



Université Constantine 1
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie Animale
Spécialité : Génétique moléculaire

Intitulé :

Etude des bactéries de l'espèce

Helicobacter pylori

Le : 25/06/2014

Présentée et soutenu par:

- **Kendouli Fatima**
- **Abdelali Houda**
- **Aichouche khaoula**

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr Benhizia.H

Maître de Conférences classe B

Rapporteur : Mr Rezgoune ML

Maître assistant classe A

Co-rapporteur: Melle Mehasni S

Doctorante-Université Constantine I

Examinatrice : Mme Saoudi M

Maître assistant classe A

Année universitaire
2013/2014

Remerciement

Nous tenons à remercier dieu le tout puissant

Qui nous a permis de réaliser ce modeste travail

Nous remercions vivement **Mr Rezgoune Mohamed Larbi** et **M^{elle} Mehasni Samiha** de nous encadrer et nous avoir suivi régulièrement pour la réalisation de ce travail et de tout ce qu'ils ont fait pour nous permettre d'atteindre ces résultats.

Nous tenons aussi à remercier chaleureusement **Mme Satta D** Professeur à l'Université Constantine I pour sa contribution à la correction de ce manuscrit.

Nos remerciements s'adressent également aux autres membres du jury d'Examens : **Dr Benhizia.H** Maître de Conférences de l'Université Constantine I et **Mme Saoudi M** Chargée de cours de l'Université Constantine I qui nous ont fait l'honneur de leur présence et d'avoir sacrifier leur temps pour juger ce travail.

A toutes et à tous qui, de loin ou de près, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

الملخص

Helicobacter pylori هي المسؤولة عن أمراض متعددة معدية مثل عسر الهضم، إتهاب المعدة، القرحة، ورم سرطاني معدي.

H.pylori هي نوع من البكتيريا سالبية Gram، لولبية وألفية هوائية و تستعمر معدة الإنسان بشكل دائم

الهدف من هذا العمل هو دراسة الخصائص المورفولوجية والوراثية من أنواع *Helicobacter pylori*

المعدية والأساليب المستعملة في تشخيص العدوى، التحريم في نشأة الأمراض

ويرتبط بقاء وإستمرار البكتيريا مع التعبير عن عوامل متعددة الأستعمار وعوامل السموم.

تشخيص الاصابة بالبكتيريا اللولبية على أساس الأساليب المباشرة تتطلب إجراء عملية المنظار العلوي (اختبار أنزيم حمض البول ، الأنسجة، والوسط المعيشي...) والأساليب غير المباشرة (اختبار اليوريا التنفس، البحث بالبكتيريا اللولبية مستضد في البراز، البحث عن بكتيريا الضد). وصفة طبية من هذه الأساليب التشخيص يجب أن يأخذ بعين الاعتبار مدى توافرها ودلالة على (تشخيص العدوى / أو سيطرة القضاء على بكتيريا). كلتا الطريقتين سهلة ومفيدة في الممارسة: البحث عن مستضد بكتيريا في البراز والأنسجة. ميزة كبيرة للوسط المعيشي (الطريقة المباشرة) الأسلوب هو تحديد حساسية للمضادات الحيوية.

الكلمات الرئيسية: *Helicobacter pylori* علم الأمراض معدي والتشخيص والحساسية للمضادات الحيوي

Abstract

Helicobacter pylori is the main cause of most gastroduodenal diseases as dyspepsia, gastritis, peptic ulcer, gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma and gastric adenocarcinoma.

H.pylori is a Gram-negative bacterium, and spiral microaerophilic permanently colonize the human stomach.

The objective of this work is to study the morphological and genotypic characteristics of the species *Helicobacter pylori*, its criminalization in the genesis of gastroduodenal pathologies and methods used for the diagnosis of infection.

The survival and persistence of the bacteria is associated with expression of multiple colonization factors and virulence.

Diagnosis of *H. pylori* endoscopic (urease rapid test, histology and culture) and nonendoscopic methods (urea breath test, stool antigen test and antibody response). The choice of these tests depends on their availability and the distinction between tests used to establish a diagnosis of the infection and/or those used to confirm its eradication. Stool antigen test and histology are the two most interesting *methods*.

The big advantage of culture (invasive) method is the determination of the sensitivity to antibiotics.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastroduodenal pathology, diagnosis, antibiotic, susceptibility.

Résumé

Helicobacter pylori est responsable de multiples pathologies gastroduodénales, telles que la dyspepsie, la gastrite, l'ulcère, le lymphome gastrique du MALT et l'adénocarcinome gastrique.

H.pylori est une bactérie Gram-négative, spiralée et microaérophile colonisant durablement l'estomac humain.

L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques morphologiques et génotypique de l'espèce *Helicobacter pylori*, son incrimination dans la genèse des pathologies gastroduodénales et les méthodes utilisées pour le diagnostic de l'infection.

La survie et la persistance de la bactérie sont liées à l'expression de plusieurs facteurs de colonisation et de virulence.

Le diagnostic de l'infection à *H. pylori* repose sur des méthodes directes nécessitant la réalisation d'une endoscopie digestive haute (test à l'uréase, histologie, culture...) et des méthodes indirectes (test respiratoire à l'urée, recherche de l'antigène de *H. pylori* dans les selles, recherche de l'anticorps de *H. pylori*). La prescription de ces méthodes diagnostiques doit tenir compte de leur disponibilité et de leur indication (diagnostic de l'infection à Hp et/ou contrôle de l'éradication de *H. pylori*). Deux méthodes sont faciles et utiles en pratique : la recherche de l'antigène de *H. pylori* dans les selles et l'histologie. Le gros avantage de la culture (méthode invasive) est la détermination de la sensibilité aux antibiotiques.

Mots clés : *Helicobacter pylori*, pathologies gastroduodénales, diagnostic, sensibilité aux antibiotiques.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr : Acide ribonucléique ribosomal

BabA: blood group antigen-binding adhesin

C¹³ : Carbone marqué 13

cagA : Cytotoxin Associated Gene A

cag-PAI : Cytotoxin Associated Gene- PATHogenicity Island

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

Clo-test* : Campylobacter like organism test

Cm : Centimètre

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CO₂ : Dioxyde de carbone

DupA: duodenal ulcer promoting gene A

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

E-test: Epsilometer-test

H. pylori : *Helicobacter pylori*

Ig : Immunoglobuline

IL-8 : Interleukine 8

IPP : Inhibiteurs de la Pompe à Proton

Kb: Kilo base

KDa :Kilo Dalton

MALT : Tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue)

Mb : Méga bases

NF-kappa B : (nuclear factor-kappa B): facteur de transcription nucléaire kappa B

OipA : Outer inflammatory protein

Pb : Paires de bases

PCR : Amplification en chaîne par la polymérase (Polymérase Chain Réaction)

pH : force d'Hydrogène

PLP : Protéines Liant les Pénicillines (Penicillins Binding Protéines)

SabA: sialic acid-binding adhesin

T4SS : type four secretion system : appareil de sécrétion de type IV

VacA : Cytotoxine vacuolisante A (Vacuolating Cytotoxin Agent A)

Sommaire

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Chapitre I : Généralités

I. Historique	02
----------------------------	-----------

II. Présentation du germe.....	03
---------------------------------------	-----------

II.1. Classification et Taxonomie.....	03
--	----

II.2. Caractères morphologiques.....	03
--------------------------------------	----

II.3. Habitat.....	04
--------------------	----

II.4. Caractères biochimiques.....	04
------------------------------------	----

II.5. Exigences du germe.....	05
-------------------------------	----

II.6. Caractères génétiques.....	05
----------------------------------	----

II.6.1. Diversité génétique.....	06
----------------------------------	----

III. Virulence et pathogénicité de <i>H. pylori</i>.....	06
---	-----------

III.1. Facteurs de colonisation	06
---------------------------------------	----

III.1.1. La mobilité	06
----------------------------	----

III.1.2. L'uréase	07
-------------------------	----

III.1.3. L'adhésion	07
---------------------------	----

III.2. Facteurs de persistance	08
--------------------------------------	----

III.3. Facteurs de pathogénicité	09
--	----

III.3.1. L'îlot de pathogénicité cag (cag PAI).....	09
---	----

III.3.2. Autres protéines pro-inflammatoires.....	11
---	----

III.3.3. DupA (Duodenal ulcer promoting gène).....	12
--	----

III.3.4. La cytotoxine vacuolisante A (VacA).....	12
---	----

III.3.5. Le Lipopolysaccharide (LPS)	13
--	----

IV. Pathologies associées aux infections à <i>H. pylori</i>.....	14
---	-----------

IV.1. Les gastrites	14
IV.2. Les ulcères.....	15
IV.3. les tumeurs malignes gastriques.....	16

Chapitre II : Méthodes de diagnostics

II. Diagnostic par des méthodes invasives.....	19
II.1.1. Endoscopie et biopsie.....	19
II.1.2 Test rapide à l'uréase (CLO-test*).....	19
II.1.3. Examen anatomopathologique.....	20
II.1.4. Amplification génique ou PCR.....	20
II.1.5. Examen bactériologique.....	21
II. Diagnostic par des méthodes non invasives.....	23
II.2.1. Test respiratoire à l'urée marquée.....	23
II.2.2. Tests sérologiques.....	24
II.2.3. Recherche d'antigène dans les selles.....	25

Chapitre III: Traitement et sensibilité aux antibiotiques

III.1. Evolution des traitements	26
III.1.1. Médicaments utilisés.....	27
III.1.1.1. Inhibiteurs de la pompe à proton (IPP).....	27
III.1.1.2. Les antibiotiques	27
III.2. Résistance aux antibiotiques.....	29
Conclusion.....	31
Références bibliographiques.....	32

Liste des figures

Figure 1 : Morphologie de <i>H. pylori</i> en microscopie électronique (x30 000).....	04
Figure 2 : Intervention des principaux facteurs de pathogénicité dans la survenue de l'inflammation et des dommages cellulaires.....	09
Figure 3 : Schéma de l'appareil de sécrétion de type IV de <i>H. pylori</i> avec les différentes protéines le constituant.....	10
Figure 4 : Effet de l'îlot de pathogénicité cag sur la cellule épithéliale.....	11
Figure 5 : Propriétés fonctionnelles de la cytotoxine vacuolisante VacA.....	13
Figure.6 : Rôle de <i>H. pylori</i> dans le développement des pathologies gastroduodénales.....	18
Figure.7 : Test rapide à l'uréase.....	20
Figure.8 : Coloration argentique de waring Starring.....	20
Figure.9 : La recherche de vacA par la PCR.....	21
Figure.10 : Frottis colorés par Giemsa.....	22
Figure. 11 : Culture de <i>H. pylori</i> obtenue après trois jours d'incubation sur boîte au sang.....	22
Figure.12 : API <i>Campylobacter</i>	23
Figure.13 : Principe du test respiratoire à l'urée marquée au ¹³ C.....	24

Introduction

Helicobacter pylori, l'espèce dominante dans le microbiote gastrique, est responsable de multiples pathologies gastroduodénales, telles que la dyspepsie, la gastrite, l'ulcère, le lymphome gastrique du MALT et l'adénocarcinome gastrique (Arnion, 2011).

La moitié de la population mondiale est touchée par cette infection. La présence d'*H. pylori* provoque une réponse inflammatoire chronique, qui est le facteur de risque le plus important du cancer de l'estomac. Initialement dénommé *Campylobacter pyloridis*, la bactérie *Helicobacter pylori* fut isolée pour la première fois en 1982 par Marshall et Warren à partir d'une biopsie chez un patient souffrant de gastrite. Cette découverte est à l'origine d'innombrables publications qui ont révolutionné l'approche physiopathologique de la maladie ulcéreuse en démontrant le rôle majeur de *H. pylori* dans la genèse des lésions (Kaiser, 2001). Il est aujourd'hui clairement établi que toute colonisation de la muqueuse de l'estomac par *H. pylori* entraîne une gastrite pouvant évoluer vers des formes plus sévères d'ulcération ou de transformation maligne. *H. pylori* est la seule espèce bactérienne reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant cancérigène pour l'Homme.

Ce germe est un petit bacille Gram négatif, spiralé, flagellé et microaérophile qui colonise exclusivement l'estomac humain, et c'est le seul micro-organisme connu à pouvoir survivre dans cette niche hostile du fait de son acidité (Korwin, 2010).

H. pylori infecte généralement la région inférieure de l'estomac, appelée le pylore, où elle se développe au contact des cellules de la paroi gastrique. La survie et la persistance de la bactérie sont liées à l'expression de plusieurs facteurs de colonisation et de virulence (Arnion, 2011). L'infection à *H.pylori* peut être diagnostiquée par des méthodes directes ou indirectes. Le gros avantage de la culture (méthode invasive) est la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Actuellement le taux de succès d'éradication de l'infection est à son plus bas niveau, notamment en raison de la résistance aux antibiotiques (Fontaine et Douat, 2011).

