

GEFH

GRUPE D'ETUDE FRANCAIS
DES HELICOBACTERS

LILLE

22^{ème} Réunion Annuelle

Vendredi 31 janvier 2014



Helicobacter pylori
Actualités 2014

Réunion parrainée par :

La Société Française de Microbiologie
La Société Nationale Française de
Gastro-Entérologie

PROGRAMME

9h00

ACCUEIL - CAFÉ

Pr Jean-Charles Delchier - Président du GEFH (Créteil, France)

Pr Nicolas Kalach

Pr René Courcol – Président de la SFM

9h30

CONFÉRENCES D'ACTUALISATION

Modérateurs :

H. De Reuse, P. Lehours

- New insights into human demography from the population structure of *Helicobacter pylori*.
Yoshan Moodley (Vienne, Autriche)
- La pathogénie chez l'homme de l'infection à *Helicobacter suis* et *Helicobacter helmannii*, deux bactéries d'origine animale.
Bram Flahou (Merelbeke, Belgique)
- Comprendre et prescrire les traitements séquentiels, hybrides et concomitants.
 - Le point de vue du clinicien : **Dominique Lamarque** (Paris, France)
 - Le point de vue du bactériologiste : **Josette Raymond** (Paris, France)

11h15

COMMUNICATIONS LIBRES

Modérateurs :

A. Decoster, A. Courrillon-Mallet

- 11h15** • Intérêt de l'analyse multispectrale des images endoscopiques de la muqueuse gastrique pour reconnaître les différents types de gastrite inflammatoire : résultats d'une étude préliminaire.
Lamarque D. (Paris, France)
- 11h30** • Expression lentivirale de la sous-unité CdtB de la toxine « Cytolethal Distending Toxin » dans les cellules - une stratégie prometteuse pour l'étude de cette génotoxine.
Péré-Védrenne C. (Bordeaux, France)
- 11h45** • Multicolonisation d'un estomac humain infecté par *Helicobacter pylori*
Debais C., Gauthier S. (Poitiers, France)
- 12h00** • Structure de l'hélicase répliquative de *Helicobacter pylori*.
Bazin A. (Lyon, France)

- 12h15** • Efficacité et tolérance de PYLERA[®] + oméprazole pendant 10 jours chez des patients en échec d'un traitement d'éradication de *Helicobacter pylori* par IPP, amoxicilline et clarithromycine.
Delchier J.C. (Paris, France)

12h45 DÉJEUNER

14h15 TABLE RONDE : *Helicobacter pylori* en Pédiatrie

Modérateurs :

J. Raymond, C. Burucoa

- *Helicobacter pylori* et facteurs immunitaires locaux du tube digestif en pédiatrie.
Patrick Bontems (Bruxelles, Belgique)
- Les sels de bismuth en pédiatrie, le pour et le contre.
Samy Cadranel (Bruxelles, Belgique)
- Place de la PCR et notre expérience dans le diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* en pédiatrie.
Nicolas Kalach (Lille, France)

15h45 COMMUNICATIONS LIBRES

Modérateurs :

D. Lamarque, N. Kalach.

- 15h45** • Etude des voies de signalisation inflammatoire induites par *Helicobacter pylori* sur des cellules épithéliales gastriques.
Tran C.T. (Poitiers, France)
- 16h00** • Adhésion de *Helicobacter pylori* aux mucines gastriques.
Robbe-Masselot C. (Lille, France)
- 16h15** • Rôle du dégradosome à ARN dans la régulation des facteurs de virulence chez *Helicobacter pylori*.
De Reuse H. (Paris, France)
- 16h30** • Première détection chez *Helicobacter suis* d'une mutation connue pour entraîner la résistance à la clarithromycine chez *Helicobacter pylori*.
Burucoa C. (Poitiers, France)
- 16h45** • Détermination de la sensibilité aux antibiotiques de *Helicobacter pylori* : validation d'un algorithme associant HelicoDR[®] et antibiogramme par Etest[®].
Francart A. (Paris, France)

- 16h45** **CLÔTURE DE LA REUNION**
Remise du prix de la meilleure communication sponsorisé par la Société Française de Microbiologie.
- 17H00** **ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DU GEFH**

-o-o-oOo-o-o-

CONFÉRENCES D'ACTUALISATION : RÉSUMÉS

- New insights into human demography from the population structure of *Helicobacter pylori*.
Yoshan Moodley (Vienne, Autriche)
- La pathogénie chez l'homme de l'infection à *Helicobacter suis* et *Helicobacter helmannii*, deux bactéries d'origine animale.
Bram Flahou (Merelbeke, Belgique)
- Comprendre et prescrire les traitements séquentiels, hybrides et concomitants.
 - Le point de vue du clinicien : **Dominique Lamarque** (Paris, France)
 - Le point de vue du bactériologiste : **Josette Raymond** (Paris, France)

NEW INSIGHTS INTO HUMAN DEMOGRAPHY FROM THE POPULATION STRUCTURE OF *HELICOBACTER PYLORI*.

YOSHAN MOODLEY (VIENNE, AUTRICHE)

When modern humans left Africa ca. 60,000 years ago (60 kya), they were already infected with *Helicobacter pylori*, and these bacteria have subsequently diversified in parallel with their human hosts. Its high mutation rate and complete lineage sorting therefore makes *H. pylori* an ideal marker for human migrations. We took a detailed look at the evolutionary history of *H. pylori* within Africa, and discovered that all lineages coalesce to 88–116 kya. At that time the phylogeny split into two primary super-lineages, one of which (hpAfrica2) is associated with the former hunter-gatherers in southern Africa known as the San. These analyses suggest that *H. pylori* may have been acquired *via* a single host jump from an unknown, non-human host. We also find evidence for a second Out of Africa migration in the last 52,000 years, because hpEurope is a hybrid population between hpAsia2 and hpNEAfrica, the latter of which arose in northeast Africa 36–52 kya, after the Out of Africa migrations around 60 kya. Anticipating an ancient *H. pylori* lineage amongst other hunter-gatherer communities, we sampled the stomachs of Baka Pygmies in Cameroon. Unexpectedly, we were not able to identify Baka-specific lineages, but instead found that they showed significantly lower *H. pylori* infection rates (20.8%) compared to non-Baka (80.2%). An age-structured transmission model showed that the low *H. pylori* prevalence among Baka Pygmies is achievable within the timeframe of a few hundred years. The Baka were thus either *H. pylori*-free or lost their ancient lineages during past demographic fluctuations. Using coalescent simulations and phylogenetic inference, we show that Baka almost certainly acquired their extant *H. pylori* through secondary contact with their agriculturalist neighbors.

