incubation) de *H.pylori* (densité de 3 à 4 Mac Farland) estensemencée de manière homogène par écouvillonnage sur gélose Muller Hinton.

• **Mode opératoire :**

- On plonge un écouvillon stérile dans l'inoculum et bien l'essorer sur les rebords du tube.
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée d'un milieu Mueller- Hinton au sang frais, de haut en bas, en stries serrées.

- On répète l'opération deux fois en tournant la boîte de Pétri à 60°, à chaque fois. On finit en passant l'écouvillon sur toute la périphérie de la boîte.

• **Application des disques d'antibiotiques :**

Les disques d'antibiotiques sont d'abord retirés du congélateur (-20°C), puis laissés à température ambiante. A l'aide d'une pince stérile, on dépose les disques, un à un, sur la gélose ensemencée, à l'extrémité de la boîte de Pétri. Pour une bonne lecture, On dépose trois disques maximum par boîte.

Incubation : On incube à l'étuve à 37°C deux à trois jours, en atmosphère microaérophile. La lecture est faite après une période minimale d'incubation de 72 heures. Si la croissance, à la surface de la gélose, est significative et que les zones d'inhibitions sont clairement visibles, on peut mesurer les rayons d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse métallique (les disques ayant été déposés aux bords de la boîte de Pétri) et les multiplier par deux pour obtenir les diamètres d'inhibition. Les valeurs obtenues sont alors interprétées en fonction d'un abaque de lecture. Si ces conditions ne sont pas remplies, on prolonge le délai d'incubation.

**2-2-4 Etude histologique :**

L'étude histologique passe par plusieurs étapes qui ont pour objectif l'obtention de coupes de tissus très minces pour l'observation microscopique. De manière générale, nous avons effectué sept étapes :

**1- Circulation :**

La circulation a pour but de rendre le tissu suffisamment rigide pour que l'on puisse le manipuler sans risquer de l'abimer. Elle dure 12 heures et comprend trois étapes :

**1-1 Déshydratation :**

La déshydratation est progressive. Elle dure 08 heures et se fait par passages successifs du tissu dans des solutions d'alcool à concentrations croissantes (50%, 70%, 96%, 100%) (2 heures dans chaque bain).

**1-2 Eclaircissement :**

Cette étape d'une durée de deux heures est réalisée par un solvant organique «Le Xylène» dans lequel peut se dissoudre l'alcool.

**1-3 Imprégnation :**

Elle se fait par immersion du tissu dans deux bacs de paraffine fondue pendant une heure chacun. Cette dernière a pour rôle de remplir les pores tissulaires préalablement vidés de leur eau lors de la déshydratation. Le but étant de ne pas obtenir un tissu exsudé.

Nous avons donc fait passer les cassettes préalablement préparées par le médecin dans l'appareil à circulation (circulateur).

## **2- Inclusion et enrobage :**

L'objectif de l'inclusion en paraffine est de fournir un support au tissu pendant et après la coupe au microtome. Nous avons préparé des blocs de paraffine pour nos échantillons.

La technique d'enrobage que nous avons utilisée s'effectue comme suit :

- On récupère les cassettes qui se trouvent dans l'appareil à circulation et on les plonge dans le bac de l'appareil à enrobage. Ce dernier contient une petite quantité de paraffine liquide.
- On ouvre une cassette, on jette le couvercle et on prend le fragment à l'aide d'une pince.
- On place le fragment dans un moule adéquat dans lequel on aura déjà versé une petite quantité de paraffine liquide grâce au distributeur de paraffine de l'appareil à enrobage (partie chaude).
- Une fois le fragment dans le moule, on verse dessus une petite quantité supplémentaire de paraffine liquide.
- On dépose le moule sur le compartiment froid de l'appareil pour bien le fixer puis on le recouvre par la cassette dans laquelle le fragment a été pris. On verse encore une petite quantité de paraffine dessus.
- Après solidification au congélateur, on démoule le bloc de paraffine. Le fragment tissulaire se retrouve alors inclus dans un bloc solide.

## **3- Microtomie (réalisation des coupes) :**

La microtomie consiste en l'utilisation d'un microtome lequel, grâce à sa lame, permet de couper les blocs de paraffine préalablement préparés. On obtient ainsi des rubans trèsminces de 3 à 5 microns. Ainsi, nous avons réalisé cette étape sur nos trente échantillons comme suit :

- On place le bloc de paraffine sur le support de bloc du microtome,
- On rabote le bloc jusqu'à l'exposition totale de la surface du fragment tissulaire,
- On réalise des coupes très minces. L'ensemble de ces dernières forment un ruban.
- On dépose les rubans obtenus dans un bain marie (37°C) et on les récupère rapidement en les étalant sur des lames.

## **4- Etalement :**

L'étalement des coupes consiste à aplanir le tissu sur la lame. Il se fait sur eau chaude à environ 37 °C. En effet, les rubans préalablement obtenus et placés dans le bain marie sont étalés sur des lames comme suit:

- On enlève les plis qui restent sur les coupes en les étirant délicatement,
- On dépose nos coupes sur des lames en prenant soin de bien les centrer,
- On étiquette nos lames en écrivant le numéro du patient et du bloc avec un crayon diamant,
- On laisse sécher les lames à l'air libre.

## **5- Déparaffinage :**

Le déparaffinage consiste à éliminer la paraffine qui entoure le fragment. Il se fait comme suit : on place les lames sèches dans de petits chariots qu'on met dans l'étuve à 37°C pendant environ 12 heures pour faire fondre la paraffine.

#### **6- Coloration de routine : méthode à hématoxyline-éosine (H.E) :**

La coloration combinée hématoxyline-éosine permet de mettre en évidence les principaux éléments morphologiques des tissus (coloration topographique). Elle associe une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris et une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. La coloration résulte donc de l'action conjuguée d'un colorant acide CO<sup>-</sup> (éosine) qui colore les substances basiques de la cellule et d'un colorant basique NH<sup>+</sup> (hématoxyline) qui colore les substances acides.

Une fois le déparaffinage de nos lames achevé, nous les avons récupérées et placées dans des chariots spéciaux que nous avons fait passer dans les 27 bacs de la batterie de coloration dont la succession permet de réaliser les étapes nécessaires de la technique. Le temps passé dans chaque bain est de 30 secondes.

La technique consiste à poursuivre le déparaffinage par le xylène puis à réaliser une réhydratation des tissus par de l'alcool à concentrations décroissantes (100%, 96%, 70%, 50%). Une fois les tissus réhydratés, on réalise une coloration nucléaire par l'hématoxyline de Harris suivie d'une coloration du cytoplasme et du collagène par l'éosine. Suite à cette double coloration, on procède à la déshydratation des tissus par de l'alcool et à leur éclaircissement par le xylène. La technique est réalisée de manière automatique grâce à l'automate de coloration (Batterie de coloration HE).

Après la coloration, nous avons retiré les lames des petits chariots et nous les avons déposées sur un plateau en bois pour sécher. Après séchage de nos lames, nous avons procédé au montage.

#### **7- Montage des lames :**

Le montage des lames consiste à protéger définitivement le tissu étalé sur la lame par une lamelle de verre, collée à l'aide d'un produit synthétique transparent qui se polymérise à l'air, appelé « EKIT ».

Nous avons donc procédé au montage de nos lames comme suit :

- On plonge la lame dans un bain de xylène puis on la retire immédiatement. Le but est d'éliminer les éventuelles impuretés et d'éclaircir la coloration,
- On verse une goutte d'EKIT sur la lamelle qu'on dépose sur la lame en évitant les bulles d'air qui gêneront l'observation,
- On plonge la lame montée dans un bain de xylène et on la retire de suite. Le but de cette étape est de nettoyer la lame de toutes impuretés.
- On laisse sécher à l'air libre.

**RESULTATS**  
**ET**  
**DISCUTOINS**

; **Lecture des résultats :**

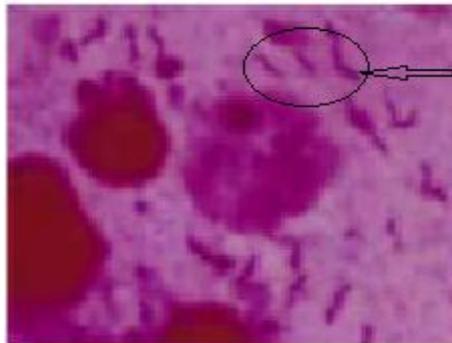
### **1- Isolement et caractérisation de *H.pylori*:**

Les résultats de notre étude sont représentés par les 3 techniques de diagnostic utilisées : culture, test rapide à l'uréase et l'histologie.

#### **1-1 Aspect d'*H.pylori* après coloration de Gram :**

L'examen microscopique d'un frottis préparé à partir de colonies suspectes en fixant la goutte de la suspension bactérienne à la flamme; ensuite le frottis est coloré par la méthode de Gram a permis d'observer des cellules fines de couleur rose prouvant leur appartenance aux Gram négatif.

Ces cellules prennent beaucoup plus la forme de bacille qui se trouve répartis de manière très hétérogène, le plus souvent regroupés à proximité des cellules épithéliales dans les trainées de mucus. Ce sont les caractères morphologiques des cellules *H.pylori* sous microscope optique (**Figure N°28**)



**Figure N°28 :** Observation microscopique d'un frottis préparé à partir d'une biopsie gastrique et coloré par la méthode de Gram (10X100).

#### **1-2 Test rapide à l'uréase en milieu urée -indole:**

Cette étape consiste à la mise en évidence d'une enzyme appelée « uréase » qui transforme l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. Cet ammoniac va partiellement neutraliser l'acidité gastrique autour de la bactérie.

On prélève un fragment de biopsie et on le dépose dans le tube de milieu Urée-Indole. En présence de l'uréase bactérienne, au bout de quelques minutes, le milieu passe du jaune-orangé au rose fushia (**Figure N°29**).



**Figure N°29 :** mise en évidence du test à l'uréase.

### 1-3 Identification des cultures :

Les milieux ensemencés mis à l'étuve à 37°C en atmosphère microaérophile, les colonies de *H.pylori* sont petites (0,5 mm) ou en nappes, brillantes, non hémolytiques, oxydase et uréase positives. Elles poussent en plus de 3 jours en microaérophilie(**Figure N°30**).



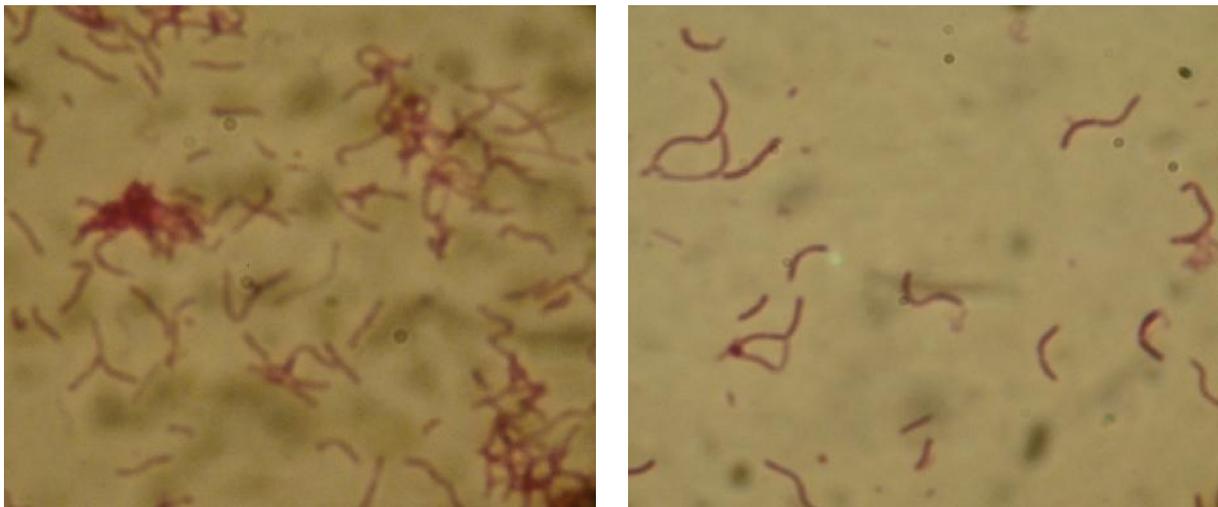
**Figure N°30:** Aspect des colonies de *H.pylori* sur gélose Columbia au sang frais.

L'identification de *H.pylori* passe par deux étapes :

- La première est une identification morphologique après coloration de Gram
- La seconde est basée sur l'analyse de la présence de trois enzymes spécifiques : uréase, catalase et cytochrome oxydase.

### 2-2-5 Observation au microscope optique :

- On dépose une goutte d'huile à immersion sur la lame et on observe à l'objectif x100. L'observation d'un bacille de forme hélicoïdale, spiralée en forme de U ou O coloré en rose (Gram -) (**Figure N°31**), isolé ou en « banc de poissons », indique la présence de *H.pylori*.



**Figure N°31 :** Aspect microscopique d'*H.pylori* après coloration de Gram au grossissement (10x100).

Mise en évidence de la catalase :



**Figure N°32:** mise en évidence de la catalase.

Mise en évidence de l'oxydase :



**Figure N°33 :** mise en évidence de l'oxydase

Quelques caractères sont à rechercher: GammaGT + PAL (API Campylobacter, bioMérieux)



**Figure N°34 :** API Campylobacter.

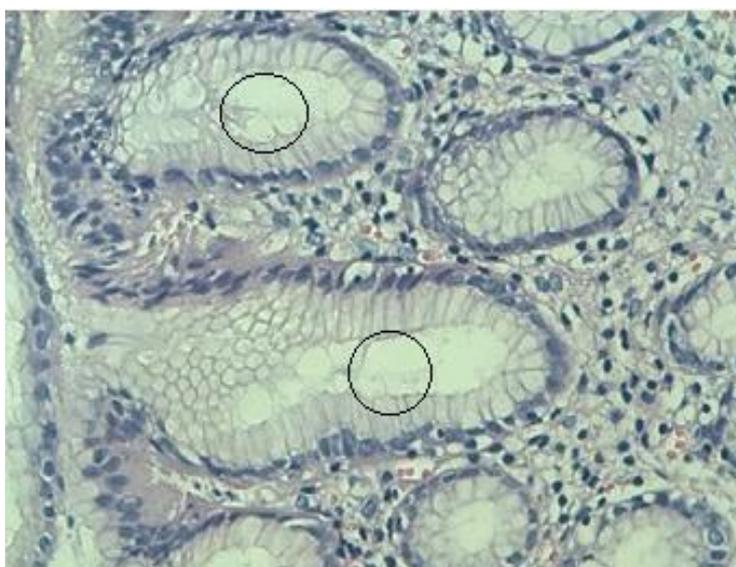
Pour les résultats d'antibiogramme, on a effectué un seul antibiogramme et c'était négatif, on pas eu de résultat car la suspension qu'on a préparé était pauvre en bactéries.

**2-3 Lecture des résultats de la coloration hématoxyline- éosine :**

La double coloration hématoxyline éosine aboutit à la coloration des différents éléments cellulaires :

- Les noyaux seront colorés en bleu violacé
- Le cytoplasme en rose
- Le collagène en rose pale.

La visualisation des résultats se fait par le microscope optique à des grossissements croissants(40, 100, 400).



**Figure N° 35:** Visualisation *H.pylori* sur coupe histologique après coloration HE grossissement 100 (laboratoire d'anapathologie cytologie CHU Tizi-Ouzou).

**2-3-3 Répartition générale des résultats :**

Les résultats de notre étude sont répartis en fonction des tests utilisés, l'histologie est classée comme test de référence pour la fiabilité de notre étude (Annexe N°07).

**Tableau 1 :** Taux de positivité globale (culture) :

Nombre total des patients	Effectif des patients positifs	Pourcentage des patients positifs %	Effectif des patients négatifs	Pourcentage des patients négatifs %

<b>45</b>	<b>06</b>	<b>13</b>	<b>39</b>	<b>87</b>
-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

D'après le tableau I sur un total de 45 patients atteints de pathologies gastriques associées à *H.pylori*, 06 se sont avérés positifs après culture.

Un patient est considéré positif à *H.pylori* lorsque la culture est positive. L'examen direct (test rapide à l'urée, états frais, coloration de Gram), quant à lui, permet d'orienter ou de confirmer le diagnostic.

**2-3-4 Répartition des résultats en fonction du sexe :**

**Tableau 2 :** Répartition des résultats en fonction du sexe.

Notre série démontre que la positivité à *H.pylori* est de 82% (n=23) chez les femmes et de 77% (n=22) chez les hommes selon les résultats d'histologie, présentant ainsi une différence non significative.

sexe	Nombre	Nombre des Positifs selon les résultats d'histologie	Pourcentage %
<b>Homme</b>	<b>22</b>	<b>17</b>	<b>77</b>
<b>Femme</b>	<b>23</b>	<b>19</b>	<b>82</b>

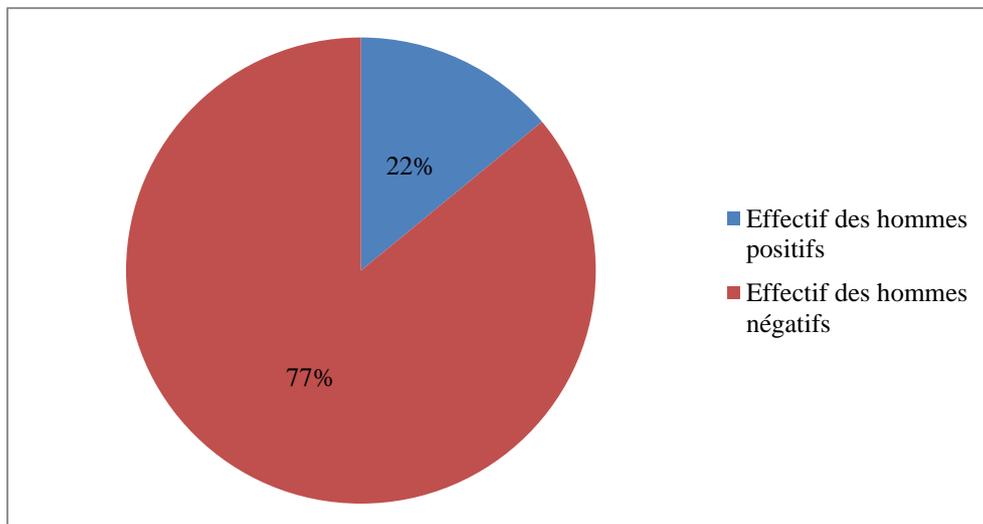


Figure N° 36 : Effectif des hommes positifs à *H.pylori*.