L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques morphologiques et génotypiques de l'espèce *Helicobacter pylori*, son incrimination dans la genèse des pathologies gastroduodénales et les méthodes utilisées pour le diagnostic de l'infection.

Chapitre I

Généralités

I. Historique

La découverte d'*Helicobacter pylori* par Marshall et Warren est récente : elle remonte à 1982. L'existence de cette bactérie et sa pathogénicité sont cependant suspectées depuis plus d'un siècle. *Helicobacter pylori* est l'espèce type d'un nouveau genre, ce micro-organisme est successivement dénommé *Campylobacter pyloridis* puis *Campylobacter pylori* (Mégraud, 1994). Des micro-organismes similaires auraient été observés dans la muqueuse gastrique de certains animaux (Bigard et Colin, 1996).

La première observation de bactéries spiralées au niveau de la muqueuse gastrique humaine remonte à 1906 et est attribuée à Krienitz. En 1950, deux irlandais démontrent que chez les patients présentant un ulcère gastro-duodéal, l'uréase neutralise l'acidité gastrique via la production d'ammoniac (Fitzgerald *et al.*, 1950). En 1982, Barry Marshall et Robin Warren, deux médecins australiens, élaborent un protocole original d'étude endoscopique de l'estomac : des biopsies gastriques sont systématiquement réalisées et mises en culture en milieu micro-aérobie (et non standard) durant 48 heures. Après 15 jours, les chercheurs eurent la surprise de découvrir pour la première fois des colonies grises dans les boîtes de Pétri. Le temps d'incubation accidentellement plus long du fait du week-end prolongé a permis la première culture d'*Helicobacter pylori* et son identification (Marshall *et al.*, 1984). La découverte de *H. pylori* a valu le prix Nobel de médecine en 2005 à ces deux chercheurs australiens.

En 1994, le « National Institutes of Health » affirmait que la plupart des ulcères gastriques récurrents étaient causés par *H. pylori* et recommandait l'adjonction d'antibiotiques. En effet, avant que ne soit reconnu le rôle de *H. pylori*, les ulcères gastriques étaient traités par des antiacides qui n'évitaient pas les rechutes. Le subsalicylate de bismuth était largement utilisé mais bien que vraisemblablement bactéricide, il fut abandonné en raison de sa toxicité neurologique.

H. pylori est classé carcinogène de type I par l'Organisation Mondiale de la Santé et aujourd'hui, il est considéré comme l'agent étiologique principal des cancers liés aux infections bactériennes (Parkin *et al.*, 2005). Il est clairement établi que toute colonisation de la muqueuse gastrique par *H. pylori* entraîne un état inflammatoire de gastrite, pouvant évoluer vers des formes plus sévères d'ulcération (Mustapha, 2006).

II. Présentation du germe

II.1. Classification et Taxonomie

H. pylori est une bactérie de forme hélicoïdale découverte dans une zone de l'estomac proche du pylore, d'où son nom, elle est considérée comme le chef de file d'un nouveau groupe de bactéries, appelées super Famille VI des bacilles Gram négatif. Ce groupe individualisé en 1991 comprend quatre genres : *Helicobacter*, *Campylobacter*, *Arcobacter* et *Wolinella*.

H. pylori est différencié des autres groupes essentiellement par la structure de son ARN ribosomal (Mégraud, 1994). Elle est classée dans :

Domaine	Bacteria
Division	Proteobacteria
Classe	Epsilonproteobacteria
Ordre	Campylobacterales
Famille	Helicobacteraceae
Genre	<i>Helicobacter</i>
espèce	<i>Helicobacter pylori</i> (Garrity <i>et al.</i> , 2005).

Le genre *Helicobacter* regroupe actuellement une cinquantaine d'espèces reconnues et plus de 160 souches en cours de classification. Ces espèces sont capables d'infecter de nombreuses espèces animales (Solnick et Schauer, 2001).

II.2. Caractères morphologiques

H. pylori est un bacille à Gram négatif de forme hélicoïdale, de petite taille (0,5 à 1 µm de large sur 2,5 à 4 µm de longueur), possédant 4 à 6 flagelles unipolaires recouverts d'une gaine constituée d'un prolongement de la membrane externe et se terminant par un bulbe. La présence de ces flagelles associée à la forme spiralée de la bactérie confère à *H. pylori* une grande mobilité (Kamiri, 2007).

Après l'isolement de la bactérie par la culture *in vitro*, la morphologie peut varier entre une forme bacillaire, en U, en C ou en O.

De plus lorsque les cultures sont vieilles, apparaissent des formes coccoïdes non viables. La bactérie peut, en effet, devenir coccoïde si elle pousse sur un milieu pauvre ou dans d'autres conditions défavorables (Miendje Deyi, 2011).



Figure 1 : Morphologie de *H. pylori* en microscopie électronique (x 30 000) (Breurec, 2011).

II.3.Habitat

Le réservoir naturel de *H. pylori* est l'estomac humain. C'est le microorganisme le plus fréquemment retrouvé dans la muqueuse gastrique humaine en association avec les cellules épithéliales. Il vit préférentiellement au niveau de l'antre gastrique (Miendje Deyi, 2011).

II.4.Caractères biochimiques

H. pylori n'utilise pas les sucres (asaccharolytiques), c'est à dire qu'elle tire son énergie d'autres sources: les acides aminés et les acides organiques. Toutefois, de récents travaux ont montré que *H. pylori* serait capable d'utiliser le glucose par la voie des pentoses (Mégraud, 1994).

Cette bactérie possède des enzymes qui lui permettent de coloniser la muqueuse gastrique, d'assurer l'équilibre de métabolisme bactérien et d'exercer son pouvoir pathogène : une catalase, une oxydase, des amidases, des peptidases, des phosphatases, des phospholipases, DNase, γ -glutamyl transférase et surtout une uréase extracellulaire en quantité extrêmement importante. L'uréase permet d'hydrolyser l'urée normalement présente dans l'estomac en ammoniac. Les ions ammonium neutralise le pH gastrique, ainsi la bactérie tamponne son proche environnement et se protège de l'acidité gastrique (Sobhani *et al*, 1995).

II.5. Exigences du germe

H. pylori est une bactérie micro-aérophile avec un optimum de croissance à 37°C. En effet, la bactérie est sensible à l'oxygène aux taux de l'air et requiert pour vivre une atmosphère appauvrie en oxygène. Elle requiert une concentration en O₂ de 3 à 6% (optimum de l'ordre de 5%) et une concentration en CO₂ de 6 à 10% (Goodwin *et al.*, 1989).

II.6. Caractères génétiques

Le génome d'*H. pylori* fut l'un des premiers génomes bactériens séquencés, grâce aux travaux de l'équipe du Dr Venter (Tomb *et al.*, 1997). Il est de petite taille (1.6 Mb environ. 1,7 X 10⁶ pb, 1590 séquences codantes) (Audibert, 1999).

En 2011, 32 génomes ont été séquencés et annotés (Breurec, 2012). Il en ressort que *H. pylori* est composé d'un seul chromosome circulaire. Le corps du génome contient environ 1200 gènes, trente pour cent des gènes sont spécifiques à l'espèce et une grande variabilité génétique peut être retrouvée entre les différentes souches. Le contenu en G+C (Guanine + Cytosine) de toutes ces souches est en moyenne de 39%. Néanmoins les génomes séquencés présentent des régions ayant des contenus en G+C% différents. L'une de ces régions correspond à l'îlot de pathogénicité dénommé cag dont le contenu en G+C est de 35% (Censini *et al.*, 1996).

L'analyse du génome d'*H. pylori* montre une grande disparité avec ceux d'autres souches bactériennes Gram négatif, ainsi qu'entre les souches d'*H. pylori* elles-mêmes. Ces divergences reflètent l'adaptation d'*H. pylori* à l'estomac et sa longue évolution isolée des autres espèces bactériennes (Arnion, 2011).

La séquence génomique des différentes souches de *H. pylori* varie en fonction des régions géographiques (Falush *et al.*, 2003; Linz *et al.*, 2007).

Le profil génomique de ce germe est déterminé à l'aide d'une technique rapide d'extraction de l'ADN chromosomique, et l'analyse par des techniques de restriction.

II.6.1. Diversité génétique

La variabilité génétique retrouvée chez *Helicobacter pylori* est due à la grande plasticité qui caractérise leur génome. Cette diversité est due principalement à une diversification intra-génomiques.

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

La diversité génétique de *H. pylori* jouerait un rôle dans l'échappement à la réponse immunitaire, ce qui pourrait expliquer le caractère chronique de l'infection. En effet, la diversité génétique est importante au niveau des gènes associés à la virulence. C'est l'une des raisons qui rend difficile l'élaboration d'un vaccin efficace contre tous les types de souche (Audibert, 1999). Cette hétérogénéité se manifeste par des taux de mutation et de recombinaison importants, par l'acquisition d'ADN étranger (endogène ou exogène à l'espèce) et par des différences au niveau de l'organisation des gènes. La grande variabilité génétique de *Helicobacter pylori* pourrait être due à sa voie de transmission intrafamiliale et à sa grande adaptation à un hôte unique (Falush *et al.*, 2003; Linz *et al.*, 2007).

III. Virulence et pathogénicité de *H. pylori*

On peut les répartir en trois groupes: les facteurs de colonisation; les facteurs de persistance et les facteurs de pathogénicité. Certains facteurs de virulence sont présents uniquement dans certaines souches et certains sous-types sont parfois corrélés à une pathologie plus ou moins sévère (Yamaoka, 2010).

III.1.Facteurs de colonisation

III.1.1. La mobilité

La mobilité de *H. pylori* est un facteur indispensable à la colonisation de la muqueuse gastrique par la bactérie. Des mutants aflagellés sont incapables de persister dans la muqueuse gastrique de porcelets mais génèrent une réponse immunitaire témoignant de leur survie transitoire dans l'estomac (Breurec, 2011). *H. pylori* possède 5 à 6 flagelles unipolaires, engagés et une morphologie spiralée qui lui permettent, lors de son ingestion, d'abrèger son séjour dans le suc gastrique, de pénétrer dans la couche de mucus et de s'y mouvoir. On estime qu'environ 80 % des bactéries se multiplient dans le mucus et que seules 20 % des bactéries colonisent la surface des cellules épithéliales gastriques (Contrerasa, 2003). La

machinerie flagellaire est fonctionnelle grâce à l'expression d'une quarantaine de gènes (flg E, flb A, flg R, fla A, fla B...) (Fontaine et Douat, 2011)

III.1.2. L'uréase

Toutes les souches isolées en clinique produisent une uréase en quantité abondante (près de 6 % des protéines totales). L'uréase est un métalloenzyme multimérique à ion nickel (Kamiri, 2007).

Cette enzyme catalyse l'hydrolyse de l'urée en ammoniac ce qui alcalinise modérément son environnement en favorisant de cette manière l'implantation et la survie de la bactérie et donc la résistance à l'acidité gastrique (Suerbaum et Josenhans, 1999). La puissante activité uréasique des souches de *H. pylori* joue un rôle important dans la neutralisation de la sécrétion d'acide gastrique par hydrolyse de l'urée du suc gastrique en ammoniac et carbonate, ce qui alcalinise modérément son environnement.

L'uréase est un déterminant essentiel de la colonisation et de la persistance de la bactérie. L'ammoniac produit sous l'action de l'uréase est cytotoxique et peut aussi générer des dommages cellulaires (Kuwahara *et al.*, 2000).

Pour être catalytiquement active, l'uréase requiert l'expression de deux sous unités structurales (Ure A, Ure B) et de quatre protéines dites auxiliaires (Ure E, Ure F, Ure G, Ure H) qui permettent l'activation de l'uréase en enzyme fonctionnelle par incorporation des ions nickel aux sites actifs du complexe enzymatique. Une autre protéine Ure I, co exprimée avec les protéines auxiliaires n'est pas nécessaire à la synthèse d'une uréase active, cependant elle joue un rôle prépondérant dans la résistance à l'acidité. Elle est essentielle à la colonisation de la muqueuse gastrique par *H. pylori* (Kamiri, 2007).

III.1.3. L'adhésion

Après avoir quitté la lumière gastrique, *H. pylori* traverse le mucus où la bactérie se multiplie. Une faible proportion atteint la surface des cellules épithéliales et y adhèrent grâce à l'expression d'adhésines (Falk *et al.*, 2000).

