

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE SCIENCES
BIOLOGIQUES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE

Profil de résistance des isolats cliniques de *Helicobacter pylori* vis-à-vis de quelques antibiotiques usuels utilisés au Cameroun

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement
Secondaire deuxième grade
Mémoire de D.I.P.E.S II

Par :

AFANDA ALIMA Calixte Sandrine
Licence en Biologie des Organismes Animaux

Sous la direction
Joseph Lebel TAMESSE
Professeur



Année Académique
2015-2016



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

DEDICACE

A mes parents bien aimés

M. AFANDA MANGA LEON et

Mme AFANDA NDONGO CHARLOTTE

REMERCIEMENTS

A l'éternel tout puissant sans qui je n'aurai jamais effectué ce travail

Mes remerciements s'adressent à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la rédaction de cette œuvre, je pense à :

Pr TAMESSE Joseph Lebel, Professeur titulaire à l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I. Je ne sais comment lui dire merci car, il a été pour moi non seulement un père mais aussi mon encadreur. Je lui exprime toute ma gratitude.

Dr KOUTCHEU MABEKU Laure Brigitte, Chargée de Cours à l'Université de Dschang. Elle m'a beaucoup assistée dans la rédaction de mon mémoire et a mis à ma disposition son expertise. Sa confiance permanente et sa rigueur scientifique m'ont été d'un grand secours. Qu'elle trouve à travers ce travail un motif de satisfaction.

Pr SONKE Bonaventure, Professeur titulaire, chef de Département des Sciences Biologiques à l'Ecole Normale Supérieure de l'Université de Yaoundé I, pour ses nombreux conseils.

Dr NANGA, Chargé de Cours à la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de Yaoundé, pour son laboratoire de pharmacie qu'il a mis à ma disposition afin que je puisse bien mener ce travail de recherche.

Mes enseignants de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé en général et ceux du Département des Sciences Biologiques en particulier pour le dévouement dont ils ont fait preuve tout au long de ma formation.

Monsieur **Eyom Bille Bertrand**, pour son soutien et son encadrement tout au long de la réalisation de mes manipulations au laboratoire à la Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I. Je lui exprime toute ma gratitude.

Monsieur **OTTOU FABRICE** pour la contribution morale, intellectuelle, et ses nombreux encouragements.

Monsieur **Atangana**, qui a toujours répondu présent à mes appels.

Mes camarades de laboratoire : **BOBO Manuela, LONMENE Arnaud, NGUACHUENG Carole, NOAH Célestin, WANGNAMOU Marcel, SOUPGUI Franck**, pour leur collaboration dans la réalisation de ce travail.

Mes sœurs et frères bien – aimés : **BELINGA Pélagie, NGONO Yvonne, TSOGO Thérèse, ELLA Bertin, ELE Loïc** merci pour votre soutien moral.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'achèvement de ce travail.

TABLE DE MATIERE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS	ii
TABLE DE MATIERE	iii
RESUME.....	vii
ABSTRACT	vii
LISTE DES ABREVIATIONS	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE.....	4
I.1- Généralité sur <i>Helicobacter pylori</i>	5
I.1.1- Historique de la découverte	5
I.1.2 – Classification de <i>Helicobacter pylori</i>	6
I.1.3 – Caractères généraux	6
I.1.3.1- Structure de <i>Helicobacter pylori</i>	6
I.1.3.2 - Aspect de <i>Helicobacter pylori</i> en culture	7
I.1.3.3 - Exigences de croissance et activités enzymatiques	7
I.1.3.4 - Sensibilité aux antibiotiques	8
I.1 4- <i>Helicobacter pylori</i> et pathologies gastro-duodénales	8
I.1.4 1- Facteurs de pathogénicité d' <i>H. pylori</i>	8
I.1 4.2. <i>Helicobacter. pylori</i> et maladie ulcéreuse gastro-duodénale (UGD).....	9
I.1.4 3- <i>Helicobacter. pylori</i> et lymphome.....	10
I.1.4.4- <i>Helicobacter. pylori</i> et cancer gastrique.....	10
I.2-Epidémiologie de l'infection à <i>H pylori</i>	11

I.2.1- Prévalence de l'infection	11
I.2.2- Voies de transmissions	12
I.2.3-Diagnostic de l'infection à <i>Helicobacter. pylori</i>	13
I.2.3.1 - Méthodes invasives.....	13
I.2.3.2 - Méthodes non invasives.....	14
I.3-Thérapies d'éradication de <i>Helicobacter. pylori</i>	15
I.3.1- Antibiotiques de premier choix	15
I.3.1.1- Métronidazole	16
I.3.1.2- Clarithromycine	16
I.3.1.3- Amoxicilline	16
I.3.1.4- Tétracyclines.....	17
I.3.1.5-Autres antibactériens	17
I.3.2- Schémas thérapeutiques.....	17
I.3.2.1- Traitement de première ligne.....	17
I.3.2.2-Traitement de deuxième ligne	17
I.3.2.3. Traitement de troisième ligne (« Rescue therapy »)	18
I.3.2.4. Traitement non conventionnel	18
I.4- Les antibiotiques.....	19
I.4.1-Définition.....	19
I.4.2- Mode d'action des antibiotiques.....	19
I.4.3- Résistance bactérienne aux antibactériens.....	20
I.4.3.1-Définition.....	20
I.4.3.2-Résistance naturelle ou intrinsèque	20
I.4.3.3-Résistance acquise ou extrinsèque.....	21
I.4.3.4-Mécanismes génétiques : résistance naturelle et résistance acquise.....	21
I.4.3.5- Mécanismes biochimiques de la résistance	22
I.5- Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i>	22

I.5.1- Méthodes de diffusion en milieu solide.....	22
I.5.1.1- Méthodes des disques	22
I.5.1.2- Méthodes des puits	23
I.5.1.3- Méthode de l'E-test	23
I.5.1.4- Méthode de dilution en milieu liquide.....	23
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	24
II.1- Matériel biologique	25
II.1.1- Micro-organismes.....	25
II.2- Equipements et réactifs utilisés	25
II.2.1- Equipements et verreries	25
II.2.1.1- Equipements	25
II.2.1.2- Verrerie.....	25
II.2.2- Réactifs utilisés	25
II.2.2.1- Milieux de culture	25
II.2.2.2. Les antibiotiques.....	26
II.2.2.3. Autres réactifs utilisés	27
II.3- Méthodes	27
II.3.1- Test de Confirmation des isolats <i>H. pylori</i>	27
II.3.1.1- Caractérisation des isolats cliniques.....	27
II.3.1.2- Recherche du cytochrome oxydase	27
II.3.1.3- Recherche de la catalase.....	28
II.3.1.4- Recherche de l'uréase	28
II.3.1.5- Résistance à l'acide nalidixique.....	28
II.3.2- Conservations des isolats cliniques	29
II.4- Etude de la sensibilité des isolats cliniques aux antibiotiques	29
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	32
III.1- Résultats.....	33

III.1.1- Screening de l'activité anti- <i>Helicobacter pylori</i> des antibiotiques utilisés	33
III.1.2- Résistance des isolats cliniques étudiés vis-à-vis des antibiotiques	34
III.1.3- Résistance aux β lactamines.....	34
III.1.4- Résistance aux Aminosides.....	35
III.1.5- Résistance aux Tétracyclines	36
III.1.6- Résistance aux Macrolides.....	36
III.1.7- Résistance aux Quinolones	37
III.1.8- Résistance aux autres familles d'antibiotiques testés	38
III.1.9- Spectre d'activité des antibiotiques testés.....	39
III.1.10- Sensibilité des isolats cliniques utilisés	40
III.2- Discussion	41
CHAPITRE IV: FICHE PEDAGOGIQUE.....	44
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55
ANNEXES	62

ABSTRACT

The infection with *Helicobacter pylori* figure among the bacterial infections most widespread in the world. This bacterium plays a major role in the genesis of the lesions of the gastric mucous membrane whose is at the origin of gastroduodenals pathologies such as the ulcers gastroduodenals, the MALT lymphomas, gastric adenocarcinome etc... Today, the traditional therapeutic diagrams were adopted at the time of the conference of consensus and are selected according to the sensibility of the stocks of *H. pylori* to antibiotics usually used, of the facilities of observance and the undesirable side effects.

The aims of this work is to establish a profile of resistance of the clinical isolates of *H.pylori* with respect to some antibiotics in Cameroon and to characterize the isolates according to their clinical susceptibility.

The method of diffusion on solid medium was used to carry out the susceptibility of the clinical isolates towards antibiotics used in Cameroon in order to propose the antibiotherapy, prelude to best dealt of the patients suffering from pathologies gastroduodenals. Then, the character of resistance have been given for each family of antibiotics used.

The results obtained reveal that:

The clinical isolates are strongly resistant to antibiotics of the beta-lactam antibiotics (100%) family's except for the imipenème for which 40% of the isolates appeared sensitive. Concerning the families of the aminosides and macrolides, resistances of 50%, 32, 5% and 97, 5% were obtained respectively towards the nétilmicine, clarithromycine and the erythromycine. The antibiotics's family of the tétracyclines are the only antibiotics for which none resistance was obtained, as for the quinolones antibiotics families, resistance of about 0% and 12, 5% were obtained respectively towards the levofloxacin and ciprofloxacin.

In addition, resistances of 100% and 5% were recorded respectively in front of fosfomycines, glycopeptides, imidazols, lincosamides and the acid fusidic.

The discovery of resistances makes it possible to define new therapeutic strategies for the treatment in sight of eradication of the infection by *H. pylori*.

Key words: *Helicobacter pylori*, antibiotics, antibiotherapy, resistance, sensibility.

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN_r : Acide ribonucléique ribosomal

ARN_t : Acide ribonucléique transférase

CO₂ : Dioxyde de Carbone

CagA: Cytotoxin- Associated Gene A

CagB: Cytotoxin-Associated Gene B

ELISA: Enzym Linked Immuno Sorbent Assay

EUCAST: European Commetee on Antimicrobial Susceptibility Testing

GyrA : Gène gyrase A

GyrB : Gène gyrase B

H.pylori : *Helicobacter pylori*

H₂S : sulfure d'hydrogène

HCO³⁻ : Hydrogénobarbonate

HLD : Hôpital de Laquintinie de Douala

HLOS: *Helicobacter* Like Organisms

IgG: Immunoglobuline gamma

IL-6 : Interleukine-6

IL-8 : Interleukine-8

IPP : Inhibiteurs de pompes à protons

LPS: Lipopolysaccharide

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

NIH : National Institute of Health

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PCR: Polymerase Chain Reaction

PLP : Protéine Liant Pénicilline

TSI : Tripple Sugar Ironagar

UGD : Ulcère gastroduodéal

VacA: Vacuolating Cytotoxin Agent A

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Morphologie d' <i>H. pylori</i> à l'examen microscopique (objectif 100 à immersion).....	6
Figure 2: Une culture d' <i>Helicobacter pylori</i> après trois jours d'incubation.	7
Figure 3: Répartition géographique de la prévalence (% de la population infectée) de l'infection à <i>H. pylori</i> dans le monde.	11
Figure 4: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des β lactamines.	35
Figure 5: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Aminosides.....	35
Figure 6 : Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Tétracyclines.	36
Figure 7: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Macrolides.	37
Figure 8: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Quinolones.	38
Figure 9: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques des autres familles d'antibiotiques.	39
Figure 10: Spectre d'activité des antibiotiques vis-à-vis des isolats de <i>Helicobacter pylori</i> . ..	40
Figure 11: Sensibilité des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques.....	41

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Famille et mode d'action des antibiotiques	19
Tableau 2 : Les différents antibiotiques utilisés.....	26
Tableau 3: Néphélomètre standard de Mc Farland (Hang, 1999)	30
Tableau 4: Susceptibilité des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques utilisés	33

INTRODUCTION

Helicobacter pylori est une bactérie gram négative en forme de spirochète, découverte il y a plusieurs années dans les estomacs de cadavres humains et d'autres mammifères (Marshall *et al.* 1986). Bien que l'on n'ait réussi à cultiver ce micro-organisme qu'en 1982, ses manifestations ont été rapportées dans la littérature scientifique depuis plus de 100 ans (Marshall *et al.* 1986). Il est maintenant bien établi que *H. pylori* est un micro-organisme pathogène de la muqueuse gastrique. Cette bactérie est incriminée dans la gastrite aiguë et chronique et dans la maladie ulcéreuse peptique. *H. pylori* joue un rôle étiologique principal dans la gastrite chronique à prédominance antrale. *H. pylori* est la seule espèce bactérienne reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant cancérogène pour l'Homme.

Les infections par *H. pylori* sont universellement répandues. Elles constituent un problème important de santé publique en raison de leur prévalence, du coût généré et d'une importante morbi-mortalité. Plus de 50% de la population mondiale est infectée par *H. pylori* mais seulement une fraction de la population infectée développe la maladie (Couturier, 2013). Cette prévalence varie selon les pays et leurs niveaux de développement. Elle varie entre 80 et 95% dans les pays en voie de développement tandis qu'elle se situe entre 15 à 30% pour les pays industrialisés (Malfertheiner *et al.* 2012). Plusieurs études épidémiologiques montrent une diminution de la prévalence de l'infection à *H. pylori* dans les pays industrialisés et une variabilité de la prévalence dans les ethnies d'un même pays (Wex *et al.* 2011 ; Lamarque, 2003).

Le diagnostic de l'infection à *H. pylori* se base sur une large gamme de méthodes regroupées selon qu'elles soient invasives ou non (Ricci *et al.* 2007). Les techniques invasives pratiquées sur des biopsies obtenues par fibroscopie digestive comprennent la culture, l'examen histologique, le test rapide à l'uréase, l'examen direct et l'amplification génique. Les techniques non invasives sont au nombre de trois: le test respiratoire à l'urée, la recherche de l'antigène de *H. pylori* dans les selles et la sérologie. Les tests invasifs ont été les premiers à être utilisés pour son diagnostic, et le diagnostic histologique fut le premier à être appliqué. Ce dernier reste le plus utilisé surtout dans les pays où l'endoscopie est pratiquée. C'est ainsi que les gastro-entérologues ont la tradition de collaborer avec les pathologistes plus qu'avec les microbiologistes (Kang *et al.* 2012).

La mise au point des traitements curatifs (Lamouliatte *et al.* 2000) a bouleversé l'histoire naturelle de la maladie ulcéreuse gastroduodénale, devenue une maladie infectieuse que l'on guérit dans la majorité des cas par l'administration en une semaine d'un traitement antibiotique et antisécrétoire (Conférence de Consensus, 1996 ; Malfertheiner *et al.* 2002). Cependant ces traitements bien codifiés dans les années 1990 (Conférence de Consensus, 1996 ; Malfertheiner *et al.* 2002), sont devenus moins efficaces. Comme cela est classique en pathologie infectieuse, le développement des résistances aux antibiotiques apparaît comme une des principales causes de ces échecs, justifiant des recommandations nouvelles en matière de stratégie diagnostique, thérapeutique (Malfertheiner *et al.* 2002) et le développement de la recherche. C'est ainsi que divers schémas thérapeutiques ont été proposés afin d'éradiquer la bactérie. A ce titre une trithérapie comprenant un inhibiteur de la pompe à protons à l'exemple de l'oméprazole et deux de ces antibiotiques (clarithromycine + amoxicilline ou clarithromycine + métronidazole) a été recommandée par le consensus de 1995 canadien. Cependant, dans ces conditions, la bactérie n'est éradiquée que dans environ 70 % de cas (Graham *et al.* 2007). Face à cette situation, une quadri-thérapie (10 à 14 jours) incluant le Bismuth : IPP + Sels de Bismuth + tétracycline + métronidazole a été proposée comme traitement de seconde ligne avec un taux d'éradication un peu plus élevé de l'ordre de 85% (Fischbach *et al.* 2004). Des thérapies incluant les nouvelles générations de fluoroquinolones (lévofloxacine, norfloxacine), généralement associées à l'amoxicilline et un IPP ont également vu le jour.

