



**Université Mohammed V -
Rabat Faculté de Médecine
et de Pharmacie**



RABAT

Année 2022

N° : MM292022

MEMOIRE DE MASTER

MASTER DE « BIOTECHNOLOGIE MEDICALE »

OPTION : « BIOMEDICALE »

Intitulé

**Etude du profil épidémiologique de l'infection par
Helicobacter pylori et de l'association du gène vacA avec
la carcinogenèse gastrique**

Soutenu par :

FERRI Karima

Le 25 juillet devant le jury composé de :

Pr. AANNIZ Tarik, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, **Président**

Dr. BOURA Hasna, Institut Pasteur du Maroc de Casablanca, **Encadrante**

Pr. ABIDI Omar, Institut supérieur des professions infirmières et techniques de santé
de Casablanca. **Examineur**

Pr. BENTAYEBI Kaoutar, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, **Examinatrice**



Année 2022

N° : MM292022

MEMOIRE DE MASTER

MASTER DE « BIOTECHNOLOGIE MEDICALE »

OPTION : « BIOMEDICALE »

Intitulé

**Etude du profil épidémiologique de l'infection par
Helicobacter pylori et de l'association du gène vacA avec
la carcinogenèse gastrique**

Soutenu par :

FERRI Karima

Le 25 juillet devant le jury composé de :

Pr. AANNIZ Tarik, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, **Président**

Dr. BOURA Hasna, Institut Pasteur du Maroc de Casablanca, **Encadrante**

Pr. ABIDI Omar, Institut supérieur des professions infirmières et techniques de santé
de Casablanca. **Examineur**

Pr. BENTAYEBI Kaoutar, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, **Examinatrice**

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail

A :

Mes chers parents : Mohammed, Milouda

Source de tendresse et le bonheur de ma vie.

*Je souhaite que ce travail soit le fruit de vos durs
labeurs,*

Qu'Allah les protèges et prolonge leur vie.

A Mes chers sœurs : Meriem, Khadija.

A toutes mes chers amis,

A tous ceux que j'aime et à tous ceux qui m'aiment.

*Et à la fin à toutes les personnes m'ayant consacré
un moment pour m'aider, Me conseiller, m'encourager.*

Remerciements

Tout d'abord, je remercie **Dieu le tout puissant** de m'avoir donné la force d'accomplir ce travail.

Remerciements spéciaux à **Pr. OUADGHIRI Mouna**, coordinatrice du master « Biotechnologie Médicale » et à **Pr. IBRAHIMI Azzedine**, pour tous leurs efforts et à tous les professeurs du département de Biologie.

Je voudrais également remercier spécialement mon encadrante de stage à l'institut Pasteur du Maroc, **Dr. BOURA Hasna**, responsable du laboratoire « *Helicobacter pylori* et pathologies gastriques », pour son immense gentillesse, et ses précieuses consignes. Merci de m'avoir guidé lors de ma période de stage et soutenue tout au long de ce travail.

Des remerciements spéciaux à tous les membres de jury.

Je remercie également **KHEIR Fatima zahra**, Doctorante au sein du laboratoire « *Helicobacter pylori* et pathologies gastriques », qui n'a cessé de m'orienter et de me transmettre son savoir à propos de mon sujet.

RESUME

Le cancer gastrique reste un problème de santé publique dans le monde. C'est une affection multifactorielle où *Helicobacter pylori* occupe la première place parmi les paramètres étiopathogéniques. L'infection par *H. pylori* provoque chez l'homme une gastrite qui, après plusieurs années d'évolution chronique, peut aboutir, dans certains cas, au cancer gastrique. La présente étude a donc visé à évaluer la prévalence de l'infection par *H. pylori* ainsi qu'à étudier l'association des génotypes de la région « s » du gène vacA avec le risque de développer un cancer gastrique chez une population marocaine. Au total, 80 patients ont été inclus dans l'étude. L'amplification du gène ureC par PCR a été réalisée pour détecter la présence de la bactérie. La PCR a également permis de déterminer les génotypes de la région « s » présents chez les patients. La prévalence de l'infection chez la population étudiée était de 92,5 %. L'impact de l'âge, le sexe et les facteurs socio-économiques sur la prévalence de l'infection ainsi que sur la sévérité des lésions gastriques a été évalué dans ce travail, et aucune association significative n'a été établie (P value > 0,05). La prévalence du génotype s1 était de 62,5 % et celle de s2 était de 37,5 %. Une association entre le génotype s1, s2 et le développement des lésions précancéreuses a été démontrée chez notre population mais celle-ci reste statistiquement non significative (P value = 0,47).

Mots clés : *Helicobacter pylori*, cancer gastrique, gène vacA, prévalence, PCR.

Abstract

Gastric cancer remains a public health problem in the world. It is a multifactorial disease in which *Helicobacter pylori* occupies the first place among the etiopathogenic parameters. Infection with *H. pylori* causes gastritis in humans which, after several years of chronic evolution, can lead, in some cases, to gastric cancer. The present study aimed to evaluate the prevalence of *H. pylori* infection and to study the association of genotypes of the « s » region of the vacA gene with the risk of developing gastric cancer in a Moroccan population. A total of 80 patients were included in the study. PCR amplification of the ureC gene was performed to detect the presence of the bacterium. PCR was also used to determine the genotypes of the « s » region present in the patients. The prevalence of infection in the study population was 92.5%. The impact of age, gender, and socioeconomic factors on the prevalence of infection as well as on the severity of gastric lesions was evaluated in this work, and no significant association was established (P value > 0.05). The prevalence of s1 genotype was 62.5% and that of s2 was 37.5%. An association between the s1, s2 genotype and the development of precancerous lesions was demonstrated in our population but it remains statistically insignificant (P value = 0.47).

Key words: *Helicobacter pylori*, gastric cancer, vacA gene, prevalence, PCR.

ملخص

لا يزال سرطان المعدة يمثل مشكلة صحية عامة في جميع أنحاء العالم. إنه مرض متعدد العوامل حيث تحتل هيليكوباكتر بيلوري المرتبة الأولى بين العوامل المسببة للأمراض. تسبب الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية التهاب المعدة لدى البشر والذي يمكن أن يؤدي في بعض الحالات إلى سرطان المعدة بعد عدة سنوات من التطور المزمن. هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم مدى انتشار عدوى الملوية البوابية ودراسة ارتباط الأنماط الجينية للمنطقة « s » من الجين *vacA* بخطر الإصابة بسرطان المعدة لدى السكان المغربيين. تم تضمين ما مجموعه 80 مريضاً في الدراسة. تم إجراء تضخيم PCR لجين *ureC* للكشف عن وجود البكتيريا. كما تم استخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل لتحديد الأنماط الجينية للمنطقة « s » الموجودة في المرضى. كان انتشار العدوى في مجتمع الدراسة 92.5%. تم تقييم تأثير العمر والجنس والعوامل الاجتماعية والاقتصادية على انتشار العدوى وكذلك على شدة الآفات المعدية في هذا العمل ، ولم يتم إنشاء ارتباط كبير ($P > 0.05$). بلغ معدل انتشار النمط الجيني s1 62.5% وكان انتشار النمط الوراثي s2 37.5%. تم إثبات وجود ارتباط بين النمط الجيني s1 و s2 وتطور الآفات السرطانية في مجتمعنا ولكنه لا يزال غير مهم من الناحية الإحصائية (قيمة $P = 0.47$).

الكلمات المفتاحية: هيليكوباكتر بيلوري ، سرطان المعدة ، جين *vacA* ، الانتشار ، تفاعل البوليميراز المتسلسل.

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARNm: Acide ribonucléique messenger

BabA: Blood group antigen binding adhesion

BET : Bromure d'éthidium

CagA : Cytotoxin Associated Gene A

CagPAI : îlot de pathogénicité cag

CG : Cancer gastrique

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CO2 : Dioxyde de carbone

d NTP : désoxyribonucléotide triphosphate

Dup A: Duodenal Ulcer promoting gene

EDTA: Ethylène Diamine Tetra Acétique

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ERK : Extracellular signal-regulated kinase

Fla A : Flagelline majeur A

Fla B : Flagelline mineure B

GA : Gastrite atrophique

GC : Gastrite chronique

H. pylori : *Helicobacter pylori*

HtrA: Protease high temperature requirement A

IARC: International Agency for Research on Cancer

IL-8 : Interleukine 8

KDa : Kilodaltons

LPS : Lipopolysaccharide

MI : Métaplasie intestinale

NF- κ B: Nuclear Factor κ B

Nod 1: Nucleotide oligomerization domain 1

NTPase: Nucleoside-triphosphatase

OipA: Outer inflammatory protein A

PCR : Polymerase chain reaction

pH : force d'Hydrogène

RPTP : Récepteur tyrosine phosphatases

SabA : Sialic acid binding adhesion

SSTIV : Le système de sécrétion de type IV

TBE : Tris Borate EDTA

TE : Tris EDTA

UreA : Uréase A

UreB : Uréase B

UreC : Uréase C

VacA: Vacuolating cytotoxin A

Liste des figures

Figure 1 : Test à l'urée d'une biopsie.....	6
Figure 2 : Prévalence de l'infection à <i>Helicobacter pylori</i> dans le monde.	8
Figure 3 : Structure de l'estomac..	11
Figure 4 : Infection à <i>H. pylori</i> et affections digestives associées.	12
Figure 5 : Arrangement génétique de l'îlot de pathogénicité cag de <i>H. pylori</i>	16
Figure 6 : Schéma de l'architecture du SSTIV de <i>H. pylori</i>	16
Figure 7 : Le mécanisme de la transmigration paracellulaire de <i>H. pylori</i> par la protéase HtrA pour l'injection de la protéine CagA.	17
Figure 8 : Organisation VacA et diversité génétique.	19
Figure 9 : Organisation structurale des oligomères VacA solubles dans l'eau.	20
Figure 10 : Schéma représente les différentes activités de la protéines VacA sur les cellules épithéliales.....	21
Figure 11 : La diversité allélique du gène vacA	22
Figure 12 : Les Facteurs bactériens, environnementaux et héréditaires de l'hôte impliqués dans l'évolution de l'infection à <i>H. pylori</i>	23
Figure 13 : Principe du test respiratoire à l'urée marquée.....	26
Figure 14 : Algorithme de traitement en cas d'infection à <i>H. pylori</i> chez l'adulte.....	28
Figure 15 : Préparation du milieu de culture.....	37
Figure 16 : Etuve	37
Figure 17 : Observation microscopique d' <i>H. pylori</i> (×100).	38
Figure 18 : Test rapide à l'uréase positif effectué au laboratoire.....	39
Figure 19 : Test catalase positif effectué au laboratoire.	39
Figure 20 : Test oxydase positif.	40
Figure 21 : Prévalence de l'infection à <i>H. pylori</i> chez la population étudiée.....	44
Figure 22 : Représentation graphique de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction de sexe...	44

Figure 23 : Distribution de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction des différentes tranches d'âge.	45
Figure 24 : Distribution de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction du lieu d'habitat.	46
Figure 25 : Représentation graphique de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction de la consommation du tabac.	47
Figure 26 : Représentation graphique de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction de la consommation d'alcool.	48
Figure 27 : Distribution de la prévalence d' <i>H. pylori</i> en fonction des lésions gastriques.	49
Figure 28 : Distribution des pathologies gastriques en fonction du sexe.	51
Figure 29 : Distribution des pathologies gastriques en fonctions des classes d'âge.	52
Figure 30 : Distribution des pathologies gastriques en fonction du lieu d'habitation.	53
Figure 31 : Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation du tabac.	53
Figure 32 : Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation de l'alcool.	54
Figure 33 : Prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA dans la population étudiée.	55
Figure 34 : Distribution des génotypes s1 et s2 de la région s en fonction des pathologies gastriques.	55
Figure 35 : Profil d'électrophorèse du contrôle de l'ADN.	56
Figure 36 : Profil d'électrophorèse de la PCR du gène ure C.	57
Figure 37 : Profil d'électrophorèse de la PCR du gène vacA.	58