-Deux types d'adhésines ont été génétiquement et biochimiquement caractérisés :

- L'adhésine Bab A2 impliquée dans l'interaction avec l'antigène de groupe sanguin Lewis b exprimé à la surface des cellules gastriques (Kamiri, 2007).

- Les deux adhésines homologues Alp A et Alp B produites par tous les isolats de *H. pylori* permettent à cette bactérie d'interagir avec les tissus gastriques (Odenbreit *et al.*, 1999).
- ✓ SabA est une adhésine qui se lie à la structure sialylée de l'antigène Lewis exprimé à la surface des cellules épithéliales. Elle est associée au risque de développement de cancer gastrique mais pas au risque d'ulcère duodéal (Yamaoka *et al.*, 2006).

L'adhérence de *H. pylori* à l'épithélium gastrique facilite la colonisation, la persistance de l'infection et la délivrance des facteurs de virulence à l'intérieur des cellules épithéliales. Environ 4% du génome de *H. pylori* code pour des protéines de la membrane externe dont l'expression est fortement associée aux pathologies gastroduodénales ce qui augmente le risque du cancer (Dossumbekova *et al.*, 2006).

III.2. Facteurs de persistance

En dépit d'une réponse humorale et spécifique de l'hôte dirigée contre *H. pylori* dès les premières étapes de l'infection, la bactérie est capable de persister et de se maintenir durant des dizaines d'années. Il faut donc qu'elle dispose de moyens qui lui permettent de résister ou d'échapper aux mécanismes de défense innée ou acquise.

Trois enzymes permettent à *H. pylori* de résister au stress oxydatif généré par les cellules phagocytaires : le superoxyde dismutase (SOD) qui décompose les ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (Fontaine et Douat, 2011), la catalase qui dégrade le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (Contrerasa, 2003), et l'alkylhydroperoxyde réductase (Ahp) (Lundstrom *et al.*, 2000).

Un grand d'autres protéine favorise la persistance d'HP dans l'estomac : des protéines antioxydantes dont une protéine (NapA) qui séquestre le fer, l'arginase bactérienne qui atténue l'inflammation en régulant la production de monoxyde d'azote par les cellules hôtes, une thioredoxine réduisant le stress oxydactif, une série d'enzymes (dont une endonucléase) qui réparent les dommages oxydatifs de l'ADN, une méthionine sulfoxide réductase et de nombreuses autres protéines participant à une réponse occasionnée par un stress (Baker *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2006).

III.3. Facteurs de pathogénicité

On distingue des facteurs conférant à la bactérie des propriétés pro-inflammatoires accrues, principalement l'îlot de pathogénicité cag (cag PAI), la protéine OipA, la protéine DupA et la protéine activatrice des neutrophiles (HP-NAP), des facteurs agissant directement sur la cellule de l'hôte dont la cytotoxine vacuolisante (VacA) est la plus étudiée (fig.2). VacA (vacuolating cytotoxin) provoque la formation de vacuoles dans des cellules en culture. Les gènes codant pour cette protéine ont une grande variabilité de séquence génétique : chaque cluster de gènes code pour une cascade métabolique différente, lié l'activité de vacuolation de chaque souche. VacA stimule également l'apoptose des cellules épithéliales gastriques et modifie la réponse adaptative immunitaire de l'hôte, favorisant ainsi une longue colonisation.

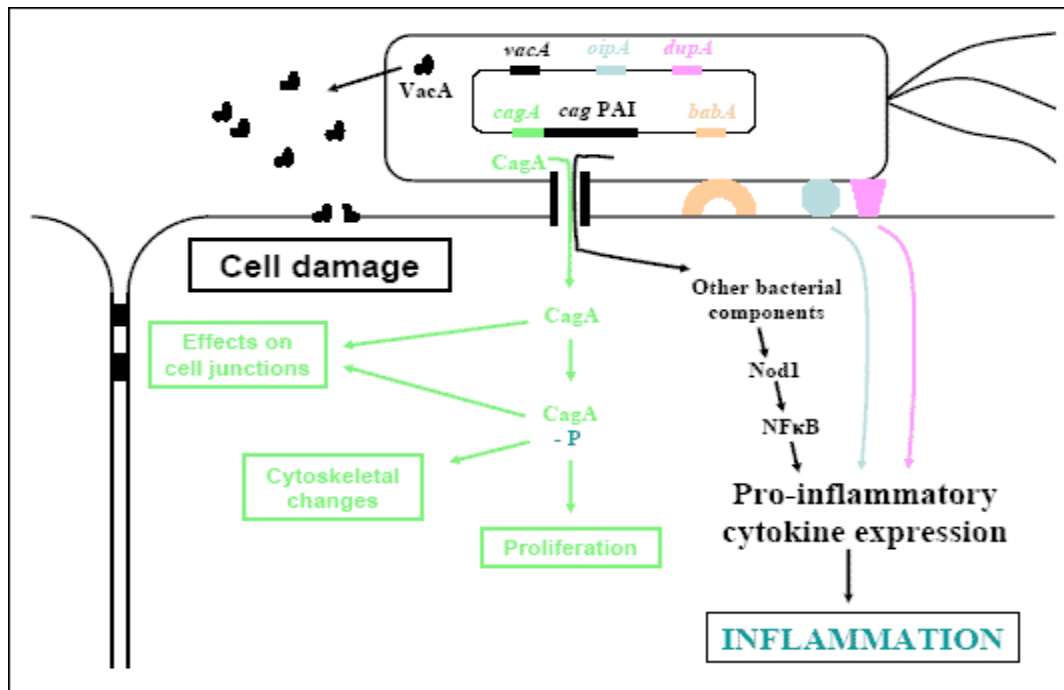


Figure 2 : Intervention des principaux facteurs de pathogénicité dans la survenue de l'inflammation et des dommages cellulaires (Konturek *et al.*, 2006).

III.3.1. L'îlot de pathogénicité Cag (Cag PAI)

L'îlot de pathogénicité cag (Cag PAI) est un fragment d'ADN de 37 kb composé d'environ 29 gènes présent chez environ 60% des souches de *H. pylori*. Dans de rares cas il peut être présent mais non fonctionnel (Covacci *et al.*, 1999). Certains gènes codent pour des protéines formant un système de sécrétion de type IV (SST4), et du gène codant pour la protéine CagA. Le SST4 est un complexe multi-protéique localisé au niveau de la membrane

de *H. pylori* qui permet l'injection de différents effecteurs bactériens directement dans le cytoplasme de la cellule hôte (Backert et Selbach, 2008). L'appareil consiste en une douzaine de protéines (VirB 1-11 et VirD4) assemblées pour former 3 sous-parties interconnectées : un complexe cytoplasmique/intracellulaire, un canal couvrant la double membrane et un pilus externe. Les protéines constitutives du SSTIV peuvent former des complexes homo ou hétérotopiques (Busler *et al.*, 2006) (fig.3).

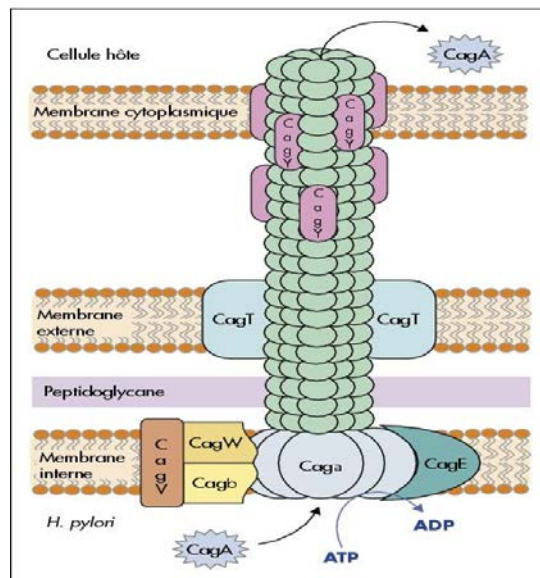


Figure 3 : Schéma de l'appareil de sécrétion de type IV de *H. pylori* avec les différentes protéines le constituant (Chaput et Gomperts Boneca, 2006).

La protéine CagA est injectée à l'intérieur de la cellule épithéliale par le SSTIV. Les souches de *H. pylori* sont souvent classées en souches *cagA+* ou *cagA-*, en fonction de la production ou non de la protéine bactérienne CagA codée par le gène *cagA* présent à l'extrémité de l'îlot *cag* (Mustapha, 2011).

Lorsqu'il est pleinement fonctionnel, l'interaction d'une souche de *H. pylori* avec une cellule gastrique humaine conduit à (fig.4):

- La sécrétion et la translocation de la protéine CagA dans la cellule, suivies par sa phosphorylation sur des résidus tyrosine (Contrerasa, 2003).
- Il s'en suit des effets locaux sur les jonctions d'adhérence focale et de manière plus générale, dans toute la cellule, un réarrangement du cytosquelette (Higashi *et al.*, 2002; Selbach *et al.*, 2002; Tammer *et al.*, 2007).

- Une activation de la voie de signalisation mitogénique qui peut aboutir à une prolifération incontrôlée et/ou à la mort cellulaire (Amieva *et al.*, 2003; Backhed *et al.*, 2003; Brand *et al.*, 2005; Selbach *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 1998; Tammer. *et al.*, 2007).
- L'injection d'un composant soluble de peptidoglycane bactérien (acide d-D glutamyl-mésodiaminopimélique) dans la cellule. Sa reconnaissance par le récepteur intracellulaire de l'immunité innée (Nod1) entraîne une activation du facteur nucléaire kappa B (NF-kB = nucléar factor-kappa B) déjà stimulé par la présence du SST4 et CagA. NF-kB active la transcription d'une série de gènes y compris ceux de certaines cytokines pro-inflammatoires notamment l'interleukine 8 (IL-8). Ce qui entraîne une inflammation de la muqueuse gastrique (Fontaine et Douat, 2011).

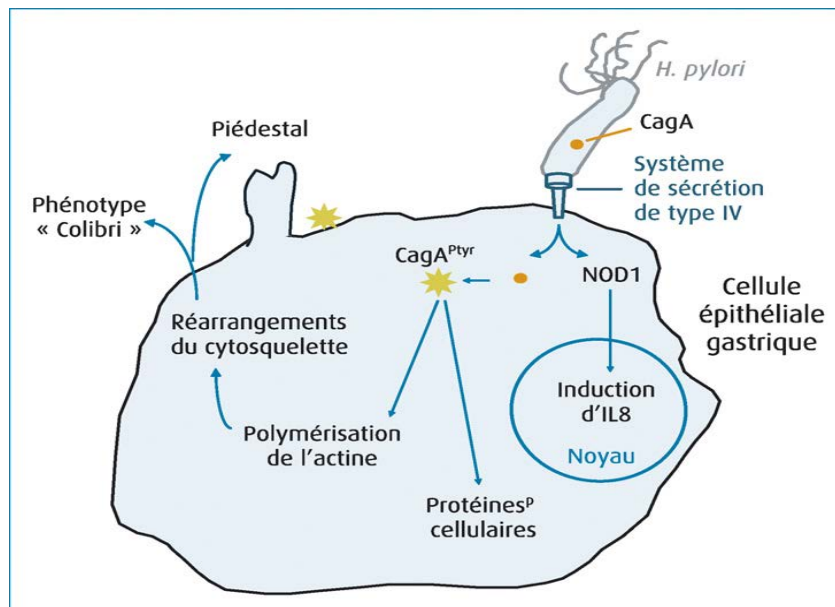


Figure 4 : Effet de l'îlot de pathogénicité cag sur la cellule épithéliale (Covacci *et al.*, 2000).

III.3.2. Autres protéines pro-inflammatoires

Comme nous l'avons vu pour l'appareil de sécrétion de type IV codé par l'îlot cag, d'autres composants protéiques de *H. pylori* ont la capacité de provoquer l'activation des neutrophiles ou d'autres cellules inflammatoires (Contrerasa, 2003).

- C'est le cas par exemple de la protéine OipA et de la protéine HP-NAP.

III.3.2.1. OipA

Est une protéine de la membrane externe capable d'induire la production d'IL-8 (Yamaoka *et al.*, 2000). Yamaoka et coll (2002) ont montré que la présence du gène oipA

sous une forme fonctionnelle était significativement associée à la présence d'une charge bactérienne importante, corrélant au niveau de la muqueuse gastrique des patients infectés avec une augmentation de l'infiltration de la muqueuse par des neutrophiles, et celui d'une synthèse d'IL-8. Ces observations confèrent donc à cette protéine lorsqu'elle est exprimée des propriétés pro-inflammatoires.