Les principales causes de l'échec du traitement sont : le défaut d'observance médicale du patient liée à la lourdeur des thérapies et aux effets secondaires des antibiotiques et surtout à l'émergence de la résistance de ces souches bactériennes aux antibiotiques (Courillon-Mallet, 2005). En effet, des cas de résistance de *H. pylori* ont été décrits pour tous les antibiotiques proposés pour l'éradication (Vakil & Mégraud 2007). Le taux de résistance aux antibiotiques est beaucoup plus élevé en cas d'échec d'éradication (Agudo *et al.*, 2010) et est proportionnel au nombre de tentatives infructueuses (Miendje Deyi *et al.* 2011). C'est ainsi que l'adaptation de la thérapie en fonction de l'antibiogramme (Traitement de 3ème ligne « Rescue therapy ») est indispensable en cas d'échec d'éradication. Cette stratégie thérapeutique basée sur les tests de sensibilité serait plus efficace, préserverait le capital thérapeutique, limiterait la sélection des mutants résistants et serait probablement moins coûteuse (Malfertheiner *et al.* 2007 ; Graham & Fischbach 2010).

Au Cameroun la prévalence de la résistance des souches *H. pylori* locale semble ne pas être parfaitement élucidée. Seuls quelques travaux faisant état d'une prévalence de l'ordre de 95,5% a été reporté par Ndip *et al.* en 2008. D'où l'intérêt suscité à cette étude portant sur l'établissement du profil de résistance des isolats cliniques de *H. pylori* vis-à-vis des antibiotiques usuels au Cameroun afin d'améliorer la prise en charge de cette affection au Cameroun.

Le présent travail voudrait établir le profil de résistance des isolats cliniques de *H. pylori* vis-à-vis de quelques antibiotiques au Cameroun.

Comme objectifs spécifiques, nous nous proposons :

- d'évaluer la susceptibilité de 40 isolats cliniques de *H. pylori* vis-à-vis de quelques antibiotiques usuels au Cameroun ;
- de déterminer le caractère de résistance de ces isolats et d'en déduire leur profil de résistance.

Ce mémoire s'articule autour de 4 chapitres dont le chapitre I est consacré à la revue de littérature, le chapitre II aux matériel et méthodes, le chapitre III à la présentation des résultats et à la discussion, et le chapitre IV à l'intérêt didactique et pédagogique. L'ensemble des chapitres ainsi présentés ont été précédés par une introduction et se termine par une conclusion.

CHAPITRE I: REVUE DE LA LITTERATURE

I.1- Généralité sur *Helicobacter pylori*

I.1.1- Historique de la découverte

On a longtemps cru que l'estomac était stérile en raison de l'acidité ambiante. Pourtant, la surface du tractus digestif, et plus particulièrement celle de l'estomac, tant chez l'Homme que chez beaucoup d'animaux, est colonisée par des micro-organismes hautement spécialisés (Rochard, 2000). Cette découverte, exploitée depuis seulement une vingtaine d'années par la médecine humaine, n'est cependant pas récente. Elle remonte à la fin du 19^{ème} siècle ; des bactéries spiralées ont été observées et décrites pour la première fois chez les carnivores domestiques par Rappin en 1881 et Bizzozero en 1893, puis Salomon en 1898 cités par Eleko (2003). En 1906, un médecin allemand, Krienitz, observe des bactéries spiralées de diverses morphologies dans l'estomac d'un malade atteint de cancer (Ciacci & Mazzacca, 2006). Durant la première moitié du 20^{ème} siècle, quelques publications y feront référence, dont Weber *et al.* en 1958, jusqu'à ce que, en 1983, un anatomopathologiste australien, Warren, découvre une bactérie spiralée en association avec des lésions de gastrite chez l'Homme, et que Marshall en 1983, en établisse la première culture. Cette découverte, ou redécouverte, fut révolutionnaire, car elle a conduit à admettre que l'estomac, jusqu'alors considéré comme peu propice à la multiplication bactérienne compte tenu de son pH acide, pouvait être le siège d'une croissance bactérienne (Rochard, 2000). Ainsi, *Helicobacter pylori* fut d'abord classée avec les *Campylobacters* en raison de ses caractères cultureux, morphologiques, métaboliques et écologiques, et fut successivement dénommée *Campylobacter pyloridis* puis *Campylobacter pylori* (Eleko, 2003). Les nouvelles techniques de biologie moléculaire, notamment la comparaison des ARN ribosomiaux et la Polymerase Chain Reaction (PCR) ont mis à jour les particularités génomiques de cette bactérie. Elle fut donc définitivement identifiée comme un nouveau germe et appelée *Helicobacter pylori* (Mohammadi, 2000). Le genre *Helicobacter* a ainsi été créé en 1989 avec *Helicobacter pylori*, la première cultivée, issue de la muqueuse gastrique de l'homme, et *Helicobacter mustelea*, issue de la muqueuse gastrique du furet (Eleko, 2003). Ce genre fait partie d'un grand groupe éloigné des autres bacilles gram négatifs et qui comporte plusieurs genres: *Campylobacter*, *Wolinella* et *Arcobacter* (Rochard, 2000). Les bactéries de ce groupe ont en commun d'avoir une morphologie spiralée ou hélicoïdale et d'être adaptées au milieu particulier qu'est le mucus gastrique (Ciacci & Mazzacca 2006).

I.1.2 – Classification de *Helicobacter pylori*

Selon la deuxième édition du manuel de Berge de la systématique bactérienne de 2001, le genre *Helicobacter* appartient à la famille des *Helicobacteraceae*, comme le montre l'arbre phylogénique suivante (Prescott *et al.* 2003)

- **Domaine** des *Eubacteria*
- **Phylum** des *Proteobacteria*
- **Classe** des *Epsilon-proteobacteria*
- **Ordre** des *Campylobacterales*
- **Famille** des *Helicobacteraceae*
- **Genre** *Helicobacter*.
- **Espèce** *Helicobacter pylori*

I.1.3 – Caractères généraux

I.1.3.1- Structure de *Helicobacter pylori*

Les bactéries du genre *Helicobacter* sont gram-négatives, hélicoïdales, incurvées ou droites, de 0,5 μm à 1 μm de large sur 2,5 μm à 5 μm de long, aux extrémités arrondies; elles sont mobiles grâce à de multiples flagelles engainées qui peuvent être uni-, bipolaires ou même latérales (Eleko, 2003).

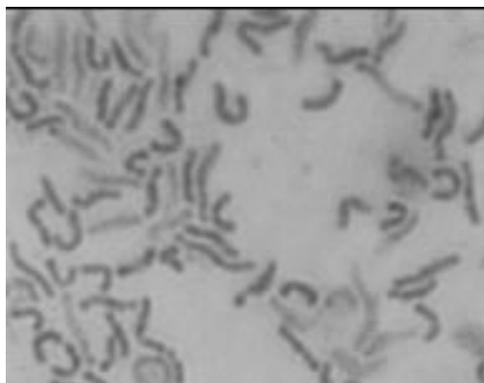


Figure 1: Morphologie d'*H. pylori* à l'examen microscopique (objectif 100 à immersion) (Do-regoseyawi *et al.* 2001).

H. pylori est plus petit que les autres Hélicobactéries : en effet, il mesure de 3 à 5 μm de long sur 0,3 à 0,5 μm de large; de forme spiralée, certains auteurs ont remarqué que sa morphologie, homogène au niveau des prélèvements, peut être très hétérogène en culture avec des formes bacillaires, en U ou circulaires (Donzé, 2005). Lorsque le milieu s'appauvrit, des formes coccoïdes apparaissent, correspondant à des formes de dégénérescence, bien que

certain auteurs aient supposé qu'il existe des formes coccoïdes de résistance; cette question est controversée (Mc nulty & Wyatt 1999).

I.1.3.2 - Aspect de *Helicobacter pylori* en culture

Les colonies d'*H. pylori* sont de petite taille, de 1 à 2mm de diamètre, non pigmentées, translucides et isolées (figure 2) (Liassine, 2005).



Figure 2: Une culture d' *Helicobacter pylori* après trois jours d'incubation. (Mcnulty & Wyatt 1999). De même aspect, les colonies des autres hélicobactéries s'étendent parfois en nappe (Rochard, 2000).

I.1.3.3 - Exigences de croissance et activités enzymatiques

La culture des hélicobactéries est lente et difficile (Bontems & Cadranel 1998). Les hélicobactéries nécessitent une atmosphère micro aérophile (10 % de CO₂, 4 à 5 % d'O₂ et le 85 % de N₂). Elles ne poussent pas en milieu aérobie. La température optimale est de 37° C, elle est possible à 30° C, mais pas à 25° C. À 42° C, la croissance est variable (Tiwari *et al*, 2006). Elles se développent sur des milieux variés, enrichis en sang ou en sérum.

H. pylori est une bactérie asaccharolytique bien que certains travaux laissent supposer qu'elle pourrait utiliser faiblement le glucose par la voie des pentoses. Les colonies ne deviennent visibles qu'en 3 à 5 jours (Baldwin *et al*, 2006).

Les Hélicobactéries sont catalases, oxydases, phosphatases alcalines et surtout uréases positives: en effet, elles possèdent une uréase puissante qui conditionne la survie en pH acide et la réussite de la colonisation dans l'environnement gastrique (Rochard, 2000). Elles ne réduisent pas le nitrate, n'hydrolysent pas l'hippurate et l'indoxyl acétate, et ne produisent pas d'H₂S sur TSI (Triple Sugar Ironagar).

I.1.3.4 - Sensibilité aux antibiotiques

Les Germes HLOs et *H. pylori* sont sensibles à plusieurs antibiotiques: pénicilline, ampicilline, amoxicilline, érythromycine, gentamicine, kanamycine, rifampicine, tétracycline (Rochard, 2000).

Ces bactéries ne sont naturellement résistantes qu'à quelques antibiotiques: vancomycine, sulfonamide et triméthoprime. La résistance à l'acide nalidixique, à la céfalotine au métronidazole et à la polymyxine est variable. *H. pylori* devient rapidement résistant au métronidazole et à la clarithromycine si ces agents sont administrés seuls. Mais reste sensible aux agents actifs dans la lumière digestive tels que l'amoxicilline, les tétracyclines et le bismuth (Lehours & Megraud 2007).

I.1 4-Helicobacter pylori et pathologies gastro-duodénales

I.1.4 1- Facteurs de pathogénicité d'*H. pylori*

Le pouvoir pathogène de *H. pylori* réside dans son aptitude à coloniser la muqueuse gastrique, à persister dans l'estomac en échappant aux mécanismes de défense de l'hôte et, enfin, dans sa capacité à induire les lésions de la muqueuse gastrique. La place d'*H. pylori* dans l'ulcérogénèse est encore mal connue. Deux mécanismes pourraient intervenir (Josenhans *et al.* 2007) :

- un mécanisme direct d'agression de la muqueuse gastrique faisant intervenir les propriétés cytotoxiques de la bactérie et son effet promoteur sur l'inflammation ;
- une action indirecte d'augmentation de la sécrétion gastrique par le biais d'une dysrégulation des mécanismes neuro-hormonaux.

- **Adhérence** : l'adhérence semble être un facteur important d'agression pour la muqueuse gastrique. Toutes les données témoignent du rôle important de l'adhérence dans la pathogénie associée à *H. pylori*, permettant la sécrétion de substances toxiques dans l'environnement immédiat des cellules et favorisant leur action (Lochhead & Elomar 2007).

- **Enzymes** : on a identifié des enzymes qui manifestent pour la muqueuse gastrique des propriétés toxiques directes: certaines souches de *H. pylori* synthétisent en effet des phospholipases (A2 et C), et une hémolysine, qui pourraient altérer l'intégrité des cellules épithéliales. L'uréase peut aussi être considérée comme un facteur direct de pathogénicité (Lochhead & Elomar 2007).

- **Cytotoxines** : une cytotoxine, protéine codée par un gène appelé *vacA*, agit sur les cellules à mucus, entre autre par inhibition de l'exocytose. Les cellules libèrent alors un mucus

non complètement élaboré, moins épais, moins hydrophobe, si bien qu'il ne peut plus remplir correctement ses fonctions protectrices de la muqueuse et l'acidité du suc gastrique amplifie alors les lésions (Lochhead & Elomar 2007).

- **Ilot de pathogénicité Cag** : la région Cag, détermine la plus grande virulence des souches. Elle correspond à une fraction génomique de la bactérie contenant une vingtaine de gènes dont 3 ont été caractérisés: le gène CagA, le gène CagB et le gène CagC. Par rapport aux sujets infectés par les souches CagA (-), les patients infectés par les souches CagA(+) présentent une synthèse augmentée d'IL-6 et d'IL-8, une inflammation plus importante au niveau de la muqueuse gastrique pouvant accélérer l'évolution vers l'atrophie, une plus grande probabilité d'avoir un ulcère, d'où leur qualification de « souches ulcérogènes », et semble-t-il une probabilité plus grande de développer un carcinome gastrique (Lochhead & Elomar 2007).

- **Lipopolysaccharide** : différentes études montrent que le LPS de *H. pylori* possède des propriétés biologiques atypiques qui permettent cependant de lui attribuer un rôle important dans la pathogénie (Hoffelner *et al.* 2007). Des études menées plus récemment montrent que le LPS de certaines souches de *H. pylori* possèdent une structure identique à celle des antigènes des groupes sanguins Lewis x et Lewis y. Les patients infectés par ces souches développent des anticorps circulants dirigés contre ces antigènes. Les antigènes Lewis x et Lewis y étant largement présents à la surface des cellules pariétales chez l'homme (antigènes normalement exprimés par la pompe H⁺/K⁺ ATPase, pompe à protons), il est probable qu'une réaction auto-immune dirigée contre ces antigènes soit à l'origine d'une destruction des cellules pariétales et de l'évolution de l'infection vers l'atrophie gastrique (Xiao *et al.* 2007).

- **Activation des neutrophiles** : les souches d'*H. pylori* sont capables d'activer les neutrophiles, cellules immunitaires impliquées surtout dans la première phase de l'inflammation. Cette propriété est exprimée plus fréquemment et d'une manière plus intense par les souches provenant de patients ulcéreux. La nature des produits responsables de cette stimulation n'est pas encore définie (Zumkeller *et al.* 2007).