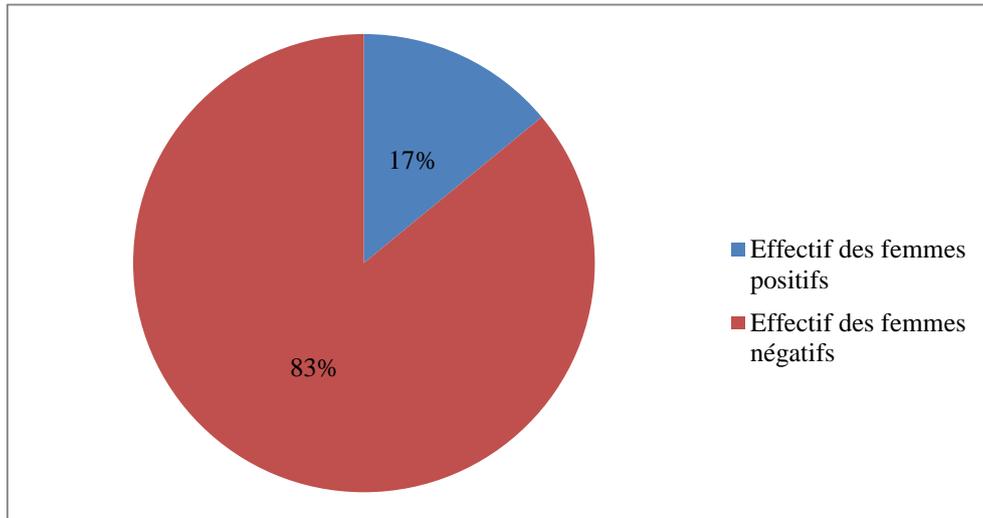
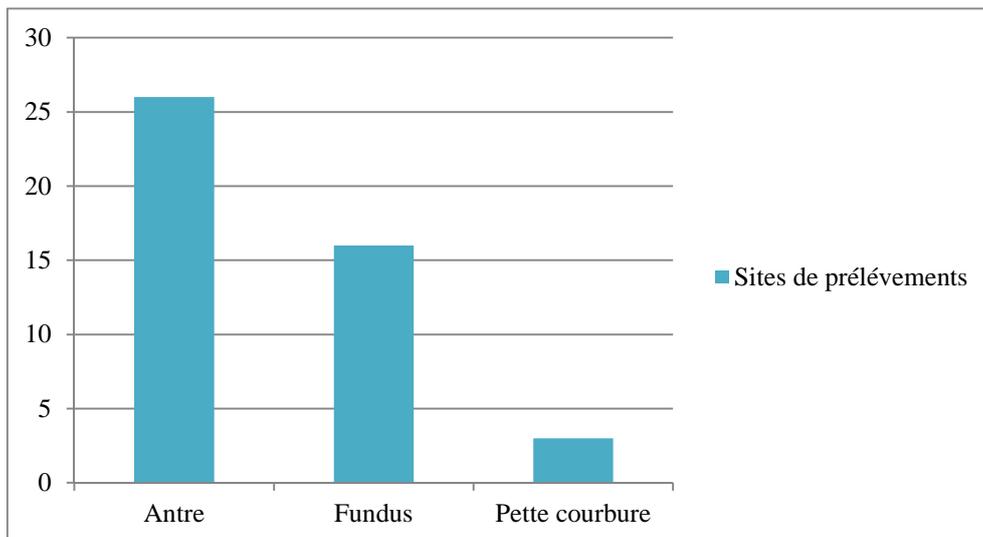


Figure N° 37 :Effectif des femmes positives à *H.pylori*.

**Tableau 3** :Présence de *H.pylori* dans les différents sièges de Prélèvement.

Concernant la répartition selon le siège du prélèvement,les résultats du laboratoire d’anapathologie obtenus ont démontrés que la localisation préférentielle de *H.pylori* est l’antre gastrique. En effet ,57% (n=26) des lésions sont attribuées à l’antre, 16%(n=16) sont observées au niveau du fundus, par contre, la petite courbure reste le siège le moins infectée.

Siège de prélèvement	Nombre	%
Antre	26	57,7%
Fundus	16	35,5%
Pette courbure	03	6,6%
<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>100%</b>



**Figure N° 38** :Répartition des résultats selon le site de prélèvement.

Le siège de prolifération de *H.pylori* est l'antre gastrique par excellence. En effet, l'antre est colonisé par *H.pylori* chez 57 % (n=26) de notre population. Ces résultats concordent avec les résultats trouvés dans le rapport d'institut pasteur du Maroc qui porte sur l'étude de l'infection par *H.pylori* chez 755 présentant des symptômes digestifs.

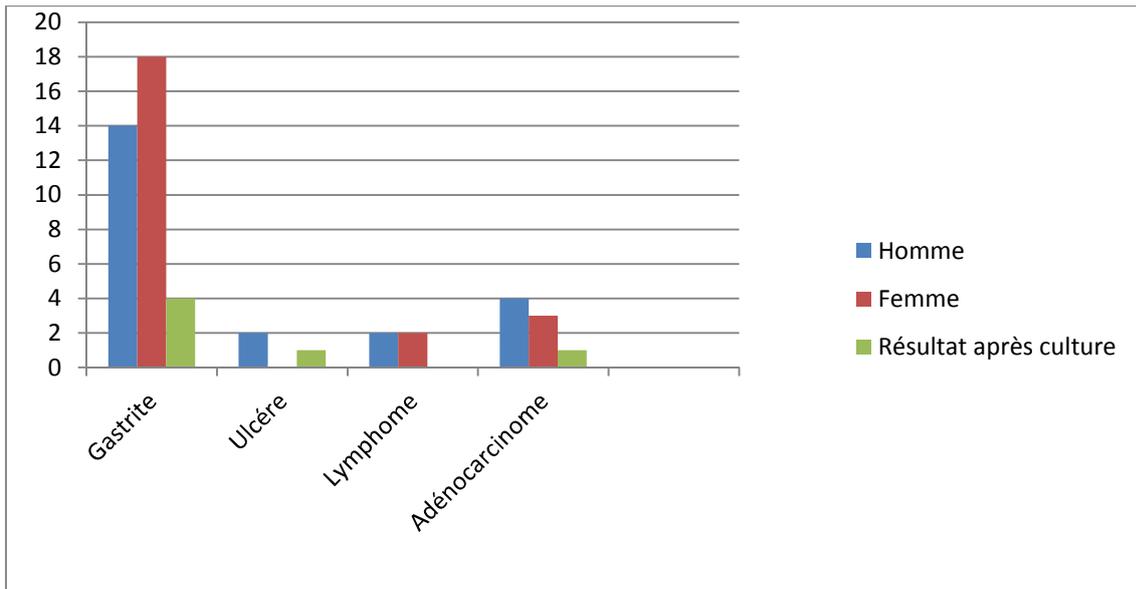
**2-3-5 Répartition des personnes infectées par *H.pylori* selon le type de pathologie gastrique ayant motivé la recherche :**

Le diagnostic endoscopie a été divisé en gastrite (**Figure N°40**), ulcère gastrique (**Figure N°41**), et cancer de l'estomac (**Figure N°42**), qui a été diagnostiquée respectivement chez 71,1% (n=32), 4,4% (n=2), et 24,4% (n=11) patients.

Il a été noté que l'ulcère gastrique et l'adénocarcinome ont été observés significativement plus fréquente chez les hommes que chez les femmes  $n = 8$  par rapport à  $n = 5$  respectivement; en revanche, la gastrite était plus fréquente chez les femmes 40% (n=18) par rapport à 31% (n=14) chez les hommes.

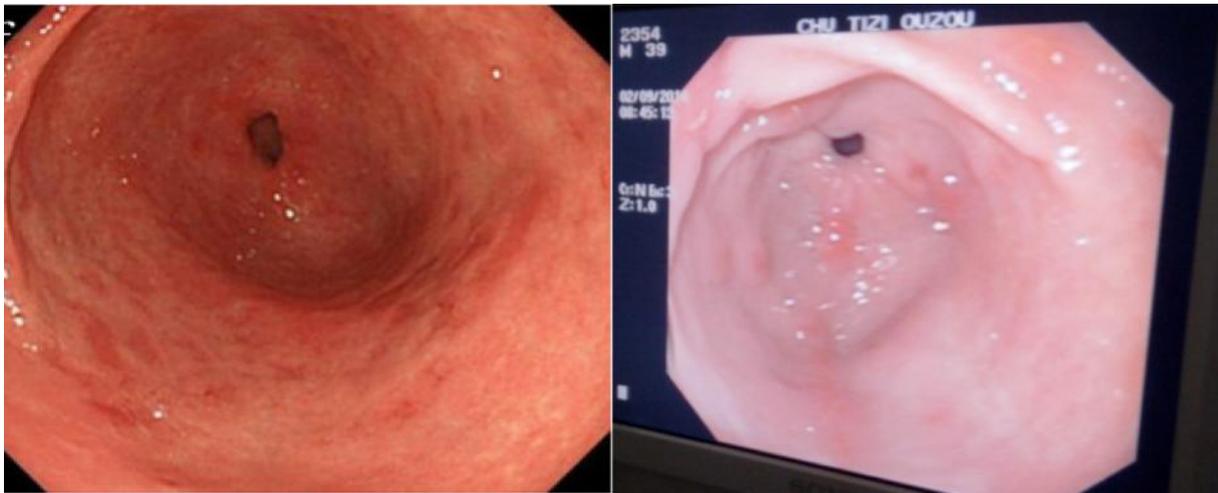
**Tableau 4:** Association entre *H.pylori* et différents types de pathologies gastriques.

Endoscopie	Male(%)	Femelle(%)	Résultat après culture
Gastrite	14	18	04
Ulcère	02	0	01
Lymphome	02	02	0
Adénocarcinome	04	03	01
Total	22	23	06

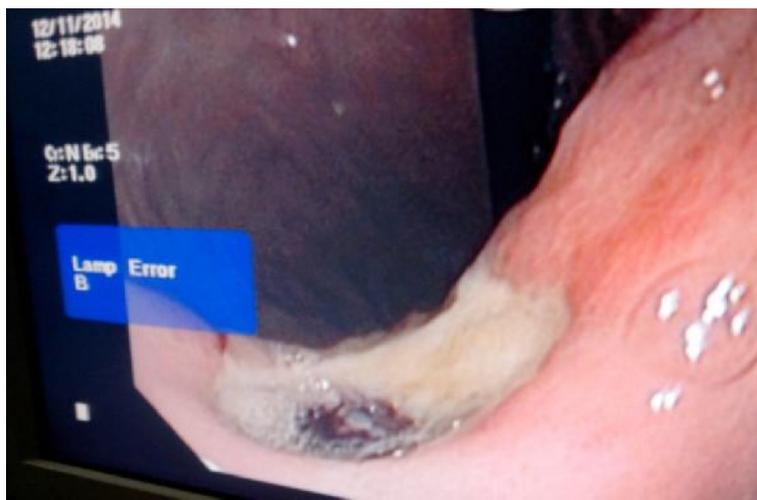


**Figure N° 39 :** Répartition des patients infectés par *H.pylori* selon le type de pathologie gastrique.

On remarque que les taux de positivité les plus élevés concernent les patients atteints de gastrites avec une proportion de 71 % (n=32).



**Figure N°40 :**  
endoscopique  
antrale



Aspect  
d'une gastrite

érythémateuse,érosive etnodulaire.

Figure N°41 : Aspect endoscopique d'un ulcère gastrique.



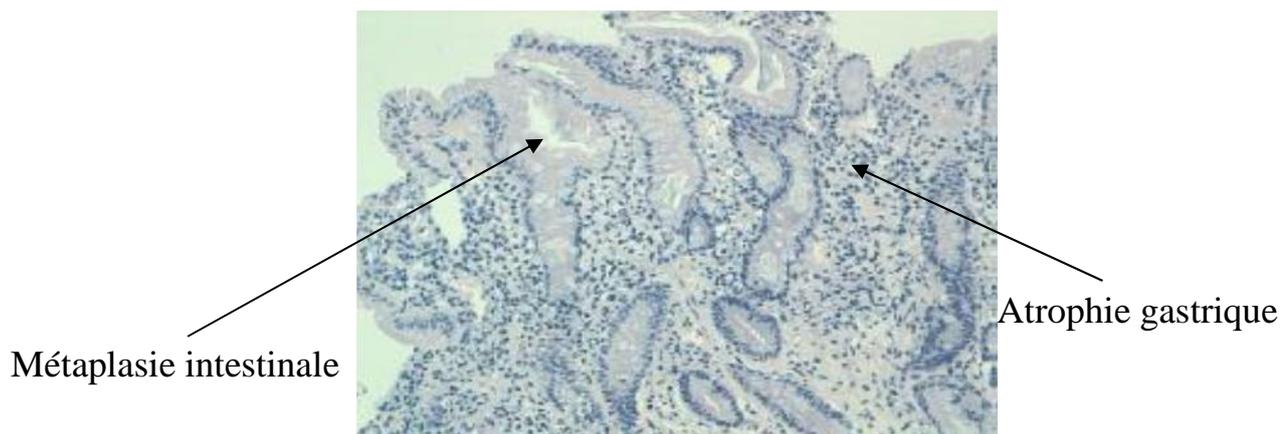
Figure N°42 :Aspect endoscopique d'un adénocarcinome gastrique (au niveau de l'angulus).

On note également que pour les patients dont l'infection à *H.pylori* est avérée positive, la gastrite touche plus les femmes, tandis que l'ulcère et l'adénocarcinome prédominent chez les hommes.

Le taux de colonisation de *H.pylori* par rapport à différents diagnostic d'endoscopie est illustré dans le tableau 4. La prévalence globale de *H.pylori* infection dans le cas de gastrite était de 71% (n=32), l'ulcère gastrique chez 4% (n=2), et le cancer l'estomac 24% (n=11).

La métaplasie intestinale a été identifié dans 17,7% (n=8) de l'échantillon, parmi lesquelles 17% (n=8) avaient *H.pylori* positive, dont 2 femmes et 6 étaient des hommes.

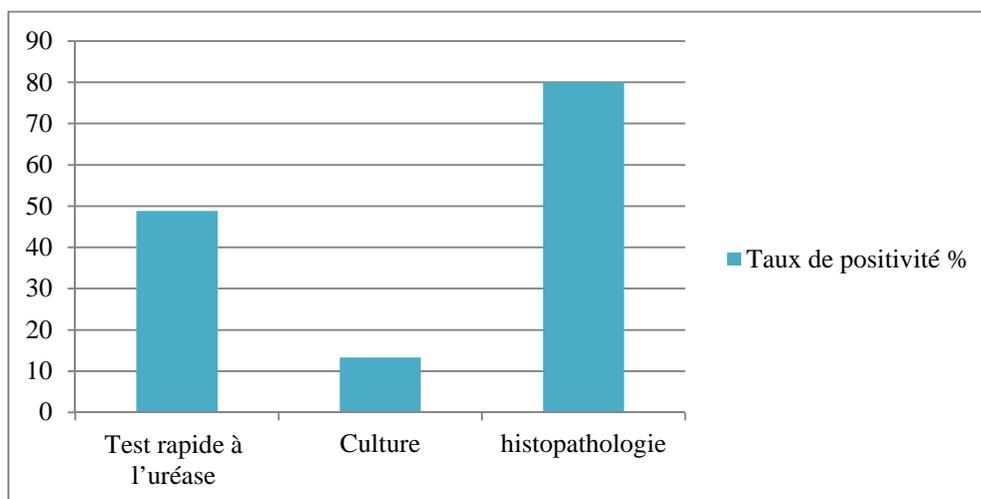
Tous les 11 cas de cancer de l'estomac diagnostiqué étaient des deux sexes, dont 2 étaient *H.pylori* positive.



**Figure N°43 :** Aspect histopathologique d'une atrophie fundique avec métaplasie intestinale (HEx100).

**Tableau 5 :** Répartition des résultats selon la sensibilité des tests utilisés.

Examens réalisés	Test rapide à l'uréase	Culture	Histopathologie
Nombre des cas positifs	22	06	36



**Figure N°44 :** Taux de positivité selon les tests utilisés.

Le taux de positivité global de notre étude 13,33%(n=6), très bas par rapport aux taux de prévalences obtenus par des techniques de diagnostic histologique > à 80 % (n=36),

Le taux de positivité du test rapide à l'uréase est élevé (n=22) par rapport a celui de la culture,cela est du à laps de temps entre la culture et le la réalisation du test .De plusieurs études algériennes, montre que notre technique doit être améliorée. Celle-ci n'ayant été mise en place qu'en novembre 2014 durant notre stage au laboratoire de bactériologie de l'hôpital CHU Nedir Mohamed, des progrès au niveau du protocole et du matériel de travail sont souhaités.