Liste des tableaux

Tableau I : Taux de prévalence d' <i>Helicobacter pylori</i> en Afrique	9
Tableau II : Les amorces utilisées pour amplification du gène ureC	33
Tableau III : Le milieu réactionnel de la PCR pour le gène ureC	33
Tableau IV : Programme des cycles d'amplification du gène ureC.	34
Tableau V : Les amorces utilisées pour amplification du gène vacA.	35
Tableau VI : Le milieu réactionnel de la PCR pour le gène vacA.	35
Tableau VII : Programme d'amplification de la région s du gène vacA.	36
Tableau VIII : Répartition de la population en fonction des différentes variables.	43
Tableau IX : Description de la population.....	50

Sommaire

Dédicace

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
Partie 1: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
I. <i>Helicobacter pylori</i>	4
1. Historique	4
2. Taxonomie	4
II. Caractères bactériologiques de <i>H. pylori</i>	4
A. Caractères morphologiques.....	4
B. Caractères cultureux.....	5
C. Caractères biochimiques et enzymatiques.....	5
D. Caractères génétiques	6
III. Epidémiologie de l'infection à <i>Helicobacter pylori</i>	7
1. Prévalence de l'infection	7
2. Transmission de l'infection	9
IV. Pathologies gastriques liées à <i>Helicobacter pylori</i>	10
1. Anatomie de l'estomac.....	10

2.	Histologie de l'estomac	10
3.	Les pathologies digestives	11
V.	Pathogénicité de <i>Helicobacter pylori</i>	14
1.	Facteurs liés à l'adhérence et à la colonisation	14
a)	L'uréase	14
b)	Les flagelles.....	15
c)	Les adhésines.....	15
2.	Facteurs liés à l'inflammation et endommagements tissulaire.....	15
a)	L'îlot de pathogénicité cag (cag PAI).....	15
b)	Le système de sécrétion de type IV (SSTIV)	16
c)	La protéine CagA.....	17
d)	Les lipopolysaccharides.....	18
e)	Le peptidoglycane	18
f)	La cytotoxine vacuolisante A (Vac A).....	18
g)	Autres protéines pro-inflammatoires	22
3.	Le déterminisme pathologique associé à <i>Helicobacter pylori</i>	23
VI.	Les méthodes de diagnostic	24
1.	Les méthodes invasives	24
2.	Les méthodes non invasives	25
VII.	Traitement de l'infection à <i>Helicobacter pylori</i>	26
	Partie 2 : MATERIEL ET METHODES.....	29
I.	Population étudiée et matériel biologique	30
1.	Le cadre de l'étude	30
2.	La population étudiée.....	30
3.	Le matériel biologique	31
II.	Etude moléculaire	31
1.	Extraction de l'ADN total à partir des biopsies gastriques	31
2.	Contrôle de la qualité d'extraction de l'ADN par électrophorèse	32
III.	Analyse moléculaire par PCR.....	33
a)	L'amplification du gène ureC par PCR.....	33

b)	L'amplification du gène vacA par PCR	34
c)	Révélation des produits PCR par électrophorèse.....	36
IV.	Etude bactériologique.....	37
1.	La culture bactérienne.....	37
2.	L'identification morphologique et biochimique de <i>H. pylori</i>	38
a)	La Coloration de Gram	38
b)	Les caractères biochimiques d'identification.....	38
	Partie 3 : RESULTATS.....	41
I.	Description de la population étudiée	42
II.	La prévalence de l'infection à <i>H. pylori</i> en fonction des facteurs socio-économique .	43
1.	La prévalence de l'infection à <i>H. pylori</i> chez la population étudiée	43
2.	La prévalence de l'infection en fonction du sexe	44
3.	La prévalence de l'infection en fonction de l'âge	45
4.	La prévalence de l'infection en fonction du lieu d'habitat.....	45
5.	La prévalence de l'infection en fonction de la consommation du tabac	46
6.	La prévalence de l'infection en fonction de la consommation d'alcool	47
7.	La prévalence de l'infection en fonction des pathologies gastriques.....	48
III.	Distribution des lésions gastriques en fonction des facteurs socio-économique....	49
1.	Distribution des lésions gastriques en fonction du sexe.....	50
2.	Distribution des lésions gastriques en fonction de l'âge.....	51
3.	Distribution des lésions gastriques en fonction du lieu d'habitation	52
4.	Distribution des lésions gastriques en fonction de la consommation du tabac...	53
5.	Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation de l'alcool.....	54
IV.	Etude du facteur de virulence VacA et son association avec les lésions gastriques	54
1.	Prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA dans la population étudiée. ...	54
2.	Distribution des génotypes de la régions s du gène vacA en fonction des lésions gastriques.....	55
V.	Résultats expérimentaux	56
a)	Contrôle de l'ADN	56

b) Amplification du gène ureC.....	56
c) Amplification du gène vacA.....	57
Partie 4 : DISCUSSION.....	59
Conclusion et perspectives.....	67
Références bibliographiques.....	
Annexes.....	

Introduction générale

Helicobacter pylori est une bactérie pathogène à Gram négatif, de forme hélicoïdale ou spirale (Arnion, 2011). L'organisation mondiale de la santé a classé *H. pylori* parmi les agents carcinogènes gastriques en 1994. Les patients infectés ont un risque jusqu'à vingt fois supérieur de développer un adénocarcinome gastrique (Bouyssou C. 2014).

L'infection à *H. pylori* constitue un problème mondial de santé publique car elle concerne environ 50% de la population mondiale. Sa prévalence est plus élevée dans les pays en développement dépassant 95% dans certains pays africains dont le Maroc (Bossali. F, *et al.*,2017). La répartition de *H. pylori* est influencée par l'âge, le sexe, la situation géographique, et les facteurs socio-économiques (Zamani M, *et al.*, 2018).

H. pylori possède plusieurs facteurs de virulence qui lui permettent de survivre et de persister dans l'estomac humain en résistant à son acidité et en altérant l'intégrité de la muqueuse gastrique. Parmi ces facteurs, on trouve des facteurs de colonisation comme les flagelles, les adhésines et l'uréase qui représente un facteur puissant catalysant l'urée en ammoniac et qui a pour rôle de neutraliser localement l'acidité gastrique pour créer un micro environnement favorable au développement de cette bactérie (Zamani M, *et al.*, 2018).

Il est maintenant clairement établi que *H. pylori* est une bactérie dont la responsabilité est connue dans les pathologies gastriques telles que les gastrites, l'ulcère ou encore le développement du cancer gastrique (Fakhar 2018). Le Maroc, un pays dont le développement et les transitions épidémiologiques croissent plus rapidement que la plupart des autres pays d'Afrique, possède un taux d'incidence relativement plus élevés en Afrique.

Le développement de la carcinogenèse gastrique implique l'interaction complexe des facteurs bactériens (facteurs de virulence), des facteurs de l'hôte (polymorphisme des gènes de l'inflammation), et des facteurs environnementaux.

L'induction et la progression des maladies associées à *H. pylori* sont déterminées principalement par l'oncoprotéine bactérienne VacA, codée par le gène *vacA*. Il a été

démontré que l'infection par les souches *H. pylori* VacA de type s1 est associée à un risque élevé de développer la métaplasie intestinale et le cancer gastrique.

Compte tenu de l'effet carcinogène du facteur de virulence VacA sur le risque de développement de la métaplasie intestinale et du cancer gastrique, les objectifs de notre étude sont :

- ✓ Déterminer la prévalence de l'infection à *H. pylori* dans une population marocaine souffrant des différentes lésions gastriques.
- ✓ Etudier l'impact de l'âge, le sexe et les facteurs socio-économique sur la prévalence de l'infection ainsi que sur la sévérité des lésions gastriques.
- ✓ Déterminer la prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA chez la population étudiée.
- ✓ Etudier l'association entre les génotypes de la région « s » du gène vacA et les différentes lésions de la carcinogène gastrique.

Partie 1 :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. *Helicobacter pylori*

1. Historique

La découverte de *H. pylori* a été un véritable bouleversement dans la communauté scientifique, Néanmoins, l'existence de cette espèce ainsi que les maladies liées à cette dernière sont cependant suspectées depuis plus d'un siècle (Trouillas, 2010).

En 1982, J. Robin Warren et Barry J. Marshall, deux chercheurs australiens, ont isolé et cultivé un micro-organisme à partir d'estomacs humains en soulignant l'homologie de la forme entre ce micro-organisme isolé pour la première fois et celle de *Campylobacter jejuni*, d'où la dénomination *Campylobacter pyloridis*, remplacée par *Campylobacter pylori*, puis *Helicobacter pylori* (Marshall *et al.*, 1984). Cette découverte valu le prix Nobel de médecine en 2005 à Barry Marshall et Robin Warren, pour leurs travaux sur cette bactérie.

Dans les années 90, un autre bouleversement s'opéra avec la mise en cause de *H. pylori* dans deux pathologies tumorales graves, l'adénocarcinome gastrique et le lymphome gastrique du MALT, modifiant totalement leur prise en charge (Malfertheiner *et al.* 2012).

2. Taxonomie

Le genre *Helicobacter* inclut diverses espèces de bactéries micro aérophiles colonisant soit l'estomac, soit l'intestin de différents mammifères (Raymond *et al.* 2000).

La classification actuelle de l'espèce *Helicobacter pylori* montre une appartenance au règne des *Bacteria*, la division des *Proteobacteria*, la classe des *Epsilon Proteobacteria*, l'ordre des *Campylobacterales*, la famille des *Helicobacteraceae*, le genre des *Helicobacter* et l'espèce *Helicobacter pylori* (Bouyssou C.2014).

II. Caractères bactériologiques de *H. pylori*

A. Caractères morphologiques

H. pylori est un bacille à Gram négatif, sa taille est de 2,4-4 µm de long et de 0,5-1 µm de diamètre, de forme spiralée et lophotriche (ciliature polaire de 4 à 6 flagelles), ce qui permet à la bactérie de se déplacer librement dans des environnements visqueux comme

le mucus gastrique de l'homme. (O'Toole *et al.*, 2000). Après une culture prolongée au-delà de 4 à 5 jours, *H. pylori* prend une forme coccoïde quand les conditions du milieu sont défavorables. Ces formes pourraient in vivo jouer un rôle dans la transmission de l'infection, ainsi de participer à la diversité génétique de la bactérie, voire à la transmission de gènes de résistance aux antibiotiques (Maillet A, *et al.*, 2005).

B. Caractères cultureux

H. pylori nécessite des conditions particulières de transport (un milieu de transport ou une congélation immédiate à - 80°C) et nécessite d'utiliser des milieux adaptés (Mégraud F, *et al.*, 1985).

Les cultures d'*H.pylori* poussent de façon optimale dans une atmosphère micro-aérophile exigeant 5% de O₂ et 10% de CO₂, elle est incapable de croître en anaérobiose. La température optimale de culture est de 37°C. Ainsi que le pH optimal de croissance se situe entre 6,9 et 8.

H. pylori est une bactérie exigeante, sa culture est longue, délicate et difficile, les colonies apparaissent en 3 à 7 jours pour une primoculture (Mégraud F, *et al.*, 1985), mais il faut attendre 10 à 14 jours pour confirmer la négativité de la culture. Il faut repiquer le milieu tous les 2 à 3 jours pour éviter la survenue de formes coccoïdes non cultivables (De Korwin J D, *et al.*, 2010). Les colonies apparaissent très fines, régulières, rondes, bombées, et non pigmentées avec un diamètre d'environ 1 mm, sur des milieux de culture additionnés de sang, de sérum ou de suppléments d'enrichissement tels que :

- ✚ La gélose sélective *Helicobacter pylori* (PYL) de Bio Mérieux
- ✚ La gélose Columbia/Brucella de Wilkins Chalgren, enrichie à 10% de sang de cheval ou de sang de mouton et supplémentée.

C. Caractères biochimiques et enzymatiques

H. pylori a un faible équipement enzymatique, elle ne peut pas dégrader l'hydrate de carbone ni par oxydation ni par fermentation. Elle utilise les acides aminés et les acides organiques comme source d'énergie mais pas les sucres, elle est donc asaccharolytique (Marshall BJ, *et al.*, 1999).