III.3.2.2. HP-NAP

A été décrite en 1995 par Evans *et al* comme une protéine oligomérique de 150 kDa. Les travaux les plus récents sur HP-NAP ont confirmé son rôle dans le recrutement chimiotactique des polynucléaires neutrophiles et des monocytes humains au site de l'infection (Satin *et al.*, 2000).

III.3.3. DupA (Duodenal ulcer promoting gène)

DupA est un facteur de virulence découvert récemment .Le gène dupA est situé dans la zone de plasticité du génome de *H. pylori*. In vitro, DupA augmente la production d'IL-8 (Lu *et al.*, 2005). L'association entre la présence de dupA et le risque élevé de développement d'ulcère duodénal et/ou cancer gastrique est très variable d'une population à l'autre (Wroblewski *et al.*, 2010).

III.3.4. La cytotoxine vacuolisante A (VacA)

Toutes les souches de *H. pylori* possèdent une copie du gène codant pour la cytotoxine vacuolisante VacA (90 kDa), mais seulement 40% des souches expriment la forme active de la cytotoxine (Fontaine et Douat, 2011). Cette protéine hautement immunogène induit in vitro une vacuolisation intracellulaire (Hotchin *et al.*, 2000), et est capable d'immunosuppression en bloquant l'activation des lymphocytes T ce qui contribue à la persistance et à la longévité de l'infection (Boncristiano *et al.*, 2003 ; Gebert *et al.*, 2003 ; Sundrud *et al.*, 2004).

Le gène vacA est composé de 3 régions présentant une diversité allélique : la région signal (s) (allèles s1a, s1b, s1c et s2), la région médiane (m) (allèles m1 et m2) et une zone intermédiaire (i), (allèles i1 et i2) décrite plus récemment (Rhead *et al.*, 2007). La variabilité allélique de chaque région détermine l'activité de la toxine produite. La séquence signal permet la sécrétion de la toxine (Galmiche *et al.*, 2000). Seuls les variantes s1 sont sécrétés et donc actifs, les variantes s2 possédant une séquence supplémentaire de 12 acides aminés à l'extrémité N-terminale ne permettant pas la sécrétion. La séquence m est associée à l'activité de la toxine, avec une toxicité élevée pour le variant m1 et plus faible pour le variant m2. La

région i est aussi un des déterminants de la toxicité de la toxine, les souches de génotype s1m1 étant toujours i1 et celles de génotype s2m2 toujours i2. Le génotype s2m1 n'est jamais retrouvé (Varon et Mégraud, 2013).

VacA altère la structure de la cellule épithéliale, agit sur le cycle cellulaire et joue un rôle dans la modulation de la réponse inflammatoire (Cover *et al.*, 2005). VacA perturbe la signalisation cellulaire par différentes voies et entraîne une dérégulation de la prolifération cellulaire, de la différenciation, de l'adhérence cellulaire, le développement de lésions ulcéreuses et un risque accru de développer un cancer *in vivo*. (fig.5) (Fujikawa *et al.*, 2003).

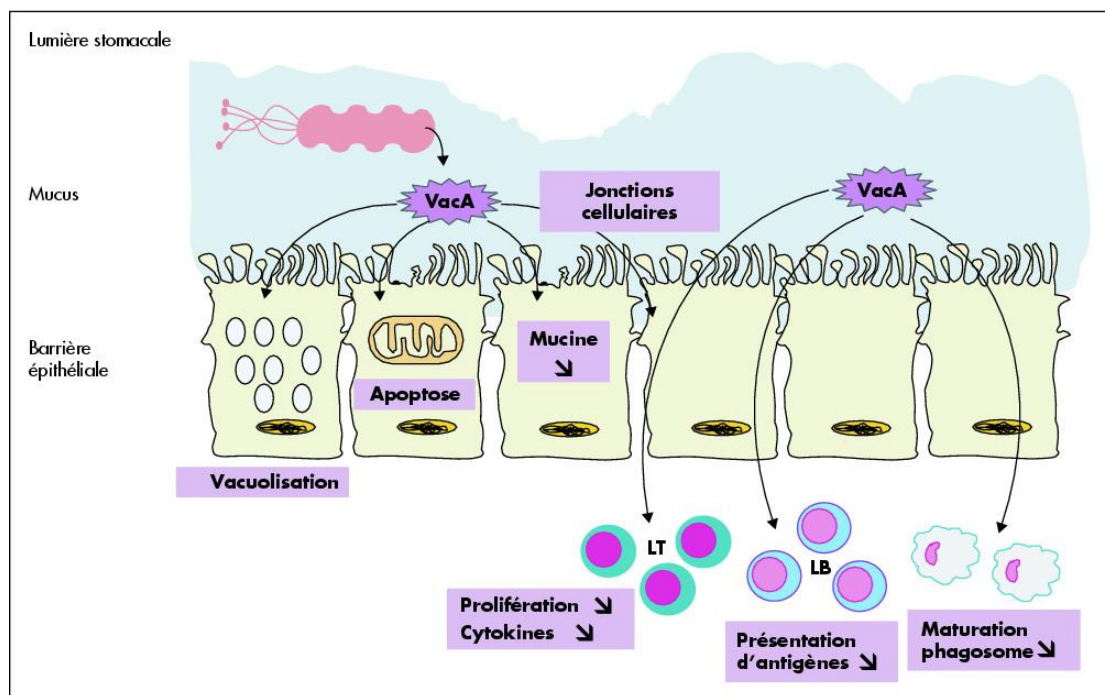


Figure 5 : Propriétés fonctionnelles de la cytotoxine vacuolisante VacA (Chaput et Gomperts Boneca, 2006).

III.3.5. Le Lipopolysaccharide (LPS)

La majorité des souches de *H. pylori* expriment le LPS qui contient des antigènes oligosaccharidiques fucosylés structurellement similaires aux antigènes du groupe sanguin humain (Kusters *et al.*, 2006). De plus, dans 85% de cas, les LPS de *H. pylori* sont porteurs d'antigènes Lewis similaires à ceux que l'on retrouve au niveau des glycoprotéines des cellules épithéliales de la muqueuse gastrique, ce qui permet à la bactérie d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte (Fontaine et Douat, 2011). Le LPS de *H. pylori* a été décrit

comme faible activateur de la réponse immunitaire innée comparé à celui d'autres bactéries Gram-négatif (Mustapha, 2011).

IV. Pathologies associées aux infections à *H. pylori*

Les maladies gastroduodénales associées à l'infection à *Helicobacter pylori* sont : les gastrites, les ulcères et les tumeurs malignes gastriques.

IV.1. Les gastrites

Chez toutes les personnes infectées, la colonisation de la muqueuse de l'estomac par *H. pylori* entraîne une inflammation de la muqueuse gastrique dénommée gastrite (Fontaine et Douat, 2011).

✓ Gastrite aiguë

La forme aiguë de la gastrite, passe inaperçue en raison de l'absence de symptomatologie spécifique mais elle pourrait être symptomatique chez l'enfant. Cette forme est caractérisée par une infiltration mono et polynucléaires, une diminution de la sécrétion gastrique acide et une légère augmentation de la gastrine (Belalami, 1998).

La gastrite aiguë se manifeste par des brûlures d'estomac et des douleurs dans le haut de l'abdomen. Ces symptômes sont souvent plus intenses après les repas. Certaines personnes ont des nausées et perdent l'appétit. Il arrive parfois que la muqueuse de l'estomac, très irritée, saigne facilement et provoque une hémorragie digestive (Hebbaj, 2006).

La gastrite aiguë peut disparaître si la bactérie n'est pas retenue par la muqueuse mais elle évolue le plus souvent vers la gastrite chronique (Belalami, 1998).

✓ Gastrite chronique

Le type B de gastrite (par opposition à la gastrite fundique A de l'ancienne classification), concerne surtout la région antrale et touche les cellules productrices de mucus. Elles s'accompagnent fréquemment de métaplasies gastriques dans le duodénum et sont corrélées avec la présence de *H. pylori*. Ces gastrites interstitielles, sont dites actives, s'il existe un infiltrat de polynucléaires dans la muqueuse. On parle souvent de gastrites folliculaires, qui sont caractérisées par la présence de follicules lymphoïdes dans la muqueuse gastrique (Belalami, 1998).

Elle apparaît le plus souvent asymptomatique. Dans 10 à 20% de cas, la gastrite chronique évoluera vers des formes aiguës avec notamment des pathologies gastro-duodénales ou le lymphome du MALT, à faible degré de malignité (Fontaine et Douat, 2011).

La gastrite chronique s'accompagne parfois de brûlures ou de douleurs à l'estomac, mais elle peut se développer longtemps sans autre signe qu'une légère perte d'appétit. Il arrive qu'une hémorragie minuscule, mais régulière et persistante, entraîne une anémie par manque de fer (anémie ferriprive) (Hebbaj, 2006).

IV.2.Les ulcères

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

✓ Ulcère duodéal

Est localisé au niveau du bulbe duodéal qui est le plus exposé à l'acidité gastrique (Mustapha, 2011). La gastrite joue un rôle essentiel dans l'augmentation de la sécrétion gastrique associée à l'ulcère duodéal. Un dysfonctionnement des mécanismes hormonaux de régulation lié à la gastrite chronique entraîne une hypergastrinémie responsable d'une réponse exagérée des cellules pariétales et donc d'une hypersécrétion acide et d'une augmentation de la masse pariétale (Kamiri, 2007).

L'ulcère duodéal est accompagné d'une infection antrale par l'*H.pylori* dans presque 90 % des cas et l'absence de récurrence ulcéreuse après éradication du germe sont des arguments majeurs en faveur de l'*H.pylori* dans la genèse de la maladie ulcéreuse (Faik et Raiss, 1998).

✓ L'ulcère gastrique

L'ulcère gastrique est localisé vers l'antra, plus précisément dans la région de transition entre le corps de l'estomac et l'antra (Atherton, 2006). L'ulcère gastrique chronique est une affection beaucoup plus rare que l'ulcère duodéal, le rôle de *H. pylori* y est déterminant.

L'ulcère gastrique siège habituellement à la jonction entre la zone où la muqueuse est atrophiée et la zone où elle ne l'est pas. (Savoye et Colin, 2000 ; Mansouri *et al.*, 1997). L'ulcère gastrique résulte d'une pangastrite associée à une normochlorhydrie ou une hypochlorhydrie (Atherton, 2006).

Les maladies ulcéreuses sont responsables d'une mortalité et d'une morbidité importante. Les principales complications sont l'hémorragie et la perforation.

IV.3. les tumeurs malignes gastriques

La plupart des cancers de l'estomac sont des adénocarcinomes. Parmi les autres tumeurs malignes gastriques, les lymphomes malins sont les moins rares. Des données épidémiologiques ont montré que l'infection à *Helicobacter pylori* augmenterait le risque de survenue de ces deux types de tumeurs (Fléjou, 1994).

Une relation de cause à effet existe entre *H.pylori* et cancer gastrique. La bactérie est classée comme un carcinogène de grade 1 par l'Agence Internationale de recherche sur le Cancer (Buckley et O'Morain, 1996).

✓ L'adénocarcinome gastrique ou Cancer gastrique

L'adénocarcinome gastrique représente la 14^e cause de mortalité toute catégorie confondue dans le monde et la 2^e cause de mortalité par cancer (Varona et Mégraud, 2013).

Le rôle de *H. pylori* dans la genèse de l'adénocarcinome gastrique a été clairement démontré par la mise en évidence de mécanismes cellulaires de carcinogénèse par la bactérie.

Le stress oxydatif généré au cours de l'infection peut contribuer à un dysfonctionnement cellulaire et induire des dommages oxydatifs directs au niveau de l'ADN (Mustapha, 2011). La génération d'espèces oxygénées réactives dans l'épithélium gastrique est associée à la présence de facteurs de virulence tels que la protéine CagA et l'îlot cag ce qui suggère leur forte contribution au processus de carcinogénèse (Ding *et al.*, 2007).

Plusieurs polymorphismes de l'hôte tels que celui de l'interleukine 1 peuvent accroître la réponse inflammatoire à la bactérie favorisant l'évolution vers le cancer (El-Omar *et al.*, 2000).

Les adénocarcinomes non localisés au cardia peuvent être divisés en deux types histologiques :

- Un type diffus avec absence de cohésion cellulaire, se traduisant par une infiltration et un épaississement de la paroi gastrique. Les cancers de type diffus surviennent après des lésions précancéreuses de type gastrite chronique non atrophique, et sont plus fréquemment observés chez des sujets plus jeunes (Egan et O'Morain, 2007).

- L'adénocarcinome de type intestinal qui progresse à travers une série d'étapes histologiques (Correa, 1996; Wroblewski *et al.*, 2010). Ce dernier est initié par la transition d'une muqueuse normale vers une gastrite chronique superficielle suivie d'une atrophie gastrique et d'une métaplasie intestinale pour enfin engendrer une dysplasie et un adénocarcinome (Sipponen *et al.*, 2000).