; **Discussion :**

**1. Isolement et caractérisation des souches d'*Helicobacter pylori*:**

*H. pylori* est l'agent pathogène qui infecte l'homme, on estime 50% de la population mondiale. Il s'agit d'une cause commune de dyspepsie et d'ulcère gastro-duodéal potentiellement curable (Malfertheiner et al., 2012). Le diagnostic de l'infection à *H. pylori* se fait le plus souvent à partir de biopsies antrales ou fundiques prélevées au cours de l'endoscopie par le gastroentérologue. Différents tests sont possibles tels: un examen histologique des biopsies permet de détecter la présence de *H. pylori* par examen microscopique ; la mise en culture des bactéries à partir des biopsies peut également être réalisée. Pour cela nous avons procédé à isoler et caractériser des souches de *H. pylori* à partir des biopsies gastriques prélevées par endoscopie digestive haute des patients d'âge et de sexe différents. Après observation microscopique des frottis préparés à partir des biopsies gastriques, une culture des broyats des biopsies a été faite sur gélose columbia additionnée du sang humain. Après cinq jours d'incubation, des colonies transparentes, luisantes, visqueuses et fines apparaissent sur la gélose columbia, avec un diamètre de 1 mm. Ces caractères culturels correspondent à *H. pylori* (Avril JI et al., 1995). L'observation microscopique sous fort grossissement  $\times 100$  a montré que *H. pylori* est un petit bacille de forme incurvé V ou sous forme de spiralee S, mobile qui joue un rôle important dans la colonisation de l'estomac (Brenner et al., 2000). La coloration de Gram montre qu'il s'agit d'une bactérie à caractère Gram négatif. Ces résultats montrent la possibilité d'isoler *H. pylori* sur cette gélose et la présence de cette bactérie chez les deux sexes.

D'après Faik et Raiss, (1998), l'examen bactériologique nécessite des biopsies conservées dans le sérum physiologique à 4°C. Il faut utiliser un milieu de transport si le délai entre le prélèvement et la réalisation de l'examen dépasse 4 heures, au-delà de 24 heures, la congélation à -70°C permet de retarder l'étude. Après coloration de Gram, les bacilles à Gram négatif sont recherchés sur l'ensemble du frottis. Ensuite la culture de la biopsie broyée est ensemencée sur un milieu sélectif, et incubée à 37°C sous une atmosphère microaérophile.

Nos résultats de l'identification des souches isolées de *H. pylori* ont montré aussi que ces souches possèdent une part d'activité uréasique très marquée exprimée par le changement de la couleur du milieu urée-indole de l'orange vers le rose au bout de 24h d'incubation, d'autre part, une oxydase et une catalase. Ces caractères biochimiques ont été démontrés par Monteiro en 1995. Cassel-Beraud et al., (1996) ont constaté qu'après 60 min, le changement de la couleur du milieu urée - indole de l'orange au rouge indique la présence de la bactérie dans la biopsie gastrique. Cette bactérie a une particularité très marquée qui est la présence d'une activité uréasique très intense ; cette propriété a été mise à profit pour un diagnostic rapide, la sensibilité de cette méthode est comprise entre 71 et 91% à la 24<sup>ème</sup> heure. L'urée de cette bactérie hydrolyse l'urée en ammoniac et en bicarbonates dans le but de neutraliser l'acidité de l'estomac, un moyen pour adhérer aux cellules du mucus (Sobhani et al., 1995). L'uréease est certainement le plus important enzyme pour l'identification.

Pour survivre dans sa niche écologique, *H. pylori* produit de grandes quantités de cette enzyme à tamponner le milieu acide et crée un microenvironnement.

*H. pylori* possède plusieurs facteurs de virulence, dont la mobilité flagellaire qui a été reconnue dans différents modèles animaux et semble essentielle à la colonisation de la muqueuse gastrique et à la persistance d'infections chroniques (Fauconnier, 1998). D'après (Mégraud et Lehours, 2007) le cytochrome oxydase est présent dans tous les membres du *Epsilonproteobacteria*. Il est habituellement détecté avec des réactifs spéciaux sur un disque ou une bande. La catalase est aussi présente dans tous les *Helicobacter* et la plupart des membres de la *Campylobacteraceae* est détectée par l'introduction d'une anse de bactéries dans une goutte de peroxyde d'hydrogène et l'observation d'une production très abondante de bulles. Ces caractères biochimiques permettent à *H. pylori* de persister dans l'estomac et de franchir la barrière du mucus.

Selon (Dunn et al., 1997) les souches de *H. pylori* sont des spirales à Gram négatif et microaérophiles. Des bactéries qui démontrent des extrémités arrondies dans des échantillons de biopsies gastriques. Toutefois, lorsqu'elles sont cultivées sur un milieu solide, les bactéries prennent une forme analogue à une tige. Après une culture prolongée sur des milieux solides ou liquides, généralement les formes coccoïdes sont prédominantes. En microscopie électronique, les formes apparaissent comme des cocci, ce sont des bacilles avec les extrémités des deux bras reliés par une structure membraneuse. Les formes coccoïdes sont métaboliquement inactives. Cependant, ils ne peuvent pas être cultivés *in vitro*. En biopsies gastriques les *H. pylori* sont de 2,5 à 5,0 mm de longueur et de 0,5 à 1,0 mm de largeur.

Un travail de Oth et al., réalisé en 2011 dans le sud du Chili sur 240 patients souffrant d'une gastrite ou d'un ulcère gastrique, chaque biopsie gastrique a été homogénéisée et semencée sur une gélose au sang contenant un mélange sélectif d'antibiotiques (supplément DENT). Des boîtes de Pétri ont été incubées à 37 ° C dans un environnement microaérophile pendant cinq jours. *H. pylori* a été isolée à partir de 99 patients (41,3 %) avec une fréquence légèrement plus élevée chez les femmes (42% des cultures positives) que chez les hommes (40,2% des cultures positives).

En Algérie, (Alle et al., 2007), ont isolé une souche de *H. pylori* à partir d'une biopsie gastrique prélevée à 2 cm du pylore d'un patient présentant un ulcère. Cette biopsie est broyée dans 0.5 mL de bouillon nutritif et ensemencée dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose chocolat. Elles sont mises dans une jarre sous atmosphère microaérophile pour une incubation de 5 jours à 37°C.

Pour l'enrichissement, les colonies suspectes sont mises dans un bouillon glucose tamponné additionné du sang de cheval. L'identification a été faite par l'appréciation de la morphologie de cette bactérie; des caractères biochimiques tels que: l'oxydase, l'uréase, la catalase et la production d'H<sub>2</sub>S sur TSI sont également recherchés. Un examen anatomopathologique et cytologique au microscope optique est réalisé sur des coupes histologiques préparées à partir de biopsies gastriques et colorées par l'Hématoxyline-éosine et par le Giemsa. L'observation montre la présence de bâtonnets incurvés de *H. pylori* à la su-

La présence de ce pathogène a provoqué une gastrite chronique chez la majorité des patients, marquée par une atrophie glandulaire et un infiltrat dense ainsi que la présence d'un foyer de polynucléaires neutrophiles dans le chorion.

L'examen histopathologique permet en plus de la détection de *H.pylori*, l'étude de l'état de la muqueuse; il est indispensable au diagnostic, au typage des lésions associées à l'infection. Il permet de visualiser des microorganismes sous forme de bâtonnets, en S et/ou en virgule, à la surface de la muqueuse gastrique, dans le mucus au contact de l'épithélium de revêtement de surface et des cryptes. L'ingestion de ce pathogène provoque une inflammation aiguë dont l'absence de guérison, la colonisation bactérienne persiste à la surface de la muqueuse entraînant une gastrite chronique active. S'y associe fréquemment une réaction lymphoïde folliculaire (MALT acquis) induit par *H.pylori* (Zine-Charaf, 2007).

Selon les caractéristiques histologiques, la gastrite antrofundique atrophique a été la découverte la plus fréquente dans la majorité des prélèvements effectués au sein du service gastroentérologie de CHU Tizi-Ouzou, suivie par la métaplasie intestinale et adénocarcinome (71,1%, 17,7%, et 24,4%, respectivement). Taux de colonisation par *H.pylori* était plus élevé dans le cas de gastrite antro-fundique

Les études de Cassel-Béraud *et al.*, (1996) réalisées pendant une période de 8 mois, dont l'infection à *Helicobacter pylori* a été recherchée chez 140 patients qui présentaient une symptomatologie digestive haute, par les méthodes classiques bactériologiques (coloration de Gram, test à l'urée, mise en culture) et histologiques ont permis l'identification de cette bactérie à partir de prélèvements biopsiques de la muqueuse antro-pylorique. La prévalence de l'infection à *H.pylori* était de 59 %. Les taux de prévalence ne semblaient pas différer selon l'âge et le sexe mais l'infection à *H.pylori* était significativement plus fréquemment retrouvée chez des malades présentant un ulcère duodénal évolutif (30 cas sur 41) que chez les patients ayant une endoscopie normale (21 cas sur 47).

Il est précisé aussi que le risque relatif de développer un carcinome gastrique est 3 fois supérieur en association avec l'infection à *H.pylori*.

Dans notre étude, tous les cas de carcinome gastrique ont été détectés que ce soit chez les femmes (n=5) et chez les hommes (n=6) et l'activité à *H.pylori* a été observée dans 2 d'entre eux. La métaplasie intestinale a été détectée dans 17,1% de l'échantillon total (n = 8), 100 % ont été colonisés par *H.pylori*.

Par contre des études menées par les chercheurs de l'Hôpital de Kouba qui ont répertorié des carcinomes (78% des cas) et des lymphomes (19%) chez des individus dont l'âge moyen était 55 ans, 98% des cas étaient vu à un stade avancé de la maladie cancéreuse et la présence de *H.pylori* dans 89% des cas établissant une corrélation hautement significative entre le cancer gastrique et l'infection chronique à *H.pylori*. Cependant dans notre étude les chiffres étaient trop petits pour commenter la métaplasie intestinale et la

lésion précancéreuse pourraient être détectées plus si des biopsies multiples de l'angulus ont été incluses.

En effet, l'atrophie gastrique, qui précède de plusieurs années la survenue du cancer de type intestinal, fait disparaître l'infection et, au moment du cancer, les traces histologiques et immunologiques de la bactérie ont disparu. Cela explique que les premières études épidémiologiques utilisant des prélèvements contemporains du cancer aient largement sous-estimé l'association *H.pylori* – cancer.

; **Etude de la sensibilité des tests utilisés :**

### **1- Etude anatomo-pathologique :**

La fréquence de l'atrophie était plus importante dans tous les cas de gastrique antrofundique de notre série environ 53% (n=24) par rapport à la fréquence de métaplasie intestinale qui est estimé à 17% (n=8).

L'étude réalisée par Zhang C a montré le lien étroit entre l'infection par *H.pylori* et la progression des lésions pré-cancéreuses, l'atrophie glandulaire et la métaplasie intestinale dans les diverses lésions gastriques (Zhang C et al., 2005).

On sait maintenant que la première étape de ce processus est la gastrite chronique inflammatoire due à *H.pylori*. L'infection par l'*H.pylori* commence par une gastrite aiguë. Cette phase transitoire (7 à 10 jours), coïncidant avec la multiplication et la colonisation bactérienne, est caractérisée sur le plan histologique par une dégénérescence de la surface épithéliale avec une infiltration par des polynucléaires neutrophiles.

Certains sujets vont spontanément éliminer le microorganisme. Cependant dans la majorité des cas, l'infection persiste avec l'arrivée, en grand nombre au niveau de la muqueuse gastrique, des lymphocytes et des plasmocytes de l'inflammation chronique. La gastrite est alors désignée chronique et active.

Le degré d'inflammation chronique est corrélé à l'intensité de la colonisation et à la virulence de la souche bactérienne qui sévit essentiellement au niveau de l'antrum gastrique, expliquant ainsi l'importance des lésions rencontrées à cette zone.

La colonisation du fundus survient par la suite à cause de la diminution de l'acidité avec la destruction progressive des cellules pariétales, et l'installation de l'atrophie glandulaire.

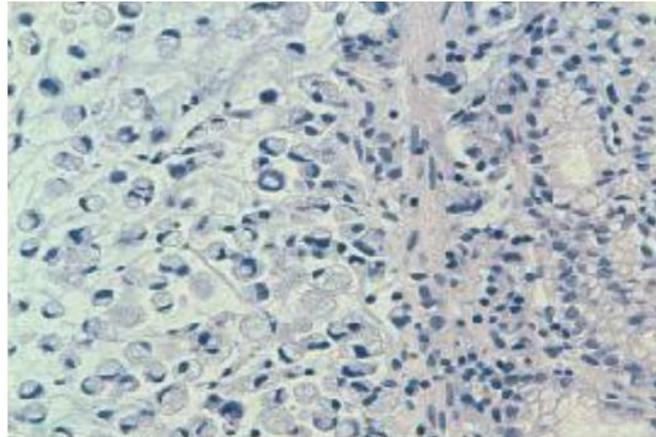
L'atrophie est définie par une perte de tissu glandulaire suite à des lésions muqueuses répétitives. La métaplasie intestinale est définie par le remplacement des cellules mucineuses gastriques, à pôle apicale fermé, par des cellules caliciformes à pôle apicale ouvert. Le degré d'atrophie glandulaire et de métaplasie intestinale s'apprécient mieux sur les biopsies de l'angulus, et sont plus prononcées en présence d'*H.pylori* et quand les lésions sont plus évoluées.

Par contre le taux de patients avec *H.pylori* positif diminuent sachant que la modification du pH gastrique avec l'installation de l'atrophie et la métaplasie intestinale est hostile à la croissance d'*H.pylori*.

## 2- *H.pylori* / Cancers gastriques :

Nous avons relevé 24% (n=11) de cancers gastriques. *H.pylori* était retrouvé à l'examen histologique dans 18% (n=2) des cas. Ya pas de différence significative entre les deux sexes. Le carcinome à cellules indépendantes en bague à chaton était le plus fréquent (Figure38).

80% (n=9) des adénocarcinomes étaient de localisation antrale, et 2 lymphomes diffus à grande cellules B de localisation antrale.



**Figure N°45 :** Carcinome à cellules indépendantes en bague à chaton coloré par la méthode HE vu au grossissement(x100)

Dans notre série, les carcinomes représentent 24% (n=11) de l'ensemble des patients. Cette fréquence est plus basse par rapport à celle rapportée dans la littérature.(Correa et al.,2008)

Le lymphome B diffus à grandes cellules représente 18% des cancers dans notre série. La présentation clinique dépend de facteurs de l'hôte et bactériens. Dans notre série la moitié des adénocarcinomes étaient associés à des dysplasies de haut grade, ce qui confirme la filiation dysplasie-cancer. Les patients qui possèdent une sécrétion acide importante sont prédisposés à la gastrite à prédominance antrale et donc à la pathologie ulcéreuse duodénale. Les patients par ailleurs ayant une sécrétion acide moins importante présenteraient plutôt une gastrite prédominante au niveau de l'agulus de l'estomac et les prédisposerait donc à l'ulcère et au carcinome gastrique.

L'examen histologique est un moyen de diagnostic très répandu il permet à la fois de rechercher la présence de la bactérie à la surface de la muqueuse gastrique et de typer la gastrite à *H.pylori*. Il permet aussi le diagnostic de certitude d'une pathologie maligne (lymphome, adénocarcinome) et le classement des lésions de gastrite à l'aide du système de Sydney, en particulier suivant leur topographie et leur intensité, qui influent sur le risque de développement de maladies associées, telles que l'atrophie, la métaplasie intestinale ou la dysplasie prédisposant au cancer gastrique La sensibilité et la spécificité de l'examen anatomopathologique sont élevées, supérieures à 90 %, et cette technique est accessible à tous les centres d'endoscopie digestive. La méthode doit comporter une fixation des biopsies dans

le formol et adopter des colorations facilitant la reconnaissance de la bactérie au microscope (Giemsa modifié ou crésyl violet, la coloration par l'hématéine éosine visualise mal les corps bactériens.

; **Inconvénient :**

La fiabilité de l'examen anatomopathologique dépend du site, du nombre et de la taille des biopsies (Hala et *al.*, 2000). La présence d'une atrophie de la muqueuse fundique associée à une hypochlorhydrie modifie les conditions du milieu, moins favorable au développement de *H.pylori*, limitant ainsi la densité microbienne et de fait la sensibilité de la détection histologique de l'infection.

Le remplacement de la muqueuse gastrique par du tissu métaplasique intestinal en cas de gastrite atrophique progressive limite également les possibilités de visualiser les corps bactériens, *H.pylori* ne colonisant pas la métaplasie intestinale. Les performances de l'anatomie pathologique pour le contrôle de l'éradication de *H.pylori* sont aussi moins bonnes (Laine et *al.*, 2000). Dans ces situations, le test respiratoire, méthode globale de diagnostic de l'infection à *H.pylori*, peut s'avérer plus sensible que l'examen anatomopathologique même après recours à de multiples biopsies (trois ou plus) au niveau de chacun des sites de l'antra et du fundus.

Récemment, Smith, dans une étude rétrospective portant sur 200 biopsies gastriques consécutives, a confirmé que *H.pylori* est facilement observée dans la majorité des cas avec HE (sensibilité de 91% et une spécificité de 100%) et reste le test le plus rapide et le moins coûteux pour identifier *H.pylori* dans les biopsies gastriques (Smith et *al.*, 2012).