Le capital enzymatique de *H. pylori* est important puisqu'elle produit l'uréase qui neutralise l'acidité gastrique (**Figure 1**) (Mégraud F, *et al.*, 1992), elle produit également un groupe d'enzymes nécessaires pour sa survie, sa pathogénicité et son métabolisme (Sobhani L, *et al.*, 1983). Il s'agit d'une catalase, une oxydase, des peptidases, des amidases, des phospholipases, des phosphatases, et une superoxyde dismutase (De Korwin J D, *et al.*, 2010).



Figure 1 : Test à l'urée d'une biopsie. (Photo de l'étude)

D. Caractères génétiques

H. pylori compte parmi les espèces bactériennes présentant le plus grand polymorphisme génétique (Jiang *et al.*, 1996 ; Linz *et al.*, 2007). Son génome est composé de 1.5 Mb, dont environ 1 200 gènes sont communs à toutes les souches (core génome), et 200 à 400 gènes, situés dans l'îlot de pathogénicité cag (cagPAI), ou principalement dans des zones de plasticité, sont présents de manière variable entre les différentes souches. Cette bactérie possède un nombre important de systèmes de restriction-modification et des taux de mutation et de recombinaison plus importants que chez les autres bactéries, (Varon C *et al.*, 2013).

III. Epidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori*

1. Prévalence de l'infection

L'infection à *Helicobacter Pylori* constitue un problème mondial de santé publique car elle concerne environ 50% de la population mondiale. Sa prévalence est plus élevée dans les pays en développement dépassant 95% dans certains pays africains (BOSSALI F, *et al.*, 2017). La répartition de *H. pylori* est influencée par l'âge, le sexe, la situation géographique, l'appartenance ethnique et les facteurs socio-économiques (Zamani M, *et al.*, 2018).

L'Afrique a enregistré le taux le plus élevé d'infection à *H. pylori* avec une prévalence de 70,1 %, suivie de l'Amérique du Sud et de l'Asie occidentale avec une prévalence de 69,4 % et 66,6 %, respectivement. On présume que la forte prévalence d'*H. pylori* en Afrique est influencée par des facteurs socio-démographiques et géographiques (Hooi JKY, *et al.*, 2017).

Au Maroc l'infection à *H. pylori* concerne 70% de la population (Lahbabi, M *et al.*, 2013 ; Attaf. N *et al.*, 2004. **(Figure 2)**).

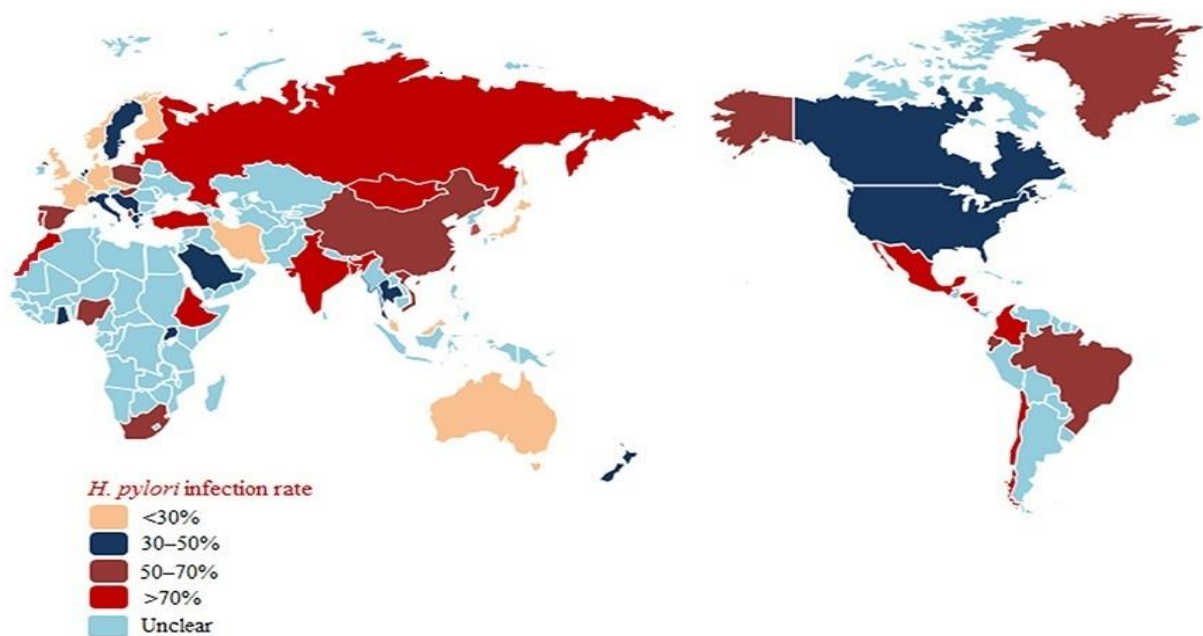


Figure 2 : Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* dans le monde.

« Frontiers | Novel and Effective Therapeutic Regimens for *Helicobacter pylori* in an Era of Increasing Antibiotic Resistance | Cellular and Infection Microbiology, 2017.

Une étude a été faite pour évaluer la prévalence de l'infection à *H. pylori* et le risque de développer des lésions précancéreuses gastriques et le cancer gastrique chez la population marocaine. Au total, 298 patients ont été recrutés, 68 sujets asymptomatiques et 230 patients souffrant de maladies gastriques (Bouder G, *et al.*,2017).

Les résultats de cette étude ont montré une prévalence élevée (92,6 %) chez les patients asymptomatiques (**Tableau I**). Ce résultat concorde bien avec les études épidémiologiques qui démontrent une prévalence élevée dans les pays en voie de développement notamment en Afrique, en Amérique latine, et dans certains pays asiatiques. Chez les patients souffrants de pathologies gastriques, la prévalence atteint un taux de 89,6%. (Bouder G, *et al.*,2017).

Tableau I : Taux de prévalence d'Helicobacter pylori en Afrique (Smith S, et al 2019)

Région	Échantillon inclus	Prévalence (%)
Afrique du Nord		
Maroc	Asymptomatique	92,6
	Trouble gastrique	89,6
Egypte	¹ Général	79,8
Afrique de l'Ouest		
Nigeria	¹ Général	87.7-89.7
Ghana	Enfants	14.2
Afrique de l'Est		
Ethiopie	Dyspeptique	52.2-53.0
Kenya	Enfants	73,3
	Adultes	54,8
Ouganda	Enfants	44.3
Afrique du sud		
Afrique du Sud	Morbidités liées à l'estomac	66.1
Rwanda	¹ Général	75,0

¹ **Général** : Personnes choisies sans préciser si elles sont symptomatiques ou asymptomatiques.

2. Transmission de l'infection

Une transmission de personne à personne par exposition oro-orale ou féco-orale semble la plus probable. La principale voie de transmission reste la voie intrafamiliale (Okuda *et al.*, 2015 ; Osaki *et al.*, 2015 ; Bui *et al.*, 2016), et gastro-orale par contamination par voie iatrogène (endoscopes contaminés) reste minoritaire mais existe (Yokota *et al.*, 2015). A cela, s'ajoutent dans les pays en voie de développement, le surpeuplement des ménages et les mauvaises conditions de vie (Hasosah *et al.*, 2015).

IV. Pathologies gastriques liées à *Helicobacter pylori*

1. Anatomie de l'estomac

L'estomac est un organe d'environ 20 cm de longueur sur 12 cm de largeur, situé sous le diaphragme, caractérisé par une grande courbure à gauche et une petite courbure à droite.

Anatomiquement, il est constitué d'une zone de jonction supérieure vers l'œsophage, appelée cardia et d'une zone de jonction inférieure vers l'intestin, appelée pylore. Entre ces deux extrémités, existe trois parties (**Figure 3**), qui se distinguent par une composition cellulaire et fonctionnelle différentes (Bessaguet F *et al.*, 2021) :

- **Le fundus** : est la région supérieure de forme arrondie, qui est située à gauche du cardia.
- **Le corps** : est la principale et la plus grande partie de l'estomac, c'est là où les aliments sont mélangés et commencent à se désintégrer.
- **L'antrum** : portion terminale de l'estomac, terminée par le pylore qui régit l'évacuation gastrique via le muscle sphincter pylorique.

2. Histologie de l'estomac

Au plan histologique, la paroi interne de l'estomac est constituée de quatre couches concentriques (**Figure 3**), et sont caractéristiques de la majeure partie de tube digestif, (Ding. L *et al.*, 2016) :

- **La muqueuse** : revêtement épithéliale interne faisant face à la lumière.
- **La sous-muqueuse** : formée de tissu conjonctif dense.
- **La musculuse** : tissus musculaires qui mélange et propulse les aliments dans l'estomac, elle est constituée de trois couches de fibres :
 - La couche musculaire oblique interne.
 - La couche musculaire circulaire moyenne.
 - La couche musculaire externe longitudinale.

- **La séreuse** : est la membrane fibreuse qui recouvre l'extérieur de l'estomac.

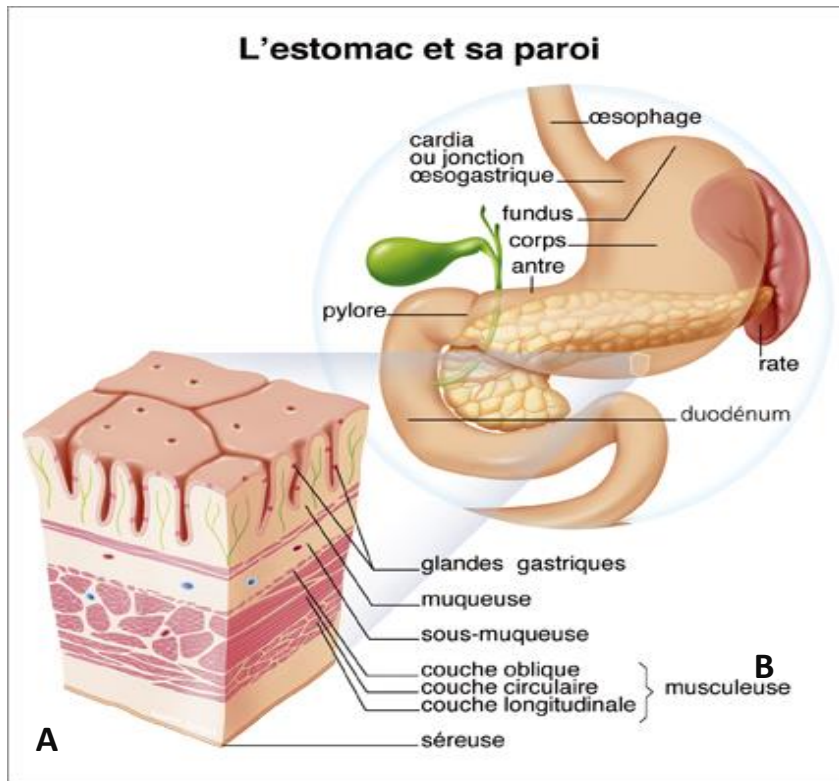


Figure 3 : Structure de l'estomac. A : les différentes couches histologiques de l'estomac, B : l'anatomie de l'estomac. (Cancer info, INCa, juillet 2014).

3. Les pathologies digestives

H. pylori est une bactérie ulcérogène, le mécanisme physio-pathologique de l'infection est dû à :

- ✓ Une cytotoxicité directe par libération des toxines et d'enzymes spécifiques.
- ✓ Une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique quand l'infection se situe au niveau antral.

L'infection par *H. pylori* est la plupart du temps silencieuse lorsqu'elle est aiguë. Après la colonisation de l'épithélium gastrique, une gastrite chronique s'installe et modifie alors la physiologie gastrique, elle est associée à une augmentation de la prolifération

cellulaire, ce qui explique le rôle primordial de *H. pylori* dans la carcinogenèse (Fougere É. 2019).

L'évolution vers la maladie ulcéreuse gastroduodénale ou les néoplasies gastriques (10 %) est variable et incomplètement élucidé. La majorité des patients ne présentera aucune conséquence délétère de cette gastrite chronique (**Figure 4**) (Bouyssou C. 2014).