✓ **Le lymphome gastrique**

Le terme de lymphome évoque en premier lieu une pathologie ganglionnaire. 25% des lymphomes surviennent en dehors des ganglions ce sont des lymphomes extra-ganglionnaires. La cytologie normale de l'estomac est dépourvue de tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Hebbaj ,2006).

L'infection chronique de la muqueuse gastrique par *H. pylori*, entraîne l'acquisition d'un tissu lymphoïde associé aux muqueuses, caractérisé par la présence d'une hyperplasie lymphoïde folliculaire (lymphome B de type MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue) (Belalami, 1998).

La stimulation antigénique chronique par *H. pylori*, serait responsable de l'apparition d'un clone tumoral lymphoïde B. La démonstration du déclenchement par des antigènes de *H. pylori*, de la prolifération des cellules tumorales B du lymphome de type MALT en présence de cellules T spécifiques de *H. pylori*, est un argument dans ce sens (Belalami, 1998).

L'association entre le lymphome du MALT et la présence de *H. pylori* est bien établie puisqu'environ 90 % des sujets atteints de lymphome du MALT sont infectés par *H. pylori* (Edit *et al.*, 1994; Kusters *et al.*, 2006).

On distingue 2 types cliniques de lymphome:

- Lymphome à grandes cellules (haut grade) caractérisé par une tumeur volumineuse et ulcérée.

- Lymphome à petites cellules (bas grade) caractérisé par une réaction inflammatoire lymphoplasmocytaire, une formation de nodules lymphoïdes et la prolifération d'un clone cellulaire. Ce sont des lymphomes de faible degré de malignité, d'évolution indolente, généralement localisés et pouvant se transformer en lymphome de haut degré de malignité lorsqu'apparaît un ou plusieurs contingents de grandes cellules (Fontaine et Douat ,2011)

✓ Gastrite atrophique et métaplasie intestinale

L'inflammation chronique induite par *H. pylori* peut entraîner une destruction des glandes gastriques et une perte de l'architecture normale de la muqueuse gastrique ce qui provoque la mise en place d'un épithélium de type intestinal. Cet état de gastrite atrophique et métaplasie intestinale a lieu chez 50% des patients infectés par *H. pylori* et aux endroits où l'inflammation est la plus sévère (Mustapha, 2011). Le risque de développement de gastrite atrophique dépend de la distribution de l'inflammation chronique active. Les patients chez qui la production d'acide est diminuée montrent une progression plus rapide vers l'atrophie (Kuipers *et al.*, 1996).

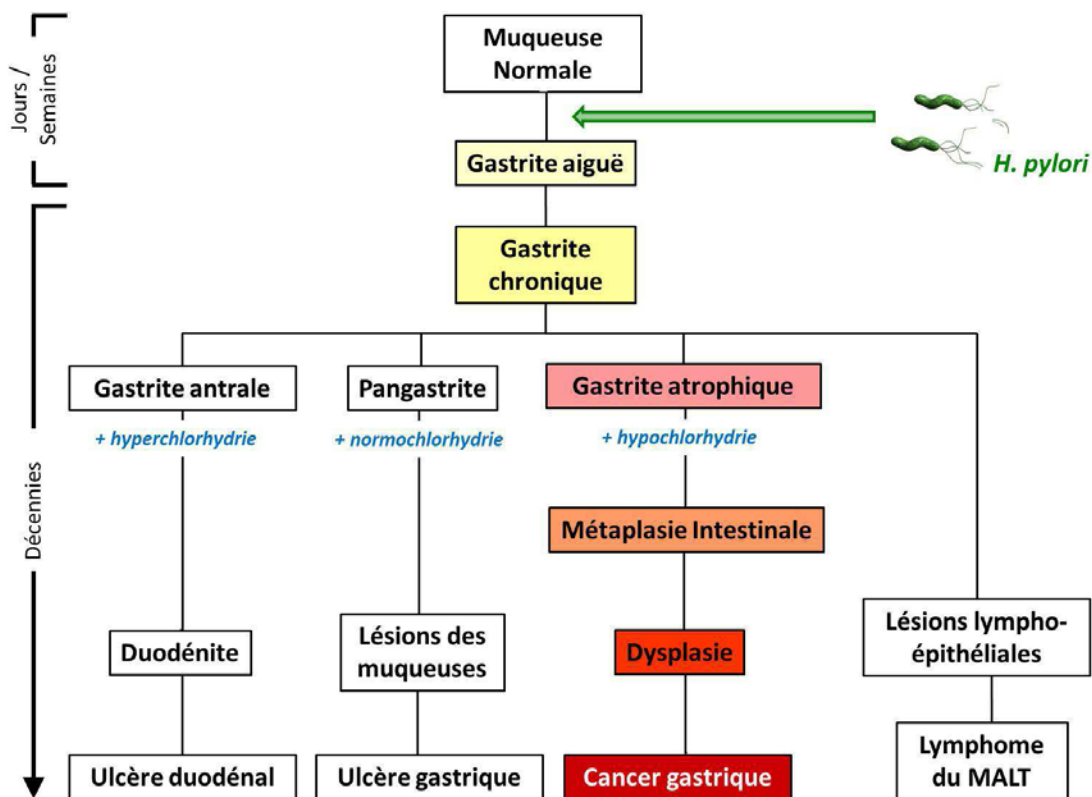


Figure.6 : Rôle de *H. pylori* dans le développement des pathologies gastroduodénales (Mustapha, 2011).

Chapitre II

Méthodes de Diagnostique

II. Méthodes de diagnostics

Les méthodes de diagnostics pour la détection de l'infection à *H. pylori* peuvent être réparties en deux groupes : méthodes invasives, c'est-à-dire nécessitant une endoscopie et une biopsie gastrique, ou non-invasives, c'est-à-dire, sans endoscopie.

II.1. Diagnostic par des méthodes invasives

II.1.1. Endoscopie et biopsie

Lorsque les patients présentent des symptômes digestifs, on peut faire la recherche de l'*H. pylori* par endoscopie haute puis on pratiquera une biopsie. La réalisation de biopsies gastriques antrales et fundiques reste indispensable pour poser le diagnostic de gastrite à *H. pylori*. Habituellement, la muqueuse paraît macroscopiquement normale mais en réalité elle est enflammée. Plusieurs biopsies peuvent être nécessaires pour analyses histologiques et bactériologiques car les lésions pourraient être hétérogènes dans leur répartition et leur intensité (Hebbaj, 2006).

II.1.2 Test rapide à l'uréase (CLO-test*)

Ce test est basé sur la propriété de *H. pylori* de posséder une uréase très forte. Les avantages de ce test sont sa facilité et sa rapidité. On obtient la réponse en salle d'endoscopie en 20 à 30 minutes (Mégraud *et al*, 1994). La limite de ce test est sa faible sensibilité : il faut en effet un nombre de bactéries important (supérieur à 10^5 /g) pour faire virer le test, ce qui limite son utilité pour le contrôle de l'éradication du germe après traitement, car dans ce cas l'*H. pylori*, même s'il n'a pas disparu, ne sera pas détecté par cette méthode.

L'uréase test est constitué d'un gel d'agar contenant de l'urée, du rouge de phénol comme indicateur de pH, des tampons et d'un agent bactériostatique. La biopsie gastrique est déposée dans le gel qui a une coloration jaune. En cas de présence de *H.pylori* sur le fragment biopsique, l'activité uréasique a pour conséquence la production d'ammonium et de bicarbonate à partir de l'urée. Cette réaction vire au rouge violacé à une température comprise entre 30 et 40 °C (fig.7) (Hebbaj, 2006).



Jaune : résultat négatif : *Hp* –

Rouge violacée : résultat positif : *Hp* +

Figure.7 : Test rapide à l'uréase (Miendje Deyi, 2011).

II.1.3. Examen anatomopathologique

L'examen anatomopathologique permet de mettre en évidence, avec ou sans coloration, la bactérie au niveau du mucus, de la surface épithéliale et des cryptes. Les coupes sont colorées par diverses colorations, la plus répandue étant la coloration argentique (méthode de Warthin et Stary). Cette dernière peut donner d'excellents résultats, les bactéries apparaissent noires sur fond jaunâtre (fig.8), mais elle est longue et délicate (Belalami, 1998).

Le gros avantage de l'analyse anatomo-pathologique est qu'elle permet conjointement le dépistage de la gastrite et la recherche de complications, telles qu'atrophie, métaplasie, lymphome ou cancer (Werme, 2012).



Figure.8: Coloration argentique de warthing Starring (Hebbaj, 2006).

II.1.4. Amplification génique ou PCR

L'amplification génique permet de mettre en évidence des fragments d'ADN de l'*H. pylori* directement sur du matériel biologique tel que biopsie gastrique, liquide gastrique, plaque dentaire, salive ou selles (Labigne *et al*, 1994). Cette méthode est connue pour sa rapidité, sa sensibilité et sa possibilité de mettre en évidence toutes les formes de *H. pylori*, y

compris les formes coccoïdes non cultivables ou les bactéries mortes. Malgré ces points forts, c'est une technique qui a une faible disponibilité.

La PCR peut aussi être utilisée pour détecter *H. pylori* avec des amorces basées sur l'ADNr 16S ou des gènes spécifiques (*vacA* comme ci-dessous) (fig.9).

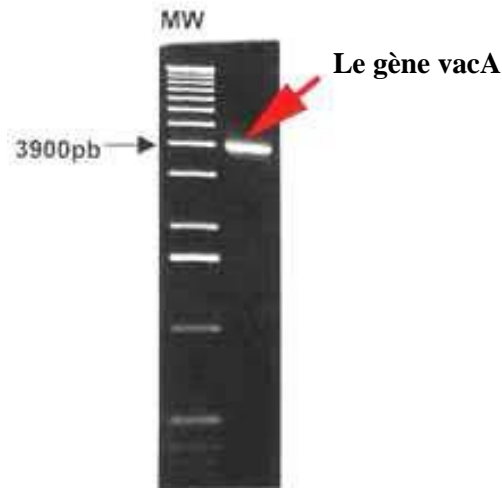


Figure.9 : La recherche de *vacA* par la PCR (Hebbaj, 2006).

II.1.5. Examen bactériologique

✓ Examen direct après coloration

Cet examen comporte la recherche de bactéries spiralées sur un frottis coloré, par la méthode de Gram (Guerre ,1994). Après une fixation au formol puis une coloration au Giemsa. L'avantage de cette méthode, consiste en sa simplicité et sa rapidité de réponse (Glupczvnski ,1994 ; Mégraud ,1994) (fig.10).

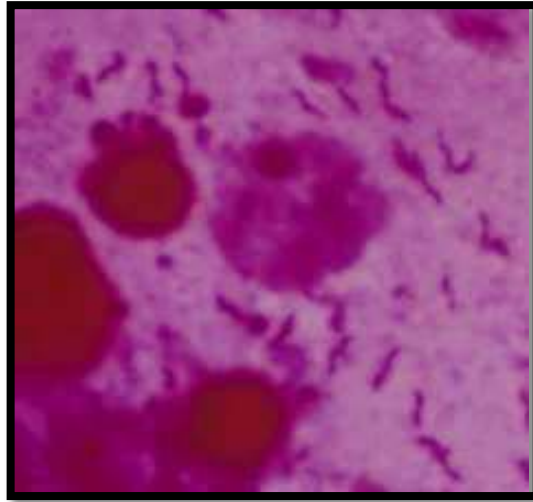


Figure.10 : Frottis colorés par Giemsa G x100 (Hebbaj, 2006).

✓ La mise en culture

La culture nécessite des conditions particulières de transport de la biopsie et un broyage. Elle est effectuée sur un milieu enrichi (gélose sélective *Helicobacter pylori*, gélose Columbia ou Brucella ou Wilkins Chalgren à 10% de sang de cheval), d'autres suppléments de croissance ou de détoxification ont été proposés. Des mélanges sélectifs peuvent être utilisés pour inhiber la croissance des contaminants occasionnels (flore buccale surtout) .La culture est maintenue 5 à 7 jours à 37°C en atmosphère micro aérobie (fig.11) (Werme, 2012 ; Hebbaj, 2006).