LA PATHOGENIE CHEZ L'HOMME DE L'INFECTION A *H. SUIS* ET *H. HEILMANNII*, DEUX BACTERIES D'ORIGINE ANIMALE

BRAM FLAHOU¹, RICHARD DUCATELLE¹, ANNEMIEKE SMET¹, SARA LINDEN², EMMA SKOOG², FRANK PASMANS¹, FREDDY HAESBROUCK¹;

¹DEPARTMENT OF PATHOLOGY, BACTERIOLOGY AND AVIAN DISEASES, FACULTY OF VETERINARY MEDICINE, GHENT UNIVERSITY;

²DEPARTMENT OF BIOMEDICAL CHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, INSTITUTE OF BIOMEDICINE, SAHLGRENSKA ACADEMY, UNIVERSITY OF GOTHENBURG, GOTHENBURG, SWEDEN.

Dès le début de la recherche sur *Helicobacter*, les pathologistes ont identifié des patients chez lesquels ils n'ont pas trouvé *H. pylori*, mais plutôt des bactéries avec une morphologie typique en forme de spirale. Dans la littérature, ces bactéries sont souvent désignées comme "*Helicobacter heilmannii*". Des études récentes, cependant, ont révélé que ce groupe de non-*H. pylori* helicobacters (NHPH) comprend différentes espèces qui ont été détectées dans l'estomac de différentes espèces animales. Par conséquent, l'utilisation de la dénomination "*H. heilmannii*" devrait être limitée à l'espèce isolée du chat et décrite en 2012. La NHPH la plus fréquente chez les humains est *Helicobacter suis*, qui se trouve aussi dans l'estomac de la majorité des porcs dans le monde entier. Chez ces animaux, l'infection cause inflammation, ulcération de la pars oesophagea et une réduction du gain de poids quotidien. Pour les humains, il a été démontré que vivre à proximité des chiens, chats et surtout des porcs est un facteur de risque important de contracter une infection NHPH. Outre le contact avec les animaux, nous avons récemment montré que *H. suis* peut être présent sur et peut survivre dans la viande de porc, ce qui suggère que la consommation de viande de porc peut également servir comme source d'infection pour l'homme.

Les données de la littérature sur les infections humaines NHPH manquent souvent d'une description détaillée de l'espèce exacte et doivent donc être interprétées avec prudence. En général, les symptômes cliniques de personnes infectées par *H. suis* ou *H. heilmannii* comprennent la douleur épigastrique, nausées, dyspepsie, brûlures d'estomac, des vomissements, hématurie, douleur abdominale, etc. L'examen microscopique des biopsies gastriques révèle souvent une gastrite chronique, caractérisée par une infiltration de lymphocytes et de plasmocytes, parfois organisés en agrégats ou follicules. Par rapport à la gastrite associée à *H. pylori*, la gastrite associée à *H. suis* et *heilmannii* est plus prononcée dans l'antrum et la plupart du temps moins active. La gastrite peut être accompagnée par des ulcérations et le risque de développer un lymphome de MALT gastrique est supérieur avec *H. suis* et *H. heilmannii* qu'avec *H. pylori*.

Des études chez les souris et les gerbilles ont montré que *H. suis* et *H. heilmannii* provoquent un changement de l'expression de mucines dans l'estomac, par exemple une augmentation de l'expression de Muc5ac, Muc5B et Muc6 et l'expression *de novo* de mucines intestinales comme Muc4 et Muc13. Ces changements peuvent bien faciliter la colonisation dans l'estomac. Récemment, nous avons démontré que *H. suis* et *H. heilmannii* peuvent adhérer à des mucines gastriques humaines et que la liaison est plus élevée à bas pH. L'adhérence est en général plus prononcée pour des mucines provenant de gens et d'animaux présentant une pathologie gastrique, mais plus faible et nettement différente de celle de *H. pylori*.

Une fois que la colonisation a réussi, *H. suis* et *H. heilmannii* peuvent causer la mort cellulaire et l'inflammation. Les cellules épithéliales et les cellules pariétales en particulier montrent des signes d'apoptose/nécrose, qui est causée par certains facteurs de virulence, comme la *H. suis* GGT qui provoque

une augmentation du stress oxydatif. Chez des gerbilles infectées pour quelques semaines, au sein des agrégats lymphocytaires figurent une majorité de cellules B, principalement organisée dans le centre germinal des follicules lymphoïdes. Chez des gerbilles infectées pour 8 mois, ces centres germinaux sont grands, hyperprolifératifs et irréguliers. En outre, la destruction sévère de l'architecture antrale normale et une infiltration de la *tunica muscularis* sont observées chez ces animaux. Cette pathologie différentielle par rapport à *H. pylori* pourrait en partie s'expliquer par la réponse immunitaire qui est polarisée vers Th17/Th2/Treg, et qui est donc clairement distincte de la réponse immunitaire qui prend place durant une infection avec *H. pylori*.

-o-o-oOo-o-o-

TABLE RONDE : RÉSUMÉS

- *Helicobacter pylori* et facteurs immunitaires locaux du tube digestif en pédiatrie.
Patrick Bontems (Bruxelles, Belgique)
- Les sels de bismuth en pédiatrie, le pour et le contre.
Samy Cadranel (Bruxelles, Belgique)
- Place de la PCR et notre expérience dans le diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* en pédiatrie.
Nicolas Kalach (Lille, France)

HELICOBACTER PYLORI ET FACTEURS IMMUNITAIRES LOCAUX DU TUBE DIGESTIF EN PÉDIATRIE.

PATRICK BONTEMS (BRUXELLES, BELGIQUE)

Helicobacter pylori est une bactérie qui colonise la couche de mucus recouvrant l'épithélium gastrique, provoquant une gastrite chronique et parfois des ulcères gastroduodénaux, une gastrite atrophique, de la métaplasie intestinale voire un adénocarcinome gastrique ou un lymphome. La progression du stade de gastrite vers des états pathologiques plus graves semble être influencée par des déterminants bactériens et immunologiques.

