

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département des Sciences Biologiques



THÈSE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat LMD en Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie, microbiologie, appliquées et sciences alimentaires

Thème

Etude histologique et immunohistochimique des pathologies gastriques associées avec *Helicobacter pylori* ou le virus d'Epstein Barr

Présentée par : BENAKLI Yasmina

Devant un jury composé de :

Présidente	ZERROUKI-DAOUDI <i>Nacera</i>	Professeur	U.M.M.T.O
Directeur	HOUALI Karim	Professeur	U.M.M.T.O
Examineurs	TALEB Kahina	M.C.A	U.M.M.T.O
	BEDJOU Fatiha	Professeur	U. Béjaia
	ZIDANE Azdinia	Professeur	U. Chlef

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

En premier lieu, je remercie chaleureusement les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon directeur de thèse, Professeur *HOUALI* pour son accompagnement constant, ses recommandations motivantes et ses encouragements tout au long de ce travail. Il a su m'orienter avec discipline et empathie durant la réalisation de ce projet de recherche. Je lui suis reconnaissante pour sa disponibilité, sa générosité et son ouverture d'esprit.

Mes remerciements s'adressent aussi à madame *ZERROUKI-DAOUDI Nacera* Professeur à l'UMMTO qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Mes sincères dévouements aux membres de jury : madame *TALEB Kahina*, Maitre de conférences A à l'UMMTO ; madame *BEDJOU Fatiha*, Professeur à l'Université de Bejaia, et madame *ZIDANE Azdina*, Professeur à l'université de Chlef, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également vers toute l'équipe du laboratoire de biochimie analytique et biotechnologie (LABAB) à l'université de Tizi Ouzou, et au laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU Nedir Med de Tizi-Ouzou.

Je remercie également l'ensemble de mes enseignants pour m'avoir partagé leur savoir et leur expérience pour que je parvienne à atteindre le niveau scientifique nécessaire à la réalisation de ce travail de recherche.

Dédicaces

Je crois que les mots qui suivront cette dédicace ont été les plus durs à écrire durant la rédaction de ma thèse, je la dédie à mon père, qui m'a tout offert pour arriver à la fin de mon parcours universitaire, certes tu n'es plus de ce monde, mais spirituellement tu ne m'as jamais quitté ;

Je remercie ma mère, mes sœurs et leurs époux, mon frère et son épouse, mon neveu et mes nièces, mon oncle et sa femme, mes tantes et leurs époux ainsi qu'à tous mes cousins et cousines, qui m'ont accompagné et encouragé durant cette période de ma vie doctorale ;

A ma belle-famille, mes belles sœurs, leurs époux et leurs enfants, et plus particulièrement, à mes défunts beaux-parents ;

Mes remerciements s'adressent particulièrement à mon époux et à mon fils, pour leur soutien, patience et motivation ;

A mes ami(e)s et à tous ceux qui ont contribué de loin où de près à la réalisation de cette thèse.

Liste des abréviations

Aa	Acide aminé
Ac M	Anticorps monoclonal
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
Ahp C	Alkyl-hydroperoxide-reductase C
AKT (PKB)	Protein kinase B
Alp A	Alkaline phosphatase A
Alp B	Alkaline phosphatase B
ARN	Acide ribonucléique
Bab A	Protéine A de liaison à l'antigène sanguin (BabA)
BamH I	Bacillus amyloliquefaciens H I
Bcl-2	B cell leukemia protein 2
BCR	B cell Receptor
BMLF	BamHI m fragment leftward open reading frame
BRLF	BamHI r fragment leftward open reading frame
BZLF	BamHI z fragment leftward open reading frame
Cag A	Cytotoxin associated antigen A
CD	Cluster differenciation
CG	Cancer gastrique
CG	Carcinome gastrique
C-Myc	Avian myelocytomatosis virus oncogen homolog
CNP	Carcinome du nasopharynx
Covid	Corona virus disease
Cp	C promoter
CTAR	C-terminal activating region
DAB	Tétrahydrochlorure de 3,3'-diaminobenzidine

DLPT	Troubles lympho-prolifératifs post-transplantation.
Dup A	Duodenal Ulcer Promoting
EBER	Epstein Barr encoded small RNA
EBNA	EBV nuclear antigen
EBV	Epstein Barr virus
EGF-R	Epidermal growth factor - receptor
GA	Gastrite atrophique
GMF	Gastrite atrophique multi focale
GNA	Gastrite non atrophique
Gp	Glycoprotein
<i>H.pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HE	Hematoxylin and eosin
HHV	Human herpes virus
HLA	Human leucocyte antigen
Hop Z	<i>Helicobacter</i> outer membrane protein z
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
HPV	Human papillomas virus
IE	Immediate early
Ig	Immunoglobuline
IHC	Immunohistochimie
JNK	C-Jun amino-terminal Kinase
Kb	Kilo de base
Kd	Kilo-dalton
Ki 67	Proliferation index
LB	Lymphome de Burkitt
LB	Lymphocyte B

LCL	Lymphoblastoïd cells
LCV	Lymphocrypto-virus
LPC	Lésion pré-cancéreuse
LH	Lymphome hodgkinien
LMP 1	Latent membrane protein 1
LMP 2	Latent membrane protein 2
LPS	Lipopolysaccharides
MALT	Mucosa-associated lymphoid tissue
MI	Métaplasie intestinale
miARN	Micro-ARN
NF-B	Nuclear factor
NK	Natural killer
Oip A	Outer inflammatory protein A
ON	Oxyde nitrique
P38-MAPK	Mitogen activated protein kinase
PBS	Phosphate buffer solution
PI3K	Phosphatidyl-inositol 3' kinase
Qp	Q promoter
Sab A	Adhésine de liaison à l'acide sialique
SOD	Superoxyde dismutase
TM	Transmembrane
TR	Terminal repetitions
Ure B	Urease B
Vac A	Vacuolating cytotoxin A
VIH	Virus de l'immunodéficience humain
Wp	W promoter

Liste des figures

Figure 1 :	Structure de l'estomac humain (gauche) et de la barrière gastrique (droite).....	22
Figure 2 :	Lésions histopathologiques dans un modèle murin, observées aux différents stades de la « cascade de Correa » menant à l'adénocarcinome gastrique de type intestinal.....	25
Figure 3 :	Visualisation de <i>H. pylori</i> sur coupe histologique, coloration de Wharthin Starry (à base de sels d'argent). Endoscopie et biopsie gastrique effectuées 8 jours après ingurgitation d'une solution de culture pure de <i>H. pylori</i> par B. Marshall.....	26
Figure 4 :	Virulence et mécanismes pathogénicité d' <i>H. pylori</i>	29
Figure 5 :	Pathogénèse de l'adénocarcinome gastrique déclenchée par <i>H. pylori</i>	31
Figure 6 :	Particules virales trouvées dans des lignées issues de lymphome de Burkitt en 1965.....	32
Figure 7 :	Représentation schématique de la structure d'EBV.....	33
Figure 8 :	Taxonomie de la famille des Herpesviridae. Selon la classification des Herpesviridae par le Comité International de Taxonomie des Virus.....	35
Figure 9 :	Infection des deux types cellulaire (cellules B et cellules épithéliales) après transmission salivaire de l'EBV.....	37
Figure 10 :	Entrée de l'EBV dans les cellules cibles.....	39
Figure 11 :	Structure de la LMP 1.....	42
Figure 12 :	Séquence gastrite-infection-cancer du cancer gastrique associé à l'EBV.....	44
Figure 13 :	Cassettes incluant le tissu enrobé dans un bloc de paraffine destinée à la réalisation de rubans tissulaires (coupes histologiques).....	50
Figure 14 :	Schématisation de l'ensemble des étapes successives, nécessaires, à partir d'un prélèvement de tissu frais, fixé jusqu'à obtention d'une coupe histologique.....	55
Figure 15 :	Répartition de la population selon les données démographiques.....	65
Figure 16 :	Statut +/- d' <i>Helicobacter pylori</i> dans les sous-groupes d'âge chez les deux sexes.....	65
Figure 17 :	Répartition des patients selon le site de prélèvement.....	67
Figure 18 :	Détection de l'infection à <i>Helicobacter pylori</i> chez des patients souffrant de gastrites chroniques (A et B +++, C et D ++, E et F +).....	70

Figure 19 :	Répartition des différentes sous-populations LCP et HP.....	75
Figure 20 :	Modèle mathématique de l'évolution des différentes sous-population.....	78
Figure 21 :	Résultat de l'ACP chez les hommes.....	80
Figure 22 :	Résultat de l'ACP chez les femmes.....	80
Figure 23 :	Pyramide des âges de la population étudiée.....	84
Figure 24 :	Répartition des patients selon les sites d'échantillonnage.....	86
Figure 25 :	Détection de la LMP 1 par IHC dans les différents tissus.....	88
Figure 26 :	Localisation cellulaire du marquage tissulaire par LMP 1 en fonction du sexe.....	90
Figure 27 :	Marquage LMP 1 en fonction du site d'échantillonnage.....	92

Liste des tableaux

Tableau I :	Profil de latence de l'EBV en fonction de l'expression génique latente et des malignités associées.	40
Tableau II :	Comparaison entre coloration de routine, dite HE et coloration Giemsa.....	53
Tableau III :	Ordre de lecture des lames en IHC.....	59
Tableau IV :	Fréquence des signes cliniques chez les patients souffrant d'ulcères gastriques.....	62
Tableau V :	Fréquence et localisation des ulcères gastriques.....	62
Tableau VI :	Répartition des 586 cas de GC selon les critères histologiques.....	68
Tableau VII :	Comparaison entre la positivité <i>Hp</i> entre coloration Giemsa et IHC.....	71
Tableau VIII :	Répartition des cas de rémissions à l'infection <i>Hp</i> chez des patientes ayant bénéficiés du schéma thérapeutique adéquat.....	73
Tableau IX :	Répartition des patients en fonction de la pathologie gastriques associées..	85
Tableau X :	Relation entre les différentes variables étudiées	93
Tableau XI :	Résultats test ANOVA.....	94
Tableau XII :	Résultat test Fischer.....	94
Tableau XIII :	Marquage LMP 1 en fonction de l'âge.....	95

Table des matières

Résumé.....	12
Abstract	14
الملخص	16
Introduction.....	1
Synthèse bibliographique.....	4
1. Rappel histologique sur l'estomac et pathologies associées	4
1.1. Histologie générale de l'estomac	4
1.2. Altérations gastriques précancéreuses et cancer gastrique :	6
2. Données bibliographiques sur <i>Helicobacter pylori</i>	8
2.1. Identification, taxonomie et morphologie	8
2.2. Acquisition de l'infection et mode de transmission.....	10
2.3. Prévalence de l'infection	10
2.4. Conséquence de l'infection	12
3.3. Adaptation bactérienne et facteurs de pathogénicité	11
3. Données bibliographiques sur le virus d'Epstein-Barr	14
3.1. Historique	14
3.2. Structure du virion d'EBV	15
3.3. Classification.....	17
3.4. Caractéristiques épidémiologiques	18
3.5. Transmission, tropisme cellulaire et infection à l'EBV	19
3.6. Cycle de vie de l'EBV.....	22
3.6.1. Infection lytique	22
3.6.2. Infection latente	22
3.7. Pathologies associées à l'EBV	26
Partie expérimentale.....	28
1. Objectifs.....	28
2. Matériels et méthodes	28
2.1. Matériels.....	28
2.1.1. Matériel biologique	28
2.1.2. Matériel technique et réactifs.....	30
2.2. Méthodes	31
2.2.1. Méthodes anatomo-pathologiques.....	31
2.2.2. Approche statistique	43
3. Résultats	44
3.1. Pathologies gastriques et infection à <i>Helicobacter pylori</i>	44

3.1.1. Ulcères gastriques et infection à Helicobacter pylori.....	44
3.1.2. Gastrites chroniques et infection à Helicobacter pylori : Analyse d'une série de 809 patients.....	47
3.1.3. Pathologies cancéreuses gastriques et infection à Helicobacter pylori : analyse d'une série de 53 cas	64
3.2. Etude des pathologies gastriques et association avec la présence d'EBV (LMP1)	66
3.2.1. Caractéristiques de la population étudiée	66
3.2.2. Pathologies gastriques	68
3.2.3. Marquage immunohistochimique de LMP1.....	70
3.2.3. Localisation anatomique des lésions et expression de LMP1	74
3.2.4. Analyse des relations entre les variables cliniques, histopathologiques et virologiques .	75
3.2.5. Analyse de la variabilité de l'âge selon les pathologies et les sites anatomiques.....	76
3.2.6. Marquage de LMP1 en fonction de l'âge des patients.....	78
4. Discussion des résultats.....	79
5. Conclusion et perspectives.....	85
Références bibliographiques	88
Annexes	104

Résumé

Les pathologies gastriques, et plus particulièrement le cancer de l'estomac, constituent un défi majeur en santé publique en raison de leur forte morbidité, de leur complexité clinique et de la multiplicité des facteurs impliqués dans leur développement. L'évolution des lésions gastriques, depuis une gastrite chronique jusqu'à un adénocarcinome, implique des mécanismes physiopathologiques diversifiés, dans lesquels les infections jouent un rôle déterminant. Deux agents infectieux majeurs sont particulièrement impliqués dans ce contexte : la bactérie *Helicobacter pylori* (Hp), classée comme cancérigène de classe I par l'OMS, et le virus d'Epstein-Barr (EBV), dont l'implication dans une sous-catégorie distincte de cancers gastriques a été démontrée.

Dans le cadre de notre recherche, nous avons exploré la relation entre ces agents infectieux et les altérations histopathologiques gastriques. L'étude a porté dans un premier temps sur une large cohorte de **809 cas de gastrites chroniques**, chez lesquels la recherche de *Helicobacter pylori* a été effectuée par colorations de routine (Giemsa) et par immunohistochimie spécifique. La bactérie a été détectée dans **plus de 50 % des cas**, confirmant son rôle prépondérant dans la pathogénie de l'inflammation gastrique chronique.

Parmi les cas Hp-positifs, des **lésions précancéreuses (LPC)** ont été identifiées :

- La **métaplasie intestinale** a été observée dans environ 35 % des cas.
- La **dysplasie de bas grade**, quant à elle, a été retrouvée dans près de 18 % des cas.

Notons que des LPC ont également été retrouvées chez certains patients Hp-négatifs, suggérant l'existence de **mécanismes carcinogènes indépendants de l'infection à Hp**.

Dans un second temps, une **sous-cohorte de patients Hp-négatifs** a été sélectionnée pour l'étude de l'implication virale à travers la détection de **l'expression de la protéine de latence virale LMP1 du virus d'Epstein-Barr** par immunohistochimie. Les résultats ont révélé une **expression nucléaire marquée de LMP1**, particulièrement chez les **patients de sexe masculin**, ce qui pourrait refléter une susceptibilité accrue liée à des facteurs hormonaux, génétiques ou comportementaux.

Ces résultats renforcent l'hypothèse d'une **carcinogenèse multifactorielle** dans les pathologies gastriques, impliquant à la fois *H. pylori* et EBV comme acteurs distincts ou synergiques. L'observation de lésions précancéreuses chez des patients Hp-négatifs mais

EBV-positifs suggère que **le virus pourrait jouer un rôle direct dans la transformation maligne des cellules épithéliales gastriques**. LMP1, en tant que protéine régulatrice de la prolifération et de la survie cellulaire, pourrait constituer un **biomarqueur potentiel de malignité** et une **cible thérapeutique prometteuse**, en particulier dans les cancers gastriques EBV-associés.

En conclusion, notre étude met en lumière la complexité des interactions entre agents infectieux et muqueuse gastrique, et souligne l'importance d'une **approche diagnostique intégrée**, combinant analyse histopathologique, immunohistochimie et recherche étiologique approfondie. La prise en compte de l'infection à EBV, en complément de *Helicobacter pylori*, pourrait améliorer significativement la **stratification du risque** et guider de **nouvelles stratégies de prévention et de traitement personnalisé** du cancer gastrique.

Mots clés : pathologies gastriques, *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr virus, immunohistochimie, lésions précancéreuses, cancer gastrique, LMP1.

Abstract

Gastric pathologies, particularly stomach cancer, represent a major public health challenge due to their high morbidity, clinical complexity, and the variety of factors involved in their development. The progression from chronic gastritis to gastric adenocarcinoma involves diverse pathophysiological mechanisms, with infectious agents playing a central role. Two major infectious agents are especially implicated in this context: the bacterium *Helicobacter pylori* (Hp), classified as a Group I carcinogen by the WHO, and the Epstein-Barr virus (EBV), which has been associated with a distinct subtype of gastric cancer.

In our study, we investigated the relationship between these infectious agents and histopathological gastric alterations. In the first phase, we analyzed a large cohort of **809 cases of chronic gastritis**, in which the presence of *Helicobacter pylori* was assessed using routine staining (Giemsa) and specific immunohistochemistry. The bacterium was detected in **over 50% of the cases**, confirming its prominent role in the pathogenesis of chronic gastric inflammation.

Among the Hp-positive patients, **precancerous lesions (PCLs)** were frequently identified:

- **Intestinal metaplasia** was observed in approximately 35% of cases.
- **Low-grade dysplasia** was found in about 18% of cases.

Interestingly, PCLs were also found in some Hp-negative patients, suggesting the existence of **alternative carcinogenic pathways independent of Hp infection**.

In the second phase, a **sub-cohort of Hp-negative patients** was selected to explore the possible role of EBV by detecting the expression of the **latent membrane protein 1 (LMP1)** via immunohistochemistry. The results revealed a **notable nuclear expression of LMP1**, particularly among **male patients**, which may reflect increased susceptibility linked to hormonal, genetic, or behavioral factors.

These findings reinforce the hypothesis of a **multifactorial carcinogenesis** in gastric diseases, involving both *H. pylori* and EBV as distinct or possibly synergistic contributors. The observation of precancerous lesions in Hp-negative but EBV-positive individuals suggests that **the virus may play a direct role in the malignant transformation of gastric epithelial cells**. LMP1, known for its role in regulating cell proliferation and survival, could

thus serve as a **potential biomarker of malignancy** and a **promising therapeutic target**, particularly in EBV-associated gastric cancers.

In conclusion, our study highlights the complexity of interactions between infectious agents and the gastric mucosa, and underlines the importance of an **integrated diagnostic approach** combining histopathological analysis, immunohistochemistry, and in-depth etiological investigation. Including EBV detection alongside *Helicobacter pylori* analysis could significantly improve **risk stratification** and inform **new strategies for personalized prevention and treatment** of gastric cancer.

Keywords: gastric pathologies, *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr virus, immunohistochemistry, precancerous lesions, gastric cancer, LMP1.

الملخص

تُعد الأمراض المعدية، وخاصة سرطان المعدة، من التحديات الكبرى في مجال الصحة العامة، نظراً لارتفاع معدل الإصابة والوفيات المرتبطة بها، وتعقيدها الإكلينيكي، وتعدد العوامل المؤثرة في تطورها. تمر هذه الأمراض بمراحل متتالية تبدأ بالتهاب المعدة المزمن، وتُفضي في بعض الحالات إلى آفات ما قبل سرطانية ثم إلى سرطان غدي معدي. وتلعب العوامل الإنتانية دورًا محوريًا في هذه السلسلة، لا سيما جرثومة الملوية البوابية (*Helicobacter pylori*) المصنفة كمسرطن من الدرجة الأولى حسب منظمة الصحة العالمية، وفيروس إبشتاين-بار (EBV) المرتبط بنمط فرعي مميز من سرطان المعدة.

في إطار دراستنا، قمنا باستكشاف العلاقة بين هذين العاملين والتغيرات النسيجية المرضية في المعدة. شملت المرحلة الأولى من الدراسة تحليل عينة كبيرة من 809 حالات من التهاب المعدة المزمن، حيث تم الكشف عن وجود جرثومة *Helicobacter pylori* باستخدام الصبغات التقليدية (كصبغة غيمزا) وتقنية التآلق المناعي النسيجي. وقد تم تأكيد وجود الجرثومة في أكثر من 50% من الحالات، مما يعزز دورها البارز في إحداث الالتهاب المزمن في مخاطية المعدة.

ومن بين المرضى المصابين بالجرثومة، تم التعرف على آفات ما قبل سرطانية بنسبة ملحوظة:

- لوحظت التحولات المعوية (المعروفة بالتبدل المعوي) لدى حوالي 35% من الحالات.
- كما ظهرت الزُهامة من الدرجة المنخفضة (dysplasia) في نحو 18% من الحالات.

ومن اللافت أنه تم أيضًا رصد هذه الآفات في بعض المرضى غير المصابين بـ *H. pylori*، مما يشير إلى وجود مسارات أخرى للتسرطن لا تعتمد على هذه الجرثومة.

في المرحلة الثانية، تم اختيار مجموعة فرعية من المرضى غير المصابين بـ *H. pylori* لدراسة دور محتمل لفيروس إبشتاين-بار، وذلك من خلال الكشف عن تعبير البروتين الكامن LMP1 باستخدام تقنية التآلق المناعي النسيجي. وأظهرت النتائج وجود تعبير نووي ملحوظ لهذا البروتين، لا سيما بين الذكور، مما قد يعكس وجود عوامل مؤهبة مرتبطة بالهرمونات أو العوامل الوراثية أو السلوكية.

تدعم هذه النتائج الفرضية القائلة بأن التسرطن في المعدة ذو طبيعة متعددة العوامل، حيث قد تتداخل العوامل البكتيرية والفيروسية أو تعمل بشكل مستقل. وتشير ملاحظة الآفات ما قبل السرطانية لدى مرضى غير مصابين بالجرثومة ولكن يحملون فيروس EBV إلى أن الفيروس قد يلعب دورًا مباشرًا في تحول الخلايا الظهارية المعدية إلى خلايا سرطانية. ويُعد بروتين LMP1، المعروف بتأثيره على تكاثر الخلايا وبقائها، علامة محتملة للتحول الخبيث وهدفًا علاجيًا واعدًا، لا سيما في حالات السرطان المعدي المرتبط بفيروس EBV.

في الختام، تسلط دراستنا الضوء على تعقيد التفاعلات بين العوامل الإنتانية والمخاطية المعدية، وتؤكد أهمية اتباع نهج تشخيصي متكامل يجمع بين التحليل النسيجي، وتقنيات التآلق المناعي، والبحث الموجه عن الأسباب الإنتانية. ومن شأن إدراج فحص فيروس EBV، إلى جانب الكشف عن *Helicobacter pylori*، أن يُحسن بشكل كبير من تصنيف مخاطر المرض، ويساهم في تطوير استراتيجيات وقائية وعلاجية مخصصة لسرطان المعدة.

الكلمات المفتاحية: أمراض المعدة، *Helicobacter pylori*، فيروس إبشتاين-بار، الناقل المناعي النسيجي،

الآفات ما قبل السرطانية، سرطان المعدة، LMP1.

Introduction

Introduction

Les maladies gastriques, telles que la gastrite, les ulcères gastroduodénaux et le cancer gastrique, sont des causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde entier. La gastrite, qui est une inflammation de la muqueuse gastrique, peut se manifester sous deux formes : aiguë et chronique. La gastrite aiguë est souvent causée par des facteurs exogènes tels que la consommation excessive d'alcool, l'utilisation prolongée de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou certaines infections virales et bactériennes. Cependant, la gastrite chronique, qui est souvent plus insidieuse et difficile à traiter, est principalement induite par une infection persistante par *Helicobacter pylori*, une bactérie Gram-négative qui colonise l'estomac humain. L'infection par *H. pylori* joue un rôle clé dans le développement de nombreuses pathologies gastriques, allant de la gastrite chronique aux ulcères gastroduodénaux, et peut, si elle n'est pas traitée, évoluer vers des formes plus graves de maladies, notamment le cancer gastrique (Malfertheiner et al., 2023).

Le cancer gastrique est une forme maligne qui résulte de la transformation progressive des cellules de la muqueuse gastrique sous l'effet de divers facteurs de risque. Parmi ces facteurs, *Helicobacter pylori* occupe une place centrale. Cette bactérie induit une inflammation chronique de la muqueuse gastrique, et à long terme, cette inflammation persistante peut conduire à des lésions précancéreuses et finalement à une transformation maligne des cellules gastriques. En effet, *H. pylori* est classée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un cancérigène de classe I, ce qui signifie qu'il existe des preuves suffisantes pour affirmer que cette infection est directement responsable du développement de certains cancers, notamment le cancer gastrique (Malfertheiner et al., 2023). L'infection par *H. pylori* affecte environ 50 % de la population mondiale, avec des taux particulièrement élevés dans les pays en développement, y compris en Afrique du Nord, notamment en Algérie (Attila et al., 2020).

En plus de *H. pylori*, d'autres agents pathogènes, notamment *Epstein-Barr Virus* (EBV), sont également impliqués dans le développement de pathologies gastriques, en particulier dans le cadre de cancers associés à la muqueuse gastrique. Le virus d'EBV est un virus humain omniprésent, appartenant à la famille des herpèsvirus, qui infecte plus de 95 % de la population adulte mondiale (Yu et Robertson, 2023). L'infection initiale par EBV survient généralement pendant l'enfance et est souvent asymptomatique, bien qu'une exposition tardive puisse entraîner des symptômes plus graves, tels que la mononucléose

infectieuse chez les jeunes adultes (**Naughton et al., 2021**). Le rôle oncogénique de l'EBV a été établi dans divers types de cancers, y compris les lymphomes, ainsi que dans certains cancers gastriques. Environ 10 à 15 % des cancers gastriques sont liés à l'EBV, notamment les lymphomes gastriques et les cancers gastriques affectant les cellules épithéliales (**Shechter et al., 2022**).

En Afrique, l'infection par *H. pylori* représente un problème de santé publique majeur, particulièrement en raison de sa forte prévalence dans les régions sub-sahariennes et d'Afrique du Nord. En Algérie, par exemple, on estime que près de 80 % de la population est infectée par *H. pylori* (**Attila et al., 2020**). Cette prévalence élevée explique en partie les taux alarmants de cancer gastrique dans le pays, où le nombre de nouveaux cas diagnostiqués chaque année continue d'augmenter (**Hiba et al., 2022**). En outre, l'EBV joue également un rôle non négligeable dans les cancers gastriques dans la région. Bien que la prévalence de l'EBV soit élevée, les données précises sur son rôle dans le cancer gastrique en Afrique demeurent insuffisantes. Cependant, des études ont suggéré que l'EBV est un facteur contribuant à certaines formes de lymphomes gastriques et à des cancers gastriques associés à des cellules épithéliales dans la région (**Syrykh et al., 2021**).

La situation épidémiologique en Algérie reflète cette double menace, avec des taux de cancer gastrique parmi les plus élevés en Afrique du Nord. Le manque d'accès à des soins de santé de qualité, la détection tardive des cancers, et l'absence d'un programme national de dépistage efficace, aggravent la situation. Bien que le traitement de l'infection par *H. pylori* par antibiothérapie combinée à des inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) soit relativement efficace, la persistance des facteurs de risque, tels que des habitudes alimentaires et de vie inappropriées, ainsi que l'absence de stratégies de prévention systématiques, rendent difficile la maîtrise de cette pathologie dans la région (**O'Connor et al., 2020**). Par ailleurs, l'impact de l'infection par EBV, bien que moins étudié, nécessite une attention particulière, en raison de son rôle potentiellement aggravant dans le développement de formes malignes de cancer gastrique.

Face à cette situation, il devient impératif de renforcer les efforts de prévention, tant au niveau de l'éradication de *H. pylori* que de la gestion de l'infection par EBV. Des campagnes de sensibilisation à la prévention de l'infection par *H. pylori*, des stratégies de dépistage précoce des formes précancéreuses, et un meilleur accès aux soins de santé sont des mesures essentielles pour lutter contre l'incidence croissante du cancer gastrique en Algérie et dans d'autres pays d'Afrique. L'amélioration de l'hygiène, l'éducation à la santé, et le renforcement

des infrastructures de santé sont également des priorités pour limiter la propagation de ces infections et, par conséquent, réduire la charge de morbidité associée aux maladies gastriques (**Zapatka et al., 2020**).

Il est donc établi que les pathologies gastriques, en particulier le cancer gastrique, représentent un défi de santé publique majeur, aussi bien en Algérie qu'en Afrique dans son ensemble. Les infections chroniques par *Helicobacter pylori* et le rôle oncogénique d'EBV dans certaines formes de cancer gastrique nécessitent une attention particulière. Une approche intégrée de prévention, de dépistage précoce et de traitement est essentielle pour lutter contre cette épidémie, tout en améliorant l'accès aux soins de santé pour les populations les plus vulnérables. Dans ce contexte, notre étude vise à analyser l'implication d'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ou du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans les pathologies gastriques. La première phase a porté sur 889 cas de patients du CHU de Tizi Ouzou entre 2016 et 2019, pour examiner l'implication de la bactérie. La deuxième phase a concerné 31 cas pour la recherche de la protéine LMP-1 liée à EBV. Les objectifs spécifiques incluent l'étude de l'implication de la bactérie dans les pathologies gastriques, l'analyse des lésions histologiques associées, et l'étude de la fréquence de la protéine LMP-1 chez les patients non infectés par *H. pylori*. Cette recherche est d'une grande importance pour la santé publique, car elle pourrait améliorer les stratégies de prévention, de diagnostic et de traitement des pathologies gastriques.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

1. Rappel histologique sur l'estomac et pathologies associées

1.1. Histologie générale de l'estomac

L'estomac, organe majeur du système digestif, est situé dans la partie supérieure de l'abdomen et se divise histologiquement et fonctionnellement en deux régions principales : le corpus supérieur et l'antré inférieur, également appelé région pylorique (**Jantaree et al., 2021**). Chaque section joue un rôle distinct dans le processus de digestion, bien que l'ensemble de l'organe fonctionne de manière cohérente pour assurer la dégradation et l'absorption des nutriments.

La **muqueuse gastrique**, qui constitue la couche la plus interne de l'estomac, joue un rôle clé dans les processus de protection et de digestion. Elle est recouverte d'un épithélium spécialisé qui comprend plusieurs types de cellules avec des fonctions spécifiques. Les **cellules muqueuses** sécrètent un mucus visqueux qui protège la paroi gastrique contre l'acidité et l'action des enzymes digestives. Les **cellules pariétales** assurent la production d'acide chlorhydrique (HCL), essentiel pour l'activation des enzymes digestives et la dégradation des protéines. Les **cellules principales** sécrètent du pepsinogène, un précurseur de la pepsine, enzyme qui, activée par l'acide, dégrade les protéines alimentaires. Les **cellules endocrines** situées dans la muqueuse libèrent des hormones telles que la gastrine, régulant ainsi la sécrétion acide et la motilité de l'estomac.

Les **glandes gastriques**, présentes dans la muqueuse, se forment sous forme d'invaginations et jouent un rôle central dans la production des sucs gastriques. Composées de différents types cellulaires selon les régions de l'estomac, ces glandes sécrètent des enzymes, des acides et des facteurs de croissance. Ces derniers stimulent la régénération de l'épithélium gastrique, favorisant ainsi une réponse adaptative face aux agressions externes, notamment les acides et les substances étrangères.

Sous la muqueuse se trouve la **sous-muqueuse**, une couche de tissu conjonctif qui contient un réseau dense de **vaisseaux sanguins** et de **vaisseaux lymphatiques**. Ces vaisseaux assurent l'irrigation et l'absorption des nutriments. En outre, cette couche abrite un plexus nerveux qui contrôle la régulation des fonctions gastriques, telles que la sécrétion acide et la motilité de l'estomac. Ce système nerveux permet de coordonner les mouvements

péristaltiques et d'adapter les réponses de l'estomac en fonction des types d'aliments consommés.

La **muscularis externa**, située sous la sous-muqueuse, est constituée de trois couches de muscles lisses disposées dans différentes orientations : longitudinale, circulaire et oblique. Ces couches permettent à l'estomac de se contracter efficacement dans plusieurs directions, facilitant ainsi le brassage des aliments et leur progression dans le système digestif. Ces contractions, essentielles pour le **péristaltisme**, favorisent le transport des aliments digérés vers l'intestin grêle.

La couche la plus externe de l'estomac est la **séreuse**, également appelée **adventice**. Constituée de tissu conjonctif et recouverte d'un épithélium simple, elle protège l'estomac contre les agressions mécaniques et chimiques. Cette couche joue également un rôle de soutien en maintenant l'estomac en place grâce à des ligaments et en lui permettant de se mouvoir librement lors des contractions musculaires, sans endommager les structures adjacentes.

L'interaction complexe de ces couches – la **muqueuse**, la **sous-muqueuse**, la **muscularis externa** et la **séreuse** – est essentielle pour garantir non seulement la digestion chimique et mécanique des aliments, mais aussi la protection de l'estomac contre son environnement acide. Ce système intégré favorise une absorption efficace des nutriments tout en maintenant l'intégrité de l'organe (**Figure 1**) (Trauslen et al., 2021 ; Chanda et Singh, 2024)

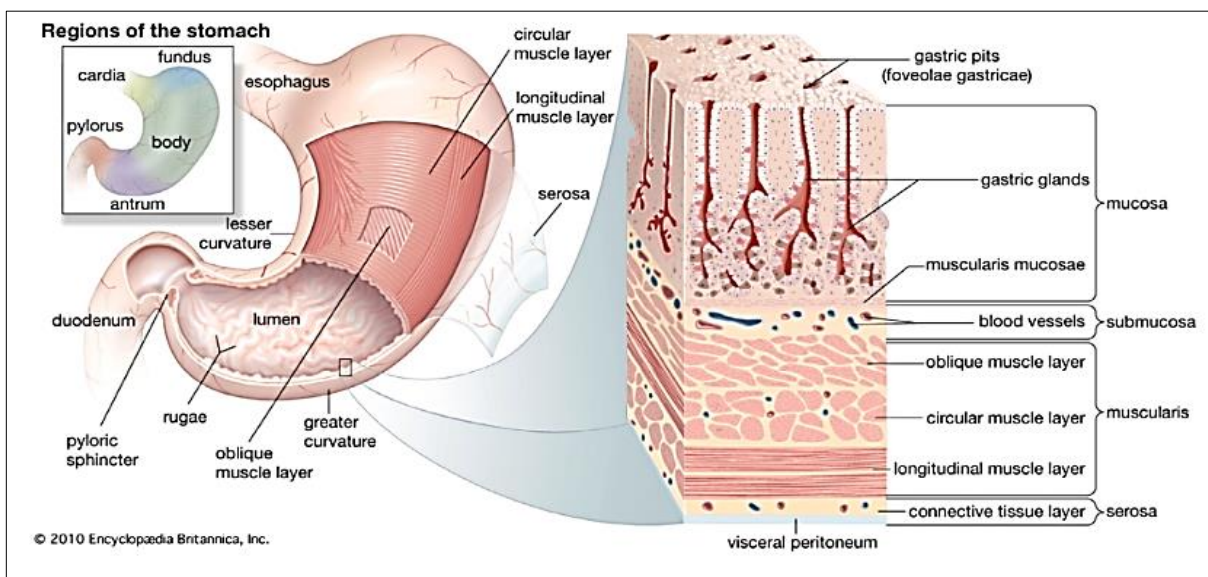


Figure 1 : Structure de l'estomac humain (gauche) et de la barrière gastrique (droite)
(Brandstaeter et al., 2019)

1.2. Altérations gastriques précancéreuses et cancer gastrique :

La majorité des cas de cancer gastrique (CG) sont des adénocarcinomes de type intestinal, qui se développent au travers d'un processus progressif impliquant plusieurs étapes. Ce processus débute par une série de modifications phénotypiques du tissu gastrique normal, allant de la muqueuse gastrique saine à la gastrite non atrophique (GNA), suivie de la gastrite atrophique (GA), de la métaplasie intestinale (MI), de la dysplasie (néoplasie non invasive de bas et haut grade), et enfin du cancer gastrique (CG) (Pei et al., 2022). Ce dysfonctionnement de la barrière épithéliale est décrit comme la cascade précancéreuse de Correa (Wang et al., 2024), et de nombreuses études épidémiologiques ont confirmé l'effet causal séquentiel de ces différentes étapes (Cheng et al., 2023).

La première étape de cette cascade est la gastrite chronique, généralement induite par l'infection à *H. pylori*, qui touche principalement l'antrum de l'estomac (Jessurun, 2021). À ce stade, l'inflammation liée à *H. pylori* affecte une muqueuse gastrique intacte avec des glandes gastriques préservées, appelée gastrite non atrophique (GNA). Cette condition peut être guérie par l'éradication de la bactérie, mais si l'infection persiste, elle peut évoluer vers une gastrite atrophique (GA) avec la perte et/ou le remplacement métaplasique des glandes de la muqueuse gastrique normale (Li et al., 2018). Au sein de cette cascade, la GA représente un champ de cancérisation privilégié, favorisant le développement du CG (Botezatu et Bodrug, 2021). *H. pylori* demeure le principal facteur de l'atrophie gastrique, et dans le monde entier, la prévalence de cette infection est systématiquement associée à la GA et au CG (Yang et al., 2022 ; Kouroumalis et al., 2024).

Cependant, dans certains contextes épidémiologiques spécifiques, une forte prévalence de l'infection par *H. pylori* est associée à une faible prévalence de lésions précancéreuses ou cancéreuses gastriques, ou bien des taux similaires d'infection bactérienne sont liés à des risques significativement différents de malignité gastrique (Li et Perez Perez, 2018 ; Gantuya et al., 2019 ; Niikura et al., 2023). Ces résultats inattendus suggèrent que des facteurs autres que *H. pylori* pourraient influencer la modulation de la cascade oncogène. Parmi ces facteurs, des éléments liés à l'hôte (tels que les variations génétiques, les ARN non codants, la méthylation, etc.) ainsi que des facteurs environnementaux, voire une dysbiose gastrique influencée par des déterminants épidémiologiques (ethniques, culturels, etc.), ont été proposés comme des contributeurs potentiels (Heinrichs et al., 2018 ; Link et Kupcinkas, 2018 ; Zhou et al., 2018 ; Tang et al., 2022). En particulier, une implication possible de la dysbiose gastrique dans la progression de la cascade de Correa a été suggérée (Huang et al.,

2023). Toutefois, le rôle exact de la dysbiose dans la cascade pré-néoplasique demeure incertain. La gastrite atrophique associée à *H. pylori* évolue avec le temps en gravité et en extension, devenant ainsi une gastrite atrophique multifocale (GMF) (**Li et al., 2018 ; Safira et Sugiarto, 2021**). Bien que la cascade de Correa soit principalement associée à l'infection par *Helicobacter pylori* dans le développement du cancer gastrique, il est possible que des facteurs supplémentaires, tels que le virus Epstein-Barr (EBV), contribuent également à la progression tumorale, notamment dans certains types spécifiques de cancers gastriques.

L'inflammation chronique persistante évolue vers un stade avancé d'atrophie, accompagné d'un remplacement métaplasique des glandes de la muqueuse gastrique, caractéristique de la métaplasie intestinale (MI) (**Vaiphei et Vape, 2022 ; Yang et al., 2022**). Histologiquement, la MI est une lésion hétérogène, subdivisée en deux sous-types principaux : complet et incomplet, ces derniers imitant respectivement l'épithélium de l'intestin grêle ou du côlon (**Shah et al., 2020**). La MI apparaît généralement au niveau de l'*incisura angularis*, avant de s'étendre à l'antrum et au corpus gastrique (**Kawamura et al., 2024**). À ce stade, l'accumulation de cellules et de lésions génétiques au sein de la muqueuse atrophique et métaplasique constitue le terrain propice à la dysplasie et au cancer gastrique invasif, les deux étapes finales de la cascade de Correa (**Businello et al., 2021**). Bien que la cascade de Correa suive une progression linéaire des lésions précancéreuses, elle peut également évoluer de manière variable : soit elle reste stable pendant de nombreuses années, soit elle progresse avec des épisodes de régression et/ou d'aggravation des lésions (**Koullis et al., 2019**). Par conséquent, il n'est pas encore bien établi à quel moment de la cascade un processus devient irréversible. Les études systématiques comparant la gastrite atrophique (GA) et la métaplasie intestinale (MI) suggèrent que la MI pourrait être considérée comme une lésion pré-néoplasique irréversible, à partir de laquelle la progression histopathologique peut se faire indépendamment de l'éradication de *H. pylori* (**Tong et al., 2024**). Cependant, certaines études de cohorte ont également observé une régression de la MI (**Drnovsek et al., 2024**). De plus, seule une petite proportion des patients présentant une MI développe une dysplasie (**Koullis et al., 2019**). Ainsi, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes responsables du développement de cette cascade précancéreuse (**Figure 2**).

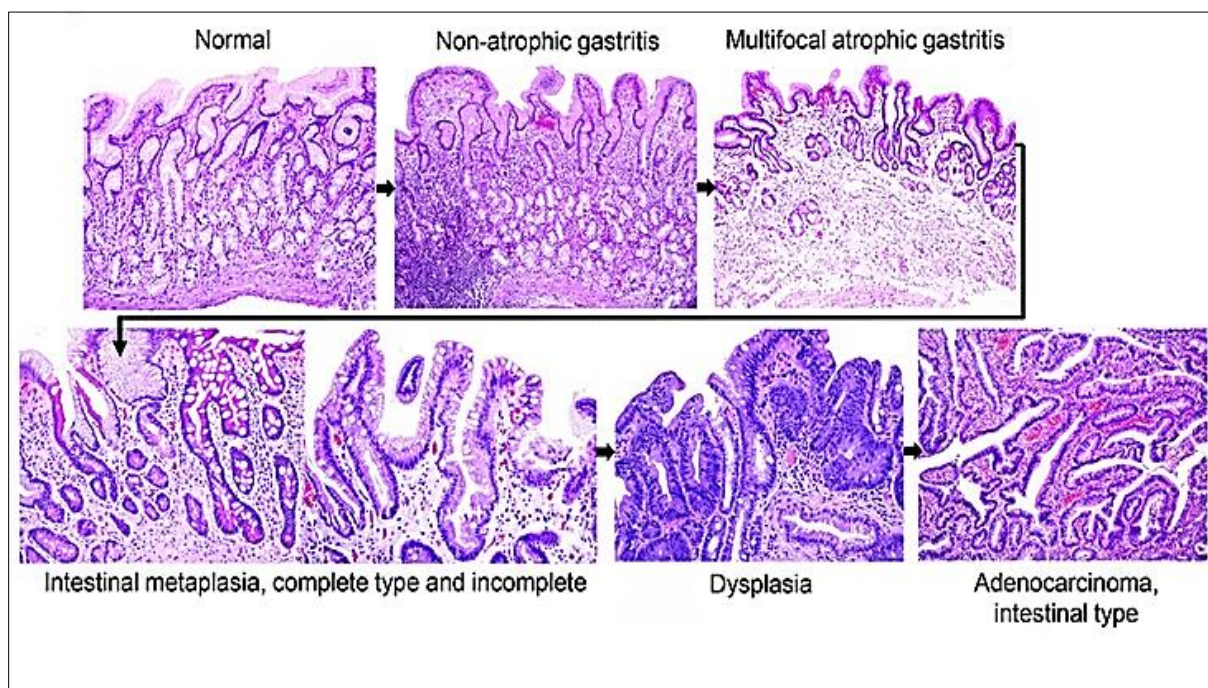


Figure 2 : Lésions histopathologiques dans un modèle murin, observées aux différents stades de la « cascade de Correa » menant à l’adénocarcinome gastrique de type intestinal (**Fox et Wang, 2014**)

Une muqueuse gastrique normale présente des glandes de structure normale. Lors d’une gastrite aiguë, l’épaisseur de la muqueuse est augmentée. Au cours d’une gastrite chronique, des dilatations glandulaires sont observées. La gastrite chronique peut évoluer en gastrite atrophique avec perte des cellules pariétales et une perte variable des glandes gastriques. La métaplasie intestinale correspond à l’acquisition d’un phénotype intestinal avec apparition de cellules caliciformes. La métaplasie intestinale peut évoluer en dysplasie caractérisées par des glandes de forme et de taille irrégulières. Enfin, le stade cancer associe des néoplasies intra-épithéliales et une invasion de la *muscularis mucosae* et de la musculature. Barre d’échelles : 160 μm (image 1) ; 400 μm (images 2, 3, 4) ; 80 μm (image 5, zoom x400) ; 40 μm (image 6) ; 800 μm (image 7).