De nouvelles techniques d'histologie ont été discutées par plusieurs auteurs tel que , le rapport de l'histologie de la gastrite du système de mise en scène OLGA (lien opérationnel sur l'évaluation de la gastrite) a également été réexaminé, compte tenu de son importance pour la prédiction du risque de cancer gastrique (Rugge et *al.*, 2011 ; Carrasco et *al.*, 2013 ) a examiné l'histologie de la muqueuse gastrique normale, avec une vue sur le rôle de *H.pylori* dans la cascade à plusieurs étapes de GC. Le rôle du système de mise en scène OLGA pour évaluer le risque de GC a été souligné; Plus précisément, les bases épigénétiques de la gastrite chronique, principalement méthylation induite de l'ADN de la région promotrice de la E-cadhérine dans la gastrite chronique à HP et son retour après éradication de la bactérie.

; **Test rapide à l'uréase :**

Cette méthode dépend de l'activité uréasique de *H.pylori*. L'ammoniaque libérée par l'hydrolyse de l'urée accroît le pH du milieu de réaction et fait virer la couleur l'indicateur de pH. Plusieurs tests commerciaux sont disponibles, y compris les tests à base de gel, des tests à base de papier et de tests à base de liquide, fournissant un résultat en 1-24 h, en fonction du format du test et de la densité bactérienne dans les échantillons de biopsie. Par rapport à l'histologie et la culture, les tests d'uréase sont plus rapides, moins chers avec une sensibilité moyenne de plus de 80 % et une spécificité de 95 %.

Un résultat positif permet de conclure la présence de *H.pylori* du fait de l'excellente spécificité. En cas de densité microbienne élevée, le test peut se positiver en quelques

minutes, ce qui permet de débiter sans délai le traitement d'éradication. Certes, le traitement d'urgence est rarement nécessaire. Cependant, un résultat positif en salle d'endoscopie permet de raccourcir la durée de traitement de la maladie ulcéreuse duodénale non compliquée à 7 jours effectifs de trithérapie anti-*H.pylori*(Consensus, 1999).

; **Inconvénient :**

La sensibilité de ce test est réduite si la densité bactérienne est faible (inférieure à  $10^3$ - $10^5$  bactéries), ce qui explique qu'il ne puisse être utilisé pour évaluer l'éradication. Après traitement par IPP ou par antagonistes des récepteurs H2, la réalisation de biopsies dans l'antra et dans le fundus est recommandée pour augmenter la sensibilité du test rapide de l'uréase est diminuée aussi en cas de présence de sang dans la cavité gastrique (Howden et al., 1998).

; **Culture :**

Depuis la découverte de *H.pylori*, la culture bactérienne a été utilisée comme test de diagnostic de routine, étant considéré comme l'étalon-or. Actuellement, il est recommandé de réaliser la culture de *H.pylori* pour tester la sensibilité aux antibiotiques en cas de résistance primaire à la clarithromycine est supérieure à 20% ou après échec du traitement de deuxième ligne (Malfertheiner et al., 2012). Elle permet aussi de détecter par PCR certaines mutations responsables de résistances. Enfin, elle permet de mettre en évidence des marqueurs de virulence par PCR en temps réel (Cag et Vac).

Une étude récente vise à améliorer la sensibilité de milieu culture en modifiant sa composition elle a montré que la supplémentation de milieu par le cholestérol au lieu de sérum était une option viable pour la croissance *H.pylori*(Jiménez-Soto et al., 2012).

; **Inconvénients :**

Malgré sa longue utilisation, la culture reste un défi en raison de la nature fastidieuse de la bactérie, avec des exigences particulières de milieu et d'atmosphère de croissance. La bactérie est fragile et doit être maintenue viable dans une atmosphère microaérobie réfrigérée à 4°C pendant l'acheminement au laboratoire de bactériologie en moins de 4 heures. Au-delà de 4 heures de délai d'acheminement, l'usage d'un milieu de transport adapté est indispensable. Ces contraintes de transport sont un des obstacles à la diffusion de cette méthode de diagnostic en pratique courante. L'autre inconvénient est la difficulté de la culture, nécessitant des milieux spéciaux, une atmosphère microaérobie à 37°C et une attention particulière(Perez-Perez et al.,2000). La croissance bactérienne est lente nécessitant d'attendre en primo-culture jusqu'à 12 jours, afin de garantir une bonne sensibilité de la technique. Pour ces raisons, la technique est coûteuse et peu diffusée, maîtrisée en routine par à peine plus d'une dizaine de laboratoires en France (Grignon et al., 2002).

La culture de *H.pylori* est réalisée sur des échantillons de biopsie gastrique, et parce que les bactéries présentent une répartition irrégulière sur la muqueuse gastrique, la culture de plus d'une biopsie, de l'antra et de l'angulus, est parfois obligatoire, en particulier après un traitement antibiotique. Un autre point important à garder à l'esprit ce sont des facteurs qui

peuvent influencer sur le résultat de la culture d'*H.pylori* à partir d'échantillons de la muqueuse gastrique. Outre la question concernant les saignements ulcèro-gastro-duodénaux, dont la culture a une sensibilité plus faible que dans les cas contraire, d'autres facteurs liés à l'hôte, comme une forte activité de la gastrite, faible charge bactérienne, la consommation d'alcool et l'utilisation d'IPP, avoir été récemment décrite comme étant la cause de l'échec de la culture *H.pylori* chez les sujets infectés (Choi YJet al. ,2012).

La culture de selles a été montrée pour être extrêmement difficile en raison de la nature complexe de l'échantillon sur la composition du microbiote et l'excrétion de cellules viables d'*H.pylori* et cette technique a été couronnée de succès dans le cadre du transit gastro-intestinale rapide (Leszczy ska et al.,2010). Dans une étude récente, les auteurs ont pu isoler *H.pylori* dans 9 et 12 fluides, du rectum et de l'iléon respectivement.

Dans notre étude la culture a échoué, on a pu isoler 4 souches d'*H.pylori* sans pouvoir effectuer l'antibiogramme à cause des caractères exigents de la bactérie en milieu de transport et milieu de culture et aux conditions défavorables de conservation de la bactérie.

# CONCLUSION

*H.pylori* a été mise en évidence chez 80%(n=36) de notre série selon la méthode histologique. Elle est retrouvée autant chez les hommes que chez les femmes, les taux étant respectivement de 77% (n=17) et 82% (n=19); le sexe ne présente donc aucun effet sur la prévalence de l'infection par *H.pylori*.

Notre étude a démontré également que *H.pylori* est impliquée dans 71%(n=32) des gastrites, 4% (n=2) des ulcères et 24%(n=11) des cancers gastrique. Cet agent à l'origine de ces différentes pathologies gastriques a comme siège préférentiel l'antrum gastrique avec un taux de 57% (n=26) ; suivi de fundus 35% (n=16), la petite courbure reste le siège le moins infecté 6% (n=3).

On souligne également que dans notre étude, les cas de cancer étaient rarement accompagnés de la présence d'*H.pylori* dans les prélèvements à cause des conditions hostiles qui diminuent la viabilité de cette dernière. Seul les cas de gastrite qui ont associé la présence d'*H.pylori* et sa mise en évidence est assurée par l'examen histologique par excellence et la culture qui est avérée sans succès à cause des difficultés rencontrées au niveau du laboratoire y compris les dispositifs assurés par le labo et les conditions de conservation des échantillons de biopsie. Le diagnostic de l'infection peut être fait par différentes techniques. Chacune d'entre elles a ses performances et ses failles. D'après nos résultats, l'examen histologique a une sensibilité de 75 % par rapport à la culture. Une méthodologie rigoureuse en tenant compte des indications de l'endoscopie gastrique, permet d'améliorer la rentabilité notamment de ces examens. Seule l'étude anatomopathologique permet à la fois cette détection et l'évaluation des lésions histologiques associées.

Au vu de ces résultats, il est temps de dire qu'il n'y a pas de bon *H.pylori* et qu'il serait raisonnable de recommander une éradication systématique de la bactérie chez les sujets jeunes. L'éradication de cette bactérie permet non seulement de réduire significativement le risque de récurrence ulcéreuse et de contrôler les récurrences hémorragiques à court terme, mais aussi les risques d'évolution vers un cancer gastrique à long terme, ce qui souligne l'importance de diagnostiquer et de traiter cette infection au stade précoce.

Le traitement de première ligne actuellement recommandé pour l'éradication de *H.pylori* est une trithérapie de 7 jours associant un IPP double dose + amoxicilline 1g deux fois par jour et clarithromycine 500 mg deux fois par jour avec la possibilité de remplacer l'amoxicilline par le métronidazole 500 mg deux fois par jour en cas d'intolérance à l'amoxicilline. En cas d'échec de ce traitement, un deuxième traitement peut être proposé et qui est adapté aux résultats de l'antibiogramme. Après deux échecs, une autre association proposée soit une trithérapie associant un IPP à double dose, l'amoxicilline 1g deux fois par jour et lévofloxacine 250 mg deux fois pendant 7 ou 10 jours soit une quadrithérapie à base de bismut.

En perspectives, il serait intéressant de:

- Déterminer les résistances de *H.pylori* aux antibiotiques;
- Élucider les mécanismes d'induction du cancer gastrique par *H.pylori*;
- Indication de l'éradication d'*H.pylori* chez toute personne ayant subi une endoscopie digestive avec présence de lésions gastriques.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**ABU AL-SOUD W., STENRAM U., LJUNGH A., TRANBERG K. G., NILSSON H. O., WADSTROM T. (2008).** DNA of *Helicobacter* spp. and common gut bacteria in primary liver carcinoma. *Dig Liver Dis.* 40, 126-131.

**AL-GHOUL L (2004).** Analyse de la sécrétion de type IV dépendant du système motilité cellulaire d' *Helicobacter pylori* cellules épithéliales infectées. 2004; 322 . :860-866 .

**ALLEMR., ELKEBIRFZ., GUETARNIH. (2007):** Effet des bactéries lactiques sur *Helicobacter pylori* in vitro. *Médecine & Nutrition.* 43(3):121-127.

**ALM R. A., BINA J., ANDREWS B. M., DOIG P., HANCOCK R. E., TRUST T. J. (2000).** Comparative genomics of *Helicobacter pylori*: analysis of the outer membrane protein families. *Infect Immun.* 68, 4155-4168.

**AMIEVA M.R., SALAMA N.R., TOMPKINS L.S., FALKOW. S. (2002).** *Helicobacter pylori* enter and survive within multivesicular vacuoles of epithelial cells. *Cell Microbiol.* 4, 677-690.

**AMIR TIDADINI Z.C. (2003).** Pathologies gastriques et infections à *Helicobacter pylori* : Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat d'état en sciences médicales à la faculté de Médecine d'Alger. pp 13-34.

**ANDERSEN L. P., NØRGAARD A., HOLCK S., BLOM J., ELSBORG L. (1996).** Isolation of a "*Helicobacter heilmannii*"-like organism from the human stomach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 15:95-96.

**ANDREW A., WYATT J. I., DIXON M. F. (1994).** Observer variation in the assessment of chronic gastritis according to the Sydney system. *Histopathology.* 25:317-322.

**APPELMELK B. J., MONTEIRO M. A., MARTIN S. L., MORAN A. P., VANDENBROUCKE-GRAULS C. M. (2000).** Why *Helicobacter pylori* has Lewis antigens? *Trends Microbiol.* 8, 565-570.

**APPELMELK B. J., SIMOONS-SMIT I., NEGRINI R., MORAN A. P., ASPINALL G. O., FORTE J. G., DE VRIES T., QUAN H., VERBOOM T., MAASKANT J. J., GHIARA P., KUIPERS E. J., BLOEMENA E., TADEMA T. M., TOWNSEND R. R., TYAGARAJAN K., CROTHERS J. M. JR., MONTEIRO M. A., SAVIO A., DE GRAAFF J. (1996).** Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infect Immun.* 64, 2031-2040.

**ASPHOLM M., OLFAT F. O., NORDEN J., SONDEN B., LUNDBERG C., SJOSTROM R., ALTRAJA S., ODENBREIT S., HAAS R., WADSTROM T., ENGSTRAND L., SEMINO-MORA C., LIU H., DUBOIS A., TENEBERG S., ARNQVIST A., BOREN T. (2006).** SabA is the *H. pylori* hemagglutinin and is polymorphic in binding to sialylated glycans. *PLoS Pathog.* 2-110.

**ATHERTON J. C. (2006).** The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastroduodenal diseases. *Annu Rev Pathol.* 1: 63-96.

**AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F., MONTEH H. (1995).** Bacteriologie clinique 2eme édition Pp 25 : 293-295.

**AXON A. T. (1995).** Review article: is *Helicobacter pylori* transmitted by the gastro-oral route? *Aliment Pharmacol Ther.* 9:585-588.

**BACKERTS.,SELBACHM. (2008).** Role of type IV secretion in *Helicobacter pylori* in pathogenesis. *Cell Microbiology.* 10:1573-1581.

**BAELE M., DECOSTERE A., VANDAMME P., CELEN L., HELLEMANS A., MAST J., CHIERS K., DUCATELLE R., HAESBROUCK F. (2008).** Isolation and characterization of *Helicobacter suis* sp. nov. from pig stomachs. *Int J Syst Evol Microbiol.* 58:1350-1358.

**BAGGIOLINI M. and WALZ A. (1989).** Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest.* 84(4): 1045-1049.

**BAGNOLI F., BUTI L., TOMPKINS A., COVACCI A., AIEVA M. R. (2005).** *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:16339–16344.

**BARROS R., FREUND J. N., DAVID L., ALMEIDA R. (2012).** Gastric intestinal metaplasia revisited: function and regulation of CDX2. *Trends Mol Med.* 18, 555-563.

**BAUER B., MEYER T. F. (2011).** The human gastric pathogen *Helicobacter pylori* and its association with gastric cancer and ulcer disease. *Ulcers*, Article ID 340157, 23 pages doi:10.1155/340157.

**BAYERDORFFER E., NEUBAUER A., RUDOLPH B., THIEDE C., LEHN N., EIDT S., STOLTE M. (1995).** Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of *Helicobacter pylori* infection. MALT Lymphoma Study Group. *Lancet*, 345, 1591-1594.

**BIGARD M. A. (2004).** Les grands séjours qui ont changé (ou non) ma pratique dans le traitement de l'ulcère gastro-duodénale et l'éradication de *Helicobacter pylori*. *Médecine thérapeutique.* 10(3): 191-7.

**BIOMNIS, (2008).** Test respiratoire à l'urée : *Helicobacter pylori*.

**BIOMNIS, (2012).** *Helicobacter pylori*, précis de biopathologie analyses médicales spécialisées.

**BJORKHOLM B., SJOLUND M., FALK P. G., BERG O. G., ENGSTRAND L., ANDERSSON D. I. (2001).** Mutation frequency and biological cost of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98, 14607-14612.

**BLANCO S., FORNE M., LACOMA., PRAT C., CUESTA M. A., LATORRE I., VIVER J. M., FERNANDEZ G., MOLINOS S., DOMINGUEZ J. (2008).** Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *H. pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 61:150-155.

**BOHR U. R., KUESTER D., MEYER F., WEX T., STILLERT M., CSEPREGI A., LIPPERT H., ROESSNER A., MALFERTHEINER P. (2007).** Low prevalence of *Helicobacteraceae* in gall-stone disease and gall-bladder carcinoma in the German population. *Clin Microbiol Infect.* 13, 525-531.

**BOYANOVA L., LAZAROVA E., JELEV C., GERGOVA G., MITOV I. (2007).** *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmannii* in untreated Bulgarian children over a period of 10 years. *J Med Microbiol.* 56, 1081-1085.

**BRENNER H., ARNDT V., STÜRMER T., STEGMAIER C., ZIEGLER H., DHOM G. (2000A).** Individual and joint contribution of family history and *Helicobacter pylori* infection to the risk of gastric carcinoma. *Cancer.*;88:274-279.

**BRENNER H., BODE G., BOEING H. (2000b).** *Helicobacter pylori* among offspring of patients with stomach cancer. *Gastroenterology*;118:31-35

**BROWN LM. (2000).** *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev*;22:283-297.

**BURY-MONE S., SKOULOUBRIS S., LABIGNE A. (2001).** The *Helicobacter pylori* UreI protein: role in adaptation to acidity and identification of residues essential for its activity and for acid activation. *Mol Microbiol.* 42: 1021-1034.

**BUTI L., SPOONER E., VAN DER VEEN A. G., RAPPUOLI R., COVACCI A., PLOEGH H. L. (2011).** *Helicobacter pylori* cytotoxin-associated gene A (CagA) subverts the apoptosis-stimulating protein of p53 (ASPP2) tumor suppressor pathway of the host. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:9238–9243.

**CAMBAU E., ALLERHEILIGEN V., COULON C., CORBEL C., LASCOLS C., DEFORGES L., SOUSSY C. J., DELCHIER J. C., MEGRAUD F. (2009).** Evaluation of a new test, genotype HelicoDR, for molecular detection of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 47:3600-3607.

**CARRASCO G., CORVALAN AH. (2013).** *Helicobacter pylori* induit une gastrite chronique et évaluer les risques pour le cancer gastrique. *Gastroenterol Res Pract.* 393 015 .

**CASSEL-BERAUD A.M., PEGHINI M., MOUDEN J.C., RAJAONARISON P. (1996).** Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* à Tananarive, Madagascar. *Bactériologie.* 1441:4.

