

HELICOBACTER PYLORI

DEFINITION - BIOPATHOLOGIE

H. pylori (Hp) est un bacille à Gram négatif de forme spiralée et doté de flagelles qui lui confèrent une grande mobilité dans le mucus digestif.

L'infection à Hp est l'infection bactérienne la plus répandue dans le monde (50 % de la population) mais il existe de grandes disparités géographiques. En effet, sa prévalence est > 90 % en Asie, Amérique latine et pays en voie de développement, de 50 à 70 % en Europe de l'Est et de 30 % environ dans les pays occidentaux. Dans nos pays, son incidence annuelle est élevée chez les enfants de moins de 5 ans (3 %) et faible chez l'adulte (0,3 %). Tous les sujets infectés ont une gastrite chronique qui persistera toute la vie : 50 % auront une gastrite atrophique, 17 % un ulcère gastro-duodénal et 1 à 5 % un cancer gastrique. Un traitement est toujours nécessaire.

Le réservoir de Hp est l'estomac des humains et des primates ; un réservoir environnemental dans l'eau de pluie a été évoqué mais est contesté.

La transmission est interhumaine (transmission intra-familiale), par voie orale probablement (rôle des vomissements). Les facteurs de risque sont la promiscuité et le bas niveau socio-économique.

Hp possède plusieurs facteurs de pathogénicité : il sécrète en grande quantité une uréase qui neutralise l'acidité dans l'estomac ; ses flagelles lui permettent de se mouvoir dans le mucus gastrique. Il possède aussi des adhésines qui lui permettent d'adhérer aux cellules épithéliales et des enzymes (superoxyde dismutase et catalase) qui lui confèrent une résistance à la phagocytose. Ses trois facteurs de virulence sont la toxine *VacA*, l'îlot de pathogénicité *Cag* et l'*OipA*, une protéine de la membrane externe associée à la présence d'ulcère, de cancer, une plus grande densité bactérienne et une inflammation importante.

Le gène codant la cytotoxine *VacA* est présent chez toutes les souches, mais n'est pas toujours actif. Cette toxine induit l'apoptose, provoque *in vitro* la vacuolisation des cellules et inhibe l'activation des lymphocytes T (rôle dans la chronicité).

L'îlot de pathogénicité *Cag* est constitué de 25 à 30 gènes dont *CagA* codant une protéine très immunogène. La translocation de *CagA* associée à l'injection de peptidoglycane de Hp vers la cellule infectée active NF *KappaB* et induit la synthèse d'IL8 concourant à une réponse inflammatoire très importante. Lorsque *Cag* entre dans la cellule, il est phosphorylé, entraînant un réarrangement du cytosquelette, la destruction de la jonction serrée entre les cellules et la genèse de lésions.

Ainsi, les lésions de la muqueuse gastrique résultent de l'action directe des toxines, d'une inflammation très importante induite surtout par l'îlot de pathogénicité *Cag* et l'uréase et de la dérégulation de la sécrétion acide

Au plan clinique, le sujet contaminé développe une gastrite aiguë qui va perdurer en gastrite chronique (Hp persiste toute la vie dans l'estomac). Lors de la colonisation, si le sujet infecté est constitutionnellement un "hypersécréteur" acide, Hp se réfugie dans l'antrum où le pH est légèrement plus élevé et l'infection va plutôt évoluer vers un ulcère duodénal. Si le sujet est "hyposécréteur" acide, Hp se répand dans toute la muqueuse gastrique et l'infection évoluera plutôt vers un ulcère gastrique, un lymphome ou un cancer. L'issue clinique résulte donc de facteurs bactériens de pathogénicité, de facteurs génétiques de l'hôte (sécrétion acide, IL-1 β), de facteurs environnementaux protecteurs (vitamine C) ou aggravants (sel), ainsi que de la localisation et de la durée de l'infection.

■ Les manifestations cliniques chez l'enfant

L'ulcère est rare, mais existe (ulcère et/ou érosions chez 8 à 10 % des enfants subissant une endoscopie). Des douleurs abdominales récurrentes peuvent évoquer une infection à Hp, mais, en réalité, l'infection à Hp ne peut être reliée à aucune pathologie digestive particulière chez l'enfant.

D'autres manifestations extra-digestives peuvent être évocatrices :

- une anémie ferriprive : un plus fort taux d'infection à Hp a été observé chez les enfants présentant une anémie ferriprive inexpliquée et l'éradication d'Hp a permis une augmentation du taux d'hémoglobine alors que le fer n'avait eu aucun effet,
- un purpura thrombopénique immun : une augmentation des plaquettes est observée dans 50 % des cas après traitement anti-Hp,
- un retard de croissance (études contradictoires).