2. Données bibliographiques sur *Helicobacter pylori*

2.1. Identification, taxonomie et morphologie

De nombreuses études ont été réalisées afin d’explorer la présence éventuelle de micro-organismes au sein de la muqueuse gastrique humaine, mais les résultats obtenus sont souvent restés peu concluants. Les premières observations en ce sens remontent à 1893, lorsque le chercheur italien Giulio Bizzozero identifia des « bactéries spiralées » dans le tractus gastro-intestinal des chiens (**Bizzozero, 1893**). Cependant, ces observations furent perçues à l’époque comme une simple curiosité microbiologique sans véritable portée

clinique. Ce n'est qu'en 1899 que le chercheur polonais Walery Jaworski observa des structures similaires dans le liquide de lavage gastrique humain, suggérant pour la première fois une possible association entre une bactérie spiralée, qu'il nomma « *Vibrio rugula* », et les pathologies gastriques. Toutefois, ses travaux, publiés en polonais dans un ouvrage de pathologie infectieuse, ne furent pleinement reconnus qu'un siècle plus tard (**Bordin et al., 2022**). Ce n'est qu'en 1984 que l'implication des micro-organismes dans les maladies gastriques fut officiellement validée, suite à l'identification par Marshall et Warren de la bactérie, ultérieurement dénommée *Helicobacter pylori*, dans des biopsies gastriques de patients souffrant de gastrite et d'ulcères gastroduodénaux (**Marshall et Warren, 1984**). Cette découverte fut confirmée par l'expérience de Marshall, qui ingéra une solution concentrée de cette bactérie, démontrant ainsi son pouvoir pathogène sur son propre estomac. La disparition des symptômes, après traitement à base d'antibiotiques (tinidazole) et de sels de bismuth, apporta la preuve de l'implication de *H. pylori* (**Figure 3**) dans les maladies gastriques, respectant ainsi les postulats de Koch pour la démonstration de l'existence d'un agent infectieux responsable (**Marshall et al., 1985**).

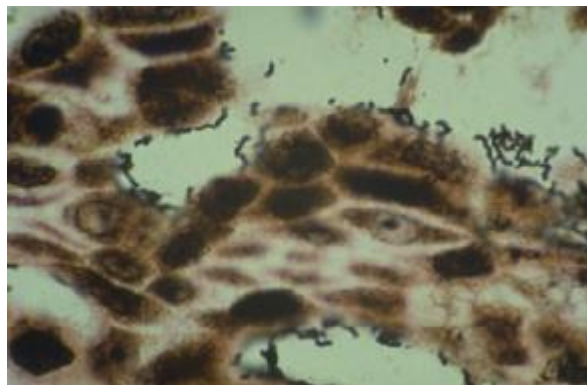


Figure 3 : Visualisation de *H. pylori* sur coupe histologique, coloration de Wharthin Starry (à base de sels d'argent). Endoscopie et biopsie gastrique effectuées 8 jours après ingurgitation d'une solution de culture pure de *H. pylori* par B. Marshall (**Marshall et al., 1985**).

Helicobacter pylori occupe une position centrale au sein d'un genre microbiologique distinct, regroupant près d'une vingtaine d'espèces isolées tant chez l'Homme que chez les animaux. Sa classification taxonomique au sein du règne des bactéries (**Charitos et al., 2021**) se présente comme suit :

- **Règne :** *Bacteria*
- **Division :** *Proteobacteria*
- **Classe :** *Epsilonproteobacteria*
- **Ordre :** *Campylobacterales*
- **Famille :** *Helicobacteraceae*
- **Genre :** *Helicobacter*
- **Espèce :** *Helicobacter pylori*

D'un point de vue morphologique, *H. pylori* se caractérise par sa forme spiralée ou de bâtonnet, bien que sa forme coccoïde puisse être observée lors de son état dormant (Ierardi et al., 2020). Ce bacille, Gram-négatif et micro-aérophile, mesure généralement entre 2 et 4 µm de longueur et 0,5 à 1,0 µm de largeur (Aljohani, 2021). D'après des études phylogénétiques et géographiques, *H. pylori* s'avère être un colonisateur gastrique naturel de l'Homme, coexistant avec les populations humaines depuis au moins 50 000 ans (Moutou, 2022).

2.2. Acquisition de l'infection et mode de transmission

L'infection par *H. pylori* débute souvent durant l'enfance et persiste généralement tout au long de la vie de l'hôte en l'absence de traitement antimicrobien (Sabbagh et al., 2019). Bien que la voie exacte de transmission de *H. pylori* ne soit pas entièrement élucidée, la transmission interhumaine, notamment au sein des familles, par voie orale-orale ou fécale-orale, est considérée comme prédominante (Mladenova et Durazzo, 2018). Ce mode de transmission est par ailleurs étroitement lié à des conditions environnementales défavorables, telles qu'une mauvaise hygiène et des facteurs géographiques variés. Une fois la bactérie transmise, elle demeure brièvement dans la lumière gastrique (avec un pH d'environ 2,0) avant de pénétrer dans la couche de mucus (pH de 4,5 à 6,5), qui constitue son habitat privilégié. Il est supposé que *H. pylori* utilise plusieurs mécanismes pour surmonter l'acidité gastrique, parmi lesquels l'uréase, une enzyme qui dégrade l'urée pour générer de l'ammoniaque et ainsi neutraliser l'acidité (Stefano et al., 2018 ; Monno et al., 2019).

2.3. Prévalence de l'infection

La prévalence mondiale de l'infection à *H. pylori* est estimée à 44,3 %, avec une variation notable entre les pays développés (34,7 %) et les pays en développement (50,8 %). L'Afrique se distingue par la prévalence la plus élevée, atteignant 70,1 % (Chen et al., 2024).

3.3. Adaptation bactérienne et facteurs de pathogénicité

Le réservoir naturel de *H. pylori* est l'estomac humain, et plus précisément l'épithélium gastrique. La bactérie se localise fréquemment dans le corpus et l'antra gastriques (**Cheok et al., 2021**). Elle est dotée de 2 à 6 flagelles unipolaires gainés qui renforcent sa mobilité au sein de la couche de mucus, facilitant ainsi sa migration vers les cellules épithéliales gastriques (**Su, 2019**). En dépit de sa coexistence asymptomatique avec l'hôte, ce qui témoigne de sa persistance dans le microbiome humain en tant que micro-organisme non pathogène (**Reshetnyak et al., 2021**), sa pathogénicité est indiscutable. Plusieurs facteurs de virulence essentiels à sa colonisation ont été identifiés, notamment l'uréase, qui génère de l'ammoniaque pour neutraliser l'acidité gastrique, et la motilité de la bactérie qui lui permet de se diriger vers des zones à pH plus élevé. De plus, sa forme spiralée et ses six flagelles polaires lui permettent de percer une couche de mucine épaisse (**Bai et al., 2020**).

Dans la muqueuse gastrique, la majorité des *H. pylori* résident dans la couche de mucus, à proximité immédiate de l'épithélium gastrique. La bactérie utilise différentes adhésines, telles que la protéine BabA (qui se lie aux antigènes sanguins), SabA (qui interagit avec l'acide sialique), ainsi que des porines comme HopZ, AlpA et AlpB, pour adhérer à la mucine et à la surface des cellules épithéliales, ce qui lui permet de résister au péristaltisme gastrique (**Sedarat et al., 2024**).

La pathogénicité de *H. pylori* est principalement associée à deux facteurs clés : le gène *CagA*, qui est lié à la cytotoxine, et la cytotoxine vacuolante (VacA) (**Ansari et Yamaoka, 2020 ; Kishk et al., 2021**). Ces facteurs (**Figure 4**) permettent à *H. pylori* d'induire et de moduler l'inflammation gastrique, tout en affectant divers processus cellulaires de l'hôte, tels que la prolifération, la différenciation et l'apoptose, avec un potentiel oncogène (**Sharndama et Mba, 2022**).

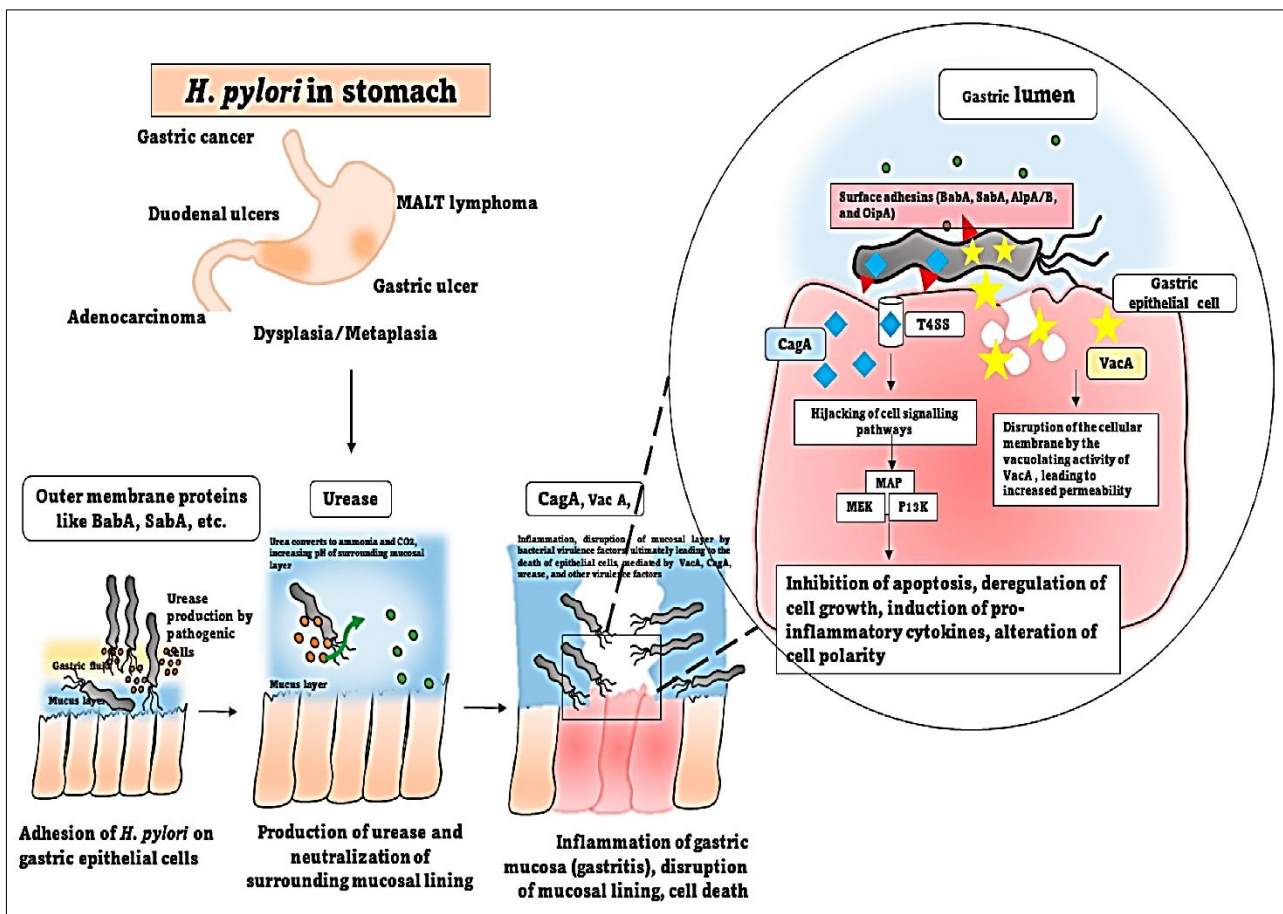


Figure 4 : Virulence et mécanismes pathogénicité d'*H. pylori* (Ali et AlHussaini, 2024).

(1) adaptation à l'environnement acide de la muqueuse gastrique de la muqueuse gastrique, (2) mouvement vers les cellules épithéliales à l'aide des flagelles, (3) pénétration de la barrière des cellules épithéliale et attachement à des récepteurs spécifiques, et (4) lésions tissulaires et autres effets néfastes sur la santé. Par conséquent, pour réussir à coloniser l'hôte et établir l'infection, *H. pylori* doit être capable de survivre à l'acidité de l'estomac, de s'attacher aux cellules de l'hôte et libérer des toxines qui endommagent les tissus de l'hôte. Le VacA contribue à la rupture de la barrière épithéliale. En outre, les macrophages peuvent être induits par l'uréase, entraînant des altérations de la physiologie gastrique. Plusieurs autres protéines effectrices jouent un rôle crucial dans la pathogénèse de *H. pylori*.

2.4. Conséquence de l'infection

L'infection par *H. pylori* peut entraîner les manifestations cliniques suivantes : (1) gastrite chronique, que presque toutes les personnes infectées développent et qui reste le plus souvent asymptomatique ; (2) phénotype d'ulcère duodénal, qui survient chez 10 à 15 % des personnes infectées ; (3) phénotype d'ulcère gastrique/adénocarcinome, qui se transforme en

cancer gastrique chez 1 à 3 % des personnes infectées ; et (4) lymphome du tissu lymphoïde associé à la muqueuse gastrique, qui se développe chez 0,1 % des personnes infectées (**Mladenova, 2022**). Le phénotype de l'adénocarcinome gastrique, qui survient principalement en cas de colonisation proximale de l'estomac (pangastrite), endommage les glandes gastriques et provoque une gastrite atrophique. Ce phénotype évolue finalement vers un processus à plusieurs étapes, comprenant la métaplasie intestinale, la dysplasie et l'adénocarcinome, qui peut prendre jusqu'à sept ou huit décennies (**Senchukova, 2022**). Par conséquent, *H.pylori* est la seule bactérie classée comme cancérigène de classe I (**Liatsos et al., 2022**) pour le cancer gastrique, et est impliquée dans 90 % de toutes les tumeurs malignes gastriques (**Salvatori et al., 2023**). Elle est considérée comme l'agent étiologique le plus courant des cancers liés aux infections (**Bakhti et al., 2020**).

Cependant, comme la majorité des sujets infectés développent une gastrite chronique (**Souissi et al., 2022**), la bactérie est définie comme un pathogène spécifique de l'hôte plutôt que comme un commensal (**Dey et Chaudhuri, 2023**). Bien que la majorité des personnes infectées soient asymptomatiques, une colonisation à long terme est associée à diverses maladies gastroduodénales ultérieures, telles que les ulcères gastroduodénaux, la GC ou le lymphome du tissu lymphoïde associé à la muqueuse (MALT) (**Kim, 2024**).

Par ailleurs, la consommation excessive de sel (**Balendra et al., 2023**) et le tabagisme (**Yang et al., 2020**), semblent être associés à un risque plus élevé de développement de cancer gastrique (**Yang et al., 2020**). Les antioxydants naturels joueraient au contraire un rôle protecteur (**Marino et al., 2023**).

Il est clairement établi que les effets combinatoires (**Figure 5**) de plusieurs facteurs environnementaux augmentent les risques de développement du CG chez les sujets infectés par *H. pylori* (**Collatuzzo et al., 2021**), y compris la réponse immunitaire innée de l'hôte contre la bactérie, qui induit une inflammation et des lésions cellulaires via la production abondante de médiateurs pro-inflammatoires tels que des cytokines, des espèces réactives oxygénées ou encore de l'oxyde nitrique (ON) (**Gobert et Wilson, 2022**) et le développement de la dysbiose gastrique (**Gomez-Ramirez et al., 2021**).

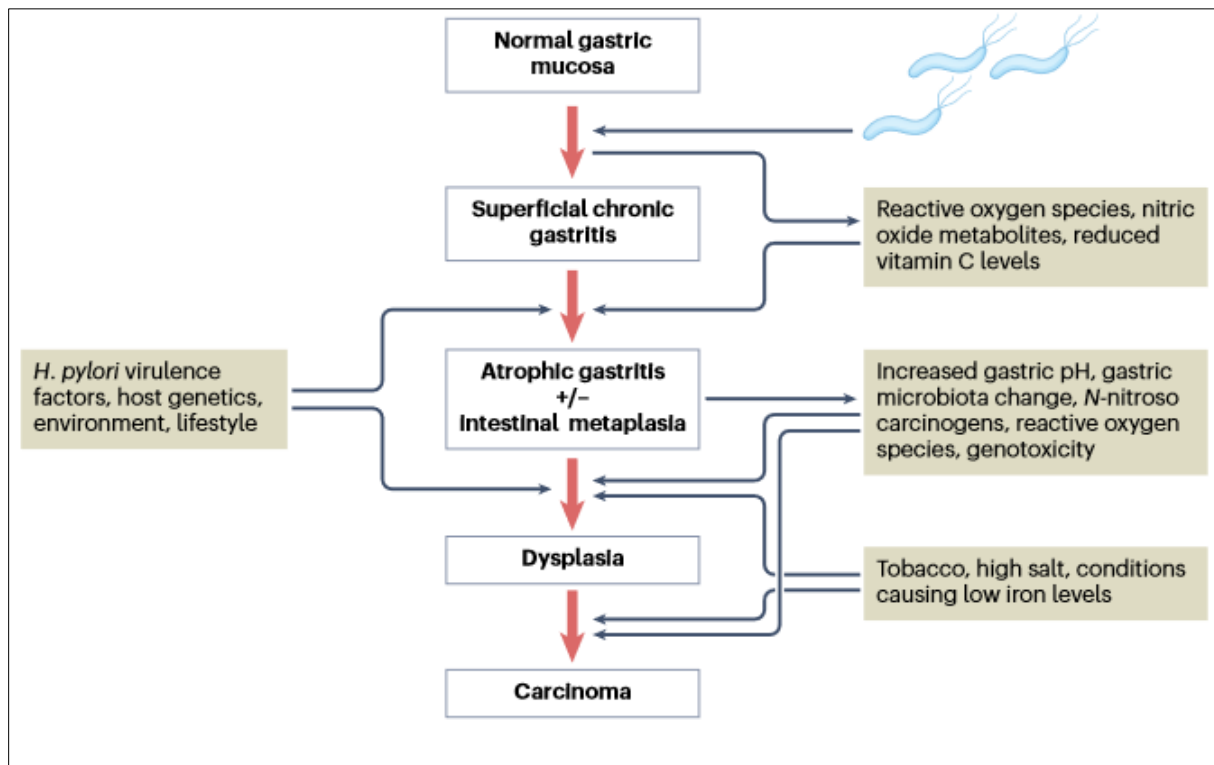


Figure 5 : Pathogenèse de l'adénocarcinome gastrique déclenchée par *H. pylori* (Malfertheiner et al., 2023)

Initiée par *Helicobacter pylori*, la gastrite chronique est associée à la génération d'espèces réactives de l'oxygène et de métabolites d'oxyde nitrique, et à une réduction des taux de vitamine C. Le risque de cancer gastrique est plus élevé chez les personnes infectées par des souches plus virulentes d'*H. pylori*, qui présentent des facteurs génétiques pro-inflammatoires de l'hôte, une mauvaise alimentation (riche en sel, aliments fumés), de faibles niveaux de fer, un mode de vie malsain et/ou le tabagisme. La perte d'acidité facilite la colonisation par le microbiote gastrique pro-inflammatoire nocif, qui peut à son tour produire davantage de métabolites génotoxiques pro-inflammatoires et de carcinogènes, qui agissent directement sur la transformation des cellules épithéliales malignes dans l'estomac.

3. Données bibliographiques sur le virus d'Epstein-Barr

3.1. Historique

En 1958, Denis Burkitt, un chirurgien anglais, décrit les caractéristiques cliniques et épidémiologique d'une tumeur du maxillaire supérieur, survenant chez des enfants d'Afrique de l'Est, et en rapport avec une prolifération de lymphocytes B (Burkitt, 1958). La distribution géographique de ce lymphome, dit de Burkitt et les conditions climatiques associées suggèrent une probable étiologie infectieuse (Burkitt 1962). En 1961, en assistant à

une conférence du chirurgien Burkitt à Londres, Michael Anthony Epstein s'intéressa à la recherche de ce « possible » agent infectieux sur des biopsies de tumeurs issues de ce lymphome. Après trois ans de recherches, Epstein et Yvonne établirent des lignées cellulaires in vitro issues de lymphomes de Burkitt (**Epstein et Yvonne, 1964**). En observant par microscopie électronique ces lignées, Epstein et son équipe identifièrent des particules virales (**Figure 6**) morphologiquement apparentées aux herpès virus nommé ainsi le virus d'Epstein-Barr (EBV) (**Epstein et al., 1965**).

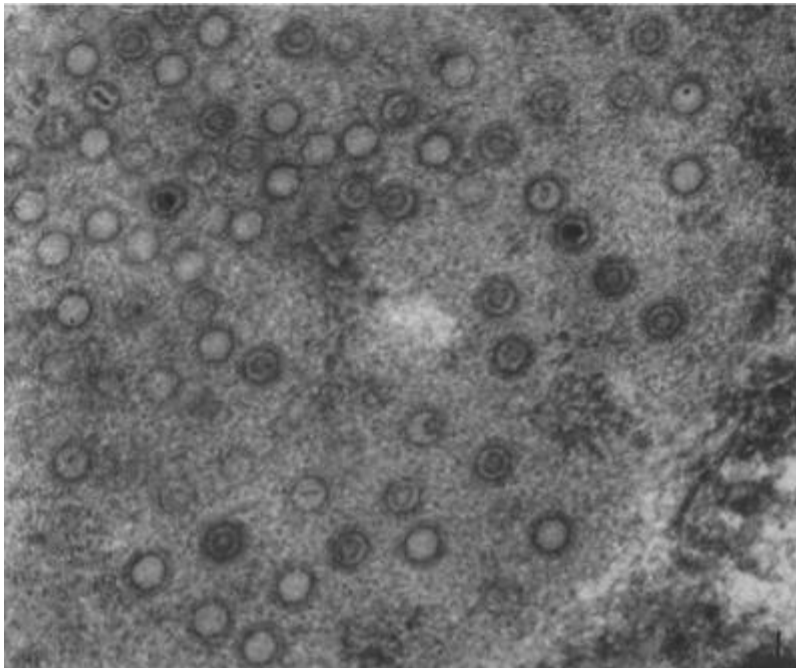


Figure 6 : Particules virales trouvées dans des lignées issues de lymphome de Burkitt en 1965 (**Epstein et al., 1965**)

3.2. Structure du virion d'EBV

Le virus d'Epstein-Barr (EBV), également appelé virus de l'herpès humain 4 (HHV-4), est membre de la famille des Herpesviridae (**Jassim et al., 2021**). Sa structure est donc semblable aux herpès virus (**Figure 7**), composé du centre vers la périphérie de :

- Un nucléole, comprenant le génome viral, un ADN double brin, linéaire, enroulé autour de protéines centrales ;
- Une nucléocapside icosaédrique d'environ 125 nm de diamètre ;

- Une couche de tégument protéique composée de protéines virales et cellulaires, sans structure particulière, séparant la capsid et l'enveloppe ;
- Une enveloppe lipidique dérivée de membranes de la cellule infectée, recouvrant le virus, et composée de plusieurs glycoprotéines virales dont gp 350 / 220, gH, gB et gp 42 qui jouent un rôle dans le tropisme cellulaire et la reconnaissance des récepteurs (**Liu et al., 2020 ; Bu et al., 2022**).

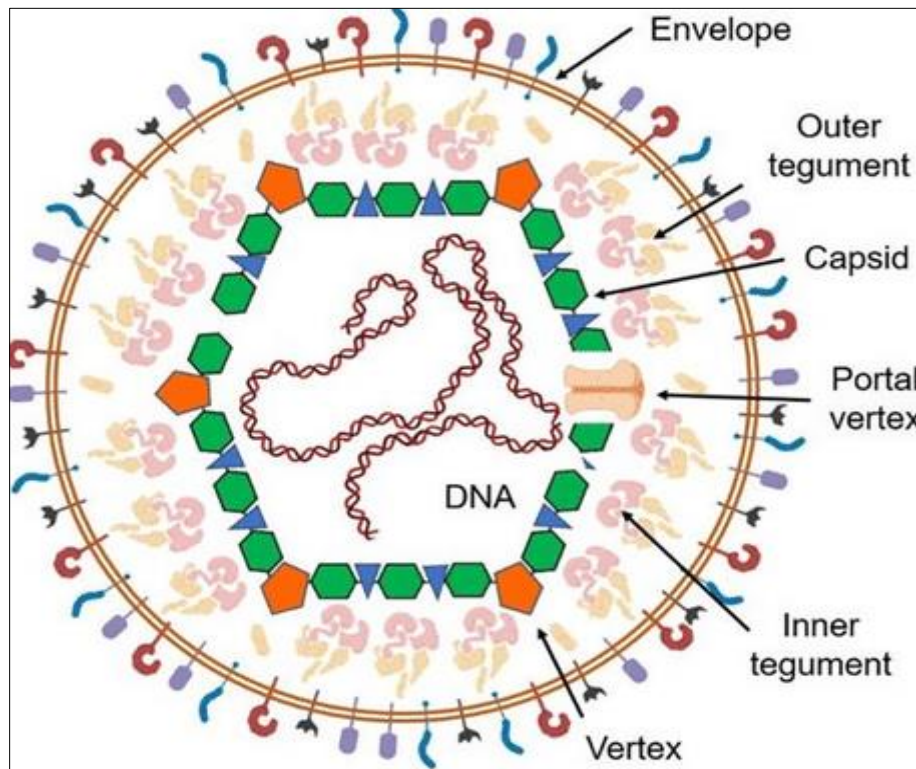


Figure 7 : Représentation schématique de la structure d'EBV (**Zavala-Vega et al., 2019**).

La plupart des génomes de lymphocryptovirus, y compris l'EBV, ont des caractéristiques et une organisation génétiques similaires. Le génome de l'EBV contient plusieurs répétitions terminales (TR) de 0.5 kilo de base (kb) aux extrémités, médiatisant sa circularisation pendant l'infection afin de faciliter sa persistance sous forme d'épisome (**Nagaraju, 2020 ; Farrell et White, 2021**). Le génome viral, mesurant 172 kb, contient également plusieurs répétitions internes de 3 kb. Il comprend environ 85 gènes codant pour des protéines et 45 gènes d'ARN fonctionnels, ces derniers jouent un rôle dans la transformation et la prolifération cellulaires (**Hang et al., 2022**). L'EBV est le premier virus de l'herpès dont le génome a été séquencé au complet (**Baer et al., 1984**) et son génome compte pour l'un des plus grands génomes parmi les *Herpesviridae* humains (**Hang et al., 2022**).

3.3. Classification

La famille des *Herpesviridae*, qui appartient à l'ordre des *Herpesvirales*, est une large famille de virus à ADN double brin. Les hôtes naturels des membres de la famille des *Herpesviridae* sont les mammifères, les oiseaux et les reptiles, qui diffèrent des autres membres de l'ordre tels que les *Alloherpesviridae* et les *Malacoherpesviridae*, qui infectent respectivement les poissons et les grenouilles ou les mollusques. Les membres de la famille des *Herpesviridae* sont classés selon la séquence du génome et la biologie, en trois groupes : *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* et *Gammaherpesvirinae* (**Figure 8**). Chaque virus possède un nom standard (HHV-n) et un nom usuel (**Jassim et al., 2021 ; Biswas et Kansal, 2023**).

Les membres de la sous-famille des *Alphaherpesvirinae*, qui incluent les virus Herpès simplex (HSV) 1 et 2, rapidement disséminés en culture cellulaire, ont une gamme d'hôte variable et un cycle de reproduction court.

Les membres de la sous-famille des *Betaherpesvirinae*, tels que le cytomégalovirus (CMV), sont définis par une propagation lente en culture cellulaire, caractérisés par un long cycle de reproduction et sont limité aux mammifères. La sous-famille des *Gammaherpesvirinae* qui incluent l'EBV, ont une gamme d'hôtes restreinte à un ordre taxonomique ou une famille spécifique. Ses membres sont en grande partie des virus lymphotropes, qui peuvent se répliquer dans les cellules lymphoblastoïdes, en plus des cellules épithéliales et fibroblastiques *in vitro*. Cette sous-famille est composée de quatre genres : Lymphocryptovirus (LCV), Rhadinovirus (RDV), Percavirus et Macavirus. L'EBV est le seul membre du genre des LCV qui infecte les humains, vu que les autres membres infectent les primates. Les Gamma-herpès virus ont la capacité d'établir des infections latentes, à vie, pouvant conduire au développement de tumeurs malignes (**Smirnova et al., 2020 ; Parija, 2023**). Sur environ 140 herpès virus, seulement 08 infectent les humains, et la gravité de l'infection varie de l'état asymptomatique à l'état cancéreux (**Feyzioglu et Ezer, 2023**).

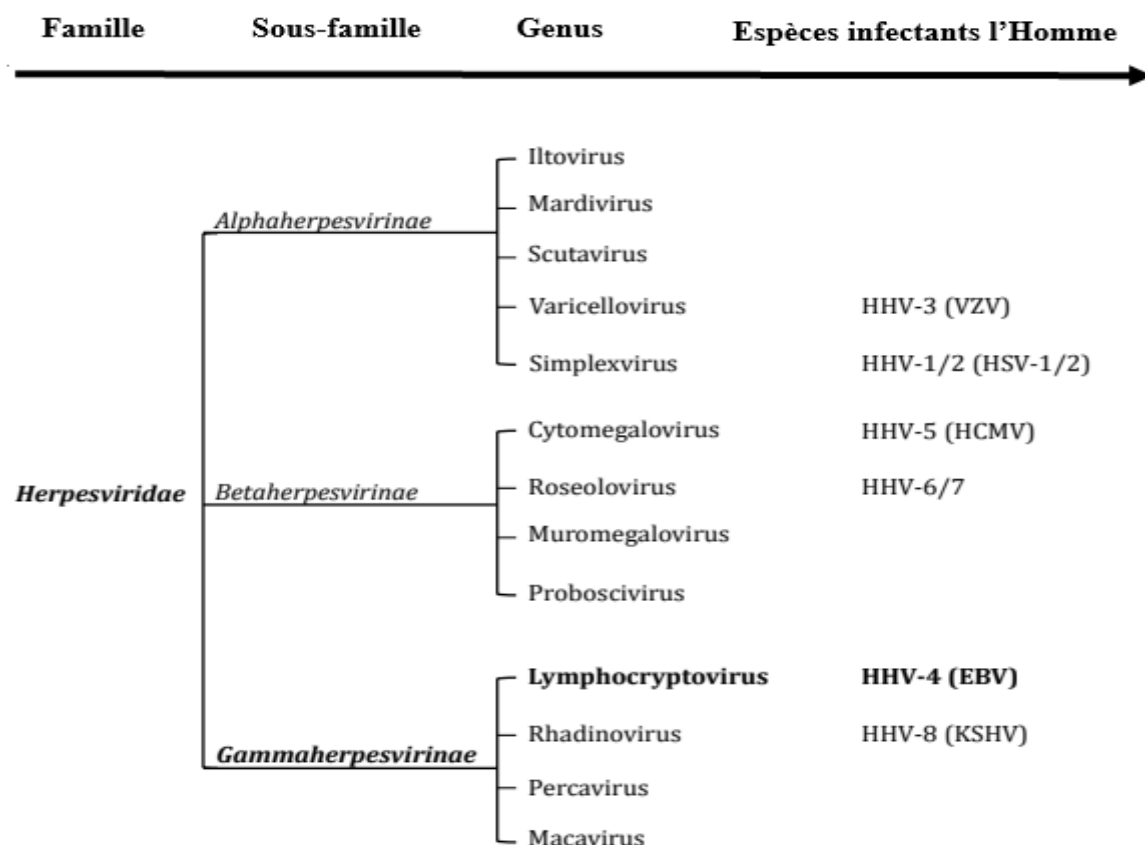


Figure 8 : Taxonomie de la famille des *Herpesviridae*.

Selon la classification des *Herpesviridae* par le Comité International de Taxonomie des Virus (Parija, 2023)

3.4. Caractéristiques épidémiologiques

L'EBV a été divisé en deux types principaux, EBV-1 / EBV-A et EBV-2 / EBV-B, qui présentent une distribution géographique distincte. En effet, l'EBV-1 / EBV-A est le type le plus fréquent dans le monde tandis que l'EBV-2 / EBV-B est plus caractéristique de l'Afrique (Niya et al., 2020). Ces variantes montrent des différences entre les antigènes nucléaires EBNA 2, 3A, 3B, 3C, bien que la variation la plus marquante est celle du gène codant pour l'EBNA 2, avec seulement 50 % de similitude (Khalil et al., 2020). L'EBV a été le premier virus, candidat, à être associé à une tumeur humaine, en raison de sa capacité à transformer les lymphocytes humains fœtaux en cellules à profération continue (Henle et al., 1967 ; Pope et al., 1968). Les tests sérologiques ont révélé que l'EBV ne se limitait pas géographiquement aux zones d'endémie du lymphome de Burkitt, telle que l'Afrique subsaharienne, mais était

répandue dans toutes les populations testées, à noter que la prévalence augmente avec l'âge (Kumar *et al.*, 2020 ; Diakite *et al.*, 2023).

3.5. Transmission, tropisme cellulaire et infection à l'EBV

Les protéines du tégment viral sont libérées dans le cytoplasme en tant que molécules effectrices préformées pour preconditionner les cellules avant l'expression du gène viral (Nanbo *et al.*, 2018). La nucléocapside est transportée vers le pore nucléaire et l'ADN génomique viral est libéré dans le noyau, où il est maintenu en tant qu'épisome stable (Moquin *et al.*, 2018).

Outre les cellules B, l'EBV est également associé à des infections de cellules épithéliales (Figure 9), le virus étant capable d'infecter une variété de tissus, allant de l'épithélium gastrique à l'épithélium nasopharyngé. Les mécanismes d'entrée sont différents, selon que l'EBV infecte les cellules B ou les cellules épithéliales (Chen et Longnecker, 2019).

L'EBV se transmet à un nouvel hôte par la salive. En infectant les cellules B, l'EBV entraîne leur prolifération et permet leur différenciation en cellules mémoires B infectées, où le génome de l'EBV est maintenu de manière latente sous forme d'épisome. Pour que l'EBV infecte les cellules B, il doit transloquer l'épithélium amygdalien (Smatti *et al.*, 2018). Il n'est donc pas certain que les cellules B ou l'épithélium soient la cible initiale de l'infection. L'infection des cellules épithéliales par l'EBV se produit lorsque l'EBV établit des sites de réplication lytique dans l'épithélium amygdalien ou après réactivation de l'EBV dormant (Pich *et al.*, 2019).

Le modèle classique de l'excrétion de l'EBV implique généralement la réactivation de cellules mémoires B infectées par l'EBV, leur migration vers l'oropharynx, la libération de virions infectieux dans la salive pour permettre la transmission de l'EBV à un nouvel hôte. Lors des études effectuées sur ce « modèle classique », il a été constaté qu'il était beaucoup plus complexe qu'on ne le pensait à l'origine, les cellules épithéliales étant désormais considérées comme jouant un rôle important. En effet, la libération de l'EBV a été démontrée en l'absence de cellules B, il est ainsi probable que les niveaux d'excrétion virale ne puissent pas être attribués aux cellules B, lytiquement actives, seules (Pich *et al.*, 2019).

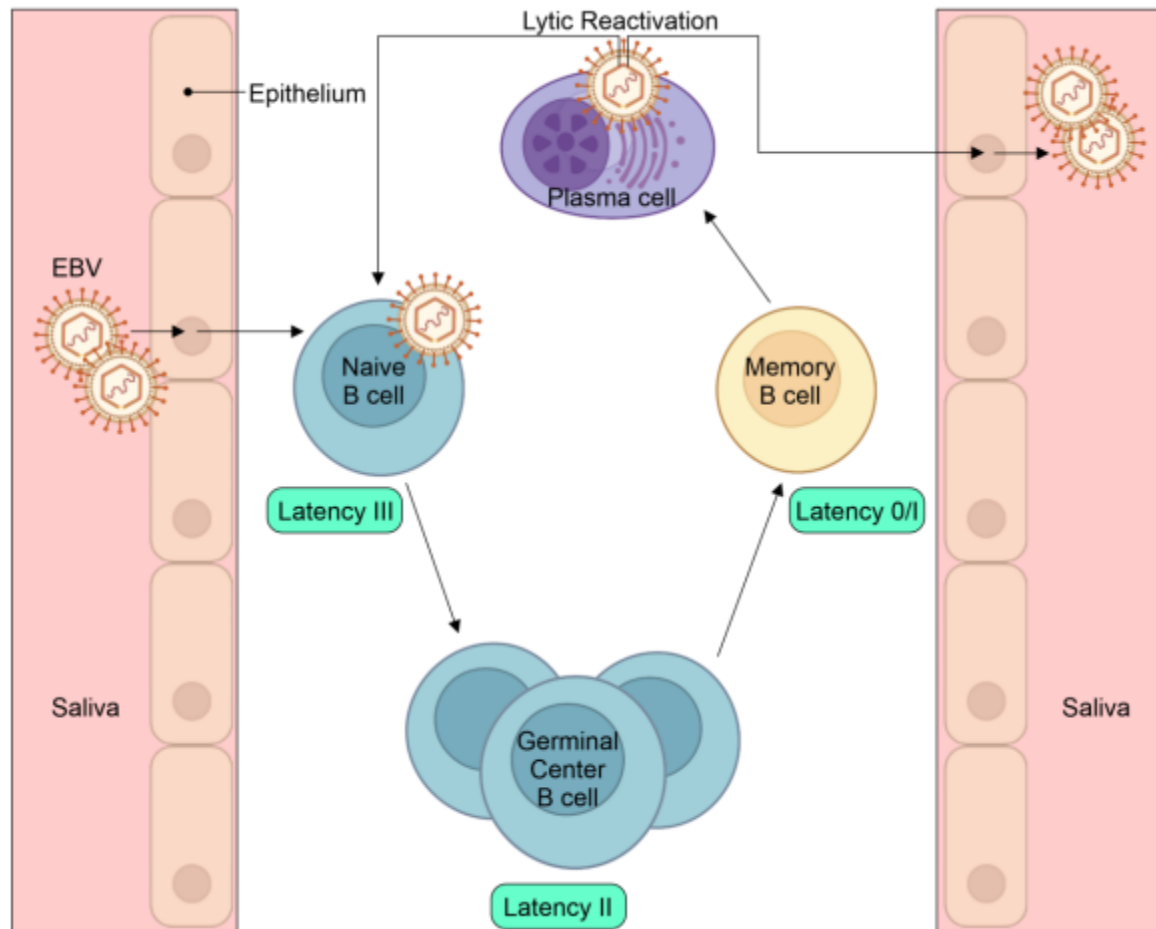


Figure 9 : Infection des deux types cellulaire (cellules B et cellules épithéliales) après transmission salivaire de l'EBV (Salnikov, 2023).

- Lymphocytes B

Dans les cellules B, le virus pénètre par endocytose, une première interaction se produit entre la glycoprotéine principale de l'enveloppe virale (gp 350/220) et le récepteur CD 21 spécifique des cellules B (Dunnire et al., 2018). Toutefois, il a été mentionné que l'entrée dans la cellule est médiée par d'autres glycoprotéines virales (gp 42, gH, gL et gB) qui interagissent également avec la membrane de la cellule hôte. La gp42 se lie au HLA de classe II des cellules B, cette action est achevée par la liaison au complexe gH/gL, qui modifie la forme conformationnelle de la gp42 (Pich et al., 2019). Cette indispensable interaction entre le complexe hétérodimère gH-gL de l'EBV et la membrane endosomale des cellules B, assure la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane des LB, permettant la libération de la capsid virale dans le cytoplasme, elle est ensuite transportée sur des microtubules jusqu'au noyau, où par le biais du pore nucléaire. Une fois dans le noyau, le génome de l'EBV se

circularise en épisome et est maintenu sous cette forme (**Moquin et al., 2018 ; Nanbo, 2020 ; da Silva et Naghavi, 2023**).

- **Cellules épithéliales**

L'absence de CD21 dans certaines cellules a conduit à l'étude d'autres mécanismes possibles expliquant l'entrée de l'EBV, notamment dans les cellules épithéliales. L'un d'entre eux est expliqué par l'enrobage du virus d'immunoglobuline A (IgA), ou par l'interaction entre les complexes gH/gL avec des molécules spécifiques présentes dans les cellules épithéliales : les intégrines (**Bu et al., 2022**). Des expériences menées sur de petits ARN interférents (siRNA), petits ARN en épingle à cheveux (shRNA) et CRISPR-Cas9, à l'aide des différentes lignées cellulaires épithéliales (HNE1-EGF, CNE2-EGF, AGS et HEK-293), ont permis de découvrir que le « knockdown » du récepteur tyrosine kinase, le récepteur Ephrin A2 (EphA2), couramment exprimé sur les cellules basales de la muqueuse de la langue, a fortement altéré l'infection et la fusion de l'EBV (**Chen et al., 2018 ; Zhang et al., 2018 ; De Re ; 2020**).

Les virions de l'EBV contiennent des complexes composés de gH-gL-gp42 et de gH-gL leur permettant d'infecter à la fois les lymphocytes B et les cellules épithéliales. Par ailleurs, la teneur en glycoprotéines de l'enveloppe virale varie en fonction de la cellule hôte, supportant le modèle du double tropisme (**Figure 10**). Ainsi, la gp42 est considérée comme la protéine aiguillant le tropisme cellulaire d'EBV (**Bu et al., 2024**). En outre, l'EBV est associé à la fois aux lymphomes et les carcinomes, indiquant les rôles des lymphocytes B et des cellules épithéliales dans l'infection à l'EBV (**Damania et al., 2022**).

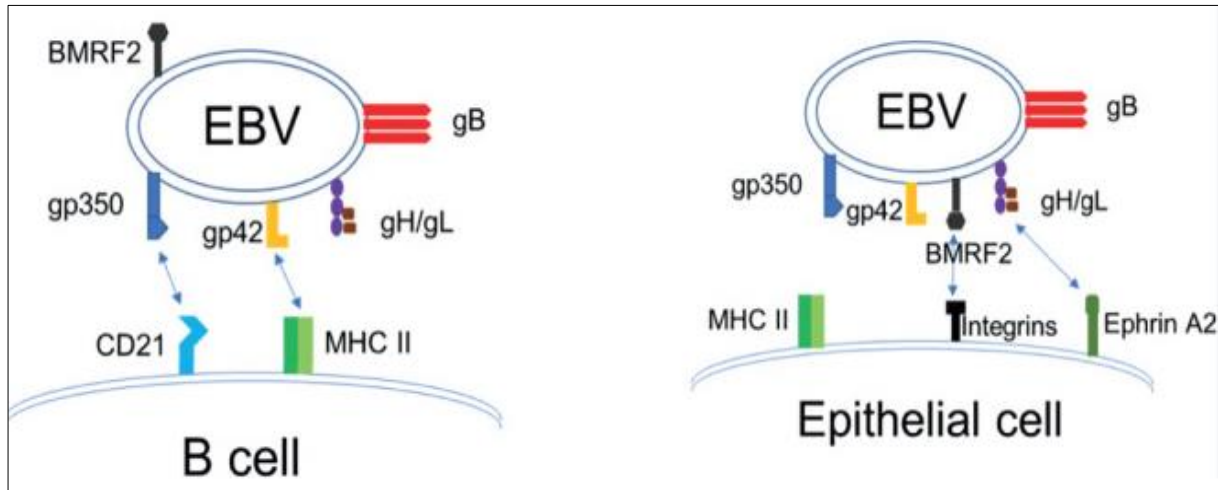


Figure 10 : Entrée de l'EBV dans les cellules cibles (Cui et Snapper, 2021).