La réponse immunitaire de l'hôte contre *H. pylori* comprend des éléments innés représentés principalement par les polynucléaires neutrophiles et une immunité adaptative systémique et muqueuse représentée par la production d'anticorps spécifiques mais surtout par une sécrétion de cytokines de type Th1, Th17 et Treg. L'interaction de *H. pylori* avec les cellules de l'hôte active des voies de signalisation transmembranaires (TLR, NLR) aboutissant à une activation de NF- κ B, un facteur de régulation de la transcription de gènes impliqués dans la réponse immunitaire et inflammatoire. Ces réponses immunitaires ne parviennent pas à éradiquer l'infection et contribuent à la pathogenèse des lésions de la muqueuse, notamment par l'activation des metalloproteinases tissulaires. Hors, les ulcères gastroduodénaux sont plus rares en Pédiatrie et moins fréquemment associés à une infection par *H. pylori*¹.

Différentes études suggèrent que la riposte immunitaire est plus faible chez les enfants, ce qui pourrait protéger ceux-ci contre des lésions gastroduodénales plus graves. D'ailleurs, seules les souches les plus virulentes de la bactérie sont associées à une maladie ulcéreuse chez ces derniers². Plusieurs études ont montrés que la réponse humorale est plus faible et inconstante ainsi que la sécrétion d'IFN- γ chez les enfants par rapport aux adultes infectés^{3,4}. L'infiltration de la muqueuse gastrique par des lymphocytes et des polynucléaires neutrophiles est également moins intense ainsi que l'activation de NF- κ B⁵. Il a, de plus, été constaté que les molécules co-stimulatrices ne sont pas surexprimées sur les cellules mononuclées du sang périphérique chez les enfants infectés. Enfin, le nombre de cellules Treg et les niveaux de cytokines Treg (TGF- β et IL-10) sont plus élevés dans la muqueuse gastrique d'enfants infectés comparativement aux adultes infectés^{6,7}.

1. Bontems P, Kalach N, Vanderpas J et al. *Helicobacter pylori* Infection in European Children with Gastro-duodenal Ulcers and Erosions. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32:1324–9.
2. Oleastro M, Cordeiro R, Ferrand J et al. Evaluation of the clinical significance of homB, a novel candidate marker of *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 2008;198:1379–87.
3. Bontems P, Robert F, Van Gossum A et al. *Helicobacter pylori* modulation of gastric and duodenal mucosal T cell cytokine secretions in children compared with adults. *Helicobacter* 2003;8:216–26.
4. Lopes AI, Quiding-Jarbrink M, Palha A et al. Cytokine Expression in Pediatric *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical and Vaccine Immunology* 2005;12:994–1002.
5. Bontems P, Aksoy E, Burette A et al. NF- κ B activation and severity of gastritis in *Helicobacter pylori* infected children and adults. *Helicobacter* 2014 (revision).
6. Harris PR, Wright SW, Serrano C et al. *Helicobacter pylori* Gastritis in Children Is Associated With a Regulatory T-Cell Response. *Gastroenterology* 2008;134:491–9.
7. Freire de Melo F, Rocha AMC, Rocha GA et al. A regulatory instead of an IL-17 T response predominates in *Helicobacter pylori*-associated gastritis in children. *Microbes and Infection* 2012;14:341–7.

LES SELS DE BISMUTH EN PÉDIATRIE, LE POUR ET LE CONTRE.

SAMY CADRANEL, HOPITAL UNIVERSITAIRE DES ENFANTS REINE FABIOLA, UNIVERSITE LIBRE DE BRUXELLES.

Les sels de Bismuth ont été systématiquement ²employés dans le traitement d'éradication de HP mais, avec l'avènement des IPP, leur importance a progressivement diminué. En raison de la résistance croissante des souches de HP aux antibiotiques la réutilisation de sels de Bismuth paraît une solution intéressante justifiant une quadrithérapie associant le sous-citrate de bismuth colloïdal (CBS = DeNol®) à deux antibiotiques et des IPP commercialisée sous le nom de Pylera. ^{1,2}

Mais l'utilisation de ces sels de bismuth, peu coûteux et probablement efficaces reste problématique car ils sont interdits dans certains pays (France, Australie, Autriche) ou, en raison de leur faible coût, sont autorisés mais ne sont plus commercialisés (Belgique, Pays-Bas). Dans les années 1970, l'utilisation prolongée (entre 2 et 20 ans) de doses élevées de sous-gallate ou sous-nitrate de bismuth pour le traitement de troubles intestinaux a entraîné des complications graves: environ 1000 cas de neurotoxicité, dont 72 fatals en France traités pour constipation et interdiction des préparations orales à base de sels de Bismuth en Australie où l'on a compté 29 cas de neurotoxicité chez des patients porteurs de colostomies prenant 3 à 20 g/j de sous gallate de Bi. Les effets toxiques de certains sels de bismuth (thioglycolate, dialyl-acétate, sous-nitrate, sous-carbonate, tartrate, salicylate, sous-salicylate, sous-gallate) ont fait l'objet d'une revue en 1996. ³ Ils portent sur divers organes foie, reins, peau, os et neurotoxicité. Malgré quelques effets secondaires mineurs, le CBS est réputé sans danger car il a été abondamment utilisé dans les premiers temps du traitement d'éradication de HP et le Pepto-Bismol® (sous-salicylate de bismuth) est actuellement en vente libre aux USA et au Canada.

On sait que le pH bas augmente l'absorption du Bi qui s'opère dans le grêle (estomac?), le pic de concentration de 50 µg/L étant atteint après une heure mais diminuant après 3h, ce qui conditionne la prise des doses 4 x par jour à raison de 8 mg/kg. Une meta-analyse basée sur des présentations aux congrès entre 1997-2002 a comparé les résultats de 102 études sur 25.644 patients : taux d'éradication de 80.4% avec la trithérapie classique avec IPP et 79.9 avec des traitements à base de ranitidine-bismuth. ⁴

Deux études pédiatriques utilisant CBS mais déjà anciennes ont montré des résultats intéressants: l'étude irlandaise (présentée à Copenhague en 1996) sur une série limitée de 22 enfants associe CBS à clarithromycine et métronidazole et atteint un taux d'éradication de 95% alors que l'étude espagnole (présentée à Budapest en 1998) obtient 73% d'éradication sur une série de 96 enfants traités par CBS-amoxicilline-métronidazole et seulement 58% chez les 102 enfants traités par OAC.