**CAUSSE G. (2013).** Pathologie digestive et abdominal source de Raymond ,cancer de l'estomac.p1-5.

**CENSINI S., LANGE C., XIANG Z. (1996).** A pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93: 14648-14653.

**CHAPUT C., BONECCA I. G. (2006).** Bases moléculaires de l'interaction de *Helicobacter pylori* avec les cellules épithéliales gastriques. *Hépatogastro.* 13: 379-388.

**CHAPUT C., BONECCA G.I. (2006).** Bases moléculaires de l'interaction de *H. pylori* avec les cellules épithéliales gastriques. *Hépatogastroenterologie.* 13(5):379-88.

**CHOI YJ., KIM N., LIM J., JO SY., SHIN CM., LEE SH., LEE SH., PARC YS., HWANG JH., KIM JW (2012).** Précision de tests diagnostiques pour *Helicobacter pylori* chez les patients avec des saignements ulcère gastro-duodénal. *Helicobacter;* 17 : 77-85 .

**CHRISTENSEN, A. H., GJORUP T., HILDEN J., FENGER C., HENRIKSEN B., VYBERG M., OSTERGAARD K. (1992).** Hansen. Observer homogeneity in the histologic diagnosis of *Helicobacter pylori*. Latent class analysis, kappa coefficient, and repeat frequency. *Scand J Gastroenterol.* 27:933-939.

**CHU YT., WANG YH., WU JJ., LEI HY. (2010).** Invasion and Multiplication of *Helicobacter pylori* in Gastric Epithelial Cells and. *Infect Immun ;*78(10):4157-4165.

**CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS REVISEES DU GROUPE DE TRAVAIL. CONFERENCE DE CONSENSUS *HELICOBACTER PYLORI* - REVISION (1999).** *Gastroenterol Clin Biol* 1999;23:C95-C104.

**CONFERENCE DU CONSENSUS, (1999).** *H. pylori* : Conclusions et recommandations révisées du groupe de travail. *Gastro-entérologie, Clinique et Biologie.* 23:c95-c104.

**CORREA P. (1992).** Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process-- First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res.* 52, 6735-40.

**CORREA P., PIAZUELO MB.(2008).** Natural history of *Helicobacter pylori* infection. *Digestive and Liver Disease,* (40): 490-496.

**CORREA P., HAENSZEL W., CUELLOC., TANNENBAUM S., ARCHER M. (1975).** Un modèle pour l'épidémiologie du cancer gastrique. *Lancet ii* : 58-59.

**CORREA, P. (1996).** "*Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art." *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5(6): 477-481.

**COUTURIER M. R., TASCA E., MONTECUCCO C. (2006).** Interaction with CagF is required for translocation of CagA into the host via the *Helicobacter pylori* type IV secretion system. *Infect Immun.* 74: 273-281.

**COVACCI A., TELFORD J. L., DEL GIUDICE G. (1999).** *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science.* 284: 1328-1333..

**COVER T. L., BLANKE S. R. (2005).** *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nat Rev Microbiol.*3: 320-332.

**COVER T. L., BLANKE S. R.(2005).***Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxinmultifunctionality. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3: 320-332.

**COVER T. L., HANSON P. I., HEUSER J. E.( 1997).**Acid-induced dissociation of VacA, the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, reveals its pattern of assembly. *J Cell Biol.* 138: 759-769.

**CRABTREE J. E., FARMERY S. M. (1994).** CagA/cytotoxic strains of *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric epithelial cell lines. *J Clin Pathol.* 47(10): 945-950.

**CRABTREE J. E., LINDLEY I. J. (1994).** Mucosal interleukin-8 and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 6 Suppl 1: S33-38.

**CRABTREE J. E., SHALLCROSS T. M. (1991).** Mucosal tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut.* 32(12): 1473-1477.

**CRABTREE J. E., WYATT J. I. (1994).** Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol.* 47(1):61-66.

**DE BERNARD M., CAPPON A., PANCOTTO L.(2005).**The *Helicobacter pylori* VacAcytotoxin activates RBL-2H3 cells by inducing cytosolic calcium oscillations. *Cell Microbiol*, 7: 191-198.

**DE REUSE H.,BERESWILL S. (2007).**Ten years after the first *Helicobacter pylori* genome: comparative and functional genomics provide new insights in the variability and adaptability of a persistent pathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 50, 165-176.

**DENIS F., POLY M., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R. (2007).**Bactériologiemédicale: techniques usuelles. Ed : *Elsevier. Paris(France).*573p.

**DIXON M. F., GENTA R. M., YARDLEY J. H., CORREA P. (1996).** Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol.* 20, 1161-1181.

**DOGLIONI C., TURRIN M., MACRI E., CHIARELLI C., GERMANA B.,BARBARESCHI M. (1997).** HpSS: a new silver staining method for *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol.* 50:461-464.

**DU M. Q. (2011).** MALT lymphoma: many roads lead to NF- B activation. *Histopathology.* 58, 26-38.

**DUNN J., BUSHNELL A., OTT T., CLARK W. (1997).** Pulsed white light foodprocessing. *Cereal Foods World.* 42:510-515.

**EATON K. A., KRAKOWKA S. (1994).** Effect of gastric pH on urease-dependent colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori*. *Infect Immun.* 62: 3604-3607.

- EL-OMAR E. M., CARRINGTON M. (2000).** Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 404(6776): 398-402.
- EL-OMAR E. M., OIEN K. (1997).** Helicobacter pylori infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology*. 113(1): 15-24.
- EL-OMAR E. M., PENMAN I. D. (1995).** Helicobacter pylori infection and abnormalities of acid secretion in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology*. 109(3): 681-691.
- EL-OMAR E. M., RABKIN C. S. (2003).** Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 124(5): 1193-1201.
- EL-OMAR E. M., OIEN K., MURRAY L. S., EL-NUJUMI A., WIRZ A., GILLEN D., WILLIAMS C. (2000).** Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: critical role of Helicobacter pylori. *Gastroenterology*. 118: 22-30.
- EL-ZIMAITY HMT., GRAHAM D. Y., AL-ASSI M. T., MALATY H., KARTTUNEN T. J., GRAHAM D. P., HUBERMAN R. M., GENTA R. M. (1996).** Interobserver variation in the histo-pathological assessment of Helicobacter pylori gastritis. *Hum. Pathol*. 27:35-41.
- ERNST PB.(2002)** .The immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2002; 54: 615-640.
- FAIK M., RAISS M. (1998).** *Helicobacter pylori* et pathologie gastrique. *Médecine du Maghreb*. 70:37-40.
- FAN X. G. CHUA A. (1995).** Increased gastric production of interleukin-8 and tumour necrosis factor in patients with Helicobacter pylori infection. *J Clin Pathol*. 48(2): 133-136.
- FAUCONNIER A. (1998).** Génétique et biologie moléculaire de *Helicobacter pylori*: des approches efficaces pour aborder la pathogénicité de la bactérie. *Acta Endoscopica*. 28(3):165-173.
- FERLAY J., D. M. PARKIN. (2010).** Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer*. 46(4): 765-781
- FERRAND J. ET MENARD A. (2009).** *Helicobacter pylori* dans un modèle de carcinogenèse gastrique impliquant les cellules souches mésenchymateuses : Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat à l'Université Bordeaux 2. pp 32-49.
- FERRAND J., LEHOURS P., SCHMID-ALLIANA A., MEGRAUD F., VARON C. (2011).** Helicobacter pylori infection of gastrointestinal epithelial cells in vitro induces mesenchymal stem cell migration through an NF-kappaB-dependent pathway. *PLoS One*. 6:e29007.
- FERRERO R. L., THIBERGE J. M., HUERRE M., LABIGNE A. (1998).** Immuneresponses of specific pathogen-free mice to chronic *Helicobacter pylori* (strain SS1) infection. *Infection Immunity*. 66:1349-1355.

**FIGUEIREDO C., MACHADO J. C., PHAROAH P., SERUCA R., SOUSA S., CARVALHO R. (2002).** Helicobacter pylori and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 94:1662-3.

**FINLAY B. B., FALKOW S. (1997).** Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiol Mol Biol Rev.* 61, 136-169.

**FOX G. J., WANG C. T. A., ND PARSONNET J. (2006).** Helicobacter, chronic inflammation, and cancer. In: Hausen ZH, editors. *Infections Causing Human Cancer.* New York: Wiley-VCH. pp. 386-467.

**FU S., RAMANUJAM K. S. (1999).** Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 in Helicobacter pylori gastritis. *Gastroenterology.* 116(6): 1319-1329.

**FURUTA T., DELCHIER J. C. (2009).** Helicobacter pylori and Non-malignant Diseases. *Helicobacter.* 14, 29-35.

**GALMICHE A., RASSOW J., DOYE A. (2000).** The N-terminal 34 kDa fragment of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome c release. *EMBO J.* 19: 6361-6370.

**GAMBOA-DOMINGUEZ A., UBBELOHDE T. (2007).** Salt and stress synergize H. pylori-induced gastric lesions, cell proliferation, and p21 expression in Mongolian gerbils. *Dig Dis Sci.* 52(6): 1517-1526.

**GANCZ H., JONES K. R. (2008).** Sodium chloride affects Helicobacter pylori growth and gene expression. *J Bacteriol.* 190(11): 4100-4105.

**GARRITY G., BELL M., LILBURN J. A. II. (2005).** Helicobacteraceae fam. nov. In : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* New York. Pub. Springer, pp. 1168-1194.

**GEBERT B., FISCHER W., WEISS E. (2003).** Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science.* 301: 1099-1102.

**GERHARD M., LEHN N., NEUMAYER N., BOREN T., RAD R., SCHEPP W., MIEHLKE S., CLASSEN M., PRINZ C. (1999).** Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl U S A,* 96, 12778-12783.

**GHIARA P., MARCHETTI M., BLASER M. J. (1995).** Role of the Helicobacter pylori virulence factors vacuolating cytotoxin, CagA, and urease in a mouse model of disease. *Infect Immun.* 63: 4154-4160.

**GIANNAKIS M., CHEN SL., KARAM SM., ENGSTRAND L., GORDON JL. (2008).** Evolution de Helicobacter pylori dans la progression de la gastrite atrophique chronique de cancer de l'estomac et de son impact sur les cellules souches gastriques. *Proc Natl Acad Sci USA* , 105 : . 4358-4363.

**GOODWIN A. C., WEINBERGER D. M., FORD C. B., NELSON J. C., SNIDER J. D., HALL J. D., PAULES C. I., PEEK R. M. JR., FORSYTH M. H. (2008).** Expression of the *Helicobacter pylori* adhesin SabA is controlled via phase variation and the ArsRS signal transduction system. *Microbiology* . 154, 2231-2240.

**GOODWIN C. S., ARMSTRONG J. A., CHILVERS T., PETERS M., COLLINS D., SLY L., MCCONNELL W., HARPER W. E. S. (1989).** Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. and *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int. Syst Bacteriol.* 39:397-405.

**GRAHAM D. Y. (1989).** *Campylobacter pylori* and peptic ulcer disease. *Gastroenterology.* 96(Suppl 2):615-625.

**GRAHAM D. Y., FISCHBACH L. (2010).** *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. *Gut.* 59:1143-1153.

**GRESSMANN H., LINZ B., GHAI R. (2005).** Gain and loss of multiple genes during the evolution of *Helicobacter pylori*. *PLoS Genet.* 1: e43.

**GRIGNON B., TANKOVIC J., MÉGRAUD F., GLUPCZYNSKI Y., HUSSON MO., CONROY MC. (2002).** Validation of diffusion methods for macrolide susceptibility testing of *Helicobacter pylori* . *Microb Drug Resist* ; 8:61-6.

**GUECHI Z. (2008).** Infection à *H pylori* : technique de diagnostic et séroprévalence dans l'Algérie. 1<sup>ère</sup> journée scientifique de la S.A.M.I.C.

**GUPTA R. A., DUBOIS R. N. (2001).** Colorectal cancer prevention and treatment by inhibition of cyclooxygenase-2. *Nat Rev Cancer.* 1(1): 11-21.

**HA N C., OH S. T., SUNG J. Y., CHA K.A., LEE M.H., OH B.H. (2001):.** Supramolecular assembly and acid resistance of *Helicobacter pylori* urease. *Natural Structure Biology.* 8: 505-509.

**HAESEBROUCK F., PASMANS F., FLAHOU B., CHIERS K., BAELE M., MEYNS T., DECOSTERE A., DUCATELLE R. (2009).** Gastric *Helicobacter* in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. *Clin Microbiol Rev.* 22:202-223.

**HAGGERTY T., SHMUELY H., PARSONNET J. (2003).** *Helicobacter pylori* in cathartic stools of subjects with and without cimetidine-induced hypochlorhydria. *J Med Microbiol.* 52:189-191.

**HALA M. AND EL-ZIMAITY T. (2000).** Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* with biopsy. *Gastroenterol Clin North Am* ;29:63-9.

**HANSSON L. E., NYREN O., HSING A. W., BERGSTROM R., JOSEFSSON S., CHOW W. H., FRAUMENI J. F. JR., ADAMI H. O. (1996).** The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med.* 335, 242-9.

**HATAKEYAMA M. (2008).** SagA of CagA in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Curr Opin Microbiol.* 11:30–37.

**HATAKEYAMA M.(2004).** oncogènes de l' *Helicobacter pylori* CagA protéine. *Nat Rev Cancer*; 4 :688-694.

**HAZELL S. L., LEE A., BRADY L.,HENNESSY W. (1986).** *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* . 153, 658-663.

**HIGASHI H., TSUTSUMI R., FUJITA A., YAMAZAKI S., ASAKA M., AZUMA T., HATAKEYAMA M.(2002).** Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;99:14428-14433.

**HISATSUNE J., NAKAYAMA M.,ISOMOTO H. (2008).** Molecular characterization of *Helicobacter pylori* VacA induction of IL-8 in U937 cells reveals a prominent role for p38MAPK in activating transcription factor-2, cAMP response element binding protein, and NF-kappaB activation. *J Immunol.* 180: 5017-5027.

**HOFREUTER D.,HAAS R. (2002).** Characterization of two cryptic *Helicobacter pylori* plasmids: a putative source for horizontal gene transfer and gene shuffling. *J Bacteriol.* 184, 2755-2766.

**HOLCK S., INGEHOLM P., BLOM J., NØRGAARD A., ELSBORG L., ADAMSEN S.,ANDERSEN L. P. (1997).** The histopathology of humangastric mucosa inhabited by *Helicobacter heilmannii*-like (*Gastrospirillum hominis*) organisms including one culturable case.*APMIS.* 105:746–756.

**HOUGHTON J. AND WANG T.C. (2005).***Helicobacter pylori* and gastric cancer: a new paradigm for inflammation-associated epithelial cancers. *Gastroenterology*, 128,1567-1578.

**HOWDEN CW.AND HUNT RH.(1998).** Guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* ;93:2330-8.

**HWANG I. R., KODAMA T. (2002).** Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1beta production in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology.* 123(6): 1793-1803.

**ILHAN O., HAN U., ONAL B.,CELIK S. Y. (2010).** Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *Turk J Gastroenterol.* 21,345-352.

**ILVER D., ARNQVIST A., OGREN J., FRICK I. M., KERSULYTE D., INCECIK E. T., BERG D. E., COVACCI A., ENGSTRAND L. andBOREN T. (1998).** *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science.* 279,373-377.

**INOUE M., TAJIMA K., MATSUURA A., SUZUKI T., NAKAMURA T., OHASHI K. (2000).**Severity of chronic atrophic gastritis and subsequent gastric cancer occurrence: a 10-year prospective cohort study in Japan. *Cancer Letters*. 161: 105-112.

**ISOMOTO H., MOSS J.,HIRAYAMA T. (2010).** Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. *Tohoku J Exp Med*. 220: 3-14.

**ISRAEL D.A., SALAMA N., ARNOLD C.N., MOSS S.F., ANDO T., WIRTH H.P., THAM K.T.,CAMORLINGA M., BLASER M.J., FALKOW S., PEEK R.M. (2001).** *Helicobacter pylori* strain-specific differences in genetic content, identified by microarray, influence host inflammatory responses. *J Clin Invest*, 107, 611-620.

**IWAMOTO H., CZAJKOWSKY D. M.,COVER T. L. (1999).** VacA from *Helicobacter pylori*: a hexameric chloride channel. *FEBS Lett*. 450: 101-104.

**JALAVA K., ON S. L., HARRINGTON C. S., ANDERSEN L. P., HÄNNINEN M. L.,VANDAMME P. (2001).** A cultured strain of "*Helicobacter heilmannii*," a human gastric pathogen, identified as *H. bizzozeronii*: evidence for zoonotic potential of *Helicobacter*. *Emerg Infect Dis*. 7:1036-1038.

**JAY V., SOLNICK.,DAVID B. (2001).** Emergence of Diverse *Helicobacter* Species in the Pathogenesis of Gastric and Enterohepatic Diseases. *Clin Microbiol Rev*.14:59-97.

**JIANG Q., HIRATSUKA K., TAYLOR D.E. (1996).** Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. *Mol Microbiol*, 20, 833-842.

**JIMÉNEZ-SOTO LF., ROHRER S., U JAIN., ERTL C., SEWALD X., HAAS R.(2012).**Effets du cholestérol sur *Helicobacter pylori* croissance et la virulence des propriétés in vitro. *Helicobacter*; 17 : 133-139.

**JONKERS D., STOBBERINGH E., DEBRUINE A., ARENDS J. W., STOCKBRUGGER R. (1997).** Evaluation of immunohistochemistry for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric mucosal biopsies. *J Infect*. b;35:149-154.

**JOSEPHANS C., BEIER D., LINZ B., MEYER T.F., SUERBAUM S. (2007).**Pathogenomics of *Helicobacter*. *Int J Med Microbiol*, 297, 589-600.