I.1 4.2. *Helicobacter pylori* et maladie ulcéreuse gastro-duodénale (UGD)

En 1983 a été mise en évidence, au niveau de la muqueuse gastrique atrophiée de la gastrite chronique de type B, une bactérie spiralée appelée *Helicobacter pylori*. On la retrouve dans l'estomac (antre, fundus, liquide gastrique) et dans les zones de métaplasie

gastrique quel que soit leur site (duodénum, œsophage, diverticule de Meckel, rectum) (Duché, 1992). L'infection à *H. pylori* est une cause majeure de développement d'ulcère duodéal chez l'adulte et l'enfant (NIH Consensus conférence, 1994). C'est un facteur de retard de cicatrisation et de récurrence de l'ulcère (Cadranel & Gottrand 2003). La prévalence de cette infection est de 11 à 75 % pour l'ulcère gastrique et de 33 % à 100% des cas pour l'ulcère duodéal (Hang *et al.* 1999).

Plusieurs mécanismes d'agression de la muqueuse gastrique par ce germe sont retenus :

- altération des glycoprotéines constitutives du mucus ;
- effets cytotoxiques directs par production d'ammoniaque qui faciliteraient la rétro-diffusion des ions H^+ ;
- activation du système de complément *in vivo* qui pourrait être responsable de l'intense réaction.

I.1.4 3-*Helicobacter pylori* et lymphome

L' *Helicobacter pylori* entraîne une prolifération lympho-épithéliale de la muqueuse gastrique, celle-ci étant normalement dépourvue de follicule lymphoïde et évoque la phase d'initiation du lymphome gastrique de type M.A.L.T. (Mucosæ Associated Lymphoid Tissue) à cellule B de bas grade de malignité. Par ailleurs, l'éradication de l'*H. pylori* entraînerait une régression du lymphome type MALT de bas grade de malignité à cellule B dans 90 à 100 des cas (Lamoliatte, 1994).

I.1.4.4-*Helicobacter pylori* et cancer gastrique

L'existence d'un lien entre l'infection par l'*H. pylori* et la survenue d'un cancer de l'estomac est possible comme témoigne l'existence d'une association significative entre la présence des anticorps anti *H. pylori* et l'apparition d'un cancer gastrique. Ainsi, le risque relatif de survenue d'un cancer gastrique dans les populations infectées par *H. pylori* est de 6 et le risque de développer un cancer gastrique est élevé d'autant plus que l'infection à *H. pylori* est ancienne. En plus, *H. pylori* provoque une diminution du taux d'acide ascorbique, une hypochlorhydrie favorisant la pullulation microbienne et par conséquent la formation des nitrosamines, ensemble de facteurs incriminés dans la genèse du cancer gastrique (Dobrilla & Benvutti 1995).

I.2-Epidémiologie de l'infection à *H. pylori*

I.2.1- Prévalence de l'infection

Helicobacter pylori infecte 20 à 90 % de la population humaine adulte (Husson et Mignon, 2001). Comme beaucoup d'infection, celle à *H. pylori* est très liée au niveau socio-économique de la population considérée. L'infection est extrêmement fréquente dans les pays en voie de développement, avec une prévalence de l'ordre de 80 à 90 % (virtuellement presque tous les adultes sont infectés) et dans les couches les plus pauvres des pays développés (figure 4). Dans ces populations, l'infection est acquise à un âge plus précoce que dans les nations occidentales industrialisées (Rochard, 2000). Dans les pays développés, la prévalence est presque nulle dans l'enfance et atteint 40 à 50% après 50 ans (Deslick, 2006); elle dépasse 50% de la population générale dans les tranches d'âge supérieure à 60 ans. Le taux d'incidence annuel est de 0,3 à 1 personne-année. La prévalence actuelle en Europe pour les sujets de 21 à 30 ans peut dépasser la valeur de 70 % et montre un net gradient décroissant Est -Ouest. En France, elle est de l'ordre de 15% à 20 ans (Delport & W.Van Der Merwe, 2007), la prévalence tout âge confondu étant de 20 à 30%; elle a été mesurée à 45% dans un échantillon de consultants pour symptomatologie digestive. Chez l'homme, l'infection semble aussi fréquente chez les sujets masculins que féminins (Rochard, 2000).

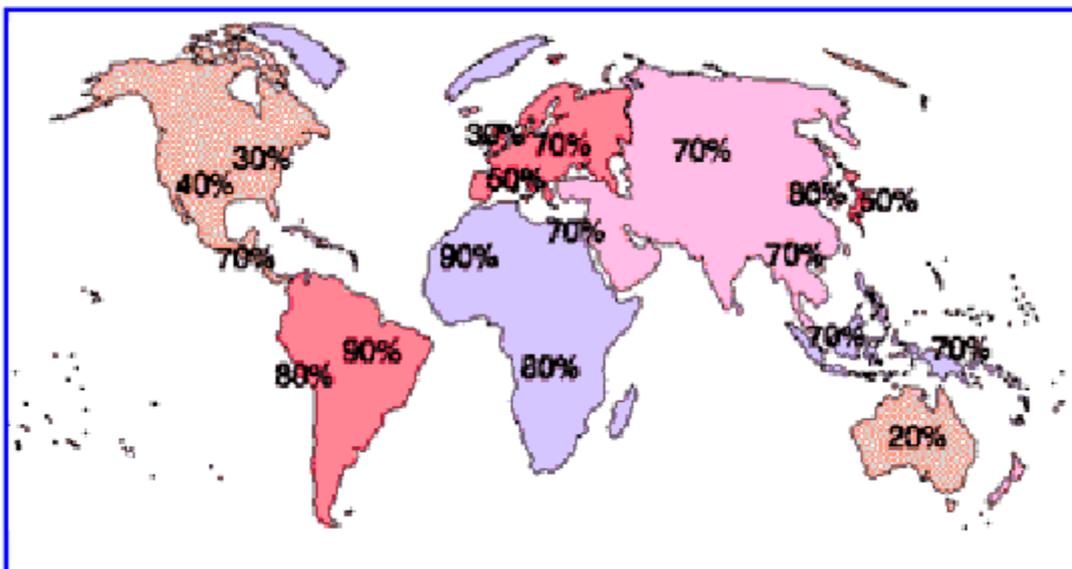


Figure 3: Répartition géographique de la prévalence (% de la population infectée) de l'infection à *H. pylori* dans le monde. (extrait de WWW.helicobacter.com/h-epidemiology.html).

I.2.2- Voies de transmissions

L'histoire naturelle de l'infection à *H. pylori* chez l'homme est encore mal connue. L'infection est probablement contractée à la faveur de l'ingestion de la bactérie (Korwin, 2007).

- **Transmission interhumaine d'*H. pylori***

Le mode de transmission de l'infection est encore mal élucidé (Malaty, 2006).

- **Transmission à partir de l'environnement: arguments pour la voie fécale-orale**

Elle est peu probable compte tenu de la grande fragilité du germe (Rochard, 2000). L'eau, comme les légumes crus, seraient en fait contaminée par des selles humaines (Moreno et al, 2007). En effet, *H. pylori* est éliminé dans les selles: alors qu'on pensait que *H. pylori* était détruit par les sels biliaires et ne pouvait pas survivre à la compétition des nombreuses bactéries de la flore fécale, ce germe est détecté dans les selles par PCR avec une bonne sensibilité (Rochard, 2000). Il a été récemment cultivé à partir des fèces. Ceci dit, il est très difficile de le retrouver sous forme cultivable. Des formes de survie (viabiles mais non cultivables) éliminées dans l'environnement existent vraisemblablement, se transformant en formes «normales» en atteignant l'estomac (Megraud, 2003).

- **Transmission directe interhumaine: arguments pour la voie orale-orale**

Il y a également des arguments pour la voie orale-orale. La pré mastication des aliments par la mère est un facteur de risque pour les enfants (Bontems & Cadranel 1998).

H. pylori pouvant survivre un certain temps dans le liquide gastrique, une transmission est donc possible en cas de vomissements. S'il y a régurgitation, la cavité buccale est susceptible d'être colonisée transitoirement (Delport & W.Van.DerMerwe 2007). La tendance est à penser que la contamination dans les pays développés se ferait surtout par voie orale-orale, alors qu'elle se ferait surtout par voie fécale-orale dans les pays en voie de développement (Rochard, 2000).

- **L'infection à *H. pylori* : une infection nosocomiale**

En dehors des modes de transmission possibles dans la communauté, il existe un endroit spécial où la transmission est possible: ce sont les salles d'endoscopie et ce risque concerne à la fois les patients et les gastro-entérologues (Recordati, 2007). En effet, le caractère infectant du liquide gastrique entraîne un risque de contamination lors de la manipulation de matériels souillés (sondes naso-gastriques, sondes à pH, endoscopes...) (Rochard, 2000). Il a été montré que la prévalence de l'infection était significativement plus

élevée chez les gastro-entérologues que dans la population générale. La transmission de patient à patient à cause d'endoscopes contaminés est rare mais possible.

▪ **Infection à *H. pylori*: zoonose potentielle**

Même si quelques réservoirs animaux ont été décrits chez le singe et le chat, il est habituellement reconnu que la transmission de l'infection est essentiellement, sinon exclusivement, interhumaine (Rochard, 2000). Les relations des *Helicobacters* avec l'environnement (habitat, conditions de survie et de développement, acquisition de l'infection...) font l'objet de nombreuses études chez l'animal (Rochard, 2000). En effet, la manière dont cette infection est transmise chez les carnivores n'est pas encore clarifiée.

I.2.3-Diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori*

On distingue:

- Des méthodes de diagnostic utilisées pour d'autres bactéries pathogènes: la sérologie, l'examen microscopique (histologie ou culture), la culture et l'amplification génique (PCR)
- Des méthodes spécifiques de *H. pylori* basées sur la production abondante d'une uréase par cette bactérie: le test respiratoire à l'urée, la recherche directe de l'uréase sur biopsie gastrique (Ricci *et al.*, 2007).

I.2.3.1 - Méthodes invasives

Les méthodes invasives sont utilisables uniquement par le spécialiste, car elles nécessitent une endoscopie à la faveur de laquelle on réalise le prélèvement de biopsies de muqueuse gastrique antrale (à environ 2 cm du pylore) et éventuellement fundique. Il est souhaitable d'obtenir une biopsie pour chaque test à effectuer. Ceux sont actuellement les méthodes de diagnostic les plus habituelles (Rochard, 2000).

- Test à l'uréase (Ricci *et al.*, 2007).
- Examen anatomopathologique (Petrenkiene *et al.* 2004).
- Examen bactériologique standard appelée méthode de référence (Ricci *et al.* 2007).
- Amplification génique (Recordati, 2007)
- Méthodes utilisant le liquide gastrique (Rochard, 2000).

➤ **Endoscopie et biopsie**

Lorsque les patients présentent des symptômes digestifs, on peut faire la recherche de *H. pylori* par endoscopie haute puis on pratiquera une biopsie. L'endoscopie permet de mettre en évidence, dans le cas de l'infection à *H. pylori*, la présence d'une gastrite nodulaire (présence de nodules de l'antra surtout chez l'enfant) (Bujanover *et al.* 1990) qui s'associe

dans la majorité des cas à la présence de follicules lymphoïdes à l'examen anatomopathologique (Prieto *et al.* 1992).

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 les analyses histologiques et bactériologiques car les lésions pourraient être hétérogènes dans leur répartition et leur intensité. On pense aussi que l'endoscopie serait nécessaire après le traitement pour contrôler l'évolution de la gastrite histologique. Le diagnostic est rendu possible lors de l'examen anatomopathologique, à cause de la localisation et la morphologie particulière de *H. pylori*, les colorations permettant de visualiser les bactéries au niveau du mucus gastrique, de l'épithélium de surface ou des cryptes.

➤ **Test rapide à l'urée**

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 *H. pylori*, même s'il n'a pas disparu, ne sera pas détecté par cette méthode.

L'amplification génique permet de mettre en évidence des fragments d'ADN de *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 tendance actuelle est telle qu'on ne devrait plus se fier à un seul test pour faire le diagnostic de l'*H. pylori* mais plutôt à la combinaison de 2 tests si cela est possible (Vaira *et al.* 2000). Le choix des tests dépend des conditions cliniques et des moyens disponibles dans le milieu.

I.2.3.2 - Méthodes non invasives

- Sérologie (Gill *et al.* 2007) ;
- test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13 (Breath Test) (Ricci *et al.* 2007) ;
- méthode utilisant la salive (Ricci *et al.* 2007).

➤ La sérologie

La détection d'anticorps contre l' *H. pylori* (la technique la plus utilisée est l'Elisa de type IgG) permet le diagnostic d'infection à *H. pylori* avec une sensibilité et une spécificité de l'ordre de 85 à 95% (Gosciniak *et al.* 1993; Megraud et Broutet, 2000; Hisada *et al.* 2001). Elle est avantageuse parce qu'elle permet de diagnostiquer plusieurs personnes, rapidement et à coûts réduits. De plus, elle a l'avantage de ne pas être trop invasive en comparaison à la biopsie par endoscopie (Li *et al.* 1996; Samuels *et al.* 2000). Elle est la méthode la plus recommandée pour un test initial non seulement parce qu'elle est non-invasive mais aussi parce qu'elle est précise, moins dispendieuse et reproductible.

La sérologie est la technique la plus indiquée pour les études épidémiologiques, surtout la trousse utilisant des antigènes purifiés reconnus pour leur sensibilité et leur spécificité.

➤ Le test respiratoire à l'urée marquée ou "urea breath tests C-13"

Ce test est basé sur l'hydrolyse de l'urée marquée rendue possible par la quantité d'uréase produite par l'*Helicobacter pylori*. Une hydrolyse rapide produit du CO₂ marqué qui est absorbé puis transmis aux poumons et rejeté par expiration. On se base donc sur la détection des métabolites et l'hydrolyse de l'urée dans la respiration. Ce test permet une estimation semi-quantitative de l'infection.

La spécificité et la sensibilité de ce test sont proches de 95% (Vandenplas *et al.*, 1992). L'innocuité de ce test permet de le répéter à volonté et donc de l'utiliser pour le dépistage et le suivi des sujets infectés après traitement. Il permet en effet de confirmer l'éradication du germe ou, au contraire, la persistance de l'infection, et d'éviter ainsi une endoscopie de contrôle qui est invasive (Logan *et al.*, 1998).

I.3-Thérapies d'éradication de *Helicobacter pylori*

I.3.1- Antibiotiques de premier choix

Helicobacter pylori est sensible in vitro à de nombreux antibactériens ; néanmoins peu sont efficaces pour son éradication in vivo. Les principales causes d'échec de traitement (absence d'éradication de *H. pylori* de la muqueuse gastrique, persistance des lésions de gastrites) sont la résistance aux antibiotiques et le non-respect des prescriptions thérapeutiques. 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*. Les caractéristiques optimales d'une molécule anti-*H. pylori* sont (Vakil & Mégraud 2007) :

- bonne activité in vitro ;
- forte concentration au niveau du suc gastrique ;
- activité par voie endoluminale et systémique ;
- stabilité sur des gammes étendues de pH (1 à 7) ;
- bonne tolérance et peu d'effets secondaires ;
- faible propension à la résistance ;
- coût abordable.