3.6. Cycle de vie de l'EBV

Le cycle de l'infection par l'EBV comprend une phase lytique et une phase latente qui décrit une infection. L'infection latente est plus avantageuse pour le virus, car elle persiste pendant de longues périodes puisqu'il exprime un ensemble limité de gènes latents qui peuvent être reconnus par le système immunitaire de l'hôte (Damania et al., 2022).

3.6.1. Infection lytique

Au cours d'une infection lytique, l'EBV exprime près de 100 protéines, qui jouent un rôle essentiel dans la réplication virale, la formation de virions ainsi que la modulation de la réponse immunitaire de l'hôte. Le cycle lytique entraîne la production de particules virales infectieuses, à la fois, après l'infection initiale dans les cellules oropharyngées et, après la réactivation à partir de cellules infectées de façon latente (Bu et al. 2022). Lors de l'induction du programme lytique, deux gènes lytiques clés de l'EBV, immediate-early (IE), (BZLF1 et BRLF1), sont exprimés. Les gènes BZLF1 et BRLF1 codent pour des trans-activateurs capables d'activer des promoteurs viraux et certains promoteurs cellulaires, déclenchant une cascade coordonnée d'expression de gènes viraux. Les gènes précoces (E) de l'EBV sont impliqués dans la réplication et le métabolisme de l'ADN, tandis que l'expression des gènes tardifs (L) est associée aux protéines de structure viraux (Germini et al., 2020).

3.6.2. Infection latente

Pendant la phase de latence, l'EBV reste de manière persistante dans les cellules infectées et l'ADN viral présent dans le noyau acquiert une forme épisomale ou intégrée par

fusion des répétitions terminales (TR, structures répétitives de 500 pb) aux deux extrémités (Guo et Gewurz, 2022 ; Kong et Giulino-Roth, 2024). Les répétitions terminales d'EBV ont une structure spécifique qui contribue à l'évaluation des clones d'EBV, l'intégration virale et l'état de l'activation virale (Guo et Gewurz, 2022). La réplication se produit en synchronisation avec le génome de l'hôte (phase S), puis le génome de l'EBV est livré aux cellules filles en mitose (De Leo, 2020).

L'infection latente est caractérisée par un ensemble limité de gènes viraux qui conduisent à l'expression de six protéines nucléaires : EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C, la protéine leader EBNA (EBNA-LP), et deux protéines membranaires latentes : LMP1, LMP2. En outre, les ARN EBRER non polyadénylés et les transcriptions à droite de la région BamHI A (BARTS) peuvent également être détectés (Weidner-Glunde et al., 2020 ; Zuo et al., 2023). L'expression des gènes latents de l'EBV peut affecter le cycle cellulaire, l'apoptose, en contribuant à l'initiation et à la propagation de la tumeur (Kong et Giulino-Roth, 2024). Selon le modèle d'expression (Tableau I), la latence peut être classée en trois types (I, II, III), suggérant que l'EBV peut affecter la croissance cellulaire de différentes manières.

Tableau I : Profil de latence de l'EBV en fonction de l'expression génique latente et des malignités associées. LB : lymphome de Burkitt ; CG : carcinome gastrique ; LH : lymphome hodgkiniens ; CNP : carcinome du nasopharynx ; DLPT : troubles lympho-prolifératifs post-transplantation.

(Damania et al., 2022).

Type de latence	Expression des gènes latents d'EBV						Tumeurs associées
	EBERs BART's	EBNA1	LMP1	LMP2A	EBNA2	EBNA3s/EBNA-LP	
I	+	+	-	-	-	-	LB, CG
II	+	+	+	+	-	-	LH, CNP
III	+	+	+	+	+	+	DLPT

Malgré l'existence de trois modèles de latence, tous les EBNA ne sont exprimés en latence III que par épissage différentiel à partir d'un grand ARNm primaire. L'expression complète des antigènes nucléaires est obtenue grâce à l'activation initiale du promoteur Wp,

responsable de l'expression des EBNA2 et EBNA-LP suite à l'activation du promoteur Cp, capable d'exprimer les autres protéines nucléaires (EBNA1, 3A, 3B) ainsi que les transcrits initiés par Wp décrits ci-dessus. Qp est un autre promoteur qui n'est normalement pas activé en latence III. Cependant, dans les latences I et II, il est actif pour promouvoir uniquement l'expression d'EBNA1 (**Kong et Giulino-Roth, 2024**). EBNA-1 contribue au maintien et à la réplication du génome épisomal de l'EBV par une liaison spécifique à l'origine du plasmide (OriP). En outre, EBNA-1 interagit avec des promoteurs viraux contribuant à la régulation transcriptionnelle d'autres EBNA (y compris EBNA1 lui-même) et du LMP-1. EBNA-2 et LMP-1 sont des protéines essentielles pour la croissance et la transformation des cellules B et des cellules épithéliales. EBNA2 est une protéine impliquée dans la transactivation des gènes cellulaires et viraux. Elle régule l'expression de certains antigènes des cellules B tels que CD21 et CD23 ainsi que les protéines virales LMP1 et LMP2. La LMP-1 induit l'expression de molécules d'adhésion cellulaire, de cytokines, de protéines anti-apoptotiques ainsi que l'activation de facteurs de transcription qui conduisent à une prolifération cellulaire incontrôlée (**Yetming et al., 2020 ; Murata et al., 2021 ; Kimura et Murata, 2023 ; Zhang et al., 2023**).

Etant l'objet d'une partie de nos travaux, cette section est consacrée à un rappel bibliographique sur la protéine membranaire latente 1 (LMP 1).

3.6.2.1. Protéine membranaire latente 1 (LMP 1)

- Structure de la LMP 1

LMP-1 est une protéine transmembranaire de 63kD composée de 3 domaines (**Figure 11**), une courte queue cytoplasmique N-terminale (acides aminés (aa) 1-23), six boucles transmembranaires hydrophobes (TM 1-6) (aa 24-186) et un domaine de signalisation C-terminal (aa 186-386). Les domaines N-terminal et C-terminal sont tous deux situés dans le cytoplasme. Le domaine N-terminal oriente et attache la protéine LMP-1 à la membrane plasmique, tout en régulant la dégradation et le renouvellement de LMP-1 (**Banko et al., 2021 ; Wang et Ning, 2021**). Les domaines transmembranaires sont impliqués dans l'auto-agrégation, l'oligomérisation et la signalisation. Le domaine C-terminal est impliqué dans la plupart des activités de signalisation de LMP-1. Il contient deux sites effecteurs CTAR1 et CTAR2, essentiels à la fois pour la transformation des cellules B et la croissance à long terme des cellules B infectées par l'EBV (**Salam et al., 2023**).

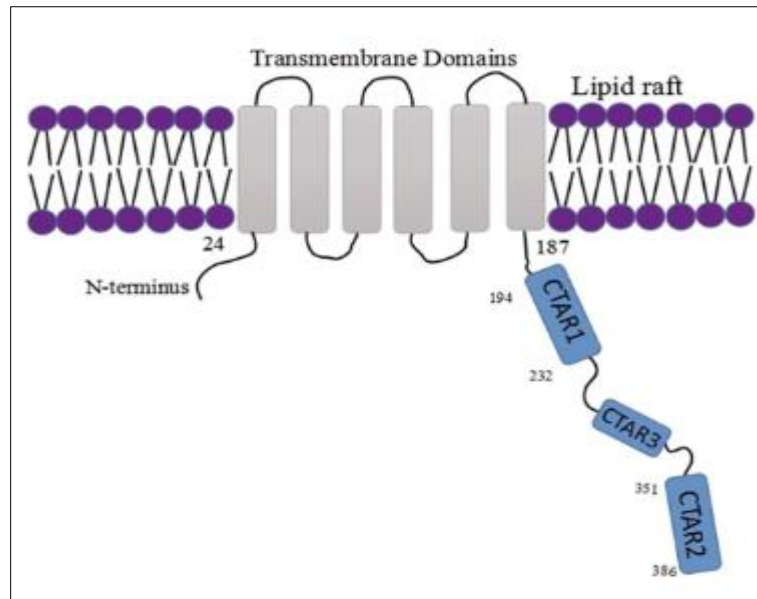


Figure 11 : Structure de la LMP 1 (Wei *et al.*,2019)

- Fonction de la LMP-1

La LMP-1 est exprimée à la fois dans les cellules B et les cellules épithéliales et, est donc présente dans les LCL et dans diverses tumeurs malignes associées à l'EBV, comme les lymphomes de Hodgkin (LH) et les carcinomes du nasopharynx (CNP) indifférenciés, mais pas les lymphomes de Burkitt (LB) ni tous les carcinomes gastriques (CG). L'expression de LMP-1 peut être initiée par deux promoteurs, un promoteur proximal localisé dans le fragment N de BamHI, et un promoteur distal localisé dans la première répétition terminale de l'EBV (TR-L1) (Aye *et al.* 2020 ; Chen *et al.*, 2022)

LMP-1 est exprimé à la fois pendant la latence III et II ; son expression dans la latence III est induite par l'EBNA-2 alors qu'elle est indépendante de l'EBNA-2 en latence II (Cohen, 2020 ; Damania *et al.*, 2022). La LMP-1 agit comme un récepteur constitutivement actif qui imite les signaux CD40 conduisant à l'activation des voies NF- κ B, JNK et p38 *in vivo* et *in vitro*. L'activation de la voie NF- κ B produit des signaux essentiels de transformation des cellules B (Kuhn *et al.* 2022).

En outre, la LMP-1 régule les gènes anti-apoptotiques (bcl-2) (Zeng *et al.*, 2020 ; Zeiny *et al.*, 2021) qui, en coopération avec la LMP-2, peut fournir des signaux de type BCR (Fish *et al.*, 2020), entraîne la survie des cellules B. L'induction par la LMP-1 de C-Myc et du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF-R) (Peng *et al.* 2021), favorise la prolifération et la progression du cycle cellulaire des cellules B (Mitra *et al.*, 2023), tandis

que l'activation par la LMP-1 des voies p16INK4a/Rb, JNK et P13K/AKT entraîne une activation accrue des télomères nécessaires à l'immortalisation des cellules (**Sorrenti et al., 2023**).

3.7. Pathologies associées à l'EBV

Outre la mononucléose infectieuse, qui dans la plupart du temps est bénigne, touchant les adolescents et jeunes adultes, l'infection par l'EBV a été associée de manière causale à plusieurs tumeurs malignes épithéliales, notamment le carcinome nasopharyngé (CNP), le carcinome gastrique (CG) et le carcinome de type lymphoépithéliome (LELC), qui peuvent se manifester dans tout l'organisme. Les cancers épithéliaux associés à l'EBV représentent environ 80 % de toutes les tumeurs malignes associées à l'EBV. Plus précisément, le CNP et le CG associé à l'EBV (EBVaGC) représentent 80 000 et 83 000 cas par an dans le monde, respectivement (**Shannon-Lowe et Rickinson ; 2019**), notant que le virus contribue à 1,5 % de tous les cas de cancer humain dans le monde (**Farrell, 2019**).

Les tumeurs malignes épithéliales associées à l'EBV sont des tumeurs moléculairement et histologiquement uniques et présentent typiquement une infiltration lymphocytaire intense (**Shechte et al., 2022**). L'EBV code pour un certain nombre de miARN et d'ARNm associés à la latence, dont beaucoup ont la capacité de transformer les cellules et d'induire leur prolifération (**De Re et al., 2020 ; Fierti et al., 2022**).

Outre les cancers associés aux cellules B, l'EBV est également associé à des maladies lymphoprolifératives des cellules T, B et NK, souvent chez des personnes immunodéprimées, généralement à la suite d'une intervention chirurgicale ou à des stades avancés du sida (**Shindiapina et al., 2020**).

De manière unique, l'EBV peut induire une réponse antitumorale via une présentation accrue des antigènes viraux et associés à la tumeur sur le CMH-I et -II, ainsi qu'une expression accrue des molécules co-stimulantes, renforçant ainsi les réponses des cellules T cytotoxiques (**Choi et al., 2021**).

Dans les tissus sains, la prolifération se produit principalement dans les cellules peu différenciées en transit, mais dans la gastrite atrophique chronique, les cellules matures peuvent réintégrer le cycle cellulaire, se trans-différencier et remplacer les cellules qui meurent. Il est donc possible que l'infection par l'EBV puisse se produire dans des types de cellules matures qui prolifèrent dans l'intestin d'un patient souffrant de gastrite, de dysplasie ou d'un cancer du sein. Cet enchaînement est appelé "séquence gastrite-infection-cancer" (**Figure 12**) et postule que le développement d'une infection EBV latente et la prolifération

tumorigène peuvent se produire dans les cellules matures de l'intestin, et la croissance tumorigène ne peuvent se produire qu'après que plusieurs autres effets oncogènes se sont déjà produits, rendant l'épithélium plus sensible à l'infection (Stanland et Luftig, 2020).

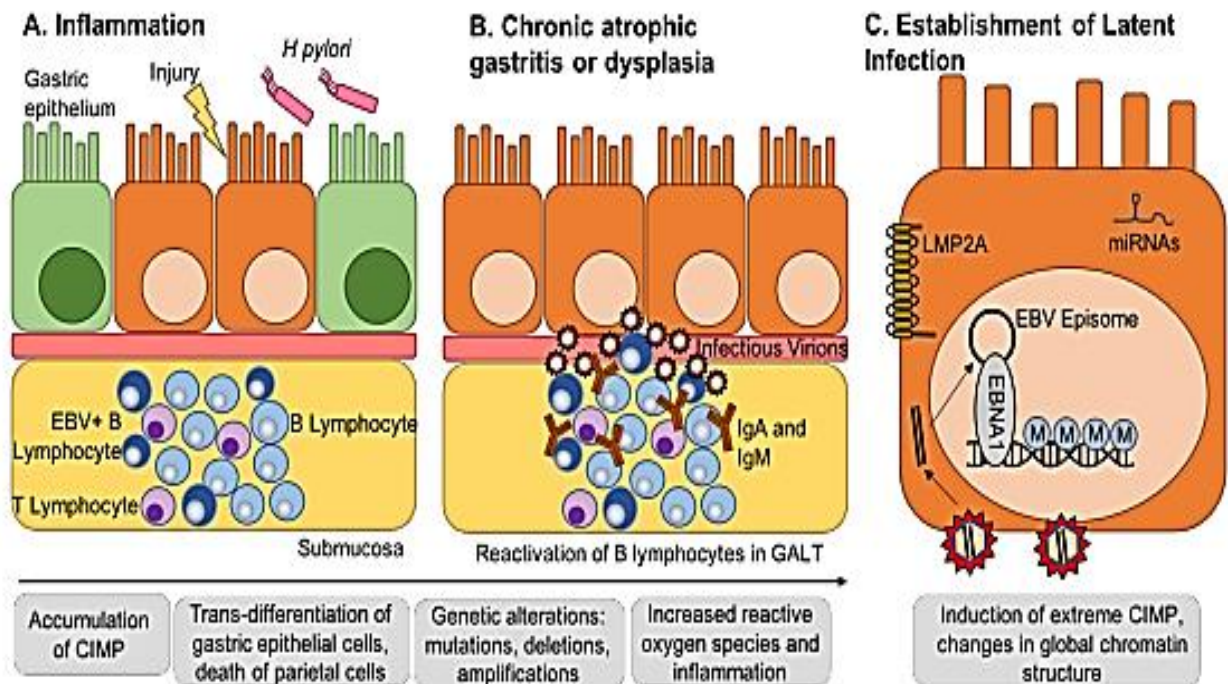


Figure 12 : Séquence gastrite-infection-cancer du cancer gastrique associé à l'EBV (Stanland et Luftig, 2020)

(A) L'inflammation locale peut être causée par de nombreux facteurs, dont l'infection par *H. pylori* ou une lésion locale. Une inflammation prolongée entraîne une gastrite chronique et le recrutement de lymphocytes dans le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) dans la sous-muqueuse.

(B) La gastrite chronique peut évoluer vers une métaplasie ou une dysplasie intestinale caractérisée par l'accumulation de CIMP (CpG island hypermethylator phenotype) et la trans-différenciation des cellules épithéliales gastriques matures. Les lymphocytes B infectés par l'EBV se réactivent pour produire des virions infectieux ayant accès à la surface basolatérale de l'épithélium. Les lymphocytes B normaux peuvent également se réactiver et produire des IgA et des IgM, dont il a été démontré qu'elles facilitent l'attachement de l'EBV aux cellules épithéliales.

(C) L'EBV pénètre dans les cellules épithéliales et y établit une infection latente. Les protéines de latence de l'EBV et les miARN régulent les facteurs de méthylation et induisent une méthylation de novo dans le génome de l'hôte, entraînant la transformation.

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Objectifs

Les pathologies gastriques, en particulier le cancer gastrique, représentent un défi majeur de santé publique, tant en Algérie qu'en Afrique. L'infection chronique à *Helicobacter pylori* et le rôle oncogénique du virus Epstein-Barr (EBV) dans certaines formes de cancer gastrique nécessitent une attention particulière. Cette étude a pour objectif d'examiner l'implication de ces deux agents infectieux dans les pathologies gastriques. La première phase de l'étude a porté sur 889 cas de patients suivis au CHU de Tizi Ouzou entre 2016 et 2019, afin d'étudier le lien entre *H. pylori* et les pathologies gastriques. La seconde phase a concerné 31 cas pour la détection de la protéine LMP-1, associée à l'infection par EBV. Les objectifs spécifiques sont d'étudier l'implication de *H. pylori* dans les pathologies gastriques, d'analyser les lésions histologiques correspondantes, et d'évaluer la présence de la protéine LMP-1 chez les patients non infectés par *H. pylori*. Cette recherche vise à améliorer les stratégies de prévention, de diagnostic et de traitement des pathologies gastriques.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

2.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est constitué de **prélèvements tissulaires gastriques**, provenant soit de **biopsies endoscopiques**, soit de **pièces de gastrectomies partielles**, obtenues dans un cadre clinique hospitalier. Ces prélèvements ont été réalisés par des professionnels de santé dans le cadre du diagnostic ou du suivi de diverses pathologies gastriques.

Les biopsies sélectionnées sont d'une **taille suffisante** (entre **0,5 et 1 cm**), permettant une étude conjointe de l'**épithélium gastrique** et du **chorion sous-jacent**, éléments nécessaires pour une évaluation histopathologique et immunohistochimique complète.

- **Fixation et préparation des échantillons**

Tous les prélèvements ont été rapidement fixés dans une solution de **formol tamponné à 10 %** (équivalent à 4 % de formaldéhyde) pour une durée optimale de **24 heures**. Le volume de fixateur utilisé respecte les recommandations standards, à savoir un ratio de 10:1 entre le volume de fixateur et le volume du tissu (**Bancroft et Gamble, 2008**).

Cette fixation permet de **préserv**er les **structures cellulaires** en stabilisant les protéines via des liaisons méthylène, empêchant ainsi l'autolyse enzymatique et la prolifération bactérienne (Fox *et al.*, 1985).

La fixation au formaldéhyde joue également un rôle clé dans la **préservation des antigènes**, essentielle pour les techniques **d'immunohistochimie** (IHC), notamment pour la détection de *Helicobacter pylori* et de la protéine **LMP1** exprimée par le **virus d'Epstein-Barr (EBV)** (Brooks *et al.*, 2024).

Après fixation, les tissus sont inclus en paraffine, coupés en sections de 3 à 5 μm d'épaisseur, puis colorés ou traités par IHC selon les objectifs de l'étude.

- **Origine des échantillons et méthode d'échantillonnage**

L'étude comprend deux volets distincts, chacun répondant à des objectifs et à une méthode d'échantillonnage spécifiques :

— **Étude rétrospective sur *Helicobacter pylori***

Ce volet repose sur une **approche épidémiologique rétrospective**, fondée sur la revue de dossiers médicaux de patients pris en charge à l'hôpital durant une période déterminée. Les échantillons analysés proviennent de **biopsies gastriques réalisées dans un cadre clinique courant**, dans un but diagnostique ou de suivi post-thérapeutique.

La sélection des cas s'est faite selon un **échantillonnage non probabiliste consécutif**, basé sur la disponibilité des données et la présence de prélèvements exploitables. Cette méthode est couramment utilisée dans les études hospitalières rétrospectives, permettant une exploitation efficace des données existantes malgré ses limites en termes de généralisation (Newman *et al.*, 2013).

Les patients inclus présentaient au moins un des éléments suivants :

- Signes cliniques évocateurs d'une infection à *H. pylori* (épigastralgie, pyrosis, vomissements, anémie, maladie de Biermer, déficit en vitamine B12...)
- Découverte de polypes gastriques à l'endoscopie
- Suivi de traitement pour évaluation de l'éradication de l'infection

Les échantillons relatifs à *H. pylori* ont été recueillis et analysés au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tizi-Ouzou.

— Étude ciblée sur le virus Epstein-Barr (EBV)

Pour ce second volet, l’auteure a effectué un **échantillonnage raisonné (ou par jugement)**, fondé sur une sélection stricte d’échantillons correspondant à un **profil biologique précis**, avec pour objectif d’évaluer l’implication de l’EBV dans la carcinogénèse gastrique **en l’absence d’infection à *H. pylori***.

Les échantillons ont été sélectionnés à partir des archives sur la base des critères suivants :

- Présence de **lésions gastriques précancéreuses ou cancéreuses**
- **Absence confirmée d’infection à *Helicobacter pylori*** (d’après les résultats histologiques ou données cliniques)
- **Aucun antécédent de pathologie maligne liée à l’EBV**, telles que le **carcinome du nasopharynx** ou le **lymphome de Burkitt**
- **Pas d’antécédent de greffe d’organe récente**, afin d’éviter les biais liés à l’immunosuppression.

Pour répondre aux exigences rigoureuses de la sélection, ce protocole a impliqué la collecte d’échantillons dans trois wilayas distinctes (Alger, Tizi-Ouzou et Sétif). Ce recours à plusieurs sites a permis d’identifier un nombre suffisant de cas conformes aux critères établis, garantissant ainsi la constitution d’un groupe homogène et assurant une meilleure représentativité du groupe, propice à l’analyse isolée du rôle potentiel de l’EBV, sans interférence de cofacteurs connus (**Patino et Ferreira, 2018**).

- Critères d’exclusion généraux

Quel que soit le groupe étudié, les échantillons suivants ont été exclus de l’analyse :

- Fragments **non représentatifs** ou de **taille insuffisante**
- **Tissus mal fixés**, nécrosés ou présentant des signes d’autolyse
- Échantillons **contaminés**, rendant l’analyse immunohistochimique impossible ou non fiable.

2.1.2. *Matériel technique et réactifs*

Le matériel technique utilisé (microscope, microtome ... etc.) ainsi que l’ensemble des réactifs, anticorps, colorants et milieux de montage sont présentés en détail en **annexe II**.

2.2.Méthodes

2.2.1. Méthodes anatomo-pathologiques

L'étude anatomo-pathologique repose sur une série d'étapes standardisées allant de l'analyse macroscopique des pièces à leur examen histologique au microscope optique, en passant par la fixation, la déshydratation, l'inclusion, la coupe et la coloration des tissus. Ces techniques visent à conserver et révéler les structures morphologiques et cellulaires nécessaires à l'interprétation diagnostique et à l'analyse immunohistochimique.

A. Étude macroscopique

L'examen macroscopique constitue la **première étape fondamentale** du traitement anatomo-pathologique. Il consiste en une **description visuelle détaillée** des pièces opératoires ou des biopsies, réalisée à l'œil nu. Cet examen est effectué de préférence sous **hôte à flux laminaire** pour garantir la biosécurité du personnel médical, en particulier en présence de tissus infectieux potentiels (**Rosai, 2018**).

Chaque pièce est **mesurée, pesée, photographiée** si nécessaire, puis **dissectée méthodiquement**. L'objectif est d'identifier les **lésions macroscopiques** (ulcérations, épaissements, nodules, masses tumorales, etc.) et de **prélever des zones représentatives** pour l'étude histologique.

Les **fragments tissulaires** prélevés sont placés dans des **cassettes en plastique rigide**, étiquetées avec le **numéro d'identification du patient**, le **site anatomique** et le **numéro du bloc**. Ces cassettes sont ensuite plongées dans du **formol tamponné à 10 %** pour la fixation (**Bancroft et Layton, 2019**).

B. Étude histologique

L'étude histologique repose sur l'analyse de **coupes très fines** (3 à 5 μm) de tissu fixées, incluses en paraffine, puis colorées. Ces coupes permettent une observation microscopique précise des architectures cellulaires et tissulaires.

Il convient de souligner que la **préparation histologique est un instantané figé** du tissu vivant, fixé au moment du prélèvement. Elle reflète donc une **image statique d'un processus dynamique**, d'où l'importance de respecter rigoureusement toutes les étapes techniques pour en préserver la qualité (**Kiernan, 2015**).

B.1. Étapes de circulation tissulaire

La **circulation tissulaire** est réalisée à l'aide de l'automate **Leica TP120**, qui permet l'enchaînement automatisé des phases de déshydratation, de clarification et d'imprégnation. Cet appareil semi-fermé limite l'exposition du personnel aux solvants organiques.

Les échantillons, placés dans un panier pouvant contenir jusqu'à 80 cassettes, sont automatiquement transférés dans une série de cuves contenant successivement :

- Des solutions d'**éthanol** à concentrations croissantes (50 %, 70 %, 96 %, 100 %) pour la **déshydratation** ;
- Du **xylène** pour la **clarification** ;
- De la **paraffine liquide** chauffée à 65 °C pour l'**imprégnation**.

L'objectif est de **remplacer progressivement l'eau des tissus par la paraffine**, afin de rigidifier le tissu pour faciliter les coupes ultérieures.

► Déshydratation à l'alcool

Cette étape, d'une durée totale d'environ **8 heures**, permet de retirer l'eau contenue dans les tissus. Elle se fait par immersion successive dans des bains d'éthanol de concentration croissante, à raison de **2 heures par bain**. Cette déshydratation progressive évite les déformations tissulaires.

► Éclaircissement au xylène

Aussi appelée **clarification**, cette étape remplace l'alcool par un solvant organique (le xylène), qui rend les tissus translucides. Elle dure environ **6 heures**, réparties entre **trois bains successifs de xylène**, permettant une transition douce vers l'imprégnation paraffinique.

► Imprégnation à la paraffine

Les tissus sont immergés dans **deux bains de paraffine liquide** chauffée à **56–60 °C**, pendant une heure chacun. La paraffine, hydrophobe, pénètre les tissus en comblant les espaces créés par l'élimination de l'eau, garantissant une **cohésion optimale du tissu** dans les blocs paraffinés (**Prophet, 1992**).

► Inclusion et enrobage en paraffine

Après circulation, les cassettes contenant les échantillons sont transférées vers l'unité d'inclusion **Leica EG1160**, permettant l'enrobage des tissus dans des blocs de paraffine solides.

Les étapes de l'inclusion sont les suivantes :

1. **Ouverture des cassettes** et récupération des fragments à l'aide d'une pince.

2. **Positionnement des fragments** dans un **moule métallique** contenant une fine couche de paraffine liquide.
3. **Ajout de paraffine** chaude pour recouvrir entièrement le fragment.
4. **Refroidissement rapide** sur une plaque froide, permettant la solidification de la paraffine.
5. **Fixation des cassettes** au-dessus du moule pour assurer l'identification.
6. **Démoulage** après durcissement au congélateur : le fragment est désormais intégré dans un **bloc de paraffine rigide**, prêt pour la coupe microtomique.

Cette étape est cruciale pour obtenir des **coupes fines et continues**, indispensables pour l'interprétation morphologique et les analyses immunohistochimiques (**Dapson, 2007**).

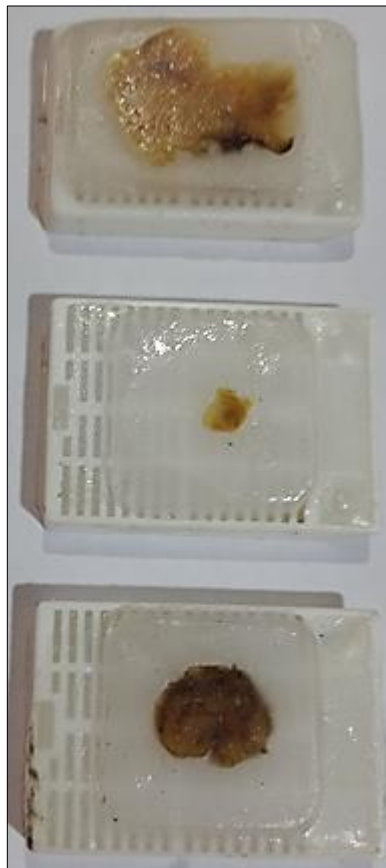


Figure 13 : Cassettes incluant le tissu enrobé dans un bloc de paraffine destinée à la réalisation de rubans tissulaires (coupes histologiques).

B.2. Coupe au Microtome

L'utilisation du **microtome Leica RM 2235** permet de réaliser des coupes fines à partir des blocs de paraffine préparés au préalable selon un processus détaillé. Le bloc de paraffine est placé dans le support du microtome et avance, par l'intermédiaire de douilles, sur un rasoir de manière à obtenir des coupes successives d'une épaisseur de 2 à 3 μm . À chaque rotation, la surface du fragment tissulaire est exposée, permettant ainsi d'obtenir des coupes tissulaires sériées qui forment des rubans. Ces derniers sont ensuite étalés dans un bain-marie à 37°C, puis récupérés sur des lames de verre pour l'observation microscopique (**Bancroft et Gamble, 2008**).

► Étape de l'étalement des Lames (Dapson, 2016)

Une fois les rubans récupérés sur les lames, il est essentiel de centrer le tissu afin d'éviter la formation de plis qui pourraient nuire à l'interprétation des résultats. Les lames sont ensuite séchées à température ambiante pendant environ 1 heure. Après séchage, les lames sont numérotées avec un crayon diamant, ce qui permet d'identifier chaque échantillon en fonction du numéro du patient.

► Déparaffinage des Lames

Le déparaffinage est une étape cruciale qui consiste à éliminer la paraffine entourant le tissu, nécessaire pour les étapes ultérieures de coloration. Pour ce faire, les lames sont placées dans des chariots spéciaux, puis dans une étuve réglée à 37°C pendant 12 heures, afin d'assurer une élimination complète de la paraffine (**Lillie, 1965**).

B.3. Coloration des Lames

Une fois que des coupes très fines (environ 5 à 8 μm) sont obtenues à l'aide du microtome et montées sur des porte-objets, elles doivent être colorées pour augmenter le contraste entre les structures cellulaires et tissulaires. Les colorants usuels utilisés pour ce type de préparation sont principalement des solutions aqueuses. Le processus de préparation implique des étapes de déparaffinage, de réhydratation et de coloration. Le pH joue un rôle essentiel dans l'affinité des colorants pour les différents constituants tissulaires (**Pizzolato, 2012**).

En plus des colorations de routine, des colorations dites "spéciales" peuvent être utilisées pour compléter l'analyse microscopique des biopsies, notamment pour l'identification de *Helicobacter pylori*.

► Coloration de Routine : Hématoxyline-éosine (HE)

La coloration hématoxyline-éosine (HE) est la méthode de coloration la plus couramment utilisée. Elle peut être réalisée manuellement ou à l'aide de l'automate de coloration **Leica ST 4020**. Cette coloration combinée permet de mettre en évidence la structure topographique des tissus en utilisant deux colorants : l'hématéine de Harris (laque nucléaire) et l'érythrosine (colorant cytoplasmique). L'éosine, un colorant acide, colore les substances basiques dans le cytoplasme (protéines cytoplasmiques), tandis que l'hématoxyline, colorant basique, agit sur les acides nucléiques (principalement les acides phosphoriques dans les noyaux cellulaires) (**Bancroft et Gamble, 2008**).

La coloration **HE** permet de distinguer les structures tissulaires suivantes :

- Noyaux : bleu
- Cytoplasme : différentes nuances de rose
- Fibres musculaires : rouge foncé
- Globules rouges : orange/rouge
- Fibres de collagène : rouge
- Micro-organismes : rose

Les lames déparaffinées sont placées dans un chariot et passent successivement par 27 bacs, chacun contenant une solution différente (xylène, alcool, etc.) pour déparaffiner, réhydrater et colorer le tissu. L'automate **Leica ST 4020** permet d'effectuer l'ensemble du processus automatiquement, en passant les échantillons par différentes solutions à des concentrations décroissantes (100%, 96%, 70%, 50% d'alcool), puis en les colorant avec l'hématéine et l'éosine. Enfin, les lames subissent une nouvelle déshydratation et un éclaircissement à l'aide du xylène.

► Coloration Spécifique : Giemsa

Outre la coloration **HE**, la coloration **Giemsa** est également utilisée, notamment pour détecter la présence de *Helicobacter pylori* dans les tissus gastriques. Cette coloration se réalise sur des lames qui ont été déparaffinées, puis réhydratées dans une étuve et à l'aide de l'automate **Leica ST5020**. La coloration **Giemsa** permet de visualiser spécifiquement *H. pylori*, en les mettant en évidence par leur coloration rose (**Sirotkin, 2008**).

Tableau II : Comparaison entre coloration de routine, dite HE et coloration Giemsa

Coloration	Grossissement	Observation
Coloration hématoxyline- éosine	x40	Artéoles, glandes, cryptes visibles.
	x100	Epithélium simple, glandes avec lumière, chorion, cryptes, artéoles visibles.
	x400	Artéoles plus visible. Chorion, fibres collagènes et réticulaires, cellules à mucus, cellules muqueuses superficielles, <i>H.pylori</i> (arcs, bâtonnets) visibles.
	x1000	Fibres de collagènes et réticulaires bien visibles. Cellules endocrines, cellules à mucus, noyau bien visible. Cellules muqueuses superficielles, <i>H.pylori</i> (spirale, incurvé) plus visible.
Giemsa	x40	Artéoles, glandes, cryptes, atrophie glandulaire, lumière glandulaire visibles.
	x100	Epithélium simple, glandes avec lumière, chorion, cryptes visibles.
	x400	Artéoles plus visibles Chorion, fibres collagènes et réticulaires, polynucléaires, cellules à mucus, cellules muqueuses superficielles, <i>H.pylori</i> (arcs, bâtonnets, coccoides) plus visibles.
	x1000	Chromatine des noyaux, fibres de collagènes et réticulaires biens visibles. Chorion, lumière glandulaire, cellules muqueuses superficielles, cellules à mucus, cellules endocrines, noyau bien visibles, polynucléaires neutrophiles, <i>H.pylori</i> (coccoides, spirale, incurvé) plus visibles

B.4. Montage des lames

Le montage des lames colorées constitue une étape essentielle dans le processus histologique, visant à préserver de manière durable les coupes tissulaires pour une analyse microscopique fiable et reproductible. Cette opération assure la stabilité mécanique et optique de l'échantillon, en l'insérant entre une lame de verre et une lamelle, grâce à un milieu de montage adéquat.

Avant la mise en place de la lamelle, il est primordial d'éliminer toute impureté résiduelle susceptible d'altérer la qualité de l'observation. À cette fin, chaque lame est immergée dans un bain de **xylène**, un solvant organique qui permet à la fois de dissoudre les excédents de réactifs et de clarifier les tissus colorés, améliorant ainsi la transparence des structures à observer.

Une fois cette étape accomplie, une **goutte de résine synthétique Eukit**, transparente et à indice de réfraction proche de celui du verre, est déposée sur la lamelle. Cette résine se polymérise rapidement au contact de l'air, assurant une fixation permanente et sans bulles entre la lame et la lamelle.

Après l'application de la lamelle, l'ensemble est de nouveau plongé dans le xylène pour éliminer toute trace de poussière, de résine débordante ou d'autres contaminants pouvant nuire à la lecture microscopique. Enfin, les lames sont mises à sécher à l'air libre, prêtes à être archivées ou examinées.

Chaque lame ainsi préparée permet d'observer avec précision les altérations morphologiques de la muqueuse étudiée. Parmi les anomalies recherchées figurent : des irrégularités de surface, des anomalies des cryptes, des foyers de nécrose, des micro-érosions, ainsi que des modifications histopathologiques telles que l'inflammation, l'atrophie, l'activité neutrophile, la métaplasie intestinale, et la présence ou l'absence de *Helicobacter pylori*.

La figure suivante illustre de manière synthétique les différentes étapes, depuis la préparation des coupes tissulaires jusqu'au montage définitif sur lame.

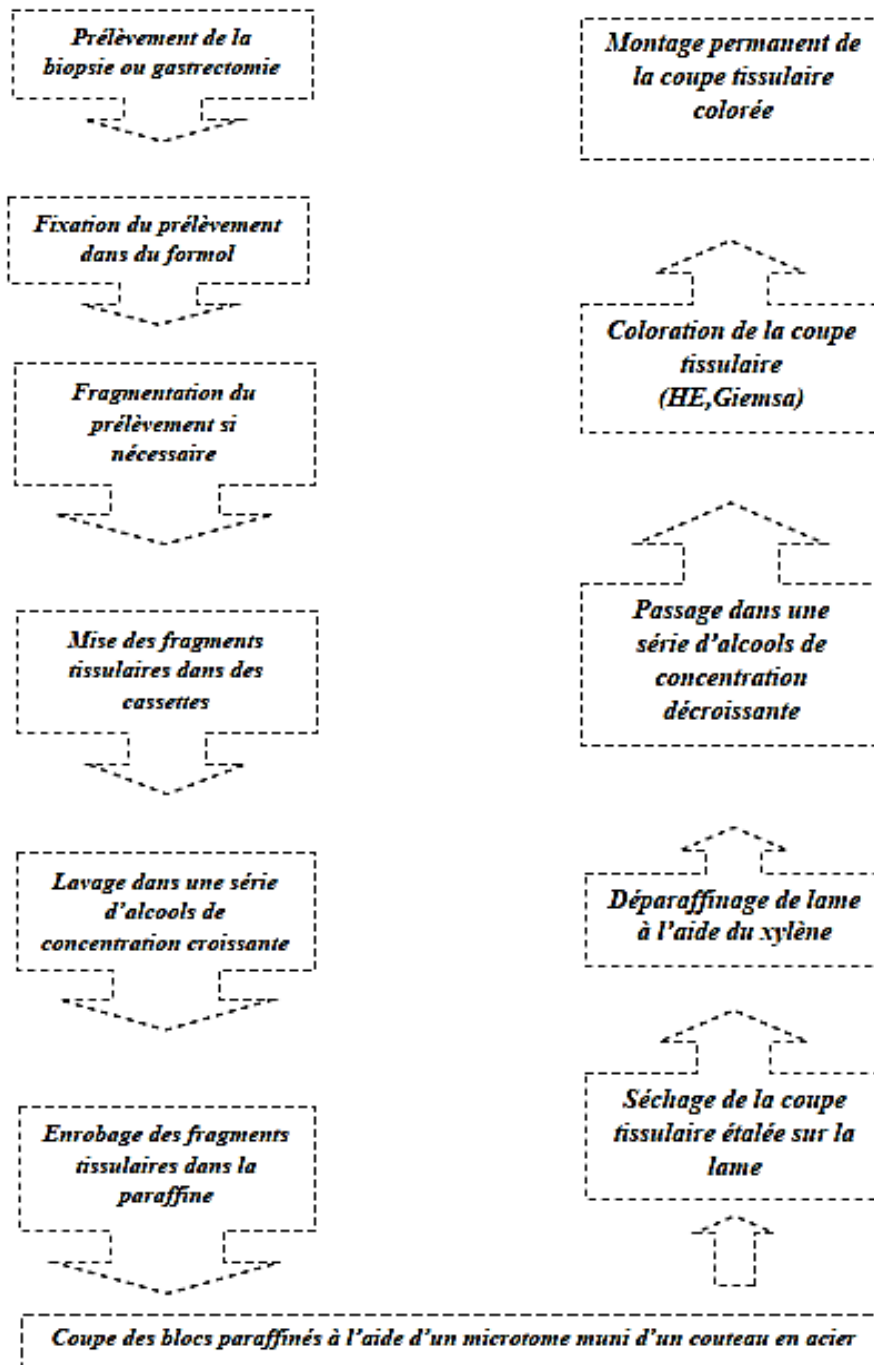


Figure 14 : Représentation schématique de l'ensemble des étapes successives, nécessaires, à partir d'un prélèvement de tissu frais, fixé dans un fixateur, jusqu'à l'obtention d'une coupe histologique colorée, avec une épaisseur de 5-8 μm , en vue d'un examen en microscopie optique.

C. Etude immunohistochimique (IHC)

C.1. Protocole de la technique immunohistochimique (IHC)

La réalisation d'une étude immunohistochimique repose sur une méthodologie rigoureuse, où chaque étape technique influe directement sur la qualité, la spécificité et la sensibilité du marquage. Le protocole appliqué dans cette étude a été établi selon les recommandations standards en histotechnologie, tout en tenant compte des spécificités des tissus étudiés.

► Préparation des réactifs

La première phase consiste à préparer avec précision les réactifs nécessaires :

- **La solution de restauration des épitopes**, essentielle pour le démasquage antigénique, est préparée par dilution 1:10 dans de l'eau distillée ou déionisée. La solution ainsi obtenue peut être conservée au réfrigérateur (2–8 °C) durant un mois, à condition de rester limpide (**Bancroft & Gamble, 2008**).
- **Le tampon de lavage (PBS)** est également préparé par dilution 1:10. Il est utilisé à plusieurs étapes du protocole pour assurer le nettoyage et le rinçage des lames. Toute solution présentant un aspect trouble est systématiquement éliminée (**Lillie, 1965**).
- **La solution de substrat chromogène DAB (3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochlorure)** est constituée en mélangeant 1 mL de tampon DAB avec 25 à 30 µL de chromogène. Ce mélange, stable jusqu'à cinq jours à 2–8 °C, doit être homogénéisé avant emploi. La présence d'un léger précipité ne nuit pas à la qualité du marquage (**Sirotkin, 2008 ; Dapson, 2016**).

► Préparation des lames

Les coupes tissulaires de 2 à 3 µm d'épaisseur sont réalisées à l'aide d'un microtome, puis déposées sur des lames silanisées (recouvertes de poly-L-lysine) afin d'optimiser l'adhérence des tissus et éviter leur décollement lors des manipulations ultérieures.

► Déparaffinage et réhydratation

Les lames sont d'abord incubées pendant 24 heures à 37 °C. Le déparaffinage est ensuite effectué grâce à l'automate Leica ST 4020 :

- Passage dans deux bains de xylène (5 min chacun)
- Réhydratation par immersion dans des bains d'alcool à concentrations décroissantes (100 %, 90 %, 70 % – 3 min chacun)
- Rinçage à l'eau distillée pendant 30 secondes.

► **Restauration antigénique (démasquage thermique)**

Le démasquage antigénique est réalisé en immergeant les lames dans un tampon citrate (pH 6) porté à 95–97 °C pendant 30 à 40 minutes. Cette étape vise à rompre les liaisons réticulantes créées par le formol, responsables du masquage des épitopes (**Pizzolato, 2012**). Les lames sont ensuite refroidies à température ambiante pendant 20 minutes, puis lavées successivement dans deux bains d'eau distillée et un bain de PBS (5 min chacun).

► **Blocage des peroxydases endogènes**

Afin de prévenir les faux positifs liés à l'activité des peroxydases endogènes, les lames sont incubées pendant 5 minutes dans une solution contenant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Cette étape est suivie d'un rinçage à l'eau distillée et d'un bain de PBS (**Dapson, 2016**).

► **Délimitation de la zone de réaction**

Les zones tissulaires à traiter sont encerclées à l'aide d'un crayon hydrophobe (DAKO Pen) afin de limiter la diffusion des anticorps et garantir un marquage localisé et précis.