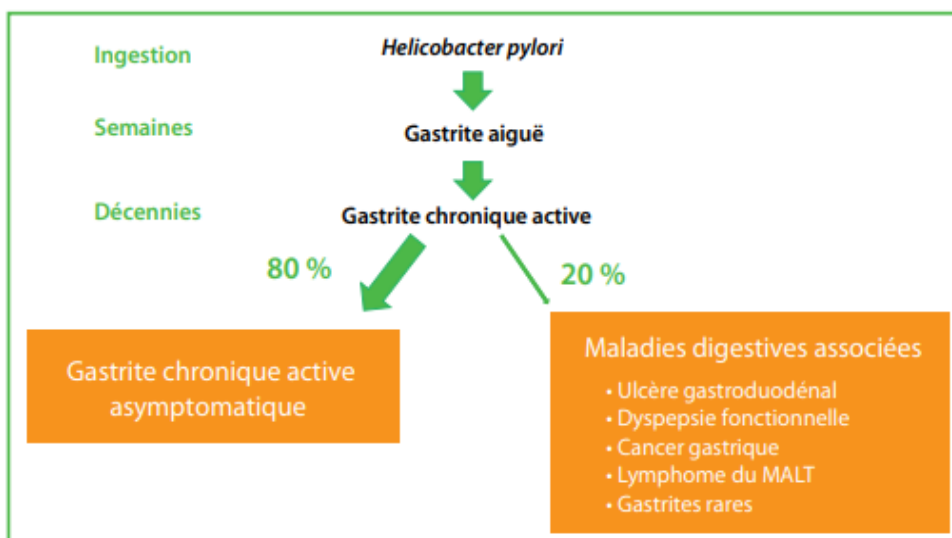


Figure 4 : Infection à *H. pylori* et affections digestives associées (De Korwin, 2007).

a) La gastrite chronique et aiguë

Une fois colonisée, la muqueuse est lésée par les facteurs de virulence de la bactérie et par la réponse inflammatoire qu'elle génère (Pospai D, *et al.*, 2007),

Cet état inflammatoire ainsi que la persistance de la bactérie sont des étapes clé dans le passage de la gastrite aiguë vers une gastrite chronique qui peut durer jusqu'à quelques semaines (Kusters, J. *et al.*, 2006).

b) Les ulcères gastriques et duodénaux

Helicobacter pylori est responsable de 70 % des ulcères gastriques et de 90 % des ulcères duodénaux (Mégraud F. 2010).

- **L'ulcère duodéal** serait dû à une hypersécrétion acide résultant de la gastrite antrale prédominante et du développement d'une métaplasie gastrique duodénale.
- **L'ulcère gastrique** serait provoqué par la diminution de la résistance à l'acide, secondaire à une gastrite diffuse et intense (Bouyssou C. 2014).

c) Dyspepsie non ulcéreuse

La dyspepsie non ulcéreuse ou dyspepsie fonctionnelle est définie comme un inconfort persistant provenant du tractus gastro-intestinal supérieur chez les patients sans anomalie structurelle documentable. L'association entre l'infection à *H. pylori* et la dyspepsie non ulcéreuse a été largement étudiée. Dans une cohorte de patients atteints de dyspepsie, 30 à 60 % d'entre eux auront une infection à *H. pylori* (Talley NJ, *et al* 1997).

d) La gastrite atrophique et métaplasie intestinale

L'inflammation chronique induite par *Helicobacter pylori* peut entraîner une destruction des glandes gastriques et une perte de l'architecture normale de la muqueuse gastrique ce qui provoque la mise en place d'un épithélium de type intestinal. Les patients chez qui la production d'acide est diminuée montre une progression plus rapide vers l'atrophie (Kuipers, E. J., *et al.*, 1996). Les régions de métaplasie intestinale s'amplifient au cours du temps et augmentent le risque de développer un cancer gastrique en fonction de la sévérité de l'atrophie.

e) Le lymphome gastrique du MALT

Le lymphome du MALT se caractérise par une infiltration massive de cellules lymphoïdes dans la lamina propria entraînant une destruction des glandes gastriques et la formation de lésions lympho-épithéliales (Capelle, L. *et al.*, 2008).

Helicobacter pylori induit la prolifération d'un tissu lymphoïde normalement absent de la muqueuse gastrique (Mégraud F. 2010). L'éradication thérapeutique de la bactérie entraîne une régression du lymphome de MALT chez 70 à 80 % des patients traités (1er cancer traité par antibiothérapie (Bertholom C. 2018).

f) Le cancer gastrique

L'organisation mondiale de la santé a classé *H. pylori* parmi les agents carcinogènes gastrique en 1994. Les patients infectés ont un risque jusqu'à vingt fois supérieur de développer un adénocarcinome gastrique (Bouyssou C. 2014).

C'est l'association d'une action indirecte de l'infection à *H. pylori* entraînant l'inflammation de la muqueuse et d'une action directe de la bactérie elle-même par la production d'une oncoprotéine CagA et peut être une inhibition des mécanismes de défense de l'hôte qui est à l'origine de la carcinogenèse gastrique (Bertholom C. 2015).

V. Pathogénicité de *Helicobacter pylori*

H. pylori est très bien adaptée pour échapper à l'activité bactéricide du contenu luminal gastrique, grâce un ensemble unique de caractéristiques qui permettent l'entrée dans le mucus, la fixation aux cellules épithéliales, l'évitement de la réponse immunitaire de l'hôte et par conséquent, une colonisation et une transmission persistantes.

1. Facteurs liés à l'adhérence et à la colonisation

a) L'uréase

L'uréase est une enzyme spécifique qui hydrolyse l'urée en dioxyde de carbone et en ammoniac, ce qui va permettre à *H. pylori* de survivre dans un milieu acide, et donc de créer un microenvironnement approprié à son développement (Mobley HLT.2001). Les gènes qui codent pour cette enzyme sont principalement ureA et ureB. *Helicobacter pylori* va entrer dans le mucus, se multiplier et adhérer à la surface des cellules épithéliales gastriques grâce à l'expression d'adhésines.

b) Les flagelles

La mobilité d'*H. pylori* est un facteur indispensable à la colonisation de la muqueuse gastrique, grâce à ses 4 à 6 flagelles unipolaires, qui lui permettent, lors de la phase de contamination, d'abrèger son séjour dans le suc gastrique et de pénétrer la couche épaisse de mucus pour atteindre la surface de l'épithélium gastrique. Ces flagelles sont constitués de 2 protéines distinctes FlaA (sous unité majeure) et FlaB (sous unité mineure) recouvertes d'une gaine permettant une protection contre l'acidité gastrique (Fauconnier, 2002).

c) Les adhésines

Les adhésines de *H. pylori* telles que l'adhérence de liaison à l'antigène du groupe sanguin de Lewis (babA) et l'adhérence de liaison à l'acide sialique (sabA) sont considérées comme ayant une fonction significative sur la colonisation initiale de *H. pylori* (Yılmaz N, *et al.*, 2019). Des études récentes ont rapporté que babA favorise la fixation de *H. pylori* aux cellules épithéliales gastriques.

Le babA facilite l'entrée des facteurs de virulence CagA et VacA dans les cellules hôtes (Rugge.M, *et al.*, 2017). La deuxième adhésion est sabA identifiée pour la première fois dans la souche *H. pylori* mutante babA (Mahdavi. J, *et al.*, 2002). Le sabA se lie aux glucides sialylés à la surface des neutrophiles.

2. Facteurs liés à l'inflammation et endommagements tissulaire

a) L'îlot de pathogénicité cag (cag PAI)

L'îlot de pathogénicité Cag PAI (cytotoxin associated gene pathogenicity island), est un fragment d'ADN d'environ 40 kb composé d'environ 30 gènes (**Figure 5**) code pour un système de sécrétion de type IV (TSS4), et pour des protéines de la famille Cag notamment la protéine immuno-dominante CagA (Tegtmeyer N, *et al.*, 2011).

On distingue les souches d'*H.pylori* de type I possédant un îlot de pathogénicité, et les souches de type II qui en sont dépourvues. Le Cag PAI est associé aux pathologies cliniques les plus sévères (Roesler BM, *et al.*, 2014).

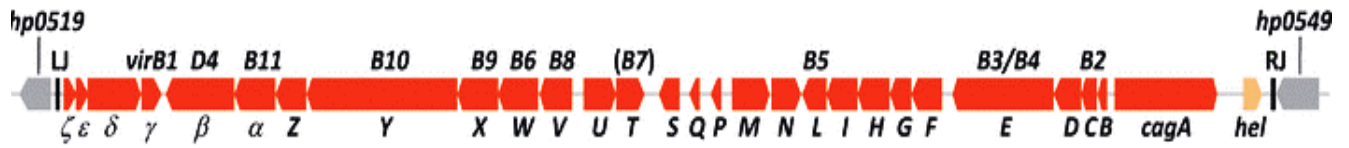


Figure 5 : Arrangement génétique de l'îlot de pathogénicité cag de *H. pylori* (Fischer, 2011).

b) Le système de sécrétion de type IV (SSTIV)

Le SST4 est une sorte de seringue (**Figure 6**), localisé au niveau de la membrane de *H. pylori* qui relie le cytoplasme bactérien aux cellules épithéliales. Il est composé de l'assemblage de 11 protéines couplées à une NTPase (Fischer W.2011). L'interaction avec la cellule hôte se fait via CagL, à l'extrémité du SST4, qui va interagir avec son récepteur $\alpha 5\beta 1$ à la surface de la cellule, cette interaction est indispensable pour la translocation de La protéine CagA, et d'autres éléments à l'intérieur de la cellule épithéliale gastrique, (Sepulveda AR. 2013), il permet aussi l'induction de la synthèse d'interleukine - 8(IL-8) à partir des cellules épithéliales.

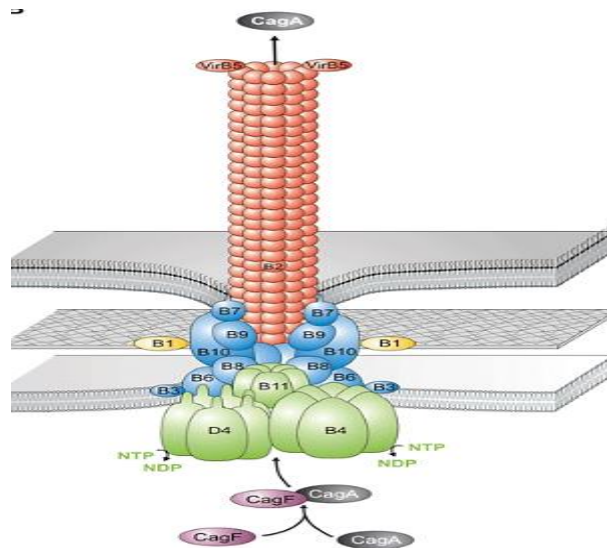


Figure 6 : Schéma de l'architecture du SSTIV de *H. pylori* (Tegtmeyer, 2011).

c) La protéine CagA

H. pylori sécrète une protéine bactérienne, la sérine protéase HtrA, qui ouvre les jonctions cellule à cellule en clivant les protéines jonctionnelles épithéliales. L'activité HtrA est nécessaire à la transmigration paracellulaire de *H. pylori* à travers les monocouches cellulaires polarisées pour atteindre les membranes basolatérales et injecter CagA (**Figure 7**) (Tegtmeyer N, *et al.*, 2017).

Une fois dans la cellule hôte, CagA va être phosphorylée par une kinase, CagA phosphorylée va activer une tyrosine phosphatase (SHP-2); cette activation stimule l'élongation cellulaire via les kinases ERK (extracellular signal-regulated kinase), entraînant une reprogrammation des cellules épithéliales et l'activation de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine, qui stimule toutes les étapes centrales de la carcinogénèse, comme la prolifération cellulaire, la survie, la migration et l'angiogénèse (Anthony Lopez., 2018).