Les antibiotiques de premier choix incluent le métronidazole, la clarithromycine, l'amoxicilline et la tétracycline.

I.3.1.1- Métronidazole

Le métronidazole appartient à la famille des 5-nitroimidazolés. C'est l'addition de la fonction nitro en position 5 qui leur confère l'activité antibactérienne, spécifiquement sur les bactéries anaérobies ainsi que sur certaines espèces microaérophiles dont *H. pylori*. Il agit par inhibition de synthèse de l'ADN bactérien. L'activité du métronidazole n'est pas influencée par le pH. Il est sécrété de façon active dans la lumière gastrique.

I.3.1.2- Clarithromycine

La clarithromycine reste le macrolide le plus utilisé pour la thérapie anti-*H. pylori*. Les macrolides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien, notamment au niveau de l'ARN ribosomal (ARNr) 23S.

I.3.1.3- Amoxicilline

L'amoxicilline est une aminopénicilline (betalactamines) dont la structure résulte de l'addition d'un groupe amino à la benzylpénicilline. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane, constituant de la paroi bactérienne en s'attaquant aux protéines liant les pénicillines (PLP). Très peu de souches de *H. pylori* sont résistantes à l'amoxicilline, d'où son usage fréquent dans les associations.

I.3.1.4- Tétracyclines

Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines bactériennes 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. Les molécules utilisées sont la tétracycline et la doxycycline.

I.3.1.5-Autres antibactériens

- Fluoroquinolones : les nouvelles fluoroquinolones sont très actives sur *H. pylori*.

Elles agissent 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*.

- Sels de Bismuth : Ils ont un effet antibactérien par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. En outre, ils alcalinisent le milieu (accroissent le contenu en ions HCO_3^- au niveau de la muqueuse gastrique), ce qui potentialise l'effet des antibiotiques auxquels ils sont associés.

- Rifamycines (rifampicine, rifabutine) qui inhibent la synthèse de l'ARN bactérien par blocage de la synthèse de la sous unité B de l'ARN polymérase ADN dépendante codée par le gène *gyrB*.

- Furazolidone, dérivé du nitrofurane, étudiée dès les années 90 pour son activité anti-*H. pylori* (Xiao *et al.* 1990).

I.3.2- Schémas thérapeutiques

I.3.2.1- Traitement de première ligne

Le traitement classique consiste en une triple thérapie (7 à 14 jours) associant 2 antibiotiques (clarithromycine + amoxicilline ou clarithromycine + métronidazole) à un IPP (Inhibiteurs de pompes à protons) à double dose pour neutraliser l'acidité gastrique (Malfertheiner *et al.* 2007). Dans ces conditions, la bactérie n'est éradiquée que dans environ 70% de cas (Graham *et al.* 2007).

I.3.2.2-Traitement de deuxième ligne

Les schémas thérapeutiques proposés en 2ème ligne sont :

- la quadri-thérapie (10 à 14 jours) incluant le Bismuth : IPP + Sels de Bismuth + tétracycline + métronidazole. Le taux d'éradication est de l'ordre de 85% (Fischbach *et al.* 2004).

- des thérapies incluant les nouvelles générations de fluoroquinolones (lévofloxacine, moxifloxacine), généralement associées à l'amoxicilline et un IPP. Ce schéma devient

fortement limité par l'accroissement rapide de la résistance aux quinolones (Miendje *et al.* 2010).

- des schémas incluant les rifamycines (rifampicine, rifabutine) ou la furazolidone ont également été proposés (Malfertheiner *et al.* 2007).

I. 3.2.3. Traitement de 3ème ligne (« Rescue therapy »)

L'adaptation de la thérapie en fonction de l'antibiogramme est indispensable en cas d'échec d'éradication. Une stratégie thérapeutique basée sur les tests de sensibilité serait plus efficace, préserverait le capital thérapeutique, limiterait la sélection des mutants résistants et serait probablement moins coûteuse (Malfertheiner *et al.* 2007).

I 3.2.4. Traitement non conventionnel

Face aux gros soucis d'éradication, des traitements adjuvants ont été proposés pour améliorer le succès de l'éradication. Les moins contestés sont les probiotiques, la N-acétylcystéine et les antioxydants (vitamine C).

Les probiotiques sont des micro-organismes qui constituent la flore buccale, intestinale et vaginale. Ils peuvent être ajoutés à l'ensemble des schémas thérapeutiques anti-*H. pylori* (Malfertheiner *et al.* 2007). La majorité des études effectuées suggèrent que l'adjonction des probiotiques (*Lactobacillus* sp, *Bifidobacterium* sp, *Saccharomyces* sp...) entraînent une diminution des effets secondaires gastro-intestinaux avec comme conséquence directe l'amélioration de la complaisance des patients (Gotteland *et al.* 2006).

La N-acétylcystéine est un dérivé synthétique de la cystéine. Grâce à ses propriétés mucolytiques, un prétraitement à la N-acétylcystéine pourrait dissoudre le biofilm de *H. pylori* et rendre les bactéries plus vulnérables à l'attaque des antibiotiques. Une récente étude incluant 40 patients en échec d'éradication a montré un succès d'éradication de 65% chez les patients prétraités à la N-acétylcystéine, comparé à 20% chez les témoins (Camarota *et al.* 2010). L'infection par *H. pylori* peut entraîner d'importants dommages oxydatifs, notamment, par la formation des radicaux libres. L'association de Vitamine C à un schéma thérapeutique contenant la clarithromycine pourrait améliorer le traitement (Chuang *et al.* 2007). Par ailleurs, la prise simultanée de vitamine C ou de vitamine E conduirait à des effets protecteurs contre la gastrite induite par *H. pylori*.

I.4- Les antibiotiques

I.4.1-Définition

Le terme antibiotique désigne toute substance chimique, élaborée par un microorganisme ou produit par synthèse, à coefficient chimio thérapeutique élevé dont l'activité se manifeste à très faible dose d'une manière spécifique, par l'inhibition de certains processus vitaux, à l'égard des microorganismes ou même de certains être pluricellulaires (Mayer, 2007 ; Archambaud, 2009).

I.4.2- Mode d'action des antibiotiques

Le tableau ci-dessous résume les différents modes ou mécanismes d'action des antibiotiques repartis en famille.

Tableau 1: Famille et mode d'action des antibiotiques

Antibiotique	Cible	Effet	Spectre d'action.	Mode d'action
Béta-lactames: penicillines, ampicilline, amoxicilline Cephalosporines: céfépime céfalexine Carbapénèmes : méropénème Monobactames : aztréoname	Paroi	Bactéricide	Cocci Gram+/- Bacilles G+ Large spectre Large spectre Bacilles Gram+	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne par inhibition de l'activité de la transpeptidase (Lavigne 2007).
Polymixines	Membrane	Bactéricide	Bacille Gram-	Lyse de la membrane cytoplasmique en détruisant l'organisation de la bicouche phospholipidique (Bonfiglio et Furneri, 2001).
Gramicidine, tyrocidine		Bactéricide	Bacille Gram+	
Tétracyclines: tétracycline, doxycycline Aminoglycosides: gentamicine, streptomycine, kanamycine	Ribosomes	Bactériostatique	Large	Inhibent la synthèse protéique en agissant sur la sous unité 30S des ribosomes (Prescott, 2004).
Phénicolés: chloramphénicol Macrolides: erythromycine Synergistines		Bactéricide	Large, sauf les streptocoques et les anaérobies	
Lincosamides: lincomycine, Clindamycine		Bactériostatique	Large	Inhibent la synthèse protéique en agissant sur la sous-unité 50S des ribosomes (Lavigne, 2007 ; Prescott, 2004)
		Bactériostatique	Cocci Gram+/- Bacilles G+	
		Bactéricide	Inactif sur les enterobactéries et <i>Pseudomonas</i> .	

Acide fusidique		/	Staphylocoques	Inhibent la synthèse protéique
Novobiocine	Acides nucléiques	Bactéricide		Bloque la réplication de l'ADN
Nitrofuranes		/	Large	
Nitroimidazolé.		/	Bactéries anaérobies	
Quinolones : ciprofloxacine, acide nalidixique		Bactéricide	Gram-, sauf <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	Inhibent la synthèse de l'ADN en se fixant sur l'ADN-ADN gyrase (Collet et al. 1996).
Rifamycine		Bactéricide	Large	Bloque la transcription par liaison à la sous unité β de l'ARN polymérase (Prescott, 2004)
Sulfamides: Trimétoprime Bactrimptéroate	Synthèse de l'acide folique	Bactériostatique	Large	Inhibe la synthèse de l'acide tétrahydrofolique, cofacteur de la synthèse de bases azotées par action sur l'ARN polymérase (Prescott, 2004)

I.4.3- Résistance bactérienne aux antibactériens

I.4.3.1-Définition

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique quand elle est capable de se développer en présence d'une concentration élevée d'antibiotique (Lavigne 2007).

Il existe deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque ou naturelle et la résistance acquise. La résistance intrinsèque (ou naturelle ou insensibilité) est présente chez toutes les bactéries de la même espèce ou du même genre bactérien. Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques. Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram- négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc...).

I.4.3.2-Résistance naturelle ou intrinsèque

La résistance naturelle a pour support génétique le chromosome bactérien et elle permet de définir le spectre d'activité des antibiotiques et le phénotype est dit sauvage. Ses mécanismes biochimiques sont nombreux et quelques-uns d'entre eux sont cités ci-dessous. Les entérobactéries sont naturellement résistantes, le plus souvent à bas niveau, aux antibiotiques hydrophobes et/ou de masse moléculaire élevée car, ils ne peuvent traverser la membrane externe de la paroi. (Pénicilline G, pénicilline M, macrolides, rifampicine, vancomycine, acide fusidique,...). Ils s'exercent vis-à-vis de nombreux antibiotiques dont la

cible d'action est intracellulaire (quinolones, chloramphénicol, macrolides, tétracyclines...) et ils sont qualifiés de pompes d'efflux multi drogues (Euzeby, 2008).

L'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane interne et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal présent dans la membrane externe et grâce à une protéine de jonction périplasmique. Cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique et confère généralement des résistances à bas niveau.

I.4.3.3-Résistance acquise ou extrinsèque

La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique permettant à une bactérie de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. En pathologie infectieuse, une bactérie est dite résistante lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est notablement plus élevée que celle qu'il est possible d'obtenir *in vivo* à la suite d'un traitement. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était faible. Ultérieurement, la généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes et on constate, quotidiennement, que de très nombreuses souches ne se comportent pas à l'égard des antibiotiques conformément à ce que les spectres d'activité permettraient de le supposer. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques (Euzeby, 2008).

I.4.3.4-Mécanismes génétiques : résistance naturelle et résistance acquise

Sur le plan génétique, la résistance des bactéries aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère constant à l'intérieur d'un taxon, elle est stable, programmée sur le génome bactérien et donc transmise à la descendance (Pochart, 2009). Un exemple frappant est celui des bactéries gram-négatifs qui sont imperméables à beaucoup d'antibiotiques. La résistance acquise par contre résulte des mutations chromosomiques ou de l'acquisition par la bactérie d'un élément génétique comme les plasmides, les intégrons ou les transposons. Ce dernier type de résistance est en expansion très rapide (notamment dans les hôpitaux) avec l'utilisation plus ou moins anarchique des antibiotiques en médecine, en agriculture, en aquaculture et la contamination de l'environnement par des agents antimicrobiens (Vallet, 2008). La limitation du développement des résistances aux antibactériens exige la diminution de la pression de

sélection qui naît de différents facteurs comme la prescription et l'usage des antibiotiques à large spectre dans le but de traiter une infection non diagnostiquée.

I.4.3.5- Mécanismes biochimiques de la résistance

Les bactéries œuvrent de plusieurs mécanismes biochimiques pour résister à l'action des antibiotiques :

- expression des pompes à efflux pour expulser l'antibiotique et limiter sa concentration intracellulaire (Roy & Saraf 2006) ;
- expression des molécules enzymatiques capables d'inactiver l'antibiotique. C'est le mécanisme principal de résistance aux β -lactamines qui implique les enzymes de la famille des β -lactamases (Pochart, 2009) ;
- surexpression ou défaut d'affinité de la cible : cette résistance peut être naturelle (pas de cible d'inhibiteurs de synthèse du peptidoglycane chez les mycobactéries par exemple) ou acquise par modification de la cible (Yala *et al.* 2001).

I.5- Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne *in vitro*

Les paramètres quantitatifs de base de l'activité *in vitro* des antibiotiques sont la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). La CMI est la plus faible concentration de l'antibiotique qui empêche toute croissance visible alors que la CMB est la plus faible concentration d'antibiotiques qui en un temps donné tue 99,9 % des bactéries de l'inoculum original (Amhis *et al.* 2001).

I.5.1- Méthodes de diffusion en milieu solide

I.5.1.1- Méthodes des disques

Les disques de papier buvard imprégnés d'une quantité définie d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé ensemencé avec une suspension de bactéries (10^6 UFC /ml) en phase exponentielle de croissance. L'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Après incubation, on observe autour du disque une zone d'inhibition de la croissance bactérienne pour les germes sensibles. On mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne dans deux directions perpendiculaires et on retient la moyenne. On pourra en déduire la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée (Amhis *et al.* 2001). Cette méthode présente l'avantage d'être simple, reproductible, peu coûteuse avec des résultats faciles à interpréter. Mais ses inconvénients

sont liés au fait qu'elle n'est pas automatisée et que certaines bactéries fastidieuses ou à faible croissance ne sont pas testées avec sûreté (Amhis *et al.* 2001).

I.5.1.2- Méthodes des puits

C'est une méthode semblable à la méthode des disques à la seule différence qu'ici les disques de papier sont remplacés par des puits creusés dans la gélose dans lesquels sont déposés des volumes précis d'antibactérien est introduit dans chaque puits. Après incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour des puits (Berge & Vlietinck 1991).

I.5.1.3- Méthode de l'E-test

Un autre test de détermination de la CMI dit E-test connaît actuellement un essor considérable. Il est caractérisé par sa facilité et sa rapidité de réalisation, et sa précision dans la détermination de la CMI. Son principal inconvénient est son coût élevé (Amhis *et al.* 2001). Une bandelette (5x50 mm) imprégnée d'un gradient d'antibiotique est déposée à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture de la souche à étudier. Après incubation, cette bandelette s'entoure d'une zone d'inhibition ellipsoïdale (d'où le nom E-test). La zone de contact entre la pousse bactérienne et la bandelette indique la CMI.