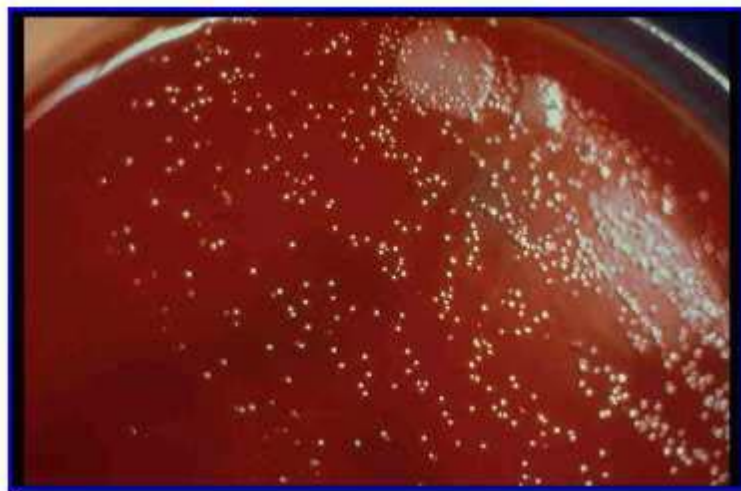


Figure. 11 : Culture de *H. pylori* obtenue après trois jours d'incubation sur boîte au sang (Marshall et al.,1990))

L'identification de *H. pylori* est basée sur des tests biochimiques (oxydase, catalase, uréase, γ -glutamate transférase, phosphatase alcaline +) (API Campylobacter, bioMérieux) (fig.12).



URE : uréase

GGT : Gamma Glutamate Transférase

PAL : Phosphatase Alcaline

Figure.12 : API *Campylobacter* ((Hebbaj, 2006).

Elle a le gros avantage de permettre, après antibiogramme, d'adapter le traitement antibiotique à la sensibilité de la souche isolée. Différentes méthodes ont été proposées à cet effet. Les plus utilisées sont la méthode de diffusion à partir de disques et la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) par l'usage des épsilon-mètres (E-test) (Mégraud et Lehours, 2007).

II. 2. Diagnostic par des méthodes non invasives

Les méthodes non invasives ne permettent pas de déterminer la nature de la maladie qui peut être associée à l'infection. Leurs avantages sont justement d'éviter la réalisation d'une gastroscopie, et ce sont des méthodes de diagnostic global, éliminant le risque de faux négatifs liés à l'analyse de quelques échantillons prélevés. Elles regroupent le test respiratoire à l'urée marquée, les tests sérologiques et la recherche d'antigène dans les selles.

II.2.1. Test respiratoire à l'urée marquée

Le test respiratoire fut le tout premier des tests non-invasifs (Graham et al., 1987). Il consiste à faire absorber au patient de l'urée marquée au ^{13}C puis à rechercher cet isotope dans le CO_2 expiré (fig.13). Si le patient est infecté, l'urée est métabolisée par *H. pylori* et le ^{13}C expiré peut être détecté. Ce test, incontestablement le plus sensible (98%), présente l'avantage de rechercher la présence de la bactérie dans la totalité de l'estomac. Il est recommandé pour

le contrôle d'éradication 4 semaines après l'arrêt d'un traitement, et d'éviter ainsi une endoscopie de contrôle qui est invasive (Malfertheiner *et al.*, 2007).

La détection du CO₂ se fait par spectrométrie infrarouge ou spectrométrie de masse. Le taux du ¹³CO₂ dégagé est comparé à celui obtenu juste avant l'ingestion (Logan *et al.* , 1998).

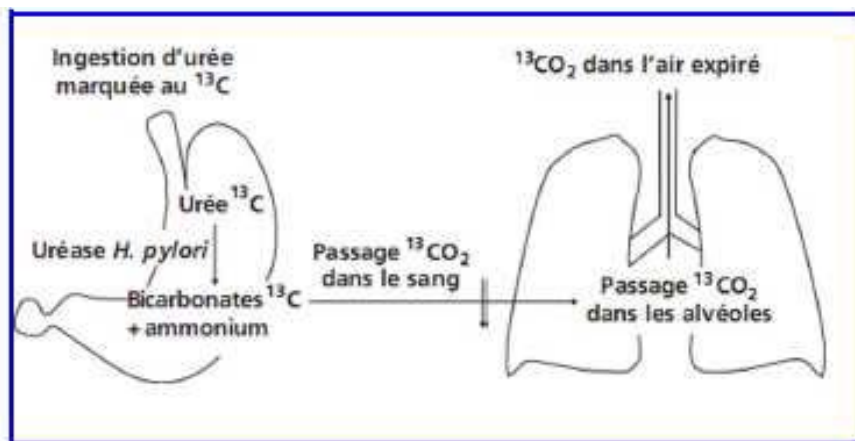


Figure.13: Principe du test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C

(http://umvf.univ-nantes.fr/hepato-gastro-enterologie/enseignement/item 290/side/html/1_14_1.html).

II.2.2. Tests sérologiques

C'est une méthode simple et très accessible qui consiste à détecter les anticorps spécifiques de *H. pylori* dans le sérum des patients. *Helicobacter pylori* stimule le système immunitaire de l'hôte par relargage de protéines immunogènes et de lipopolysaccharides. La réponse immunitaire, essentiellement basée sur la synthèse des IgG et IgA est présente dans 98% des cas. (Lozniewski *et al.*, 1997).

Le taux élevé d'anticorps durant l'infection baisse progressivement dans les 4 à 6 mois suivant l'éradication. De ce fait, cette technique ne peut être utilisée que pour détecter précocement l'éradication. Il s'agit d'un test ELISA, son principe est fondé sur la mise en évidence des anticorps IgG anti-*H. pylori* qui peuvent être détectés dans le sang. D'autres techniques sont utilisées, telles que la technique d'immuno-blot, qui met en évidence des anticorps sériques spécifiques dirigés contre des antigènes de *H.pylori* en particulier l'antigène Cag considéré comme un marqueur de virulence (Delchier ,2000 ; Lamarque ,1995 ; Sobhani *et al.*,2000).

II.2.3. Recherche d'antigène dans les selles

Basée sur l'élimination de *H. pylori* par les selles, cette méthode immunoenzymatique de diagnostic a été proposée en 1998 (Makristathis *et al.*, 1998). La recherche d'antigène spécifique de *H. pylori* s'effectue sur selles fraîches ou conservées à basse température ou même congelées à -70°C . Différents kits sont proposés à cet effet; ceux utilisant les anticorps monoclonaux offrent de meilleurs résultats (Blanco *et al.*, 2008).

En pratique, ce test peut servir au diagnostic primaire de l'infection mais s'avère surtout utile pour le contrôle de l'efficacité du traitement d'éradication. Il pourrait être utilisé comme alternative au test respiratoire pour le contrôle d'éradication (Malfertheiner *et al.*, 2007). Il est important de noter que la recherche de l'Ag de *H. pylori* dans les selles utilise actuellement des Ag monoclonaux augmentant ainsi le rendement diagnostique. Sa sensibilité est de 95% et sa spécificité de 94%. Ce test serait à privilégier pour le diagnostic de *H. pylori* et le contrôle d'éradication du fait de son faible coût.

Chapitre III

Traitement Et Sensibilité

Aux Antibiotiques

III. Traitement et sensibilité aux antibiotiques

H. pylori est sensible in vitro à de nombreux antibactériens ; néanmoins peu sont efficaces pour son éradication in vivo.

Les gastro-entérologues doivent faire un choix rationnel parmi les agents thérapeutiques disponibles en prenant en considération les caractéristiques optimales des antibiotiques disponibles et les facteurs prédictifs de l'évolution du traitement de l'infection à *H. pylori* (Miendje, 2011).

Une éradication totale de *H. pylori* est nécessaire pour venir à bout de l'infection, elle permet d'obtenir une diminution spectaculaire du taux de récurrence ulcéreuse et donc une diminution du risque de cancer gastrique (Kamiri, 2007).

III.1. Evolution des traitements

III.1.1. Monothérapies

Utilisées les premières, les monothérapies ont fait la preuve de leur inefficacité relative, elles sont donc abandonnées mais restent indispensables pour tester l'effet in vivo d'un médicament "candidat", d'autant que l'efficacité in vitro sur des souches de *H. pylori* ne permet pas de préjuger de l'efficacité véritable en clinique (Belalami, 1998).

Les sels de bismuth ont été testés les premiers en raison de leurs propriétés antibactériennes et de leur rôle dans le traitement anti-ulcéreux. Les taux d'éradication obtenus sont faibles, inférieurs à 20%. L'oméprazole et la ranitidine ont aussi été étudiés en monothérapies, sans succès (kaiser, 2001).

III.1.2. Bithérapie

Les résultats décevants des monothérapies ont conduit à l'essai de différentes bithérapies, dont l'association de :

- bismuth à un antibiotique, à l'étranger.
- deux antibiotiques, ou d'un antisécrétoire à un antibiotique (Kamiri, 2007).

III.1.3 Trithérapies

Les trithérapies associent un antisécrétoire à deux antibiotiques, permettent d'obtenir des taux d'éradication supérieurs ou égaux à 85%. A ce jour, les trithérapies constituent les associations les plus performantes (kaiser, 2001).

III.1.4. Quadrithérapie

En cas d'échec des trithérapies, une quadrithérapie peut être proposée, notamment aux Etats-Unis. Elle est plus efficace avec des taux d'éradication allant de 95% à 100% mais nécessite un programme de dosage compliqué. Elle est moins bien tolérée que les trithérapies. Cette quadrithérapie consiste en l'association (Chassany et Duracinsky, 2002 ; Lamouliatte, 2000).

- d'un inhibiteur de la pompe à proton (IPP) ou d'un antihistaminique H2.
- et d'une trithérapie associant un sel de bismuth à deux antibiotiques.

III.2. Médicaments utilisés

L'activité des antibiotiques est d'autant plus importante que le pH gastrique est proche de la neutralité. C'est ainsi que le traitement de l'éradication de l'*H.pylori* repose sur l'association d'un antisécrétoire et des antibiotiques (Faik, 2000).

III.2.1. Inhibiteurs de la pompe à proton (IPP)

Les inhibiteurs de la pompe à proton sont les antisécrétoires de référence. Les IPP réduisent la production d'acide de l'estomac, élevant ainsi les concentrations des antibiotiques dans les sucs gastriques. Les IPP réduisent également la viscosité de la membrane muqueuse gastrique, améliorant ainsi la perméabilité (Vakil et Vaira, 2013).

III.2.2. Les antibiotiques

✓ Amoxicilline

L'amoxicilline est un antibiotique bactéricide qui inhibe la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane par analogie structurale avec le dipeptide D-alanine-D-alanine. Les protéines PLP (protéines liant la pénicilline), situées sur la face externe de la membrane cytoplasmique, constituent les cibles de cet antibiotique. Pour les atteindre, l'amoxicilline doit traverser la paroi bactérienne (Bouyssou, 2014).

✓ **Métronidazole**

Le métronidazole appartient à la famille des 5-nitroimidazolés. Il s'agit de dérivés semi-synthétiques de l'azomycine produite par les Streptomyces. Son activité antimicrobienne sur *H.pylori* est peu influencée par une variation de pH entre 5,5 et 8 (Fontaine et Douat, 2011).

Pour être actif, le métronidazole doit pénétrer dans la bactérie. La fonction nitrée du métronidazole doit être réduite pour former un dérivé hydroxylamine (forme toxique). Cette réduction va entraîner des dommages au niveau de l'ADN bactérien ce qui par la suite va causer la mort de la cellule (Djouadi,2011).

✓ **Clarithromycine**

Les macrolides se fixent sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien, notamment au niveau de l'ARN ribosomal (ARNr) 23S. Il en résulte une inhibition de l'élongation du peptide en cours de synthèse, par blocage des étapes de transfert peptidique ou de translocation (Fontaine et Douat, 2011).

La clarithromycine est la plus efficace des macrolides pour l'éradication de *H.pylori*, notamment en raison de sa bonne diffusion tissulaire. Elle est très active in vitro (CMI= 0,03mg/l). La clarithromycine a une efficacité diminuée à pH acide (Kamiri, 2007).

✓ **Fluoroquinolones**

La plupart des fluoroquinolones ont une activité modérée ou bonne sur *H. pylori*. La ciprofloxacine et la tosufloxacine sont les plus actives (Belalami, 1998).

Les nouvelles fluoroquinolones sont très actives sur *H. pylori* par inhibition de la sous-unité A de l'ADN gyrase bactérienne codée par le gène *gyrA*. Cette enzyme est un tétramère constitué de deux sous-unités A codées par le gène *gyrA* et deux sous-unités B codées par le gène *gyrB* (Fontaine et Douat, 2011).

✓ **Tétracyclines**

Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines bactérienne en se liant à la sous-unité 30S du ribosome où elle bloque la fixation de l' aminoacyl-ARNt résultant en la synthèse d'un peptide tronqué (Fontaine et Douat, 2011).