Synonyme : Hp.

INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Selon la conférence de consensus de Maastricht 4 en 2010 sur *Helicobacter pylori*, sa recherche et son éradication sont recommandées dans les situations suivantes :

- Ulcères gastriques et duodénaux,
- Malades à haut risque de cancer gastrique (apparentés du premier degré de malades ayant eu un cancer gastrique, malades ayant des lésions pré-néoplasiques, malades nés dans un pays à haute incidence de cancer, patients traités par IPP au long cours),
- Lymphomes du MALT,
- Dyspepsies non ulcéreuses,
- AINS au long cours (prévention),

- Aspirine au long cours,
- Anémie ferriprive inexpliquée,
- Purpura thrombopénique idiopathique.

Chez l'enfant, la recherche d'Hp est recommandée dans les situations suivantes :

- Symptomatologie évoquant un ulcère,
- Histoire familiale d'ulcère ou de cancer gastrique,
- Anémie ferriprive sans cause reconnue,
- Purpura thrombopénique idiopathique,
- Douleurs abdominales après élimination des autres causes (constipation, intolérance au gluten, au lactose),
- Retard de croissance.

Quels tests utiliser en diagnostic ?

- Utiliser chaque fois que possible les tests bactériologiques avec culture ou tests moléculaires détectant les résistances à la clarithromycine ;
- Utiliser le test respiratoire avant mise sous AINS et chez les apparentés de sujets ayant fait un cancer gastrique avant 45 ans, asymptomatiques ;
- Utiliser la sérologie chez les malades sous IPP, en cas d'hémorragie digestive ou chez les patients ayant un lymphome du MALT.

■ PRELEVEMENT

Sérologie : sérum (tube sec). Il n'est pas nécessaire que le patient soit à jeun.

Recherche d'Ag Hp dans les selles : un échantillon de selles en pot stérile.

Test respiratoire à l'urée marquée : Ce test dispose en France de deux statuts : d'une part, c'est un médicament (remboursé à 65 % par la sécurité sociale), d'autre part, une analyse biologique, cotée à la NABM. Le patient doit se procurer l'urée marquée, sous forme de kit prêt à l'emploi, en pharmacie (d'officine ou hospitalière) sur prescription médicale. Deux tests sont commercialisés en France : Helicobacter test INFAI[®] et Heli-kit[®]. Ils comportent tous deux la même dose d'urée marquée (75 mg).

Le test doit être réalisé après arrêt de tout traitement antibiotique depuis au moins 4 semaines, arrêt des anti-sécrétoires (inhibiteurs de la pompe à protons, anti-H2) depuis au moins 2 semaines, arrêt des anti-acides et pansements gastro-intestinaux depuis 24 h. Le sujet doit être à jeun depuis la veille, au repos sans boire, ni manger, ni fumer pendant l'épreuve.

Matériel à prévoir par le laboratoire

Si le patient vient avec un Heli-kit[®] : prévoir 4 tubes secs (sans gel séparateur) de marque Extainer[®] de 10 ml avec bouchon en caoutchouc (ref 368441) et une paille.

Si le patient vient avec un test INFAI[®], prévoir une briquette de jus d'orange de 200 ml.

Le test consiste à faire ingérer au patient une solution d'urée marquée au carbone 13 (isotope stable et non radioactif du carbone 12). L'air expiré par le patient est

recueilli avant la prise d'urée marquée au C¹³ (T0) puis 30 minutes après. Le repas test diffère : il s'agit de jus d'orange dans le cas du test INFAI[®] et d'acide citrique dans le cas d'Heli-kit[®]. Le protocole précis du prélèvement est explicité dans le kit.

Culture et antibiogramme : biopsie antrale et/ou fundique, transportée dans du sérum physiologique et conservée 24 h à + 4 °C. Elle peut aussi être transportée dans un Portagerm[®] ou être congelée à - 80 °C (dès le prélèvement en salle d'endoscopie).

Biopsie antrale et/ou fundique : transportée et conservée dans un milieu de transport pour culture d'Hp à + 4 °C.

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Vérifier la réalité du jeûne (aliments, boissons, tabac) avant un test respiratoire.

Traitement en cours ? Date de l'arrêt du traitement d'éradication en cas de contrôle post-éradication.

■ CONSERVATION ET TRANSPORT

Prélèvement de sang pour sérologie : conservation du sérum 24 heures à + 4 °C; 1 an à - 20 °C.