I.5.1.4- Méthode de dilution en milieu liquide

La dilution est la méthode de référence. Elle peut être pratiquée avec des tubes (macro dilution) ou avec des plaques de 24 ou de 96 puits (micro dilution). L'on distribue dans une série de tubes stériles (ou dans les capsules d'une plaque), un même volume d'antibiotique de concentrations décroissantes. Puis on ajoute dans chaque tube, un même volume d'une suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance d'environ 10^6 bactéries/ml (Berche *et al.* 1988). Après incubation, la croissance est vérifiée en comparant la turbidité à celle des tubes témoins non inoculés ou en ajoutant un agent révélateur tel que le para-iodonitrotétrazolium chloride (INT) 0,2 % qui fait apparaître la coloration rose en présence des bactéries viables (Kuetze *et al.* 2008).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- Matériel biologique

II.1.1- Micro-organismes

L'étude a porté sur 40 isolats cliniques de *H. pylori* dénommés (*H. Pylori* 1 à *H. pylori* 40), isolées au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Laquintinie de Douala-Cameroun (HLD) entre 2014 et 2015 des biopsies gastriques de patients ayant présenté des ulcères gastroduodénaux (UGD) venues en consultation au service de Gastroentérologie de ce centre hospitalier. L'isolement a été effectué dans le cadre d'une étude antérieure menée par le Dr KOUITCHEU en collaboration avec le service de Gastroentérologie de ce centre hospitalier.

II.2- Equipements et réactifs utilisés

II.2.1- Equipements et verreries

II.2.1.1- Equipements

Etuve (BIOBASE 44°C) ; Congélateur(BIOBASE) ; Réfrigérateur (BIOBASE – 25°C)

Bec Bensen ; l'autoclave (Model Ls-B75L) ; Centrifugeuse (Model 90-3); Balance (VWR Science Education) ; Incubateur (Biobase 37°C); Jarre chimique

II.2.1.2- Verrerie

- Boîtes de pétri en verre ;
- écouvillons stériles ;
- Tube à vis ;
- Les pinces ;
- Anse de platine ;
- Papier aluminium ;
- Coton.

II.2.2- Réactifs utilisés

II.2.2.1- Milieux de culture

Quatre milieux de culture ont été utilisés dans ce travail (composition voir annexe) :

Le milieu Columbia Agar (Biomerieux France) pour la culture et l'entretien des isolats cliniques ;

Le Müller Hinton Agar (Biomerieux France) pour la réalisation de l'antibiogramme et la détermination des diamètres d'inhibitions ;

Le milieu Urée-indole (Biomerieux France) pour l'identification et la caractérisation biochimique (des isolats cliniques) ;

L'eau physiologique pour la réalisation des inoculats bactériens à ajuster à l'échelle du Néphélomètre standard de Mc Farland

II.2.2.2. Les antibiotiques

Trente antibiotiques appartenant à onze familles différentes ont été utilisés dans le cadre de ce travail. Le tableau ci-dessous présente ces antibiotiques ainsi que leurs familles respectives (Tableau 2).

Tableau 2 : Les différents antibiotiques utilisés.

Famille	Antibiotiques
β lactamines	Amoxicilline, ampicilline, amoxicilline+acide clavulanique, aztréonam, cefépime, céftaxidime, céfotine, cloxacilline, imipénème, oxacilline, pénicilline, pipéracilline+tazobactam
Glycopeptides	Vancomycine
Aminosides	Tobramycine, Dibécacine, Netilmicine, spectinomycine
Phénicolés	Chloramphénicol
Tétracyclines	Doxycycline, Tétracycline
Macrolides	Erythromycine, Clarithromycine
Fosfomycine	Fosfomycine
Quinolones	Ciprofloxacine, levofloxacine, Norfloxacine, Acide nalixidique
Imidazole	Métronidazole
Lincosamides	Clindamycine
Acide fusidique	Acide fusidique

II.2.2.3. Autres réactifs utilisés

L'eau de javel et l'alcool à 95⁰ ont été utilisés comme substances antiseptiques.

L'eau oxygénée (H₂O₂) et les disques de diméthylparaphénylène diamine pour le test de caractérisation des isolats cliniques.

II.3- Méthodes

II.3.1- Test de Confirmation des isolats *H. pylori*

II.3.1.1- Caractérisation des isolats cliniques

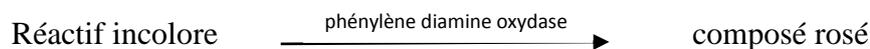
Outre les caractères morphologiques et les conditions de culture (notamment la micro-aérophilie), la caractérisation a reposé sur les caractères biochimiques spécifiques à *H. pylori*. Elle a consisté en la recherche des enzymes notamment le cytochrome oxydase, la catalase, l'uréase ainsi que la mise en évidence de la résistance des isolats à l'acide nalidixique.

II.3.1.2- Recherche du cytochrome oxydase

Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons, en particulier les cytochromes porteurs de coenzymes héminiques.

Principe

Ce test permet de mettre en évidence la phénylène diamine oxydase produite par des bactéries en milieu gélosé. En présence de cette enzyme, le N diméthylparaphénylène diamine incolore est oxydé et libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air.



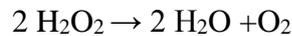
Technique

Une colonie prélevée après re-culture sur milieu spécifique a été écrasée sur le disque de diméthylparaphénylène diamine préalablement humidifiée avec une goutte d'eau distillée. La présence d'un cytochrome oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration brun-noir sur le disque.

II.3.1.3- Recherche de la catalase

Principe

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes suivant la réaction ci-dessous :



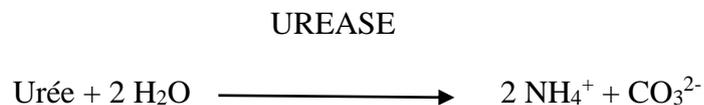
Technique

Une colonie prélevée après re-culture sur milieu spécifique a été déposée dans une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) contenue sur une lame propre. La présence de l'enzyme catalase se traduit par le dégagement de bulles gazeuses.

II.3.1.4- Recherche de l'uréase

Principe

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. L'alcalinisation est mise en évidence grâce au rouge de phénol présent.



Technique

Une colonie prélevée après re-culture sur milieu spécifique a été déposée dans une goutte de milieu Urée-Indole contenue sur une tablette en plastique blanc. En présence de l'enzyme, le milieu passe du jaune-orangé au rose fushia au bout de quelques minutes.

II.3.1.5- Résistance à l'acide nalidixique

Helicobacter pylori présente une résistance naturelle vis-à-vis de l'acide nalidixique. L'évaluation de la sensibilité de cette souche vis-à-vis de cet antibiotique constitue de ce fait un test de caractérisation. Cette résistance a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose donc la procédure est décrite dans le paragraphe relatif à la sensibilité aux antibiotiques.

II.3.2- Conservations des isolats cliniques

La conservation des souches de *Helicobacter pylori* a été réalisée sur milieu Columbia au sang cuit, coulé en pente dans des tubes à essai stériles. L'ensemencement a été effectué par stries à partir des colonies obtenues en primo-culture ou à partir des ré isollements. Ces tubes hermétiquement fermés ont été incubés pendant 2 jours à 37°C en microaérophilie, ensuite conservés à une température comprise entre - 4 à -8°C pour une conservation de courte durée datant au moins 3 mois soit aliquotes dans les cryotubes dans lesquels ont été du glycérol 15% pour une conservation longue durée.

II.4- Etude de la sensibilité des isolats cliniques aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité de la bactérie aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion sur gélose tel que décrite par Berche *et al* (1988) et Amhis *et al* (2001) en mesurant le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne dans deux directions perpendiculaires pour chaque disque d'antibiotique. Les disques des antibiotiques décrits au Tableau 2 ont été utilisés.

Préparation du milieu de culture

La préparation des milieux de culture Mueller-Hinton ou Columbia Agar a été effectuée en suivant les instructions du fabricant. Après autoclavage, ces milieux ont été refroidis à 40°C et additionnés de 5% de sang du mouton pour activation bactérienne ou de 5% de sérum pour test de susceptibilité.

➤ Préparation de l'inoculum

L'inoculum a été préparé à partir de colonies viables fraîchement identifiées dans un tube à essai stérile contenant de l'eau physiologique 0,9%. La turbidité a été ajustée à celle de l'échelle 3 du Néphélomètre Mac Farland (Tableau 3).

Tableau 3: Néphélomètre standard de Mc Farland (Hang, 1999)

Echelle de Mc Farland	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% BaCl ₂ (ml)	0,00	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
1% H ₂ SO ₄ (ml)	0,00	9,95	9,90	9,80	9,70	9,60	9,50	9,40	9,30	9,20	9,10
Eau distillée	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Densité approximative des cellules (X 10 ⁸ UFC/ml)	0,00	1,5	3,00	6,00	9,00	12,00	15,00	18,00	21,00	24,00	27,00
	0,00	0,13	0,20	0,33	0,49	0,64	0,66	0,72	0,94	0,101	0,118

➤ Ensemencement de l'inoculum

L'ensemencement s'est fait en étalant 100 µl de la suspension bactérienne (10⁶ UFC /ml) en phase exponentielle de croissance à la surface du milieu Mueller-Hinton additionné de 5% de sérum de mouton, le tout contenu dans une boîte de pétri.

Disposition des disques d'antibiotiques

A l'aide d'une pince stérile, les disques d'antibiotiques ont été déposés sur la gélose ensemencée. L'antibiotique diffuse dans la gélose, sa concentration étant d'autant plus faible qu'on s'éloigne de la source (gradient de concentration). Ces boîtes ont été ensuite incubées à 37°C en atmosphère microaéroophile pendant deux à trois jours. Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition (en millimètres) pour chaque antibiotique et correspondant à une absence de culture, a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. Le test a été réalisé 3 fois pour chaque disque d'antibiotique. Les diamètres d'inhibitions obtenus ont été mesurés, les moyennes calculées et comparées aux valeurs critiques recommandées par le EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) 2015. Le caractère résistant,

sensible ou intermédiaire des isolats cliniques étudiés a été ensuite déduit. Il convient de noter que :

- si le diamètre mesuré est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique supérieure, la souche est dite résistante ;

- si le diamètre mesuré est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique inférieure, la souche est dite sensible ;

- si le diamètre mesuré est compris entre les diamètres correspondant aux deux concentrations critiques, la souche est dite de sensibilité Intermédiaire.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Résultats

III.1.1- Screening de l'activité anti-*Helicobacter pylori* des antibiotiques utilisés

Les valeurs des diamètres d'inhibition obtenues pour chaque antibiotique vis-à-vis de chaque isolat sont reportées dans le tableau 4 ci-dessous. De l'analyse de ce tableau, il ressort que les valeurs de diamètres d'inhibition ont variées de 6 à 46 mm, les valeurs de 6 mm et de 46 mm étant obtenues respectivement dans 70% (21/30) et 3.3% (1/30) des antibiotiques testés. La valeur du diamètre d'inhibition la plus élevée, 46 mm a été obtenue vis-à-vis de l'antibiotique levofloxacin qui est d'ailleurs l'un des antibiotiques ayant révélé le spectre d'activité le plus large.

Tableau 4: Susceptibilité des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques utilisés

Familles	Antibiotiques	Intervalle des DI	Moyenne + SD des DI (mm)
Acide fusidique	Acide fusidique	15-20	16 ± 3,12
Aminosides	Dibécacine	6-8	6,2 ± 0,61
	Nétilmicine	20-22	21 ± 1,01
	Spectinomycine	6-8	6,1 ± 0,44
	Tobramycine	6-8	6,3±0,72
β lactamines	Amoxicilline	6-30	7,15±1
	Ampicilline	6-6	6±0
	Amoxicilline + Acide clavulanique	6-8	6,1±0,44
	Aztréonam	6-8	6,4±0,81
	Cefépime	6-8	6,1±0,44
	Ceftazidime	6-8	6,1±0,44
	Cefoxitine	6-8	6,2±0,61
	Cloxacilline	6-8	6,1±0,44
	Imipénème	20-24	22,2±1,68
	Penicilline	6-8	6,3±0,72
	Pipéracilline +Tazobactam	6-8	7,2±0,99

	Oxacilline	6-8	6±0,81
Fosfomycine	Fosfomycine	6-8	6,7±0,96
Quinolones	Ciprofloxacine	20-32	27,3±3,94
	Lévofloxacine	26-46	37,525±7,18
	Norfloxacine	20-25	22,2±2,04
	Acide nalidixique	6-15	14,7±3,26
Glycopeptides	Vancomycine	6-8	6,1±0,44
Imidazole	Metronidazole	6-8	7,5±0,87
Lincosamides	Clindamycine	6-8	6,4±0,81
Macrolides	Erythromycine	6-30	7,7±3,75
	Clarithromycine	6-26	17,3±6,47
Phénicolés	Chloramphénicol	6-8	7,8±0,61
Tétracyclines	Doxycycline	20 -38	28,35±4,22
	Tétracycline	26-40	33,1±4,48

III.1.2- Résistance des isolats cliniques étudiés vis-à-vis des antibiotiques

Le caractère de résistance a été déterminé pour chaque famille d'antibiotiques utilisés. Ainsi avons-nous spécifié la résistance vis-à-vis des β lactamines, des aminosides, des tétracyclines, des macrolides, des quinolones et aux autres familles d'antibiotiques testés pour les familles dont un seul représentant a été utilisé.

III.1.3- Résistance aux β lactamines

Il ressort de l'analyse de cette figure que les isolats cliniques présentent une forte résistance aux bêta-lactamines à l'exception de l'imipenème qui a présenté un seuil de sensibilité de 40% vis-à-vis de tous isolats cliniques utilisés.

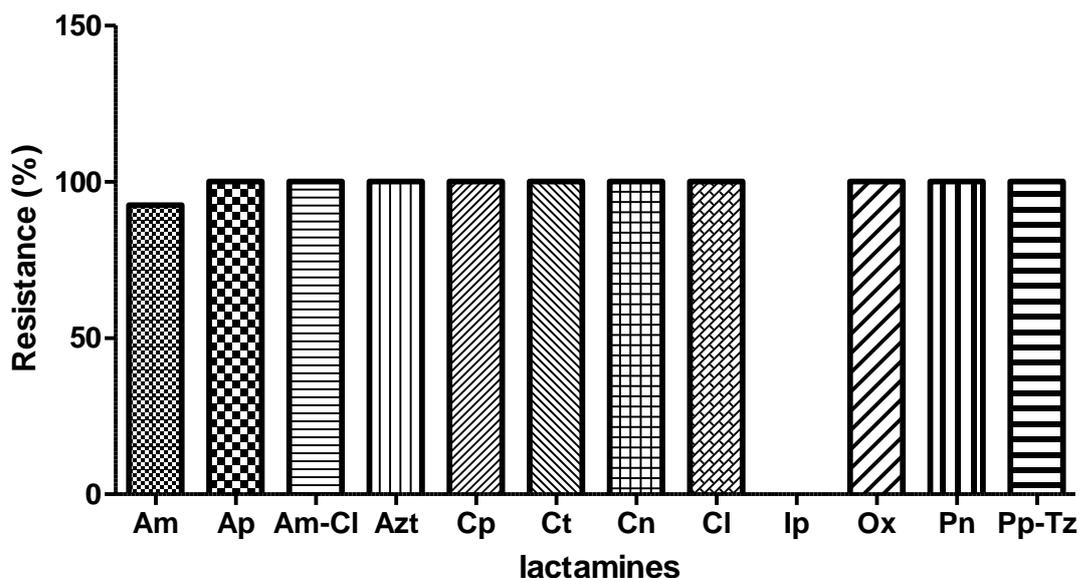


Figure 4: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des β lactamines. Amoxicilline (Am), Ampicilline (Ap), Amoxicilline+Acide clavulanique (Am-Cl), Aztréonam (Azt), Cefépime (Cp), Céftaxidime (Ct), Céfoxitine (Cn), Cloxacilline (Cl), Imipénème (Ip), Oxacilline (Ox), Pénicilline (Pn), Pipéracilline+Tazobactam (Pp-Tz).