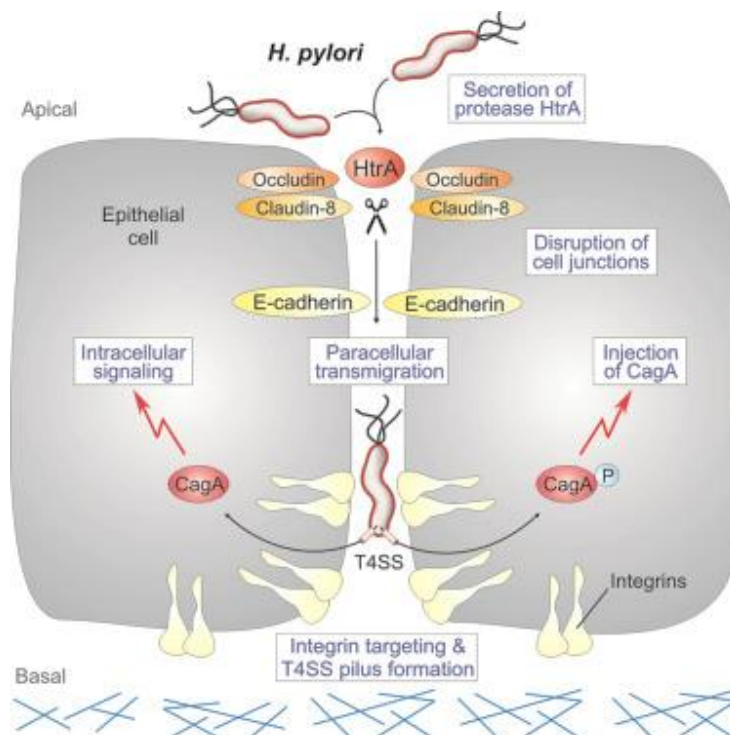


Figure 7 : Le mécanisme de la transmigration paracellulaire de *H. pylori* par la protéase HtrA pour l'injection de la protéine CagA (Tegtmeyer N, *et al.*, 2017).

d) Les lipopolysaccharides

La majorité des souches de *H. pylori* expriment les LPS qui contiennent des antigènes oligosaccharidiques fucosylés structurellement similaires aux antigènes du groupe sanguin humain. Ces antigènes bactériens (Lewis) présentent des variations antigéniques spécifiques permettant à *H. pylori* d'échapper à la réponse immunitaire (Kusters J.G., *et al* 2006).

Le lipopolysaccharide d'*H. pylori* provoque la désintégration des cellules du tissu gastrique *in vitro*, (Gonciarz. W, *et al* 2021).

e) Le peptidoglycane

Le peptidoglycane interagit avec la molécule de reconnaissance intracellulaire de l'hôte Nod1, qui agit comme un capteur pour les composants du peptidoglycane provenant de bactéries Gram-négatives. L'interaction du peptidoglycane *H. pylori* avec Nod1 entraîne l'activation de réponses pro-inflammatoires dépendantes du NF- κ B, telles que la sécrétion d'IL8 ou de défensine (Wroblewski LE, *et al.*, 2010).

f) La cytotoxine vacuolisante A (Vac A)

Le gène *vacA* (vacuolating toxin A) est le deuxième facteur de virulence le plus étudié chez *H. pylori*. Ce gène code pour la protéine VacA qui est également l'un des facteurs de virulence les plus importants et fonctionne comme une exotoxine protéique à action intracellulaire, dans laquelle l'un des sites les plus importants pour VacA est la membrane mitochondriale de l'hôte (Kim JM. 2016).

i. La transcription, régulation et la sécrétion de la protéine VacA

Le site d'initiation de la transcription du gène *vacA* est situé à environ 120 nucléotides en amont du codon d'initiation ATG (Schmitt, W. *et al.*, 1994). Une structure tige-boucle dans la région non traduite (5'-UTR) du transcrit de *vacA* stabilise l'ARNm de *vacA* (Amilon, KR ; *et al.*, 2015). La transcription de *vacA* est régulée en réponse à un pH bas, une faible concentration en fer, une concentration élevée en sel et un contact bactérien avec des cellules hôtes (Van Amsterdam, *et al.*, 2003).

Le gène *vacA* est traduit en une protéine de 140 kDa, qui subit un clivage Sec-dépendant à son extrémité amino-terminale et un clivage protéolytique à son extrémité carboxy-terminal, (**Figure 8. A**). Le clivage produit une toxine active d'une masse d'environ 88 kDa, ainsi qu'un peptide d'environ 12 kDa et une protéine d'environ 33 kDa avec une structure en feuillet β organisée en tonneau (autotransporteur β barrel). La protéine VacA est sécrétée par un autotransporteur ou un mode de sécrétion de type V (Fischer, W. ; *et al*, 2001).

Trois régions principales de diversité dans les séquences du gène *vacA* ont été reconnues : la région de séquence signal (région s), la région intermédiaire (région i) et la région médiane (région m) (Atherton, JC ; *et al.*,1995 ; Rhead, JL ; *et al.*,2007) (**Figure 8. B**). Au sein de chacune de ces régions, les séquences peuvent être classées en deux types principaux (s1 ou s2, i1 ou i2, et m1 ou m2).

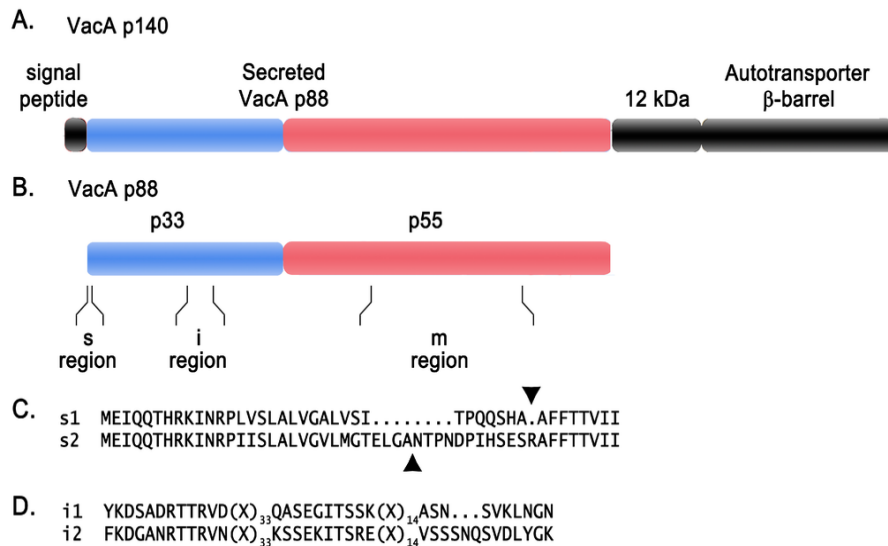


Figure 8 : Organisation VacA et diversité génétique (Foegeding N, et al., 2016).

ii. La structure de la protéine VacA

La protéine de 88 kDa peut subir un autre clivage protéolytique en présence de la trypsine donnant des fragments N-terminaux de 33 kDa (domaine p33) et C-terminaux 55 kDa (domaine p55) (**Figure 9**). Ces deux domaines sont nécessaires pour une liaison efficace de la toxine aux cellules et pour son internalisation (Foegeding N, *et al.*, 2016).

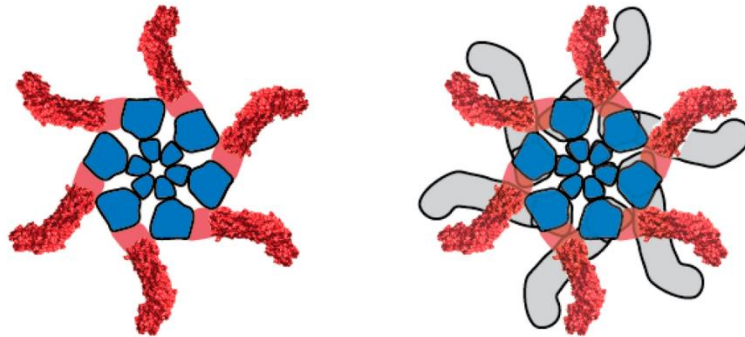


Figure 9 : Organisation structurale des oligomères VacA solubles dans l'eau. Un hexamère (à gauche) et un dodécamère (à droite) sont représentés. Dans chaque composant monomère p88, les domaines p33 et p55 sont représentés en bleu et rouge, respectivement. (Foegeding N, *et al.*, 2016).

iii. Les récepteurs cellulaires impliqués dans la liaison de la protéine VacA

L'une des étapes les plus cruciales dans la toxicité de la protéine VacA est sa liaison avec les cellules cibles. Différents récepteurs potentiels impliqués dans la liaison de la protéine VacA ont été rapportés dans divers types cellulaires, ceux-ci incluent les protéines récepteur tyrosine phosphatases (RPTP) α et β (Fujikawa, *et al.*, 2003). Ainsi la sphingomyéline qui est le seul composant de la membrane plasmique dont la présence ou l'absence est un déterminant fonctionnel important de la sensibilité des cellules épithéliales à la protéine VacA (Gupta, *et al.*, 2008).

D'autres récepteurs potentiels ont été identifiés et incluent la protéine-1 liée aux récepteurs des lipoprotéines de basse densité (Raju, *et al.*, 2012), le récepteur de facteur de croissance

épidermique (EGFR) (Seto, K, *et al.*,1998), les glycosphingolipides, les phospholipides, et le sulfate d'héparane (Utt, M, *et al.*,2001).

iv. Les activités de la cytotoxine VacA

La cytotoxine VacA affecte directement la fonction mitochondriale, Elle peut s'accumuler au niveau de la membrane interne des mitochondries induisant une diminution du potentiel transmembranaire mitochondrial (**Figure 10**), une libération du cytochrome C, l'activation des caspases 8 et 9 et l'induction de l'apoptose (Palframan *et al.*, 2007), Elle provoque une vacuolisation, ainsi la formation de canaux membranaires. (Razafimahefa, 2012).

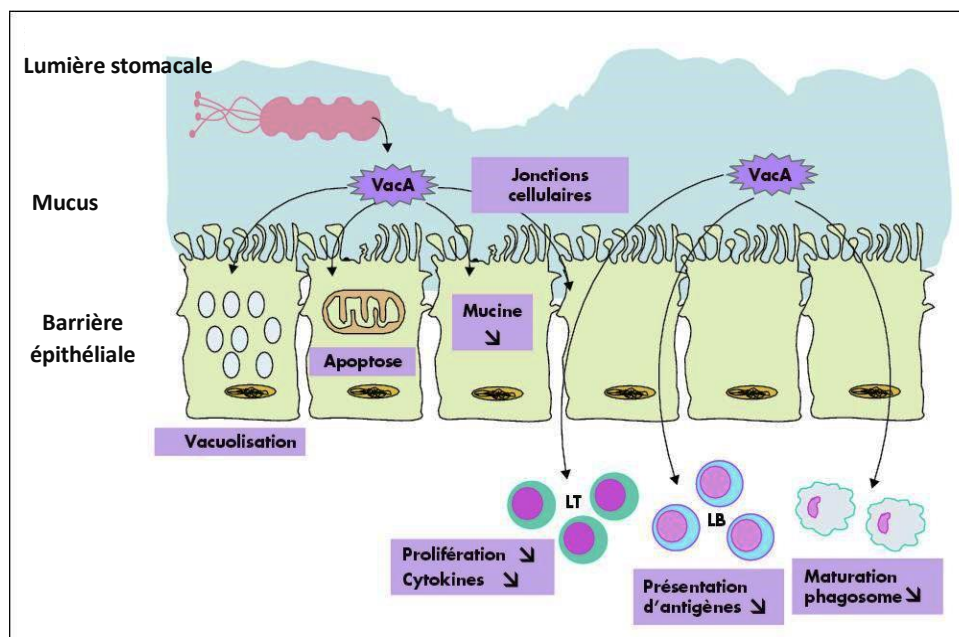


Figure 10 : Schéma représente les différentes activités de la protéines VacA sur les cellules épithéliales (Guertani, 2013).

v. La protéine VacA et la carcinogénèse gastrique

Le cancer gastrique est l'une des principales causes de décès liés au cancer, il est observé partout dans le monde (Sobhani 2004). L'infection à *H. pylori* est le facteur de risque connu le plus important pour cette tumeur maligne.

Les souches contenant des allèles vacA classés comme s1, i1, m1 (codant pour les formes les plus actives de VacA) sont associés à un risque plus élevé de cancer gastrique (**Figure 11**) ou des lésions précancéreuses que les souches classes comme s2, i2 ou m2 (Basso D, *et al.*, 2008 ; Rhead JL, *et al.*, 2007 ; Winter JA, *et al.* 2014).