Test à l'urée marquée : les tubes convenablement identifiés et comportant l'heure des prélèvements se conservent à température ambiante.

Biopsie pour culture ou PCR : cf ci-dessus.

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions précises de prélèvement et conservation-transport.

VALEURS DE REFERENCE

Les tests invasifs font appel à l'endoscopie digestive qui permet la réalisation de biopsies. Les techniques, leurs performances, avantages et inconvénients sont résumés dans le tableau 1.

■ Culture et antibiogramme

La culture nécessite 10 à 14 jours en microaérophilie, sur gélose Brucella + 10 % de sang de cheval + antibiotiques (vancomycine, cotrimoxazole, amphotéricine) ou sur gélose "pylori" Mérieux. L'antibiogramme est obtenu en 12 jours en microaérophilie sur gélose Mueller Hinton + 5 à 10 % de sang de cheval ou de mouton, avec un inoculum très riche (Mc Farland 3).

Les résistances sont à rechercher vis-à-vis de la clarithromycine, du métronidazole, de l'amoxicilline, de la tétracycline et de la ciprofloxacine. Les méthodes à utiliser sont phénotypiques (antibiogramme) ou génotypiques (PCR).

Détection de la résistance à la clarithromycine (Cla)

La cible de la Cla est l'ARN ribosomal 23 S et le mécanisme de la résistance est une perte d'affinité pour

la cible par mutations dans la séquence codant l'ARNr 23S.

Les techniques phénotypiques utilisent la technique de dilution en gélose avec un disque d'érythromycine (disque Ery 15) [recommandations du GEFH diffusées par le CA-SFM] ou un E-test® clarithromycine (bonne concordance entre les deux tests). Les techniques génotypiques sont la PCR-RFLP (résultat en 12 à 24 h), la PCR LiPA (6 h) ou la PCR en temps réel (2-3 h).

Détection de la résistance au métronidazole (Mtz)

Le support génétique de la résistance est multiple : *rdxA* (NADPH nitroréductase), *fixA* (flavin oxydoréductase) et *fdxB* (NADPH ferredoxine-like protein). Les méthodes utilisées pour la détection de cette résistance sont la méthode des disques et le E test®, mais il existe une mauvaise corrélation entre les méthodes et une mauvaise reproductibilité, avec résistance hétérogène et populations mixtes fréquentes. La méthode de référence reste la dilution en gélose.

Détection de la résistance à l'amoxicilline (Amx) et à la ciprofloxacine (Cip)

La résistance à l'Amx est due à une modification des PLP1A et la résistance aux quinolones à une mutation sur *gyr A*. La résistance est détectée par disques et E Tests®.

■ LES TESTS NON INVASIFS

Ils sont utilisés lorsqu'il n'est pas nécessaire de procéder à une endoscopie.

Le test respiratoire à l'urée marquée au carbone 13

En présence d'*Hp*, l'urée marquée est scindée en ammonium et bicarbonates. Puis les bicarbonates sont transformés, sous l'influence de l'acidité gastrique, en gaz carbonique marqué au C¹³, qui sera ensuite éliminé dans l'air expiré. Les taux de gaz carbonique marqué au C¹³ sont mesurés par spectrométrie de masse isotopique couplée à la chromatographie en phase gazeuse (méthode de référence) ou par spectrométrie infrarouge.

La détection d'antigènes (Ag) bactériens dans les selles par EIA

Les premiers tests étaient fondés sur la détection d'Ag avec Ac polyclonaux, puis Ac monoclonaux. Les derniers nés, qui semblent montrer les meilleures performances, sont fondés sur l'immunochromatographie (*Doctor-test*, Ac monoclonaux).

Sérologie (sérum, urines, salive): détection d'anticorps anti-*H. pylori*

Il existe actuellement de grandes différences entre les tests sérologiques disponibles sur le marché. D'une manière générale, la sensibilité est faible chez l'enfant avant 6 ans (faux négatifs) et la sérologie est moins performante que les autres tests non invasifs.

Avantages et inconvénients des tests diagnostiques

Voir tableau 1.

Quels tests utiliser ?

En diagnostic :

- Chez l'adulte : en cas d'hémorragie, de lymphome du MALT ou d'atrophie gastrique : sérologie.
- Les tests invasifs : l'endoscopie (avec biopsies) réalisée après arrêt des inhibiteurs de la pompe à protons permet la recherche d'autres pathologies et est recommandée si la résistance à la clarithromycine est > 15 % dans la population générale (recommandations 2005) ou après 2 échecs de traitement.
- Les tests non invasifs : dans les autres cas : test respiratoire ou Ag dans les selles (Ac monoclonaux).