III.1.4- Résistance aux Aminosides

En ce qui concerne les aminosides, les isolats cliniques ont montré également une forte résistance excepté celle de la nétilmicine pour lequel un seuil de sensibilité de 50% a été obtenu.

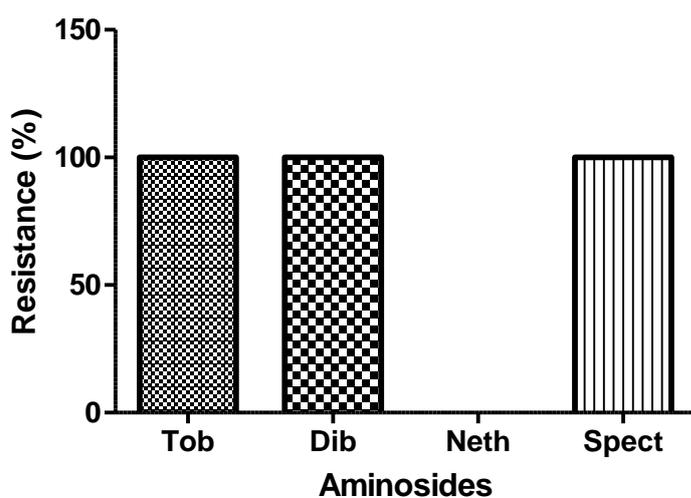


Figure 5: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Aminosides. Tobramycine (Tob), Dibékacine (DKB), Netilmicine (Net), Spectinomycine (Spect).

III.1.5- Résistance aux Tétracyclines

La résistance des isolats aux tétracyclines a été nulle dans l'ensemble, en effet les isolats cliniques ont présenté une sensibilité de 100% vis-à-vis de la tétracycline et de la doxycycline.

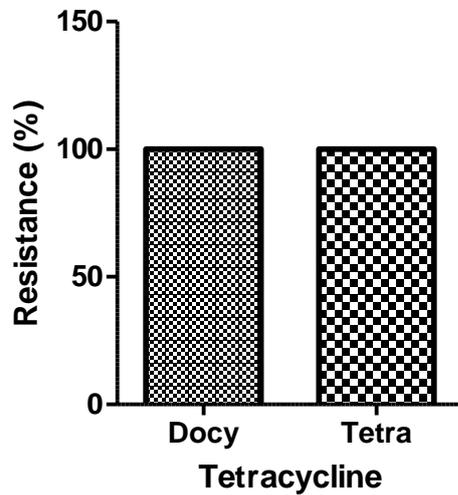


Figure 6 : Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Tétracyclines. Doxycycline (Doxy), Tétracycline (Tetra).

III.1.6- Résistance aux Macrolides

La résistance des isolats cliniques aux macrolides a été variée, en effet les isolats cliniques ont présenté une forte résistance aux macrolides variant de 32.5% et 97.5% respectivement vis-à-vis de la clarithromycine et de l'érythromycine.

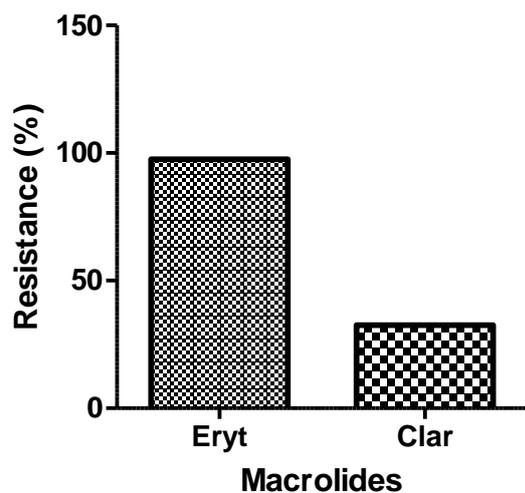


Figure 7: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Macrolides. Erythromycine (Eryt), Clarithromycine (Clar).

III.1.7- Résistance aux Quinolones

Dans l'ensemble, les isolats cliniques ont présenté un caractère sensible ou intermédiaire vis-à-vis des quinolones utilisés, à l'exception de l'acide nalidixique vis-à-vis duquel une résistance de 100% a été révélée, confirmant ainsi l'identification des isolats cliniques utilisés.

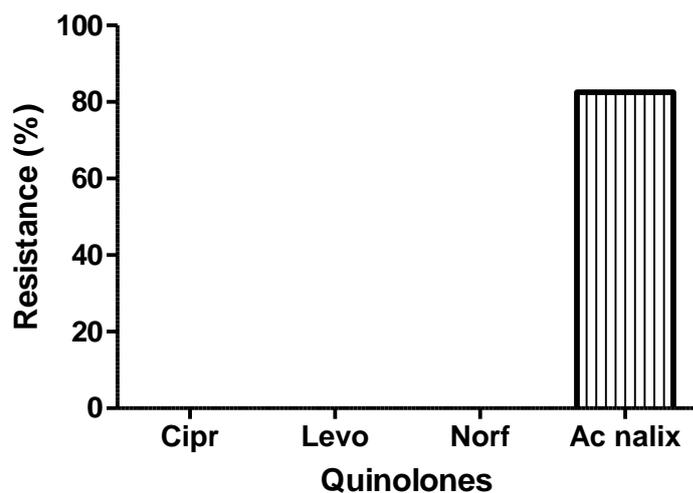


Figure 8: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Quinolones. Ciprofloxacine (Cidr), levofloxacine (Levo), Norfloxacine (Norf), Acide nalixidique (Ac nalix).

III.1.8- Résistance aux autres familles d'antibiotiques testés

Pour ce qui est des familles des fosfomycines, des glycopeptides, des imidazoles, des lincosamides et des phénicolés, les isolats ont présenté un taux de résistance de 100% vis-à-vis de ces dernières. En revanche les isolats ont présenté une résistance 5% vis-à-vis de l'acide fusidique.

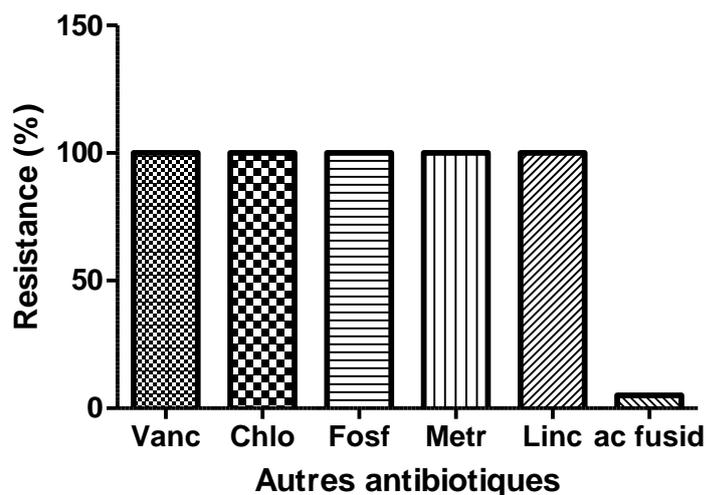


Figure 9: Résistance des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques des autres familles d'antibiotiques. Métronidazole (Metr), Clindamycine (Linc), Acide fusidique (ac fusid), Chloramphénicol (Chlo), Fosfomycine (Fosf).

III.1.9- Spectre d'activité des antibiotiques testés

Les spectres d'activités des différents antibiotiques ont variés de 0 à 100%. Des 30 antibiotiques testés 70% (21/30) ont présentés un spectre d'activité nul. Le spectre d'activité le plus large (100%) a été obtenu avec 10% (3/30) des antibiotiques utilisés. Ces antibiotiques ont été la doxycycline, la tetracycline et la levofloxacin appartenant respectivement aux familles des tétracyclines et des quinolones. Ces antibiotiques ont suivi de la ciprofloxacine de la famille des quinolones qui a présenté un spectre d'activité de 87.5%. Les antibiotiques de la famille des tétracyclines ont été les plus actifs vis-à-vis de tous les isolats cliniques. Elle a été secondée par ceux de la famille des quinolones donc la plupart ont présenté un spectre d'activité non nul (figure 10)

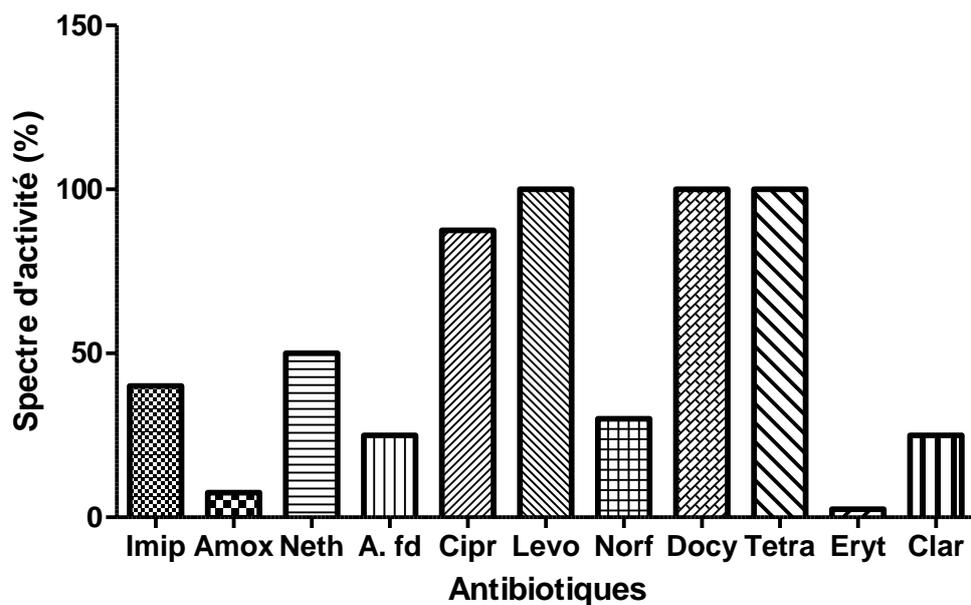


Figure 10: Spectre d'activité des antibiotiques vis-à-vis des isolats de *Helicobacter pylori*. Amoxicilline (Amox), imipénème (Imip), Netilmicine (Neth), Acide fusidique (A. fd), Ciprofloxacine (Cipr), levofloxacine (Levo), Norfloxacine (Norf), Erythromycine (Eryt), Clarithromycine (Clar).

III.1.10- Sensibilité des isolats cliniques utilisés

Aucun des isolats n'a présenté une résistance à 100% aux antibiotiques testés. Les taux de sensibilité ont variés de 30 à 33% vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques testés. La figure 11 ci-contre présente les résultats obtenus

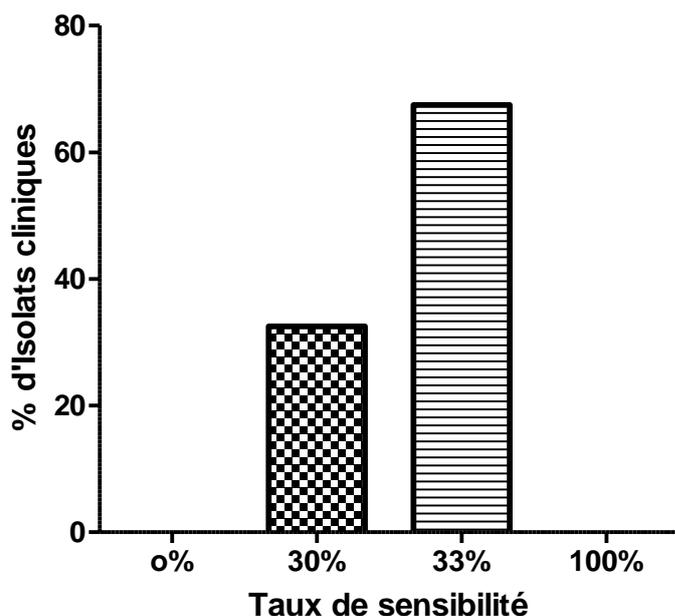


Figure 11: Sensibilité des isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques

III.2- Discussion

L'infection à *Helicobacter pylori* est un enjeu de santé publique du fait de sa prévalence élevée et de l'émergence sans cesse croissante des souches résistantes aux antibiotiques qui demeurent pourtant les seuls moyens de lutte essentielle. Par conséquent, il devient impératif de suivre l'évolution des résistances de *H.pylori* aux antibiotiques pour une meilleure prescription médicale. Certes, la détermination de la résistance est recommandée après deux échecs de traitement de l'infection à *H. pylori*, mais la difficulté de l'application de cette méthode réside en la lenteur de croissance de *H. pylori* et de ses besoins cultureux spécifiques. Il est donc admis que la maîtrise de l'efficacité des antibiotiques disponibles vis-à-vis de ce germe et donc la prévalence de la résistance de cette souche microbienne est le prélude à toute prescription médicale susceptible éviter les échecs thérapeutiques. C'est dans le but d'optimiser la prise en charge des patients infectés par *H. pylori* au Cameroun que ce travail de recherche visant à établir le profil de résistance de 40 isolats cliniques vis-à-vis des antibiotiques utilisés dans les schémas thérapeutiques de cette infection a été mené

Les résultats obtenus font état d'une forte résistance des isolats cliniques aux bêta-lactamines (100%) sauf à l'imipénème pour lequel 40% des isolats se sont révélés sensibles. En ce qui concerne les aminosides et les macrolides, des sensibilités de 50%, 20% et 2,5% ont été obtenue respectivement vis-à-vis de la nétilmicine, de la clarithromycine et de

l'érythromycine. Les antibiotiques de la famille des tétracyclines ont présentés les spectres d'activité les plus larges, les tétracyclines la seule famille d'antibiotiques pour lequel une sensibilité de 100% a été obtenue. Par ailleurs des résistances de 100% ont été enregistrées face aux fosfomycines, aux glycopeptides, aux imidazoles et aux lincasamides. Par contre les antibiotiques de la famille des quinolones ont été les seuls pour lesquels la sensibilité des isolats a été quelque peu générale. En effet, 100% et 87,5% des isolats ont été sensibles respectivement à la levofloxacin et à la ciprofloxacine. Les résultats obtenus dans la présente étude corroborent plus ou moins avec ceux de la littérature. En effet, les études faisant état de la résistance à l'amoxicilline des souches de *H. pylori* commencent à être décrites à travers le monde, notamment celle de (Jung *et al* 2006) en Corée du Sud (18,5%) ; de (Thyagarajan *et al* 2003) en Inde (32,8%) et de (Hu *et al* 2007) en Taïwan (36,1%). C'est également le cas dans la présente étude, où une résistance certes très élevée (100%) a été observée vis-à-vis de l'amoxicilline. La résistance à l'amoxicilline pourrait être due à l'utilisation anarchique des antibiotiques (Vallet, 2008) ou à des mutations chromosomiques (McKane et McKane, 1996). La résistance à la clarithromycine conduit à un échec d'éradication dans 60 à 90% des cas. La résistance primaire à la clarithromycine a sensiblement augmenté : elle est passée de 10% en 1990 à 21% en 2001 (Le point sur la résistance aux antibiotiques de *Helicobacter pylori* 2008). Des taux de résistance de *Helicobacter. pylori* à la clarithromycine estimés à plus de 20% et sensiblement semblable à la prévalence présente pour le cas de la clarithromycine (32,5%) ont été enregistrées en France (Mégraud 2004).