Le regain d'intérêt pour l'utilisation des sels de bismuth est évident ⁵ et a d'ailleurs été reconnu dans les directives combinées européennes et nord-américaines publiées en 2011. Le projet d'étude européenne multicentrique en cours fait l'objet de la présente communication en essayant de mettre en évidence les avantages mais aussi les immanquables chausse-trapes.

Bibliographie

1. Megraud F. The challenge of Helicobacter pylori resistance to antibiotics: the comeback of bismuth-based quadruple therapy. *Therapy Adv Gastroenterol.* 2012; 5: 103-9.

2. Malfertheiner P, Bazzoli F, Delchier JC, Celinski K, Giguere M, Riviere M, Megraud F and Pylora Study Group. *Helicobacter pylori* eradication with a capsule containing bismuth subcitrate potassium, metronidazole, and tetracycline given with omeprazole versus clarithromycin-based triple therapy: a randomised, open-label, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet* 2011; 377: 905-13.
3. Tillman LA Toxic effects of Bismuth compounds in humans. *Aliment Pharmacol Ther* 1996; 10:459-67.
4. Buzas GM, Jozan J. Eradication of HP infection in Europe: a meta-analysis based on congress abstracts 1997-2002. *Orv Hetil* 2004; 145:2035-41
5. Gökçe S. Bismuth salts in the treatment of *Helicobacter pylori* infection in children. *Dig.Dis.Sci.*2010; 55: 535–6. 6. Koletzko S, Jones NL, Goodman K, Rowland M, Cadranel S, Chong S, Colletti D, Casswall T, Gold B, Elitsur Y, Guarner J, Kalach N, Madrazo A, Megraud F, Oderda G, on behalf of the *H. pylori* working groups of ESPGHAN and NASPGHAN. Evidence-based **guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN** for *Helicobacter pylori* infection in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 230-43.

APPORT DE LA PCR DANS LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION À *HELICOBACTER PYLORI* EN PÉDIATRIE.

N KALACH^{1,3}, E. DEHECQ², A. DECOSTER², GOSSET P³, PAPADOPOLOS S³, C DUPONT⁴, J RAYMOND⁵

¹CLINIQUE PEDIATRIQUE SAINT ANTOINE, HOPITAL ST VINCENT DE PAUL, GROUPEMENT DES HOPITTAUX DE L'INSTITUT CATHOLIQUE DE LILLE (GHICL), FRANCE, ² DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE, HOPITAL ST PHILIBERT, GHICL, FRANCE. ³ DEPARTEMENT D'ANATOMOPATHOLOGIE, HOPITAL ST VINCENT DE PAUL, GHICL, FRANCE. ⁴SERVICE DE GASTROENTEROLOGIE PEDIATRIQUE, HOPITAL NECKER-ENFANTS-MALADES, AP-HP, UNIVERSITE PARIS V- RENE DESCARTES, PARIS, FRANCE ⁵HOPITAL COCHIN, UNIVERSITE PARIS V- RENE DESCARTES, PARIS, FRANCE ³

Background : Les difficultés rencontrées pour la culture de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ont motivé la mise au point de techniques génétiques rapides et spécifiques par PCR à partir des biopsies gastriques. Elles sont le plus souvent couplées à la détection de mutations de l'ARN 23S conférant la résistance à la clarithromycine. Ces techniques ne nécessitent pas de conditions de transport des biopsies aussi exigeantes que la culture. Deux techniques sont utilisées, la PCR temps réel (RT-PCR) et une PCR commercialisée (HelicoDR®, BioCentrics) nécessitant une hybridation. Les performances de ces techniques, chez l'adulte, montrent une sensibilité/spécificité de 97/94,6% pour la RT-PCR, de 98,3/98,0% pour la RT-PCR Scorpion, et de 94/99% pour HelicoDR®. Plusieurs études ont démontré l'intérêt médico-économique d'une stratégie thérapeutique guidée par les résultats de l'antibiogramme. La faible accessibilité à l'antibiogramme de *H. pylori* rend cette stratégie difficile à appliquer en France. Les techniques moléculaires représentent donc une alternative.

But: Evaluer chez l'enfant les performances de la RT-PCR effectuée à partir de biopsies gastriques tant pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* que pour la détection de la résistance à la clarithromycine .

Patients & méthodes: De janvier 2010 à décembre 2012, 414 enfants (221 filles, 193 garçons) présentant des signes cliniques évocateurs de gastrite étaient inclus, après obtention du consentement éclairé des parents. Ceux ayant reçu des antibiotiques ou/et antiacides (anti-H2, IPP) les 4 semaines précédentes étaient exclus. Une endoscopie digestive haute était réalisée au cours de laquelle des biopsies étaient prélevées (2 antrales & 2 fundiques). A partir des biopsies étaient réalisées 1) une analyse anatomopathologique (updated Sydney classification) 2) un test rapide à l'uréase (RUT) 3) une culture bactérienne avec antibiogramme 4) une RT-PCR quantitative.

Dans un premier temps, les résultats de la RT-PCR étaient évalués en fonction des critères de positivité classiques (méthode de référence) : un diagnostic positif était porté si la culture était positive ou si à la fois l'anatomopathologie et le RUT étaient positifs. Le diagnostic était considéré comme étant négatif lorsque tous les test étaient négatifs.

Dans un deuxième temps, nous avons comparé les performances des différents tests en fonction soit des critères classiques, soit de la positivité de la RT-PCR.

Résultats: Parmi 414 enfants inclus (âge médian 7.5 ans [1 m-18 ans]), 341 enfants étaient *H. pylori* négatifs à la fois selon les critères de référence et selon la PCR. Parmi les 73 enfants (17.6%) présentant un diagnostic positif (méthode de référence et/ou PCR), 11 n'ont pas bénéficié de PCR. Parmi les 62 ayant bénéficié de tous les tests, les deux méthodes étaient concordants pour 36 d'entre eux (30 cultures positives) tandis que la RT-PCR était seule positive pour 26 enfants.