► **Application de l'anticorps primaire**

L'anticorps primaire, dilué selon les recommandations du fabricant, est appliqué à l'aide d'une micropipette (100 µL par zone délimitée). Trois lames témoins sont simultanément traitées avec un réactif de contrôle négatif. L'incubation se fait à température ambiante pendant 30 minutes, suivie de deux rinçages au PBS (5 min chacun).

► **Application de l'anticorps secondaire**

L'anticorps secondaire, conjugué à la peroxydase, est appliqué selon le même protocole que l'anticorps primaire. Après 30 minutes d'incubation, les lames sont rincées deux fois dans le tampon de lavage.

► **Révélation**

La révélation du complexe immunologique Ag-Ac est obtenue par l'application de la solution DAB. Après incubation de 10 minutes, un précipité brun se forme en présence du complexe Ac–Ag–enzyme, localisant ainsi précisément la présence de l'antigène dans le tissu. Les lames sont ensuite rincées abondamment à l'eau distillée (**Sirotkin, 2008**).

► **Contre-coloration**

Une contre-coloration est effectuée à l'hématoxyline de Mayer afin de mettre en évidence les noyaux (en bleu-violet), tout en offrant un contraste optimal avec le marquage spécifique. Les lames sont ensuite clarifiées par passage dans l'alcool puis dans le xylène, avant d'être prêtes pour le montage (**Pizzolato, 2012 ; Bancroft et Gamble, 2008**).

► Montage et lecture

Le montage final (lame-lamelle) est réalisé selon les procédures standards. La lecture microscopique est ensuite effectuée en collaboration avec un anatomopathologiste expérimenté, qui évalue la distribution et l'intensité du marquage, tout en vérifiant l'absence d'artefacts techniques pouvant compromettre l'interprétation (**Dapson, 2016**).

C.2. Lecture et interprétation des lames

La lecture des lames immunohistochimiques constitue une étape critique de l'analyse. Elle est réalisée en collaboration avec un spécialiste en anatomopathologie, dont l'expertise est essentielle pour évaluer la qualité du marquage, son intensité, ainsi que sa distribution cellulaire ou tissulaire. Cette évaluation permet également de détecter d'éventuelles anomalies liées à la technique elle-même (ex : marquage non spécifique, dépôts chromogéniques diffus) ou à l'usage des réactifs (**Dapson, 2016**).

L'interprétation rigoureuse du signal immunohistochimique repose non seulement sur la reconnaissance de la topographie cellulaire du marquage, mais aussi sur l'échelle semi-quantitative d'intensité, permettant une catégorisation du marquage en absence, faible, modéré ou fort. Cette étape requiert une bonne maîtrise des aspects morphologiques, ainsi qu'une connaissance approfondie des marqueurs utilisés et de leur signification pathologique ou biologique.

C.3. Ordre d'évaluation des lames

Afin de garantir l'objectivité et la reproductibilité des résultats, les lames doivent être analysées selon un ordre précis, préétabli avant la lecture. Cette organisation méthodique permet de respecter les conditions expérimentales et d'éviter les biais liés à la fatigue visuelle ou à la subjectivité de l'observateur. Le protocole adopté suit un schéma systématique d'évaluation, présenté dans le **Tableau III**, qui définit la séquence d'observation des coupes (témoins négatifs, positifs, et cas tests) en fonction de leur nature et de leur rôle dans l'interprétation.

Tableau III : Ordre de lecture des lames en immunohistochimie

Ordre de lecture des lames	Raisonnement
1. Lame de tissu de contrôle positif	La lame de tissu de contrôle positif doit être examinée en premier. Celle-ci permet de vérifier si la méthode de fixation et le processus de restauration de l'épitope fonctionnent. Une coloration membranaire brune doit être observée.
2. Lame de tissu de contrôle négatif	La lame de tissu de contrôle négatif doit être examinée après le tissu de contrôle positif pour vérifier la spécificité de marquage de l'antigène cible par l'anticorps primaire. Aussi, l'absence de coloration spécifique dans le tissu de contrôle négatif confirme l'absence de réactivité croisée du kit.
3. Lame de tissu de patient	La lame du patient est examinée à la suite de la lecture des deux précédentes lames dans l'ordre adéquat. Comme pour tout test immunohistochimique, une coloration brune, signifie un résultat positif, et correspond à la détection de l'antigène. Il va de même pour l'absence de coloration brune sur la lame, signifiant un résultat négatif, correspondant à l'absence de l'antigène.

C.4. Lames témoins et contrôles utilisés

Dans le souci de garantir la fiabilité et la validité des marquages immunohistochimiques réalisés au cours de ce travail, des lames témoins, à la fois positives et négatives, ont été rigoureusement sélectionnées pour chacun des anticorps utilisés. Ces échantillons de contrôle ont permis de vérifier la réactivité des anticorps, tout en assurant la reproductibilité ainsi que la spécificité des résultats obtenus.

- Contrôles pour la détection d'*Helicobacter pylori*

Concernant la mise en évidence d'*Helicobacter pylori*, deux types de tissus de contrôle ont été intégrés au protocole :

- **Témoin positif** : il s'agit d'une coupe de tissu gastrique provenant d'un cas confirmé de gastrite chronique active associée à la présence d'*H. pylori*. Ce diagnostic a été préalablement établi grâce aux colorations classiques à l'hématoxyline-éosine (HE) ainsi qu'à la coloration de Giemsa, reconnue pour sa sensibilité dans la détection de cette bactérie.
- **Témoin négatif** : une coupe de muqueuse gastrique normale, exempte d'infection à *H. pylori*, fournie par le CHU de Tizi-Ouzou. Ces deux échantillons ont été traités

parallèlement aux coupes étudiées, afin de valider l'efficacité et la spécificité de l'anticorps monoclonal dirigé contre *H. pylori*.

- **Contrôles pour la détection du virus Epstein-Barr (EBV)**

Pour l'évaluation immunohistochimique de la présence du virus Epstein-Barr (EBV), et plus spécifiquement de la protéine de membrane latente LMP1 (Latent Membrane Protein 1), deux types de tissus de référence ont été utilisés :

- **Témoin positif** : une coupe tissulaire provenant d'un cas de lymphome hodgkinien exprimant LMP1, fournie gracieusement par le centre de cancérologie de la wilaya de Sétif. Ce tissu constitue une référence reconnue pour la détection de cette protéine virale.
- **Témoin négatif** : un fragment de tissu sain, ne présentant aucune expression de LMP1, également issu du CHU de Tizi-Ouzou. Ce tissu a servi à contrôler la spécificité de l'anticorps anti-LMP1.

2.2.2. *Approche statistique*

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide des logiciels **Microsoft Excel** (version 2019) et **R Statistical Software** (version 3.4.1), deux outils largement reconnus pour leur fiabilité dans le traitement des données en recherche biomédicale.

Les comparaisons entre les différents groupes ont été effectuées à l'aide de tests statistiques appropriés, sélectionnés en fonction de la nature des variables étudiées :

- **Le test du chi carré (χ^2)** a été utilisé pour évaluer les différences de distribution entre les variables catégorielles ;
- **Le test exact de Fisher**, recommandé dans les situations où les effectifs sont faibles ou lorsque les conditions d'application du test du chi carré ne sont pas remplies, a également été appliqué (**Biau et al., 2008**) ;
- **Le test Z** a permis de comparer les proportions entre deux groupes indépendants.

Dans l'ensemble des analyses, un seuil de signification statistique de **p < 0,05** a été retenu, conformément aux normes couramment admises en épidémiologie et en recherche clinique (**Hulley et al., 2013**).

3. Résultats

Ce travail est structuré autour de deux volets de recherche portant sur les pathologies gastriques. Le premier volet concerne une étude rétrospective sur les pathologies gastriques et leur association avec l'infection à *Helicobacter pylori*, menée au CHU Nedir Mohamed de Tizi Ouzou. Le second volet porte sur la détection immunohistochimique du virus Epstein-Barr (EBV) et son lien potentiel avec les carcinomes gastriques chez des patients ne présentant pas de signes récents d'infection à *H. pylori*.

Les résultats sont présentés suivant cette organisation.

3.1. Pathologies gastriques et infection à *Helicobacter pylori*

3.1.1. Ulcères gastriques et infection à *Helicobacter pylori*

Entre 2016 et 2019, 27 cas d'ulcères gastriques ont été recensés au CHU, représentant environ 2 % des pathologies gastriques enregistrées. Tous ces patients ont été diagnostiqués avec une infection à *Helicobacter pylori*, confirmée par biopsie gastrique et test histologique.

a. Données démographiques

L'âge des patients variait de 21 à 65 ans, avec une moyenne de 47 ans. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 40 et 50 ans ($p = 0,0007$), et 75 % des patients avaient plus de 30 ans. En ce qui concerne le sexe, 21 hommes et 6 femmes ont été enregistrés, soit un sex-ratio de 3,5 en faveur des hommes, une différence statistiquement significative ($p < 10^{-6}$).

b. Données cliniques

La durée des symptômes avant le diagnostic allait de 2 à 24 mois, avec une moyenne de 6 mois. Les signes cliniques les plus fréquemment rapportés étaient les suivants :

- Douleurs épigastriques rythmées par les repas : 24 patients (88,89 %),
- Vomissements alimentaires : 13 patients (48,15 %) ($p < 10^{-6}$),
- Anémie : 3 patients (11,11 %),
- Hémorragies digestives : 2 patients (7,41 %),
- Perforation : 1 patient (3,70 %).

Tableau IV : Répartition des signes cliniques chez les patients présentant un ulcère gastrique

Signes cliniques	Effectif (n)	Fréquence (%)
Douleurs épigastriques	24	88,89 %
Vomissements alimentaires	13	48,15 %
Anémie	3	11,11 %
Hémorragie digestive	2	7,41 %
Perforation	1	3,70 %

- **Localisation des ulcères**

La localisation des ulcères a montré une prédominance de l'atteinte antrale :

- Ulcères antraux : 23 cas (85,18 %),
- Ulcères sous-cardiaux : 3 cas (11,11 %),
- Ulcère double (antral + fundique) : 1 cas (3,70 %).

Cette répartition est statistiquement significative ($p < 10^{-6}$).

Tableau V : Localisation des ulcères gastriques

Localisation	Effectif (n)	Fréquence (%)
Ulcère antral	23	85,18 %
Ulcère sous-cardial	3	11,11 %
Ulcère double (antral + fundique)	1	3,70 %

- Méthodes statistiques et traitement des données

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel **R** (version 4.0.3). Pour les comparaisons entre groupes, nous avons utilisé le test du **chi²** pour les variables qualitatives, telles que le sexe, la présence de symptômes, et la localisation des ulcères. Une valeur de *p* inférieure à 0,05 a été considérée comme indiquant une différence statistiquement significative. Les distributions des âges ont été comparées à l'aide de tests adaptés pour des variables continues.

► **Comparaison des signes cliniques** : La fréquence des signes cliniques (douleurs épigastriques, vomissements, etc.) a été comparée entre les groupes, en utilisant le test du chi². Les différences observées sont jugées statistiquement significatives lorsque *p* < 0,05.

► **Analyse des localisations** : La répartition des ulcères dans les différentes parties de l'estomac a été analysée à l'aide du test du chi², confirmant ainsi la prédominance des ulcères antraux dans notre série.

En conclusion, l'analyse des résultats montre une forte association entre l'infection à *Helicobacter pylori* et les ulcères gastriques dans cette population, avec une prédominance des ulcères antraux. Les douleurs épigastriques et les vomissements alimentaires sont les symptômes les plus fréquemment observés chez les patients. Les analyses statistiques réalisées avec **R** confirment que les différences observées selon l'âge, le sexe et la localisation des ulcères sont significatives, ce qui renforce la pertinence de l'association de l'infection à *H. pylori* avec les ulcères gastriques dans notre étude.

- Traitement d'éradication de *Helicobacter pylori*

Dans notre étude, un traitement d'éradication de *Helicobacter pylori* a été systématiquement prescrit aux 27 patients chez qui la bactérie a été détectée à l'examen histologique, soit 100 % de cette sous-population. Cette démarche thérapeutique se justifie pleinement au regard du lien bien établi entre la présence de *H. pylori* et diverses affections gastriques, notamment les gastrites chroniques, les ulcères gastroduodénaux et le risque accru de carcinome gastrique.

Cependant, un suivi post-thérapeutique n'a pas pu être assuré de manière optimale : aucune biopsie de contrôle n'a été réalisée un mois après l'arrêt du traitement. Cette lacune dans le protocole de suivi constitue une limite majeure, rendant impossible l'évaluation de l'efficacité du traitement d'éradication. Par conséquent, nous ne pouvons ni confirmer la

disparition de la bactérie, ni statuer sur la réussite clinique du traitement dans ce groupe de patients.

Il aurait été souhaitable d'effectuer un contrôle endoscopique avec biopsies multiples à distance de la fin du traitement, conformément aux recommandations internationales, afin de vérifier l'éradication de *H. pylori* de manière fiable.

3.1.2. Gastrites chroniques et infection à *Helicobacter pylori* : Analyse d'une série de 809 patients

a. Prévalence et contexte pathologique

Dans notre cohorte de 809 patients ayant subi une exploration endoscopique avec examen anatomopathologique, les gastrites chroniques représentent de loin la pathologie la plus fréquemment rencontrée. Elles concernent 88 % des cas, ce qui souligne leur importance épidémiologique dans la population étudiée. Ce taux élevé est en accord avec les données de la littérature, qui soulignent la forte prévalence des gastrites, notamment dans les régions à forte endémie de *Helicobacter pylori*.

Les gastrites chroniques peuvent revêtir différentes formes histologiques (atrophique, folliculaire, active ou inactive), souvent en lien direct avec l'infection à *H. pylori*, principale cause bactérienne identifiée. La persistance de l'infection favorise l'inflammation chronique de la muqueuse gastrique, pouvant évoluer vers des lésions précancéreuses dans certains cas.

b. Profil démographique des patients

L'analyse des données démographiques des patients atteints de gastrite chronique a permis de dresser un profil épidémiologique plus précis. Ces informations, détaillées dans le tableau en annexe III, ont servi à construire la figure 15, qui illustre visuellement la répartition de la population selon des variables telles que l'âge, le sexe, et éventuellement les antécédents médicaux pertinents.

Cette caractérisation démographique est essentielle, car certains facteurs – comme l'âge avancé, le sexe masculin ou le statut socio-économique – peuvent influencer la susceptibilité à l'infection à *H. pylori*, ainsi que l'évolution des gastrites associées.

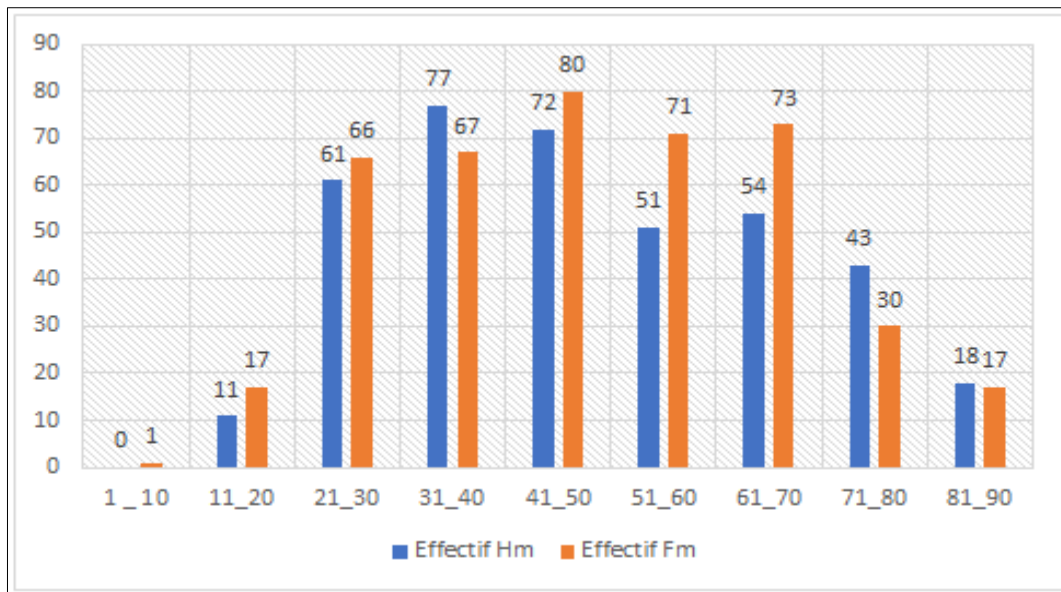


Figure 15 : Répartition de la population selon les données démographiques (Hm : hommes, Fm : femmes).

c. Aspect épidémiologique et histologique

► Détection d'*Helicobacter pylori* dans les sous-groupes d'âge

L'analyse de la prévalence de *Helicobacter pylori* en fonction des tranches d'âge a permis de dégager des tendances intéressantes, tant sur le plan épidémiologique qu'histologique. Les données regroupées dans les tableaux présentés en annexe IV ont servi de base à la construction de la figure 16.

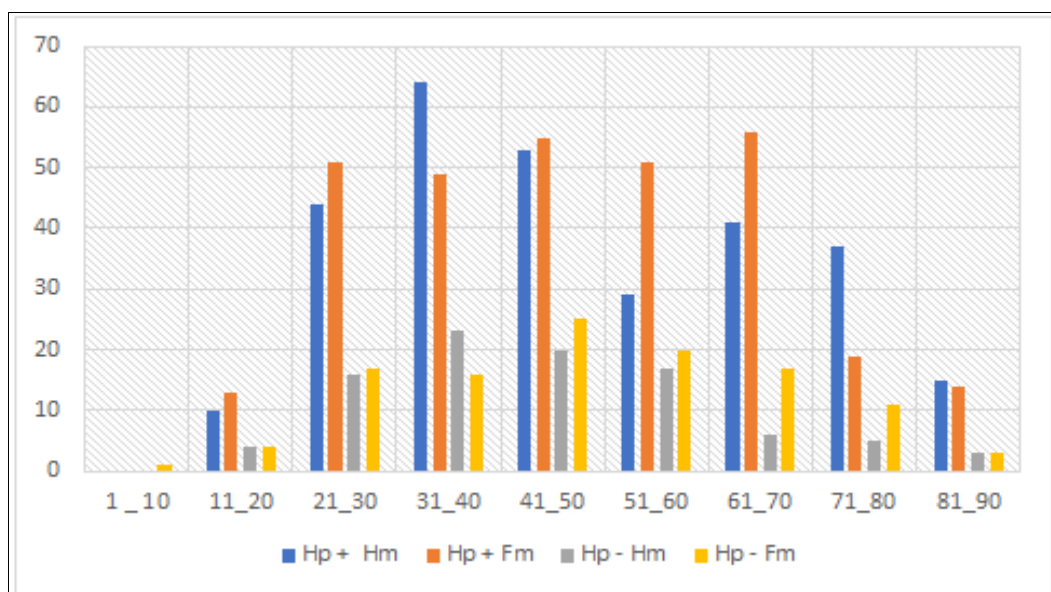


Figure 16 : Statut +/- d'*Helicobacter pylori* dans les sous-groupes d'âge chez les deux sexes (*Hp* : *Helicobacter pylori*, Hm : Hommes, Fm : femmes).

L'analyse de la prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* chez les femmes a montré une relation significative entre la tranche d'âge et la présence de la bactérie. Le test du Chi² d'indépendance a révélé une différence statistiquement significative ($\chi^2 = 17,42$; $p = 0,026$), suggérant que la prévalence de l'infection varie selon l'âge des patientes. Les tranches d'âge les plus touchées sont celles des **21–30 ans** et **41–50 ans**, où la fréquence de l'infection est particulièrement élevée, tandis que les tranches d'âge les plus jeunes (1–10 ans) et les plus âgées (81–90 ans) présentent une fréquence plus faible. Ces résultats confirment les observations épidémiologiques classiques, selon lesquelles *H. pylori* affecte principalement les adultes jeunes et d'âge moyen, avec une persistance de l'infection au cours de la vie. L'absence de *H. pylori* chez les plus jeunes pourrait être attribuée à un moindre accès aux soins ou à une faible prévalence de l'infection dans cette tranche d'âge.

Chez les hommes, bien que le test du Chi² ait montré une tendance à une variation de la prévalence de l'infection selon les tranches d'âge, cette variation n'est pas statistiquement significative au seuil de 5 % ($\chi^2 = 13,6$; $p = 0,059$). La prévalence est plus élevée dans la tranche des **31–50 ans**, tandis qu'elle diminue dans les tranches d'âge les plus jeunes (1–10 ans) et les plus âgées (81–90 ans). L'absence de significativité pourrait être expliquée par la distribution inégale des effectifs dans certaines tranches d'âge, ou par une taille d'échantillon relativement faible pour certaines catégories.

Comparativement, les femmes montrent une différence plus marquée de la prévalence de *H. pylori* en fonction de l'âge, tandis que chez les hommes, bien qu'il y ait une tendance similaire, les différences ne sont pas suffisamment prononcées pour atteindre la significativité statistique. Ces observations pourraient être influencées par des facteurs biologiques ou socioculturels qui affectent l'accès aux soins et la gestion des infections entre les sexes. Des études supplémentaires avec des échantillons plus larges pourraient permettre de confirmer ou d'infirmer ces tendances.

En conclusion, la prévalence de l'infection à *H. pylori* varie effectivement selon l'âge et, dans le cas des femmes, cette variation est statistiquement significative. Chez les hommes, bien que la tendance soit similaire, les résultats ne sont pas significatifs, ce qui pourrait être lié à des caractéristiques spécifiques de l'échantillon. Ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte les facteurs démographiques dans l'évaluation de l'infection à *H. pylori* et suggèrent que des stratégies de dépistage plus ciblées pourraient être nécessaires pour les tranches d'âge les plus affectées.

► *Helicobacter pylori* et site de prélèvement

La **figure 17**, réalisée à partir de résultats tabulés en **annexe V** et **annexe VI**, s'intéresse au site du ou des prélèvements effectués par patient, qui indique le siège de l'infection par la bactérie pour les cas *Hp+*.

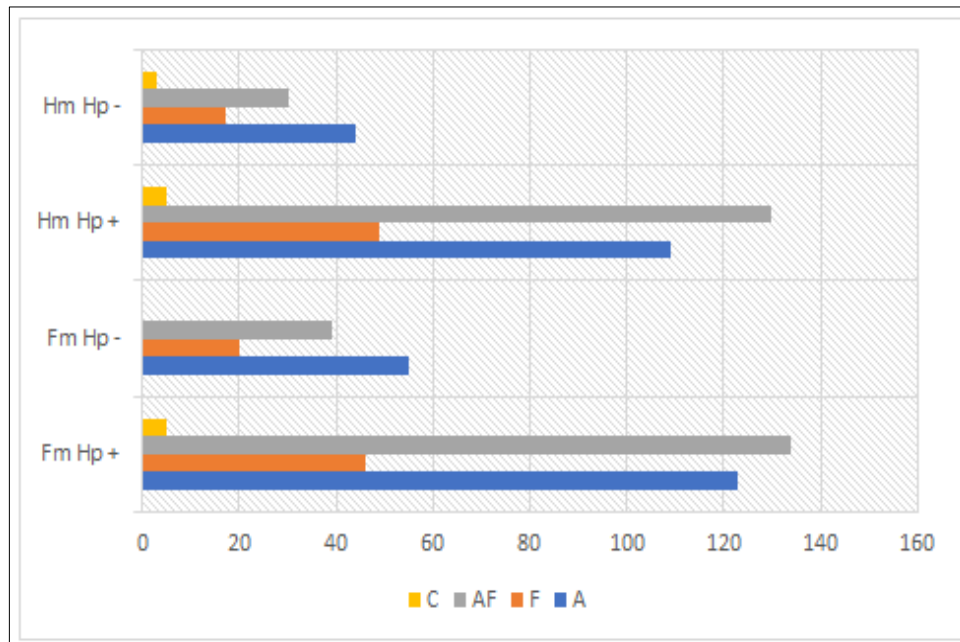


Figure 17 : Répartition des patients selon le site de prélèvement (*C* : cardia, *AF* : antro-fundique, *F* : fundus, *A* : Antrum)

► Analyse anatomo-pathologique des gastrites à *Helicobacter pylori*

Un total de **936 prélèvements** a été reçu par le service d'anatomo-pathologie. Parmi eux, **47 prélèvements** (soit **5,02 %**) ont été jugés non exploitables, en raison de leur caractère superficiel, de la nécrose ou d'une mauvaise conservation dans le formol, nécessitant un nouveau prélèvement.

Les **889 prélèvements exploitables** se répartissent comme suit :

- **331 antraux,**
- **132 fundiques,**
- **333 combinés antraux et fundiques,**
- **13 du cardia.**

► Étude histologique des gastrites chroniques à *Helicobacter pylori*

Parmi ces échantillons, **586 cas de gastrite chronique associés à *H. pylori*** ont été identifiés. L'évaluation histologique a été effectuée selon la **classification de Sydney**.

Tableau VI : Répartition des 586 cas de gastrites chroniques selon les critères histologiques

Critères histologiques	Absente	Légère	Modérée	Marquée
Intensité de la gastrite	83	212	269	22
Activité inflammatoire	97	162	289	38
Atrophie glandulaire	499	54	32	1
Présence de <i>H. pylori</i>	0	137	257	192
Follicules lymphoïdes	0	7	11	9

► Analyse statistique

L'objectif principal était d'évaluer la relation entre l'intensité de la gastrite et la densité de colonisation par *H. pylori*. À partir des données disponibles, un **test du Chi²** a été réalisé sur un tableau croisé entre les stades de la gastrite (légère, modérée, marquée) et la densité de *H. pylori* correspondante.

Résultats du test du Chi² :

- **Statistique de Chi²** : 146,13
- **Degrés de liberté** : 2
- **Valeur p** : < 0,0001

Ces résultats mettent en évidence une **association hautement significative entre le degré d'inflammation gastrique et la densité de colonisation par *H. pylori***. Cette relation confirme que **plus la charge bactérienne est élevée, plus les lésions histologiques sont sévères**.

Par ailleurs :

- Une **corrélation positive significative** a été également observée entre l'intensité de la gastrite et l'**atrophie glandulaire**, avec une **valeur $p < 10^{-6}$** (test du Chi²). Cette association souligne la progression des lésions vers des stades plus avancés lorsque l'inflammation devient chronique.
- L'analyse qualitative des lésions a mis en évidence une prédominance de la **métaplasie intestinale (MI) de type incomplet** dans cette série.
- La **densité bactérienne**, évaluée selon la classification semi-quantitative (++) , était **modérée dans près de la moitié des cas**. Les bactéries étaient principalement localisées au niveau du **pôle apical des cellules épithéliales** dans le mucus de surface.
- Fait notable : *H. pylori* **n'a pas été observé dans les foyers de MI**, bien qu'il soit présent ailleurs dans la muqueuse des mêmes patients. Ce phénomène pourrait s'expliquer par un **environnement local défavorable à la colonisation bactérienne** dans les zones de métaplasie.

Enfin, des **lésions précancéreuses (LPC)** ont été identifiées dans **5,19 % des cas**, chez des patients **non infectés par *H. pylori***. Cette observation suggère l'intervention de **facteurs étiopathogéniques supplémentaires**, tels que des influences génétiques, environnementales ou alimentaires, indépendantes de la colonisation bactérienne.

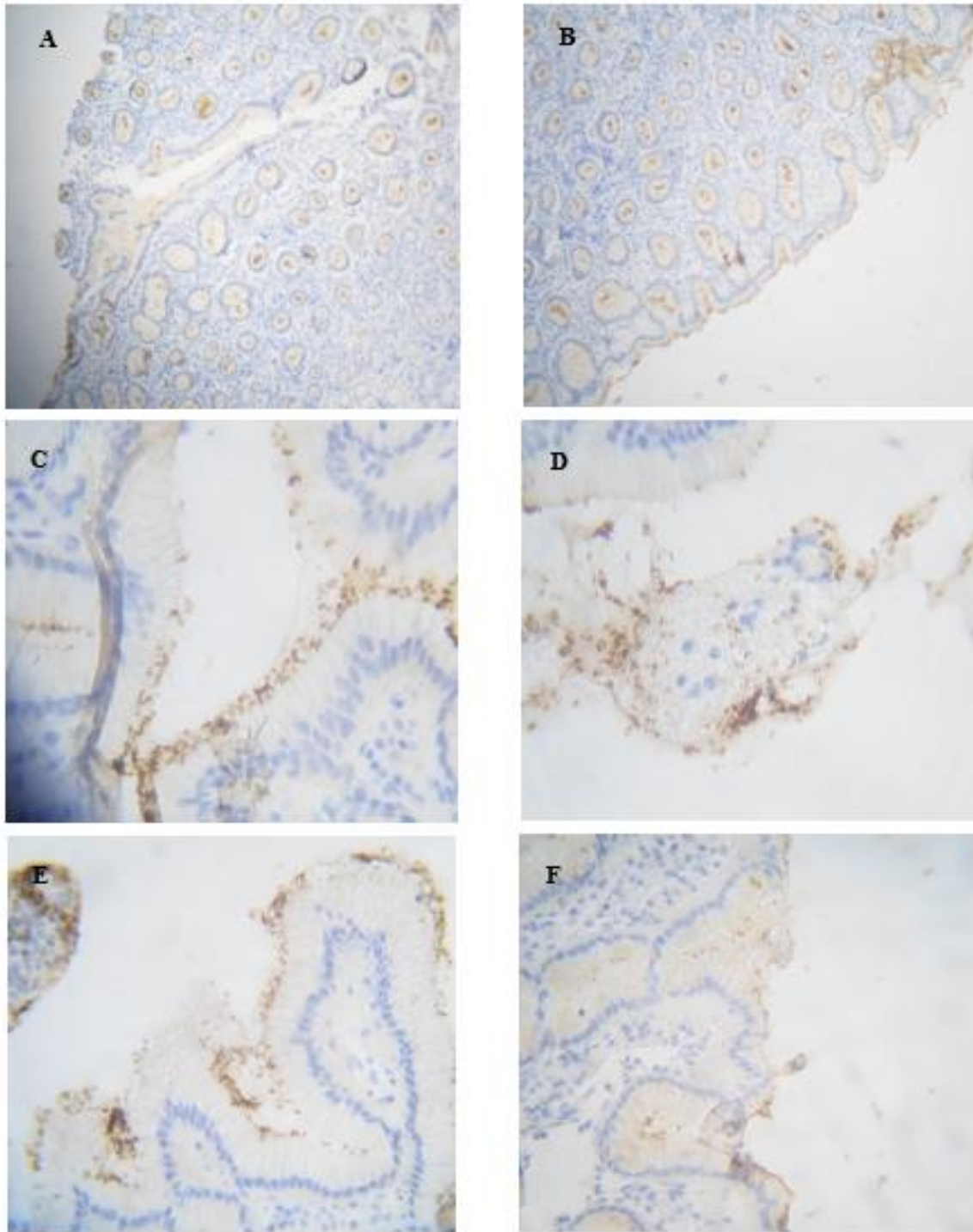


Figure 18 :

Détection de l'infection à *Helicobacter pylori* chez des patients atteints de gastrites chroniques, illustrée par une coloration immunohistochimique. L'intensité du marquage en brun indique la densité de la colonisation bactérienne :

- **A et B : +++** (forte intensité),
- **C et D : ++** (intensité modérée),
- **E et F : +** (faible intensité).

► Présence de bactéries non *Helicobacter pylori*

Au sein de notre série, nous avons identifié **trois cas isolés d'infection par une bactérie autre que *Helicobacter pylori*** : un homme de 54 ans, et deux femmes âgées respectivement de 48 et 62 ans. Il s'agissait de *Campylobacter pylori* (ancienne dénomination de *H. pylori*, parfois encore utilisée pour désigner des souches atypiques ou mal identifiées). Le diagnostic a été confirmé grâce à la **technique d'immunohistochimie anti-*H. pylori***, qui s'est révélée **négative**, validant ainsi l'absence de l'antigène spécifique de *H. pylori* dans ces échantillons.

► Comparaison des techniques de détection : Giemsa vs immunohistochimie (IHC)

Dans le service d'anatomopathologie, **la coloration de Giemsa est systématiquement réalisée** sur toute biopsie gastrique dans le but de détecter *H. pylori*. En revanche, **l'immunohistochimie (IHC)**, bien que plus sensible, est une technique **coûteuse**, ce qui limite son application de routine.

Pour évaluer la performance comparative des deux méthodes, **30 lames Giemsa-positives** ont été sélectionnées indépendamment des caractéristiques histologiques des gastrites. Les blocs paraffinés correspondants ont été coupés, les coupes déposées sur lames silanisées, puis traitées par immunohistochimie spécifique. Les résultats sont tabulés comme suit :

Tableau VII : Comparaison de la positivité d'*Helicobacter pylori* entre coloration Giemsa et immunohistochimie

Technique effectuée	IHC		Giemsa	
	Positif	Négatif	Positif	Négatif
Effectif	30	00	27	03

L'analyse statistique a montré :

- **Sensibilité de l'IHC : 100 %** (IC95% : 83 % – 100 %)
- **Spécificité : 86 %** (IC95% : 68 % – 96 %)
- **Valeur prédictive positive (VPP) : 84 %**
- **Valeur prédictive négative (VPN) : 100 %**

Le **coefficient de concordance de Kappa** entre les deux techniques était de **k = 0,84**, avec une **valeur p = 0,001**, indiquant un **haut degré d'accord**.

Un test Z de comparaison de proportions binomiales a été réalisé ($z = 0,60$; $p = 0,55$), ne montrant **pas de différence significative** entre les deux techniques. Toutefois, il est estimé que **jusqu'à 29 % de cas positifs supplémentaires pourraient être détectés par IHC** par rapport à Giemsa, en raison de sa sensibilité supérieure.

► **Gastrites chroniques particulières et association avec *H. pylori***

- **Gastrites auto-immunes** (type maladie de Biermer) ont été diagnostiquées chez **11 patients**, soit **1,36 %** de l'ensemble des gastrites chroniques. Parmi eux, **8 cas** (72,73 %) étaient également **positifs à *H. pylori***, suggérant une possible co-existence de mécanismes auto-immuns et infectieux.
- **Six cas de gastrites granulomateuses** ont également été identifiés. L'examen histologique minutieux a permis de **visualiser la présence de *H. pylori*** dans la muqueuse gastrique chez tous ces patients.

► **Traitements d'éradication, suivi et rémissions**

Tous les patients *H. pylori* positifs de notre cohorte ont bénéficié d'une **trithérapie standard** selon le protocole suivant :

- **Amoxicilline** : 1 g, 2 fois/jour pendant 7 jours
- **Métronidazole** : 500 mg, 2 fois/jour pendant 7 jours
- **Oméprazole** : 20 mg, 2 fois/jour pendant 7 jours

Dans le cadre de l'évaluation de l'efficacité de cette prise en charge, **50 patients** ont été invités à effectuer une **biopsie de contrôle à 1 mois post-traitement**. Seuls **27 patients** se sont présentés dans les délais. Chez **21 d'entre eux**, *H. pylori* était encore présent, ce qui représente **une persistance de l'infection dans 77,78 % des cas** après la première cure.

Une deuxième cure a été administrée chez les patients concernés. Par ailleurs, une **troisième cure d'éradication** a été proposée chez **4 patients**, avec modification du schéma thérapeutique :

- Pour deux patients : **remplacement de l'amoxicilline par la clarithromycine**
- Pour deux autres : **remplacement de l'amoxicilline par l'azithromycine**

Ces antibiotiques ont été prescrits à **1 g/jour en deux prises pendant 7 jours**, en association avec un IPP.

► **Résultats du suivi thérapeutique (Tableau VIII) :**

Tableau VIII : Répartition des cas de rémission à l'infection à *H.pylori* chez des patients ayant bénéficié du schéma thérapeutique adéquat (ND : Non disponible)

	Rémission	Persistance	Perdus de vue
Première cure d'éradication	06	21	23
Deuxième cure d'éradication	17	ND	4
Troisième cure d'éradication	15	ND	2

Un taux de **perte de suivi élevé** a été observé, en lien avec des **contraintes organisationnelles** au niveau des services cliniques durant la période d'étude.

► **Corrélations statistiques avec les lésions précancéreuses (LPC)**

Une étude complémentaire a été réalisée pour explorer une **éventuelle corrélation entre la présence de *H. pylori* et les lésions précancéreuses (LPC)**. À partir des données collectées (annexe VIII), la **répartition selon le statut LPC et HP** a été analysée par sexe (Figure 19).

Résultats descriptifs :

- Il apparaît que les **groupes LPC + / HP + sont équilibrés entre les sexes**, suggérant l'absence d'un biais de genre dans cette association.
- Une analyse inférentielle plus poussée (test du Chi² ou test exact de Fisher selon les effectifs) peut être envisagée pour confirmer l'existence ou non d'une **association statistiquement significative entre la présence de *H. pylori* et les LPC**.

Les résultats confirment l'importance de *H. pylori* comme agent étiologique majeur des gastrites chroniques, tout en soulignant les limites des méthodes diagnostiques classiques. L'immunohistochimie offre une meilleure sensibilité, bien qu'elle ne soit pas toujours accessible en routine. Les cas de gastrites atypiques (auto-immunes, granulomateuses) ainsi que l'analyse des échecs thérapeutiques et des réinfections suggèrent une **prise en charge personnalisée**, intégrant des données cliniques, histologiques et microbiologiques.

d. Analyse Statistique Descriptive et Inférentielle

► Objectif de l'analyse

Sur la base des données recueillies au cours des quatre années d'étude, une analyse statistique a été menée afin d'explorer :

- Les relations entre *Helicobacter pylori* (HP) et les lésions précancéreuses (LPC),
- Les différences selon le sexe et l'âge,
- Les corrélations entre les différentes sous-populations,
- Ainsi que l'évolution temporelle des effectifs à l'aide de modèles mathématiques et d'une analyse en composantes principales (ACP).

► Statistique descriptive

À partir des données figurant en Annexe VIII, la **Figure 19** illustre la répartition des patients selon la présence ou non de lésions précancéreuses (LPC), croisées avec la positivité à *H. pylori*. Il en ressort une **distribution équilibrée entre les sexes** dans les sous-populations LPC+/HP+, suggérant une atteinte comparable chez les hommes et les femmes.

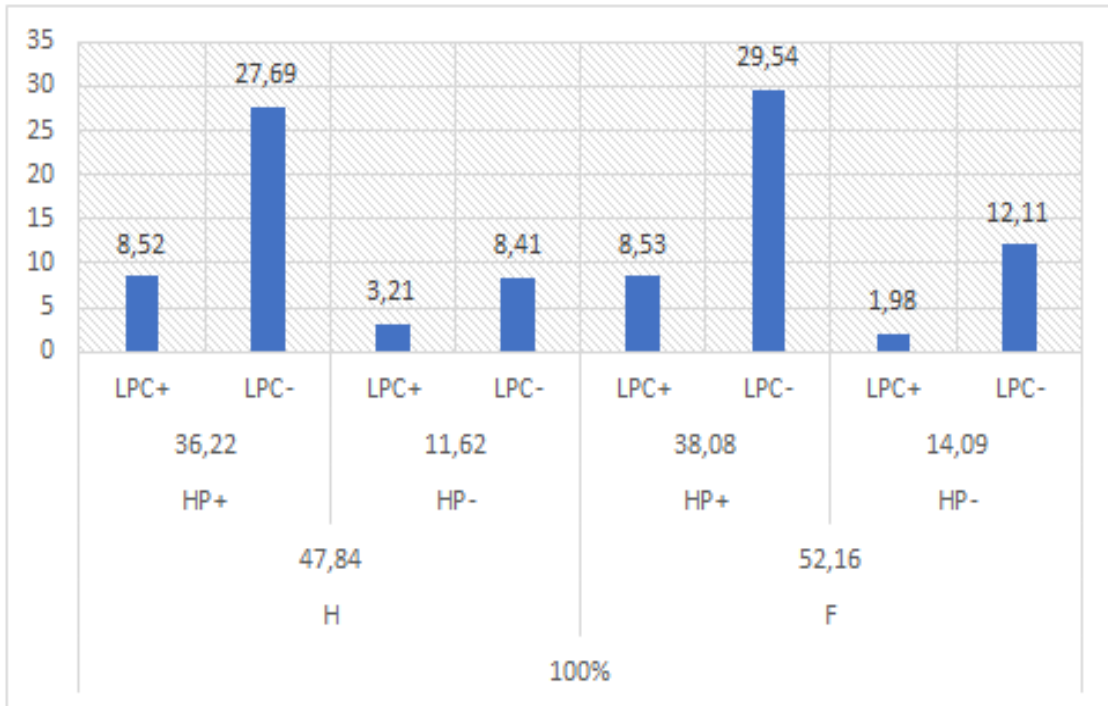


Figure 19 : Représentation des différentes sous-population selon LPC et HP (LPC : lésions précancéreuses, HP : *Helicobacter pylori* ; H : Hommes ; F : Femmes)

► Statistique inférentielle

L'approche inférentielle a été déployée afin de déterminer si des différences significatives existaient entre groupes selon des variables sociodémographiques (sexe, âge) et cliniques (infection à *H. pylori*, lésions précancéreuses).

a. Test ANOVA

L'ANOVA (Analyse de la Variance), réalisée avec un seuil de significativité fixé à $\alpha = 0,05$, a permis de comparer les moyennes de plusieurs groupes. Les résultats sont synthétisés ci-dessous :

- **Effectif hommes vs femmes (toutes années confondues) :** $p = 0,51 \rightarrow$ Pas de différencesignificative.

► Ce résultat suggère une bonne homogénéité de la répartition des sexes dans la population étudiée. Cela permet de considérer les autres analyses comme non biaisées par un déséquilibre démographique.

- **Âge moyen hommes vs femmes :** $p = 0,68 \rightarrow$ Pas de différence significative.

► Cela confirme que les deux groupes sont comparables en termes d'âge, réduisant ainsi le risque de confusion lié à cette variable.

- **Effectif HP+ chez hommes vs femmes** : $p = 0,63 \rightarrow$ Pas de différence significative.

► L'infection par *H. pylori* semble affecter les deux sexes de manière équivalente dans cette cohorte.

- **Âge HP+ chez hommes vs femmes** : $p = 0,18 \rightarrow$ Pas de différence significative.

► L'âge des patients infectés ne varie pas en fonction du sexe, ce qui appuie l'idée d'une exposition similaire.

- **Effectif HP+LPC+ chez hommes vs femmes** : $p = 1 \rightarrow$ Aucune différence.

► Il n'existe aucune disparité liée au genre dans la présence conjointe d'HP+ et de lésions précancéreuses.

- **Âge des HP+LPC+ chez hommes vs femmes** : $p = 0,52 \rightarrow$ Pas de différence significative.

► La progression vers des lésions précancéreuses chez les infectés par HP n'est pas influencée par le sexe ni l'âge.

- **Âge des HP-LPC+ chez hommes vs femmes** : $p = 0,54 \rightarrow$ Pas de différence significative.

► Ce dernier point est intéressant car il suggère que les LPC peuvent également survenir indépendamment d'une infection active à *H. pylori*, et que cela n'est pas modulé par le sexe.

En conclusion, aucune des variables étudiées (sexe, âge) ne présente d'effet significatif sur la distribution des infections à *H. pylori* ni sur la survenue des lésions précancéreuses dans cette cohorte. Cela confère une robustesse supplémentaire aux analyses qui suivent, en réduisant les biais de confusion potentiels.

► Test de Corrélation de Pearson

- Les tests de corrélation de Pearson ont été réalisés pour explorer les relations entre certaines variables quantitatives, afin d'évaluer l'existence de liens linéaires entre l'effectif total des patients, la présence de *H. pylori* et les lésions précancéreuses.

- **Corrélation entre l'effectif total des patients et l'effectif des patients infectés par Helicobacter pylori (HP+)** : La corrélation observée entre l'effectif total des patients et l'effectif des patients infectés par *H. pylori* était très forte ($R = 0,97$). Cette corrélation élevée peut refléter une augmentation parallèle du nombre de patients

diagnostiqués avec une infection par *H. pylori* et le nombre global de consultations ou de diagnostics, ce qui pourrait être dû à une meilleure sensibilisation et à des protocoles diagnostiques plus rigoureux.