Les taux de résistance primaire de 20 à 40% ont été enregistrés en Europe et aux Etats-Unis, vis-à-vis du métronidazole (Megraud 2004). Par contre en Afrique, ce taux est variable. En effet, au Sénégal, il a été évalué à 90% par Seck *et al.* en 2009 et à 55% au Nigeria. A Madagascar, cette résistance au métronidazole a été décrite. Il existe néanmoins des pays où le métronidazole demeure efficace dans l'éradication de *H. pylori* (Ricci *et al* 2007). La survenue de la résistance au métronidazole s'explique par l'utilisation fréquente de cette molécule, dans les pays tropicaux dans le traitement des différentes affections parasitaires (Euzéby 2008)

Aucun cas de résistance n'a été décelé vis-à-vis des tétracyclines. Ce résultat est en étroite ligne avec les données de la littérature témoignant une absence ou de très rares cas de résistance à cette famille (Midolo *et al*, 1996). La survenue de la résistance vis-à-vis des tétracyclines serait attribuer à une triple mutations au niveau des codons 926 à 928 de

l'ARN 16S localisé au niveau du site de fixation de la tétracycline sur le ribosome (Gerrits *et al*, 2003).

D'une manière générale, la résistance aux antibiotiques est élevée dans les pays en voie de développement et elle tend à s'accroître dans les pays développés ce qui justifierait les prévalences présentement obtenues comparée aux valeurs publiées dans les pays développés. Les cas de résistance présentement décrites, certes peu significatif sur le plan statistique constitue néanmoins une mise en garde sur l'état de la prévalence de la résistance de *H. pylori* au Cameroun dans l'attente d'une étude plus étendue sur le territoire nationale. L'attitude du gastroentérologue devrait tenir compte de cette prévalence de la résistance des souches *H. pylori* sur l'échiquier nationale si l'on voudrait prévenir le recrutement des formes résistantes.

CHAPITRE IV: FICHE PEDAGOGIQUE

La fiche pédagogique est un outil conçu par l'enseignant et qui lui permet de mener à bien sa leçon au cours d'une séance d'enseignement-apprentissage. Ainsi, elle comporte trois divisions à savoir : une introduction, un développement et une conclusion. Grâce à la fiche pédagogique, l'enseignant peut définir le temps nécessaire pour bien mener sa leçon. Avec la fiche pédagogique, l'enseignant pourra mettre l'apprenant en phase avec la méthode OHERIC (Observation- Hypothèse - Expérimentation – Résultat –Interprétation –conclusion).

L'intérêt de cette leçon réside dans le fait qu'elle permettra à l'apprenant d'acquérir des connaissances à partir de ses propres constructions intellectuelles. Ainsi, l'élève pourra éviter l'automédication voir un médecin avant de consommer des antibiotiques dans le traitement d'une maladie.

FICHE PEDAGOGIQUE DE PREPARATION D'UNE LECON DE SVTEEHB

Etablissement	Lycée et collège du Cameroun	Noms et Prénoms du professeur : AFANDA ALIMA Calixte Sandrine		
Thème	Le monde microbien			
Chapitre	Aide au système immunitaire de l'organisme	Date:		
Titre de la leçon	La résistance des bactéries aux antibiotiques	Classe: 3 ^e		
Objectif (s) pédagogique (s) Opérationnel (s)	A la fin de cette leçon l'élève sera capable de déterminer les effets des antibiotiques sur les bactéries	Effectif	Garçons :	Filles :
		Durée: 50 minutes	Période:	

Etapas	Objectifs pédagogiques Intermédiaires (OPI)	contenus spécifiques aux OPI	Matériels ou support didactiques	Activités d'enseignement/Apprentissage		Evaluation de l'atteinte des OPI	Durée
				Enseignant	Elèves		
INTRODUCTION	1-Etablir le contact professeur élève	-Relever les effets des antibiotiques sur les bactéries -expliquer l'importance de l'antibiogramme	-Programme officiel, P20 -Sciences de la vie et de la terre 3 ^e ; -Mémoire DIPES II AFANDA	-Ecrit le titre au tableau et dans le cahier de texte -Dicte les OPI	- Recopient le titre de la leçon -Recopient les OPI dans leurs cahiers		5mn
	2-Vérifier les prérequis	-La notion de défense naturelle -La notion d'antigène et anticorps	Cours et apprentissages antérieurs	Pose les questions de l'évaluation diagnostique aux élèves	Répondent aux questions de l'évaluation diagnostique	Evaluation diagnostique -Déterminer les deux types de défense? -Expliquer chaque type de défense de l'organisme ? -Donner la	

						différence entre anticorps et antigène ?
3-Determiner l'intérêt de la séquence d'apprentissage	-Connaitre l'importance d'une bonne consommation des antibiotiques. Car une prise d'antibiotique sans l'avis du médecin peut rendre le germe résistant aux médicaments.	Vécu quotidien	Pose les questions aux élèves afin de les intéressés quant à la leçon du jour.	Réfléchissent et répondent aux questions		
4-Formuler les problèmes scientifiques	-Pourquoi devenons-nous résistant contre certaines maladies ?	Situation de vie Il arrive parfois que malgré les respects d'hygiène et la désinfection des plaies, une infection généralisée se déclare. Le médecin donne	Pose les questions aux élèves afin de les amener à poser le problème scientifique.	Réfléchissent et répondent pour ressortir le problème scientifique	-Quels sont les questions qu'on peut se poser face à cette situation ? -Quels sont les causes de la résistance antibiotiques ?	

			<p>des antibiotiques, donc le rôle est de détruire ou d'arrêter la multiplication des microbes, mais ceux-ci ne réagissent pas. Ces antibiotiques n'ont pas d'effet sur la personne souffrante ; Le médecin lui prescrit des examens ou on devra lui faire un antibiogramme pour voir si les antibiotiques sont sensibles ou résistant.</p>				
--	--	--	---	--	--	--	--

1-Les effets des antibiotiques

Diverses substances injectées dans le milieu intérieur d'un Homme provoquent la genèse de substances nouvelles, susceptibles de réagir spécifiquement avec les précédentes. La substance injectée est un antigène ; celle qui se forme est un anticorps.

I-1-Les effets bactériostatiques

Les antibiotiques sont produits par des microorganismes ayant une action antimicrobienne. Cette action antimicrobienne peut être à action microstatique c'est-à-dire arrêtent la multiplication des microbes ou empêchent la multiplication des bactéries lorsqu'ils sont utilisés à faible dose.

I-2-Les effets bactéricides

On parle encore d'effet bactériolytiques. Ils détruisent les bactéries lorsqu'ils sont utilisés à doses normales et fortes. Des recherches ont permis de déterminer le spectre d'action de chaque antibiotique c'est-à-dire l'ensemble des germes qu'il peut détruire ou neutraliser.

-Citer les effets des antibiotiques.

-Vécu quotidien.
R. Djakou ;
biologie 3^e
Bordas.

Pose les questions aux apprenants.

Répondent aux questions et notent le bilan dans les cahiers.

- Définir effet bactériostatiques.
- Définir effet bactéricide.
- Donner leurs rôles dans l'organisme.

40 mn

	-	<p>II- La spécificité des antibiotiques</p> <p>a-Découverte des antibiotiques En 1928 Fleming (bactériologiste) observa une culture de staphylocoques de son laboratoire. Cette culture est accidentellement contaminée par une moisissure appelée <i>Penicillim</i> et les bactéries ont été détruites tout autour. Il prépare alors un filtrat de moisissure qu'il nomme pénicilline et constate que cette solution a un fort pouvoir bactéricide, une faible toxicité et leur grande tolérance.</p> <p>b-Définitions L'antibiothérapie est l'emploi des antibiotiques dans le traitement des antibiotiques. Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui a la propriété d'empêcher la prolifération des bactéries (effet bactériostatique) ou de les détruire.</p>	-Vécu quotidien.	-Pose les questions aux apprenants.	Répondent aux questions et notent le bilan dans les cahiers.	<p>-Définir antibiothérapie.</p> <p>-Définir antibiotique.</p> <p>-Donner les noms de quelques antibiotiques.</p>	
--	---	--	------------------	-------------------------------------	--	---	--

		<p>III-Résistance des antibiotiques</p> <p>L'emploi désordonné des antibiotiques - rend les microbes résistants, ce qui pose un véritable problème de santé à la longue comme des ulcères gastriques. Sur une culture d'une souche microbienne on a des pastilles imprégnées d'antibiotiques différents. Après une période d'incubation les auréoles se forment. L'antibiotique ayant la plus grande auréole est le plus efficace contre le germe dont souffre le malade.</p>					
CONCLUSION	<p>L'antibiothérapie est l'emploi des antibiotiques dans le traitement des maladies. Les antibiotiques ont pour rôle de soigner des personnes malades et ils sont prescrits par le médecin qui fait d'abord des examens si cela est nécessaire. Il faut éviter l'automédication parce qu'à la longue le germe peut devenir résistant face à l'antibiotique et cela pourrait avoir des répercussions lors du traitement d'une maladie.</p>					<p>Evaluation sommative</p> <p>Quels sont les causes de la résistance des antibiotiques ?</p>	5 mn

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de notre travail qui visait à établir le profil de résistance des isolats cliniques de *H. pylori* vis-à-vis de quelques antibiotiques usuels utilisés au Cameroun. Il en ressort que :

les isolats cliniques sont fortement résistants aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (100%) à l'exception de l'imipénème pour lequel 40% des isolats se sont révélés sensibles ;

en ce qui concerne les familles des aminosides et des macrolides, des résistances de 50%, 32.5% et 97.5% ont été obtenue respectivement vis-à-vis de la nétilmicine, de la clarithromycine et de l'érythromycine ;

les antibiotiques de la famille des tétracyclines sont les seuls antibiotiques pour lesquels une résistance quasiment nulle a été obtenue ;

quant aux antibiotiques de la famille des quinolones, des résistances de l'ordre de 0% et 12,5% ont été obtenus respectivement vis-à-vis de la levofloxacin et de la ciprofloxacine ;

Par ailleurs des résistances de 100% et de 5% ont été enregistrées respectivement face aux fosfomycines, aux glycopeptides, aux imidazoles et aux lincosamides et à l'acide fusidique.

Dans un futur proche, nous nous proposons d'étendre la collecte du matériel microbiologique dans d'autre localité du Cameroun de rechercher les mécanismes de résistance responsable de la résistance de *H. pylori* révélée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agudo S.G., Perez-Perez., Alarcon And Lopez B. (2010). High prevalence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains and risk factors associated with resistance in Madrid Spain. *Journal clinical and Microbiology*, 48: 3703-3707.
- Amhis W., Benslimane A., Tiouit D. et Naim M. (2001). Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb*, 91 : 22-25.
- Archambaud M. (2009). Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques *in vitro*. Laboratoire bactériologie- Hygiène. CHU Rangueil Toulouse. www.ups.tlse.fr.
- Baldwin D.N., Shepherd B., Kraemer P., Hall M.K., Sycuro L.K., Pinto-Santini D.M. et Salama N.R. (2006). Identification of *Helicobacter pylori* Genes That Contribute to Stomach Colonization. *American Society for Microbiology: infection and immunity*, 75: 1005-1016.
- Berche P., Gaillard, J.L. et Simonet, M. (1988). Bactériologie, Les bactéries des infections humaines. Edition Flammarion Medicine-Sciences, 660 p.
- Bonfiglio G. and Funeri P.M. (2001). Novelst reptogramin antibiotics. *Expert Opinion. Investigation Drugs*, 10: 185-198.
- Bontems P et Cadranel S. (1998). Infection par *Helicobacter pylori* chez l'enfant. *Acta Endoscopica*, 28: 213-220.
- Cadranel S. et Gottrand F. (2003). Faut-il pratiquer une endoscopie digestive pour faire le diagnostic (et le traitement) de l'infection à *Helicobacter pylori* chez l'enfant? Le pour et le contre. *Archives de pédiatrie*, 10 : 256-259.
- Cammarota G., Branca G., Ardito F., Sanguinetti M., Ianiro G., Cianci R., Torelli R., Masala G., Gasbarrini A., Fadda G., Landolfi R., et Gasbarrini G. (2010). Biofilm demolition and antibiotic treatment to eradicate resistant *Helicobacter pylori*: *Clinical Gastroenterology Hepatology*, 8:817-820.
- Chuang CH., Sheu BS, Kao AW, Cheng HC, Huang AH, Yang HB. et Wu JJ. (2007). Adjuvant effect of vitamin C on omeprazole-amoxicillin-clarithromycin triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Hepatology gastroenterology*, 73:320-324.
- Ciacci C. et Mazzacca G. (2006). The history of *Helicobacter pylori*: A reflection on the relationship between the medical community and industry. *Digestive and Liver Disease*, 38: 778–780.
- Collet B., Nebout G. et Liabeu (1996). Infection urinaire en ville : enquête sur le diagnostic et le traitement. *Clinical Microbiology Reviews*, 26 : 817-821.

- Conférence de Consensus. (1996). Maladie ulcéreuse et gastrite à l'heure d'*Helicobacter pylori*. Conclusions et recommandations du jury. *Gastroenterology Clinical and Biology*, 20: 155-162.
- Courillon-Mallet (2005) *Helicobacter* infection: Physiological implication of N-méthyl Histamine. *Gastroenterology*, 106: 64.
- Couturier M.R. (2013). The Evolving Challenges of *Helicobacter pylori* Disease, Diagnostics, and Treatment. *Clinical Microbiology Newsletter*; 35:19-24.
- Delport W. et Van Der Merwe S. (2007). The transmission of *Helicobacter pylori*: The effects of analysis method and study population on inference. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21: 215-236.
- Deslick G.D. (2006). *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of thepid emiological, meta-analytic, and experimental evidence. *World Journal of Gastroenterology*, 12: 2991-2999.
- Dobrilla G., Benvenuti S., Amplatz S. and Zancanella L. (1995). Helicobacter pylori, gastrite chronique, métaplasie intestinale, dysplasie et cancer gastrique. *Hepato-Gastro and Oncologie Digestive*, 2 :151-8.
- Donze N., Peter O., Riand R., Beloeil N., Consilia. et Sion (2005). Détection de la présence d'*Helicobacter pylori*. Organe de publication pour l'Institut Central des Hôpitaux Valaisans ICHV et CONSILIA Laboratoires et Conseils Médicaux SA, Suisse, Vol : 7- Numéro 9.
- Do-Rego Seyawi C., Rossero A., Le-Gal A., Federighi M., Magras C. (2001). «*Helicobacter heilmannii*», pathogène humain et animal. *Revue Médecine Vétérinaire*, 152: 623-632
- Duché M. (1992). Ulcères gastroduodénaux chez l'enfant. Editions techniques-Encyclopédie Médecine chirurgie (Paris, France), pédiatrie, 4018 T10, 9p.
- Eleko E.B. (2003). Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* en milieu rural, mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en épidémiologie pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) Québécois. Université LAVAL QUÉBEC, 116 p.
- Euzéby J.P. (2008). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 80 p.
- Fischbach LA, van Zanten S, Dickason J. (2004). Meta-analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to first line anti-*Helicobacter pylori* quadruple therapies. *Aliment Pharmacol Ther*. 20:1071-1082.

