

GEFH

GRUPE D'ETUDES FRANÇAIS
DES HELICOBACTER

BORDEAUX

24^{ème} réunion annuelle

Vendredi 29 janvier 2016



**Helicobacter pylori
Actualités 2016**

Réunion parrainée par : La Société Française de Microbiologie

La Société Nationale Française de
Gastro-Entérologie

La Société Française de Pathologie

9h00 ACCUEIL - CAFÉ
Pr Jean-Charles Delchier - Président du GEFH (Créteil, France)

9h30 CONFÉRENCES D'ACTUALISATION

Modérateurs :

Philippe Lehours, Driffa. Moussata

- Infection, innate immune signalling and cancer in the stomach – stem cell-derived organoids, as a new model.
Sina Bartfeld (Amsterdam, Pays-Bas)
- Structural insights in *Helicobacter pylori* adherence.
Han Remaut (Bruxelles, Belgique)
- Le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* après Maastricht.5.
Jean-Charles DELCHIER (Créteil, France)

11h15 COMMUNICATIONS LIBRES

Modérateurs :

Francis Megraud, Jean-Charles Delchier

- 11h15** • « Upstream stimulating factors » USF1 and USF2 et réponse aux dommages de l'ADN au cours de l'infection par *Helicobacter pylori*.
Costa L. (Paris, France)
- 11h30** • Pylori hebdo* : résultat d'une enquête de pratique sur la prise en charge de *Helicobacter pylori* dans 31 centres ANGH (Association Nationale des Hépatogastroentérologues des hôpitaux généraux) en 2014.
Heluwaert F. (Annecy, France)
- 11h45** • Dérégulation des micro ARNS dans un modèle *in vivo* de lymphomagenèse gastrique induite par *Helicobacter pylori*
Floch P. (Bordeaux, France)
- 12h00** • Validation d'un test rapide de recherche d'antigènes *Helicobacter pylori* dans les selles chez l'enfant.
Kalach N. (Paris, France)
- 12h15** • Etude de l'unique dead-box helicase du pathogène gastrique *Helicobacter pylori*.
Galtier E. (Paris, France)

12h45 DÉJEUNER



14h00 CONFÉRENCES D'ACTUALISATION

Modérateurs :

Hilde de Reuse, Frédéric Heluwaert

- Regulatory mechanisms and fine tuning of *Helicobacter pylori* adhesion properties.
Anna Arnqvist (Umeå, Suède)
- Comment mieux identifier et suivre les lésions précancéreuses de l'estomac.
Dominique Lamarque (Paris, France)

15h45 COMMUNICATIONS LIBRES

Modérateurs :

Christophe Burucoa, Anne Courillon-Mallet

- 15h45** • La sous-unité CDTB de la toxine CDT de *Helicobacter* induit l'expression de l'oncoprotéine MAFB dans des lignées cellulaires intestinales et hépatiques.
Ménard A. (Bordeaux, France)
- 16h00** • Nouveau modèle de lymphomagenèse gastrique : la souris transgénique April infectée par des bactéries du genre *Helicobacter*.
Floch P. (Bordeaux, France)
- 16h15** • Genomic variation in *Helicobacter pylori* – Pan-genome analysis.
Berthenet E. (Swansea, Royaume-Uni)
- 16h30** • Etude de la voie de signalisation Hippo/YAP/TAZ en réponse à l'infection par *Helicobacter pylori*.
Molina-Castro S. (Bordeaux, France)
- 16h45** • Résistance de *Helicobacter pylori* aux antibiotiques. Bilan d'une étude nationale menée en 2014.
Bénéjat L. (Bordeaux, France)

17h15 CLÔTURE DE LA RÉUNION

17H45 ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DU GEFH ET FIN DE LA JOURNÉE

-o-o-oOo-o-o-



CONFÉRENCES D'ACTUALISATION : RÉSUMÉS

- Infection, innate immune signalling and cancer in the stomach – stem cell-derived organoids, as a new model.
Sina Bartfeld (Amsterdam, Pays-Bas)
- Structural insights in *Helicobacter pylori* adherence.
Han Remaut (Bruxelles, Belgique)
- Le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* après Maastricht.5.
Jean-Charles DELCHIER (Créteil, France)
- Regulatory mechanisms and fine tuning of *Helicobacter pylori* adhesion properties.
Anna Arnqvist (Umeå, Suède)
- Comment mieux identifier et suivre les lésions précancéreuses de l'estomac.
Dominique Lamarque (Paris, France)



INFECTION, INNATE IMMUNE SIGNALLING AND CANCER IN THE STOMACH – STEM CELL-DERIVED ORGANOIDS AS A NEW MODEL

DR. SINA BARTFELD ; JUNIOR GROUP LEADER ; INSTITUTE FOR MOLECULAR INFECTION BIOLOGY ; UNIVERSITY OF WÜRZBURG (GERMANY)

Gastric cancer is the third leading cause of cancer deaths worldwide. Gastric cancer originates from stem cells and the development is causally related to chronic infection with the bacterium *Helicobacter pylori*. The infection drives inflammation via innate immune signaling.

Troy and Lgr5 are Wnt target genes specifically expressed at the bottom of gastric glands. While Lgr5 marks stem cells in the antrum, in the corpus Troy and Lgr5 together mark a subpopulation of differentiated chief cells that can regain stem cell capacity upon damage.

Mouse and human gastric stem cells can initiate ever-expanding 3 dimensional organoids in vitro. The organoids harbor stem cells, progenitor cells as well as four lineages of the stomach. Infection of organoids with *Helicobacter pylori* reveals cell-type specific inflammatory responses. Organoids grown from tumors as well matched healthy tissue allow evaluation of drug responses.