- **Corrélation entre l'effectif des patients infectés par *Helicobacter pylori* (HP+) et l'effectif des patients présentant des lésions précancéreuses (LPC+)** : La corrélation forte ($R = 0,63$) entre l'infection par **H. pylori** et la présence de lésions précancéreuses (**LPC+**) indique une association marquée, bien que moins forte que la première corrélation. Cela confirme que l'infection par *H. pylori* est un facteur de risque important pour le développement de lésions précancéreuses gastriques. Cependant, il est important de noter que cette relation pourrait être modifiée par d'autres facteurs de risque, tels que l'alimentation, l'environnement et les antécédents médicaux des patients.

- **Évolution des Effectifs : Tendances et Modèles Mathématiques**

Analyse des tendances temporelles des sous-populations étudiées

L'observation des évolutions annuelles des effectifs (Figure 20) met en évidence des dynamiques contrastées entre différentes sous-populations de patients, en particulier ceux présentant une infection à *Helicobacter pylori* (HP) et/ou des lésions précancéreuses (LPC).

La sous-population des patients **HP+LPC+** montre une **diminution marquée de ses effectifs** au cours des quatre années d'analyse, traduite par un coefficient de détermination très élevé ($R^2 = 0,94$), indiquant une tendance linéaire forte. Cette baisse peut s'interpréter comme le reflet de plusieurs phénomènes concomitants : d'une part, une amélioration de la stratégie de dépistage et de traitement de l'infection à *H. pylori*, et d'autre part, une prise en charge plus précoce des atteintes gastriques, limitant ainsi l'évolution vers des lésions précancéreuses.

À l'inverse, une **légère augmentation** a été observée au sein de la sous-population **HP-LPC+** ($R^2 = 0,19$), ce qui pourrait signaler l'émergence ou la meilleure détection de **formes de gastrites atrophiques ou de métaplasies intestinales indépendantes de *H. pylori***. Ces cas peuvent être associés à des mécanismes pathogéniques distincts, notamment des causes auto-immunes (comme dans la maladie de Biermer), ou environnementales (régimes alimentaires, tabagisme, toxicités médicamenteuses...).

L'interprétation de ces évolutions doit cependant être nuancée. L'augmentation des cas diagnostiqués peut aussi découler d'une **meilleure vigilance clinique**, d'un **affinement des outils histopathologiques**, ou encore d'un **accompagnement thérapeutique plus**

structuré. Dans tous les cas, une **analyse longitudinale élargie** sur un plus grand nombre d'années permettrait de distinguer entre une véritable tendance épidémiologique et une évolution des pratiques médicales.

En définitive, bien que les analyses statistiques n'aient pas mis en évidence de variations significatives selon le sexe ou l'âge des patients, les **analyses de corrélation** ont confirmé **le rôle central de *H. pylori* dans l'apparition des lésions précancéreuses gastriques.** Ces résultats appellent à un **suivi rigoureux et personnalisé des patients HP+**, notamment ceux présentant déjà des signes de transformation muqueuse. Par ailleurs, l'augmentation observée des LPC en absence de *H. pylori* souligne la **nécessité d'élargir les investigations étiologiques** pour inclure des facteurs auto-immuns, toxiques ou génétiques dans la compréhension globale de ces affections.

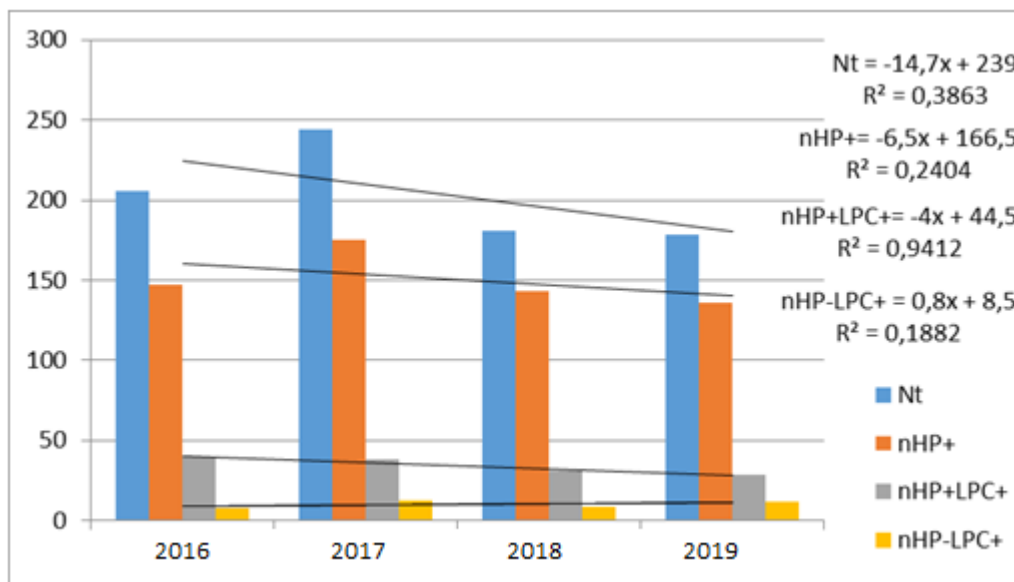


Figure 20 : représentation d'un modèle mathématique de l'évolution de différentes sous-population (*Nt* : Nombre total, R^2 : coefficient de corrélation, *LPC* : lésions pré-cancéreuses, *HP* : *Helicobacter pylori*)

►Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée dans le but de synthétiser les principales dimensions de variabilité au sein de la population étudiée, en tenant compte simultanément de plusieurs variables qualitatives et quantitatives : la présence de *H. pylori*, les lésions précancéreuses (LPC), le sexe, et l'évolution au cours du temps.

Les projections sur les deux premiers plans factoriels F1/F2 ont permis de **réduire la complexité multidimensionnelle des données tout en conservant l'essentiel de l'information statistique.**

- Chez les **hommes**, les deux premières composantes principales expliquent **84,44 % de la variance totale**, ce qui signifie que la majorité des informations portées par les variables initiales est bien représentée sur ce plan.
- Chez les **femmes**, l'ACP montre une **inertie encore plus élevée, à 90,03 %**, traduisant une structuration plus marquée des données dans cet espace réduit.

Ces **valeurs élevées d'inertie** sont particulièrement significatives : elles indiquent que les variations observées parmi les patients sont fortement concentrées autour de quelques axes principaux, ce qui facilite la lecture et l'interprétation des relations entre variables et individus.

- **Interprétation des biplots (Figures 21 et 22)**

Sur les **biplots** représentant les plans factoriels F1/F2 chez les deux sexes, plusieurs observations peuvent être tirées :

- **Chez les hommes**, la distribution spatiale des individus montre une **séparation assez nette entre les groupes HP+LPC+, HP+LPC- et HP-LPC+**, suggérant que les différentes configurations cliniques sont bien différenciées selon les axes principaux. Les variables *infection à H. pylori* et *présence de LPC* semblent fortement contributrices au premier axe, tandis que des variables comme l'âge ou la répartition temporelle influencent davantage le second.
- **Chez les femmes**, la configuration est encore plus marquée, traduisant une structuration plus forte des sous-groupes. Le regroupement plus compact des cas HP-LPC+ dans un quadrant spécifique peut être interprété comme une **différenciation étiologique spécifique à cette population**, peut-être en lien avec des

causes non bactériennes des lésions précancéreuses (comme les gastrites auto-immunes, plus fréquentes chez les femmes).

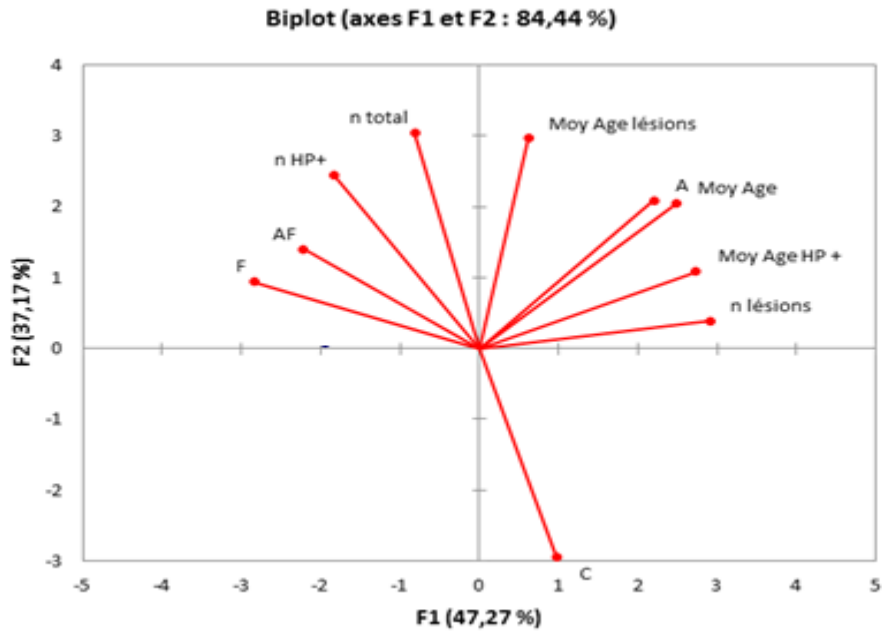


Figure 21 : Résultat de l'ACP chez les hommes

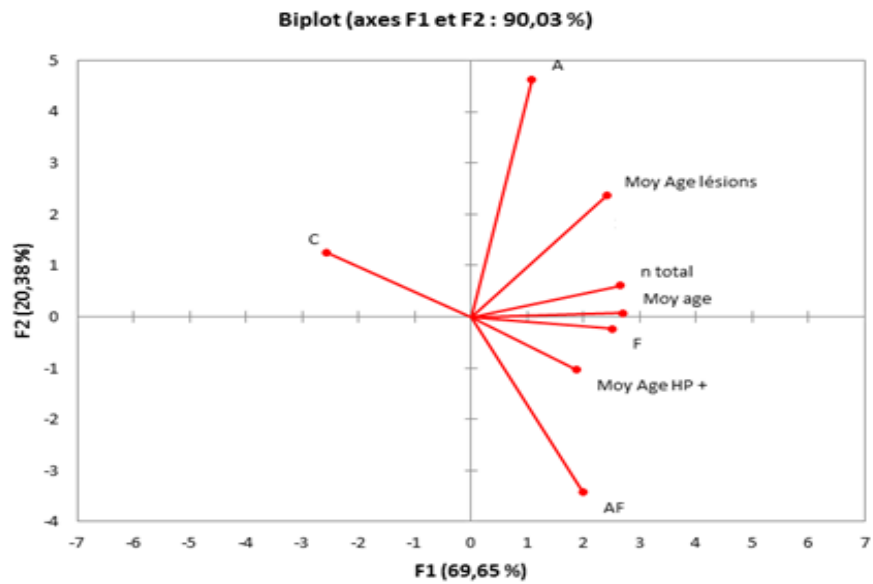


Figure 22 : Résultat de l'ACP chez les femmes

Commentaires généraux

L'ACP met ainsi en évidence une **organisation cohérente des sous-populations selon les profils cliniques et infectieux**, renforçant l'idée que l'infection à *H. pylori* reste un déterminant majeur dans la genèse des lésions gastriques précancéreuses, tout en laissant la place à des mécanismes alternatifs, notamment chez les femmes.

De plus, l'analyse permet d'envisager **une approche plus personnalisée dans le suivi des patients**, en tenant compte des profils multivariés dégagés par cette méthode exploratoire. Elle ouvre également la voie à des études futures utilisant des modèles prédictifs intégrant simultanément plusieurs variables cliniques et démographiques pour mieux identifier les groupes à risque.

3.1.3. Pathologies cancéreuses gastriques et infection à Helicobacter pylori : analyse d'une série de 53 cas

► **Caractérisation des néoplasies gastriques et lien potentiel avec *Helicobacter pylori***

L'étude des tumeurs gastriques malignes, conduite sur un échantillon de 53 patients, met en exergue la **grande hétérogénéité histopathologique** des entités néoplasiques rencontrées, soulignant ainsi la **complexité biologique de la carcinogenèse gastrique**. Cette analyse repose sur une classification rigoureuse basée sur les critères histologiques des tumeurs gastriques (cf. Annexe IX), qui a permis d'identifier plusieurs profils tumoraux distincts.

► **Répartition histologique des tumeurs**

Parmi les 53 cas inclus, **33 patients (62,26 %)** ont été diagnostiqués avec un **adénocarcinome à cellules indépendantes**, également appelé *adénocarcinome à cellules en bague à chaton (signet-ring cell carcinoma)*. Cette forme est particulièrement redoutée en raison de son **agressivité clinique**, de sa **réponse thérapeutique limitée** et de son **prognostic souvent défavorable**. Bien que fréquente, cette entité reste **insuffisamment élucidée sur le plan étiopathogénique**, notamment en ce qui concerne l'implication directe de *H. pylori*, d'autant que **l'immunohistochimie (IHC) n'a pas été réalisée pour cette sous-population**, empêchant toute association formelle.

Un **sous-groupe notable de 5 patients (9,43 %)**, exclusivement **de sexe masculin**, âgés de **49 à 73 ans**, a présenté un **lymphome non hodgkinien (LNH) gastrique de type B**. Ces cas sont particulièrement instructifs du fait que **tous les patients ont été testés positifs à**

H. pylori par immunohistochimie, révélant une **association directe et documentée** entre l'infection bactérienne et la survenue de cette entité lymphoïde. Ce lien est bien connu, notamment dans le contexte des **lymphomes MALT (tissu lymphoïde associé à la muqueuse)**, dont le développement est souvent **pathogéniquement dépendant de *H. pylori***.

Fait d'importance : **la rémission complète observée chez ces cinq patients après traitement d'éradication de la bactérie** constitue une démonstration remarquable du **potentiel curatif de la prise en charge anti-*H. pylori* dans les lymphomes gastriques**, validant le concept d'un **traitement étiologique ciblé** dans une pathologie maligne – une approche encore rare en oncologie digestive.

Les **15 patients restants (28,3 %)** présentaient un **adénocarcinome différencié**, forme plus conventionnelle du cancer gastrique, souvent précédée par des **lésions précancéreuses** telles que l'**atrophie glandulaire, la métaplasie intestinale ou la dysplasie**. Cependant, l'**absence de recherche d'*H. pylori* par IHC dans ce groupe** constitue une **limitation méthodologique majeure**, ne permettant pas de statuer sur un éventuel rôle de la bactérie dans la genèse de ces adénocarcinomes, bien que **la littérature suggère une implication probable dans certains cas**.

► Analyse démographique et implications épidémiologiques

L'analyse démographique révèle une **prédominance masculine significative**, avec **32 hommes pour 21 femmes**, soit un **sex-ratio de 1,5**, différence **statistiquement significative (p = 0,03)**. Cette surreprésentation masculine est **conforme aux données épidémiologiques mondiales**, qui rapportent une **incidence plus élevée du cancer gastrique chez l'homme**, potentiellement en lien avec une **exposition accrue à certains facteurs de risque** (tabac, alcool, alimentation riche en sel ou en nitrites), mais aussi avec des **facteurs hormonaux ou immunologiques** pouvant moduler la réponse à l'infection chronique par *H. pylori*.

Commentaires généraux

- **Hétérogénéité tumorale marquée** : La série met en évidence la coexistence de plusieurs types histologiques distincts de cancers gastriques, suggérant des mécanismes carcinogéniques multiples et parfois indépendants.
- **Lien avéré entre *H. pylori* et les lymphomes de type B** : La positivité IHC systématique dans tous les cas de LNH, combinée à une rémission post-éradication, confirme le rôle clé de *H. pylori* dans ces formes, et souligne l'importance d'un **dépistage bactérien rigoureux** en contexte de suspicion de lymphome gastrique.

- **Limitation liée au manque de données IHC dans les adénocarcinomes** : L'absence de caractérisation immunohistochimique pour la majorité des tumeurs (adénocarcinomes indépendants et différenciés) **restreint fortement l'analyse du lien potentiel avec *H. pylori***. Cette carence appelle à **une standardisation des protocoles diagnostiques**, intégrant systématiquement la recherche de la bactérie, surtout dans des contextes de lésions chroniques gastriques.
- **Sex-ratio élevé et implications à explorer** : La prédominance masculine significative constitue un **axe de recherche à approfondir**, notamment en intégrant des **données comportementales, environnementales et génétiques**, afin d'évaluer les déterminants biologiques de cette disparité.

3.2. Etude des pathologies gastriques et association avec la présence d'EBV (LMP1)

3.2.1. Caractéristiques de la population étudiée

La sélection des cas dans cette étude a été rigoureusement effectuée selon des critères d'inclusion stricts liés à la recherche sur le virus Epstein-Barr (EBV), notamment l'absence d'infection à *Helicobacter pylori* et l'absence d'antécédents personnels de carcinome nasopharyngé (CNP). Cette méthodologie vise à constituer une population homogène, aléatoirement répartie, afin d'examiner de manière indépendante le rôle de l'EBV, en particulier l'expression de sa protéine latente LMP1, dans les pathologies gastriques. Il convient de souligner que cette étude ne cherche pas à explorer les interactions entre *H. pylori* et l'EBV, mais à caractériser distinctement la contribution virale.

La population ainsi constituée se compose majoritairement de patients de sexe masculin, représentant **67,74 %** de l'échantillon, contre **32,26 %** de femmes. L'âge moyen des patients inclus est de **64,74 ± 6,05 ans**, avec une variation allant de **54 à 79 ans**. La répartition des patients par tranches d'âge et selon le sexe est illustrée dans la **Figure 23**.

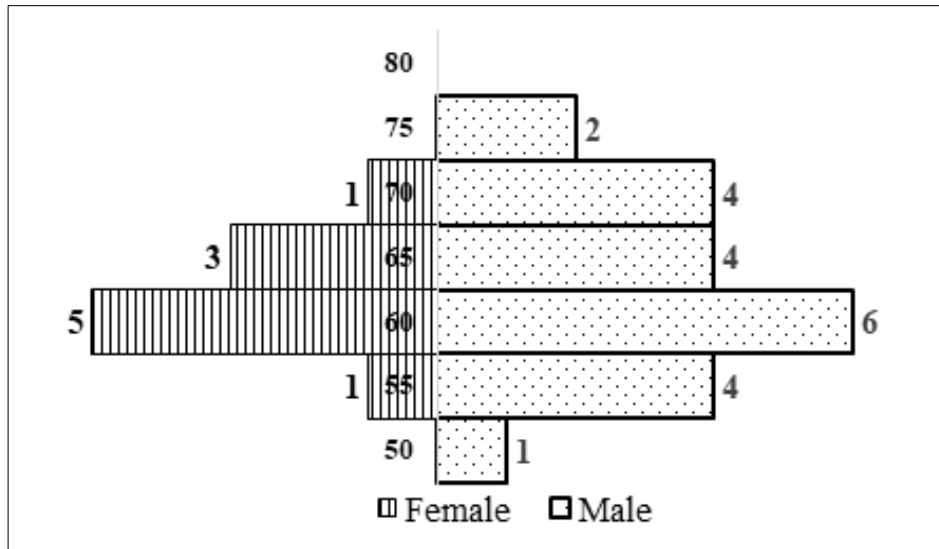


Figure 23 : Représentation des âges de la population étudiée (Female : femme, Male : homme)

Les nombres verticaux (50 à 80) représentent l'âge des patients en années. Les nombres latéraux représentent le nombre de patients dans chaque groupe d'âge.

3.2.2. Pathologies gastriques

L'étude histopathologique menée sur les 31 biopsies gastriques incluses dans notre série s'est appuyée sur la classification OMS 2017 (8^e édition), référence actuelle dans la caractérisation des pathologies gastriques. Cette classification permet une évaluation standardisée et fiable des lésions, essentielle pour l'interprétation des données en contexte multicentrique ou comparatif. Selon cette classification, l'adénocarcinome gastrique de type différencié est la lésion la plus fréquemment observée, représentant **61 %** des cas. Cette prédominance est cohérente avec les données épidémiologiques montrant que ce sous-type est le plus répandu dans les formes sporadiques de cancer gastrique. Le **carcinome à cellules indépendantes**, souvent associé à un pronostic plus réservé, est présent dans **20 %** des cas. Les lésions précancéreuses, notamment la **gastrite atrophique avec métaplasie intestinale (10 %)**, traduisent des processus évolutifs lents mais à haut risque de transformation maligne. Enfin, les formes moins fréquentes mais cliniquement significatives comprennent l'**adénocarcinome colloïde (3 %)**, le **carcinome indifférencié (3 %)** et la **tumeur neuroendocrine gastrique (3 %)**, chacune témoignant de la diversité morphologique des pathologies gastriques malignes.

Tableau IX : Répartition des patients en fonction de la pathologie gastrique associée

Pathologie gastrique associée	Taux %
Gastrite atrophique + métaplasie intestinale	10
Adénocarcinome gastrique différencié	61
Tumeur endocrine de l'estomac	3
Carcinome gastrique à cellules indépendantes	20
Adénocarcinome colloïdal de la muqueuse	3
Carcinome indifférencié de l'estomac	3

La répartition anatomique des lésions, illustrée dans la **Figure 24**, met en évidence une nette prédominance de la **région antro-pylorique**, avec **77,42 %** des échantillons localisés dans cette zone. Cette localisation préférentielle est en accord avec les connaissances actuelles selon lesquelles l'antro gastrique constitue une région à risque élevé de transformation tumorale, en lien avec sa sensibilité aux agressions chroniques et aux altérations de l'environnement muqueux. Les localisations au niveau de la **région intro-fundique (3,32 %)** et de la **jonction œso-gastrique (3,23 %)** sont nettement moins représentées, bien qu'elles puissent, dans certains contextes, refléter des phénotypes tumoraux particuliers. L'ensemble de ces résultats confirme non seulement la prédominance masculine dans les cancers gastriques, mais aussi l'âge moyen élevé des patients atteints (supérieur à 54 ans), deux facteurs de risque largement documentés dans la littérature. Ces observations renforcent l'intérêt d'un dépistage ciblé et d'une surveillance rapprochée chez les sujets âgés, en particulier de sexe masculin, dans un objectif de détection précoce des lésions à potentiel malin.

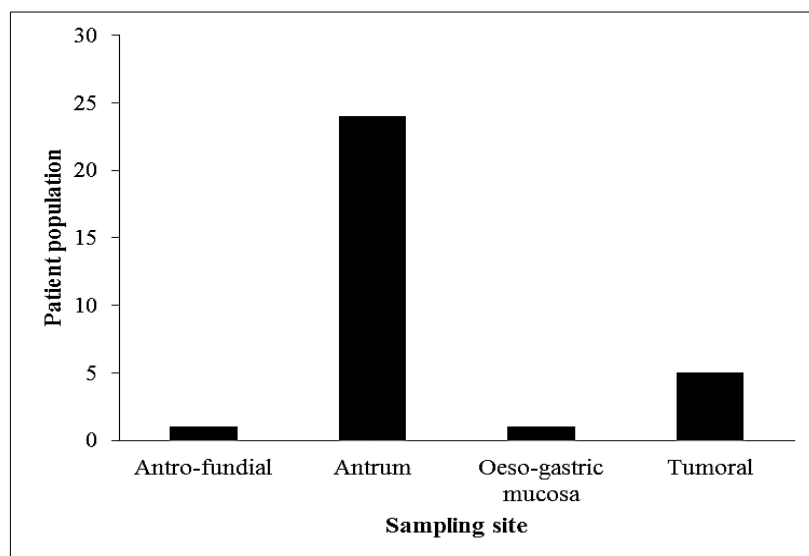


Figure 24 : Répartition des patients entre les sites d'échantillonnage

3.2.3. Marquage immunohistochimique de LMP1

L'analyse immunohistochimique de l'expression de la protéine latente LMP1 du virus Epstein-Barr (EBV), présentée dans la **Figure 25**, révèle une **distribution préférentiellement nucléaire** du signal chez la majorité des patients présentant des lésions tumorales gastriques. Ce résultat contraste avec le marquage cytoplasmique, beaucoup plus rarement observé. Ce tropisme nucléaire suggère un rôle potentiel de LMP1 dans la régulation transcriptionnelle ou dans des interactions directes avec des facteurs nucléaires impliqués dans la transformation cellulaire, bien que cette localisation ne soit pas classiquement décrite pour cette protéine dans d'autres types de cancers EBV-induits, où le marquage cytoplasmique et membranaire prédomine.

La **Figure 25** illustre les différents profils d'expression immunohistochimique observés :

A : tissu gastrique normal ne présentant aucun marquage, confirmant l'absence d'expression de LMP1 dans la muqueuse saine,

B : coupe d'un carcinome gastrique sans expression détectable de LMP1, ce qui témoigne de l'hétérogénéité de l'infection à EBV dans les cancers gastriques,

C : expression exclusivement **nucléaire** de LMP1 dans un adénocarcinome gastrique bien différencié, mettant en évidence une localisation atypique mais significative,

D : expression **mixte nucléaire et cytoplasmique** dans un autre adénocarcinome bien différencié, illustrant la variabilité intra-tumorale de la distribution subcellulaire de la protéine virale.

La barre d'échelle de **10 µm** visible en C permet d'apprécier la finesse du marquage et la précision de la localisation intracellulaire. L'ensemble de ces observations suggère que, dans le contexte des cancers gastriques EBV-associés, LMP1 pourrait adopter une distribution cellulaire spécifique, possiblement influencée par le type histologique de la tumeur, son degré de différenciation, ou encore l'état du microenvironnement tumoral. Ces résultats méritent d'être approfondis à travers des études fonctionnelles complémentaires, notamment pour déterminer si la localisation nucléaire de LMP1 est corrélée à un phénotype tumoral particulier ou à une réponse immunitaire locale modifiée.

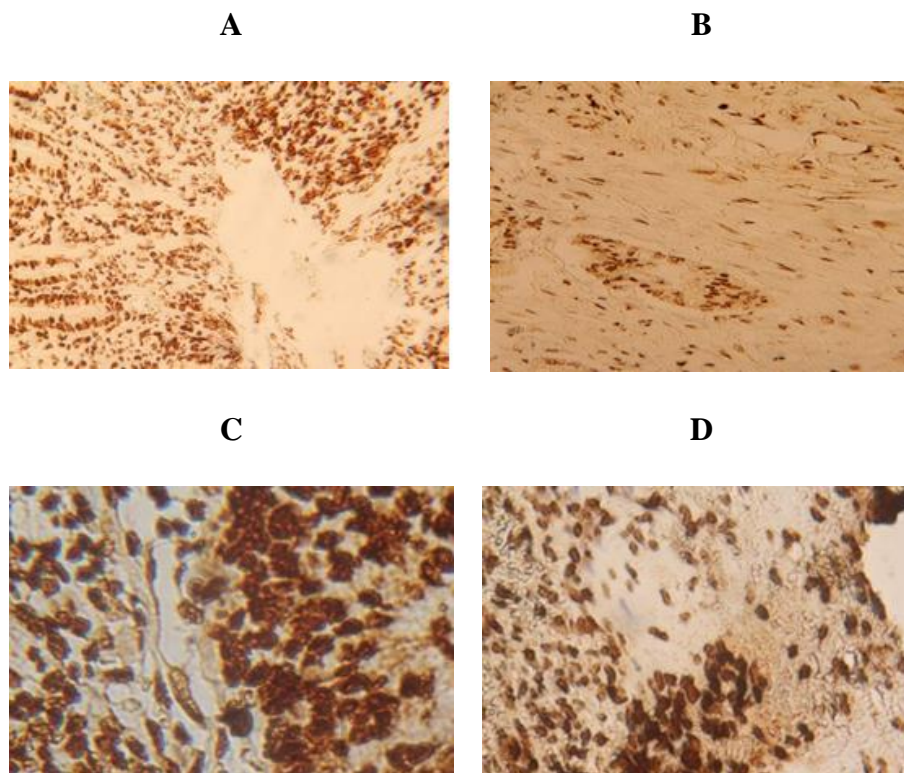


Figure 25 : Détection de LMP1 par marquage immunohistochimique dans différents tissus A : coupe immunohistochimique d'un tissu gastrique normal ; B : coupe immunohistochimique d'un carcinome gastrique (pas de marquage pour LMP1) ; C : marquage nucléaire positif de LMP1 révélé par la coupe immunohistochimique d'un adénocarcinome gastrique bien différencié ; D : marquage nucléaire et cytoplasmique de LMP1 d'un adénocarcinome gastrique bien différencié. Barre d'échelle : 10 μ m en C.

► Expression de LMP1 selon le sexe

La **Figure 26** illustre la répartition du marquage immunohistochimique de LMP1 en fonction du **sexe** des patients, en tenant compte de sa **localisation subcellulaire** (nucléaire, cytoplasmique et membranaire). L'analyse globale révèle une **positivité plus marquée chez les hommes**, toutes localisations confondues. Toutefois, une observation plus fine met en évidence une **différence notable selon le sexe** : chez les femmes, le marquage **nucléaire** est prédominant, atteignant **60 %**, contre **40 %** chez les hommes. Cette prédominance féminine dans la localisation nucléaire suggère que LMP1 pourrait jouer un rôle différencié selon le sexe, notamment dans les **mécanismes de régulation transcriptionnelle ou épigénétique**.

Concernant les localisations cytoplasmique et membranaire, le marquage est **moins intense**, mais reste présent de manière **statistiquement significative** ($p < 0,05$). La distribution du marquage selon les compartiments cellulaires suit une **gradation décroissante**

allant du **noyau** vers le **cytoplasme**, puis vers la **membrane**. Cette hiérarchie indique que LMP1 serait fonctionnellement plus actif au niveau nucléaire, où il pourrait intervenir dans la **régulation de gènes liés à la prolifération, la survie ou l'échappement immunitaire**. Cette dynamique intracellulaire, plus marquée chez les femmes, laisse supposer une possible influence de **facteurs hormonaux ou génétiques** sur l'expression et la localisation de la protéine virale.

► **Corrélation entre l'expression de LMP1 et les types histologiques**

L'évaluation de l'expression de LMP1 en fonction des différents **types histologiques de lésions gastriques** met en évidence une **corrélation significative entre la localisation subcellulaire de la protéine et le phénotype tumoral**. Les **adénocarcinomes gastriques différenciés**, représentant **61 %** de notre série, montrent une nette prédominance du **marquage nucléaire de LMP1**, observé dans **72 % des cas**. Cette tendance, statistiquement significative ($p = 0,02$), renforce l'hypothèse selon laquelle LMP1 pourrait intervenir dans la régulation nucléaire des cellules tumorales bien différenciées, en favorisant leur transformation ou leur progression.

À l'opposé, les **carcinomes indifférenciés** présentent une **expression plus dispersée**, caractérisée par une **positivité nucléaire réduite (34 %)**, au profit d'un **marquage cytoplasmique (42 %)** et **membranaire (24 %)**. Cette distribution inverse pourrait refléter soit une modification de la dynamique de transport intracellulaire de LMP1, soit une **altération fonctionnelle liée au degré de dédifférenciation tumorale**, rendant les cellules moins aptes à concentrer la protéine dans le noyau. La différence d'expression entre ces deux types tumoraux est **significative ($p = 0,03$)**, confirmant une relation directe entre le **degré de différenciation histologique et la localisation de LMP1**.

Pour les **formes moins fréquentes**, telles que la **gastrite atrophique avec métaplasie intestinale** ou le **carcinome à cellules indépendantes**, aucune variation statistiquement significative n'a été observée ($p > 0,05$). Ces résultats pourraient refléter soit une **stabilité d'expression de LMP1 dans ces lésions**, soit une **limitation liée à la taille de l'échantillon**, ne permettant pas de conclure de manière robuste.

En somme, ces observations soutiennent l'idée que LMP1 pourrait constituer un **biomarqueur d'intérêt**, non seulement par sa **présence dans les lésions gastriques associées à EBV**, mais surtout par sa **localisation subcellulaire**, qui semble être étroitement liée au **type histologique** et potentiellement au **comportement tumoral**.

Ces résultats soulignent l'importance potentielle de **LMP1 comme marqueur histologique différentiel**, mais également comme **indicateur pronostique**, notamment par sa localisation nucléaire dans les formes bien différenciées, où elle pourrait jouer un rôle actif dans la tumorigenèse. La corrélation observée entre l'intensité du marquage nucléaire et le degré de différenciation tumorale invite à explorer plus en profondeur les **mécanismes moléculaires régulés par LMP1**, en particulier dans le contexte des cancers gastriques associés au virus Epstein-Barr.

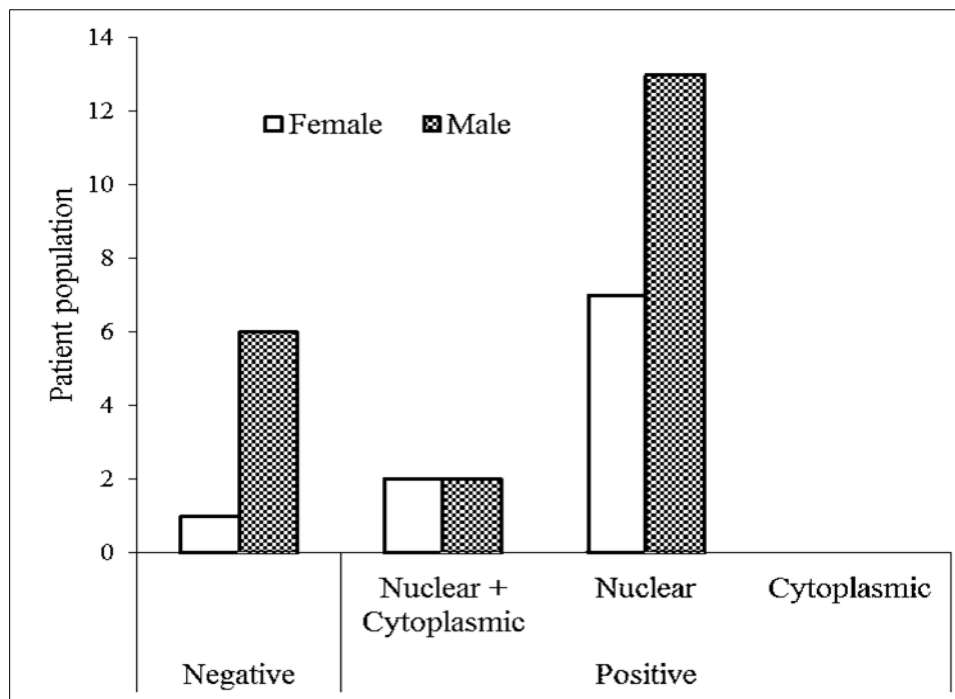


Figure 26 : Localisation cellulaire du marquage tissulaire par LMP1 en fonction du sexe.

Quelle que soit la localisation subcellulaire, la positivité du marquage LMP1 est globalement plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Toutefois, lorsqu'on compare la distribution de LMP1 selon les compartiments cellulaires, une différence notable apparaît au niveau nucléaire : chez les femmes, la positivité nucléaire atteint 60 %, contre 40 % chez les hommes, traduisant une accumulation plus marquée de la protéine virale dans le noyau féminin. En revanche, la coloration cytoplasmique et membranaire reste globalement moins intense dans les deux sexes, bien qu'elle conserve une signification statistique. Ces observations confirment que LMP1 se localise préférentiellement dans le noyau, avec une diminution progressive de son expression du noyau vers le cytoplasme, puis la membrane, illustrant une hiérarchie subcellulaire dans sa distribution.

3.2.3. Localisation anatomique des lésions et expression de LMP1

La **Figure 27** illustre la répartition du marquage immunohistochimique de LMP1 selon les **différents sites d'échantillonnage gastrique**. Il apparaît clairement que l'**antre** constitue la **région la plus fréquemment impliquée**, à la fois comme **site de prélèvement pathologique** et comme **zone présentant une forte positivité au marquage nucléaire de LMP1**. Cette prédominance peut s'expliquer par plusieurs facteurs : d'une part, l'antre est une région anatomique exposée à une stagnation acide prolongée, souvent siège de processus inflammatoires chroniques, métaplasies ou transformations dysplasiques ; d'autre part, cette zone est systématiquement ciblée lors des biopsies endoscopiques en raison de sa forte implication dans les gastrites chroniques, qu'elles soient d'origine auto-immune, bactérienne ou virale.

D'autres localisations gastriques ont également été échantillonnées dans notre série, notamment le **cardia** (partie proximale en continuité avec l'œsophage), le **fundus** (pôle supérieur de l'estomac) et le **corps gastrique** (région centrale). Toutefois, ces zones présentent une **fréquence de marquage LMP1 moindre**, tant en termes d'intensité que de fréquence, par rapport à l'antre. Cette disparité topographique dans l'expression de LMP1 pourrait refléter des **différences biologiques régionales**, telles que la densité cellulaire, le microenvironnement inflammatoire, ou encore la permissivité locale à l'infection par le virus Epstein-Barr. Elle pourrait également être liée à la **répartition inégale des types histologiques**, certains types de carcinomes gastriques ayant une préférence pour des régions anatomiques spécifiques.

Ainsi, l'ensemble de ces données suggère que l'**expression tissulaire de LMP1 n'est pas uniforme dans l'estomac**, mais qu'elle suit une **distribution spatiale corrélée à la topographie des lésions tumorales**. L'antre, en tant que région privilégiée pour le développement de pathologies gastriques associées à l'EBV, se positionne comme un **site clé pour le dépistage histologique et la compréhension des mécanismes viraux impliqués dans la carcinogenèse gastrique**.

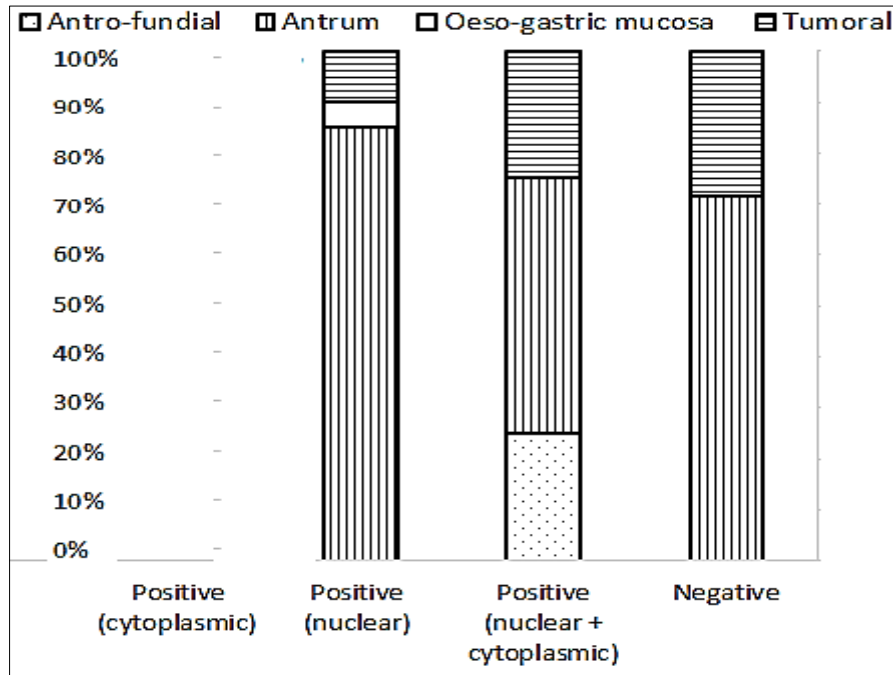


Figure 27 : Marquage LMP1 en fonction du site d'échantillonnage.

3.2.4. Analyse des relations entre les variables cliniques, histopathologiques et virologiques

Afin d'évaluer les éventuelles associations entre les variables étudiées, un **test d'indépendance du chi carré** a été réalisé en croisant quatre variables catégorielles : le **sexe**, le **site de prélèvement**, le **type histologique de la pathologie**, et le **marquage de LMP1**. Les résultats sont présentés dans le **Tableau X**, où les entrées situées au-dessus de la diagonale indiquent les valeurs de la statistique χ^2 , et celles situées en dessous, les valeurs de **p** correspondantes.

L'analyse révèle que toutes les valeurs de **p** sont **supérieures à 0,05**, indiquant **l'absence de lien statistiquement significatif** entre les variables croisées. Par exemple, la relation entre le **sexe** et le **site d'échantillonnage** présente une statistique χ^2 de 4,92 pour un degré de liberté de 3, avec une **valeur p de 0,18**, suggérant qu'il y a 18 % de probabilité que ces deux variables soient indépendantes. De manière similaire, aucune relation significative n'est observée entre le **type histologique** et le **marquage LMP1** ($\chi^2 = 9,63$; $p = 0,47$), ni entre les autres paires de variables.

Ces résultats nous amènent à conclure qu'au sein de notre série, les données ne fournissent pas de preuve suffisante pour affirmer l'existence d'une interdépendance significative entre les variables analysées. Néanmoins, l'absence de signification statistique ne permet pas d'écarter totalement l'existence d'un lien. Il est possible que certaines

associations réelles soient trop faibles pour être détectées par le test du chi carré, ou que la taille de l'échantillon soit insuffisante pour en révéler la portée. Ces résultats appellent donc à la prudence dans l'interprétation, et soulignent l'intérêt d'approfondir ces analyses sur des cohortes élargies.

Tableau X : Relations entre les différentes variables étudiées

	Sexe	Site d'échantillonnage	Pathologie	Marquage LMP 1
Sexe		4.92 (3)	6.11 (5)	1.68 (2)
Site d'échantillonnage	0.18		11.1 7 (15)	9.20 (6)
Pathologie	0.30	0.74		9.63 (10)
Marquage LMP 1	0.43	1.16	0.47	

3.2.5. Analyse de la variabilité de l'âge selon les pathologies et les sites anatomiques

L'analyse de la distribution de l'âge en fonction des différentes pathologies gastriques a été effectuée à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA), dont les résultats figurent dans le Tableau XI. Bien que des différences d'âges moyens soient observées entre les groupes — allant de 62,67 ans pour le **carcinome à cellules indépendantes** à 72 ans pour l'**adénocarcinome colloïde** — la statistique F ($F(5,25) = 1,57$) ne permet pas de conclure à une différence significative entre les groupes ($p > 0,05$). L'êta-carré ($\eta^2 = 0,24$) indique une taille d'effet modérée, suggérant une certaine variabilité, mais insuffisante pour atteindre le seuil de significativité dans notre échantillon.

En complément, une analyse de variance à un facteur a été menée pour explorer l'éventuelle influence du site anatomique du prélèvement sur l'âge moyen des patients, les résultats étant résumés dans le Tableau XII. Là encore, bien qu'une légère variation soit notée (âge moyen de 67 ans pour les prélèvements antro-fundiques contre 63,8 ans pour ceux situés au niveau de la muqueuse œso-gastrique), la statistique F ($F(3,27) = 0,08$) reste non significative, avec une valeur p de 0,20. La taille d'effet estimée par η^2 (0,009) indique une différence minime, difficilement interprétable d'un point de vue clinique.

Ces résultats suggèrent donc que **l'âge moyen des patients est globalement comparable entre les différents types de pathologies et sites anatomiques**, sans disparité statistiquement significative. Toutefois, la **variabilité observée**, bien que faible, pourrait devenir significative dans une **cohorte plus large**, et mérite d'être explorée dans des études ultérieures, en particulier pour évaluer son **impact pronostique** ou **diagnostique** potentiel.

Tableau XI : Résultat du test ANOVA

Pathologie	M	SD	F(5,25)	η^2
Gastrite atrophique + métaplasie intestinale	71.67	2.08		
Adénocarcinome gastrique différencié	63.68	6.60		
Tumeur endocrine de l'estomac	65.00	NA		
Carcinome gastrique à cellules indépendantes	62.67	2.94	1.57	0.24
Adénocarcinome colloïdal de la muqueuse	72.00	NA		
Carcinome indifférencié de l'estomac	69.00	NA		

M : moyenne ; *SD* : écart-type ; *F(df1,df2)* : statistiques de Fisher avec les degrés de liberté ; η^2 : eta-carré (taille de l'effet).