Le risque accru de cancer gastrique associé aux souches produisant des formes plus actives de VacA peut être la conséquence de plusieurs actions, notamment la capacité de vacA à stimuler les lésions des cellules épithéliales gastrique, à altérer la fonction des cellules pariétales et à interférer avec la fonction des cellules immunitaires (Cover TL. 2016).

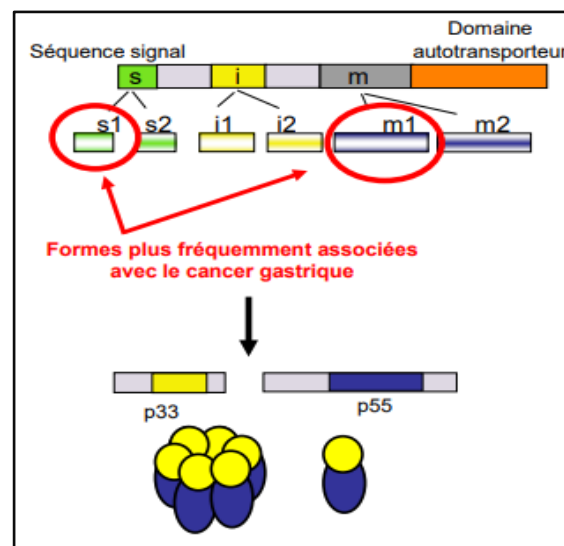


Figure 11 : La diversité allélique du gène vacA (D'après Polk and Peek, Nature Reviews Cancer, 2010).

g) Autres protéines pro-inflammatoires

✚ La protéine OipA et le gène dupA

La protéine OipA a été identifiée comme une protéine membranaire capable d'induire la production d'IL8 sous sa forme fonctionnelle (Patel A, *et al.*, 2014). Elle génère un recrutement important des neutrophiles au niveau de la muqueuse (Roesler BM, *et al.*, 2014). Le gène oipA fonctionnel est impliqué dans l'évolution de l'infection vers les ulcères duodénaux et le cancer gastrique (Wroblewski LE, *et al.*, 2010).

Le gène *dupA* augmente la production d'IL-8 (Paredes-Osses *et al.*, 2017). Les souches d'*H.pylori* exprimant ce gène favorisent les états inflammatoires sévères (Wroblewski LE, *et al.*, 2010).

3. Le déterminisme pathologique associé à *Helicobacter pylori*

L'évolution vers des pathologies gastroduodénales plus sévères est la conséquence d'une interaction complexe entre les facteurs de virulence de la souche bactérienne, les polymorphismes génétiques et les prédispositions de l'hôte ainsi les facteurs environnementaux. (Figure 12).

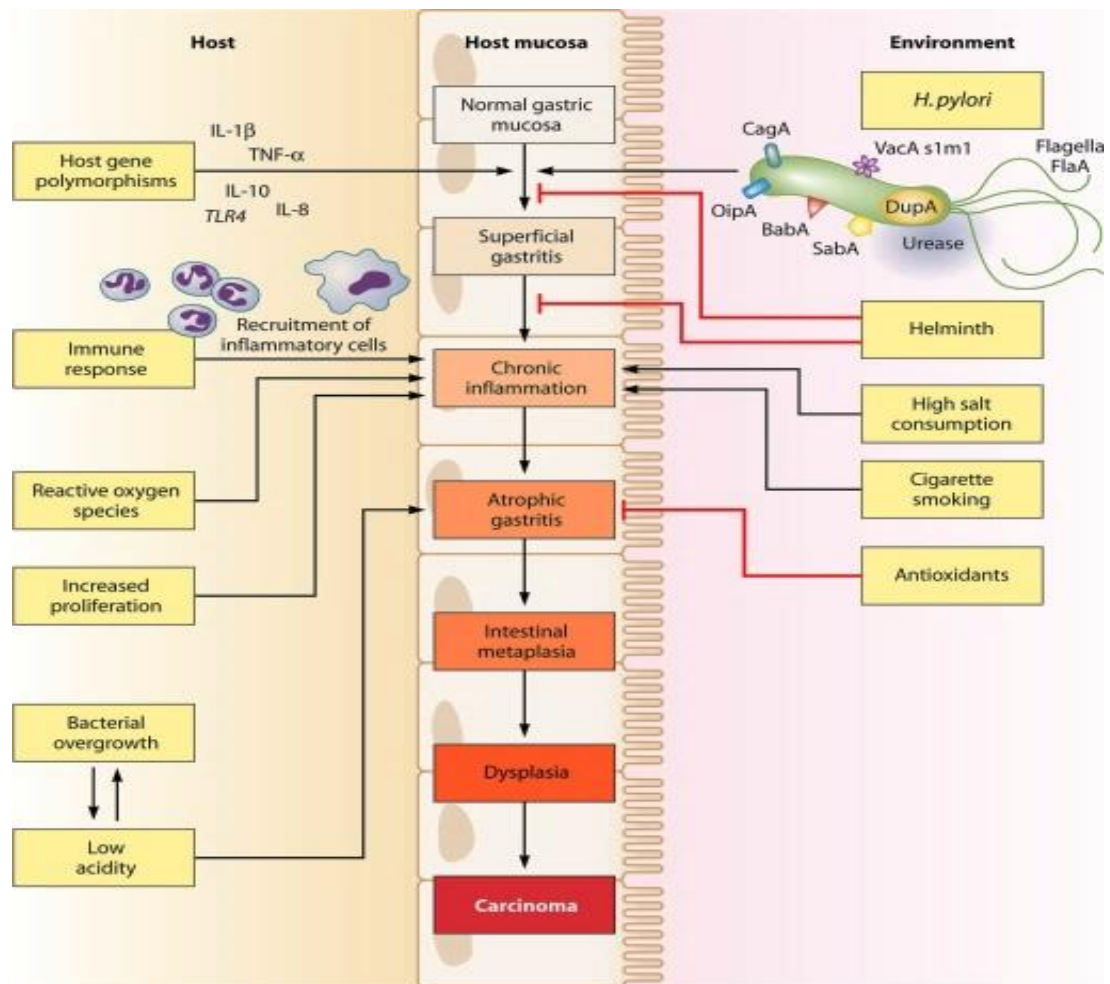


Figure 12 : Les Facteurs bactériens, environnementaux et héréditaires de l'hôte impliqués dans l'évolution de l'infection à *H. pylori* (Mustapha, 2011).

VI. Les méthodes de diagnostic

Les méthodes de diagnostic de l'infection à *Helicobacter pylori* sont nombreuses. Certaines sont dites invasives, nécessitant des biopsies gastriques avec une endoscopie, et d'autres non invasives (Chtourou L, *et al.*, 2019).

1. Les méthodes invasives

1.1 Le test rapide à l'uréase

Pour la pratique clinique de routine c'est le test invasif le plus utile pour un diagnostic rapide de l'infection en salle d'endoscopie, basé sur l'hydrolyse de l'urée en CO₂ et NH₃ par l'uréase de la bactérie (Bertholom C. 2015). L'ammoniac produit par l'uréase augmentera le pH, ce qui est détecté par un changement de couleur sur le moniteur de pH (Delchier JC, *et al.*, 2014).

1.2 L'examen anatomo-pathologique

L'examen anatomo-pathologique est, en cas d'endoscopie, systématique pour détecter l'infection ainsi d'évaluer les lésions muqueuses associées (cancéreuses ou précancéreuses). Cet examen nécessite cinq fragments biopsiques (une de l'ogive gastrique, deux antraux et deux fundiques) (Lamarque D, *et al.*, 2012).

1.3 La culture de *Helicobacter pylori*

De pratique non courante c'est la méthode de référence pour chercher *H. pylori*, sa spécificité est de (100%) lorsqu'elle est réalisée dans des conditions optimales, sa sensibilité est variable, elle est affectée par un certain nombre de facteurs tels que la qualité de l'échantillon clinique, l'intervalle de temps entre l'échantillonnage et la culture, les conditions de transport des biopsies, et les performances du laboratoire. Deux biopsies, fundique et antrale sont recommandées pour obtenir une meilleure sensibilité.

Cette technique permet de réaliser un antibiogramme avec une étude de la sensibilité d'*H. pylori* aux antibiotiques (Malfertheiner P, *et al.*, 2017).

1.4 L'amplification génique (PCR)

C'est une technique d'amplification de l'ADN qui utilise la production rapide de copies multiples d'une séquence d'ADN cible pour identifier *H. pylori*. Elle permet à la fois de détecter *H. pylori* et ses principales mutations associées à la résistance aux deux antibiotiques essentiels clarithromycine et fluoroquinolones (Lamarque D, *et al.*, 2012).

2. Les méthodes non invasives

Les méthodes non invasives ont relativement l'avantage qu'ils ne soient pas limités par l'échantillonnage des biopsies.

2.1 La sérologie par ELISA

Le test sérologique est basé sur la détection des anticorps IgG anti-*H. pylori* dans le sérum du patient. La simplicité et le rapport coût-efficacité ont permis d'utiliser largement les tests sérologiques pour les études épidémiologiques afin d'évaluer la prévalence de l'infection à *H. pylori* dans diverses populations.

La limite de ces tests sérologiques, c'est que des résultats faussement positifs peuvent se produire. Cependant, il est inutile pour le contrôle de l'éradication puisque le titre des anticorps baisse lentement et de façon inconstante même après la disparition de la bactérie (Alexandre G. *et al.*, 2022).

2.2 Le test respiratoire à l'urée marquée ¹³C

Le test respiratoire à l'urée est le test non invasif le plus important pour le diagnostic et le contrôle de l'éradication d'*H. pylori*. Il permet le diagnostic d'une infection active indirectement par la mise en évidence d'une activité uréasique de *Helicobacter pylori* dans l'estomac (Lamarque D, *et al.*, 2012). Il consiste à l'ingestion d'urée marquée avec un isotope de carbone (¹³C non radioactif). L'urée ainsi hydrolysée en CO₂ marqué qui est détecté dans l'air expiré en cas de présence d'*H. pylori* dans l'estomac (**Figure 13**) (Alexandre G. *et al.*, 2022). Il doit être réalisé au moins 4 semaines après l'arrêt des antibiotiques et deux semaines après l'arrêt des antisécrotoires.

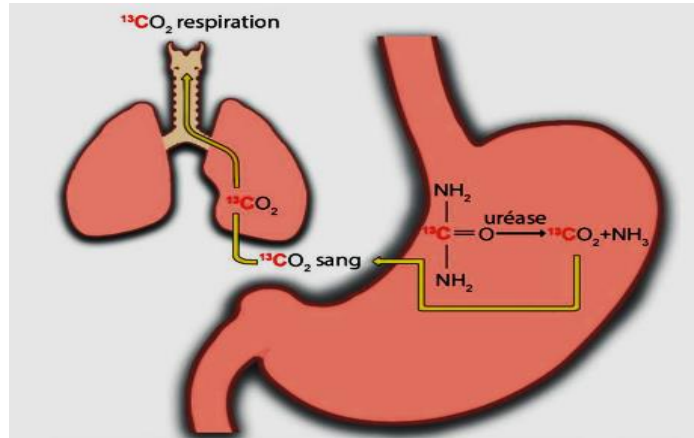


Figure 13 : Principe du test respiratoire à l'urée marquée (Ahmad.T, Pakistan, 2014).

2.3 La recherche d'antigènes bactériens dans les selles

La recherche d'antigène de *H. pylori* dans les selles est réalisée par ELISA ou immuno-chromatographie (test rapide) avec un anticorps monoclonal dirigé contre la bactérie, Ce test détecte une infection évolutive et peut être utilisé pour contrôler l'éradication (Lamarque,D ,*et al.*, 2012).

VII. Traitement de l'infection à *Helicobacter pylori*

Le traitement d'éradication classique consiste en une association de clarithromycine, d'amoxicilline et d'inhibiteurs de la pompe à protons, Cette association permettait historiquement un taux d'éradication proche de 90 % (Savoldi A, *et al.*,2018). En raison de l'augmentation de fréquence des résistances d'*H.pylori* à la clarithromycine, cette association n'est plus le meilleur traitement pour *H. pylori*, (Gressot P, *et al.*, 2019).