La RT-PCR montrait une charge bactérienne plus élevée lorsque la culture était positive ($\geq 10^3$ copies pour 28/30) vs lorsque la culture était négative ($\leq 10^3$ pour 26/26). Il en est de même pour l'histologie. Le stade de la gastrite est associé à la charge bactérienne : la charge bactérienne est ($\geq 10^3$ copies pour 26/27) enfants présentant une gastrite de stade II et III vs ($\leq 10^3$ pour 26/27) présentant une histologie normale ou une gastrite grade I.

La détection de la résistance à la clarithromycine était discordante dans 4 cas. Selon que l'on prend comme référence les critères classiques (méthode de référence) de positivité vs la RT-PCR, les performances des différents tests sont les suivants:

- RT-PCR : 95% IC sensibilité (Se) 100% vs 100%, spécificité (Sp) 92.7% (90.1-95.2) vs 100%, valeur prédictive positive (VPP) 55.7% (50.8-60.5) vs 100%, valeur prédictive négative (VPN)100% vs 100%, et finalement la précision du test (PT) est de 93.05 % (90.5-95.5) vs 100%,
- Anatomopathologie : Se 95.7 (93.7-97.6) vs 63 (58.3-67.6), Sp 99.5 (98.8-100) vs 100, VPP 95.7 (93.7-100) vs 100, VPN 99.5 (98.8-100) vs 92.7 (90.1-95.2), PT 99 (98-99.9) vs 93.4 (91-95.7)
- RUT : Se 100 vs 60.3 (55.5-65), Sp 99.5 (98.8-100) vs 100, VPP 95.7 (93.7-100) vs 100, VPN 100 vs 92.2 (89.6-94.7), PT 99.5 (98.8-100) vs 92.9 (90.4-95.3)
- Culture : Se 91.3 (88.5-94) vs 57.5 (52.7-62.2), Sp 100 vs 100, VPP 100 vs 100, VPN 98.9 (97.8-99.9) vs 91.7 (89-94.3), PT 99 (98-99.9) vs 92.5 (89.9-95)

Conclusion : La RT-PCR *H. pylori* effectuée sur les biopsies gastriques est un test concordant, fiable et spécifique. Elle permet d'adapter le traitement en fonction de la sensibilité à la clarithromycine sans avoir recours à la culture. L'intensité des lésions histologiques semble reliée à la charge bactérienne.

-o-o-oOo-o-o-

INTÉRÊT DE L'ANALYSE MULTISPECTRALE DES IMAGES ENDOSCOPIQUES DE LA MUQUEUSE GASTRIQUE POUR RECONNAITRE LES DIFFÉRENTS TYPES DE GASTRITE INFLAMMATOIRE : RÉSULTATS D'UNE ÉTUDE PRÉLIMINAIRE.

S.-E. MARTINEZ HERRERA, R. AKKA, Y. BENEZETH, M. BOFFETY, F. GOUDAIL, J.- F. EMILE, F. MARZANI, D. LAMARQUE. DIJON; RABAT, MAROC; PALAISEAU; BOULOGNE-BILLANCOURT.

L'amélioration de la définition de l'image des vidéo-endoscopes a affiné la description des différentes lésions de l'estomac et accru la proportion des anomalies reconnues. Cependant, la détection des lésions planes gastriques est particulièrement difficile avec les technologies endoscopiques actuelles. Les progrès technologiques permettent d'envisager une analyse globale de la réflectance des tissus à différentes longueurs d'onde. **Le but de ce travail** a été de valider le concept de reconnaissance des lésions de gastrite à partir de l'analyse multispectrale de la muqueuse gastrique. **Patients et Méthodes.** Un prototype d'endoscope multispectral se basant sur une source lumineuse, une roue à filtres et un vidéo-endoscope a été utilisé pour obtenir des images multispectrales composées de 6 bandes entre 440 à 640 nanomètres. L'analyse spectrale a porté sur la petite et la grande courbure de l'antra chez 7 patients consécutifs ayant une gastroscopie qui ne révélait aucune lésion visible en lumière blanche. Un total de 47 images multispectrales a été obtenu pour les 7 patients. À l'issue de l'acquisition, une série de 4 biopsies, permettait de regrouper chaque aire en trois grades selon la classification de Sydney : Absence de gastrite (G0), gastrite interstitielle non active (G1), gastrite interstitielle active (G2). **Résultats.** L'examen anatomopathologique des prélèvements antraux révélait de façon homogène sur toutes les biopsies un grade G0 pour 2 patients, G1 pour 3 patients et G2 pour 2 patients. L'analyse multispectrale permettaient d'estimer le grade de gastrite de chaque aire des quatre séries ($P < 0.001$ pour chacune des aires). **Conclusion.** Cette étude préliminaire montre que l'analyse multispectrale de la muqueuse gastrique pourrait être une aide à la reconnaissance des différents types de gastrite. Ces résultats nous incitent à réaliser une étude comparative à large échelle avec différents types de pathologies.

EXPRESSION LENTIVIRALE DE LA SOUS-UNITÉ CDTB DE LA TOXINE « CYTOLETHAL DISTENDING TOXIN » DANS LES CELLULES - UNE STRATÉGIE PROMETTEUSE POUR L'ÉTUDE DE CETTE GÉNOTOXINE.

PERE-VEDRENNE C^{1,2}, MOCAN I^{1,2}, VARON C^{1,2}, MEGRAUD F^{1,2} ET MENARD M^{1,2}. 1 INSERM, U853, F-33076 BORDEAUX, FRANCE 2 UNIVERSITE DE BORDEAUX, F-33076 BORDEAUX, FRANCE.