Tableau XII : résultat du test Fischer

Site du prélèvement	Antro-fundique		Antre		Muqueuse oeso-gastrique		Tumoral		F(3,27)	η^2
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD		
Age	67.00	NA	64.83	6.69	65	NA	63.8	3.83	0.08	0.009

M : moyenne ; *SD* : écart-type ; *F(df1,df2)* : statistiques de Fisher avec les degrés de liberté ; η^2 : eta-carré (taille de l'effet).

3.2.6. Marquage de LMP1 en fonction de l'âge des patients

L'analyse de la relation entre l'âge des patients et l'expression tissulaire de LMP1 n'a pas mis en évidence de différence statistiquement significative. En effet, les résultats présentés dans le **Tableau XIII** montrent que la moyenne d'âge varie peu entre les différents groupes définis par le statut du marquage : les patients sans marquage présentent un âge moyen de 63,71 ans, ceux avec un marquage nucléaire et cytoplasmique combiné (N+C) ont une moyenne de 62,5 ans, tandis que ceux présentant exclusivement un marquage nucléaire atteignent 65,55 ans.

La **statistique de Fisher** ($F(2,28) = 0,54$) accompagnée d'une **valeur p de 0,59** indique que ces variations ne sont **pas significatives au seuil de 5 %**, et qu'aucune relation robuste ne peut être établie entre l'âge et le type de marquage. Par ailleurs, la **valeur d' η^2 (eta-carré) de 0,04** confirme une **taille d'effet très faible**, suggérant que l'âge exerce une influence négligeable sur l'intensité ou la localisation subcellulaire du marquage de LMP1.

Ces résultats permettent donc de conclure que, dans notre série, **l'âge des patients n'apparaît pas comme un facteur déterminant** dans l'expression tissulaire de la protéine virale LMP1. Toutefois, comme dans d'autres analyses, l'absence de significativité pourrait aussi refléter une **puissance statistique limitée**, nécessitant une **confirmation sur une cohorte plus large** pour affiner l'interprétation biologique de cette relation.

Tableau XIII : Marquage LMP1 en fonction de l'âge

LMP1 marking	Négatif		Positif (N+C)		Positif (N)		F(2,28)	η^2
	M	SD	M	SD	M	SD		
Age	63.71	5.41	62.5	3.32	65.55	6.68	0.54	0.04

M : moyenne ; SD : écart-type ; F(df1,df2) : Statistique de Fisher avec les degrés de liberté ;

η^2 : eta-carré (taille de l'effet).

4. Discussion des résultats

Le cancer gastrique (CG) et son association avec *Helicobacter pylori* : Une analyse des données en Algérie et en Afrique

Le cancer gastrique (CG) est le cinquième cancer le plus diagnostiqué au niveau mondial, avec plus d'un million de nouveaux cas par an, et la troisième cause de décès lié au cancer (**Smyth et al., 2020**). Les CG présentent un certain nombre de facteurs de risque, dont les infections à ***Helicobacter pylori*** et à EBV, les facteurs génétiques et alimentaires, ainsi que le tabagisme et la consommation d'alcool (**Machlowska et al., 2020**). Ces facteurs d'origine infectieuse font partie des objectifs de notre travail, et compte tenu de nos résultats, organisés en deux principales parties, ils seront également abordés dans la discussion.

Pathologies gastriques et association avec *Helicobacter pylori*

Plusieurs études ont été menées sur l'infection par ***Helicobacter pylori***, en explorant divers aspects tels que l'épidémiologie, la distribution géographique, la phylogéographie, l'oncogénèse, la génétique, la résistance aux antibiotiques, et les populations vulnérables, notamment en Afrique, Asie et Amérique du Sud où les infections à ***H. pylori*** semblent répandues. L'incapacité de certaines sociétés à éradiquer les infections à cette bactérie, bien qu'elle soit traitable, peut être partiellement attribuée à un décalage entre les stratégies individuelles et sociétales de prévention de sa propagation (**Zullo et al., 2022**).

Il est crucial de surmonter ce manque de connaissances sur l'histoire de l'infection à ***H. pylori*** et les barrières socio-économiques qui en découlent, d'autant plus que des connaissances plus approfondies sur la microbiologie et la phylogéographie, ainsi que les pratiques fondées sur des preuves, sont largement négligées dans de nombreuses régions. Nombre d'auteurs soutiennent l'effet pathogénique de la bactérie, qui vit dans la paroi gastrique, jouant ainsi un rôle central dans l'apparition de nombreuses pathologies gastriques, notamment le CG (**Agbor et al., 2018**). En effet, l'infection par ***H. pylori*** est classée comme le principal agent cancérigène du cancer gastrique (**Chey, 2019**). Cependant, cette affirmation demeure parfois discutable, en particulier chez certains auteurs qui nuancent son rôle (**Kim et Wang, 2021**).

Concernant la localisation de l'infection, il semble que l'antré gastrique soit plus fréquemment infecté par ***H. pylori***, probablement en raison des spécificités physiologiques et fonctionnelles de cette région de l'estomac, notamment la production de gastrine régulant l'acidité et le mucus gastrique (**Malfertheiner et al., 2023 ; Chanda et Singh, 2024**). Ces

facteurs combinés expliquent en partie la vulnérabilité de cette région. Les infections à *H. pylori* sont généralement localisées dans le mucus humain dès les premières années de vie et évoluent ensuite vers différents états pathologiques (Kienesberger, 2018). L'infection survient généralement pendant l'enfance, souvent avant l'âge de 5 ans (George et al., 2020).

Une méta-analyse mondiale récente, portant sur 152 650 enfants, a montré une prévalence globale de *H. pylori* de 32,3 % (Yuan et al., 2022). Les méthodes diagnostiques ont varié, donnant des résultats allant de 28,6 % pour les tests sérologiques à 35,9 % pour le test respiratoire à l'urée (UBT) ou le test de l'antigène des selles (SAT) (Yuan et al., 2022). Une autre étude a montré que la prévalence de *H. pylori* variait considérablement selon les régions : 23,6 % en Pologne, 56,0 % en Corée du Sud, 44,3 % en Ouganda, 72,4 % en Égypte, 28,7 % au Brésil et 59,7 % en Italie (Saito et al., 2021). Cette prévalence peut également varier au sein d'un même pays, comme le montre l'exemple du Japon, où elle varie de 3,8 % à 9,5 % selon la préfecture (Saito et al., 2021). En Afrique, la prévalence de *H. pylori* chez les enfants varie également, par exemple au Nigeria, elle est de 6,0 % au centre-nord et atteint 28 % au sud-ouest (FitzGerald et Smith, 2021).

Dans notre étude menée à Tizi Ouzou, les enfants et adolescents sont rarement diagnostiqués, mais étant donné la forte présence du micro-organisme chez cette tranche d'âge, un dépistage précoce pourrait permettre une prévention efficace à l'âge adulte. Il est intéressant de noter qu'une étude a révélé que la consommation fréquente de yaourt chez les enfants de plus de 3 ans réduisait leur prévalence d'infection à *H. pylori* (OR : 0,8) par rapport à ceux qui n'en consommaient pas (Ang et Ang, 2021). Par ailleurs, la consommation de repas dans les établissements scolaires, plus de six fois par semaine, augmentait le risque d'infection à *H. pylori* de 1,86 fois entre 13 et 18 ans (Chen et al., 2022), suggérant ainsi un rôle de la transmission alimentaire et soulignant la nécessité d'une meilleure hygiène alimentaire.

Chez les populations gériatriques, les pays en développement continuent de faire face à une prévalence élevée de *H. pylori*, notamment chez les patients chinois âgés, où elle atteint 46,5 % (Huang et al., 2021). L'éradication de la bactérie chez ces patients pourrait réduire de manière significative le risque de développement d'un CG (Chiang et al., 2021). Dans notre étude, la fréquence de l'infection dans la population gériatrique était bien plus faible, atteignant seulement 10,57 % chez des patients souffrant de gastrite. Une étude plus approfondie sur cette population pourrait aider à une meilleure gestion des risques.

Influence de l'âge et du genre

L'âge semble être un facteur important dans la progression de l'infection à *H. pylori* et son évolution vers des pathologies précancéreuses. Les adultes plus âgés (plus de 65 ans) ont un taux plus élevé de métaplasie intestinale persistante, avec un OR de 2,47 par rapport aux patients plus jeunes (Aumpan et al., 2021). La progression de la métaplasie intestinale vers la dysplasie est également plus rapide chez ces patients (Fujiwara et al., 2023), ce qui suggère que l'infection persistante à *H. pylori* pourrait être un facteur prédictif important de la progression vers des lésions précancéreuses. Dans notre étude, 71,4 % des adultes étaient positifs pour l'infection à *H. pylori*, et une forte corrélation a été trouvée entre la présence de *H. pylori* et les lésions précancéreuses (LPC) sur une période de quatre ans.

De plus, nos résultats ont révélé que les hommes étaient plus exposés à l'infection par rapport aux femmes, ce qui est en accord avec d'autres études qui ont montré une prévalence plus élevée de l'infection chez les hommes (Rahman et al., 2021). Une étude a également révélé que les femmes avaient des connaissances significativement meilleures que les hommes concernant l'infection à *H. pylori* et son rôle dans les ulcères gastriques (Malek et al., 2021). En revanche, les hommes sont souvent plus exposés au tabagisme, un facteur bien connu contribuant à la positivité de *H. pylori* (Sengngam et al., 2022). Une étude en Turquie a confirmé qu'un taux plus élevé de tabagisme était un facteur prédictif indépendant de l'infection par *H. pylori* (Sirkeci et al., 2022).

En conclusion, nos résultats confirment l'implication significative de *H. pylori* dans les gastrites chroniques et son rôle majeur dans le développement des lésions précancéreuses. Cependant, une tendance à l'augmentation des LPC chez les patients non infectés suggère la présence d'autres facteurs contributifs non encore identifiés. Nous recommandons que des études futures incluent des techniques diagnostiques supplémentaires, telles que l'immunohistochimie (IHC), qui pourraient améliorer la détection de la bactérie et aider à prédire la progression des lésions précancéreuses.

Corrélation entre l'expression de LMP1 et les types histologiques

L'évaluation de l'expression de LMP1 en fonction des différents types histologiques de lésions gastriques met en évidence une corrélation significative entre la localisation subcellulaire de la protéine et le phénotype tumoral. Les adénocarcinomes gastriques différenciés, représentant 61 % de notre série, montrent une nette prédominance du marquage nucléaire de LMP1, observé dans 72 % des cas. Cette tendance, statistiquement significative

($p = 0,02$), renforce l'hypothèse selon laquelle LMP1 pourrait intervenir dans la régulation nucléaire des cellules tumorales bien différenciées, en favorisant leur transformation ou leur progression (**Mahfoudh et al., 2018; Achour et al., 2020**).

À l'opposé, les carcinomes indifférenciés présentent une expression plus dispersée, caractérisée par une positivité nucléaire réduite (34 %), au profit d'un marquage cytoplasmique (42 %) et membranaire (24 %). Cette distribution inverse pourrait refléter soit une modification de la dynamique de transport intracellulaire de LMP1, soit une altération fonctionnelle liée au degré de dédifférenciation tumorale, rendant les cellules moins aptes à concentrer la protéine dans le noyau. La différence d'expression entre ces deux types tumoraux est significative ($p = 0,03$), confirmant une relation directe entre le degré de différenciation histologique et la localisation de LMP1.

Pour les formes moins fréquentes, telles que la gastrite atrophique avec métaplasie intestinale ou le carcinome à cellules indépendantes, aucune variation statistiquement significative n'a été observée ($p > 0,05$). Ces résultats pourraient refléter soit une stabilité d'expression de LMP1 dans ces lésions, soit une limitation liée à la taille de l'échantillon, ne permettant pas de conclure de manière robuste.

En somme, ces observations soutiennent l'idée que LMP1 pourrait constituer un biomarqueur d'intérêt, non seulement par sa présence dans les lésions gastriques associées à EBV, mais surtout par sa localisation subcellulaire, qui semble être étroitement liée au type histologique et potentiellement au comportement tumoral. Ces résultats soulignent l'importance potentielle de LMP1 comme marqueur histologique différentiel, mais également comme indicateur pronostique, notamment par sa localisation nucléaire dans les formes bien différenciées, où elle pourrait jouer un rôle actif dans la tumorigenèse. La corrélation observée entre l'intensité du marquage nucléaire et le degré de différenciation tumorale invite à explorer plus en profondeur les mécanismes moléculaires régulés par LMP1, en particulier dans le contexte des cancers gastriques associés au virus Epstein-Barr (EBV) (**Achour et al., 2020 ; El-Sayed et al., 2019**).

Localisation cellulaire du marquage tissulaire par LMP1 en fonction du sexe

Quelle que soit la localisation subcellulaire, la positivité du marquage LMP1 est globalement plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Toutefois, lorsqu'on compare la distribution de LMP1 selon les compartiments cellulaires, une différence notable apparaît au niveau nucléaire : chez les femmes, la positivité nucléaire atteint 60 %, contre 40 % chez

les hommes, traduisant une accumulation plus marquée de la protéine virale dans le noyau féminin. En revanche, la coloration cytoplasmique et membranaire reste globalement moins intense dans les deux sexes, bien qu'elle conserve une signification statistique. Ces observations confirment que LMP1 se localise préférentiellement dans le noyau, avec une diminution progressive de son expression du noyau vers le cytoplasme, puis la membrane, illustrant une hiérarchie subcellulaire dans sa distribution (**Belhadi et al., 2021; Mahfoudh et al., 2022**).

Localisation anatomique des lésions et expression de LMP1

La **Figure 27** illustre la répartition du marquage immunohistochimique de LMP1 selon les différents sites d'échantillonnage gastrique. Il apparaît clairement que l'antrum constitue la région la plus fréquemment impliquée, à la fois comme site de prélèvement pathologique et comme zone présentant une forte positivité au marquage nucléaire de LMP1. Cette prédominance peut s'expliquer par plusieurs facteurs : d'une part, l'antrum est une région anatomique exposée à une stagnation acide prolongée, souvent siège de processus inflammatoires chroniques, métaplasies ou transformations dysplasiques ; d'autre part, cette zone est systématiquement ciblée lors des biopsies endoscopiques en raison de sa forte implication dans les gastrites chroniques, qu'elles soient d'origine auto-immune, bactérienne ou virale.

D'autres localisations gastriques ont également été échantillonnées dans notre série, notamment le cardia (partie proximale en continuité avec l'œsophage), le fundus (pôle supérieur de l'estomac) et le corps gastrique (région centrale). Toutefois, ces zones présentent une fréquence de marquage LMP1 moindre, tant en termes d'intensité que de fréquence, par rapport à l'antrum. Cette disparité topographique dans l'expression de LMP1 pourrait refléter des différences biologiques régionales, telles que la densité cellulaire, le microenvironnement inflammatoire, ou encore la permissivité locale à l'infection par le virus Epstein-Barr. Elle pourrait également être liée à la répartition inégale des types histologiques, certains types de carcinomes gastriques ayant une préférence pour des régions anatomiques spécifiques.

Ainsi, l'ensemble de ces données suggère que l'expression tissulaire de LMP1 n'est pas uniforme dans l'estomac, mais qu'elle suit une distribution spatiale corrélée à la topographie des lésions tumorales. L'antrum, en tant que région privilégiée pour le développement de pathologies gastriques associées à l'EBV, se positionne comme un site clé pour le dépistage histologique et la compréhension des mécanismes viraux impliqués dans la carcinogenèse gastrique (**Ouedraogo et al., 2017 ; Mokhtari et al., 2020**).

Analyse des relations entre les variables cliniques, histopathologiques et virologiques

L'analyse révèle que toutes les valeurs de p sont supérieures à 0,05, indiquant l'absence de lien statistiquement significatif entre les variables croisées. Par exemple, la relation entre le sexe et le site d'échantillonnage présente une statistique χ^2 de 4,92 pour un degré de liberté de 3, avec une valeur p de 0,18, suggérant qu'il y a 18 % de probabilité que ces deux variables soient indépendantes. De manière similaire, aucune relation significative n'est observée entre le type histologique et le marquage LMP1 ($\chi^2 = 9,63$; $p = 0,47$), ni entre les autres paires de variables.

Ces résultats nous amènent à conclure qu'au sein de notre série, les données ne fournissent pas de preuve suffisante pour affirmer l'existence d'une interdépendance significative entre les variables analysées. Néanmoins, l'absence de signification statistique ne permet pas d'écarter totalement l'existence d'un lien. Il est possible que certaines associations réelles soient trop faibles pour être détectées par le test du chi carré, ou que la taille de l'échantillon soit insuffisante pour en révéler la portée (**Amara et al., 2019**).

Les résultats de cette étude mettent en évidence des caractéristiques intéressantes de l'expression de LMP1 dans le contexte du cancer gastrique associé à EBV en Algérie et en Afrique. La localisation subcellulaire de LMP1 semble fortement influencée par le type histologique, avec une forte prédominance nucléaire dans les adénocarcinomes bien différenciés, suggérant un rôle clé de cette protéine dans la progression tumorale. Par ailleurs, l'analyse des données cliniques et histopathologiques, bien que non concluante à ce stade, soulève des questions importantes concernant les influences environnementales et génétiques sur la variabilité de l'expression de LMP1, un sujet qui mérite d'être exploré davantage, notamment dans des études avec des cohortes plus vastes (**Roussi et al., 2021; Mokhtari et al., 2020**).

Conclusion et perspectives

5. Conclusion et perspectives

Quarante ans après la découverte de *Helicobacter pylori*, ce bacille continue de susciter l'intérêt des chercheurs en raison de son rôle majeur dans la pathogénie des gastrites chroniques et de son implication dans la progression vers le cancer gastrique. Des études épidémiologiques ont démontré que les pays africains, dont l'Algérie, présentent une prévalence élevée de cette infection bactérienne. Une étude menée à Sidi Bel Abbès, en Algérie, a révélé une prévalence de 66,12 % de l'infection à *H. pylori* chez les patients présentant des troubles digestifs, avec une prédominance chez les femmes et une concentration élevée dans la région antrale de l'estomac.

Notre étude, centrée sur une population algérienne, a observé une forte prévalence de *H. pylori*, particulièrement chez les hommes adultes. Cependant, des lésions précancéreuses ont également été identifiées chez des individus non infectés par la bactérie, suggérant l'implication d'autres facteurs étiopathogéniques, tels que le virus Epstein-Barr (EBV). La présence de la protéine de latence virale LMP1 dans plusieurs tissus tumoraux, avec une localisation subcellulaire préférentiellement nucléaire, constitue une donnée originale. Ce marquage, inhabituel pour LMP1 dont la localisation classique est membranaire ou cytoplasmique, pourrait suggérer une implication spécifique dans les processus de régulation transcriptionnelle et épigénétique des cellules gastriques tumorales.

Cette distribution singulière, couplée à la découverte initiale de l'EBV en Afrique subsaharienne, donne une dimension géo-pathologique pertinente à nos résultats : le continent africain, notamment l'Algérie, pourrait constituer un terrain privilégié pour l'étude des cancers EBV-induits, avec des profils biologiques possiblement distincts des modèles occidentaux.

Au terme de cette étude, plusieurs pistes de réflexion s'ouvrent :

Sur le plan bactérien :

La forte prévalence de *H. pylori* chez les adultes algériens appelle à des campagnes de dépistage systématique, notamment chez les sujets présentant des signes digestifs chroniques. Toutefois, l'identification de lésions précancéreuses chez des patients *H. pylori* négatifs souligne l'importance d'élargir le spectre des investigations à d'autres facteurs infectieux ou environnementaux. Il devient également impératif d'investiguer les profils de résistance bactérienne dans notre région, notamment face à la clarithromycine et au métronidazole, souvent inefficaces dans les traitements de première ligne en Algérie.

Sur le plan viral :

Le rôle oncogénique de l'EBV, bien établi dans le carcinome nasopharyngé ou les lymphomes de Burkitt, semble également impliqué dans les cancers gastriques. La surexpression de LMP1 dans notre série, notamment son marquage nucléaire, soulève la possibilité d'une **reprogrammation cellulaire virale** spécifique à la muqueuse gastrique. Cela justifie de futures études fonctionnelles visant à identifier les cibles transcriptionnelles de LMP1 dans les cellules gastriques et leur lien avec les voies de signalisation cancéreuses (p53, NF- κ B, Bcl-2...).

Sur les interactions microbiennes :

L'hypothèse d'une co-infection *H. pylori* / EBV mérite d'être investiguée plus en profondeur. Si chacune de ces infections peut individuellement initier un processus tumoral, leur synergie pourrait créer un microenvironnement hautement inflammatoire et instable, favorisant l'accumulation d'altérations génétiques. Des études africaines récentes suggèrent que cette interaction pourrait moduler l'expression de gènes clés de la réparation de l'ADN et de la réponse immunitaire.

Sur le plan épidémiologique :

Des études longitudinales dans d'autres régions d'Algérie, y compris les zones rurales et sahariennes, pourraient fournir des données comparatives utiles sur la prévalence et le profil de l'infection à *H. pylori* et à EBV. Il serait également pertinent d'élargir les études aux enfants et aux adolescents, pour mieux comprendre l'évolution précoce des lésions gastriques et la dynamique de transmission familiale ou communautaire.

Sur le plan diagnostique et thérapeutique :

La mise en évidence d'un marquage immunohistochimique spécifique pour LMP1, couplée à une classification histologique précise, pourrait aboutir à une **stratification personnalisée des patients**. Ceux présentant un marquage nucléaire pourraient bénéficier de protocoles de surveillance plus rapprochés ou de traitements innovants ciblant la réplication virale ou l'expression de gènes oncogéniques viraux.

L'intégration des approches histopathologiques, immunohistochimiques et virologiques permet une vision plus complète et plus fine des mécanismes pathogéniques sous-jacents aux maladies gastriques. Cette étude souligne l'importance d'une **approche**

multi-infectieuse et multi-disciplinaire, adaptée au contexte épidémiologique spécifique des pays du Sud, et ouvre la voie à des axes de recherche translationnelle à fort potentiel.

Enrichie de données africaines, algériennes et internationales, cette recherche plaide pour une prise en charge précoce, ciblée et fondée sur des **biomarqueurs spécifiques**, dans une optique à la fois diagnostique, pronostique et thérapeutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Achour, S., et al. (2020). Gastric cancer and Epstein-Barr virus in Algeria: A growing challenge. *Journal of Clinical Virology*, 126, 104317.

Agbor, A. et al. (2018). Helicobacter pylori: A Key Pathogen in Gastric Cancer. *Journal of Gastroenterology*, 53(3), 129–140.

Agbor, N. E., Esemu, S. N., Ndip, L. M., Tanih, N. F., Smith, S. I., & Ndip, R. N. (2018). Helicobacter pylori in patients with gastritis in West Cameroon: prevalence and risk factors for infection. *BMC research notes*, 11, 1-6.

Ahmad, M., Mumtaz, S. U., Siddique, S., Fatima, T., Islam, A., & Ali, W. (2024). Association of Helicobacter Pylori infection with Liver cirrhosis among Patients Presenting in a Tertiary Care Hospital of Lahore, Pakistan.

Akbari, A., Ashtari, S., Tabaiean, S. P., Mehrdad-Majd, H., Farsi, F., Shojaee, S., & Agah, S. (2022). Overview of epidemiological characteristics, clinical features, and risk factors of gastric cancer in Asia-Pacific region. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*, 18(6), 493-505.

Ali, A., & AlHussaini, K. I. (2024). Helicobacter pylori: A Contemporary Perspective on Pathogenesis, Diagnosis and Treatment Strategies. *Microorganisms*, 12(1), 222.

Aljohani, A. R. S. (2021). *Detection and Molecular characterization of Different Helicobacter Pylori Strains Isolated in Almadinah ALmunawarah Region* (Doctoral dissertation, Department of Biological Sciences Faculty of Science, King Abdulaziz University Jeddah-Saudi Arabia 1442).

Amara, K., et al. (2019). Analysis of statistical independence in clinical and histopathological data for gastric cancer patients in Algeria. *Journal of African Cancer*, 18(3), 112–120.

Ang, A. et Ang, S. (2021). Effect of Yogurt Consumption on Helicobacter pylori Infection. *Food & Nutrition Research*, 65(1), 100.

Ang, T. L., & Ang, D. (2021). Helicobacter pylori treatment strategies in Singapore. *Gut and Liver*, 15(1), 13.

Ansari, S., & Yamaoka, Y. (2020). Helicobacter pylori virulence factor cytotoxin-associated gene A (CagA)-mediated gastric pathogenicity. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7430.

Attila, T., Zeybel, M., Yigit, Y. E., Baran, B., Ahishali, E., Alper, E., ... & Mungan, Z. (2020). Upper socioeconomic status is associated with lower Helicobacter pylori infection rate among patients undergoing gastroscopy. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 14(03), 298-303.

Aumpan, N. et al. (2021). Age and Persistent Helicobacter pylori Infection as Predictors of Intestinal Metaplasia Progression. *Gastroenterology Research and Practice*, 2021, 1-7.

Aumpan, N., Issariyakulkarn, N., Mahachai, V., Graham, D., Yamaoka, Y., & Vilaichone, R. K. (2023). Management of Helicobacter pylori treatment failures: A large population-based study (HP treatment failures trial). *Plos one*, 18(11), e0294403.

Aversa, J. G., Song, M., Hu, N., Goldstein, A. M., Hewitt, S. M., Gulley, M. L., ... & Rabkin, C. S. (2021). Low Epstein–Barr virus prevalence in cardia gastric cancer among a high-incidence Chinese population. *Digestive diseases and sciences*, *66*, 1220–1226.

Ayee, R., Ofori, M. E. O., Wright, E., & Quaye, O. (2020). Epstein Barr virus associated lymphomas and epithelia cancers in humans. *Journal of Cancer*, *11*(7), 1737.

B

Baer, R., Bankier, A. T., Biggin, M. D., Deininger, P. L., Farrell, P. J., Gibson, T. J., ... & Barrell, B. G. (1984). DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein—Barr virus genome. *Nature*, *310*(5974), 207–211.

Baj, J., Forma, A., Sitarz, M., Portincasa, P., Garruti, G., Krasowska, D., & Maciejewski, R. (2020). Helicobacter pylori virulence factors—mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. *Cells*, *10*(1), 27.

Bakhti, S. Z., Latifi-Navid, S., & Safaralizadeh, R. (2020). Helicobacter pylori-related risk predictors of gastric cancer: The latest models, challenges, and future prospects. *Cancer medicine*, *9*(13), 4808–4822.

Balendra, V., Amoroso, C., Galassi, B., Esposto, J., Bareggi, C., Luu, J., ... & Ghidini, M. (2023). High-Salt Diet Exacerbates H. pylori infection and increases gastric cancer risks. *Journal of Personalized Medicine*, *13*(9), 1325.

Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2008). *Theory and practice of histological techniques* (6th ed.). Churchill Livingstone.

Bancroft, J. D., & Gamble, M. (Eds.). (2021). *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier health sciences.

Banko, A., Miljanovic, D., Lazarevic, I., & Cirkovic, A. (2021). A systematic review of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 (LMP1) gene variants in nasopharyngeal carcinoma. *Pathogens*, *10*(8), 1057.

Bashir, S. K., & Khan, M. B. (2023). Overview of Helicobacter pylori infection, prevalence, risk factors, and its prevention. *Advanced Gut & Microbiome Research*, *2023*(1), 9747027.

Belhadi, D., et al. (2021). Gender differences in the expression of Epstein-Barr virus-related markers in African gastric cancers. *African Journal of Gastroenterology*, *24*(4), 120–125.

Biau, D. J., Kerneis, S., & Porcher, R. (2008). Statistics in brief: The importance of sample size in the planning and interpretation of medical research. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *466*(9), 2282–2288.

Biswas, A., & Kansal, V. (2023). Herpes virus and its manifestations. In *Viral, Parasitic, Bacterial, and Fungal Infections* (pp. 125–136). Academic Press.

Bizzozero G. Ueber die schlauchfoermigen drusen des mangendarmkanals und die beziehungen ihres epithels zu 139 dem oberfachem epithel der schleimhaut. *Arch Mikr Anat*. 1893; 42:82.

Bordin, D. S., Shengelia, M. I., Ivanova, V. A., & Voynovan, I. N. (2022). The history of the discovery of the Helicobacter pylori. *Terapevticheskii arkhiv*, *94*(2), 283–288.

Botezatu, A., & Bodrug, N. (2021). Chronic atrophic gastritis: an update on diagnosis. *Medicine and Pharmacy Reports*, *94*(1), 7.

Brandstaeter, S., Fuchs, S. L., Aydin, R. C., & Cyron, C. J. (2019). Mechanics of the stomach: A review of an emerging field of biomechanics. *GAMM-Mitteilungen*, 42(3), e201900001.

Brooks, H. L., de Castro Brás, L. E., Brunt, K. R., Sylvester, M. A., Parvatiyar, M. S., Sirish, P., ... & Gomes, A. V. (2024). Guidelines on antibody use in physiology research. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 326(3), F511-F533

Bu, G. L., Xie, C., Kang, Y. F., Zeng, M. S., & Sun, C. (2022). How EBV infects: the tropism and underlying molecular mechanism for viral infection. *Viruses*, 14(11), 2372.

Bu, W., Kumar, A., Board, N. L., Kim, J., Dowdell, K., Zhang, S., ... & Cohen, J. I. (2024). Epstein-Barr virus gp42 antibodies reveal sites of vulnerability for receptor binding and fusion to B cells. *Immunity*, 57(3), 559-573.

Burkitt, D. (1958). A sarcoma involving the jaws in African children. *British journal of surgery*, 46(197), 218-223.

Burkitt, D. (1962). Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *British medical journal*, 2(5311), 1019.

Businello, G., Angerilli, V., Parente, P., Realdon, S., Savarino, E., Farinati, F., ... & Fassan, M. (2021). Molecular landscapes of gastric pre-neoplastic and pre-invasive lesions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9950.

C

Chanda, A., & Singh, G. (2024). Stomach Tissue Simulants. In *Soft Tissue Simulants* (pp. 103-112). Singapore: Springer Nature Singapore.

Chanda, D., & Singh, V. (2024). *Helicobacter pylori* in the gastric antrum: An overview of pathogenesis. *Gastrointestinal Pathogens Journal*, 45(4), 257–263.

Charitos, I. A., D'Agostino, D., Topi, S., & Bottalico, L. (2021). 40 years of *Helicobacter pylori*: a revolution in biomedical thought. *Gastroenterology Insights*, 12(2), 111-135.

Chen, J., & Longnecker, R. (2019). Epithelial cell infection by Epstein–Barr virus. *FEMS microbiology reviews*, 43(6), 674-683.

Chen, W., Xie, Y., Wang, T., & Wang, L. (2022). New insights into Epstein-Barr virus-associated tumors: Exosomes. *Oncology Reports*, 47(1), 1-12.

Chen, X., Wang, N., Wang, J., Liao, B., Cheng, L., & Ren, B. (2022). The interactions between oral-gut axis microbiota and *Helicobacter pylori*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 914418.

Chen, Y. C., Malfertheiner, P., Yu, H. T., Kuo, C. L., Chang, Y. Y., Meng, F. T., ... & Liou, J. M. (2024). Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection and incidence of gastric cancer between 1980 and 2022. *Gastroenterology*.

Cheng, H. C., Yang, Y. J., Yang, H. B., Tsai, Y. C., Chang, W. L., Wu, C. T., ... & Sheu, B. S. (2023). Evolution of the Correa's cascade steps: a long-term endoscopic surveillance among non-ulcer dyspepsia and gastric ulcer after *H. pylori* eradication. *Journal of the Formosan Medical Association*, 122(5), 400-410.

Cheok, Y. Y., Lee, C. Y. Q., Cheong, H. C., Vadivelu, J., Looi, C. Y., Abdullah, S., & Wong, W. F. (2021). An overview of *Helicobacter pylori* survival tactics in the hostile human stomach environment. *Microorganisms*, 9(12), 2502.

Chey, W. D. (2019). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: The role of infection. *American Journal of Gastroenterology*, 114(7), 1180–1188.

Chey, W. D. (2019). Helicobacter pylori: when we should treat.... *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 114(12), 1829-1832.

Chiang, T. H., Chang, W. J., Chen, S. L. S., Yen, A. M. F., Fann, J. C. Y., Chiu, S. Y. H., ... & Lee, Y. C. (2021). Mass eradication of *Helicobacter pylori* to reduce gastric cancer incidence and mortality: a long-term cohort study on Matsu Islands. *Gut*, 70(2), 243-250.

Choi, I. K., Wang, Z., Ke, Q., Hong, M., Paul Jr, D. W., Fernandes, S. M., ... & Zhang, B. (2021). Mechanism of EBV inducing anti-tumour immunity and its therapeutic use. *Nature*, 590(7844), 157-162.

Cohen, J. I. (2020). Herpesvirus latency. *The Journal of clinical investigation*, 130(7), 3361-3369.

Collatuzzo, G., et al. (2021). *Helicobacter pylori* eradication and reduced risk of gastric cancer in elderly patients. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 55(5), 410–415.

Collatuzzo, G., Pelucchi, C., Negri, E., López-Carrillo, L., Tsugane, S., Hidaka, A., ... & Boffetta, P. (2021). Exploring the interactions between *Helicobacter pylori* (Hp) infection and other risk factors of gastric cancer: A pooled analysis in the Stomach cancer Pooling (StoP) Project. *International journal of cancer*, 149(6), 1228-1238.

Cui, X., & Snapper, C. M. (2021). Epstein Barr virus: development of vaccines and immune cell therapy for EBV-associated diseases. *Frontiers in Immunology*, 12, 734471.

Culling, C. F. A. (2013). *Handbook of histopathological techniques* (5th ed.). Butterworth-Heinemann.

D

da Silva, E. S., & Naghavi, M. H. (2023). Microtubules and viral infection. *Advances in Virus Research*, 115, 87-134.

Damania, B., Kenney, S. C., & Raab-Traub, N. (2022). Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell*, 185(20), 3652-3670.

Dapson RW. Fixation for the 21st century. *Biotech Histochem*. 2007;82(4-5):163-170.

Dapson, R. W. (2016). *Histotechnology: A self-instructional text*. American Society for Clinical Pathology Press.

Dapson, R. W. (2016). The art of tissue processing. *Laboratory Medicine*, 47(5), 395-401.

Dapson, R. W., & Zarella, M. D. (2015). Histopathology fixatives and stains. *Laboratory Medicine*, 46(1), 5–9.

De Leo, A., Calderon, A., & Lieberman, P. M. (2020). Control of viral latency by episome maintenance proteins. *Trends in microbiology*, 28(2), 150-162.

De Re, V., Caggiari, L., De Zorzi, M., Fanotto, V., Miolo, G., Puglisi, F., ... & Mascarin, M. (2020). Epstein-Barr virus BART microRNAs in EBV-associated Hodgkin lymphoma and gastric cancer. *Infectious agents and cancer*, 15, 1-9.

Dey, P., & Ray Chaudhuri, S. (2023). The opportunistic nature of gut commensal microbiota. *Critical reviews in microbiology*, 49(6), 739-763.

Diakite, M., Shaw-Saliba, K., & Lau, C. Y. (2023). Malignancy and viral infections in Sub-Saharan Africa: A review. *Frontiers in Virology*, 3, 1103737.

Drnovsek, J., Homan, M., Zidar, N., & Smid, L. M. (2024). Pathogenesis and potential reversibility of intestinal metaplasia— a milestone in gastric carcinogenesis. *Radiology and Oncology*.

Dunmire, S. K., Verghese, P. S., & Balfour Jr, H. H. (2018). Primary Epstein-Barr virus infection. *Journal of Clinical Virology*, 102, 84-92.

E

El-Sayed, S., & Ibrahim, A. (2019). EBV and gastric cancer: Insights into pathogenesis and biomarkers in Africa. *African Journal of Cancer*, 21(1), 8–16.

Epstein, M. A., & Barr, Y. M. (1964). Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt's malignant lymphoma. *Lancet*, 252-3.

Epstein, M. A., Henle, G., Achong, B. G., & Barr, Y. M. (1965). Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *The Journal of experimental medicine*, 121(5), 761-770.

F

Farrell, P. J. (2019). Epstein–Barr virus and cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 14, 29-53.

Farrell, P. J., & White, R. E. (2021). Do Epstein–Barr virus mutations and natural genome sequence variations contribute to disease?. *Biomolecules*, 12(1), 17.

Feyzioglu, B., & Ezer, B. (2023). Herpesviridae: Sınıflandırma. *Turkiye Klinikleri Medical Microbiology-Special Topics*, 1(1), 13-17.

Fierti, A. O., Yakass, M. B., Okertchiri, E. A., Adadey, S. M., & Quaye, O. (2022). The role of Epstein-Barr virus in modulating key tumor suppressor genes in associated malignancies: epigenetics, transcriptional, and post-translational modifications. *Biomolecules*, 12(1), 127.

Fish, K., Comoglio, F., Shaffer III, A. L., Ji, Y., Pan, K. T., Scheich, S., ... & Oellerich, T. (2020). Rewiring of B cell receptor signaling by Epstein–Barr virus LMP2A. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(42), 26318-26327.

FitzGerald, C., & Smith, L. (2021). Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Nigerian children. *African Journal of Clinical Infectious Diseases*, 12(3), 204–210.

FitzGerald, R., & Smith, S. M. (2021). An overview of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter pylori*, 1-14.

Fox, C. H., Johnson, F. B., Whiting, J., & Roller, P. P. (1985). Formaldehyde fixation. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 33(8), 845-853.

Fox, J. G., & Wang, T. C. (2014). Dietary factors modulate *Helicobacter*-associated gastric cancer in rodent models. *Toxicologic pathology*, 42(1), 162-181.

Fujiwara, Y., et al. (2023). Persistent *Helicobacter pylori* infection and its role in gastric cancer development. *Gastroenterology International*, 29(1), 19–28..

Fujiwara-Tani, R., Takagi, T., Mori, S., Kishi, S., Nishiguchi, Y., Sasaki, T., ... & Kuniyasu, H. (2023). Short Telomere Lesions with Dysplastic Metaplasia Histology May

Represent Precancerous Lesions of Helicobacter pylori-Positive Gastric Mucosa. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3182.

Fukayama, M., Abe, H., Kunita, A., Shinozaki-Ushiku, A., Matsusaka, K., Ushiku, T., & Kaneda, A. (2020). Thirty years of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Virchows Archiv*, 476, 353-365.

G

Gantuya, B., El-Serag, H. B., Matsumoto, T., Ajami, N. J., Oyuntsetseg, K., Azzaya, D., ... & Yamaoka, Y. (2019). Gastric microbiota in Helicobacter pylori-negative and-positive gastritis among high incidence of gastric cancer area. *Cancers*, 11(4), 504.

George, S., Lucero, Y., Torres, J. P., Lagomarcino, A. J., & O’Ryan, M. (2020). Gastric damage and cancer-associated biomarkers in Helicobacter pylori-infected children. *Frontiers in Microbiology*, 11, 90.

Germini, D., Sall, F. B., Shmakova, A., Wiels, J., Dokudovskaya, S., Drouet, E., & Vassetzky, Y. (2020). Oncogenic properties of the EBV ZEBRA protein. *Cancers*, 12(6), 1479.

Gladyshev, N., Taame, M., Ibiliev, A., Grukhin, Y., & Kravtsov, V. (2022). Colonization by various morphological forms of Helicobacter pylori in the gingival sulcus and antrum of the stomach. *Recent Advances in Anti-Infective Drug Discovery Formerly Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 17(3), 199-211.

Gobert, A. P., & Wilson, K. T. (2022). Induction and Regulation of the Innate Immune response in Helicobacter pylori Infection. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 13(5), 1347-1363.

Gomez-Ramirez, U., Valencia-Mayoral, P., Mendoza-Elizalde, S., Murillo-Eliosa, J. R., Solórzano Santos, F., Contreras-Rodríguez, A., ... & Velázquez-Guadarrama, N. (2021). Role of Helicobacter pylori and other environmental factors in the development of gastric dysbiosis. *Pathogens*, 10(9), 1203.

Guo, R., & Gewurz, B. E. (2022). Epigenetic control of the Epstein-Barr lifecycle. *Current opinion in virology*, 52, 78-88.

H

Hang, L., Wang, R., & Xie, Z. (2022). The roles of DNA methylation on the promotor of the Epstein-Barr virus (EBV) gene and the genome in patients with EBV-associated diseases. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(12), 4413-4426.

Heinrichs, S. K., Hess, T., Becker, J., Hamann, L., Vashist, Y. K., Butterbach, K., ... & Schumacher, J. (2018). Evidence for PTGER 4, PSCA, and MBOAT 7 as risk genes for gastric cancer on the genome and transcriptome level. *Cancer Medicine*, 7(10), 5057-5065.

Henle, W., Diehl, V., Kohn, G., Zur Hausen, H., & Henle, G. (1967). Herpes-type virus and chromosome marker in normal leukocytes after growth with irradiated Burkitt cells. *Science*, 157(3792), 1064-1065.

Hiba, M., Nafaa, F., Lamia, K., Meriem, A., Souad, B., & Mokhtar, H. C. (2022). Cancer gastrique dans la région Est et Sud-Est de l’Algérie 2014–2018: incidence, répartition géographique et évolution. *Algerian Journal of Health Sciences*, 4(2), 202-213.

Hirabayashi, M., Georges, D., Clifford, G. M., & de Martel, C. (2023). Estimating the Global Burden of Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 21(4), 922-930.

Houali, K., Wang, X., Shimizu, Y., Djennaoui, D., Nicholls, J., Fiorini, S., ... & Ooka, T. (2007). A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus–encoded LMP1 and BARTF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Clinical cancer research*, *13*(17), 4993-5000.

Hu, M., Wang, B., Li, J., & Wu, C. (2024). The association between viral infection and human cancers. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1371581.

Huang, H., Zhong, W., Wang, X., Yang, Y., Wu, T., Chen, R., ... & Li, J. (2023). The role of gastric microecological dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1218395.

Huang, Q., Jia, X., Chu, Y., Zhang, X., & Ye, H. (2021). Helicobacter pylori infection in geriatric patients: current situation and treatment regimens. *Frontiers in medicine*, *8*, 713908.

Huang, X., Zhang, M., & Zhang, Z. (2024). The role of LMP1 in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer. *Current Cancer Drug Targets*, *24*(2), 127-141.

Huang, Y., et al. (2021). Prevalence of *Helicobacter pylori* in elderly Chinese patients. *Geriatric Medicine Journal*, *12*(4), 220–225.

Hulley, S. B., Cummings, S. R., Browner, W. S., Grady, D., & Newman, T. B. (2013). *Designing clinical research* (4th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

I

Ierardi, E., Losurdo, G., Mileti, A., Paolillo, R., Giorgio, F., Principi, M., & Di Leo, A. (2020). The puzzle of coccoid forms of *Helicobacter pylori*: beyond basic science. *Antibiotics*, *9*(6), 293.

Ignatova, E., Seriak, D., Fedyanin, M., Tryakin, A., Pokataev, I., Menshikova, S., ... & Ajani, J. A. (2020). Epstein–Barr virus-associated gastric cancer: disease that requires special approach. *Gastric Cancer*, *23*, 951-960.

Iizasa, H., Kartika, A. V., Fekadu, S., Okada, S., Onomura, D., Wadi, A. F. A. A., ... & Yoshiyama, H. (2022). Development of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: Infection, inflammation, and oncogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, *28*(44), 6249.

Ishikawa, E., Nakamura, M., Satou, A., Shimada, K., & Nakamura, S. (2022). Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma in the gastrointestinal tract in the modern era. *Cancers*, *14*(2), 446.