STRUCTURAL INSIGHTS IN *HELICOBACTER PYLORI* ADHERENCE

HAN REMAUT

STRUCTURAL AND MOLECULAR MICROBIOLOGY, STRUCTURAL BIOLOGY RESEARCH CENTER, VIB / VRIJE UNIVERSITEIT BRUSSEL, BRUSSELS, BELGIUM.

Helicobacter pylori chronically infects the human gastric mucosa, a narrow niche that is hostile to most other microbes. Important to *H. pylori*'s persistence is its ability to attach to the glycosylated gastric epithelial cell surfaces and overlying mucins, which aggravates strain virulence, and facilitates host response management and acquisition of nutrients leached from the epithelium. *H. pylori* adherence is directed by a paralogous family of "*Helicobacter* outer membrane proteins" ("Hops"; pfam: PF01856), associated with gastric *Helicobacters* and encompassing functionally diverse adhesins. A prominent role is taken by the BabA adhesin, which binds mono- (ABO) and di-fucosylated (Lewis b) blood group carbohydrates and whose expression is linked to disease-associated strains. Emerging structural information reveals Hops encompass a common extracellular scaffold, with malleable function due to the inclusion of unique insertion domains in the various Hop members. High sequence diversity amongst clinical isolates and adaptive evolution further affect functional binding properties of individual adhesins. In BabA, this results in a 1000-fold range of affinities of *H. pylori* strains for Lewis b glycan receptors, and leads to the emergence of ABO *generalist* vs O *specialist* binding preferences in accord with geographic differences in blood group prevalence. I will discuss our recent structural and mechanistic insights into BabA's polymorphic, three-pronged Le^b binding site, where two diversity loops provide adaptive control to binding affinity and bg preference. The anchor point for BabA - receptor binding is the embrace of an ABO fucose residue by a disulfide-clasped loop, which is inactivated by the redox-active pharmaceutical N-acetylcysteine. N-acetylcysteine treatment lowers gastric mucosal neutrophil infiltration in *H. pylori* infected Le^b-expressing mice, providing new perspectives on its possible pharmacological action during clinical use as supplement in *H. pylori* eradication therapies.



LE TRAITEMENT DE L'INFECTION À *HELICOBACTER PYLORI* APRÈS MAASTRICHT 5

JEAN-CHARLES DELCHIER (CRETEIL)

A l'initiative de l'European Helicobacter Study Group (EHSO), 50 experts ont été à nouveau réunis pour actualiser les recommandations du traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* les 7 et 8 octobre 2015.

Plusieurs raisons expliquent la difficulté de l'éradication de la bactérie par un traitement antibiotique. Il s'agit d'une bactérie extra-cellulaire localisée dans le mucus gastrique ; l'acidité gastrique inactive les antibiotiques ; le nombre d'antibiotiques actifs sur la bactérie est réduit ; certains d'entre eux font l'objet d'une résistance acquise.

De 1995 à 2010, un traitement probabiliste par trithérapie associant un anti-sécrétoire gastrique à forte dose (IPP), l'amoxicilline à la dose de 1 g x 2 par jour et la clarithromycine à la dose de 500 mg x 2 par jour pendant 7 jours a été préconisé. Cette trithérapie est devenue, au cours du temps, de moins en moins efficace, principalement du fait de développement de résistance à la clarithromycine.

C'est pourquoi, la conférence de Maastricht 4 en 2010 avait recommandé d'abandonner cette trithérapie en faveur d'un traitement séquentiel de 10 jours par IPP + amoxicilline pendant 5 jours + IPP + clarithromycine + métronidazole pendant 5 jours pour les pays où le taux de résistance primaire à la clarithromycine est supérieur à 15 ou 20 %.

Les travaux publiés durant les 5 dernières années ont été réalisés dans 2 directions :

- Optimisation de la trithérapie IPP, amoxicilline, clarithromycine pour les souches sensibles à la clarithromycine. Les travaux réalisés ont montré qu'un taux d'éradication supérieur à 90 % sur souche sensible pouvait être obtenu au prix d'une anti-sécrétion renforcée (IPP 40 mg x 2 par jour) et d'une durée de traitement suffisante, jugée comme optimale pour 14 jours.
- Définition d'une quadrithérapie optimale pour les pays ayant un fort taux de résistance à la clarithromycine (supérieur à 15 %) :
 - a) La quadrithérapie IPP, amoxicilline, clarithromycine, métronidazole, pendant 14 jours a fait la preuve d'une supériorité durant le traitement séquentiel, fait d'une moins grande sensibilité à la résistance à la clarithromycine. Une double résistance à la clarithromycine et au métronidazole, en revanche, a un effet délétère sur cette quadrithérapie.
 - b) La quadrithérapie bismuthée comportant IPP-bismuth-tétracycline-métronidazole a fait l'objet de plusieurs travaux. Il convient de distinguer les résultats des quadrithérapies classiques de ceux du Pyléra qui se présente sous forme de gélules contenant antibiotiques et bismuth et qui n'est commercialisé qu'en France et en Allemagne pour l'instant.

Les quadrithérapies bismuthées classiques constituent un groupe hétérogène dans la mesure où le bismuth est administré à des posologies variables selon les protocoles utilisés dans la littérature. Il apparaît, au vu des travaux récents, qu'une durée de 14 jours est la durée optimale.