**JOUTEI H.A.H, HILALI A., FECHTALI T., RHALLABI N., & BENOMAR H. (2010).** L'infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs: Institut Pasteur Maroc, 1998-2007. *La Revue de Santé de la Méditerranée orientale*. 16(7):778-782.

**JUNG H. C.,KIM J. M. (1997).***Helicobacter pylori* induces an array of pro-inflammatory cytokines in human gastric epithelial cells: quantification of mRNA for interleukin-8, -1 alpha/beta, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, monocyte chemoattractant protein-1 and tumour necrosis factor-alpha. *J Gastroenterol Hepatol*. 12(7): 473-480.

- JUTTNER S., CRAMER T. (2003).** Helicobacter pylori stimulates host cyclooxygenase-2 gene transcription: critical importance of MEK/ERK-dependent activation of USF1/-2 and CREB transcription factors. *Cell Microbiol.* 5(11): 821-834.
- KAPLAN-TÜRKÖZ B., JIMENEZ-SOTO L. F., DIAN C., ERTL C., REMAUT H., LOUCHE A., TOSI T., HAAS R. TERRADOT L. (2012).** Structural insights into Helicobacter pylori oncoprotein CagA interaction with  $\alpha 1$  integrin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 109:14640–14645.
- KARNHOLZ A., HOEFLER C., ODENBREIT S., FISCHER W., HOFREUTER D., HAAS R. (2006).** Functional and topological characterization of novel components of the comB DNA transformation competence system in Helicobacter pylori. *J Bacteriol.* 188, 882-893.
- KATAGIRI M., ASAKA M. (1997).** Increased cytokine production by gastric mucosa in patients with Helicobacter pylori infection. *J Clin Gastroenterol.* 25 Suppl 1: S211-214.
- KATO S., TSUKAMOTO T. (2006).** High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. *Int J Cancer.* 119(7): 1558-1566.
- KELLY S. M., PITCHER M. C., FARMERY S. M., GIBSON G. R. (1994).** Isolation of Helicobacter pylori from feces of patients with dyspepsia in the United Kingdom. *Gastroenterology.* 107:1671-1674.
- KIERSZENBAUM A.L. (2006).** Histologie et biologie cellulaire: une introduction à l'anatomie pathologique. Eds: *De Boeck & Larcier S.A. Paris (France).* 415p.
- KIM KK., KIM HB (2009).** réseau d'interaction des protéines liées à la réponse de l'infection à Helicobacter pylori. *Monde J Gastroenterol ;* 15 . :4518-4528 .
- KIMURA M., GOTO S., WADA A. (1999).** Vacuolating cytotoxin purified from Helicobacter pylori causes mitochondrial damage in human gastric cells. *Microb Pathog.* 26: 45-52.
- KITAJIMA Y., OHTAKA K., MITSUNO M., TANAKA M., SATO S., NAKAFUSA Y., MIYAZAKI K. (2008).** Helicobacter pylori infection is an independent risk factor for Runx3 methylation in gastric cancer. *Oncol Rep.* 19:197–202.
- KIVI M., TINDBERG Y. (2006).** Helicobacter pylori occurrence and transmission: a family affair? *Scand J Infect Dis.* 38, 407-17.
- KORWIN J.D., LOZNIEWSKI A. (2000).** Helicobacter pylori : notions fondamentales et perspectives. *Encyclopédie Médical: Gastroentérologie.* 8p.

- KREJS G. J. (2010).** Gastric cancer: epidemiology and risk factors. *Dig Dis* 28(4-5): 600-603.
- KUIPERS E. J. (1999).** Review article: exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 13 (suppl 1): 3-11.
- KUIPERS E. J.,LUNDELL L. (1996).** Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. *N Engl J Med.* 334(16): 1018-1022.
- KUIPERS E. J.,PEREZ-PEREZ G. I. (1995).***Helicobacter pylori* and atrophicgastritis: importance of the cagA status. *J Natl Cancer Inst.* 87(23): 1777-1780.
- KUIPERS E. J., KLINKENBERG-KNOL E. C., VANDENBROUCKE-GRAULS C. M., APPELMELK BENK B. E., MEUWISSEN S. G. (1997).** Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of atrophic gastritis. *Scand J Gastroenterol.* 223: 28-34.
- KUSTERS JG., VAN VLIET AH., KUIPERS EJ.(2006).** Pathogenèse de *Helicobacter pylori* infection.*Clin Microbiol Rev* 2006; 19 . :449-490.
- KUSTERS, J. G., A. H. VAN VLIET. (2006).** "Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection." *Clin Microbiol Rev* 19(3): 449-490.
- KWOK T., ZABLER D., URMAN S., ROHDE M., HARTIG R., WESSLER S., MISSELWITZ R., BERGER J., SEWALD N., KÖNIG W.,BACKERT S. (2007).** *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature.* 449:862–866.
- LABIGNE A.,DE REUSE H. (1996).** Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity.*Infect Agents Dis.* 5, 191-202.
- LAHARIE D., ASECIO C., ASSELINEAU J., BULOIS P., BOURREILLE A., MOREAU J., BONJEAN P., LAMARQUE D., PARIENTE A., SOULE J. C., CHARACHON A., COFFIN B., PEREZ P., MEGRAUD F.,ZERBIB F. (2009).**Association between entero-hepatic *Helicobacter* species and Crohn's disease: a prospective cross-sectional study. *Aliment Pharmacol Ther.* 30:283-293.
- LAINE L., SUGG J., SUCHOWER L., NEIL G.(2000).** Endoscopic biopsy requirement for post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* . *Gastrointest Endosc;*51:664-6.
- LAMARQUE D. (2000).** Dossier thématique. *La Lettre del'Hépatogastroentérologue.*3(3).
- LAMARQUE D., TRAN VAN NHIEU J., BREBAN M. (2003).** Quelles sont lesmodificationsgastriquesinduitesparl'infectionaigueetchroniquepar*H.pylori*.*Gastrœntéropologie Clinique et Biologique.* 27(3) : 391-400.
- LAMOULIATTE H., MEGRAUD F., DELCHIERJ. C., BRETAGNE J. F., COURILLON-MALLET A.,DE KORWIN J. D. (2003).**Second-line treatment for failure

to eradicate *Helicobacter pylori*: a randomized trial comparing four treatment strategies. *Aliment Pharmacol Ther.* 18:791-7.

**LESZCZYNSKA K., NAMIOT A., NAMIOT Z., LESZCZYNSKA JK., JAKONIUK P., M CHILEWICZ, NAMIOT DB., KEMONA A., MILEWSKI R., BUCKI R.(2010).** facteurs liés au patient touchant la culture de *Helicobacter pylori* isolées à partir de prélèvements de la muqueuse gastrique. *Adv Med Sci ; 55 :* 161-166.

**LEUNK R. D., JOHNSON P. T., DAVID B. C. (1988).** Cytotoxic activity in broth-culture filtrates of *Campylobacter pylori*. *J Med Microbiol.* 26: 93-99.

**LIN S. K., LAMBERT J. R., SCHEMBRI M. A., NICHOLSON L., KORMAN M. G. (1994).** *Helicobacter pylori* prevalence in endoscopy and medical staff. *J Gastroenterol Hepatol.* 9:319-324.

**LOH J. T., TORRES V. J. (2007).** Regulation of *Helicobacter pylori* cagA expression in response to salt. *Cancer Res.* 67(10): 4709-4715.

**LU H., WU J. Y., BESWICK E. J., OHNO T., ODENBREIT S., HAAS R., REYES V. E., KITA M., GRAHAM D. Y., YAMAOKA Y. (2007).** Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains. *J Biol Chem.* 282, 6242-6254.

**LU Y., REDLINGER T.R., AVITIA R., GALINDO A., GOODMAN K.(2002).** Isolation and genotyping of *Helicobacter pylori* from untreated municipal wastewater. *Appl Environ Microbiol;*68:1436-1439.

**LUPETTIP., HEUSER J.E., MANETTIR., MASSARIP., LANZAVECCHIAS., BELL ONP.L., DAILLAI R., RAPPUOLI R., TELFORD J.L. (1996).** Oligomeric and subunit structure of the *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Journal Cell Biology.* 133:801-807.

**LUZZA F., MANCUSO M., IMENEO M., CONTALDO A., GIANCOTTI L., PENSABENE L., DOLDO P., LIBERTO M. C., STRISCIUGLIO P., FOCA A. (2000).** Evidence favouring the gastro-oral route in the transmission of *Helicobacter pylori* infection in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 12:623–627.

**MAHDAVI J., SONDEN B., HURTIG M., OLFAT F. O., FORSBERG L., ROCHE N., ANGSTROM J., LARSSON T., TENEBERG S., KARLSSON K. A., ALTRAJA S., WADSTROM T., KERSULYTE D., BERG D. E., DUBOIS A., PETERSSON C., MAGNUSSON K. E., NORBERG T., LINDH F., LUNDSKOG B. B., ARNQVIST A., HAMMARSTROM L., BOREN T. (2002).** *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science.* 297, 573-578.

**MAKRISTATHIS A., PASCHING E., SCHUTZE K., WIMMER M., ROTTER M. L.,HIRSCHL A. M. (1998).** Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*, 36, 2772-4.

**MALATY H. M. (2007).** Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 21:205-214.

**MALATY HM., PAYKOV V., BYKOVA O., ROSS A., GRAHAM DP., ANNEGER JF., GRAHAM DY.(1996).** *Helicobacter pylori* and socioeconomic factors in Russia. *Helicobacter*;1:82-87.

**MALFERTHEINER P., BAZZOLI F., DELCHIER J. C., CELIŃSKI K., GIGUERE M., RIVIERE M., MEGRAUD F., PYLERA STUDY GROUP. (2011).** *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet*. 377:905-913.

**MALFERTHEINER P., MEGRAUD F., O'MORAIN C., BAZZOLI F., EL-OMAR E., GRAHAM D., HUNT R., ROKKAS T., VAKIL N., KUIPERS E. J. (2007).** Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 56:772-781.

**MALFERTHEINER P., MEGRAUD F., O'MORAIN CA., ATHERTON J., AXON AT., BAZZOLI F., GENSINI GF., GISBERT JP., GRAHAM DY., ROKKAS T. (2012).** Gestion de l'infection à *Helicobacter pylori* - Maastricht IV / Florence Rapport de consensus. *Gut*; 61 :. 646-664.

**MARSHALL B. J. and WARREN J. R. (1984).** Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1:1311-1315.

**MARSHALL B. J., ROYCE H., ANNEAR D. I., GOODWIN C. S., PEARMAN J. W., WARREN J. R., ARMSTRONG J. A. (1984).** Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbios Lett*. 25:83-88.

**MEGRAUD F., LEHOURS PH. (2007).** *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clin Microbiol Rev*. 20:280-322.

**Mégraud F.(2002).** the pediatric task force EHSK-ESPHGAN. Non invasive test for *Helicobacter pylori* in children. Evaluation in a multicentric European study. *Gut* ;51(suppl 12):A81.

**MEGRAUD F., BONNET F., GARNIER M., LAMOULIATTE H. (1985).** Characterization of *Campylobacter pyloridis* by culture, enzymatic profile, and protein content. *J Clin Microbiol*. 22:1007-1010.

**MEGRAUD F., BOYANOVA L., LAMOULIATTE H. (1991).** Activity of lansoprazole against *Helicobacter pylori*. *Lancet*. 337:1486.

**MIENDJE DEYI V. Y., VANDERPAS J., BONTEMS P., VAN DEN BORRE C., DEKOSTER E., CADRANEL S., BURETTE A.(2011).** Marching cohort of *Helicobacter pylori* infection over two decades (1988-2007): combined effects of secular trend and population migration. *Epidemiol Infect*, 139, 572-80.

**MITCHELL H. M., LEE A., CARRICK J. (1989).** Increased incidence of *Campylobacter pylori* infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission of *C. pylori*. *Scand J Gastroenterol*. 24:396-400.

**MOESE S., SELBACH M. (2007).** The *Helicobacter pylori* CagA protein disrupts matrix adhesion of gastric epithelial cells by dephosphorylation of vinculin. *Cell Microbiol*. 9(5): 1148-1161.

**MOLINARI, M., SALIO, M., GALLI, C.(1998).** Selective inhibition of Ii-dependent antigen presentation by *Helicobacter pylori* toxin VacA. *J Exp Med*, 187: 135-140.

**MOLLENHAUER-REKTORSCHKE M., HANAUER G., SACHS G., MELCHERS K. (2002).** Expression of UreI is required for intragastric transit and colonization of gerbilgastricmucosa by *Helicobacter pylori*. *Research Microbiology*. 153:659-666.

**MONTEIRO L., MEGRAUD F. (1999).** Par quels moyens rechercher *Helicobacter pylori* avant et après éradication?. *Gastroentérologie clinique et biologique*. 23(10):3.

**MONTEIRO L., MEGRAUD F. (1999).** Par quels moyens rechercher *Helicobacter pylori* avant et après éradication ? *Gastroenterol Clin Biol*; 23:C3-C19.

**MORAN A. P. (1996).** The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Aliment Pharmacol Ther*. 10 Suppl 1, 39-50.

**MUELLER D., TEGTMEYER N., BRANDT S., YAMAOKA Y., DE POIRE E., SGOURAS D., WESSLER S., TORRES J., SMOLKA A., BACKERT S. (2012).** c-Src and c-Abl kinases control hierarchic phosphorylation and function of the CagA effector protein in Western and East Asian *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Invest*. 122:1553–1566.

**MURATA-KAMIYA N., KURASHIMA Y., TEISHIKATA Y., YAMAHASHI Y., SAITO Y., HIGASHI H., ABURATANI H., AKIYAMA T., PEEK R. M. JR., AZUMA T., HATAKEYAMA M. (2007).** *Helicobacter pylori* CagA interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene*. 26:4617–4626.

**MURATA-KAMIYA N., KIKUCHI K., HAYASHI T., HIGASHI H., HATAKEYAMA M. (2010).** *Helicobacter pylori* exploits host membrane phosphatidylserine for delivery, localization, and pathophysiological action of the CagA oncoprotein. *Cell Host Microbe*. 7:399–411.

**NAKACHI N., KLEIN T. W. (2000).** Helicobacter pylori infection of human gastric epithelial cells induces IL-8 and TNF $\alpha$ , but not TGF $\beta$ 1 mRNA. FEMS Immunol Med Microbiol. 29(1): 23-26.

**NAKAMURA H., YOSHIYAMA H., TAKEUCHI H., MIZOTE T., OKITA K., NAKAZAWA T. (1998).** Urease plays an important role in the chemotactic motility of Helicobacter pylori in a viscous environment. Infect Immun. 66, 4832-4837.

**NAUMANN M. (2005).** Pathogénicité effets d'ilot dépendant de Helicobacter pylori sur transduction de signal intracellulaire dans les cellules épithéliales. Int. J. Med. Microbiol 295 : 335-341.

**NG W. W., LAM C. P., CHAU W. K., FEN-YAU LI A., HUANG C. C., CHANG F. Y., LEE S. D. (2000).** Regression of high-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma with Helicobacter pylori after triple antibiotic therapy. Gastrointest Endosc. 51, 93-96.

**NISHIKAWA K., NAKAMURA M., TAKAHASHI S., MATSUI H., MURAYAMA S. Y., MATSUMOTO T., YAMADA H., TSUCHIMOTO K. (2007).** Increased apoptosis and angiogenesis in gastric low-grade mucosa-associated lymphoid tissue-type lymphoma by Helicobacter heilmannii infection in C57/BL6 mice. FEMS Immunol Med Microbiol. 50, 268-272.

**NOACH L. A., BOSMA N. B. (1994).** Mucosal tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with Helicobacter pylori infection. Scand J Gastroenterol. 29(5): 425-429.

**O'CONNOR P. M., LAPOINTE T. K., JACKSON S., BECK P. L., JONES N. L., BURET A. G. (2011).** Helicobacter pylori activates calpain via toll-like receptor 2 to disrupt adherens junctions in human gastric epithelial cells. Infection and Immunity. 79:3887–3894.

**O'CONNOR PM., LAPOINTE S., JACKSON S., BECK PL., JONES NL., BURET AG.(2011).** Helicobacter pylori active calpaïne via récepteur Toll-like 2 à perturber jonctions adhérentes dans les cellules épithéliales gastriques humaines. Maladies infectieuses et immunitaires; 79 :3887-3894 .

**ODENBREIT S., PULS J. (2000).** Translocation of Helicobacter pylori CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science. 287(5457): 1497-1500.

**ODENBREIT S., FALLER G., HAAS R. (2002).** Role of the alpAB proteins and lipopolysaccharide in adhesion of Helicobacter pylori to human gastric tissue. Int J Med Microbiol. 292, 247-256.

**OGIWARA H., SUGIMOTO M. (2009).** Role of deletion located between the intermediate and middle regions of the Helicobacter pylori vacA gene in cases of gastroduodenal diseases. J Clin Microbiol. 47(11): 3493-3500.