Les tétracyclines sont actives sur *H. pylori* et peu de souches sont résistantes. La tétracycline a été utilisée dans le but de contrer la résistance croissante aux imidazoles et à la clarithromycine (Kaiser, 2001).

III.2. Résistance aux antibiotiques

H. pylori a la particularité d'acquérir des résistances essentiellement par mutations ponctuelles chromosomiques. Tous les antibiotiques utilisés pour le traitement sont concernés bien que les résistances à l'amoxicilline et à la tétracycline soient exceptionnelles (Kamiri, 2007). Le taux de résistance aux antibiotiques est beaucoup plus élevé en cas d'échec d'éradication et est proportionnel au nombre de tentatives infructueuses (Fontaine et Douat, 2011). Des résistances ont été mises en évidence avec la clarithromycine. Certaines souches de *H. pylori* sont résistantes à la fois aux imidazoles et à la clarithromycine, ce qui complique la recherche d'une association efficace, même en disposant d'un antibiogramme (Belalami, 1998). La résistance aux fluoroquinolones a été associée à une diminution de 66,7% du taux d'éradication (Nishizawa *et al*, 2009).

Plus récemment, l'utilisation directe de la PCR sur les biopsies gastriques sans passer par la culture bactérienne a permis de faire le diagnostic d'infection et de résistance aux antibiotiques en 2 à 3 heures avec une bonne sensibilité et spécificité (Hebbaj ,2006).

Tableau : Mécanismes de résistance aux principaux antibiotiques utilisés dans le traitement de l'infection à *H. pylori* et les cibles principales. (Kamiri, 2007 ; Fontaine et Douat, 2011).

Antibiotiques	Mécanisme de résistance	Gène	Mutations principales
Clarithromycine	Altération de l'ARNr 23S	ARNr23S	ADNr 23S : <ul style="list-style-type: none"> • A2143G • A2142G
Métronidazole	Inactivation des nitroréductases NADPH insensibles à l'oxygène	rdxA+frxA	Gène rdxA Gène frxA Gène fdxB
Amoxicilline	Diminution d'affinité pour Les protéines de liaison à la pénicilline (PLP)	plp	Gène plp I
Tétracycline	Altération de l'ARN ribosomal 16S	16S rRNA	ADNr 16S : <ul style="list-style-type: none"> • AGA965-967TTC. • Délétion G942
Fluoroquinolones	mutations (QRDR) du gène gyrA	gène gyrA	Gène gyrA <ul style="list-style-type: none"> • Position 87 • Position 91

Conclusion

L'infection à *H. pylori* constitue un réel problème de santé publique notamment dans les pays en voie de développement. Il est important de rechercher *H. pylori* afin de prévenir ses complications. Deux méthodes sont actuellement préconisées et utiles: la recherche de l'Ag de *H. pylori* dans les selles et l'histologie. La recherche de l'Ag de *H. pylori* dans les selles est indiquée à la fois, dans le diagnostic et le contrôle de l'éradication du germe. Tandis que l'histologie, en plus de la recherche de *H. pylori*, renseigne sur la présence d'une atrophie gastrique, d'une métaplasie ou d'un cancer gastrique.

Ainsi, le clinicien dispose d'une large gamme d'outils pour diagnostiquer l'infection à *H.pylori*. Les tests directs sont adaptés au diagnostic initial qui est justifié en cas de lésion endoscopique significative. Les tests indirects et notamment le test respiratoire sont utiles pour tester l'éradication. Les résultats sont toujours à discuter en fonction des traitements antibiotiques ou anti sécrétoires que le patient aurait pu prendre récemment (Lamouliate *et al.*,2000).

Les nombreuses recherches menées sur *Helicobacter pylori* au cours de ces dernières années témoignent de l'intérêt scientifique considérable suscité par ce pathogène. La connaissance du génome entier de la bactérie, associée aux nouvelles techniques de biologie moléculaire et à des modèles animaux adaptés, constitue un formidable moteur de recherche pour l'identification à venir de déterminants communs à toutes les souches d'*H.pylori* et essentiels à son pouvoir pathogène.

En Algérie il existe très peu de laboratoire qui pratiquent le diagnostic, du fait de la prévalence des pathologies gastriques, il serait judicieux de mettre en place les méthodes de recherche bactériologique de cet agent hautement pathogène au niveau des différents laboratoires à travers le pays dans le but de traiter efficacement l'infection en éradiquant *H. pylori* afin de prévenir la survenue du cancer gastrique.

Références bibliographique

Références bibliographique

- Amieva, M.R; Vogelman, R; Covacci, A; Tompkins, L.S; Nelson, W.J, Falkow, S., (2003)** - Disruption of the epithelial apical- junctional complex by *Helicobacter pylori* CagA. *Science*. 300:1430-1434.
- Arnion, H ., (2011)** - Étude de petits ARNs chez une bactérie : *Helicobacter pylori*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'École Pratique des Hautes Études. association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature*, **445**: 915-918.
- Atherton, J.C., (2006)** -"The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases." *Annu Rev Pathol* 1: 63-96
- Audibert , C. , (1999)** - Diversité génétique de *Helicobacter pylori*. Option Bio ; Belgique. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques. supplément aux numéros 230-232 : 30-31.
- Backert, S; Selbach, M., (2008)** -Role of type IV secretion in *Helicobacter pylori* pathogenesis *Cell Microbiol*, 10 (8) pp. 1573–1581.
- Bäckhed, F; Rokbi, B; Torstensson, E; Zhao ,Y; Nilsson , C; Seguin, D; Normark, S; Buchan, A.M; Richter-Dahlfors, A., (2003)** - Gastric mucosal recognition of *Helicobacter pylori* is independent of Toll-like receptor 4. *J Infect Dis*. 187:829-836.
- Baker, L.M; Raudonikiene, A; Hoffman, P.S; Poole, L.B., (2001)** -Essential thioredoxine-dependent peroxiredoxin system from *Helicobacter pylori*: genetic and kinetic characterization. *J Bacteriol*. 183:1961-1973.
- Belalami, W., (1998)** - *Helicobacter pylori* et ulcère gastro-duodéal. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état). Université cheikh anta diop – Dakar.
- Bigard,M.A ; Colin,R., (1996)** –Conférence de consensus,ulcère et gastrite à l'heure de *Helicobacter pylori*,pourquoi et comment ?*Gastroentérol.Clin.Biol*.20 :51-54.
- Blanco, S; Forne, M ;Lacoma ; Prat, C ; Cuesta ,M.A, ;Latorre, I ; Viver ,J.M ; Fernandez ,G ; Molinos ,S ; Domínguez , J., (2008)** - Comparison of stool antigen

immunoassay methods for detecting *H. pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 61:150-155.

Boncristiano, M; Paccani, S.R; et al., (2003) - "The *Helicobacter pylori* Vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms." *J Exp Med* 198(12): 1887- 1897.

Bouyssou, C., (2014) - Évolution des stratégies thérapeutiques pour *Helicobacter pylori*. *Actualités Pharmaceutiques*. Volume 53, Issue 536, May 2014, Pages 25–30.

Brandt, S; Kwok , T; Hartig, R; Konig, W; Backert , S., (2005) - NF-kappaB activation and potentiating of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:9300-9305.

Breurec, S., (2011) -*Helicobacter pylori* : migrations humaines et cancer gastrique.

Buckley,M; O’Morain, C., (1996)-Quand faut-il éradiquer *Helicobacter pylori* chez un malade ayant une gastrite chronique ?*Gastroentérol.Clin.Biol.*20.143-153.

Busler, V. J; Torres, V.J; et al., (2006) - "Protéine-protéine interactions among *Helicobacter pylori* cag proteins." *J Bacteriol* 188(13): 4787-4800.

Censini , S ; Lange , C ; Xiang , Z ; Crabtree , J.E ; Ghiara , P ; Borodovsky , M ; Rappuoli , R ; Covacci , A ., (1996) - cag , a pathogenicity island of *Helicobacter pylori* , encodes type I- specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A ;* 93:14648 14653.

Chaput, C ; Gomperts-Boneca, I., (2006) - Bases moléculaires de l’interaction de *Helicobacter pylori* avec les cellules épithéliales gastriques. *Hépto-Gastro.* 13:379-388.

Chassany, O ; Duracinsky, M., (2002) -Quel schéma thérapeutique pour l’éradication d’*H.pylori* et la cicatrisation de l’UGD. Le traitement minute a-t-il sa place ? *Presse Médicale* 2002 aug24 ; 31(27) :1277-81.

Contrerasa, M., (2003) - Quels sont les facteurs de virulence de *Helicobacter pylori* ? *Gastroentérologie Clinique et Biologique* Vol 27, N° 3-C2 - mars 2003 p. 401-408.

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

Covacci, A; Rappuoli, R., (2000) - Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. *J Exp Med* .191:587-92.

Covacci, A; Telford, J.L; Del Giudice G, Parsonnet, J; Rappuoli, R., (1999) - *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*. 284:1328-1333.

Cover, T. L; Blanke, S.R., (2005) -"*Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality." *Nat Rev Microbiol* 3(4): 320-332.

Delchier, J.C., 2000) -Diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori*. *La revue du praticien*. 50 : 1417-1420 .

Ding, S. Z; Minohara, Y; et al., (2007) -"*Helicobacter pylori* infection induces oxidative stress and programmed cell death in human gastric epithelial cells." *Infect Immun* 75(8): 4030-4039.

Djouadi. L., (2011) - *Helicobacter pylori*: étude bactériologique des premières souches isolées à l'hôpital Bologhine Ibn Ziri. Thèse pour l'obtention du diplôme Master 2 Microbiologie et Contrôle de Qualité 2011. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

Dossumbekova, A., Prinz , C, et al. (2006)-"*Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastric inflammation." *Gut* 55(9): 1360-1361; author reply 1361.

Egan, B.J ; O'Morain, C.A., (2007) -Cancer gastrique: quelle est la meilleure stratégie dans les pays à faible prévalence? *Acta Endosc*. 37(2):149-57

Eidt, S; Stolte, M; et al., (1994) - "*Helicobacter pylori* gastritis and primary gastric non-Hodgkin's lymphomas." *J Clin Pathol* 47(5): 436-439.

El-Omar, E. M; Carrington, M; et al., (2000) -"Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer." *Nature* 404(6776): 398-402

Faik, M ; Raiss, M., (1998) - *Helicobacter pylori* et pathologie gastrique. *Médecine du Maghreb* 1998 n°70.

Faik, M., (2000) -Mise au point sur l'infestation gastrique par l'*Helicobacter pylori*. *Médecine du Maghreb*. n°79.

Falk, P.G; Syder, A.J; Guruge, J.L; Kirschner, D; Blaser, M.J; Gordon, J.I., (2000) - Theoretical and experimental approaches for studying factors defining the *Helicobacter pylori*-host relationship. Trends Microbiol .8:321-9.

Falush , D ; Wirth , T ; Linz , B ; Pritchard , J .K ; Stephens , M et al., (2003) - Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. Science ;299:1582-1585.

Fitzgerald , O., (1950) - Studies on the physiological chemistry and clinical significance of urease and urea with special reference to the stomach. Ir J Med Sci ;292:97-159.

Fléjou,J.F.,(1994)-Par quels mécanismes une infection à *Helicobacter pylori* peu-elle favoriser le développement d'un cancer gastrique ?-Gastrographies.Numéro hors série :29-31.

Fontaine, V ; Douat, N., (2011) -Contribution au management de l'infection à *Helicobacter pylori* en Belgique. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques. Université libre de Bruxelles.

Fujikawa, A; Shirasaka, D; Yamamoto, S; et al.,(2003) -Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type Z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori* Nature Genetics, 33 (4), p. 533.

Galmiche, A; Rassow, J; Doye, A; et al., (2000) -The N-terminal 34 kDa fragment of *Helicobacter pylori* Vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome crelease Embo J, 19 (23), pp. 6361–6370.

Garrity ,G ; Bell , M ; Lilburn , JA. II ., (2005) - *Helicobacteraceae* fam. nov. In : Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology New York, NU. Pub. Springer ; pp. 1168-1194.

Gebert, B; Fischer, W; et al., (2003) -"*Helicobacter pylori* Vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation." Science 301(5636): 1099-1102.

Goodwin, C., Armstrong, J., Chilvers, T., et al.,(1989) Transfer of *Campylobacter pyloridis* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Int. J. Syst. Bacteriol., **39**: 397-405.

Graham, D. Y., Klein, P. D., Evans, D. J., JR., Evans, D. G., Alpert, L. C., Opekun, A. R. & Boutton, T. W. (1987) *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. *Lancet*, 1, 1174-7.

Guerre, J., (1996)-Pathologie gastroduodénale et *Helicobacter pylori*. *Compte rendu du 9ème congrès international du groupe européen d'études sur Helicobacter pylori*. 1026-1028.