En ce qui concerne le Pyléra, la durée de traitement est de 10 jours. Les résultats d'éradication supérieurs à 90 % en per protocole ont été observés régulièrement en traitement initial. Ces résultats ne semblent pas significativement diminués en cas de résistance au métronidazole. De ce fait, cette quadrithérapie apparaît comme l'arme la plus efficace en traitement initial de l'infection à *Helicobacter pylori*.

La tolérance au traitement par quadrithérapie non bismuthée est inférieure à celle de la trithérapie optimisée. Cependant, le taux d'arrêt du traitement n'est pas différent.

En ce qui concerne le Pyléra, sa tolérance de la la trithérapie classique.

En pratique clinique, il apparaît donc justifié de proposer en première intention de traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* soit la quadrithérapie bismuthée par Pyléra 10 jours, soit la quadrithérapie non bismuthée 14 jours.



En cas d'échec du traitement initial qui devrait concerner moins de 10 % des patients, il faut proposer la quadrithérapie qui n'a pas été utilisée en première ligne.

En cas d'échec du traitement de deuxième ligne, il apparaît logique de proposer une étude bactériologique de l'infection avec détermination de la sensibilité aux différents antibiotiques disponibles soit par PCR soit par culture.

En cas de sensibilité à la clarithromycine mais de résistance au métronidazole, une trithérapie optimisée par IPP-amoxicilline-clarithromycine est proposée.

En cas de résistance à la clarithromycine et de sensibilité à la lévofloxacine, une quadrithérapie optimisée par IPP-amoxicilline-lévofloxacine durant 14 jours est recommandée.

En cas de double résistance clarithromycine et lévofloxacine, une trithérapie optimisée de 14 jours IPP-amoxicilline-métronidazole peut être proposée.

En cas de résistance à la clarithromycine, au métronidazole et à la lévofloxacine, un traitement par trithérapie de 10 jours IPP-amoxicilline-rifabutine 150 mg x 2 par jour n'est à envisager que dans les cas où l'éradication de l'infection paraît indispensable (par exemple, lymphome du MALT, ulcère gastroduodéal, présence de lésions pré-néoplasiques).

REGULATORY MECHANISM AND FINE TUNING OF *HELICOBACTER PYLORI* ADHESION PROPERTIES

ANNA ARNQVIST

DEPARTMENT OF MEDICAL BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, UMEÅ UNIVERSITY, SWEDEN

A hallmark of *H. pylori* is its remarkable capacity to adapt to different microenvironments within the human stomach, a key factor to establish a persistent infection. During the persistent infection, optimal expression of bacterial factors is required to match new environmental conditions and to evade immune responses. In many eubacteria, RNA polymerase sigma (σ) factors and transcriptional regulators control gene expression at the mRNA level. However, these are likely to play a limited role in *H. pylori*, since only a restricted set of σ -factors (σ^{80} , σ^{54} and σ^{28}) and few classical *trans*-acting regulators are present. Thus, it is likely that additional mechanisms operate to modulate and fine-tune gene expression. Similar to other bacteria with small genomes, *H. pylori* have a high content of simple sequence repeats (SSRs). The SSRs are typical hot-spots for mutations. Changes in the length of SSRs occur via slipped-strand mispairing and DNA polymerase slippage during replication. The impact of SSRs in *H. pylori* is probably further accentuated by the lack of mismatch repair systems and proof reading deficiency of the DNA polymerase I. The role of SSM in regulation is determined by the genetic location of the SSRs. Intragenic SSRs turns protein expression on or off, while intergenic SSRs, can result in transcriptional and post-transcriptional regulation by different mechanisms.

The purpose of our research is to in molecular terms describe how *H. pylori* gene expression is fine-tuned to adapt to environmental changes. Our model system is the BabA and the SabA adhesion proteins that *H. pylori* use for attachment to gastric mucosa. Both BabA and SabA are associated to sever gastric diseases. We have in previous projects studied mechanisms involved in regulation of BabA and SabA adhesin expression. In a recent project, we studied how variation in length of the T-tract located adjacent to the -35 promoter element affected expression of the SabA adhesin. We found that the length of the T-tract affects the local DNA structure and thereby binding of the RNA polymerase by shifting the axial alignment between the core promoter and the UP-like elements upstream of the *sabA* promoter. Moreover, we identified additional genes with T- or A-tracts in *H. pylori*, positioned similar to that of *sabA*, and showed that variations in their length (as a result of SSM) likewise acted as rheostats to modulate their cognate promoters.



IDENTIFICATION ET SUIVI DES LÉSIONS PRÉCANCÉREUSES DE L'ESTOMAC

D. LAMARQUE

SERVICE HEPATO-GASTROENTEROLOGIE. HÔPITAL AMBROISE PARE, 9 AVENUE CHARLES DE GAULLE, 92104 BOULOGNE BILLANCOURT

En endoscopie digestive haute, l'imagerie en lumière blanche permet au clinicien de voir et caractériser des anomalies des muqueuses digestives. Ces anomalies concernent la texture ou le relief de la muqueuse. Leur sémiologie a été affinée ces dernières décennies avec le progrès des optiques, des caméras et des écrans. L'amélioration de la définition de l'image des vidéo-endoscopes a permis une meilleure description des différentes lésions et accru la proportion des anomalies reconnues. La reconnaissance des lésions inflammatoires est cependant restée hors du champ de ces progrès. Les deux zones de l'estomac sur lesquelles nous nous focalisons sont l'antra (portion distale de l'estomac) et le cardia (segment de transition avec l'œsophage