Contrôle d'éradication :

- Test respiratoire : 4 à 6 semaines après l'arrêt du traitement, test fiable et précis.
- Recherche d'Ag dans les selles : 1 mois après l'arrêt des IPP.
- Sérologie : non, uniquement pour les études épidémiologiques.

TRAITEMENT

biomnis – biomnis

La résistance des souches de *H. pylori* à la clarithromycine ayant beaucoup augmenté ces dernières années en Europe (taux de résistance > 20 % sauf dans les pays du Nord du continent), l'efficacité globale du traitement standard de première ligne (IPP [inhibiteur de la pompe à protons] + clarithromycine + amoxicilline) (Maastricht 3, 2005) n'est plus que de 60 à 70 %. D'où la nécessité d'une évolution des protocoles thérapeutiques lors du consensus de Maastricht 4 (novembre 2010).

Dans les pays à haut niveau de résistance, il est recommandé :

- soit un traitement séquentiel comportant IPP + amoxicilline pendant 5 jours, suivi de 5 jours d'un IPP + clarithromycine + métronidazole ;
- soit une quadrithérapie à base de bismuth + IPP + métronidazole + cycline pendant 10 jours. Les sels de bismuth étant interdits en France, cette seconde option ne peut être utilisée actuellement. Cependant, un nouveau médicament (Pylera®) qui renferme à la fois des sels de bismuth, de la tétracycline et du métronidazole va bientôt être commercialisé en Europe (AMM européenne en cours en 2011). La France aura alors accès à cette alternative thérapeutique.

Dans les pays du nord de l'Europe (Scandinavie, Angleterre, Irlande, Pays-Bas, Pays baltes), le schéma thérapeutique de Maastricht 3 est toujours en vigueur. Quant à l'Espagne et l'Allemagne, qui connaissent une situation intermédiaire avec des taux de résistance à la clarithromycine n'atteignant pas encore 15 %, la question du traitement de première intention reste débattue.

En cas d'échec du traitement de première ligne, il est recommandé d'utiliser une fluoroquinolone (lévofloxacine ou moxifloxacine) associée à un IPP et à l'amoxicilline pendant 10 jours. Les facteurs d'échec sont la résistance primaire à la clarithromycine, l'âge (< 50 ans), le tabagisme et la mauvaise observance (manque de motivation du patient et manque d'explication).

POUR EN SAVOIR PLUS

■ Conférence de consensus *Helicobacter pylori* – Révision 1999. Conclusions et recommandations révisées du groupe de travail. Gastroenterol Clin Biol 1999; 23: C95-C104.

■ Raymond, communication lors du XXXVI^e Colloque national des Biologistes des hôpitaux, Dijon, octobre 2007.

■ Consensus Maastricht 4 (novembre 2010). www.jim.fr

Tableau1 : Avantages et inconvénients des tests diagnostiques

Type	Sensibilité	Spécificité	Avantages	Inconvénients
Examen anatomopathologique	> 90 %	> 90 %	Diagnostic histologique des lésions + performances	Fiabilité dépend du site, du nombre, de la taille des lésions et de l'expérience de l'anatomopathologiste
Culture	80 à 95 %	100 %	Permet antibiogramme	Conditions difficiles de transport (< 4h à + 4 °C ou dans milieux spéciaux) et de culture
Test rapide à l'uréase	> 80 %	95 %	Diagnostic rapide (< 4 h)	Si négatif, compléter par examen anapath + Diminution de sensibilité si faible densité d'Hp
PCR	> 90 %	100 %	Conditions de transport et conservation faciles, résultat rapide + test de la sensibilité aux macrolides.	
Recherche d'Ag dans les selles	Variable ≈ 92 %	Variable ≈ 93 %	Simplicité, surtout chez l'enfant et contrôle plus précoce de l'efficacité du traitement	Résultats variables chez l'enfant, moins spécifique que les autres tests, recueil désagréable pour le patient, délai de réalisation / arrêt traitement IPP* ou ATB** (1 mois), coût
Sérologie	Variable 60 à 95 %	Variable 60 à 95 %	Pas de délai/ arrêt traitement par IPP ou antibiotiques, simplicité	Faux positifs (Ac diminuent 4 à 6 mois après éradication, mais de manière inconstante)
Test respiratoire à l'urée	98 %	98,5 %	Performances (avant ou après éradication), simplicité	Délai / traitement : nécessité d'arrêt des IPP depuis 2 sem et des ATB depuis 4 sem. Non utilisable chez le jeune enfant.

* IPP : inhibiteurs de la pompe à protons

** ATB : antibiotiques