- OGUMA K., OSHIMA H. (2008).** Activated macrophages promote Wnt signalling through tumour necrosis factor-alpha in gastric tumour cells. *EMBO J.* 27(12): 1671-1681.
- OGURA K., TAKAHASHI M. (1998).** Interleukin-8 production in primary cultures of human gastric epithelial cells induced by *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci.* 43(12):2738-2743.
- OH J. D., KARAM S. M. (2005).** Intracellular *Helicobacter pylori* in gastric epithelial progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(14): 5186-5191.
- OHNISHI N., YUASA H. (2008).** Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105(3): 1003-1008.
- OKOLI A. S., MENARD A., MENDZ G. L. (2009).** *Helicobacter* spp. other than *Helicobacter pylori*. *Helicobacter.* 14 Suppl 1, 69-74.
- OLBERMANN P., JOSEPHANS C., MOODLEY, Y. (2010).** A global overview of the genetic and functional diversity in the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *PLoS Genet.* 6: e1001069.
- OLEASTRO M., CORDEIRO R., FERRAND J., NUNES B., LEHOURS P., CARVALHO-OLIVEIRA I., MENDES A. I., PENQUE D., MONTEIRO L., MEGRAUD F., MENARD A. (2008).** Evaluation of the clinical significance of homB, a novel candidate marker of *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer disease. *J Infect Dis.* 198,1379-1387.
- OLEASTRO M., GERHARD M., LOPES A.I., RAMALHO P., CABRAL J., SOUSA GUERREIRO A., MONTEIRO L. (2003).** *Helicobacter pylori* virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 22, 85-9.
- O'ROURKE J. L., GUNTER (2001).** Animal models of *Helicobacter pylori* infection and disease. *Microbes Infect.* 5(8): 741-748.
- O'TOOLE P. W., LANE M. C. (2000).** *Helicobacter pylori* motility. *Microbes Infect.* 2(10): 1207-1214.
- OWEN R. J. (1995).** Bacteriology of *Helicobacter pylori*. *Baillieres Clin Gastroenterol.* 9, 415-446.
- PANDEY M. (2007).** *Helicobacter* species are associated with possible increase in risk of biliary lithiasis and benign biliary diseases. *World J Surg Oncol.* 5, 94.
- PAPINI E., DE BERNARD M., MILIA E. (1994).** Cellular vacuoles induced by *Helicobacter pylori* originate from late endosomal compartments. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 91: 9720-9724.
- PARKIN D. M., F. BRAY. (2005).** Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 55(2): 74-108.

**PARSONNET J., FRIEDMAN G. D., ORENTREICH N., VOGELMAN H. (1997).** Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 40:297-301.

**PARSONNET J., SHMUELY H., HAGGERTY T. (1999).** Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *JAMA*. 282:2240-2245.

**PATTIS I., WEISS E., LAUGKS R. (2007).** The *Helicobacter pylori* CagF protein is a type IV secretion chaperone-like molecule that binds close to the C-terminal secretion signal of the CagA effector protein. *Microbiology*. 153: 2896-2909.

**PAZIAK-DOMANSKA B., M. CHMIELA (2000).** "Potential role of CagA in the inhibition of T cell reactivity in *Helicobacter pylori* infections." *Cell Immunol* 202(2): 136-139.

**PEEK R. M., BLASER M. J. (2002).** *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer*. 2:28-37.

**PEREZ-PEREZ GI. (2000).** Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* : Culture, including transport. *Gastroenterol Clin N Am* ;29:879-84.

**PERRY S., DE LA LUZ SANCHEZ M., YANG S., HAGGERTY T. D., HURST P., PEREZ-PEREZ G., PARSONNET J. (2006).** Gastroenteritis and transmission of *Helicobacter pylori* infection in households. *Emerg Infect Dis*. 12:1701–1708.

**POT R. G., STOOF J., NUIJTEN P. J., DE HAAN L. A., LOEFFEN P., KUIPERS E. J., VAN VLIET A. H., KUSTERS J. G. (2007).** UreA2B2: a second urease system in the gastric pathogen *Helicobacter felis*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 50, 273-279.

**PR JEAN-CHARLES DELCHIER. (2012).** Service d'hépatogastroentérologie, *Helicobacter pylori* : actualités thérapeutiques ;1-6.

**PRINZ C., SCHONIGER M., RAD R., BECKER I., KEIDITSCH E., WAGENPFEIL S., CLASSEN M., ROSCH T., SCHEPP W., GERHARD M. (2001).** Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res*. 61, 1903-1909.

**QUALIA C. M., KATZMAN P. J., BROWN M. R., KOOROS K. (2007).** A report of two children with *Helicobacter heilmannii* gastritis and review of the literature. *Pediatr Dev Pathol*. 10, 391-394.

**RAYMOND J., LAMARQUE D., KALACH N., CHAUSSADE S., BURUCOA C (2010).** High level of antimicrobial resistance in French *Helicobacter pylori* isolates. *Helicobacter*;15(1):21-7.

**RAZAFIMAHEFA S.H., RABENJANAHARY T.H., RAKOTOARIVELO R.A., RAKOTOZAFINDRABE R.A.L., ZERBIB F., RAMANAMPAMONJY R.M., & RAJAONA R.H. (2012).** Infection à *Helicobacter pylori* : revue de la littérature et réalités à Madagascar. *Revue Médicale de Madagascar*. 2(2):125-131.

**REYRAT J. M., LANZAVECCHIA S., LUPETTI P. (1999).** 3D imaging of the 58 kDa cell binding subunit of the *Helicobacter pylori* cytotoxin. *J Mol Biol.* 290: 459-470.

**RICKES S., SCHULTZE U., MONKEMULLER K. and MALFERTHEINER P. (2006).** Walter Krienitz--his life and intuitive description of bacteria in the stomach. *Dtsch Med Wochenschr.* 131, 1341-1343.

**RISTIMAKI A., ONKANEN N. (1997).** Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res.* 57(7): 1276-1280.

**ROMANO M., RICCI V. (1998).** *Helicobacter pylori* up-regulates cyclooxygenase-2 mRNA expression and prostaglandin E2 synthesis in MKN 28 gastric mucosal cells in vitro. *J Biol Chem.* 273(44): 28560-28563.

**RUGGE M., PENNELLI G., PILOZZI E., FASSAN M., INGRAVALLO G., RUSSO VM., DI MARIO F.(2011).** Gastrite: le rapport de l'histologie. *Dig Liver Dis.*; 43 Suppl 4 : S373-S384.

**SAHA A., HAMMOND C. E. (2008).** *Helicobacter pylori*-induced H,K-ATPase alpha-subunit gene repression is mediated by NF-kappaB p50 homodimer promoter binding. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 294(3): G795-807.

**SAHA A., HAMMOND C. E., BEESON C., PEEK R. M. JR., SMOLKA A. J. (2010).** *Helicobacter pylori* represses proton pump expression and inhibits acid secretion in human gastric mucosa. *Gut.* 59:874-881.

**SALAMA N. R., OTTO G., TOMPKINS L. (2001).** Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. *Infect Immun.* 69: 730-73.

**SALAMA N., GUILLEMIN K., MCDANIEL TK., SHERLOCK G., TOMPKINS L., FALKOW S.(2000).** A whole-genome microarray reveals genetic diversity among *Helicobacter pylori* strains. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:14668-14673.

**SANTE-MAG,( 2013).**Dossier:Lutte contre le cancer Labactérie *Helicobacter pylori*, principale cause d'atteinte.15:37p.

**SAWAOKA H., KAWANO S. (1998).** *Helicobacter pylori* infection induces cyclooxygenase-2 expression in human gastric mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 59(5): 313-316.

**SCHUBERT M. L., PEURA D. A. (2008).**Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology.* 134(7): 1842-1860.

**SEMINO-MORA C., DOI S. Q. (2003).**Intracellular and interstitial expression of *Helicobacter pylori* virulence genes in gastric precancerous intestinal metaplasia and adenocarcinoma. *J Infect Dis.* 187(8): 1165-1177.

**SEPULVEDA A. R., COELHO L. G. (2002).** Helicobacter pylori and gastric malignancies. *Helicobacter*. 7 (suppl 1): 37-

**SHARMA S. A., TUMMURU M. K. (1995).** Interleukin-8 response of gastric epithelial cell lines to Helicobacter pylori stimulation in vitro. *Infect Immun*. 63(5): 1681-1687.

**SHEILA E, CROW E.(2013).**Bactériologie et l'épidémiologie de l'infection à Helicobacter pylori revue de la littérature ;18 :449-470.

**SHERWOOD L. (2006).** Physiologie humaine. Ed: *De Boeck & Larcier S.A.Paris (France)*. pp:475-481.

**SHIMIZU N., IKEHARA Y., INADA K., NAKANISHI H., TSUKAMOTO T., NOZAKI K. (2000).** Eradication diminishes enhancing effects of Helicobacter pylori infection on glandular stomach carcinogenesis in Mongolian gerbils. *Cancer Res*. 60: 1512-4.

**SIPPONEN P., MARSHALL B. J. (2000).** Gastritis and gastric cancer. Western countries. *Gastroenterol Clin North Am*. 29(3): 579-592.

**SKOULOUBRIS S., LABIGNE A. (1999).** Bactériologie et pathogénicité d'*Helicobacter pylori*. *Revue Pratique*. 25:1203-1215.

**SKOULOUBRIS S., THIBERGE J. M., LABIGNE A. (1998).**The Helicobacter pylori UreI protein is not involved in urease activity but is essential for bacterial survival in vivo. *Infect Immun*. 66: 4517-4521.

**SLOMIANY B. L., PIOTROWSKI J., SENGUPTA S., SLOMIANY A. (1991).** Inhibition of gastric mucosal laminin receptor by Helicobacter pylori lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun*. 175, 963-970.

**SMET A., FLAHOU B., D'HERDE K., VANDAMME P. A., CLEENWERCK I. M., DUCATELLE R., PASMANS F., HAESEBROUCK F. (2011).** Helicobacter heilmannii sp. nov., isolated from feline gastric mucosa. *Int J Syst Evol Microbiol*. 1(5);123-130.

**SMITH S. M., MORAN A. P. (2011).** Tribbles 3: a novel regulator of TLR2- mediated signaling in response to Helicobacter pylori lipopolysaccharide. *J Immunol*. 186(4): 2462-2471.

**SMITH SB., NEIGE AN., PERRY RL., QASEM SA. (2012).** Helicobacter pylori: tacher ou de ne pas tacher? *Am J Clin Pathol*; 137 :. 733-738.

**SMOOT D. T., MOBLEY H. L., CHIPPENDALE G. R. (1990).** Helicobacter pylori urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. *Infect Immun*. 58: 1992-1994.

**SOBHANI I., VALLOT T., MIGNON M. (1995).** Helicobacter pylori, une bactérie découverte son implication dans les maladies gastroduodénales. *Presse médicale* 24(2): 67-79.

**SOLNICK J. V., HANSEN L. M., SALAMA N. R., BOONJAKUAKUL J. K., SYVANEN M. (2004).** Modification of *Helicobacter pylori* outer membrane protein expression during experimental infection of rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101, 2106-2111.

**SOLNICK J. V., O'ROURKE J., LEE A., PASTER B. J., DEWHIRST F. E., TOMPKINS L. S. (1993).** An uncultured gastric spiral organism is a newly identified *Helicobacter* in humans. *J Infect Dis.* 168:379-385.

**STAMER C., PRUGNOLLE F., VAN DER MERWE S.W., YAMAOKA Y., GRAHAM D.Y., PEREZ-TRALLERO E., WADSTROM T., SUERBAUM S., ACHTMAN M. (2007).** An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature*, 445, 915-918.

**SUERBAUM S., JOSEPHANS. C. (2007).** *Helicobacter pylori* evolution and phenotypic diversification in a changing host. *Nat Rev Microbiol.* 5, 441-452.

**SUNDRUD M. S., TORRES V. J., UNUTMAZ D., COVER T-L. (2004).** Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA effect on IL-2 secretion. *Proceeding of the National Academy of Sciences.* 101: 7727-7732.

**SUNG J. J., LEUNG W. K. (2000).** Cyclooxygenase-2 expression in *Helicobacter pylori*-associated premalignant and malignant gastric lesions. *Am J Pathol.* 157(3): 729-735.

**SUPAJATURA V., USHIO H., WADA A. (2002).** Cutting edge: VacA, a vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori*, directly activates mast cells for migration and production of proinflammatory cytokines. *J Immunol.* 168: 2603-2607.

**SUZUKI H., SAITO Y., HIBI T. (2009).** *Helicobacter pylori* and Gastric Mucosa-associated Lymphoid Tissue (MALT) Lymphoma: Updated Review of Clinical Outcomes and the Molecular Pathogenesis. *Gut Liver.* 3:81-87.

**SZABO I., BRUTSCHE S., TOMBOLA F. (1999).** Formation of anion-selective channels in the cell plasma membrane by the toxin VacA of *Helicobacter pylori* is required for its biological activity. *EMBO J.* 18: 5517-5527.

**TAKASHIMA, M., FURUTA T. (2001).** Effects of *Helicobacter pylori* infection on gastric acid secretion and serum gastrin levels in Mongolian gerbils. *Gut.* 48(6): 765-773.

**TAMMER I., BRANDT S., HARTIG R., KÖNIG W., BACKERT S. (2007).** Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology.* 132:1309-1319.

**TAYLOR D. E., EATON M., CHANG N. (1992).** Construction of a *Helicobacter pylori* genome map and demonstration of diversity at the genome level. *J Bacteriol.* 174: 6800-6806.

**Tee W., J. R. Lambert.(1995).** "Cytotoxin production by *Helicobacter pylori* from patients with upper gastrointestinal tract diseases." *J Clin Microbiol* 33(5):1203-1205.

**TELFORD, J. L., GHIARA, P., DELL'ORCO, M.(1994).** Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. *J Exp Med*, 179:1653-1658.

**THOMAS J. E., GIBSON G. R., DARBOE M. K., DALE A.,WEAVER L. T. (1992).** Isolation of *Helicobacter pylori* from human faeces. *Lancet*. 340:1194-1195.

**TOMB J. F., WHITE O., KERLAVAGE A. R., CLAYTON R. A., SUTTON G. G., FLEISCHMANN R. D., KETCHUM K. A., KLENK H. P., GILL S., DOUGHERTY B. A., NELSON K., QUACKENBUSH J., ZHOU L., KIRKNESS E. F., PETERSON S., LOFTUS B., RICHARDSON D., DODSON R., KHALAK H. G., GLODEK A., MCKENNEY K., FITZGERALD L. M., LEE N., ADAMS M. D., HICKEY E. K., BERG D. E., GOCAYNE J. D., UTTERBACK T. R., PETERSON J. D., KELLEY J. M., COTTON M. D., WEIDMAN J. M., FUJII C., BOWMAN C., WATTHEY L., WALLIN E., HAYES W. S., BORODOVSKY M., KARP P. D., SMITH H. O., FRASER C. M., VENTER J. C. (1997).** The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. 388, 539-547.

**TORRES V. J., VANCOMPERNOLLE S. E.,SUNDRUD M. S. (2007).** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets. *J Immunol*. 179: 5433-5440.

**TSANG Y. H., LAMB A., ROMERO-GALLO J., HUANG B., ITO K., PEEK R. M. JR., ITO Y.,CHEN L. F. (2010).** *Helicobacter pylori* CagA targets gastric tumor suppressor RUNX3 for proteasome-mediated degradation. *Oncogene*. 29:5643–5650.

**TU S., BHAGAT G., CUI G., TAKAISHI S., KURT-JONES EA., RICKMAN B., BETZ KS., PENZ-OESTERREICHER M., BJORKDAHL O., FOX JG., WANG TC.(2008).** Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell* 2008, 14:408-419.

**TUO B., SONG P., WEN G. (2009).** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits duodenal bicarbonate secretion by a histamine-dependent mechanism in mice. *J Infect Dis*. 199: 505-512.

**UEMURA N., OKAMOTO S., YAMAMOTO S., MATSUMURA N., YAMAGUCHI S.,YAMAKIDO M. (2001).** *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N Engl J Med* X. 345: 784-9.

**UNEMO M., ASPHOLM-HURTIG M., ILVER D., BERGSTROM J., BOREN T., DANIELSSON D.,TENEBERG S. (2005).** The sialic acid binding SabA adhesin of *Helicobacter pylori* is essential for nonopsonic activation of human neutrophils. *J Biol Chem*. 280, 15390-15397.

**VALE F. F., VITOR J. M. (2010).** Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: does food play a role in rural and urban areas? *Int J Food Microbiol.* 138:1-12.

**VANDENBROUCKE-GRAULS C. M.,APPELMELK B. J. (1998).** *Helicobacter pylori* LPS: molecular mimicry with the host and role in autoimmunity. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 30 Suppl 3, S259-260.

**VARON C., MOSNIER J.F., LEHOURS P., MATYSIAK-BUDNIK T.,MEGRAUD F. (2009).** Gastric carcinogenesis and *Helicobacter pylori* infection.*Methods Mol Biol.* 511,237.

**VELASCO ELIZALDE C., FERNANDEZ FERRER M. A.,RODRIGUEZ MUÑIZ N. (2007).** Serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* in endoscopy personnel. Serology in endoscopists. *Rev Esp Enferm Dig.* 99:88-93.

**VIVEKANANDAN P., TORBENSON M. (2008).** Low frequency of *Helicobacter* DNA in benign and malignant liver tissues from Baltimore, USA. *Hum Pathol.* 39, 213-216.

**WANG F., XIA P. (2008).** *Helicobacter pylori* VacA disrupts apical membrane cytoskeleton interactions in gastric parietal cells. *J Biol Chem.* 283(39): 26714 26725.

**WEEKS D. L., ESKANDARI S., SCOTT D. (2000).** R. A H<sup>+</sup>-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. *Science.* 287: 482-485.

**WESSLER S., GIMONA.,M, RIEDER G. (2011).** Regulation of the actin cytoskeleton in *Helicobacter pylori*-induced migration and invasive growth of gastric epithelial cells. *Cell Comm Signal.* 9:27.

**WILLHITE D. C.,BLANKE S. R. ( 2004).** *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. *Cell Microbiol.* 6: 143-154.