- Le principal écueil est lié au caractère indécélable des lésions inflammatoires des muqueuses digestives, en particulier celles de l'estomac, par l'examen en lumière blanche. Ces lésions sont fréquentes et responsables de multiples pathologies (ulcères, lymphome, cancer). Par ailleurs, ces lésions provoquent aussi un vieillissement prématuré de la muqueuse gastrique qui contraint le médecin endoscopiste à effectuer des prélèvements systématiques et non orientés de la muqueuse. Le diagnostic de ces lésions reste aléatoire puisqu'il dépend de l'évaluation subjective de l'aspect de la muqueuse gastrique par le médecin endoscopiste qui doit établir en temps réel un diagnostic et décider ou non de la pratique de prélèvements gastriques pour confirmer son impression.
- On peut déplorer le manque d'investissement en recherche des constructeurs majeurs d'endoscopes (Fuji, Olympus ou Pentax) pour améliorer la technologie et faciliter l'analyse du médecin. Actuellement, la majorité des endoscopes produisent uniquement des vidéos acquises en lumière blanche et la plupart des innovations récentes de ces appareils ne concernent que l'augmentation de la résolution de l'image ou des modifications mineures comme l'ajout de connectique.

Afin de déceler les lésions inflammatoires quelques techniques d'imagerie optique ont été développées. Il est par exemple possible d'utiliser des colorants afin de rehausser le contraste de la muqueuse de l'estomac : on peut citer les techniques de chromoendoscopie ou d'imagerie de fluorescence.

Aucun système n'a été développé dans l'exploitation quantitative de l'imagerie optique non-conventionnelle à partir de multiples bandes spectrales. L'existant se base au mieux sur un nombre très réduit de bandes, comme le Narrow Band Imaging (NBI) d'Olympus. Le système FICE (Fuji) se limite à une estimation numérique des bandes spectrales, pour former une image fausse couleur à partir de deux ou trois images monobandes acquises à des longueurs d'ondes spécifiques et dont la signification pathologique est laissée à l'appréciation de l'endoscopiste [Won08].

Si les progrès de la qualité des images et des écrans permettent à l'opérateur de visualiser des zones suspectes par une analyse morphologique subjective, elles ne permettent pas en revanche de détecter par une technique quantitative, non opérateur dépendant et reproductible les lésions sans anomalie de relief, comme les gastrites inflammatoires et l'atrophie séquellaire.

Ces constatations justifient le développement de techniques d'imagerie innovantes pour répondre au besoin médical d'une caractérisation et détection précoces de l'inflammation dans l'estomac par une technique quantitative, reproductible et qui peut être représenté sur un support permettant le partage de l'information et sa réinterprétation.

La détection de zones inflammatoires peut être améliorée, du fait de la prise en compte de longueurs d'ondes spécifiques et caractéristiques de la réflectance diffuse de ces lésions.

La gastrite chronique atrophiante est l'étape suivante : l'infiltrat inflammatoire s'étend jusqu'au plan profond de la muqueuse. Il y a déformation et destruction progressive des glandes qui sont séparés par des foyers inflammatoires. En cas de pangastrite, la raréfaction glandulaire entraîne la diminution de la masse



des cellules pariétales et une hypochlorhydrie. Au plan histologique on observe l'apparition de métaplasie intestinale des glandes gastriques dans les zones atrophiques. Cette transformation est inconstamment réversible après l'éradication de *H. pylori*. Elle peut être le siège de lésions dysplasiques qui peuvent évoluer vers l'adénocarcinome, particulièrement en cas de pangastrite.

Le risque de transformation néoplasique de la gastrite atrophique est estimé de 0 à 2% pour la gastrite atrophique et jusqu'à 10% pour la métaplasie intestinale. Les classifications OLGA (*Operative Link for Gastritis Assessment*) et OLGIM basées sur l'évaluation des lésions atrophiques au niveau des muqueuses antrale et du corps gastrique ont défini que les patients ayant une gastrite atrophique et/ou de la métaplasie intestinale soit sévère dans l'antra, soit étendue au corps gastrique étaient à risque et devaient avoir une surveillance endoscopique avec prélèvements étagés tous les 3 ans.

-o-o-oOo-o-o-



RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS LIBRES

PYLORI HEBDO* : RESULTAT D'UNE ENQUETE DE PRATIQUE SUR LA PRISE EN CHARGE DE *HELICOBACTER PYLORI* DANS 31 CENTRES ANGH (ASSOCIATION NATIONALE DES HEPATO-GASTROENTEROLOGUES DES HOPITAUX GENERAUX) EN 2014

F. HELUWAERT (1) ; S. NAHON (2) ; B. LESGOURGUES (2) ; A. COURILLON –MALLET (3)

(1) ANNECY, (2) MONTFERMEIL, (3) VILLENEUVE ST GEORGES

Devant l'évolution des recommandations de la prise en charge d H. Pylori (Hp), l'ANGH a initié un observatoire Pylori-Hebdo pour répondre aux questions suivantes : quelles sont les indications de recherche et d'éradication, les tests diagnostics et les traitements prescrits. Quelle suite est donnée aux biopsies Hp+ et quelle est la fréquence des lésions pré-néoplasiques ?

Matériels et Méthodes : En Nov. 2014, sur une période de 3 semaines, 31 centres de l'ANGH ont participé via un e-CRF à : 1) une enquête prospective concernant les traitements d'éradication de l'infection à Hp 2) une analyse rétrospective des résultats histologiques gastriques.