Hebbaj, F., (2006) - *Helicobacter pylori* et ulcère duodénal. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état). Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Higashi, H; Tsutsumi, R; Fujita, A; Yamazaki, S; Asaka, M; Azuma, T; Hatakeyama, M., (2002) - Biological activity of the *Helicobacter pylori* virulence factor CagA is determined by variation in the tyrosine phosphorylation sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99:14428-14433.

Hotchin, N. A; Cover, T.L; et al., (2000) - "Cell Vacuolating induced by the VacA cytotoxin of *Helicobacter pylori* is regulated by the Rac1 GTPase." *J Biol Chem* 275(19): 14009-14012.

Israe, D. A., Salama, N., Krishna, U., et al. (2001) - *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98: 14625-14630.

Jiang I, Q., Hiratsuka, K. and Taylor, D. E. (1996)- Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. *Mol Microbiol*, 20:833-842.

Kaiser, J.M., (2001) -Evaluation thérapeutique : Les traitements d'éradication de *Helicobacter pylori*. Dossier du C N H I M Revue d'évaluation sur le médicament.

Kamiri, A., (2007) -stratégies thérapeutiques dans la récurrence de la maladie ulcéreuse à *Helicobacter pylori*. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie (diplôme d'état). Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Konturek, S.J; Konturek, P.C; Konturek, J.W; Plonka, M; Czesnikiewicz-Guzik, M; Brzozowski, T; Bielanski, W., (2006) - *Helicobacter pylori* and its

involvement in gastritis and peptic ulcer formation. *J Physiol Pharmacol.* 57(Suppl 3):29-50.

Krienitz , W ., (1906) - Ueber das Auftreten von Spirochaetne verschiebener Form in Magen –inhalt bei Carcinoma ventriculi. *Dtsch Med Wschr* ;32:772.

Kuipers, E.J; Lundell, L; et al., (1996) -"Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication." *N Engl J Med* 334(16): 1018-1022.

Kusters, J. G; Van Vliet, A.H; et al., (2006) -"Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection." *Clin Microbiol Rev* 19(3): 449-490.

Kuwahara, H; Miyamoto, Y et al.,(2000) -«*Helicobacter pylori* uréase sup presses bactericidal activity of peroxydite via carbone dioxyde production." *Infect Immun.* 68(8): 4378-4383.

Labigne, A. (1994). “*Helicobacter pylori* and molecular biology. Applications to pathogenesis, prevention, diagnosis and epidemiology.” *Gastroenterol Clin Biol* 18(3): 206-11.

Lamarque, D., (1995) - Aspects immunologiques de l’infection à *Helicobacter pylori*. *Hepato-gastro .2:* 35-38.

Lamouliatte,H ; Cayla, R ; Mégraud, F., (2000) -Traitement de l’infection à *H.pylori*. *La revue du praticien* 2000, 50; 1442-5.

Linz , B; Balloux, F ; Moodley , Y ; Manica , A et al. , (2007) - An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. *Nature* ;445:915-918.

Linz, B., Balloux, F., Moodley, Y., et al.(2007) - An African origin for the intimate

Logan, R. P. (1998). “Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection.” *Gut* 43 Suppl 1: S47-50.

Lozniewski,A. ,(1996) -Méthode de diagnostics de l’infection à *Helicobacter pylori*.*Gastroentérol.Clin.Biol.*41 :11-118.

Lu, H; Hsu, P.I; Graham, D.Y; Yamaoka , Y., (2005) -Duodenal ulcer promoting gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 128:833-848.

Lundstrom, A.M; Bolin, I., (2000) - A 26 kDa protein of *helicobacter pylori* shows alkyl hydro peroxide reductase (AhpC) activity and the mono-cistronic transcription of the gene is affected by pH. *Microb Pathog* .29: 257-66.

Makristathis, A; Pasching, E; Schütze, K; Wimmer, M; Rotter, M.L; Hirschl, A.M., (1998) - Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol*. 36:2772-2774.

Malfertheiner, P ; Megraud ,F ; O'Morain, C ; Bazzoli, F ; El-Omar, E ; Graham ,D ;Hunt, R ; Rokkas, T ; Vakil ,N ; Kuipers, E.J., (2007) -Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*. 56:772-781.

Mansouri, F; Cherradi, N; Sefiani, S ; Ghazi, F ; El Hachimi, A., (1997) -*H.pylori* et pathologie gastro-duodénale. *Esperance medicale* 1997; 4(29): 184-187.

Marhall , B.J; Warren , J.R ., (1984) - Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* ; 1 :1311-5.

Marshall, B. J., Barrett, L. J., Prakash, C., Mccallum, R. W. & Guerrant, R. L. (1990) - Urea protects *Helicobacter (Campylobacter) pylori* from the bactericidal effect of acid. *Gastroenterology*, 99, 697-702.

Mégraud, F; Lehours, P.H., (2007) -*Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. *Clin Microbiol Rev*. 20:280-322

Mégraud,F.,(1994)-Difficultés pratiques de l'éradication de *Helicobacter pylori* dans la maladie ulcéreuse duodénale.*Med e thyg* 52 :1813-1816.

Miendje Deyi VY,(2011)- Burette A, Bentatou Z, Maaroufi Y, Bontems P, Reynders M. Practical use of HelicoDRTM in the management of H. pylori diagnosis and antimicrobial susceptibility testing. *Diagn Microbiol Infect Dis*.2011. In Press

Mustapha, P., (2011) -Etude des interactions entre *Helicobacter pylori* et les cellules épithéliales gastriques. Thèse Pour l'obtention du Grade de Docteur de l'Université de Poitiers.

Odenbreit S; Till, M; Ofreuter, H; falier, D; Haasr, J.,(1999) -lGenetique and functional characterization of the ALP AB gene locus essential for theadhesin of *H pylori* to human gastrique tissue. *Mol Microbiol* .31:1537-1548.

Parkin, D. M ; Bray,F ,et al., (2005) - Global cancer statistics, 2002 - CA Cancer J Clin

Rhead, J.L; Letley, D.P; Mohammadi, M; et al., (2007) -A new *Helicobacter pylori* Vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer Gastroenterology, 133 (3), pp. 926–936.

Satin, B; Del Giudice, G; Della, B. V; Dusi, S; Laudanna, C; Tonello, F; et al., (2000) - The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a protective antigen and a major virulence factor. J Exp Med. 191:1467-76.

Savoye, G ; Colin, R., (2000) -Maladie ulcéreuse gastro-duodénale associée à *H.pylori*. La Revue du praticien 2000 ; 50 : 1422-1426

Selbach, M; Moese, S; Hauck, C.R; Meyer, T.F; Backert, S., (2002) - Src is the kinase of the *Helicobacter pylori* CagA protein in vitro and in vivo. J Biol Chem. 277:6775-6778.

Sharma, S.A; Tummuru, M. K; Blaser, M. J; Kerr, L.D., (1998) - Activation of IL-8 gene expression by *Helicobacter pylori* is regulated by transcription factor nuclear factor-kappa B in gastric epithelial cells. J Immunol. 160:2401-2407.

Sipponen, P; Marshall, B.J., (2000) -"Gastritis and gastric cancer". Western countries. Gastroenterol Clin North Am 29(3): 579-592, v-vi.

Sobhani , I ; Valwt, T; Mignon, M ., (1995) - *H. pylori*. une bactérie redécouverte. son implication dans les maladies gastro-duodénales. Presse Méd ; Vol. 24. 2 : 67-79.

Sobhani, I; Pospai, I; Mignon, M; Flejou, J-F., (2000) -*Helicobacter pylori*: épidémiologie, mécanisme d'altération de la muqueuse gastrique et diagnostic bactériologique. Traité de gastroentérologie. 25:329-343.

Solnick, J. V. & Schauer, D. B. (2001) - Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. *Clin Microbiol Rev*, 14, 59-97.

Suerbaum, S; Josenhans, C., (1999) - «Virulence factor of *Helicobacter pylori*: implications for vaccine development." Mol Med Today 5(1): 32-39.

Sundrud, M. S; Torres, V.J; et al., (2004) -"Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* Vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA.

supplément aux numéros 230-232 : 30-31.

Tammer, I; Brandt, S; Hartig, R; Konig, W; Backert, S., (2007) - Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology*. 132:1309–1319.

Taylor, D. E., Eaton, M., Chang, N., et al.(1992)- Construction of a *Helicobacter pylori* genome map and demonstration of diversity at the genome level. *J Bacteriol*, **174**: 6800-6806.

Thèse de doctorat. Université Paris-sud 11.

Tomb, J.F ; White, O ; Kerlavage , A.R ; Clayton, R.A et al., (1997) – The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 388, 539-547. Erratum in: *Nature* (1997) 389(6649):412. 55(2): 74-108.

Vakil N, Vaira D., (2013) -Treatment for *H. pylori* infection: new challenges with antimicrobial resistance. *J Clin Gastroenterol*. N 47(4)1-6.

Varona, C ; Mégraud, F., (2013) - Infection à *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Revue Francophone des Laboratoires* Volume 2013, Issue 456, (Novembre) P.67–76.

Werme, K.,(2012) -Diagnostic Moléculaire de *Helicobacter pylori* par PCR au Centre Médical Saint Camille et au CERBA/LABIOGENE (OUAGADOUGOU). Master en biologie appliquée. Université Catholique de l’Afrique de l’Ouest Unité Universitaire à Bobo-Dioulasso UCAO/UUB.

Wroblewski, L. E; Peek, R.M; J.r; et al., (2010) -"*Helicobacter pylori* and gastric cancer: factors that modulate disease risk." *Clin Microbiol Rev* 23(4): 713-739.

Yamako, Y., (2010) - Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori* virulence factors. *Rev Gastroenterol Hepato*. 7:629-641.

Yamaoka, Y; Kwon, D.H; Graham, D.Y., (2000) –A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein (*oipA*) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97:7533-8.

Yamaoka, Y; Ojo, O; et al., (2006) - «*Helicobacter pylori* outer membrane proteins and gastro-duodéal disease." Gut 55(6): 775-781.

Site Web

(http://umvf.univ-nantes.fr/hepato-gastro-enterologie/enseignement/item290/site/html/1_14_1.html).

Nom : Prénom :	Kendouli Fatima Abdelali Houda Aichouche khaoula <p style="text-align: right;">Date de Soutenance : 25/06/2014</p>
Titre	<p style="text-align: center;">Etude des bactéries de l'espèce <i>Helicobacter pylori</i></p>
Nature du diplôme :	<p style="text-align: center;">Master en génétique moléculaire</p>
Résumé	<p><i>Helicobacter pylori</i> est responsable de multiples pathologies gastroduodénales, telles que la dyspepsie, la gastrite, l'ulcère, le lymphome gastrique du MALT et l'adénocarcinome gastrique.</p> <p><i>H.pylori</i> est une bactérie Gram-négative, spiralée et microaérophile colonisant durablement l'estomac humain.</p> <p>L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques morphologiques et génotypique de l'espèce <i>Helicobacter pylori</i>, son incrimination dans la genèse des pathologies gastroduodénales et les méthodes utilisées pour le diagnostic de l'infection. La survie et la persistance de la bactérie sont liées à l'expression de plusieurs facteurs de colonisation et de virulence.</p> <p>Le diagnostic de l'infection à <i>H. pylori</i> repose sur des méthodes directes nécessitant la réalisation d'une endoscopie digestive haute (test à l'uréase, histologie, culture...) et des méthodes indirectes (test respiratoire à l'urée, recherche de l'antigène de <i>H. pylori</i> dans les selles, recherche de l'anticorps de <i>H. pylori</i>). La prescription de ces méthodes diagnostiques doit tenir compte de leur disponibilité et de leur indication (diagnostic de l'infection à Hp et/ou contrôle de l'éradication de <i>H. pylori</i>). Deux méthodes sont faciles et utiles en pratique : la recherche de l'antigène de <i>H. pylori</i> dans les selles et l'histologie ctes. Le gros avantage de la culture (méthode invasive) est la détermination de la sensibilité aux antibiotiques.</p>
Mots clés	<p><i>Helicobacter pylori</i>, pathologies gastroduodénales, diagnostic, sensibilité aux antibiotiques.</p>
Laboratoire de recherche	<p style="text-align: center;">Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Constantine I</p>
Directeur de recherche	<p>Mr.Rezgoune ML Maître assistant classe A</p> <p>Melle Mehasni S Doctorante - l'Université Constantine I</p>
Membres de jury :	<p>Présidente : Dr Benhizia.H Maître de Conférences classe B</p> <p>Examinatrice : Mme Saoudi M Maître assistant classe A</p>