**WILLHITE D. C., COVER T. L.,BLANKE S. R. (2003).** Cellular vacuolation and mitochondrial cytochrome c release are independent outcomes of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin activity that are each dependent on membrane channel formation. *J Biol Chem.* 278: 48204-48209.

**WILLHITE,D.C.,BLANKES.R. ( 2004).***Helicobacter pylori*vacuolatingcytotoxinenters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrialmembranepermeabilitychangescorrelatedtotoxinchanelactivity.*CellMicrobiology.*6:143- 154.

**WILLIAMS C. S., SMALLEY W. (1997).** Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. *J Clin Invest.* 100(6): 1325-1329.

**WOTHERSPOON A. C., ORTIZ-HIDALGO C., FALZON M. R., ISAACSON P. G. (1991).** *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma.*Lancet.* 338, 1175-6.

**WROBLEWSKI L. E., PEEK JR R. M. (2010).** Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. Clin Microbiol Rev. 23(4): 713-739.

**YAMAOKA Y. (2010)** .Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. ;7:629–641.

**YAMAOKA Y. and OJO O. (2006).** Helicobacter pylori outer membrane proteins and gastroduodenal disease. Gut. 55 (6): 775-781.

**YAMAOKA Y., OJO O., FUJIMOTO S., ODENBREIT S., HAAS R., GUTIERREZ O., EL-ZIMAITY H. M., REDDY R., ARNQVIST A.,GRAHAM D. Y. (2006).** Helicobacter pylori outer membrane proteins and gastroduodenal disease. Gut. 55, 775-781.

**YOSHIKAWA T. andNAITO Y. (2000).** The role of neutrophils and inflammation in gastric mucosal injury. Free Radic Res. 33, 785-794.

**ZAVROS Y., RIEDER G., FERGUSON A., SAMUELSON L. C.,MERCHANT J. L. (2002).** Hypergastrinemia in response to gastric inflammation suppresses somatostatin. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 282:G175–G183.

**ZHANG C (2005).** Helicobacter pylori infection, glandular atrophy and intestinalmetaplasia in early gastric cancer. World J Gastroenterol ; 11(6):791-796.

**ZHENG P. Y.,JONES N. L. (2003).** Helicobacter pylori strains expressing the vacuolating cytotoxin interrupt phagosome maturation in macrophages by recruiting and retaining TACO (coronin 1) protein. Cell Microbiol. 5: 25-40.

**ZINE-CHARAFE A. (2007),** pathologie gastrique et infection à *Helicobacter pylori*. Ed: OPU. Alger (Algérie). 2: p 21.

# **ANNEXES**

**Annexe n°1 : Composition du milieu Columbia**

Polypeptones : *17,0 g/L*

Peptone pancréatique de coeur : *3,0 g/L* Amidon de maïs : *1,0 g/L*

Chlorure de sodium : *5,0 g/L*

Extrait de levure : *3,0 g/L*

Agar : *13,5 g/L*

pH = *7,3 +/- 0,2*

**Annexe n°02 : Composition du milieu urée -idole**

L-tryptophane : 3 g

Urée : 20 g

Monohydrogénophosphate de potassium : 1 g

Dihydrogénophosphate de potassium : 1 g

Chlorure de sodium : 5 g Éthanol à 95 °GL : 10 ml Rouge de phénol : 25 mg Eau distillée : 1 l

## Annexe n°03 : Fiche technique des renseignements des patients

### Fiche de renseignement

#### Recherche d'Helicobacter Pylori

Nom:.....Prenom:.....Age:..... Sexe:.....

Service:.....Date de prélevement:..... numero d'ordre:.....

#### Prelevement:

- Antre   
 - Fundus   
 - Petite courbure   
 - Grande courbure

#### Pathologie:

-Ulcére  Gastrique   
Bulbaire   
 -Neo   
 -Lymphome   
 -Gastrite   
 -Autre

#### Traitement:

Oui  Non

si oui

Amoxiline   
 Clarithromycine   
 Métronidaxole   
 IPP   
 Autre

Molécules

Raison

Durée de traitement: > 2mois oui  Non

Motif de l'examen :

ATCD médico-chirurgical – familiaux :

Allergie : - médicaments Autre molécule

Prise de : - tabac : alcool : aspirine : AINS :

Habitude alimentaire : -Thé -Café -Lait et ses dérivés –Sucre –Beurre – viande – fruits et légumes

**Signes d'appel:**

- Altération de l'état général,
- Amaigrissement,
- Anorexie,
- Nausées,
- Vomissements.

**Signes fonctionnels :**

- Douleur épigastrique,
- faim soulagée par les repas (lait, anti acide) :
- Méléna,
- hématé mèse,
- Diarrhée,
- Dysphagie en cas de cancer du cardia,
- Vomissement en cas de cancer du pylore

**Signes biologiques :**

- Anémie
- Syndrome inflammatoire (VS, CRP)

**Signes paranéoplasiques :**

- Phlébite des membres inférieurs,
- Fièvre

Aspect endoscopique de la muqueuse gastrique :

Diagnostic anatomo-pathologique :

Diagnostic bactériologique :

l'activité uréasique :

Culture bactérienne :

Caractères biochimiques : Catalase : Oxydase :

sensibilité aux antibiotiques :

- Sérodiagnostic :

Détection des anticorps anti-*H.pylori* par ELISA

**1- Motifs d'exploration**

- Douleurs épigastriques  Hémorragie digestive (Mœlena, hémétémèse)
- Vomissement  Amalgissement  Anémie  Autres.

**2-FOGD : N°.....**

- Normale  Pathologie ulcéreuse :  bulbaire  gastrique
- Sténose antryplorique  ulcéreuse  tumorale
- Tumeur gastrique :  lymphome  adénocarcinome  Oesophagite
- Gastrite  Autres :.....

**3-Diagnostic établi :**

**- Résultats**

A-Test rapide à l'uréase :  Résultat à uneH  Résultat à deuxH

B- Examen histologique .....

C- Examen direct :  Positif  Négatif

D- Culture :  Positive  Négative

E- Identification/ Api :.....

F- Antibiogramme  Amoxicilline  Clarithromycine  Métronidazole

G- Résultats de la sérologie :  Positive  Négative Titre :...

H-Resultat d'anapathologie :

histologique :.....

.....

antre : Densité :.....

Atrophie : minime  modérée  sévère

Activité minime  modérée  sévère

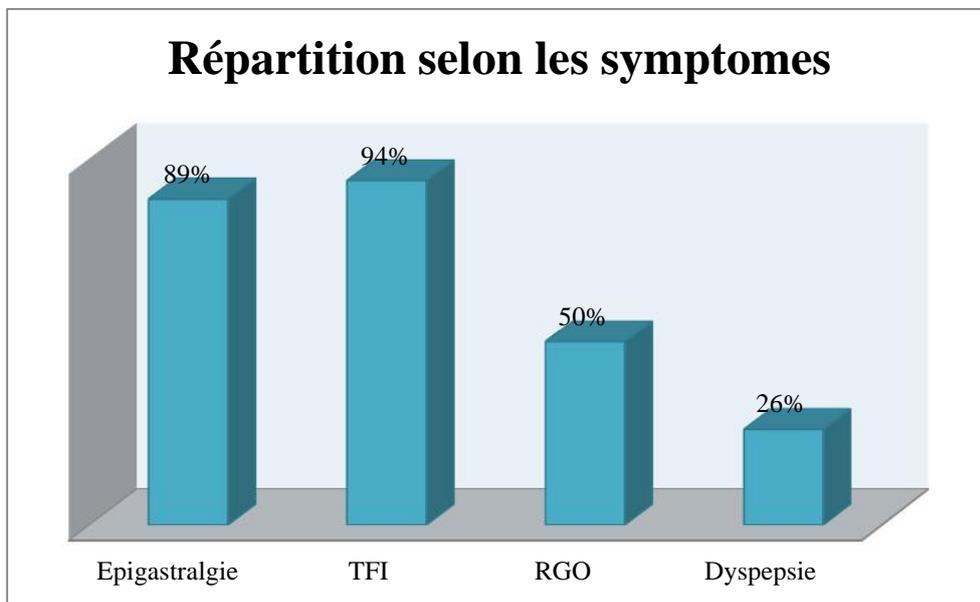
Dysplasie

Métaplasie

fundus Densité :.....

**Annexe n°04: répartition des patients selon les symptômes**

Epigastralgie	TFI	RGO	Dyspepsie
89%	94%	50%	26%



**Annexe n°05: Répartition des CMI<sub>90</sub> de divers antibiotiques de type sauvage contre H.pylori à différents pH**

Agent	CMI <sub>90</sub> (mg /L)		pH
	7,5	6,0	
Penicillin	0,03	0,5	0,5
Ampicillin	0,06	0,25	0,5
Céphalexine	02	16	32
Erythromycine	0,06	02	08
claritromycine	0,03	0,06	0,2 5
Ciprofléxacine	0,12	0,5	02
Tetracycline	0,12	0,25	0,5
Nitrofurantsine	01	02	02
Métronidazole	02	02	02
Bismuth subcitrole	16	08	

Annexe n°06: photographies de l'appareillage.



Photographie de la batterie de coloration:H.E (laboratoire d'anatomie-pathologie du CHU deTizi-Ouzou).



Photographie de l' étuve (laboratoire de microbiologie du CHU deTizi-Ouzou).

Photographie d'un microscope photonique (laboratoire de microbiologie du CHU deTizi-Ouzou).



Photographie de l'hermo (laboratoire de microbiologie du CHU deTizi-Ouzou).

## Annexe n°07: Répartition des résultats des patients selon les tests utilisés.

	diagnostic anatomo-pathologique	diagnostic bactériologique				antibiogramme	Sérodiagnostic
		activité uréasique	culture bactérienne	caractère biochimique			AC anti HP par ELISA
				catalase	oxydase		
patient 1	Gastrite chronique atrophique d'activité modérée HP+	+	-	+	+	Non fait	Examen non fait
patient 2	Gastrite antrale chronique modérée d'intensité et d'activité sévère sans métaplasie intestinale,HP+++	+	+	+	+	Non fait	Examen non fait
patient 3	Aspect morphologique et donnée de l'étude immunohistochimique en faveur d'un lymphome diffus à grandes cellules de phénotype B	-	-	-	-	Non fait	On peut pas voir HP
patient 4	Aspect morphologique et profil immunohistochimique d'un adénocarcinome gastrique peu différencié infiltrant.	-	-	-	-	Non fait	On peut pas voir HP
patient 5	Aspect hitopathologique d'un adénome vilieux en dysplasie de haut grade avec des foyers d'adénocarcinome intramuqueux.	-	-	-	-	Non fait	On peut pas voir HP
patient 6	Lymphome à petite cellule de phénotype B de type MALT probable.	+	-	-	-	Non fait	On peut pas voir HP

patient 7	Gastrite chronique antro-fundique d'intensité et d'activité légère avec métaplasie intestinale complète et focale,HP+	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 8	Gastrite chronique non atrophique,HP-	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 9	Gastrite chronique non atrophique d'intensité et d'activité légère avec HP+	-	-	-	-	Non fait	HP(+)
patient 10	Aspect histopathologique d'une gastrite chronique antro-fundique d'atrophie légère,d'intensité et d'activité modérée avec métaplasie intestinale modérée ,HP+	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 11	Gastrite chronique atrophique d'activité modérée HP+	+	-	-	-	Non fait	On ne peut pas voir HP
patient 12	Absence de muqueuse gastrique dans les prélèvements,patient à refaire.	-	-	-	-	Non fait	On ne peut pas voir HP
patient 13	Prélèvement à refaire	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 14	Aspect histopathologique d'un adénocarcinome gastrique bien différencié,infiltrant ,muqueuse antrale siège de lésions de gastrite chronique d'intensité et d'activité légère,avec présence d'une métaplasie intestinale complète légère,HP+.	+	-	-	-	Non fait	On ne peut pas voir HP
patient 15	Aspect histopathologique en faveur d'un adénocarcinome à cellules indépendantes gastrique en "bague à chaton"	-	-	-	-	Non fait	HP (-)
patient 16	Gastrite antrale chronique modérément atrophique,d'intensité et d'activité marquées avec métaplasie	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait

	intestinale,HP++						
patient 17	Gastrite chronique antrale d'atrophie légère, non active, HP-	-	-	-	-	Non fait	On peut pas voir HP
patient 18	Gastrite chronique atrophique d'intensité sévère et d'activité modérée, HP++	-	-	-	-	Non fait	HP(+)
patient 19	Gastrite peu atrophique d'activité et d'intensité modérée avec HP+++	-	-	-	-	Non fait	HP (-)
patient 20	Gastrite chronique d'activité légère HP+	-	-	-	-	Non fait	HP (-)
patient 21	Gastrite chronique non atrophique d'intensité et d'activité légère avec HP+	-	-	-	-	Non fait	HP (-)
patient 22	Gastrite chronique non atrophique, HP-	-	-	-	-	Non fait	HP (-)
patient 23	Gastrite chronique d'intensité modérée, peu active et d'atrophie légère, HP++	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 24	Aspect de gastrite chronique non active d'intensité et d'atrophie modérée, absence de dysplasie, HP+++	+	+	+	+	Non fait	Examen non fait
patient 25	Gastrite chronique d'intensité modérée avec métaplasie pseudo-colique et d'activité légère, HP+++	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 26	Gastrite chronique antro-fundique d'intensité sévère d'activité et d'atrophie modérée HP+++	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 27	Gastrite antrale chronique atrophique d'intensité et d'activité modérée sans métaplasie intestinale, HP+	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait

patient 28	gastrite chronique peu atrophique d'activité modérée HP+ absence e métaplasie intestinale HP++	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 29	Aspect hitopathologique d'un adénocarcinome moyennement différencié avec lésions de gastrite fundique chronique atrophique d'intensité et d'activité modéré avec métaplasie intestinale	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 30	Gastrite antro-fundique chronique d'intensité modérée non active sans métaplasie intestinale,HP+	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 31	Gastrite chronique d'atrophie légère d'intensité modérée et d'activité modérée,HP+++	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 32	Gastrite chronique atrophique d'activité et d'intensité modérée,HP+++	+	-	-	-	Non fait	HP(+)
patient 33	Gastrite chronique antrofundique d'intensité et d'activité marquée peu atrophique,absence de métaplasie intestinale,HP+++	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 34	Lésions gastrique minime,absence de métaplasie intestinale,HP+++	+	+	-	-	Non fait	HP(+)
patient 35	Aspect histopathologique d'une muqueuse antrale siège d'un adénocarcinome bien diffiréncié	+	+	+	+	Non fait	Examen non fait
patient 36	Gastrite antro-pylorique atrophique d'intensité et d'activité sévère,HP++	+	+	+	+	Non fait	HP(+)
patient 37	Muqueuse fundique siège de discrète lésions de gastrite,HP++	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait

patient 38	Gastrite chronique atrophique d'intensité modérée active avec métaplasie intestinale,HP+++	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 39	Aspect histopathologique est en faveur d'un adénocarcinome peu différencié infiltrant de l'estomac	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 40	Aspect de polype gastrique hyperplasique, Gastrite fundique chronique d'intensité légère d'atrophie légère avec HP+	-	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 41	Gastrite fundique chronique d'intensité et d'activité modérée avec métaplasie intestinale,HP+	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 42	Gastrite chronique antrale d'atrophie légère, non active, HP	+	-	-	-	Non fait	Examen non fait
patient 43	Gastrite antr-fundique peu atrophique d'activité marquée, HP+	+	-	-	-	Non fait	HP(+)
patient 44	Aspect de gastrite chronique antrale d'intensité sévère, d'activité et d'atrophie modérées, HP+++	+	-	-	-	Pas de résultat	Examen non fait
patient 45	Aspect de gastrite antr-fundique atrophique d'activité et d'intensité sévère avec métaplasie intestinale, HP+++	+	-	+	+	Pas de résultat	Examen non fait

**Adenocarcinome** : Tumeur maligne développée aux dépens d'un épithélium glandulaire.

**Alkylhydroperoxyde-reductase** : Enzyme dont la fonction est de protéger *H. pylori* par réduction d'hydroperoxydes organiques toxiques.

**Antigène lewis a, b** : antigènes libres dans le plasma et autres liquides biologiques, adsorbés sur les érythrocytes (antigènes des groupes sanguins).

**Antigène lewis x, y** : antigènes présents sur les membranes des leucocytes et des cellules endothéliales.

**Carcinome** : Cancer développé à partir d'un tissu épithélial (peau, muqueuse).

**Cytokine** : Substances solubles de communication synthétisées par les cellules du système immunitaire (les lymphocytes T) ou par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.

**Dysplasie** : Malformation ou déformation résultant d'une anomalie du développement d'un tissu ou d'un organe, qui survient au cours de la période embryonnaire ou après la naissance.

**Grading** : Détermination du grade.

**Intégrine alpha5 beta 1** : Protéine transmembranaire qui intervient dans les interactions entre les molécules d'adhésion sur les cellules adjacentes et/ou la matrice cellulaire.

**Lamina propria** : Membrane située au-dessous de l'épithélium de la muqueuse, constituée essentiellement d'un épithélium et d'un chorion, et accessoirement de fibres élastiques musculaires, de glandes, de villosités, etc., selon la muqueuse considérée.

**Lymphome** : Cancer du système lymphatique aux dépens des lymphocytes.

**Metaplasie** : Transformation d'un tissu cellulaire différencié en un autre tissu cellulaire différencié.

**Super oxyde-dismutase** : Enzyme dont la fonction est de protéger *H. pylori* par réduction d'hydroperoxydes organiques toxiques.