Résultats : Enquête prospective : 285 patients adultes traités (SR H/F = 0,81), nés en France (55%), en Afrique (26%). Les motifs de dépistage: biopsies systématiques (31%), dyspepsie (28%), ulcère et ATCD d'ulcère (21%), carence en fer et B12 (6%), ATCD familial de K gastrique (5%), IPP ou AINS (3,8%), chirurgie bariatrique (2,8%). Le diagnostic est histologique (90,5%), test rapide uréase (4,5%), sérologique (2,5%), ou test respiratoire urée 13C (2,5%). La culture d'Hp ou à la PCR n'étaient disponibles que dans 46% et 18% des centres. Sur les 285 traitements effectués, les 1ères, 2ème, 3ème lignes représentent respectivement 88%, 7 % et 5% des prescriptions. La première ligne est dominée par le traitement séquentiel (n=144) (57%) suivi du Pylera*(n=107) (42%). Le Pylera* est majoritairement prescrit en 2ème ligne (n=17) soit 80%. Les traitements de 3ème ligne (n=13) sont orientés par la culture ou la PCR dans 60% des cas (8/13). La lévofloxacine (n=4) n'est prescrite qu'en 3ème ligne, toujours après étude de la sensibilité bactérienne. Il n'y a pas eu de recours à la rifabutine. A l'issue du traitement, le patient est revu dans 49% des cas et confié au généraliste dans 51% des cas, avec des recommandations. Les contrôles d'éradication sont prescrits dans 92,5% des cas, effectués dans 91% par Test respiratoire ou endoscopie (9%).

Enquête rétrospective : En l'absence de contre-indication, des biopsies gastriques étaient prélevées : systématiquement (51%), plus d'une fois/2 (28,6%) et uniquement en cas d'anomalie endoscopique (19%). Sur les 1542 prélèvements histologiques reçus, 530 biopsies (34%) étaient Hp+. La prévalence de biopsies Hp+ variait en fonction des centres (de 13 à 40%). Hp était retrouvé dans les indications suivantes : dyspepsie (21,8%), biopsies systématiques (21,7%), gastrite (19,6%), ulcère (15,9%), chirurgie bariatrique (6,6%), carence en fer (6,4%), prise IPP et AINS (3,7%), ATCD familial de K gastrique (2,8%), lymphome (0%). Les résultats des biopsies seront gérés par le généraliste dans 58% des cas (42% avec recommandation de traitement, 16% sans) et par le spécialiste dans 42% des cas. La découverte de lésion pré-néoplasique reste rare : Atrophie sévère (n=14) (2,6% des biopsies) mais fundique+/-antrale chez 4 patients, métaplasie (n=71) (13%) mais fundique+/-antrale chez 17 patients, dysplasie (n=6) (1%).

Conclusion : En 2014, l'infection à HP est encore d'actualité avec une prévalence moyenne de 30%. La dyspepsie et non l'ulcère est la principale cause de recherche d'Hp. La réalisation de biopsies systématiques doit encore être encouragée et l'accessibilité aux moyens de cultures ou PCR reste encore insuffisante. Les traitements reposent actuellement à part quasi égale entre le traitement séquentiel et le Pylera*. La lévofloxacine reste un traitement de recours après étude de la sensibilité bactérienne. Le taux de contrôle d'éradication prescrit dépasse les 90%. La prise en charge conjointe spécialiste-généraliste se confirme. Les lésions pré-néoplasiques justifiant une surveillance endoscopique sont rares (<7%)

DÉRÉGULATION DES MICROARNs DANS UN MODELE *IN VIVO* DE LYMPHOMAGÈNE GASTRIQUE INDUITE PAR *HELICOBACTER PYLORI*

FLOCH PAULINE¹, CAPDEVIELLE CAROLINE¹, STAEDEL CATHY², MEGRAUD FRANCIS¹, LEHOURS PHILIPPE¹.

¹INSERM U1053-UMR BARITON (EX INSERM U853), ²INSERM U869, UNIVERSITE DE BORDEAUX, FRANCE.

L'infection par *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est considérée comme un excellent modèle de cancer induit par une infection bactérienne. Notre projet est centré sur le lymphome gastrique du MALT (LGM) lié à l'infection par *H. pylori*, lymphome le plus fréquent des lymphomes extra-ganglionnaires digestifs mais moins étudié que les carcinomes gastriques. C'est néanmoins une pathologie sévère qui émane d'un processus inflammatoire chronique initié par *H. pylori*. Afin de mieux comprendre la physiopathologie du LGM, le laboratoire a décrit un modèle de souris BALB/c thymectomisées à 3 jours de vie (d3Tx) infectées par *H. pylori* (Chrisment D *et al.* 2014) développant un LGM.

A partir du matériel issu de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des microARNs (miARNs), petits ARNs non codants considérés comme des acteurs majeurs de la régulation post-transcriptionnelle de l'expression des gènes dont le rôle a été décrit dans l'inflammation et la carcinogénèse. Par PCR array et qPCR, nous avons identifié 5 miARNs (miR-21a, miR-135b, miR-142a, miR-150, miR-155) surexprimés au sein des estomacs des souris d3Tx infectées au stage LGM. L'analyse des cibles de ces miARNs via le site TargetScan ainsi que l'analyse de la littérature, nous permet de proposer des cibles possibles de ces miARNs, dont TP53INP1, protéine antiproliférative et proapoptotique, cible de 4 des 5 miARNs surexprimés dans notre modèle. Nous proposons un scénario dans lequel ces miARNs pourraient être impliqués dans la survie cellulaire et la prolifération lymphocytaire et via différentes cibles agir en synergie pour favoriser le développement du LGM. miR-142a, surexprimé au niveau sérique, pourrait servir de marqueur de diagnostic non invasif.