Contexte et objectif. L'implication des infections bactériennes chroniques dans la cancérogenèse est clairement établie avec *Helicobacter pylori*. Depuis, plusieurs Hélicobacters entéro-hépatiques ont été retrouvés au niveau des voies biliaires de patients atteints de cholangiocarcinomes ou du foie de patients atteints de carcinome hépatocellulaire, laissant envisager un rôle éventuel de ces bactéries dans le(s) processus carcinogène(s) hépatobiliaire(s). La démonstration du rôle de la génotoxine CDT « Cytolethal Distending Toxin » de *Helicobacter hepaticus*, via sa sous unité active CdtB, dans le développement de l'hépatocarcinome chez la souris fait de cette toxine un candidat pertinent dans l'activation de processus pro-cancéreux, au même titre que la protéine inflammatoire et oncogène CagA de *Helicobacter pylori*. La sous unité CdtB est la sous unité active de la toxine. Elle induit des dommages à l'ADN, un changement de la structure du cytosquelette et un arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. La CDT est sécrétée par de nombreux pathogènes des muqueuses tels que les Campylobacters, certains Hélicobacters, *Escherichia coli*, *Haemophilus ducreyi* Malgré l'importance de cette toxine en pathologie humaine, les données concernant son rôle restent peu nombreuses. Ceci est dû à sa forte toxicité et aux difficultés relatives à sa production/pénétration dans les cellules cibles. Afin de contourner ce problème, la CdtB est directement exprimée dans les cellules à l'aide de lentivirus. Ainsi, nous étudions le rôle de la CdtB de *H. pullorum* et *H. hepaticus* dans l'inflammation et le développement de la carcinogénèse.

Méthodologie et résultats. La séquence du gène *cdtB* fusionnée à la séquence de l'épitope de l'hémagglutinine du virus humain influenza répétée 3 fois (générant une séquence CdtB-3HA) a été clonée dans un plasmide, qui a été utilisé pour la production des particules lentivirales. Les lentivirus ont permis le transfert du gène *cdtB* dans différentes cellules épithéliales intestinales et hépatiques. Les résultats préliminaires ont permis de valider cette stratégie lentivirale. En effet, les effets de la CDT ont été reproduits : cytodistention, formation de cellules plurinucléés et arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. De plus, la CdtB induit 1) la formation de nombreux lamellipodes ; 2) des remaniements majeurs du cytosquelette 2) la translocation de la β -caténine dans le noyau et 3) la surexpression du gène codant pour la cortactine et pour l'IL-8 et de la cytokine proinflammatoire IL-8 ainsi que celle du microARN miR-155 impliqué dans la régulation de ce gène. **Conclusion.** Ce modèle lentiviral a permis de faire sauter un verrou technologique et d'attribuer les effets observés directement à la CdtB. Nous avons montré que cette génotoxine entraîne un remodelage du cytosquelette, régule certains gènes et est pro-inflammatoire. Une étude globale de l'expression des gènes et microARN est envisagée afin 1) d'identifier de nouvelles voies de signalisation cellulaire affectées par la CdtB et 2) de déterminer son potentiel oncogénique.

MULTICOLONISATION D'UN ESTOMAC HUMAIN INFECTÉ PAR *HELICOBACTER PYLORI*.

DEBIAS C., GAUTIER S., GARNIER M., MILIN S., FAURE J.-P., TRAN C.T., CREMNITER J., BODET C., BURUCOA C.
LABORATOIRE LITEC EA4331 UNIVERSITE DE POITIERS, CHU DE POITIERS.

Lors de l'infection d'un estomac par *Helicobacter pylori* (*Hp*), la bactérie colonise préférentiellement l'antrum. Une précédente étude de notre équipe avait permis de cartographier la muqueuse gastrique d'un estomac infecté sans mettre en évidence de différence significative de densité bactérienne entre l'antrum et le fundus. L'objectif de notre étude est double. D'une part confirmer la prédominance antrale de la colonisation bactérienne au moyen d'une nouvelle cartographie. D'autre part étudier la diversité génotypique de l'infection afin de mettre en évidence une multi-colonisation. L'estomac utilisé a été obtenu lors d'une sleeve gastrique réalisée au CHU de Poitiers, chez une femme obèse de 32 ans infectée par *Hp* et non traitée pour cette infection. Un total de 382 échantillons de muqueuse gastrique a été prélevé à l'aide de punch à biopsie de 6 mm de diamètre. Chaque échantillon a été divisé en deux parties égales. La densité de colonisation a tout d'abord été évaluée par qPCR *glmM* sur 178 demi-biopsies (88 fundiques, 90 antrales). En moyenne 450 000 équivalents-bactérie sont retrouvés par site dans l'antrum contre 45 000 dans le fundus. Secondairement, *Hp* a été quantifié par culture sur les demi-biopsies restantes. La densité bactérienne moyenne antrale était de 293 UFC par site contre 62 UFC pour le fundus. La diversité génotypique de la population bactérienne a été étudiée par RAPD sur 94 isolats provenant des cultures. La virulence de ces mêmes isolats a été caractérisée par PCR en ciblant *cagA* et *vacA*. Une souche majoritaire *cagA*⁻, *vacA* *s2m2* a été identifiée et s'est révélée présente dans l'ensemble de l'estomac. Une région d'intérêt a été mise en évidence. Celle-ci rassemble sur quelques cm² des isolats de profils génotypiques, de virulence et de résistance aux antibiotiques variés. Cette diversité suggère des échanges génomiques entre différentes souches de *Hp* au sein de l'estomac étudié. Notre étude montre que *Hp* est retrouvé sur toute la muqueuse gastrique avec une significative prédominance antrale. L'estomac étudié s'est révélé multi-colonisé.

EFFICACITÉ ET TOLÉRANCE DE PYLERA[®] + OMÉPRAZOLE PENDANT 10 JOURS CHEZ DES PATIENTS EN ÉCHEC D'UN TRAITEMENT D'ÉRADICATION DE *HELICOBACTER PYLORI* PAR IPP, AMOXICILLINE ET CLARITHROMYCINE

JEAN-CHARLES DELCHIER¹, PETER MALFERTHEINER², RUTH THIEROFF-EKERDT³

1. CHU HENRI MONDOR, CRÉTEIL, FRANCE

2. OTTO-VON-GUERICKE UNIVERSITÄT, MAGDEBURG, GERMANY

3. APTALIS PHARMA US, INC., BRIDGEWATER, USA

INTRODUCTION & OBJECTIFS:

La tri-thérapie par oméprazole, amoxicilline et clarithromycine (OAC) reste utilisée pour l'éradication de *Helicobacter pylori* en dépit de l'augmentation de la résistance à la clarithromycine (CLA -R) et d'une efficacité diminuée. La quadri-thérapie bismuthée en traitement de deuxième ligne est fréquemment utilisée chez les patients en échec d'un traitement préalable.