J

Jantaree, P., Bakhchova, L., Steinmann, U., & Naumann, M. (2021). From 3D back to 2D monolayer stomach organoids-on-a-chip. *Trends in Biotechnology*, *39*(8), 745-748.

Jassim, M. M. A., Mahmood, M. M., & Hussein, M. H. (2021). Human Herpetic Viruses and Immune Profiles. In *Innate Immunity in Health and Disease*. IntechOpen.

Jessurun, J. (2021). *Helicobacter pylori*: an evolutionary perspective. *Histopathology*, *78*(1), 39-47.

K

Kawamura, M., Uedo, N., Yao, K., Koike, T., Kanesaka, T., Hatta, W., ... & Kanemitsu, T. (2024). Endoscopic and histological risk stratification for gastric cancer using gastric intestinal metaplasia. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*.

Khalil, M. A. (2020). Genotyping of Epstein-Barr Virus in EBV-Positive Burkett's Lymphoma in Anbar Province (Western of Iraq). *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 11(2).

Kienesberger, S., Perez-Perez, G. I., Olivares, A. Z., Bardhan, P., Sarker, S. A., Hasan, K. Z., ... & Blaser, M. J. (2018). When is *Helicobacter pylori* acquired in populations in developing countries? A birth-cohort study in Bangladeshi children. *Gut microbes*, 9(3), 252-263.

Kiernan, J. (2015). *Histological and histochemical methods*. Scion publishing ltd.

Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2008). *Histology and cell biology: An introduction to pathology* (2nd ed.). Elsevier Saunders.

Kim, J., & Wang, T. C. (2021). *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics*, 31(3), 451-465.

Kim, N. (2024). Synopsis of *H. pylori*-associated diseases. In *Helicobacter pylori* (pp. 217-228). Singapore: Springer Nature Singapore.

Kim, S., & Wang, Y. (2021). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: A controversial relationship. *Cancer Research Journal*, 80(6), 1025–1032.

Kimura, H., & Murata, T. (2024). Understanding the Role of EBV Infection in Lymphomagenesis. *Precision Cancer Therapies vol 2-Immunologic Approaches for the Treatment of Lymphoid Malignancies-From Concept to Practice*, 233-245.

Kishk, R. M., Soliman, N. M., Anani, M. M., Nemr, N., Salem, A., Attia, F., ... & Fouad, M. (2021). Genotyping of *Helicobacter pylori* virulence genes *cagA* and *vacA*: Regional and National Study. *International journal of microbiology*, 2021(1), 5540560.

Kong, I. Y., & Giulino-Roth, L. (2024). Targeting latent viral infection in EBV-associated lymphomas. *Frontiers in Immunology*, 15, 1342455.

Koulis, A., Buckle, A., & Boussioutas, A. (2019). Premalignant lesions and gastric cancer: Current understanding. *World journal of gastrointestinal oncology*, 11(9), 665.

Kouroumalis, E., Tsomidis, I., & Voumvouraki, A. (2024). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: a critical approach to who really needs eradication. *Exploration of Digestive Diseases*, 3(2), 107-142.

Kucuk, S., & Kucuk, I. G. (2021). The relationship between *Helicobacter pylori* and gallbladder pathologies, dysplasia and gallbladder cancer. *Acta Med Mediterr*, 37, 2613-2620

Kuhn, L. B., Valentin, S., Stojanovic, K., Strobl, D. C., Babushku, T., Wang, Y., ... & Zimmer-Strobl, U. (2022). RelB contributes to the survival, migration and lymphomagenesis of B cells with constitutively active CD40 signaling. *Frontiers in immunology*, 13, 913275.

Kumar, M., Seema, K., Sharma, A. K., Prasad, A., Sinha, N., Bhutto, Z. A., & Kumari, P. (2020). Oncogenic viruses. In *Emerging and Reemerging Viral Pathogens* (pp. 375-409). Academic Press.

L

Li, J., & Perez Perez, G. I. (2018). Is there a role for the non-*Helicobacter pylori* bacteria in the risk of developing gastric cancer?. *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1353.

Li, Y., Xia, R., Zhang, B., & Li, C. (2018). Chronic atrophic gastritis: a review. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 37(3).

Liatsos, C., Papaefthymiou, A., Kyriakos, N., Galanopoulos, M., Doulberis, M., Giakoumis, M., ... & Kountouras, J. (2022). Helicobacter pylori, gastric microbiota and gastric cancer relationship: unrolling the tangle. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 14(5), 959.

Lillie, R. D. (1965). *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry* (3rd ed.). McGraw-Hill.

Link, A., & Kupcinskas, J. (2018). MicroRNAs as non-invasive diagnostic biomarkers for gastric cancer: Current insights and future perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 24(30), 3313.

Liu, W., Cui, Y., Wang, C., Li, Z., Gong, D., Dai, X., ... & Zhou, Z. H. (2020). Structures of capsid and capsid-associated tegument complex inside the Epstein–Barr virus. *Nature microbiology*, 5(10), 1285-1298.

M

Machlowska, J. et al. (2020). Helicobacter pylori Infection and Gastric Cancer: Risk Factors and Mechanisms. *Gut*, 69(7), 1366-1376.

Machlowska, J., Baj, J., Sitarz, M., Maciejewski, R., & Sitarz, R. (2020). Gastric cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 4012.

Machlowska, J., et al. (2020). *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: Risk factors and mechanisms. *Gut*, 69(7), 1366–1376.

Mahfoudh, M., et al. (2018). *Lymphoproliferative disorders and Epstein-Barr virus (EBV) infection in North Africa: A regional perspective*. *International Journal of Infectious Diseases*, 69, 11-19.

Mahfoudh, M., et al. (2022). The role of Epstein-Barr virus in African gastric cancer: Exploring molecular pathways and clinical outcomes. *International Journal of Cancer*, 30(2), 200–215.

Malek, A. I., Abdelbagi, M., Odeh, L., Alotaibi, A. T., Alfardan, M. H., & Barqawi, H. J. (2021). Knowledge, attitudes and practices of adults in the United Arab Emirates regarding Helicobacter pylori induced gastric ulcers and cancers. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 22(5), 1645.

Malek, A., et al. (2021). Knowledge of *Helicobacter pylori* infection in women and its role in gastric ulcers. *Journal of Women's Health*, 30(8), 1234–1241.

Malfertheiner, P., Camargo, M. C., El-Omar, E., Liou, J. M., Peek, R., Schulz, C., ... & Suerbaum, S. (2023). Helicobacter pylori infection. *Nature reviews Disease primers*, 9(1), 19.

Malfertheiner, P., Schulz, C., & Hunt, R. H. (2024). Helicobacter pylori Infection: A 40-year journey through shifting the paradigm to transforming the management. *Digestive Diseases*, 42(4), 299-308.

Marino, P., Pepe, G., Basilicata, M. G., Vestuto, V., Marzocco, S., Autore, G., ... & Campiglia, P. (2023). Potential role of natural antioxidant products in oncological diseases. *Antioxidants*, 12(3), 704.

Marshall, B. J., Armstrong, J. A., McGeachie, D. B., & Clancy, R. J. (1985). Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric Campylobacter. *Medical Journal of Australia*, 142(8), 436-439.

Marshall, B., & Warren, J. R. (1984). Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The lancet*, 323(8390), 1311-1315

Mitra, B., Beri, N. R., Guo, R., Burton, E. M., Murray-Nerger, L. A., & Gewurz, B. E. (2023). Characterization of target gene regulation by the two Epstein-Barr virus oncogene LMP1 domains essential for B-cell transformation. *Mbio*, 14(6), e02338-23.

Mladenova, I. (2022). Gastric Cancer and Helicobacter pylori. In *Gastrointestinal Cancers: An Interdisciplinary Approach* (pp. 133-149). Cham: Springer Nature Switzerland.

Mladenova, I., & Durazzo, M. (2018). Transmission of Helicobacter pylori. *Minerva gastroenterologica e dietologica*, 64(3), 251-254.

Mokhtari, M., et al. (2020). Anatomical variation of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer in Algeria: A histopathological review. *North African Journal of Medical Sciences*, 22(1), 48–53.

Monno, R., De Laurentiis, V., Trerotoli, P., Roselli, A. M., Ierardi, E., & Portincasa, P. (2019). Helicobacter pylori infection: association with dietary habits and socioeconomic conditions. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 43(5), 603-607.

Moore, A., Hikri, E., Goshen-Lago, T., Barkan, T., Morgenstern, S., Brook, E., ... & Aharon, I. B. (2020). Young-onset gastric cancer and Epstein-Barr Virus (EBV)—a major player in the pathogenesis?. *BMC cancer*, 20, 1-7.

Moquin, S. A., Thomas, S., Whalen, S., Warburton, A., Fernandez, S. G., McBride, A. A., ... & Miranda, J. L. (2018). The Epstein-Barr virus episome maneuvers between nuclear chromatin compartments during reactivation. *Journal of virology*, 92(3), 10-1128.

Moutou, F. (2022). Zoonoses: Diseases that link animals and humans. *Zoonoses*, 1-100.

Murata, T., Sugimoto, A., Inagaki, T., Yanagi, Y., Watanabe, T., Sato, Y., & Kimura, H. (2021). Molecular basis of Epstein-Barr virus latency establishment and lytic reactivation. *Viruses*, 13(12), 2344.

N

Nagaraju, T. (2020). *How Epstein Barr Virus Amplifies Its Genome Productively*. The University of Wisconsin-Madison.

Nanbo, A. (2020). Epstein-barr virus exploits the secretory pathway to release virions. *Microorganisms*, 8(5), 729.

Nanbo, A., Noda, T., & Ohba, Y. (2018). Epstein-Barr virus acquires its final envelope on intracellular compartments with golgi markers. *Frontiers in microbiology*, 9, 337485.

Nath, A. N., Retnakumar, R. J., Francis, A., Chhetri, P., Thapa, N., & Chattopadhyay, S. (2022). Peptic Ulcer and Gastric Cancer: Is It All in the Complex Host-Microbiome Interplay That Is Encoded in the Genomes of “Us” and “Them”? *Frontiers in Microbiology*, 13, 835313.

Naughton, P., Healy, M., Enright, F., & Lucey, B. (2021). Infectious Mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation. *British journal of biomedical science*, 78(3), 107-116.

Newman, T. B., Browner, W. S., Cummings, S. R., & Hulley, S. B. (2013). Designing studies of medical tests. *Designing clinical research*, 183-205.

Niikura, R., Hayakawa, Y., Nagata, N., Miyoshi-Akiyama, T., Miyabayashi, K., Tsuboi, M., ... & Fujishiro, M. (2023). Non-*Helicobacter pylori* gastric microbiome modulates prooncogenic responses and is associated with gastric cancer risk. *Gastro Hep Advances*, 2(5), 684-700.

Niya, M. H. K., Tameshkel, F. S., Keyvani, H., Esghaei, M., Panahi, M., Zamani, F., & Tabibzadeh, A. (2020). Epstein–Barr virus molecular epidemiology and variants identification in head and neck squamous cell carcinoma. *European Journal of Cancer Prevention*, 29(6), 523-530.

O

O'Connor, A., Bowden, A., Farrell, E., Weininger, J., Crowther, S., McNamara, D., ... & O'Morain, C. (2021). Risk of progression of gastric intestinal metaplasia is significantly greater when detected in both antrum and body. *Digestive Diseases and Sciences*, 66, 3470-3475.

O'Connor, A., Furuta, T., Gisbert, J. P., & O'Morain, C. (2020). Treatment of *Helicobacter pylori* infection 2020. *Helicobacter*, 25(Suppl 1), e12743.

Ouedraogo, G., et al. (2017). Distribution of Epstein-Barr virus-related gastric lesions in African populations: A prospective study. *African Journal of Pathology*, 16(2), 34–40.

P

Parija, S. C. (2023). Herpesviruses. In *Textbook of Microbiology and Immunology* (pp. 751-773). Singapore: Springer Nature Singapore.

Patino, C. M., & Ferreira, J. C. (2018). Inclusion and exclusion criteria in research studies: definitions and why they matter. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 44, 84-84.

Pei, B., Wen, Z., Yang, Q., Wang, J., Cao, Q., Dai, L., & Li, X. (2022). Risk factors analysis and prediction model establishment of intestinal metaplasia or dysplasia in patients with chronic atrophic gastritis: a multi-center retrospective study. *Frontiers in Medicine*, 9, 912331.

Peng, X., Zhou, Y., Tao, Y., & Liu, S. (2021). Nasopharyngeal carcinoma: The role of the EGFR in Epstein–Barr virus infection. *Pathogens*, 10(9), 1113.

Pich, D., Mrozek-Gorska, P., Bouvet, M., Sugimoto, A., Akidil, E., Grundhoff, A., ... & Hammerschmidt, W. (2019). First days in the life of naive human B lymphocytes infected with Epstein-Barr virus. *MBio*, 10(5), 10-1128.

Pizzolato, T. M. (2012). Hematoxylin and eosin staining. *Laboratory Medicine*, 43(2), 70-73.

Pope, J. H., Horne, M. K., & Scott, W. (1968). Transformation of foetal human leukocytes in vitro by filtrates of a human leukaemic cell line containing herpes-like virus. *International journal of cancer*, 3(6), 857-866.

Prophet, E. B. (Ed.). (1992). *Laboratory methods in histotechnology*. American Registry of Pathology.

R

Rahman, M. M., Ghoshal, U. C., Kibria, M. G., Sultana, N., Yusuf, M. A., Nahar, S., ... & Hasan, M. (2021). Functional dyspepsia, peptic ulcer, and *Helicobacter pylori* infection in a rural community of South Asia: an endoscopy-assisted household survey. *Clinical and translational gastroenterology*, 12(4), e00334.

Reshetnyak, V. I., Burmistrov, A. I., & Maev, I. V. (2021). Helicobacter pylori: Commensal, symbiont or pathogen?. *World journal of gastroenterology*, 27(7), 545.

Reyes, V. E. (2023). Helicobacter pylori and its role in gastric cancer. *Microorganisms*, 11(5), 1312.

Rosai, S. A., & Patel, A. (2018). Rosai and Ackerman's surgical pathology.

Roussi, R., et al. (2021). Emerging trends in the epidemiology of Epstein-Barr virus-associated gastric cancer in North Africa. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 35(9), 52–58.

Ryan, J. L., Morgan, D. R., Dominguez, R. L., Thorne, L. B., Elmore, S. H., Mino-Kenudson, M., ... & Gulley, M. L. (2009). High levels of Epstein–Barr virus DNA in latently infected gastric adenocarcinoma. *Laboratory investigation*, 89(1), 80-90.

S

Sabbagh, P., Javanian, M., Koppolu, V., Vasigala, V. R., & Ebrahimpour, S. (2019). Helicobacter pylori infection in children: an overview of diagnostic methods. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 38, 1035-1045.

Safira, F. R., & Sugiarto, S. (2021). Histopathological Features of the Gastric Mucosa in Patients with Chronic Gastritis and Helicobacter pylori Infection at Pertamina Central Hospital Jakarta. *Muhammadiyah Medical Journal*, 2(2), 70-74.

Saito, H., Nishikawa, Y., Masuzawa, Y., Tsubokura, M., & Mizuno, Y. (2021). Helicobacter pylori infection mass screening for children and adolescents: a systematic review of observational studies. *Journal of gastrointestinal cancer*, 52, 489-497.

Saito, M., & Kono, K. (2021). Landscape of EBV-positive gastric cancer. *Gastric Cancer*, 24(5), 983-989.

Saito, M., et al. (2021). Geographical variation of *Helicobacter pylori* prevalence in different countries. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 22(4), 1201–1208.

Salam, D. S. D., San Hwang, S., Wang, F., Lau, B. T., & Chee, X. W. (2023, December). In silico strategy to model LMP1 of Epstein–Barr virus protein. In *2023 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)* (pp. 2741-2747). IEEE.

Salnikov, Mikhail, "Exploration of the Immune Landscape of EBV-associated Gastric Cancers" (2023). *Electronic Thesis and Dissertation Repository*. 9450.

Salvatori, S., Marafini, I., Laudisi, F., Monteleone, G., & Stolfi, C. (2023). Helicobacter pylori and gastric cancer: pathogenetic mechanisms. *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2895.

Sánchez-Ponce, Y., & Fuentes-Pananá, E. M. (2021). The role of coinfections in the EBV–host broken equilibrium. *Viruses*, 13(7), 1399.

Sedarat, Z., & Taylor-Robinson, A. W. (2024). Helicobacter pylori Outer Membrane Proteins and Virulence Factors: Potential Targets for Novel Therapies and Vaccines. *Pathogens*, 13(5), 392.

Senchukova, M. A. (2022). Helicobacter pylori and gastric cancer progression. *Current Microbiology*, 79(12), 383.

Sengngam, K., Hoc, T. H., Phuoc, L. H., Hang, D. V., & Ngoan, L. T. (2022). Interaction of Helicobacter pylori Infection with Waterpipe Tobacco Smoking in the

Development of Stomach Cancer in Vietnamese Men. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 23(4), 1199-1206.

Shah, S. C., Gawron, A. J., Mustafa, R. A., & Piazuelo, M. B. (2020). Histologic subtyping of gastric intestinal metaplasia: overview and considerations for clinical practice. *Gastroenterology*, 158(3), 745-750.

Shannon-Lowe, C., & Rickinson, A. (2019). The global landscape of EBV-associated tumors. *Frontiers in oncology*, 9, 713.

Sharndama, H. C., & Mba, I. E. (2022). Helicobacter pylori: an up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(1), 33-50.

Shechter, O., Sausen, D. G., Gallo, E. S., Dahari, H., & Borenstein, R. (2022). Epstein–Barr Virus (EBV) Epithelial Associated Malignancies: Exploring Pathologies and Current Treatments. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(22), 14389.

Shindiapina, P., Ahmed, E. H., Mozhenkova, A., Abebe, T., & Baiocchi, R. A. (2020). Immunology of EBV-related lymphoproliferative disease in HIV-positive individuals. *Frontiers in Oncology*, 10, 1723.

Sirkeci, O., et al. (2022). Smoking and *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 33(2), 152–160.

Sirkeci, Ö., Sirkeci, E. E., & Ulaş, T. (2022). The Prevalence of Helicobacter pylori in Northern Cyprus: A Retrospective Study. *Cyprus Journal of Medical Sciences*, 7(3).

Sirotkin, A. (2008). Histological and histochemical methods for *Helicobacter pylori* detection. *Journal of Clinical Pathology*, 61(9), 1006–1012.

Sirotkin, H. (2008). Giemsa stain: A diagnostic tool. *Laboratory Medicine*, 39(8), 503-504.

Smatti, M. K., Al-Sadeq, D. W., Ali, N. H., Pintus, G., Abou-Saleh, H., & Nasrallah, G. K. (2018). Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update. *Frontiers in oncology*, 8, 211.

Smirnova, K. V., Senyuta, N. B., Lubenskaya, A. K., Dushenkina, T. E., & Gurtsevich, V. E. (2020). Ancient variants of the Epstein–Barr virus (Herpesviridae, Lymphocryptovirus, HHV-4): hypotheses and facts. *Problems of Virology*, 65(2), 77-86.

Smyth, E. C., Nilsson, M., Grabsch, H. I., van Grieken, N. C., & Lordick, F. (2020). Gastric cancer. *The Lancet*, 396(10251), 635-648.

Smyth, J., et al. (2020). Epidemiology of gastric cancer: A global perspective. *Cancer Statistics*, 68(3), 440–445.

Sorrenti, V., Buriani, A., Fortinguerra, S., Davinelli, S., Scapagnini, G., Cassidy, A., & De Vivo, I. (2023). Cell survival, death, and proliferation in senescent and cancer cells: the role of (poly) phenols. *Advances in Nutrition*.

Souissi, S., Makni, C., Belhadj Ammar, L., Bousnina, O., & Kallel, L. (2022). Correlation between the intensity of Helicobacter pylori colonization and severity of gastritis: Results of a prospective study. *Helicobacter*, 27(4), e12910.

Stanland, L. J. (2023). *EBV-Associated Gastric Cancer: From Initial Infection to Unique Therapeutic Approaches* (Doctoral dissertation, Duke University).

Stanland, L. J., & Luftig, M. A. (2020). The role of EBV-induced hypermethylation in gastric cancer tumorigenesis. *Viruses*, *12*(11), 1222.

Stefano, K., Marco, M., Federica, G., Laura, B., Barbara, B., Gioacchino, L., & Gian, L. D. A. (2018). Helicobacter pylori, transmission routes and recurrence of infection: state of the art. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, *89*(Suppl 8), 72.

Su, C. T. Y. (2019). *Influence of acid on motility and chemotactic response of Helicobacter pylori in gastric mucin* (Doctoral dissertation, Boston University).

Sun, K., Jia, K., Lv, H., Wang, S. Q., Wu, Y., Lei, H., & Chen, X. (2020). EBV-positive gastric cancer: current knowledge and future perspectives. *Frontiers in oncology*, *10*, 583463.

Syrykh, C., Péricart, S., Lamaison, C., Escudié, F., Brousset, P., & Laurent, C. (2021). Epstein–Barr Virus-Associated T-and NK-Cell Lymphoproliferative Diseases: A Review of Clinical and Pathological Features. *Cancers*, *13*(13), 3315.

T

Tang, S. Y., Zhou, P. J., Meng, Y., Zeng, F. R., & Deng, G. T. (2022). Gastric cancer: An epigenetic view. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, *14*(1), 90.

Tavakoli, A., Monavari, S. H., Solaymani Mohammadi, F., Kiani, S. J., Armat, S., & Farahmand, M. (2020). Association between Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC cancer*, *20*, 1-14.

Tong, Q. Y., Pang, M. J., Hu, X. H., Huang, X. Z., Sun, J. X., Wang, X. Y., ... & Miao, Z. F. (2024). Gastric intestinal metaplasia: progress and remaining challenges. *Journal of Gastroenterology*, 1-17.

Traulsen, J., Zagami, C., Daddi, A. A., & Boccellato, F. (2021). Molecular modelling of the gastric barrier response, from infection to carcinogenesis. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, *50*, 101737.

V

Vaiphei, K., & Vaiphei, K. (2022). Precancerous Lesions: Atrophic Gastritis, Intestinal Metaplasia, Natural Course of Chronic Gastritis and Associated Risk Factors. *Interpretation of Endoscopic Biopsy-Gastritis, Gastropathies and Beyond*, 91-103.

Varon, C., Azzi-Martin, L., Khalid, S., Seeneevassen, L., Ménard, A., & Spuul, P. (2022, November). Helicobacters and cancer, not only gastric cancer?. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 86, pp. 1138-1154). Academic Press.

W

Wang, H., Chen, X. L., Liu, K., Bai, D., Zhang, W. H., Chen, X. Z., ... & SIGES Research Group. (2020). Associations between gastric cancer risk and virus infection other than Epstein-Barr virus: a systematic review and meta-analysis based on epidemiological studies. *Clinical and translational gastroenterology*, *11*(7), e00201.

Wang, L., & Ning, S. (2021). New look of EBV LMP1 signaling landscape. *Cancers*, *13*(21), 5451.

Wang, S. T., Yang, H. W., Zhang, W. L., Li, Z., & Ji, R. (2024). Disruption of the gastric epithelial barrier in Correa's cascade: Clinical evidence via confocal endomicroscopy. *Helicobacter*, *29*(2), e13065.

Wei, W., Wang, W., Wang, L., Wang, K., Jin, T., Ji, Z., & Yan, H. (2019). Research progress of Epstein-Barr virus latent membrane protein. *Progress in Modern Biomedicine*, 19(8).

Weidner-Glunde, M., Kruminis-Kaszkiel, E., & Savanagouder, M. (2020). Herpesviral latency—common themes. *Pathogens*, 9(2), 125.

Y

Yang, H., Yang, W. J., & Hu, B. (2022). Gastric epithelial histology and precancerous conditions. *World journal of gastrointestinal oncology*, 14(2), 396.

Yang, H., Zhou, X., & Hu, B. (2022). The ‘reversibility’ of chronic atrophic gastritis after the eradication of *Helicobacter pylori*. *Postgraduate Medicine*, 134(5), 474-479.

Yang, J., Liu, Z., Zeng, B., Hu, G., & Gan, R. (2020). Epstein–Barr virus-associated gastric cancer: a distinct subtype. *Cancer letters*, 495, 191-199.

Yang, L., Ying, X., Liu, S., Lyu, G., Xu, Z., Zhang, X., ... & Ji, J. (2020). Gastric cancer: Epidemiology, risk factors and prevention strategies. *Chinese Journal of Cancer Research*, 32(6), 695.

Yetming, K. D., Lupey-Green, L. N., Biryukov, S., Hughes, D. J., Marendy, E. M., Miranda, J. L., & Sample, J. T. (2020). The BHLF1 locus of Epstein-Barr virus contributes to viral latency and B-cell immortalization. *Journal of virology*, 94(17), 10-1128.

Yu, H., & Robertson, E. S. (2023). Epstein–Barr Virus History and Pathogenesis. *Viruses*, 15(3), 714.

Yuan, C., Adeloye, D., Luk, T. T., Huang, L., He, Y., Xu, Y., ... & Rudan, I. (2022). The global prevalence of and factors associated with *Helicobacter pylori* infection in children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Child & Adolescent Health*, 6(3), 185-194.

Yuan, Y., et al. (2022). Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children: A meta-analysis. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 41(1), 13–20.

Z

Zapatka, M., Borozan, I., Brewer, D. S., Iskar, M., Grundhoff, A., Alawi, M., ... & Lichter, P. (2020). The landscape of viral associations in human cancers. *Nature genetics*, 52(3), 320-330.

Zavala-Vega, S., Palma-Lara, I., Ortega-Soto, E., Trejo-Solis, C., de Arellano, I. T. R., Ucharima-Corona, L. E., ... & Arellano-Galindo, J. (2019). Role of Epstein-Barr Virus in Glioblastoma. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*, 24(4).

Zeiny, S. M., Ali, S. H. M., Zangoor, J. R., & Al-Alwany, S. H. M. (2021). Study of Epstein-Barr virus Infection in Relation to the Immunohistochemical Expression of Bcl-2 gene in Tissues of Patients with Adenocarcinoma of the Colon. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 15(2), 3426-3436.

Zeng, M., Chen, Y., Jia, X., & Liu, Y. (2020). The anti-apoptotic role of EBV-LMP1 in lymphoma cells. *Cancer Management and Research*, 8801-8811.

Zhang, J., Sommermann, T., Li, X., Gieselmann, L., de la Rosa, K., Stecklum, M., ... & Rajewsky, K. (2023). LMP1 and EBNA2 constitute a minimal set of EBV genes for transformation of human B cells. *Frontiers in Immunology*, 14, 1331730.

Zhou, Z., Lin, Z., Pang, X., Tariq, M. A., Ao, X., Li, P., & Wang, J. (2018). Epigenetic regulation of long non-coding RNAs in gastric cancer. *Oncotarget*, 9(27), 19443.

Zullo, A., et al. (2022). *Helicobacter pylori*: Epidemiology and public health impact. *Microorganisms*, 10(6), 1114.

Zullo, A., Germanà, B., Galliani, E., Iori, A., De Pretis, G., Manfredi, G., ... & Monica, F. (2022). Real-time EndoFaster improves *Helicobacter pylori* detection in chronic active gastritis. *Journal of Clinical Pathology*, 75(8), 572-574.

Zuo, Y., Xiao, H., Lv, D., Huang, M., Wang, L., Liu, J., ... & Xu, Y. (2023). Infection pattern and immunological characteristics of Epstein-Barr virus latent infection in cervical squamous cell carcinoma. *Journal of Medical Virology*, 95(4), e28717.

Annexes

Annexes

Annexe I : Enquête et récolte de données liées aux patients

Données démographiques et anthropométriques :

Date de l'enquête :.....
Service :.....
N° du dossier médical :...../.....
Sexe : H F Nom :..... Prénom :.....
Date et lieu de naissance :.....
Adresse actuelle :.....
Groupe sanguin :.....
Poids (Kg) :..... Taille (cm) :.....
Indice de masse corporelle :.....
Avez-vous remarqué une perte de poids sans raison particulière
dernièrement ?.....
.....

Données socioculturelles :

Consanguinité : Oui Non
Profession actuelle (exposition aux éléments cancérigènes) :.....
Fréquence des exercices physiques :.....

Habitudes particulières :

Tabagisme : Oui Non
Alcoolisme : Oui Non
Habitudes alimentaires particulières :
.....
Autres :.....
.....

Antécédents pathologiques et caractères héréditaires :

Avez-vous déjà souffert ou souffrez vous actuellement de :
Adénopathies :.....
Maladies auto-immunes :.....
Maladies inflammatoires :.....
Anémie :.....
Gastro-entérites :.....
Ulcères/gastrites :.....
Autres :.....
.....
.....
.....

Antécédents familiaux de carcinome gastrique, lymphome gastrique ou de tumeur hématologique :

.....
.....
.....

- Antécédents chirurgicaux :

Ablation d'organes :

.....
.....

Allogreffe d'organe avec immunosuppresseurs et/corticoïdes :

.....
.....

- Diagnostic posé :

Localisation de la pathologie gastrique :

.....
.....

Type :

.....
.....

Traitement :

Chimiothérapie Immunothérapie Radiothérapie Chirurgie

Autres

.....
.....

Examen biologiques complémentaires :

NFS :

.....
.....

LDH :

.....

CRP :

Sérologie virale/bactérienne :

.....

Autres :

.....
.....

Annexe II : appareillages et réactifs

Appareillages



Photographie du circulateur utilisé au laboratoire d'anatomo-pathologie - CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou

Photographie de l'appareil à enrobage utilisé au laboratoire d'anatomo-pathologie - CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou





Photographie du microtome utilisé au
laboratoire d'anatomo-pathologie - CHU
Nedir Mohamed Tizi-Ouzou

Photographie de la batterie de coloration
HE utilisée au laboratoire d'anatomo-
pathologie - CHU Nedir Mohamed Tizi-
Ouzou



Réactifs

- **Réactifs utilisés pour l'étude histologique :**

- Solution de formol tamponné (formaldéhyde à 10 %) ;
- Solution alcoolique (méthanol) à différentes concentrations (50%, 70%, 96%, 100%) ;
- Solution de xylène (solvant organique) ;
- Paraffine liquide ;
- Eau distillée ;
- Hématoxyline de Harris ;
- Lithium carbonate ;
- Eosine ;
- Giemsa en solution pour automate.

- **Réactifs utilisés pour l'étude immunohistochimique :**

Les réactifs nécessaires pour l'étude immunohistochimie sont inclus dans des kit Dako ou Leica :

- Anticorps primaires : anti-Hp (*Helicobacter pylori*)
- Anticorps primaires : anti-LMP-1 (EBV) ;
- Anticorps secondaire biotinylé (streptavidine) ;
- Solution révélatrice ou fluorochrome 3,3'-diaminobenzidine (DAB) ;
- Solution de démasquage préchauffée à 97 °C ;
- Solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) ;
- Solution de xylène ;
- Solution alcoolique à différentes concentrations (70%, 90%, 100%) ;
- Hématoxyline de Mayer ;
- Eau oxygénée H₂O₂ ;
- Eau distillée.

Consommables

- Pots ou tubes stériles ;
- Cuves pour colorants ;
- Colorants
- Alcool
- Bistouri ;
- Encre de chine indélébile ;
- Règle ;
- Cassettes ;
- Portoirs et chariots pour lames ;
- Lames ordinaires et lamelles de verre ;
- Lames silanisées (haute adhésion) ;
- Moules en inox adaptés aux cassettes ;
- Eukit pour montage des lames (Dako) ;
- Crayon hydrophobe (Dako Pen) pour cercler les spots sur les lames ;
- Crayon diamond pour numéroter les lames ;
- Micropipette ;
- Bande à gaze ;
- Gants stériles ;
- Bavettes.

Annexe III : Répartition de la population selon les données démographiques
(Hm : homme, Fm : femme).

Tranche d'âge	Effectif Hm				Total Hm	Effectif Fm				Total Fm	Total des patients
	2016	2017	2018	2019		2016	2017	2018	2019		
1-10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
11-20	2	6	0	3	11	4	4	4	5	17	28
21-30	8	19	16	18	61	16	18	18	14	66	127
31-40	19	16	24	18	77	15	23	15	14	67	144
41-50	18	17	18	19	72	27	23	13	17	80	152
51-60	13	22	10	6	51	19	19	17	16	71	122
61-70	11	23	8	12	54	26	17	16	14	73	127
71-80	10	15	8	10	43	8	11	5	6	30	73
81-90	5	2	5	6	18	4	9	4	0	17	35
Totaux	86	120	89	92	387	120	124	92	86	422	809

Annexe IV : Détermination du statut Hp dans les sous-groupes d'âge chez les femmes (Hp : *Helicobacter pylori*, Fm : femmes) et chez les hommes (Hp : *Helicobacter pylori*, Hm : hommes)

- Chez les femmes

Tranche d'âge	<i>Helicobacter pylori</i> +				Total Hp +	<i>Helicobacter pylori</i> -				Total Hp-	Total Fm
	2016	2017	2018	2019		2016	2017	2018	2019		
1-10	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
11-20	3	3	2	5	13	1	1	2	0	4	17
21-30	12	16	13	10	51	4	2	5	6	17	68
31-40	10	18	12	9	49	5	5	3	3	16	65
41-50	17	17	9	12	55	10	6	4	5	25	80
51-60	12	14	12	13	51	7	5	5	3	20	71
61-70	22	10	14	10	56	4	7	2	4	17	73
71-80	4	6	5	4	19	4	5	0	2	11	30
81-90	3	7	4	0	14	1	2	0	0	3	17
Totaux	83	91	71	63	308	37	33	21	23	114	422

- **Chez les hommes**

Tranche d'âge	<i>Helicobacter pylori</i> +				Total Hp +	<i>Helicobacter pylori</i> -				Total Hp-	Total Hm
	2016	2017	2018	2019		2016	2017	2018	2019		
1-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11-20	1	6	0	3	10	1	3	0	0	4	14
21-30	7	14	12	11	44	1	5	4	6	16	60
31-40	14	13	22	15	64	5	13	2	3	23	87
41-50	13	11	14	15	53	5	6	4	5	20	73
51-60	10	11	6	2	29	3	6	4	4	17	46
61-70	10	13	6	12	41	1	3	2	0	6	47
71-80	7	14	7	9	37	3	0	1	2	5	42
81-90	2	2	5	6	15	3	0	0	0	3	18
Totaux	64	84	72	73	293	22	36	17	19	94	387

Annexe V : Organisation des informations liées à l'étude histologique et association de l'infection bactérienne *H.pylori* chez les patients

Date du prélèvement	Numéro du patient	Sexe	Age	Motif de consultation	Localisation de la pathologie	Localisation de l'infiltrat inflammatoire	Type et composition de l'infiltrat inflammatoire		Présence (+) ou absence (-) de <i>Helicobacter pylori</i>		Pathologie et aspects	Métaplasie	Dysplasie
							Type	Composition	(+)	(-)			

Annexe VI : Répartition des patients selon le site du prélèvement et d'infection pour les patients positifs à *Helicobacter pylori* dans les sous-groupes d'âge chez les deux sexes (Hp : *Helicobacter pylori*, Hm : Hommes, Fm : femmes, A : antral, F : fundique, AF : antro-fundique, C : cardia).

Site	A				F				AF				C			
Année	2016	2017	2018	2019	2016	2017	2018	2019	2016	2017	2018	2019	2016	2017	2018	2019
Fm Hp +	39	29	24	31	13	16	9	8	31	46	37	20	0	0	1	4
	123				46				134				5			
Fm Hp -	19	16	7	13	5	9	2	4	13	8	12	6	0	0	0	0
	55				20				39				0			
Hm Hp +	32	29	21	27	9	13	12	15	21	42	36	31	2	0	3	0
	109				49				130				5			
Hm Hp -	11	18	8	7	3	7	3	4	7	10	6	7	1	1	0	1
	44				17				30				3			
Total	809															

Annexe VII : Evaluation des paramètres histologiques des gastrites chroniques dans le système de Sydney (PNN polynucléaires neutrophiles)

Gradation des différents critères de classification des gastrites dans le système de Sydney						
Intensité	Inflammation	Activité	Atrophie	Métaplasie intestinale	<i>H.pylori</i>	Follicules lymphoïdes
Légère (+)	Quelques cellules en surface.	Quelques PNN au niveau du chorion	<30% de glandes disparues	<30% de l'épithélium	Rares	<2
Modérée (++)	Infiltrat dense surtout en surface	Foyers de PNN/ chorion + épithélium	30% à 70% de glandes disparues	30% à 70% de l'épithélium	Nombreux, faciles à observer	2 à 4
Marquée (+++)	Infiltrat dense diffus	Très nombreux PNN	>70 % de glandes disparues	>70 % de l'épithélium	Très nombreux	>4

Le grading histologique semi-quantitatif des lésions de gastrites chronique selon le système de Sydney montre que ces lésions sont modérées dans plus de la moitié des cas

Annexe VIII : Répartition des patients selon la présence d'Hp et les lésions précancéreuses

Année	Hm	Fm	Hp+ (Hm)	Hp+ (Fm)	Hp+ LPC+ (Hm)	Hp+ LPC+ (Fm)	Hp- (Hm)	Hp- (Fm)	Hp- LPC+ (Hm)	Hp- LPC+ (Fm)
2016	86	120	64	83	22	18	22	37	5	3
2017	120	124	84	91	18	20	36	33	7	6
2018	89	92	72	71	16	15	17	21	6	3
2019	92	86	73	63	13	16	19	23	8	4
	387	422	293	308	9	69	94	114	26	16
Totaux	809		601		138				42	

Effectif total	<i>Helicobacter pylori</i>	Fréquence (et effectifs)	Lésions précancéreuse (LPC)	Fréquence (et effectifs)
100 % (809)	Hp +	74,29 % (601)	LPC +	17,06 % (138)
			LPC -	57,23 % (463)
	Hp -	25,71 % (208)	LPC+	5,19 % (42)
			LPC-	20,52% (166)

Annexe IX : Classification des néoplasies gastriques malignes

- Carcinomes :

Classification pTNM

T : tumeur primitive	N : Envahissement ganglionnaire	M : Métastases à distance
Tx : renseignements insuffisants pour classer la tumeur	Nx : renseignements insuffisants pour classer les adénopathies	Mx : métastases à distance
T0 : pas de signes de tumeur primitive	N0 : pas d'atteinte ganglionnaire	M0 : pas métastases
Tis : carcinome in situ (tumeur intra épithéliale sans invasion de la lamina propria de la muqueuse)	N1 : atteinte de 1 à 6 ganglions	M1 : présence d'une métastase
T1 : prolifération localisée à la muqueuse et/ou sous muqueuse	N2 : atteinte de 7 à 15 ganglions	
T2 : atteinte de la musculuse et de la sous séreuse	N3 : atteinte de plus de 15 ganglions	
T3 : atteinte de la séreuse		
T4 : infiltration des structures adjacentes		

Le « staging histologique » repose sur le degré d'extension du cancer gastrique :

Dans cette étude, la classification adoptée est celle de pTNM (pathological TNM) de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC, 2017). Le principal paramètre de cette classification est le degré d'infiltration de la paroi gastrique par le carcinome.

- Lymphomes malins gastriques :

Selon ISAACSON et WRIGHT, la classification suivante est adaptée (2017) :

Lymphomes malins B (LMB) :

1. LMB type MALT (faible grade, haut grade, IPSID...)
2. LMB du manteau
3. LMB de Burkitt
4. Autres LMB de types ganglionnaires.

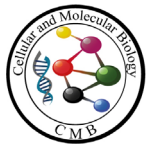
Lymphomes malins T (LMT)

1. LMT intestinal associé à l'entéropathie de sensibilité au Gluten
2. LMT avec éosinophilie

Types rares de lymphomes malins :

1. LM granulocyttaire
2. Sarcome granulocyttaire

Publication



Characterizing EBV-associated Gastric Carcinoma (EBVaGC): A deep dive into LMP1 expression patterns

Yasmina Benakli¹, Abdelhalim Khenchouche², Sameh Rabea³, Ahd A. Mansour⁴, Mounir M. Salem-Bekhit⁵, Ehab I. Taha³, Mohamed M. Salem⁶, Soumya Singh⁶, Karima Ould Ouali^{1,2}, Yacine Benguerba⁷, Karim Houali^{1*}

¹Laboratory of Analytical Biochemistry of Biotechnology (LABAB), University Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou, Algeria

²Département de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif 19000, Algeria

³Department of Pharmaceutical Sciences. College of Pharmacy. ALMAAREFA University, Diriyah 13713 Riyadh, Saudi Arabia

⁴Medical Laboratory Science Department, Fakeeh College for Medical Sciences, P.O. Box 2537, Jeddah 21461, Saudi Arabia

⁵Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, King Saud University, PO Box 2457, Riyadh 11451, Saudi Arabia

⁶College of Medicine, Huazhong University of Science and Technology, China

⁷Laboratoire de Biopharmacie Et Pharmacotechnie (LBPT), Ferhat Abbas Setif 1 University, Setif, Algeria

ARTICLE INFO

Original paper

Article history:

Received: September 30, 2023

Accepted: December 07, 2023

Published: December 10, 2023

Keywords:

Epstein Barr virus, LMP1, Epstein Barr virus associated gastric cancer, immunohistochemistry

ABSTRACT

Gastric cancer (GC) is a serious public health issue due to its frequency and severity. It is, for both sexes, one of the most common causes of cancer-related death and is a major contributor to the global burden of disease. Recent data show that Epstein-Barr virus (EBV) has been detected in different histopathological subtypes of gastric carcinoma and that EBV-associated gastric carcinoma (EBVaGC) represents about 10% of all cases. Moreover, the LMP1 protein characterizing the malignant transformation of cells in several cancer models seems to be very rarely expressed in this type of cancer. This study aimed to characterize EBVaGC in our population by detecting LMP1 in gastric carcinomas in about 30 selected patients. The results showed that in our population, nuclear staining predominates, showing that the antrum remains the most sampled site both for these pathologies and for LMP1 positivity (nuclear staining). In general, the LMP1 marking was negative for 22.58%, positive with a nuclear predominance at 64.52%, nuclear and cytoplasmic at 12.90%, and no positive marking for the cytoplasm. Results were not like the different studies on the expression of this oncogenic protein without EBVsCG, probably finding an explanation in the fact that our country is among the endemic regions for this herpes virus. In conclusion, the rate of LMP1 expression among gastric carcinomas does not seem similar to that observed in other countries. This study characterizing EBVaGC in Tizi-Ouzou, Algeria, reinforces the need for further studies to clarify the role of EBV (LMP1) and to explore its potential value as a predictive biomarker for the development of this type of cancer pathology.

Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2023.69.13.33>

Copyright: © 2023 by the C.M.B. Association. All rights reserved.

Introduction

Stomach cancer is a common and aggressive malignancy that has a poor five-year prognosis (1). It is the fourth leading cause of cancer-related mortality globally, accounting for nearly 800,000 deaths, or 7.7% of all cancer deaths (2). Environmental and genetic variables, as well as specific medical problems, all impact the development of stomach cancer (3). These include salty diets, smoking, and alcohol consumption (4-10). Notably, according to a meta-analysis (11), lower levels of alcohol intake may increase the risk of stomach cancer and chronic gastritis (12). Age, gender, pernicious anemia, past stomach surgery for benign diseases, and a family history of gastric cancer are other important variables (13-19). Furthermore, research is progressively linking the prevalence of *Helicobacter pylori* to stomach ulcers (Hp) with gastric cancer risk (20-23).