Le traitement d'éradication repose classiquement sur l'association (IPP + amoxicilline +clarithromycine). Les IPP possèdent une activité antibactérienne directe in vitro et augmentent le pH gastrique, (Labenz J.2001). Dans le cas où la bactérie est résistante à la clarithromycine, ce dernier est remplacé par la levofloxacine. En revanche si des cas de résistance sont observés une quadrithérapie de 10 jours constituée d'un IPP, deux antibiotiques (tétracycline+métronidazole), et le sel de bismuth est à prescrire,

Les sels de bismuth exercent un effet bactéricide sur *H. pylori* par plusieurs mécanismes, notamment l'inhibition de la synthèse d'ADN bactérien et l'inhibition de l'adhérence à la paroi gastrique (Alkim H, *et al.*,2017).

Si l'étude bactériologique n'est pas possible, une quadrithérapie dite "probabiliste" est recommandée. En cas d'échec, la culture sur des biopsies gastriques est nécessaires pour évaluer la sensibilité de *H. pylori* à tous les antibiotiques afin de guider la trithérapie. (**Figure 14**).

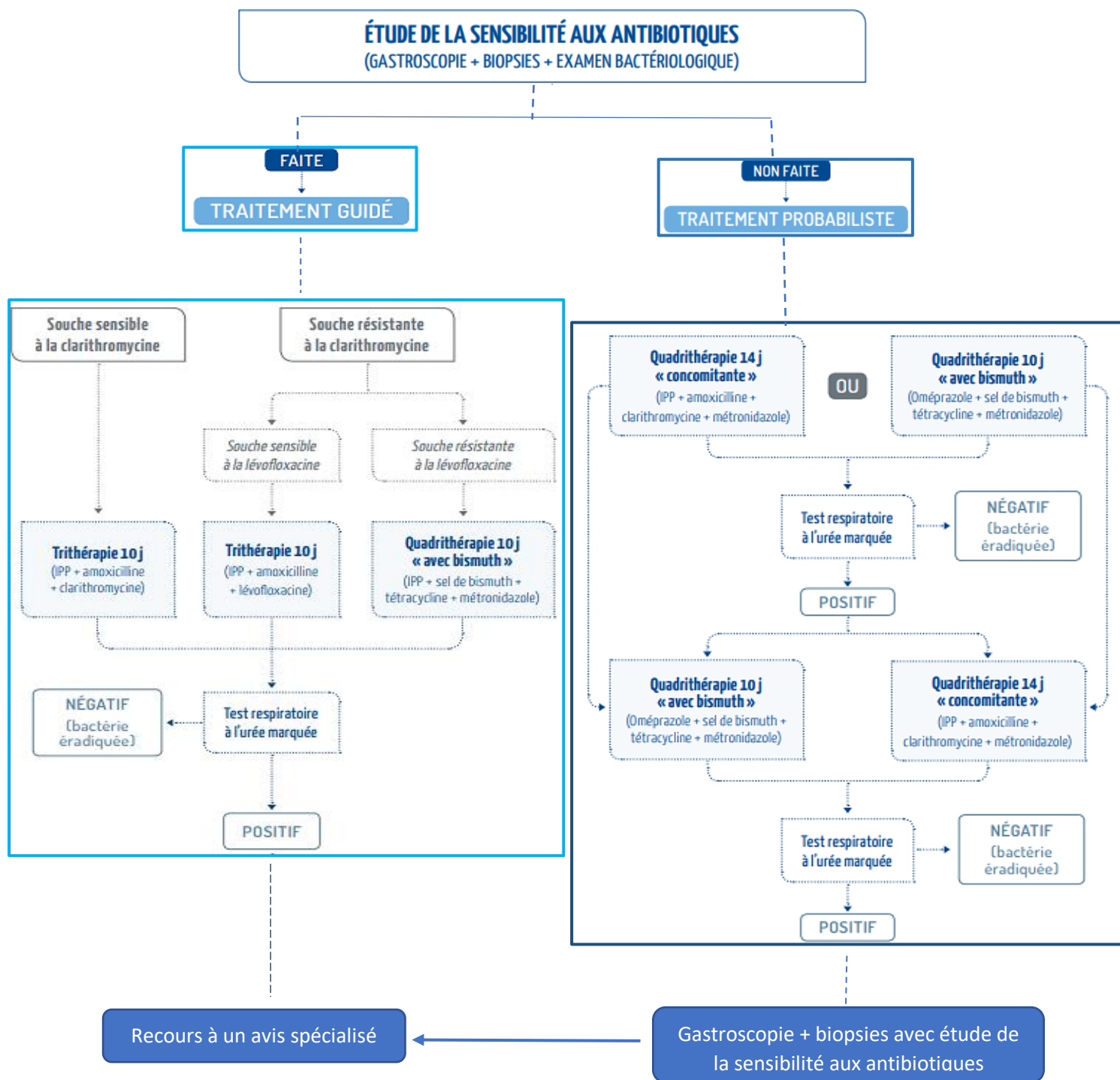


Figure 14 : Algorithme de traitement en cas d'infection à *H. pylori* chez l'adulte (D'après le Conseil National Professionnel d'Hépatogastroentérologie, HAS, mai 2017).

Partie 2 :
MATÉRIEL ET MÉTHODES

❖ Les objectifs de l'étude

Les objectifs de l'étude sont :

- ✓ Déterminer la prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* dans une population marocaine souffrant des différentes lésions de la carcinogénèse gastrique.
- ✓ Etudier la prévalence de l'infection à *H. pylori* et les différentes pathologies gastriques en fonction des facteurs socio-économique.
- ✓ Déterminer la prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA chez la population étudiée.
- ✓ Etudier l'association entre les génotypes de la région « s » du gène vacA et les différentes lésions de la carcinogène gastrique.

I. Population étudiée et matériel biologique

1. Le cadre de l'étude

L'étude s'est effectuée au sein du laboratoire *Helicobacter pylori* et pathologies gastriques, au département de « La recherche scientifique et enseignement » de l'institut Pasteur du Maroc, Casablanca, sur des patients ayant consultés au service gastro-entérologie du centre hospitalier Ibn Rochd de Casablanca.

Notre travail porte en premier lieu sur l'étude de la prévalence de l'infection à *H. pylori* et en second lieu sur l'étude de la prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA et leurs associations avec l'évolution des lésions gastriques.

2. La population étudiée

L'étude a concernée 80 patients souffrants de différentes pathologies gastriques adressés au centre hospitalier pour une endoscopie digestive et ayant signé leur consentement. Les biopsies ont été colligées du service de gastro entérologie du Centre Hospitalier Universitaire Ibn Rochd de Casablanca (CHU).

3. Le matériel biologique

Les biopsies gastriques constituent le principal matériel biologique de notre étude. Elles sont acheminées au laboratoire de l'institut Pasteur dans un milieu de transport contenant l'eau peptonée. Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement clinique sur le patient (**Annexe 1**) et une fiche de son consentement libre et éclairé préalablement signée (**Annexe 2**).

La présente étude a été faite sur 10 biopsies conservées à -20°C sur lesquelles une extraction d'ADN a été effectuée.

II. Etude moléculaire

1. Extraction de l'ADN total à partir des biopsies gastriques

Aujourd'hui, *H. pylori* est considérée comme l'agent étiologique principal des cancers liés aux infections bactériennes. En possédant une multitude de facteurs de virulence codés par des gènes dont le polymorphisme est à la base d'un déterminisme pathologique plus ou moins sévère, le gène *vacA* reste un facteur de virulence majeur. Pour mettre la présence de ce gène dans le génome de la bactérie, des extractions de l'ADN à partir des biopsies ont été réalisées, suivies par des amplifications par PCR.

L'extraction de l'ADN à partir des biopsies a été effectuée par la méthode classique au phénol chloroforme selon le protocole suivant :

Etape 1 : Broyage des biopsies

- Les biopsies ont été mises en suspension dans 300 µL de PBS avec une bille de verre et vortexer à pleine vitesse.

Etape 2 : Lyse cellulaire

- Ajout de 150 µL d'homogénat + 400 µL Tris EDTA (TE) 10/5+ 12µL de protéinase K (20 mg/ml) et 300µL de SDS 10% pH7.2.
- Incubation à 56 °C pendant 4 heures.

Étape 3 : Extraction au phénol-chloroforme

- Ajouter 500µL du phénol saturé sur la préparation d'ADN, vortexer.
- Centrifuger à 6500 tr/min pendant 15 min.
- Récupérer la phase supérieure dans un nouveau tube à l'aide d'une micropipette.
- Ajouter 600µL de chloroforme, vortexer.
- Centrifuger à 6500 tr/min pendant 15 min.
- Récupérer la phase supérieure dans un nouveau tube.

Étape 4 : Purification et précipitation de l'ADN

- Ajouter 500µL d'éthanol absolu. Mélanger le tube jusqu'à l'apparition de la méduse.
- Centrifuger à 6500 tr/min pendant 20 min.
- Ajouter 500µL d'éthanol 70%. Centrifuger à 6500 tr/min pendant 20 min.
- Verser le surnageant. Laisser les tubes sécher de 5-10 min.
- Suspendre l'ADN dans 50 µL TE (10 :1).

2. Contrôle de la qualité d'extraction de l'ADN par électrophorèse

Cette étape est effectuée par électrophorèse sur gel d'agarose de 1% selon le protocole suivant :

■ Préparation du gel d'agarose 1%

- 0,5 g d'agarose + 50 ml de Tris Borate EDTA (TBE) à 1%.
- Porter à ébullition sur une plaque chauffante avec agitation jusqu'à solubilisation complète de l'agarose.
- Laisser refroidir un peu, ajouter 3µL de Bromure d'éthidium (BET), mélanger puis couler le gel sur la plaque.

■ Préparation, dépôt et migration des échantillons

- Sur un support en verre, déposer des petites gouttes du Tampon de charge.
- Ajouter sur les gouttes 3µl d'ADN, mélanger et déposer dans les puits.
- Laisser migrer pendant 30 min à 100 V.
- ✓ Les bandes d'ADN ont été ensuite visualisées sur le transilluminateur à UV.

III. Analyse moléculaire par PCR

Dans le but de mettre en évidence l'infection par *H. pylori*, nous avons utilisé les techniques de biologie moléculaire : l'extraction de l'ADN à partir des biopsies gastriques citées précédemment et l'amplification par PCR.

a) L'amplification du gène ureC par PCR

L'amplification de ce gène est généralement utilisée pour confirmer la présence d'*H. pylori* chez les patients. Un fragment de gène de 296 pb a été amplifié par PCR à partir de l'ADN extrait des biopsies gastriques grâce à des amorces spécifiques (**Tableau II**).

Tableau II : Les amorces utilisées pour amplification du gène ureC

Nom de l'amorce	Séquence de l'amorce 5' – 3'	Région amplifiée	Taille (bp)	Référence
ureC-F	AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT	Région constante du gène ureC	296	Lu. J <i>et al</i> ;1999
ureC-R	AAGCCTTACTTTCTAACACTAACGC			

✓ Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Un volume de 15 µl du mix a été préparé contenant 11,8 µl de H₂O, 2 µl du tampon (5 mM dNTPs, 15mM MgCl₂), 0,5 µl des amorces sens (F) et anti-sens (R) et 0,2 µl de la Taq polymérase (**Tableau III**).

Tableau III : Le milieu réactionnel de la PCR pour le gène ureC

Concentration initiale	Concentration finale	Quantité en µl
H ₂ O		11,8
TP (5Mm dNTPs, 15 Mm Mg Cl ₂)	0,5 Mm de dNTPs, 1,5 Mm Mg Cl ₂	2
Amorce sens (20 µM)	0,5 µM	0,5
Amorce anti- sens (20 µM)	0,5 µM	0,5
Taq polymérase	1U	0,2

Volume final du mix	15 µl
ADN total	5 µl
Volume final de la préparation	20 µl

*Pour le témoin négatif on ajoute 5 µl d'eau de biologie moléculaire au lieu de l'ADN.

✓ Programme du thermocycleur

Les échantillons préparés sont mis dans un thermocycleur pour être amplifiés selon le programme décrit dans le (Tableau IV).

Tableau IV : Programme des cycles d'amplification du gène ureC.