Nous avons évalué l'efficacité, l'innocuité et la tolérance d'un traitement de 10 jours par PYLERA (souscitrate de bismuth, métronidazole et tétracycline) plus oméprazole (O) chez des patients en échec d'éradication de *H. pylori* par traitement OAC.

Méthodes : Des patients infectés par *H. pylori* en échec d'éradication après 1 traitement par OAC, suivi ou non d'autres traitements sans bismuth, ont été inclus dans une étude multicentrique internationale en ouvert, non comparative et traités par 10 jours de PYLERA + O.

Les traitements d'éradication antérieurs devaient avoir été pris dans les 12 mois précédant le screening. L'éradication (critère principal) était définie par 1 test respiratoire à l'urée C13 négatif réalisé dans les 28 à 56 jours après le traitement.

Résultats : Quarante-neuf patients (France:13, Allemagne:12 ; Espagne:23 ; Italie:1) ont reçu ≥ 1 dose de PYLERA + O (en intention de traiter [ITT]), 40 (82 %) ont pris les 10 jours de traitement et ont été inclus dans l'analyse per protocol (PP).

La durée moyenne (\pm écart-type) depuis la première tentative d'éradication était de $6,3 \pm 3,6$ mois (ITT) ; 14,3% des patients ITT et 17,5 % des patients PP avaient un ulcère gastro-duodéal. Dans les deux populations, 84 % des patients étaient CLA- R , 42 % MET-R et 38% à la fois CLA- R et MET- R . Le taux d'éradication de *H. pylori* a dépassé 90 % dans les populations ITT comme PP (93,2% ITT et 94,7 % PP). Un arrêt prématuré de traitement a été observé en raison d'un événement indésirable. Trente-trois patients ont présenté 87 événements indésirables sous traitement (EIT), la majorité (57%) d'entre eux étaient digestifs (dyspepsie, diarrhée, selles décolorées) ou neurologiques (dysgueusie, maux de tête, vertige). Une augmentation transitoire des paramètres de la fonction hépatique a également été observée ; la majorité a été jugée sans pertinence clinique par les investigateurs. Les EIT étaient en majorité modérés et ont disparu en fin du traitement. Des EIT sévères sont survenus chez 10,2% des patients. Aucun décès ou EI grave n'a été observé.

Conclusion : PYLERA + O pendant 10 jours s'est montré sûr et très efficace pour éradiquer *H. pylori* chez des patients en échec d'éradication par OAC. Le taux d'éradication observé dans cette étude de deuxième ligne est similaire à ceux précédemment observés dans les études d'éradication de *H. pylori* de première ligne par PYLERA.

ÉTUDE DES VOIES DE SIGNALISATION INFLAMMATOIRE INDUITES PAR *HELICOBACTER PYLORI* SUR DES CELLULES ÉPITHÉLIALES GASTRIQUES.

TRAN CT, GARNIER M, GARCIA M, BURUCOA C, BODET C - LABORATOIRE INFLAMMATION TISSUS EPITHELIAUX ET CYTOKINES, EA4331, POLE BIOLOGIE SANTE, POITIERS

A l'interface entre l'hôte et la bactérie, l'épithélium gastrique représente la première barrière de défense de l'organisme face à *Helicobacter pylori* et joue un rôle majeur dans l'inflammation gastrique locale engendrée par *H. pylori*. Les voies de signalisation inflammatoire induites par *H. pylori* ont fait l'objet de nombreuses études mais demeurent encore mal comprises. Un modèle de culture primaire de cellules épithéliales gastriques humaines (CEGH) a été développé pour étudier cette réponse inflammatoire dans un modèle plus physiologique que les lignées tumorales habituellement utilisées. Notre étude explore l'implication de différentes voies de signalisation, ainsi que le rôle du système de sécrétion de type 4 (SST4) dans la réponse inflammatoire induite par *H. pylori*, en comparant notre modèle de culture primaire de CEGH à la lignée cellulaire gastrique humaine AGS. Notre travail suggère un rôle majeur, dans ces deux modèles, de la voie de l'EGFR, des MAPK, et de la voie de JAK/STAT, dans l'expression et la production de CXCL-8 induite par *H. pylori*. Ces voies sont également impliquées dans l'expression et la production d'autres chimiokines comme le CXCL-1 et CXCL-5 et semblent intervenir indépendamment de la présence d'un SST4 fonctionnel. Cependant, la différence observée sur les cellules AGS dans le niveau de production de chimiokines entre les souches possédant ou non un SST4 fonctionnel, n'est pas retrouvée sur les CEGH en culture primaire et laisse supposer l'implication d'autres voies dans notre modèle. Les TLR pourraient jouer un rôle dans l'initiation de cette réponse inflammatoire. Ce modèle de culture primaire de CEGH pourrait permettre de mieux comprendre la réponse inflammatoire induite par *H. pylori*.

ADHESION DE *HELICOBACTER PYLORI* AUX MUCINES GASTRIQUES.

JONCQUEL-CHEVALIER M¹, ROSSEZ Y¹, MIHALACHE A^{1,2}, BONECA IG³, ECOBICHON C³, GOSSET P², LEONARD R¹, **ROBBE-MASSELOT C¹**.
¹UNITE DE GLYCOBIOLOGIE STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE, UMR8576 CNRS/USTL, CITE SCIENTIFIQUE, VILLENEUVE D'ASCO.²
SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIE. GROUPE HOSPITALIER DE L'INSTITUT CATHOLIQUE LILLOIS/ FACULTE LIBRE DE MEDECINE, F-59000
LILLE.³ INSTITUT PASTEUR, GROUPE BIOLOGIE ET GENETIQUE DE LA PAROI BACTERIENNE, PARIS 75015.