The Epstein-Barr virus (EBV), another pathogen, has received attention due to its link to stomach cancer. EBV, also known as human herpesvirus 4, was isolated from hu-

man tumor cells for the first time in 1964 (25). It affects more than 90% of the world's adult population, usually in childhood or early adulthood (26). Although most EBV infections are harmless, EBV is linked to around 1.5% of all cancers worldwide. This virus has been related to several lymphoid cancers, including Hodgkin lymphoma, Burkitt's lymphoma, post-transplant lymphoproliferative illness, and Natural Killer/T-cell lymphoma (27). Furthermore, EBV is linked to epithelial cancers such as nasopharyngeal carcinomas and 10% of stomach cancers (30, 31).

The role of EBV in cancer is yet unclear. EBV is a 172-kb double-stranded linear DNA virus that contains several protein-coding and functional RNA genes (32, 33). It is believed that more than 90% of the world's population has it (34). In cells, EBV may cause two forms of infection: lytic and latent. Its genomic DNA is present in the nucleus as an episome, chromatinized with histones, and only a few latent genes are expressed (36, 37). Because it expresses a narrow set of genes that may avoid the host immune system, this latent infection allows the virus to survive for long periods (38). The expression of dormant

* Corresponding author. Email: houlitizi@yahoo.fr

EBV genes can affect the cell cycle, apoptosis, and immune response, all of which contribute to tumor start and progression. (39). Depending on the gene expression profile, latency can be categorized into three types (I, II, and III), suggesting that EBV can influence cell growth differently (40).

Latency membrane protein 1 (LMP1) is one of the genes that is expressed during latency. Its expression has traditionally been connected to latency types I and II, which have been linked to nasopharyngeal cancer, Hodgkin's lymphoma, and post-transplant lymphoproliferative diseases, respectively. Latency type I, in which LMP1 is not expressed, is linked to Burkitt's lymphoma and gastric cancer (40). This study focuses on LMP1, which is infrequently expressed in GC, according to the literature. LMP1 is detected by immunohistochemistry, a technique often utilized during type I viral latency. This approach not only identifies LMP1 but also offers information on the location of immunological markers inside the cellular compartments of individuals with gastric cancer (GC).

Materials and Methods

Population selection in the study

In the course of this research, we implemented specific inclusion criteria to carefully choose patients with exclusive stomach tumors and no prior history of nasopharyngeal tumors or any other malignant conditions associated with EBV, such as Hodgkin's lymphoma, or non-Hodgkin's lymphoma. Additionally, we excluded individuals with a history of recent transplantation. Following these exclusions, our study included a total of 31 biopsy samples. We also gathered pertinent clinical information, including age, gender, symptoms, and the reason for their initial medical consultation.

Immunohistochemical detection of LMP-1 protein

We used immunohistochemistry with an anti-LMP-1 antibody to detect EBV on silanized slides. The procedure comprised deparaffinization and heat treatment to restore the epitope. The slides were treated with an H2O2 solution to decrease endogenous peroxidase activity.

The main antibody, Mouse monoclonal [CS 1-4] anti-EBV LMP1, was applied at a 1:5 concentration and incubated at room temperature for 40 minutes. Similarly, the secondary antibody was anti-mouse and conjugated to peroxidase. A substrate solution and the chromogenic solution DAB (3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride) were applied to the slides and incubated for 10 minutes to reveal the development of the antibody-antigen complex.

Tissue samples were counterstained with Mayer's hematoxylin as part of the procedure. To facilitate slide interpretation, we used sections of Hodgkin lymphoma as positive human controls.

Statistical analysis

The statistical analysis was conducted using Excel to create various figures and R software for both descriptive and inferential statistics.

Results

Characteristics of the study population

As previously mentioned, we took care to select a sub-

population of individuals from a population of patients. The purpose of this selection is to randomize our series, based on the inclusion criteria mentioned above.

In this series, the cases were included, represented by 67.74 % male and 32.26 % female patients, with a mean age of 64.74 +/- 6.05 (range 54-79 years). Figure 1 shows the number of patients in each age group, divided by sex.

Gastric cancer is more prevalent in men than in women. This also showed that the majority of cancer patients are over the age of 54.

Gastric pathologies

All gastric pathologies were classified according to the WHO 2017, 8th edition. Several 31 biopsies have been studied after clinical data and information, such as age, sex, symptoms, or reason for the first consultation, were recorded (Table 1).

Regarding tumor location in the stomach, the most predominant sampling site is the antrum region, with 77.42% of patients. This is followed by the tumoral region (16.13%), the intro-fundal region (3.32%), and the oesogastric mucosa (3.23%) (Figure 2).

The most common pathology was differentiated gastric adenocarcinoma (61%), followed by independent cell gastric carcinoma (20%), atrophic gastritis with intestinal metaplasia (10%), mucosal colloid adenocarcinoma (3%), undifferentiated carcinoma of the stomach (3%), and endocrine tumor of the stomach (3%).

Differentiated gastric adenocarcinoma was the most common kind of stomach cancer. The development of abnormal cells in the stomach lining distinguishes it. Other than that, independent cell gastric cancer was unusual. It was identified by the formation of abnormal cells that were not well differentiated, i.e., they did not resemble typical stomach cells. Atrophic gastritis with intestinal metaplasia is a condition that causes the stomach lining to thin and become inflamed. It increases the risk of ac-

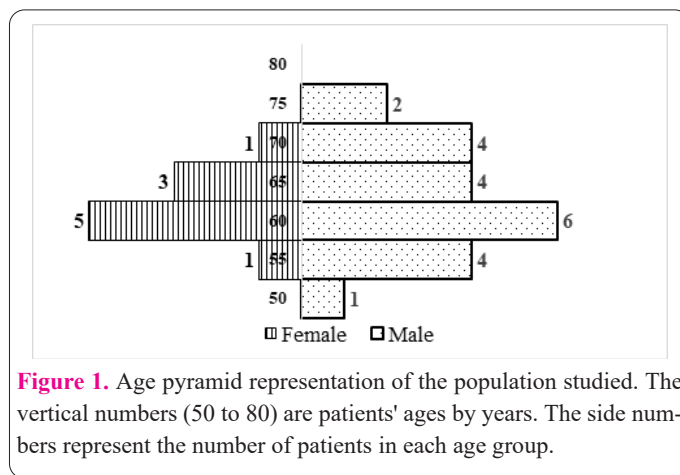


Figure 1. Age pyramid representation of the population studied. The vertical numbers (50 to 80) are patients' ages by years. The side numbers represent the number of patients in each age group.

Table 1. Distribution of patients according to the associated gastric pathology.

Associated Gastric pathology	Rate %
Atrophic gastritis + Intestinal metaplasia	10
Differentiated gastric adenocarcinoma	61
Endocrine tumor of the stomach	3
Independent cell gastric carcinoma	20
Mucosal colloid adenocarcinoma	3
Undifferentiated carcinoma of the stomach	3

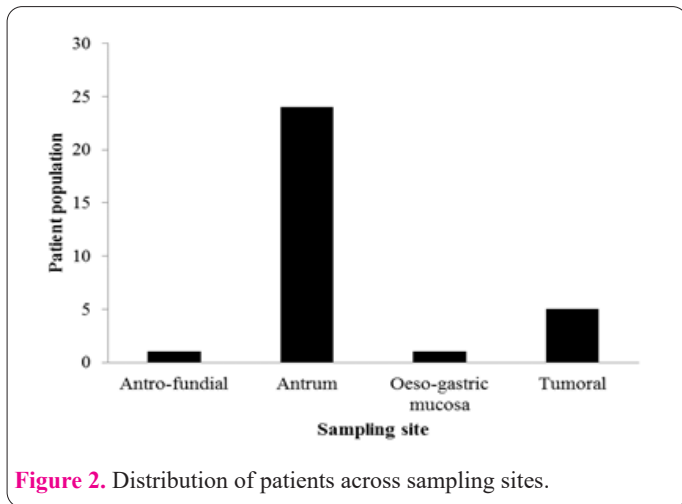


Figure 2. Distribution of patients across sampling sites.

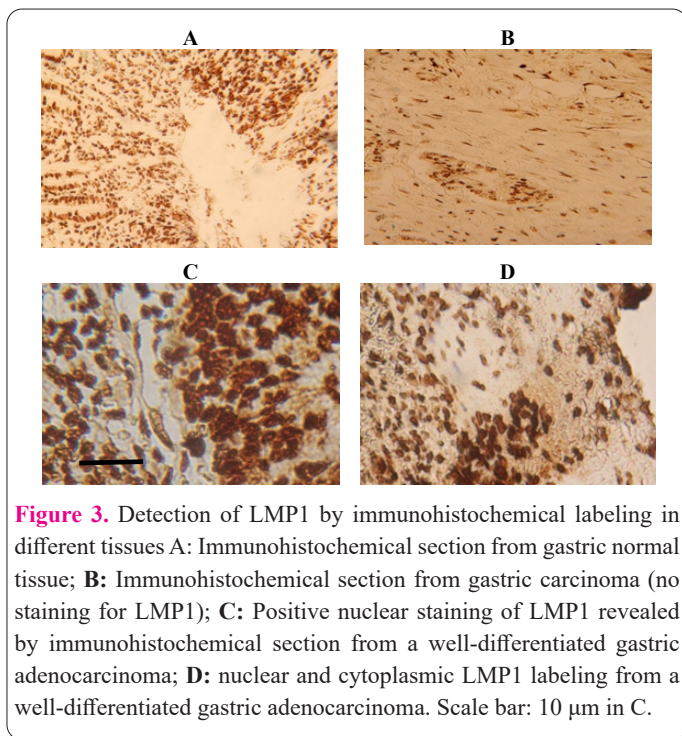


Figure 3. Detection of LMP1 by immunohistochemical labeling in different tissues A: Immunohistochemical section from gastric normal tissue; B: Immunohistochemical section from gastric carcinoma (no staining for LMP1); C: Positive nuclear staining of LMP1 revealed by immunohistochemical section from a well-differentiated gastric adenocarcinoma; D: nuclear and cytoplasmic LMP1 labeling from a well-differentiated gastric adenocarcinoma. Scale bar: 10 μm in C.

quiring stomach cancer. Mucosal colloid adenocarcinoma was distinguished by the formation of a thick, mucus-like substance. Undifferentiated carcinoma of the stomach is a more serious but uncommon kind of gastric cancer. It was distinguished by the development of very aberrant cells that did not resemble any regular stomach cells. Another rare tumor was the endocrine tumor of the stomach, which arose from the hormone-producing cells of the stomach.

Immunohistochemistry staining

According to the marking of LMP1 (Figure 3), the nuclear labeling predominated. This means that the majority of patients in the study had nuclear labeling of their LMP1 (Figure 4).

Regardless of the cellular compartment, LMP1 positivity is more frequent in males than in females. The difference in LMP1 positivity between male and female cells is most pronounced in the nucleus, where LMP1 positivity is 60% in female cells and 40% in male cells. The staining of cells by LMP1 is less strong in the cytoplasm and membrane, although it is still statistically significant.

LMP1 is present mostly in the nucleus, next in the cytoplasm, and finally in the membrane. The proportion of

LMP1-positive cells decreases as LMP1 moves from the nucleus to the cytoplasm to the membrane.

Site sampling and cellular localization.

The antrum was the most sampled site for both these pathologies and for LMP1 positivity (nuclear marking) (Figure 5). Other common sampling sites for gastric cancer include the cardia, the part of the stomach that is closest to the esophagus, the fundus (the upper part of the stomach), and the body, the middle part of the stomach.

Relationship between the different factors

Table 2 displayed the results of a Chi-squared test of independence using four categorical variables: Gender, Sampling Location, Pathology, and LMP1 Marking. The entries above the diagonal reflect the Chi-squared statistic for each variable pair, while those below the diagonal provide the related p-value for each test.

The sex and sampling site rows and columns show that the χ^2 statistic for testing the independence of these two variables is 4.92, and the p-value is 0.18. This means that there is an 18% chance of obtaining the two variables are truly independent. If the p-value is less than 0.05, then there is a statistically significant relationship between the two variables. Since all of the p-values in Table 2 are greater than 0.05, we conclude all the variable pairs are independent.

The data in this case does not give significant evidence that Sex, Sampling site, Pathology, and LMP1 marking

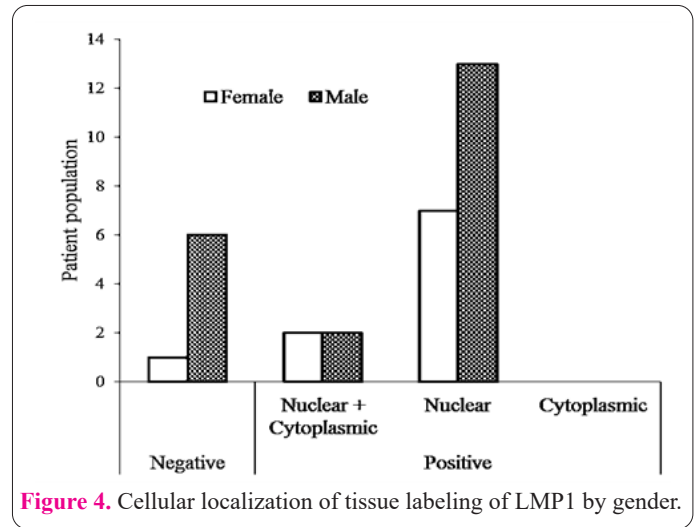


Figure 4. Cellular localization of tissue labeling of LMP1 by gender.

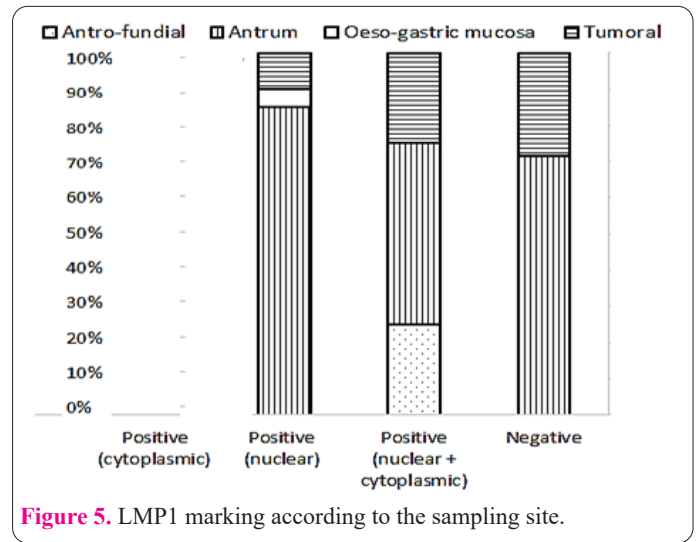


Figure 5. LMP1 marking according to the sampling site.

are connected. It is crucial to remember, however, that a negative result does not always imply that there is no link between the variables. The sample size may have been insufficient to find a significant impact, or the association may be too weak to be identified by the Chi-squared test.

Me an age of patients in four different sampling sites in gastric cancer

Table 3 shows the results of an analysis of variance (ANOVA) test used to compare the mean age of patients in four distinct sampling locations in a stomach cancer research. The F statistic of 0.08 with 3 and 27 degrees of freedom, which was not statistically significant at the 0.05 level (p = 0.97), indicated that the mean age of patients at the four sample sites appeared to be the same. However, the mean age difference between the four sample sites in this study is minor but not statistically significant.

Table 4 shows a low, but not statistically significant, difference in mean age between the stomach diseases studied in this investigation. With 5 and 25 degrees of freedom, the F-statistic of 1.57 does not approach statistical significance at the 0.05 level (p = 0.20). As a result, the

average age of patients in all groups is comparable. The eta-squared statistic of 0.24 indicates a tiny effect size, indicating a slight but detectable difference in mean age across groups. More research is needed to verify this discovery and determine its therapeutic significance.

Gastric LMP1 marking according to age

Within this research, there was a minor and non-significant change in mean LMP1 marking according to age. The F-statistic, which is 0.54 with 2 and 28 degrees of freedom, is not statistically significant at the 0.05 level (p = 0.59). This implies that the average LMP1 marking in the three age groups is approximately comparable. The eta-squared score of 0.04 shows a very small effect size, demonstrating very little difference in mean LMP1 marking across the three age groups (Table 5).

Discussion

Our study is the first comprehensive report to characterize EBV-positive gastric pathologies in the North African population. In general, our findings showed a higher

Table 2. Relationships between the different variables studied.

	Sex	Sampling site	Pathology	LMP1 marking
Sex		4.92 (3)	6.11 (5)	1.68 (2)
Sampling site	0.18		11.17(15)	9.20 (6)
Pathology	0.30	0.74		9.63 (10)
LMP1 marking	0.43	0.16	0.47	

NB: The values above the diagonal represent the chi statistic χ^2 (Degree of Freedom). The values below the diagonal represent the level of significance.

Table 3. Patients mean age and the different sampling sites.

Sampling site	Antro-fundial		Antrum		Oeso-gastric mucosa		Tumoral		F(3,27)	η^2
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD		
Age	67.00	NA	64.83	6.69	65	NA	63.8	3.83	0.08	0.009

M: Average; SD: Standard deviation; F(df1,df2): Fisher statistics with the degrees of freedom; η^2 : eta-square (The effect size).

Table 4. Gastric pathologies of the sample.

Pathology	M	SD	F(5,25)	η^2
Atrophic gastritis + intestinal metaplasia	71.67	2.08		
Differentiated gastric adenocarcinoma	63.68	6.60		
Endocrine tumor of the stomach	65.00	NA	1.57	0.24
Independent cell gastric carcinoma	62.67	2.94		
Mucosal colloid adenocarcinoma	72.00	NA		
Undifferentiated carcinoma of the stomach	69.00	NA		

M: Average; SD: Standard-deviation; F(df1,df2): Fisher statistics with the degrees of freedom; η^2 : eta-square (The effect size).

Table 5. LMP1 marking according to age.

LMP1 marking	Negative		Positive (N+C)		Positive (N)		F(2,28)	η^2
	M	SD	M	SD	M	SD		
Age	63.71	5.41	62.5	3.32	65.55	6.68	0.54	0.04

M: Average; SD: Standard deviation; F(df1,df2): Fisher statistics with the degrees of freedom; η^2 : eta-square (The effect size).

prevalence of gastric cancer in elderly individuals, with males accounting for 67.4% of the cases and an average age of 64 years. These results are consistent with previous research that also indicates a preference for gastric carcinoma in older male patients. However, it is important to note that due to the size of our study, we cannot definitively determine the prevalence of EBV-positive gastric pathologies. Nonetheless, our results demonstrated an overall positivity rate of 77.2%, involving nuclear, cytoplasmic, or both forms of marking, with a predominance of nuclear marking. It is well-documented in the literature that the prevalence of EBV-positive gastric cancers varies across different geographical regions, ranging from 2% to 20%. The predominance of nuclear localization of the EBV protein LMP1 in our findings suggests a potential interaction with other cellular elements, whether related to cell transformation or not, which warrants further investigation.

Furthermore, the prevalence of EBV-positive gastric malignancies does not follow a predictable trend and is affected by total stomach cancer incidence. According to studies, places with a low prevalence of stomach cancer have a greater rate of EBV-positive cases, whereas areas with a high incidence of gastric cancer have a lower rate of EBV-positive cases. Sousa et al. (46) found in a comprehensive study that North America, which has a low frequency of gastric cancer, has a relationship between EBV and stomach cancer, accounting for 12.9% of cases. In contrast, EBV-positive gastric cancers accounted for only 7.99% of all gastric cancer cases in locations with a high risk of gastric cancer, such as Asia. These geographical differences highlight the complicated interaction between EBV and the epidemiological variables determining stomach cancer incidence.

Our data show that there is no statistically significant relationship between LMP1 marking and the patients' pathological state, sample collection site, or age. This lack of association might be attributed to the high variety across the numerous illnesses and the unique features of each patient.

The location of the tumor would be useful for the characterization of gastric cancer. We found that the antrum is the most common location for the development of gastric cancer. The fact that LMP1 positive is more frequent in the antrum implies that EBV-LMP1 may have a role in the development of gastric cancer. Nonetheless, further studies are needed to validate this link and get a thorough knowledge of LMP1's role in the development of this cancer. Of course, several variables contribute to this disease. The antrum is a vital part of the stomach, located near the pylorus, which serves as the valve that separates the stomach from the small intestine. This area is also particularly vulnerable to the corrosive effects of gastric acid and pepsin, digestive enzymes generated by the stomach. Acid and pepsin exposure can cause stomach lining damage, which can lead to inflammation and aberrant cell development, potentially escalating to cancer. LMP1 is a protein located on the surface of cancer cells that is thought to aid in cell proliferation and dissemination. The presence of LMP1 in the antrum implies that it may have a role in the development of gastric cancer in this part of the body. The sampling site is important since it helps determine the stage of the malignancy and the best treatment method. For example, if the tumor is still in its early stages, surgery may

be an option. If the disease has spread to other regions of the body, surgery may not be feasible, and alternate therapies such as chemotherapy or radiation therapy may be prescribed.

Immunohistochemical staining revealed the presence of LMP1 in tissues and pinpointed its location at the cellular level, whether in the nucleus, cytoplasm, or both at the same time. The decision to concentrate on detecting this protein was driven by its low expression in stomach diseases, particularly cancers, which supports a similar viral latency program.

Following the finding of multiple cases of nasopharyngeal carcinoma (NPC) linked to EBV, researchers began to look at additional sites, including the stomach. The capacity of EBV to infect epithelial cells has serious consequences, resulting in malignant transformation and the development of NPCs, a subset of gastric adenocarcinomas, and some salivary carcinomas. NPC is used as a model to study the malignant transformation of epithelial cells in EBV-related carcinomas at many locations (47-50).

Surprisingly, evidence reveals that in gastric adenocarcinoma, EBV may penetrate the gastric epithelium without requiring a particular receptor (51). The most common scenario for EBV infection of epithelial cells includes direct cell-to-cell interaction with B cells (52). This might imply that the presence of LMP1 in this histological kind of gastric cancer is associated with the virus's capacity to easily infiltrate the cells, increasing concerns about directly implicating EBV in this type of cancer. On the other hand, other researchers hypothesized that stomach inflammation would attract EBV-infected B cells to gastric epithelial cells, thus increasing the risk of EBV infection (53).

Another research found that EBV does not integrate into the host genome but persists as an episome in gastric cancer cells (54). According to studies, stomach tissues infected with EBV in epithelial cells contain 3000 times more viral particles than infected B cells (55). To identify infection in gastric epithelial cells, researchers established a limit of 2000 EBV particles/ 10^5 cells, which was fulfilled in both US and Honduran samples (55).

However, despite being uncommon, EBV infection can be identified in a tiny proportion of non-neoplastic gastric mucosa, often in a single cell or a few glands (54, 56). This shows that EBV infection may occur before clonal proliferation of EBV-infected cells, potentially leading to cancer (57). Indeed, EBV infection has been found in high-grade pre-invasive lesions such as severe dysplasia and nasopharyngeal carcinoma in situ, but not in low-grade illness (58). Similar findings have been reported in EBV-positive gastric cancer with accompanying EBV-negative normal gastric mucosa, inflammatory mucosa, and premalignant lesions (59).

Finally, hereditary factors may contribute to stomach cancers. In the absence of EBV infection, deletions in 3p and 9p have been found in low-grade dysplastic lesions and normal nasopharyngeal epithelium of persons at high risk of developing NPC. These deletions suggest that genetic processes occur early in the pathophysiology of NPC and may predispose individuals to EBV infection in the future (60). As a result, when evaluating the probability of gastric cancer development, it may be argued that EBV requires a changed cellular environment.

Notably, *Helicobacter pylori* infection has been shown to preferentially colonize the antrum (61,62), which cor-

responds to our sample group, where the antrum was the most often impacted location, with LMP1 positive at 64.62% (nuclear marking) and 12.90% (nuclear plus cytoplasmic). This increases the possibility of these two infectious agents interacting. However, expanding the research population would be more dependable in proving any actual collaboration between these widespread and potentially carcinogenic bacteria.

EBV has two life cycles: the lytic cycle and the latency cycle. The former promotes viral particle formation and spread, whereas the latter keeps the virus in the host for a more extended period. EBV is largely found within the host, where a group of oncogenic genes produces EBV-encoded oncoproteins that aid in stomach cell proliferation. The EBV-LMP1 has received a lot of attention. Indeed, LMP1 expression was seen in EBV-associated gastric cancer, suggesting that viral gene expression more closely approximated type I latency, as seen in Burkitt's lymphoma. LMP2A was occasionally expressed at low levels. In more recent EBV investigations, LMP1 gene expression was found at extremely low levels in EBV-associated gastric malignancies, along with LMP2 and other EBV latent genes (63, 64). LMP1's capacity to activate various signaling pathways indicates oncogenic characteristics both in vitro and in vivo.

The discovery of LMP1 protein in gastric epithelial cells in individuals with gastric cancer indicated that the cellular reservoir for EBV maybe B lymphocytes invading the stomach's mucosal lymphoid tissue, allowing viral amplification (65-68). This EBV movement indicates that the virus is switching between epithelial and B host cells. LMP1 is important in cell transformation (69-71). The mechanism requires the LMP1 amino terminus, transmembrane domains, and CTAR1, whereas CTAR2 is necessary for the long-term proliferation of altered B cells (72, 73).

Even though LMP1 is a well-known oncoprotein required for the effective transition of resting primary B cells into autonomously proliferating lymphoblastoid lineages, its expression in EBV gastric carcinomas is exceedingly low and typically undetectable at the protein level. As a result, despite infrequent instances of type II, III, and lytic infections (74-76), stomach malignancies are classed as type I latency.

Furthermore, the role of LMP1 in epithelial cell transition in NPC is clear. It is crucial to note, however, that EBV alone is inadequate to begin carcinogenesis, which normally entails the overexpression of oncogenes and a plethora of faulty tumor suppressor genes. In NPC cells, LMP1 increases the upregulation and phosphorylation of surviving and p53, with p53 facilitating cell cycle advancement without causing apoptosis. These findings provide new directions for research into EBV-positive gastric diseases (77,78).

In summary, there is strong evidence that EBV may have a role in the development of gastric cancer via both direct and indirect processes. These strategies involve infecting epithelial cells and creating a latent program by viral oncogene expression. Furthermore, EBV induces persistent inflammatory responses, which result in tissue damage due to increasing local viral loads.

Scientists are still fascinated by the Epstein-Barr virus. It has been related to a variety of cancers, including stomach cancer. Indeed, many researchers agree that LMP-1

plays a significant role in the regulation of cell proliferation and survival, particularly through the activation of signaling pathways such as NF- κ B, and thus contributes to oncogenesis as well as tumor cell resistance to conventional treatments.

Our data show that EBV is found in a variety of distinct gastric illnesses, meaning that the virus is more likely to adhere to the fundamental biological and immunological factors known to promote the creation and maintenance of gastric tumors. Exploring the latency characteristics of EBV in the gastric epithelium, and the histological appearance of CG associated with it, as well as providing further molecular and clinical studies, could contribute to a better understanding of its epidemiology, and consequently, help improve the outlook for affected patients. Indeed, EBV could serve as biomarkers for immunotherapy, dedicated to this unique patient population.

EBV has co-evolved with humans for millions of years, and during this close association, the virus has adapted its life cycle to its host, making EBV one of our most common "parasitic" viruses. Today, patients at high risk of treatment failure are candidates for novel treatment regimens, and EBV, a ubiquitous gamma herpes virus, may represent a promising therapeutic target.

Acknowledgments

Authors would like to extend their appreciation to AlMaarefa University, Riyadh, Saudi Arabia, for providing funding for this work.

References

1. Matsuoka T, Yashiro M. Biomarkers of gastric cancer: Current topics and future perspective. *World J Gastroenterol.* 2018;24(26):2818-2832.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249.
3. Aparicio T, Yacoub M, Karila-Cohen P, René E. Adénocarcinome gastrique: notions fondamentales, diagnostic et traitement *Emc-chirurg.* 2004;1(1):47-66.
4. Takahashi M, Kokubo T, Furukawa F, Kurokawa Y, Tatematsu M, Hayashi Y. Effect of high salt diet on rat gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Jpn J Cancer Res.* 1983;74(1):28-34.
5. Zhang Z, Zhang X. Salt taste preference, sodium intake, and gastric cancer in China. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(5):1207-10.
6. Tsugane S, Sasazuki S, Kobayashi M, and Sasaki S. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women *British J of Cancer.* 2004;90(1):128-134.
7. Ye W, Ekström AM, Hansson LE, Bergström R, Nyrén O. Tobacco, alcohol, and the risk of gastric cancer by sub-site and histologic type. *Int J Cancer.* 1999;83(2):223-229.
8. Chao A, Thun MJ, Henley SJ, Jacobs EJ, McCullough ML, Calle EE. Cigarette smoking, use of other tobacco products and stomach cancer mortality in US adults: The Cancer Prevention Study II. *Int J Cancer.* 2002;101(4):380-389.
9. Ji BT, Chow WH, Yang G, McLaughlin JK, Gao RN, Zheng W, Shu XO, Jin F, Fraumeni JF, Gao YT. The influence of cigarette smoking, alcohol, and green tea consumption on the risk of carcinoma of the cardia and distal stomach in Shanghai, China. *Can-*

- cer: *Interdisci Int J Amer Cancer Soc.* 1996;77(12):2449-2457.
10. Sasazuki S, Sasaki S, Tsugane S. Cigarette smoking, alcohol consumption and subsequent gastric cancer risk by subsite and histologic type. *Int J cancer.* 2002;101(6):560-566.
 11. Ma K, Baloch Z, He TT, Xia X. Alcohol consumption and gastric cancer risk: A meta-analysis. *Medical Science Monitor. Int Med J of Exp and Clin Res.* 2017;23:238-246.
 12. Carrasco G, Corvalan AH. *Helicobacter pylori*-induced chronic gastritis and assessing risks for gastric cancer. *Gastroenterol Res and Prac.* 2013.
 13. Simko V, Anand N, Ginter E. Gastric intestinal metaplasia-age, ethnicity and surveillance for gastric cancer. *Bratislavske lekarske listy.* 2015;116(1):3-8.
 14. Camargo MC, Goto Y, Zabaleta J, Morgan DR, Correa P, Rabkin CS. Sex Hormones, Hormonal Interventions, and Gastric Cancer Risk: A Meta-analysis Sex Hormones and Gastric Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(1):20-38.
 15. Sipponen P, Kekki M, Siurala M. Increased risk of gastric cancer in males affects the intestinal type of cancer and is independent of age, location of the tumor, and atrophic gastritis. *British j Cancer.* 1988;57(3):332-336.
 16. Boysen T, Friberg J, Stribolt K, Hamilton-Dutoit S, Goertz S, Wohlfahrt J, Melbye M. Epstein-Barr-virus associated gastric carcinoma among patients with pernicious anemia. *Int J Cancer.* 2011;129(11):2756-2760.
 17. Vannella L, Lahner E, Osborn J, Annibale B. Systematic review: gastric cancer incidence in pernicious anemia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;37(4):375-382.
 18. Lagergren J, Lindam A, Mason RM. Gastric stump cancer after distal gastrectomy for benign gastric ulcer in a population-based study. *Int J Cancer.* 2012;131(6).
 19. Yaghoobi M, Bijarchi R, Narod SA. Family history and the risk of gastric cancer. *British J Cancer.* 2010;102(2):237-242.
 20. Cover TL. *Helicobacter pylori* diversity and gastric cancer risk. *MBio.* 2016;7(1):1869-15.
 21. Hansson LE, Nyrén O, Hsing AW, Bergström R, Josefsson S, Chow WH, Fraumeni JF, Adami HO. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med.* 1996;335(4):242-249.
 22. Ford AC, Forman D, Hunt RH, Yuan Y, Moayyedi P. *Helicobacter pylori* eradication therapy to prevent gastric cancer in healthy asymptomatic infected individuals: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ.* 2014;348.
 23. Wong BCY, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2004;291(2):187-194.
 24. De Martel C, Georges D, Bray F, Ferlay J, Clifford GM. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health.* 2020;8(2):e180-e190
 25. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet.* 1964;1:702-703.
 26. Grotto I, Mimouni D, Huerta M, Mimouni M, Cohen D, Robin G, Pitlik S, Green MS. Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults. *Epid Infec.* 2003;131(1):683-689.
 27. Pattle SB, Farrell PJ. The role of Epstein-Barr virus in cancer. *Expert Opin Biol Ter.* 2006;6(11):1193-1205.
 28. Young LS, Dawson CW. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *Chin J Cancer.* 2014;33(12):581.
 29. Raab-Traub N. Epstein-Barr-virus in the pathogenesis of NPC. *Semin Cancer Biol.* 2002;12(6):431-441.
 30. Khenchouche A, Salem-Bekhit MM, Mansour AA, Alomary MN, Wang X, Alzahrani HA, Hosiny IMA, Taha EI, Shazly GA, Benguerba Y, Houali K. Suppression of Nasopharyngeal and Gastric Tumor Growth in a Mouse Model by Antibodies to Epstein-Barr Virus LMP1 Protein. *Microorganisms.* 2023;30;11(7):1712.
 31. Anonym. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014;513(7517):202.
 32. Barth S, Meister G, Grässer FA. EBV-encoded miRNAs. *Gene Regulatory Mechanisms. Biochim Biophys Acta.* 2011;1809(11-12):631-640.
 33. Longnecker RM, Kieff E, Cohen, JI. Epstein-Barr Virus. In Peter Knipe, David M. Howley, editor, *Fields Virology.* 2013, chapter 61, pages 1899–1959. Lippincott Williams and Wilkins, 6th ed edition.
 34. Amon W, Farrell PJ. Reactivation of Epstein-Barr virus from latency. *Rev Med virol.* 2005;15(3):149-156.
 35. Vetsika EK, Callan M. Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus. *Expert Mol Med.* 2004;6(23):1-16.
 36. Hammerschmidt W, Sugden B. Replication of Epstein-Barr viral DNA. *Cold Spring Harb.* 2013;5:13029.
 37. Tsurumi T, Fujita M, Kudoh A. Latent and lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Rev Med Virol.* 2005;15(1):3-15.
 38. Murata T, Sato Y, Kimura H. Modes of infection and oncogenesis by the Epstein-Barr virus. *Rev Med Virol.* 2014;24(4):242-253.
 39. Seo JS, Jun SM, Kwon SW, Oh IH, Kim TG, Lee SK. Establishment and characterization of gastric carcinoma cell clones expressing LMP2A of Epstein-Barr virus. *Int J Mol Med.* 2010;25(1):11-16.
 40. Lorenzetti MA, De Matteo E, Gass H, Martinez-Vazquez P, Lara J, Gonzalez P, Preciado MV, Chabay PA. Characterization of Epstein Barr virus latency pattern in Argentine breast carcinoma. *PloS one.* 2010;5(10).
 41. Iizasa H, Nanbo A, Nishikawa J, Jinushi M, Yoshiyama H. Epstein-Barr-virus (EBV)-associated gastric carcinoma. *Viruses.* 2012;4 (12):3420–39.
 42. Wang K, Yuen ST, Xu J, Lee SP, Yan HH, Shi ST, Siu HC, Deng S, Chu KM, Law S, Chan KH, Chan AS, Tsui WY, Ho SL, Chan AK, Man JL, Foglizzo V, Ng MK, Chan AS, Ching YP, Cheng GH, Xie T, Fernandez J, Li VS, Clevers H, Rejto PA, Mao M, Leung SY. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer. *Nat Genet.* 2014;46(6):573-582.
 43. Cherifi Y, Haoud K, Drici MA. Epidemiological, Clinical, and Pathological Characteristics of Gastric Carcinoma in the Northwest Region of Algeria: A Single Center Study. *Egypt Acad J Biol Sci.* 2023;15(1):167-175.
 44. Barad AK, Mandal SK, Harsha HS, Sharma BM, Singh TS. Gastric cancer, a clinicopathological study in a tertiary care center of North-eastern India. *J Gastrointest Oncol.* 2014;5(2):142-148.
 45. Tural D, Selçukbiricik F, Serdengeçti S, Büyükcünal E. A comparison of patient characteristics, prognosis, treatment modalities, and survival according to age group in gastric cancer patients. *World J Surg Oncol.* 2012;10(1):1-8.
 46. Sousa H, Pinto-Correia AL, Medeiros R, Dinis-Ribeiro M. Epstein-Barr virus is associated with gastric carcinoma: the question is what is the significance? *World J Gastroenterol.* 2008;14(27):43-47.
 47. Raab-Traub N. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of NPC. *Semin Cancer Biol. Academic Press,* 2002;p:431-441.
 48. Burke AP, Yen TS, Shekitka KM, Sobin LH. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein-Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. *Mod Pathol.* 1990;3(3):377-380.
 49. Shibata D, Tokunaga M, Uemura Y, Sato E, Tanaka S, Weiss LM. Association of Epstein-Barr virus with undifferentiated gastric

- carcinomas with intense lymphoid infiltration. Lymphoepithelioma-like carcinoma. *Am J Pathol.* 1991;139(3):469-476.
50. Shibata D, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma. *Am J Pathol.* 1992;140(4):769-778.
 51. Thompson MPR. Epstein-Barr virus and cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:803-821.
 52. Imai S, Nishikawa JUN, Takada K. Cell-to-cell contact as an efficient mode of Epstein-Barr virus infection of diverse human epithelial cells. *J Virol.* 1998;72(5):4371-4378.
 53. Abe H, Maeda D, Hino R, Otake Y, Isogai M, Ushiku AS, Matsusaka K, Kunita A, Ushiku T, Uozaki H, Tateishi Y, Hishima T, Iwasaki Y, Fukayama M. ARID 1A expression loss in gastric cancer: Pathway-dependent roles with and without Epstein-Barr virus infection and microsatellite instability. *Virchows Arch.* 2012;461:367-377.
 54. Fukayama M, Hayashi Y, Iwasaki Y, Chong J, Ooba T, Takizawa T, Koike M, Mizutani S, Miyaki M, Hirai K. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma and Epstein-Barr virus infection of the stomach. *Lab Invest.* 1994;71(1):73-81.
 55. Ryan JL, Morgan DR, Dominguez RL, Thorne LB, Elmore SH, Mino-Kenudson M, Lauwers GY, Booker JK, Gulley ML. High levels of Epstein-Barr virus DNA in latently infected gastric adenocarcinoma. *Lab Invest.* 2009;89(1):80-90.
 56. Hayashi K, Teramoto N, Akagi T, Sasaki Y, Suzuki T. In situ detection of Epstein-Barr virus in the gastric glands with intestinal metaplasia. *Am J Gastroenterol.* 1996;91:1481-1488.
 57. Raab-Traub N, Flynn K. The structure of the termini of the Epstein-Barr virus as a marker of clonal cellular proliferation. *Cell.* 1986;47(6):883-889.
 58. Pathmanathan R, Prasad U, Sadler R, Flynn K, Raab-Traub N. Clonal proliferations of cells infected with Epstein-Barr virus in preinvasive lesions related to nasopharyngeal carcinoma. *N Engl J Med.* 1995;333(11):693-698.
 59. Zur Hausen A, Van Rees BP, Van Beek J, Craanen ME, Bloemena E, Offerhaus GJ, Meijer CJ, Van Den Brule AJ. Epstein-Barr virus in gastric carcinomas and gastric stump carcinomas: a late event in gastric carcinogenesis. *J Clin Pathol.* 2004;57(5):487-491.
 60. Lo KW, Huang DP. Genetic and epigenetic changes in nasopharyngeal carcinoma. *Semin Cancer Biol.* 2002;12(6):451-462.
 61. Martin-de-Argila C, Boixeda D, Redondo C, Alvarez I, Gisbert JP, Plaza AG, Cantón R. Relation between histologic subtypes and location of gastric cancer and *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol.* 1997;32(4):303-307.
 62. Minoura-Etoh J, Gotoh K, Sato R, Ogata M, Kaku N, Fujioka T, Nishizono A. *Helicobacter pylori*-associated oxidant monochloramine induces reactivation of Epstein-Barr virus (EBV) in gastric epithelial cells latently infected with EBV. *J Med Microbiol.* 2006;55(7):905-911.
 63. Imai S, Koizumi S, Sugiura M, Tokunaga M, Uemura Y, Yamamoto N, Tanaka S, Sato E, Osato T. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *PNAS.* 1994;13;91(19):9131-5.
 64. Sugiura M, Imai S, Tokunaga M, Koizumi S, Uchizawa M, Okamoto K, Osato T. Transcriptional analysis of Epstein-Barr virus gene expression in EBV-positive gastric carcinoma: unique viral latency in the tumour cells. *Br J Cancer.* 1996;74(4):625-631.
 65. Strong MJ, Xu G, Coco J, Baribault C, Vinay DS, Lacey MR, Strong AL, Lehman TA, Seddon MB, Lin Z, Concha M, Baddoo M, Ferris M, Swan KF, Sullivan DE, Burow ME, Taylor CM, Flemington EK. Differences in gastric carcinoma microenvironment stratify according to EBV infection intensity: implications for possible immune adjuvant therapy. *PLoS Pathog.* 2013; 9(5):1-18.
 66. Fennewald S, Van Santen V, Kieff E. Nucleotide sequence of an mRNA transcribed in latent growth-transforming virus infection indicates that it may encode a membrane protein. *J Virol.* 1984, 51(2):411-419.
 67. Huen DS, Henderson SA, Croom-Carter D, and Rowe M. The Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 (LMP1) mediates activation of NF-kappa B and cell surface phenotype via two effector regions in its carboxy-terminal cytoplasmic domain. *Oncogene.* 1995;10(3):549-560.
 68. Wang D., Liebowitz D., and Kieff E.: An EBV membrane protein expressed in immortalized lymphocytes transforms established rodent cells. *Cell.* 1985;43(3):831-840.
 69. Wilson JB, Weinberg W, Johnson R, Yuspa S, and Levine AJ Expression of the BNLF-1 oncogene of Epstein-Barr virus in the skin of transgenic mice induces hyperplasia and aberrant expression of keratin 6. *Cell.* 1990;61(7):1315-1327.
 70. Kaye KM, Izumi KM, and Kieff E. Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 are essential for B-lymphocyte growth transformation. *PNAS.* 1993;90(19):9150-9154.
 71. Izumi KM, Kaye KM, and Kieff E. The Epstein-Barr virus LMP1 amino acid sequence that engages tumor necrosis factor receptor-associated factors is critical for primary B lymphocyte growth transformation. *PNAS.* 1997;94(4):1447-1452.
 72. Izumi KM, Kieff E. The Epstein-Barr virus oncogene product latent membrane protein 1 engages the tumor necrosis factor receptor-associated death domain protein to mediate B lymphocyte growth transformation and activate NF-kB. *PNAS.* 1997;94(23):12592-12597.
 73. Kaye KM, Izumi KM, Mosialos G, and Kieff E. The Epstein-Barr virus LMP1 cytoplasmic carboxy terminus is essential for B-lymphocyte transformation; fibroblast cocultivation complements a critical function within the terminal 155 residues. *J Virol.* 1995;69(2):675-683.
 74. Fukayama M, Chong JM, and Uozaki H. Pathology and molecular pathology of Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2001;91-102.
 75. Gulley ML, Pulitzer DR, Eagan PA, Schneider BG Epstein-Barr virus infection is an early event in gastric carcinogenesis and is independent of bcl-2 expression and p53 accumulation. *Hum Pathol.* 1996;27(1):20-27.
 76. Andal N, Shanthi P, Krishnan KB, and Taralaxmi V. The Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.* 2003;46(1):34-36.
 77. Houali K, Wang X, Shimizu Y, Djennaoui D, Nicholls J, Fiorini S, Bouguermouh A, and Ooka T. A new diagnostic marker for secreted Epstein-Barr virus-encoded LMP1 and BARF1 oncoproteins in the serum and saliva of patients with nasopharyngeal carcinoma *Clin Cancer Res.* 2007, 1;13(17):4993-5000.
 78. Guo L, Tang M, Yang L, Xiao L, Bode AM, Li L, Dong Z, and Cao Y. Epstein-Barr virus oncoprotein LMP1 mediates survivin upregulation by p53, contributing to G1/S cell cycle progression in nasopharyngeal carcinoma. *Int J Mol Med.* 2012;29(4):574-80.