L'analyse des miARNs identifiés dans des biopsies ou des coupes histologiques humaines permettrait de valider chez l'homme leur dérégulation au stade LGM et de définir de nouvelles cibles thérapeutiques.

VALIDATION D'UN TEST RAPIDE DE RECHERCHE D'ANTIGÈNE *HELICOBACTER PYLORI* DANS LES SELLES CHEZ L'ENFANT

N KALACH¹, P GOSSET², E. DEHECQ³, A. DECOSTER³, S PAPANPOLOS², C. SPYKERELLE¹, C DUPONT⁴, J RAYMOND⁵

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

Background : Chez l'enfant, le diagnostic de référence de l'infection à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est basé sur la réalisation d'une endoscopie avec prélèvement de biopsies gastrique à partir desquelles seront réalisées histologie, culture, test à l'uréase (RUT) et PCR. Les problèmes posés par la réalisation de ces méthodes invasives justifient l'utilisation des méthodes non-invasives, telles la recherche de l'antigène de *H. pylori* dans les selles par une technique Immuno-chromatographique **But**: Evaluer chez l'enfant les performances d'un test de diagnostic non-invasif rapide Immuno-chromatographique (ALERE®, Jouy-En-Josas, France) pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori*.



Patients & méthodes: De Mars 2014 à Septembre 2015, 158 enfants (89 filles, 69 garçons) présentant des signes cliniques évocateurs de gastrite étaient inclus. Les enfants 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 2 biopsies antrales & 2 biopsies fundiques étaient prélevées. A partir des biopsies étaient réalisées 1) une analyse histologique (updated Sydney classification) 2) un test rapide à l'uréase (RUT) 3) une culture bactérienne avec antibiogramme 4) une PCR quantitative en temps réel (qPCR). Des selles étaient obtenues le même jour pour la recherche d'antigènes *H. pylori* dans les selles. Les performances du test de recherche d'antigène dans les selles étaient évaluées en fonction des critères de positivité classiques (méthode de référence) : un diagnostic était positif si la culture était positive ou si au moins deux tests invasifs parmi l'histologie, le RUT ou la qPCR étaient positifs. Le diagnostic était considéré comme négatif lorsque tous les tests étaient négatifs.

Résultats: Parmi 158 enfants inclus 135 enfants étaient *H. pylori* négatif (85.4%) et 23 enfants étaient *H. pylori* positif (14.6%). Parmi les 23 enfants *H. pylori* positif, la culture était positive dans 22 cas (1 faux négatif), l'histologie dans 23 cas (1 faux-négatif et 1 -positif), la RUT dans 13 cas (10 faux négatifs), la qPCR dans 24 cas (1 faux positif), et la recherche d'antigènes dans les selles dans 25 cas (2 faux-négatifs et 4 faux-positifs). Pour 2 patients la recherche d'antigènes dans les selles était négative avec une culture et une qPCR positives (charge bactérienne de 10^1 et 10^3 copies). Pour 4 patients négatifs pour tous les autres tests, la recherche d'antigènes dans les selles était positive. Les performances des différents tests sont les suivants:

- Antigène dans les selles : 95% IC sensibilité (Se) 91.3% (86.9-95.6), spécificité (Sp) 97% (94.3-99.6), valeur prédictive positive (VPP) 84% (78.2-89.7), valeur prédictive négative (VPN) 98.5% (96.6-100). La précision du test (PT) était de 96.2% (93.2-99.1).

- Histologie : Se 95.7 (92.5-98.8), Sp 99.3 (97.9-100), VPP 95.3 (91.9-98.6), VPN 99.3 (97.9-100), PT 98.7 (96.9-100).

- RUT : Se 56.5 (48.7-64.2), Sp 100, VPP 100, VPN 93.1 (89.1-97), PT 93.6 (89.7-97.4).

- Culture : Se 95.7 (92.5-98.8), Sp 100, VPP 100, VPN 99.3 (97.9-100), PT 99.3 (97.9-100).

- qPCR : Se 100, Sp 99.3 (97.9-100), VPP 95.8 (92.6-98.9), VPN 100, PT 99.3 (97.9-100).

Conclusion : La recherche d'antigène dans les selles est un test concordant, fiable, rapide, et spécifique pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori* chez l'enfant. Il présente une excellente valeur prédictive négative.

LA SOUS-UNITÉ CDTB DE LA TOXINE CDT DE *HELICOBACTER* INDUIT L'EXPRESSION DE L'ONCOPROTÉINE MAFB DANS DES LIGNÉES CELLULAIRES INTESTINALES ET HÉPATIQUES

CHRISTELLE PERE-VEDRENNE^{1,2}, ALICE BUISSONNIERE^{1,2}, JULIEN IZOTTE^{1,2}, ALBAN GIESE³, BRUNO CARDINAUD^{4,5}, CHRISTOPHE GROSSET^{1,6}, FRANCIS MEGRAUD^{1,2}, ARMELLE MENARD^{1,2*}

¹INSERM U1053-UMR BARITON (EX INSERM U853), F33076 BORDEAUX, FRANCE

²UNIVERSITE DE BORDEAUX, CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES HELICOBACTERS ET CAMPYLOBACTERS, F33076 BORDEAUX, FRANCE;
[HTTP://WWW.CNRCH.U-BORDEAUX2.FR/](http://www.cnrch.u-bordeaux2.fr/)