- Gill P., Amini M., Ghaemi A., Shokouhizadeh L., Abdul-Tehrani H., Karami A. and Gilak A. (2007). Detection of *Helicobacter pylori* by enzyme-linked immune sorbent assay of thermophilic helicase-dependent isothermal DNA amplification. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 10: 1-7.
- Gosciniak G. et Klakockar J. (1993). “*Helicobacter pylori* antibodies in sera of children suffering from chronic abdominal pain.” *Zentralbl Bakteriol*, 280 214-20.
- Gotteland M, Brunser O, et Cruchet S. (2006). Systematic review: are probiotics useful in controlling gastric colonization by *Helicobacter pylori*? *Aliment Pharmacol Ther*, 23:1077-1186.
- Graham DY., Yamaoka Y. and Malaty HM. (2007) Contemplating the future without *Helicobacter pylori* and the consequences hypothesis, *Helicobacter*, 122: 64-68.
- Hisada M., Lee M. G. (2001). “Characteristics of *Helicobacter pylori* infection in Jamaican adults with gastrointestinal symptoms.” *Journal Clin Microbiology*, 39: 212-6.
- Hoffelner H., Rieder G., et Haas R. (2007). *Helicobacter pylori* vaccine development: Optimization of strategies and importance of challenging strain and animal model. *International Journal of Medicine and Microbiology*, 10: 2-9.
- Hu CT., Wu CC., Lin CY., Cheng CC., Su SC., Tseng YH. and Lin NT. (2007). Resistance rate to antibiotics of *Helicobacter pylori* isolates in eastern Taiwan. *Journal Gastroenterology and Hepatology*, 22: 720-3.
- Hunt RH., Xiao SD. and Megraud F. (2011). *Helicobacter Pylori* in developing countries. World Gastroenterology Organization Global Guideline. *Journal of Gastrointestinal Living Disease*, 20:299-304.
- Husson M.C et Mignon M. (2001). Les traitements d'éradication d'*Helicobacter pylori*. Dossier du CNHIM: Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament ; Revue d'évaluation sur le médicament. Publication bimestrielle, XXII, 5p.
- Josenhans C., Beier D., Linz B., Meyer T.F. and Suerbaum S. (2007). Pathogenomics of *Helicobacter*. *International Journal of Medecine and Microbiology*, 10:1016
- Kang J., Jones K.R., Jang S., Olsen C.H., Yoo Y.J., Merrell D.S., and Chaa J.H. (2012). The Geographic Origin of *Helicobacter pylori* Influences the Association of the hom B Gene with Gastric Cancer. *Journal of Microbiological Methods*; 50:1082-1085.
- Kim JM., Kim JS., Kim N., Kim SG., Jung HC. and Song IS. (2006). Comparison of primary and secondary antimicrobial minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* isolated from Korean patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 28: 6-13.

- Korwin J.D. (2007). Infection à *Helicobacter pylori*: quoi de neuf après le prix Nobel ? *Revue de Médecine Interne*, 28 : 359–362.
- Kuete V., Mbaveng T.A., Tsaffack M., Beng P.V., Etoa F-X., Nkengfack A.E., Meyer M., J.J., et Lall N. (2008). Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of *Bersamaengleriana*. *Journal of Ethnopharmacology*, 115: 494-501.
- Labenz J., Borsch G. (1994). Role of *Helicobacter pylori* eradication in the prevention of peptic ulcer bleeding relapse. *Digestion*, 55: 19-23.
- Labenz, J. and Gyenes E. (1993). Amoxicillin plus omeprazole versus triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in duodenal ulcer disease: a prospective, randomized, and controlled study. *Gut*, 34: 1167-70.
- Labigne A. (1994). “*Helicobacter pylori* and molecular biology. Applications to pathogenesis, prevention, diagnosis and epidemiology.” *Gastroenterology and Clinic Biology*, 18: 206-11.
- Lamarque D. (2003). *Helicobacter pylori*. (2003). Prevalence diminishes in industrialized countries. *Review Practice*, 53: 1631-2.
- Lamarque D. et Peek R.M. (2003). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. In: The year in *Helicobacter pylori*, 8 21-30.
- Lamouliatte H. (1994). *Helicobacter pylori* eradication can normalise gastric mucosa. *American Journal of GastroEnterology*, 89: 1359.
- Lamouliatte H., Cayla R. et Megraud F. (2000). Traitement de l’infection à *Helicobacter pylori*. *La revue du praticien*, 50: 1442-5.
- Lavigne J.P. (2007). Faculté de médecine. MB7 bactériologie : antibiotiques et résistance. Montpellier-Nîmes, 1-3.
- Le point sur la résistance de *Helicobacter pylori* aux antibiotiques. <http://www.em-premium.com/data/revues/12945501/00030004/215/> (Internet). 16 févr 2008 [cité 13 janv 2014]; Disponible sur: http://www.em-premium.com.ezproxy.unilim.fr/article/77504/resultat_recherche/1.
- Li M., Jia L. Y. (1996). A serological study on the infection of *Helicobacter pylori* among children. *Zhonghua Liu Xing Bing XueZaZhi*, 17: 33-5.
- Liassine N. (2005). *Helicobacter pylori*. *Journal Informations scientifiques* ; Unilabs, place cornavin, Genève 58p.
- Lochhead P et El-Omar E.M. (2007). *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21: 281–297.

- Logan R. P. (1998). "Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut*, 1: 47-50.
- Malaty H.M. (2006). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21: 205-214.
- Malaty H.M. (2006). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 21: 261-279.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Atherton J., Axon T.R.A., Bazzoli F., Gensini G.F., Gisbert J.P., Graham D.Y., Rokkas T., El Omar A., and Kuipers E. (2012). Management of *Helicobacter pylori* infection: The infection: The Maastricht IV Florence Consensus Report. *Gut*, 61: 646-664.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Hungin APS., Jones R., and Axon DY., et al. (2000). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report, *Aliment Pharmacol Ther*, 2002, 16: 167-80.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Bazzoli F., El-Omar E., Graham D., Hunt R., Rokkas T., Vakil N. et Kuipers EJ. (2007). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*, 56:772-781.
- Malfertheiner P., Mégraud F., O'Morain C., Hungin AP., Jones R., Axon A., Graham DY. and Tytgat G. (2002). European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPSG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht 2 - 2000 consensus report. *Aliment parmacol Ther*, 16:167-170.
- Marshall, B. J. (1986). *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *Journal of Infection and Diseases*, 153: 650-7.
- Mc-Nulty C.A et Wyatt J.I. (1999). *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical and Pathology*. 52: 338-34.
- Megraud F et Lehours P. (2007). *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial. 64p.
- Megraud F. H. (2004). *Helicobacter Pylori* Resistance: Prevalence, importance, and advances in testing. *Gut*, 53:1374-84.
- Megraud F. (1994). Direct and indirect diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infections, *Gastroenterology and Clinical Biology*, 18: 217-22.
- Megraud F. et Broutet N. (2000). Epidemiology, acquisition and transmission of *Helicobacter pylori*, *Review Practice*, 50: 1414-7.
- Midolo PD, Korman MG, Turnidge JD, Lambert JR. (1996) *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline. *Lancet*, 347: 1194-11195.

- Miendje Deyi VY., Bentatou Z., Maaroufi Y., Scaillon M., Cadranel S., Burette A., Reynders M. (2011). The diagnosis of resistance of *Helicobacter pylori* by other methods than culture: what, how, costs and availability. *Acta Gastroenterology Belgium*, 2010: 73-101.
- Mohammadi M, (2000). Génotypage des souches iraniennes d'*Helicobacter pylori* basé sur la PCR-RFLP des gènes conservés et non-conservés. Société de pathologie exotique. Paris. 83p.
- Ndip R.N., Malange Takang A.E., Ojongokpokoje., Luma H.N., Malongue A., Akoachere J.F., Ndip L.M., Mac Millan M., Weaver L.T. (2008). *Helicobacter pylori* isolates recovered from gastric biopsies of patients with gastro-duodenal pathologies in Cameroon: current status of antibiogram. *Tropical Medecinal International and Health*, 13: 848-854.
- Petrenkiene V., Vitkauskiene A., Jonaitis L., Kupeinskas L., Wadstrom T. (2004). Detection of *Helicobacter spp.* in liver biopsy specimens. *Acta medical*. 2004, 11: 31-35.
- Prescott J.F. (2004). Antimicrobial chemotherapy. *In Veterinary Microbiology*, 26-43.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein A.D. (2003). Microbiologie – 2eme édition française. Editions De-boeck Université. Bruxelles. 49p.
- Prieto G., Polanco I. (1992). *Helicobacter pylori* infection in children: clinical, endoscopic, and histologic correlations. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 14: 420-5.
- Razafimahefa SH., Rakotoarivelo RA. et, Andriamampionona TF. (2012). *Helicobacter pylori* : Quel traitement d'éradication en cas d'échec de 2 lignes de traitement comprenant le métronidazole et la clarithromycine en zone tropicale? Médecine Santé Tropicale.
- Recordati C., Gualdi V., Tosi S., Facchini R V., Pengo G., Luini M, Simpson K.W. and Scanziani E. (2007). Detection of *Helicobacter spp.* DNA in the oral cavity of dogs. *Veterinary Microbiology*, 119: 346–351.
- Ricci C., Holton J., and Vaira D. (2007). Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non-invasive tests. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 21: 299-313.
- Rochard E. (2000). Contribution à l'étude de l'infection de l'estomac par les bactéries du genre *Helicobacter* chez les carnivores domestiques. Thèse pour le diplôme de docteur vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire de Nantes. France 140 p.

- Roy A., and Saraf S. (2006). Ethnomedicinal Approach in Biological and Chemical Investigation of Phytochemicals as Antimicrobials. *Pharmaceutical Reviews*, 4: 5-1.
- Samuels A. L., Windsor H. M. (2000). Culture of *Helicobacter pylori* from a gastric string may be an alternative to endoscopic biopsy. *Journal of Clinic and Microbiology*, 38: 2438-9.
- Seck A., Mbengue M., and Gassama-Sow A. (2009). Antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori* isolates in Dakar, Senegal. *Journal of Infection Developing Countries*, 3:137-40.
- Taylor, D. N. and Blaser M. J. (1991). The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Epidemiology Review*, 13: 42-59.
- Thyagarajan SP., Ray P., Das BK., Ayyagari A., Khan AA., Dharmalingman S., Rao UA., and Rajasambandam P. (2003). Geographical difference in antimicrobial resistance pattern of *Helicobacter pylori* clinical isolates from Indian patients: Multicentric study. *Journal Gastroenterology and Hepatology*, 18: 1373-8.
- Tiwari S.K., Khan A.A., Ibrahim M., Habeeb M.A. et Habibullah C.M. (2006). *Helicobacter pylori* and other *Helicobacter* species DNA in human bile samples from patients with various hepato-biliary diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 12: 2181-2186.
- Vaira D., Holton J. (2000). Review article: invasive and non-invasive tests for *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*, 3: 13-22.
- Vakil N., Mégraud F. (2007). Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 133:985-1001.
- Vandenplas Y. et Blecker U. (1992). Contribution of the ¹³C-urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. *Pediatrics*, 90: 608-11.
- Wex T., Venerito M., Kreutzer J., Götze T., Kandulski A. and Malfertheiner P. (2011). Serological Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Saxony-Anhalt, in Germany. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18:2109-2112.
- Xiao Z.P., Shi D.H., Li H.Q., Zhang L.N., Xu C. et Zhu H.L. (2007). Polyphenols based onisoflavones as inhibitors of *Helicobacter pylori* urease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 15: 3703–3710.
- Zumkeller N., Brenner H., Chang-Claude J., Hoffmeister M., Nieters et Rothenbacher D. (2007). *Helicobacter pylori* infection, interleukin-1 gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer: Evidence from a case-control study in Germany, *European Journal of Cancer* 43: 1283–1289.

ANNEXES

Annexe 1 : Quelques photos de manipulations au laboratoire



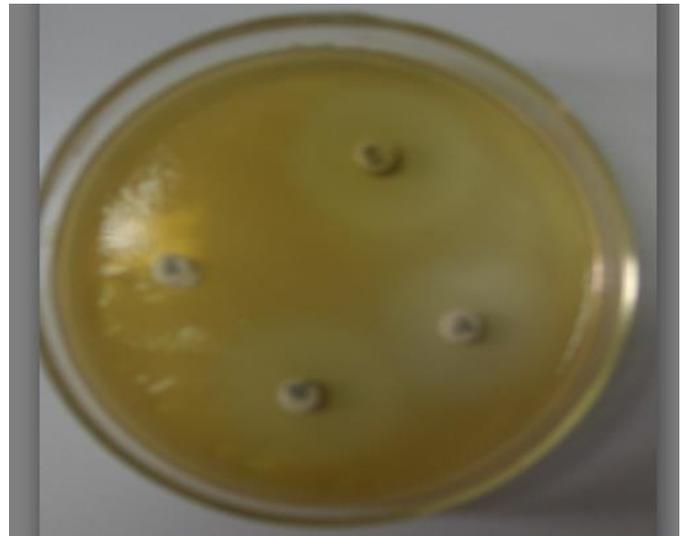
Titre : Balance ultrasensible



Titre : Quelques antibiotiques



Titre :



Titre : Un antibiogramme



Titre : Mesure de l'auréole avec un pied à coulisse



Titre : Test à l'uréase

Annexes 2 : Composition des milieux de culture

➤ **Milieu Columbia**

- Polypeptones : 17,0 g/L
- Peptone pancréatique de coeur : 3,0 g/L
- Amidon de maïs : 1,0 g/L
- Chlorure de sodium : 5,0 g/L
- Extrait de levure : 3,0 g/L
- Agar : 13,5 g/L
- pH = 7,3 ± 0,2

➤ **Milieu urée -idole**

- L-tryptophane : 3 g -Urée : 20 g
- Monophosphogénophosphate de potassium : 1 g
- Dihydrogénophosphate de potassium : 1 g
- Chlorure de sodium : 5 g Éthanol à 95 °GL : 10 ml
- Rouge de phénol : 25 mg
- Eau distillée : 1 l

➤ **Milieu Mueller-Hinton**

- Infusion de viande de boeuf:300,0 ml
- Peptone de caséine:17,5 g
- Amidon de maïs:1,5 g
- Agar: 17,0 g
- pH = 7,