L'adhésion de *Helicobacter pylori* à la muqueuse gastrique est essentielle dans le processus de colonisation et d'infection par la bactérie. Afin d'identifier les glycanes reconnus par la bactérie, notre stratégie a consisté à comparer les profils de glycosylation des mucines gastriques purifiées à partir d'individus sains, d'individus asymptomatiques infectés par *H. pylori* et d'individus présentant des métaplasies intestinales. Les glycanes différemment exprimés ont été purifiés puis utilisés dans des tests d'inhibition de l'adhésion *in situ*. Différentes souches bactériennes d'isolat clinique ont été pré-incubées ou non avec les glycanes solubles et la quantité de bactéries fixées sur des coupes de tissus gastriques humains a été quantifiée par microscopie confocale. Ces études nous ont permis de démontrer que *H. pylori* était capable de moduler la glycosylation des mucines pour se conférer un environnement favorable en se créant de nombreux sites d'adhésion nécessaires à la colonisation du tissu et à sa pathogénie. D'autre part, nous avons identifié un nouveau motif glycanique, le LacdiNAc, spécifiquement porté par les mucines gastriques et reconnu par une adhésine de *H. pylori* que nous avons caractérisée. Ce motif pourrait expliquer le tropisme restreint de cette bactérie pour l'estomac. L'ensemble de ces travaux nous permet de mieux comprendre les relations hôte-pathogène dans l'estomac. De plus l'identification précise de motifs glycaniques humains impliqués dans l'adhésion de *Helicobacter pylori* à la muqueuse gastrique ouvre de nouvelles perspectives thérapeutiques pour l'éradication de ce pathogène.

PREMIERE DÉTECTION CHEZ *HELICOBACTER SUIS* D'UNE MUTATION CONNUE POUR ENTRAÎNER LA RÉSISTANCE À LA CLARITHROMYCINE CHEZ *HELICOBACTER PYLORI*.

TOUROULT-JUPIN P^{1,2}, CREMNITER J^{1,2}, PLOUZEAU C¹, FAURE JP³, SILVAIN C^{2,4}, **BURUOIA C**^{1,2}

¹ LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE, ² EA4331 LITEC, UNIVERSITE DE POITIERS, ³ SERVICE DE CHIRURGIE VISCERALE DIGESTIVE, ⁴ SERVICE D'HEPATO-GASTROENTEROLOGIE ET D'ASSISTANCE NUTRITIVE, CHU POITIERS.

Les infections à *Helicobacter Non-Helicobacter pylori* (HNHP : *H. suis*, *felis*, *bizzozeronii*, *salomonis*) sont rares mais responsables de gastrite, d'ulcère gastrique et de lymphome du MALT. La culture des HNHP est très difficile. Le diagnostic est basé en routine sur un examen direct ou une histologie positive associée à une culture négative, et confirmé par une PCR-séquençage 16S. La détection phénotypique des résistances étant impossible, les données sur la résistance des HNHP sont extrêmement rares. Le traitement habituel est basé sur une trithérapie contenant de la clarithromycine. Pour tous les prélèvements positifs à HNHP détectés depuis deux ans au laboratoire (n=5) une PCR Scorpion recherchant les mutations conférant la résistance à la clarithromycine a été réalisée.

Nous décrivons pour la première fois dans une souche de *H. suis* détectée chez un patient présentant une gastrite, la présence d'une mutation connue pour conférer la résistance à la clarithromycine chez *H. pylori*. L'éradication a été obtenue avec une trithérapie à base de metronidazole. Bien que la conséquence thérapeutique de cette mutation n'ai pas été prouvée, la détection de cette mutation chez une souche clinique de HNHP fait fortement suspecter le risque d'échec d'un traitement contenant de la clarithromycine.

DÉTERMINATION DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DE *HELICOBACTER PYLORI* : VALIDATION D'UN ALGORITHME ASSOCIANT HELICODR® ET ANTIBIOGRAMME PAR ETEST®.

FRANCART A¹, DECOUSSER JW¹, FIIHMAN V¹, DELCHIER JC², DEFORGES L¹.

¹ : LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE, ² : HEPATOLOGIE GASTROENTEROLOGIE, CHU HENRI MONDOR (94), AP-HP

Introduction : Le choix des antibiotiques pour traiter les infections à *H. pylori* s'appuie sur des tests de sensibilité *in vitro*. Les méthodes moléculaires constituent une alternative à la méthode phénotypique de référence (détermination des CMI par Etest®). L'HelicoDR® est une technique de PCR/hybridation sur bandes combinant la détection des codons sauvages et des mutations les plus fréquentes à la clarithromycine (sensibilité: 94 à 100%) et à la lévofloxacine (sensibilité : 82.6% à 87%).

Objectif : Valider l'algorithme d'utilisation de l'HelicoDR® et de l'antibiogramme par Etest® (clarithromycine, lévofloxacine), ce dernier étant réalisé (i) systématiquement quelque soit le résultat de l'HelicoDR® chez les patients consultant pour un échec de traitement ou un lymphome de MALT, (ii) en cas de résistances détectées par l'HelicoDR® pour les autres patients.

Matériel et Méthodes. L'HelicoDR® et l'antibiogramme ont été réalisés en parallèle systématiquement pour 104 patients successifs chez qui *H. pylori* avait été mis en évidence. Les résultats qui auraient été obtenus avec l'algorithme ont été comparés à ceux obtenus par la réalisation systématique de l'antibiogramme par Etest® (méthode de référence).

Résultats. Selon notre algorithme décisionnel seuls 47 antibiogrammes sur les 104 souches de *H. pylori* auraient dû être réalisés. Les 57 antibiogrammes supplémentaires réalisés pour cette étude ont permis d'identifier 3 souches résistantes à la clarithromycine et 7 souches résistantes à la lévofloxacine non détectées par l'HelicoDR®. La sensibilité, spécificité, VPP et VPN de notre algorithme est respectivement pour la clarithromycine de 87,0%, 100%, 100%, 96,4%, et pour les fluoroquinolones de 70%, 100%, 100%, 92,0%. L'ajout d'un score de comorbidité ≥ 4 ou d'un antécédent d'hospitalisation dans les 3 mois aux critères de réalisation systématique de l'antibiogramme permettrait d'augmenter les performances de l'algorithme pour détecter la résistance à la clarithromycine.

Discussion et conclusion. Notre algorithme est adapté à notre population : sa sensibilité est bonne pour détecter la résistance à la clarithromycine qui a un impact clinique majeur. Par ailleurs il permet dans plus de la moitié des biopsies positives à *H. pylori* de rendre le résultat de sensibilité sans attendre ni la culture (4 jours) ni l'antibiogramme (4jours). Notre algorithme doit être testé sur une plus grande population.

-o-o-oOo-o-o-

Nos remerciements à

Nos remerciements à