³UNIVERSITE DE BORDEAUX, PLATEFORME D'HISTOLOGIE TBM-CORE, EA2406, HISTOLOGIE ET PATHOLOGIE MOLECULAIRE DES TUMEURS

⁴UNIVERSITE DE BORDEAUX, BIOTHERAPIES DES MALADIES GENETIQUES ET CANCERS, INSERM U1035, F33076 BORDEAUX, FRANCE

⁵BORDEAUX INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE, F33000 BORDEAUX, FRANCE

⁶INSERM U1053 - PHYSIOPATHOLOGIE DU CANCER DU FOIE, F33000 BORDEAUX, FRANCE

La génotoxine CDT de *Helicobacter hepaticus*, via sa sous-unité active CdtB, joue un rôle clé dans l'inflammation et le développement du cancer du foie chez la souris. Cependant, les mécanismes moléculaires associés à l'évolution de cette infection chronique vers le cancer sont mal compris.



L'analyse globale des gènes exprimés différenciellement en réponse à la CdtB de *H. hepaticus* a été effectuée *in vitro* dans les cellules épithéliales intestinales et hépatiques, via l'expression lentivirale de la sous-unité CdtB.

Cette analyse du transcriptome a montré la surexpression du facteur de transcription MAFB. L'expression du gène MAFB en réponse à la CdtB a ensuite été analysée *in vitro* 1) en utilisant des systèmes d'expression lentivirale de la CdtB dans plusieurs types cellulaires et 2) dans des expériences de coculture avec *H. hepaticus* et son mutant isogénique CdtB. L'expression de l'oncoprotéine MafB a été vérifiée ainsi que sa localisation cellulaire.

Ces expériences ont montré une surexpression du gène MAFB en réponse à la CdtB de *H. hepaticus* et *H. pullorum* dans tous les types cellulaires testés. Une forte localisation nucléaire et périnucléaire de MafB a été observée en réponse à la CdtB. MafB a également été détectée dans certains lamellipodes induits par la CdtB à la périphérie de cellules distendues. Tous ces effets étaient dépendants de l'activité DNase de la CdtB. Ces résultats montrent que la sous-unité active CdtB induit la surexpression de l'oncoprotéine MafB, ainsi que sa translocation nucléaire dans les noyaux distendus par la CdtB.

NOUVEAU MODÈLE DE LYMPHOMAGÈNE GASTRIQUE : LA SOURIS TRANSGÉNIQUE APRIL INFECTÉE PAR DES BACTÉRIES DU GENRE *HELICOBACTER*

FLOCH PAULINE¹, IZOTTE JULIEN¹, SIFRE ELODIE¹, COSTET PIERRE², ROUSSEAU BENOIT², GIESE ALBAN³, MEGRAUD FRANCIS¹, DUBUS PIERRE³, HAHNE MICHAEL⁴, LEHOURS PHILIPPE¹.

¹INSERM U1053-UMR BARITON (EX INSERM U853), ²ANIMALERIES UNIVERSITE DE BORDEAUX, ³EA2406, BORDEAUX.

⁴INSTITUT DE GENETIQUE MOLECULAIRE DE MONTPELLIER (IGMM)-UMR5535, UNIVERSITE DE MONTPELLIER.

Nous présentons ici un nouveau modèle de lymphomagénèse gastrique basé sur l'utilisation de souris transgéniques en fonds C57BL6 et BALBc exprimant la forme humaine de la chimiokine APRIL (A Proliferation Inducing Ligand) au niveau des lymphocytes T (Stein *et al.* J Clin Invest 2002). Le choix de ce modèle tient en plusieurs points : 1- APRIL appartient à la famille du TNF et est impliquée dans l'induction et le maintien des réponses B et T. Une augmentation de son expression a été décrite dans des pathologies lymphoïdes et en particulier dans le LGM (Munari *et al.* Blood 2011) ; 2-d'autre part nous avons observé dans un travail précédent que plusieurs membres de la famille du TNF proches d'APRIL comme BAFF ou TACI, un des récepteurs d'APRIL, étaient surexprimés au stade LGM (Floch *et al.* Oncotarget 2015).

Les objectifs de notre projet sont d'une part d'évaluer l'inflammation et l'évolution histologique induites par deux espèces du genre *Helicobacter* (*H. felis* versus *H. pylori*) et d'évaluer si APRIL favorise l'apparition de LGM chez ces souris. Les données présentées ici concernent uniquement les résultats obtenus récemment dans le fond génétique C57BL6.

Trois groupes égaux pour chaque modèle (WT ou Tg APRIL) ont été constitués avec *H. pylori* (souche B47), *H. felis*, ou non infecté. Les souris ont été sacrifiées à 18 mois post-infection. Nous ne présenterons les résultats des analyses histologiques et par cytométrie en flux des infiltrats leucocytaires gastriques. Histologiquement, les souris WT infectées par *H. felis* présentent une inflammation gastrique plus importante que pour *H. pylori*. L'évolution histologique est particulièrement spectaculaire dans les souris Tg APRIL infectées par *H. felis* avec notamment la présence dans 100% des souris, d'infiltrats lymphoïdes massifs faits de cellules B. L'évolution histologique est moins extensive pour *H. pylori* avec néanmoins pour 60% des souris, des infiltrats B de grande taille. Les estomacs des souris non-infectées ne présentent pas de signes d'inflammation. Par cytométrie, les souris WT infectées présentent une infiltration leucocytaire moins importante que les souris Tg APRIL, majoritairement T CD4+ pour *H. pylori*



ou T CD8+ pour *H. felis*. Pour les souris Tg APRIL infectées, les infiltrats leucocytaires sont majoritairement B accompagnés de lymphocytes T majoritairement CD4+. Les lymphocytes B expriment les marqueurs de surface de lymphocytes B de la zone marginale (CD5-, CD21+, IgM+).

Ces résultats en modèle murin confirment l'importance de APRIL dans la genèse du LGM. Une analyse plus approfondie par immuno-histochimie est en cours pour poursuivre la caractérisation des infiltrats. Les sacrifices en fond BALBc seront effectués mi-2016.

GENOMIC VARIATION IN *HELICOBACTER PYLORI* - PAN-GENOME ANALYSIS

BERTHENET E¹, FALUSH D¹, YAHARA K², SHEPPARD S¹ – 1. CLIMB CENTRE, COLLEGE OF MEDICINE, SWANSEA UNIVERSITY – 2. KURUME UNIVERSITY

Introduction :

50% de la population mondiale est infectée par la bactérie *Helicobacter pylori*. Cette bactérie colonisant l'estomac humain est responsable de divers problèmes gastriques tels que gastrites ou ulcères de l'estomac, et est l'une des causes majeures du cancer de l'estomac. Un grand nombre de personnes sont colonisées par cet organisme sans souffrir d'importants symptômes, et beaucoup de questions subsistent sur la raison pour laquelle de sérieux symptômes se déclenchent seulement dans une partie de ces humains infectés.

Matériel et Méthodes :

Notre hypothèse est que ces bactéries extrêmement recombinantes prennent des trajectoires évolutives différentes dans différents hôtes et que certains de ces changements génomiques seraient associés aux cancers de l'estomac. Un pan-genome comprenant tous les gènes présents dans au moins un des génomes séquencés dans la base de données BIGS de l'université Swansea a été créé et utilisé pour étudier les variations des génomes « core » et accessoire. Ces analyses sont menées sur une large collection de souches (n=322) d'origine géographique variée.

Résultats :

Ces études ont permis l'identification de gènes présentant d'intéressantes variations génomiques reliées à l'origine géographique de ces souches de *H. pylori*, qui pourraient faire l'objet d'une étude plus approfondie.

Conclusion:

Les études basées sur le Pan-genome de larges collections de génomes de *H. pylori* permettent de participer à la compréhension des changements survenant dans le génome bactérien et de les relier à certains phénotypes.

ÉTUDE DE LA VOIE DE SIGNALISATION HIPPO/YAP/TAZ EN REPONSE À L'INFECTION PAR *HELICOBACTER PYLORI*

MOLINA-CASTRO, S^{1,2}, GIRAUD, J^{1,2}, STAEDL, C³, BOEUF, H⁴, ABOU-HAMMOUD, A⁴, FERNANDEZ, S^{1,2}, BESSÈDE, E^{1,2}, MÉGRAUD, F^{1,2}, VARON C^{1,2}. ¹INSERM U1053-UMR BARITON (EX INSERM U853) F-33076 BORDEAUX, FRANCE ²LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE, UNIVERSITE DE BORDEAUX F-33076 BORDEAUX, FRANCE ³INSERM, U869 F-33076 BORDEAUX, FRANCE ⁴UMR CNRS 5164 CIRID F-33076 BORDEAUX, FRANCE

La transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) induite par l'infection par la bactérie *Helicobacter pylori*,



est à l'origine de l'émergence de cellules CD44⁺ possédant des propriétés de Cellules Souches Cancéreuses (CSC). La voie de signalisation Hippo a été impliquée dans le contrôle des propriétés de ces CSC et le développement tumoral, et peut être régulée par nombreux signaux, dont les jonctions intercellulaires (E-cadhérine), les complexes de polarité cellulaire (Par/aPKC, Crumbs et Scribble) et quelques récepteurs de surface (CD44). Nous émettons l'hypothèse que la voie Hippo pendant l'infection par *H. pylori*, pourrait être associée à l'EMT et à la génération des cellules aux propriétés de CSC.

Objectif : Etudier l'expression des éléments de la voie Hippo en réponse à *H. pylori* et l'effet du ciblage de la voie dans l'EMT et la population CSC-like induites par l'infection. **Matériels et méthodes :** L'expression des éléments de la voie Hippo (NF2, LATS2, YAP, TAZ et TEAD) et des marqueurs de CSCs gastriques et de l'EMT, a été évaluée sur les cellules épithéliales gastriques non-infectées ou infectées par *H. pylori* (MOI=50, 24h) par RT-qPCR, Western Blot et immunofluorescence. Un inhibiteur pharmacologique de la voie Hippo (inhibiteur de YAP) a été utilisé afin d'en évaluer l'effet sur l'expression de marqueurs de CSC, dans l'induction de l'EMT, et également sur la capacité intrinsèque de ces CSC à former sphères *in vitro*. **Résultats :** Une augmentation des niveaux des ARNm de CD44, YAP et TAZ a été trouvée dans les cellules infectées par *H. pylori*, ainsi que des variations significatives de facteurs de la famille TEAD. Une diminution de l'induction des cellules aux des propriétés de CSC a été trouvé en présence de l'inhibiteur pharmacologique de YAP. **Conclusion :** Nos résultats suggèrent que la voie Hippo pourrait être associée à la réponse induite par *H. pylori* dans les cellules épithéliales gastriques, y compris dans la génération des cellules semblables à CSCs CD44⁺.

-o-o-oOo-o-o-



Nos remerciements à

Nos remerciements à



Société Française de Microbiologie