Étapes	Température (°C)	Temps (s)	Cycles
Dénaturation initiale	95	60	1
Dénaturation	95	15	35
Hybridation	55	30	
Polymérisation	72	30	
Polymérisation finale	72	420	1

b) L'amplification du gène vacA par PCR

Le gène vacA est l'un des facteurs de virulence les plus importants de *H. pylori* et code pour la toxine multifonctionnelle VacA impliquée dans l'apparition des lésions précancéreuses gastriques (gastrite atrophique et métaplasie intestinale) et du cancer gastrique.

Dans notre étude, les biopsies issues des 64 patients ont subi le génotypage de la région s de gène vacA par PCR.

✓ Préparation du milieu réactionnel de la PCR

Le mix a été préparé contenant les volumes suivants : 0,5 µl de chaque amorce (Tableau V), 11 µl de H₂O, 4 µl du tampon (5 mM dNTPs, 15mM MgCl₂), 0,2 µl de la Taq polymérase (Tableau VI).

Tableau V : Les amorces utilisées pour amplification du gène vacA.

Nom de l'amorce	Séquence de l'amorce 5' – 3'	Région amplifiée	Taille (bp)	Référence
VAI-F	ATGGAAATACAACAAACACAC	s (s1/s2)	s1= 259 s2= 286	(J.C Atherton, <i>et al</i> ;1995)
VAI-R	CTGCTTGAATGCGCAAAC			

Tableau VI : Le milieu réactionnel de la PCR pour le gène vacA.

Concentration initiale	Concentration finale	Quantité en µl
H ₂ O		11
TP (5Mm dNTPs, 15 Mm Mg Cl ₂)	0,5 Mm de dNTPs, 1,5 Mm Mg Cl ₂	4
Amorce sens (20 µM)	0,5 µM	0,5
Amorce anti- sens (20 µM)	0,5 µM	0,5
Taq polymérase	1U	0,2
Volume final du mix		16,2 µl
ADN total		3,8 µl
Volume final de la préparation		20 µl

*Pour le témoin négatif on ajoute 3,8 µl d'eau de biologie moléculaire au lieu de l'ADN.

✓ **Programme du thermocycleur**

La PCR a été faite en utilisant le thermocycleur selon le programme décrit dans le (Tableau VII).

Tableau VII : Programme d'amplification de la région s du gène vacA.

Étapes	Température (°C)	Temps (s)	Cycles
Dénaturation initiale	95	60	1
Dénaturation	95	60	35
Hybridation	56	50	
Polymérisation	72	60	
Polymérisation finale	72	420	1

c) Révélation des produits PCR par électrophorèse

Après amplification par PCR, une électrophorèse sur gel d'agarose a été réalisée à chaque fois pour révéler les amplicons de taille attendue.

✓ **Protocole**

Pour visualiser le résultat de notre amplification, on a procédé à une migration des échantillons amplifiés sur un gel d'agarose de 1,5% dont la taille des pores est appropriée à la taille des amplicons attendue.

Les étapes restent les mêmes, sauf que la quantité d'agarose passe de 0,5 g à 0,75 g.

✓ **Préparation, dépôt et migration des échantillons**

Les échantillons mélangés au tampon de charge sont déposés dans les puits du gel. Un marqueur de taille a été aussi déposé parallèlement pour la révélation du produit PCR du gène ureC et du gène vacA. La migration est réalisée à 100 V pendant 30 min pour les deux gènes (ureC et vacA).

✓ **Visualisation sous UV.**

IV. Etude bactériologique

✓ Traitement des biopsies au laboratoire

Une fois au laboratoire, les biopsies ont été dilacérées (broyées) avec un scalpel. Le produit obtenu a été réparti en tubes Eppendorf stériles pour le test rapide l'uréase, la culture, la coloration Gram et la conservation à -80°C .

1. La culture bactérienne

✚ Mode opératoire

La culture s'effectue dans des conditions stériles assurées par un bec bunsen.

a) Préparation des milieux de culture

- On ajoute les antibiotiques (Vancomycine, Polymixine B, Trimethoprime) et le sang de cheval à la gélose Columbia déjà préparée.
- On mélange doucement puis on fait couler dans des boîtes de pétri et on laisse solidifier à température ambiante (**Figure 15**).

b) Mise en culture de la biopsie

- On découpe finement la biopsie par une lame de Bistouri, on ensemence sur le milieu de culture et on incube les boîtes de pétri avec des sachets générateurs de micro-aérophilie pendant 5 à 12 jours à l'étuve à 37°C (**Figure 16**).



Figure 15 : Préparation du milieu de culture



Figure 16 : Etuve

2. L'identification morphologique et biochimique de *H. pylori*

L'identification de *H. pylori* peut être réalisée non seulement par l'aspect des colonies, mais aussi par l'examen microscopique après coloration Gram et par la mise en évidence des caractères biochimiques : Uréase, catalase et oxydase.

a) La Coloration de Gram

Selon la coloration de Gram effectuée au laboratoire, *H. pylori* se présente sous forme bacillaire, colorée en rose (**Figure 17**).

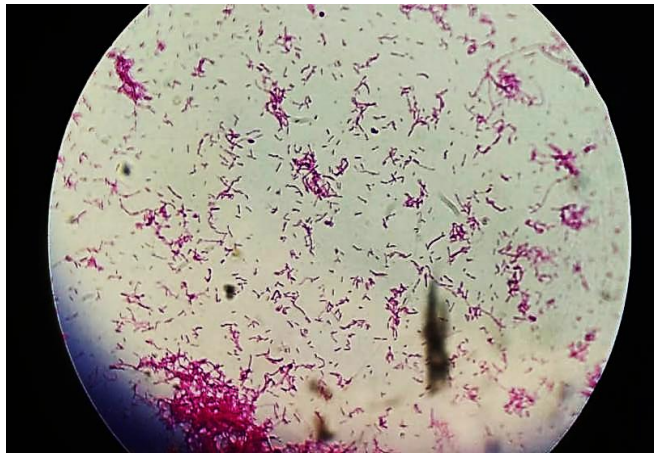


Figure 17 : Observation microscopique d'*H. pylori*. ($\times 100$). (Photo de l'étude)

b) Les caractères biochimiques d'identification

❖ Le test rapide à l'uréase

La biopsie est transférée dans une solution contenant l'urée. En cas de test positif, l'uréase dégrade l'urée en ammoniac, ce qui entraîne un virage de la couleur jaune en rose (**Figure 18**).

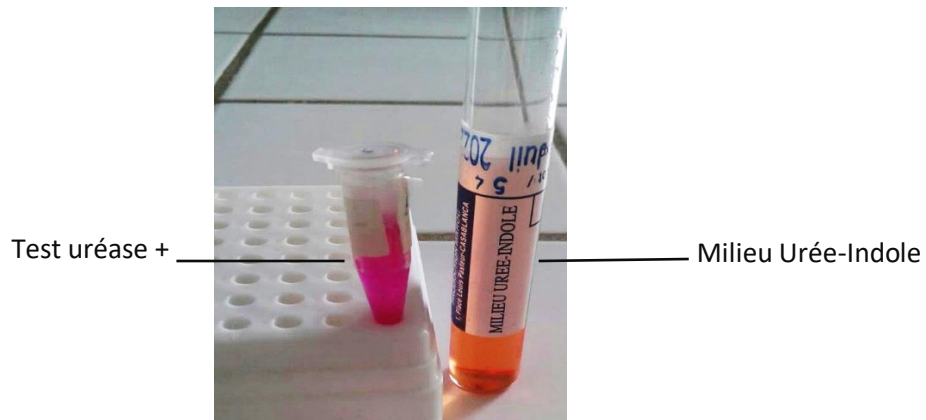


Figure 18 : Test rapide à l'uréase positif effectué au laboratoire. (Photo de l'étude)

❖ Le test catalase

La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en dioxygène ($1/2 O_2$). Sur une lame on ajoute une goutte de la solution H_2O_2 sur les colonies isolées de la culture, on observe une effervescence en cas de test positif (**Figure 19**).



Figure 19 : Test catalase positif effectué au laboratoire (photo de l'étude).

❖ Le test oxydase

Le principe de ce test est basé sur la mise en évidence de la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (N-diméthyl-paraphénylene diamine) en un produit violacé.

Pour cela, un carré de papier buvard imbibé de substrat est posé sur une lame de verre, puis des colonies sont fixés sur cette même lame avec une pipette pasteur. Au bout de quelques secondes, il y a l'apparition d'une tache violette (**Figure 20**), ce qui confirme qu'il s'agit d'une culture positive d'*H. pylori*.

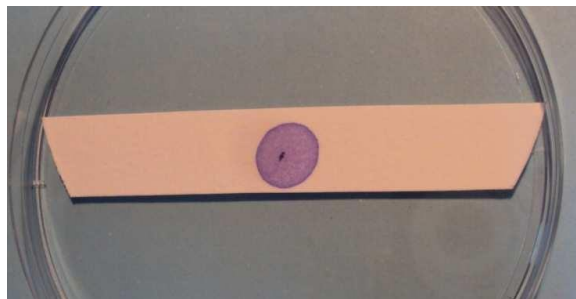


Figure 20 : Test oxydase positif (photo de l'étude).

Partie 3 : RESULTATS

Analyse statistique

La saisie des données a été effectuée sur Excel et l'exploitation des résultats a été réalisée par le logiciel IBM SPSS statistics dernière version 28. Les variables qualitatives ont été exprimés en pourcentage et en effectif et les variables quantitatives ont été exprimés en moyenne (\pm) écart type.

Les comparaisons entre les proportions ont été effectuées par les tests Fisher, et khi carré. Une valeur de P value inférieure à 0,05 est considérée comme statistiquement significative.

I. Description de la population étudiée

Notre étude a été renforcée par une base de données du laboratoire, cette dernière inclut 6 patients *H. pylori* négatif et 74 patients qui sont infectés, et qui souffrent des lésions gastriques suivantes : gastrite chronique, gastrite atrophique, métaplasie intestinale et le cancer gastrique.

Cette étude a été faite sur un effectif total de 80 patients, 39 des cas sont des femmes (48,7%) et 41 des cas sont des hommes (51,3%). Leur âge se situe entre 20 et 85 ans, avec une moyenne d'âge de 49 ans et avec un écart type (\pm) de 17 ans.

Notre population a été divisée en 3 tranches d'âges de 20 à 39 ans avec 22 patients (27,5%), de 40 à 59 ans avec 36 patients (45%), de 60 à 85 ans avec 22 patients (27,5%).

48 patients (60%) sont issus du milieu urbain et 32 patients (40%) viennent du milieu rural. Concernant la consommation du tabac, 22 de ces patients (27,5%) sont des fumeurs et 58 (72,5%) non-fumeurs, pour la consommation d'alcool, la population étudiée est constituée de 12 patients (15%) qui consomment l'alcool, et 68 patients (85%) qui ne le consomment pas. Quant aux lésions gastriques associés à *H. pylori* 47 patients (58,8%) présentent une gastrite chronique, 18 (22,5%) présentent une gastrite atrophique, 11 (13,8%) ont une métaplasie intestinale, et 4 (5%) ont un cancer gastrique.

Tableau VIII : Répartition de la population en fonction des différentes variables.

Variable	Population	Effectifs (%)
Sexe	Femmes	39 (48,7%)
	Hommes	41 (51,2%)
Âge	[20-39 ans]	22 (27,5%)
	[40-59 ans]	36 (45%)
	[60-85 ans]	22 (27,5%)
Milieu d'habitat	Urbain	48 (60%)
	Rural	32 (40%)
Consommation du tabac	Oui	22(27,5%)
	Non	58 (72,5%)
Consommation d'alcool	Oui	12 (15%)
	Non	68 (85%)
Pathologies gastriques	GC	47 (58,8%)
	GA	18 (22,5%)
	MI	11 (13,8%)
	CG	4 (5%)

GC : Gastrite chronique ; **GA** : Gastrite atrophique ; **MI** : Métaplasie intestinale ; **CG** : Cancer gastrique.

II. La prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction des facteurs socio-économique

1. La prévalence de l'infection à *H. pylori* chez la population étudiée

Dans notre population constituée de 80 patients ayant consulté pour des symptômes gastriques, la prévalence de l'infection à *H. pylori* était de 92,5 % représentant des cas positifs et 7,5 % des cas négatifs (**Figure 21**).

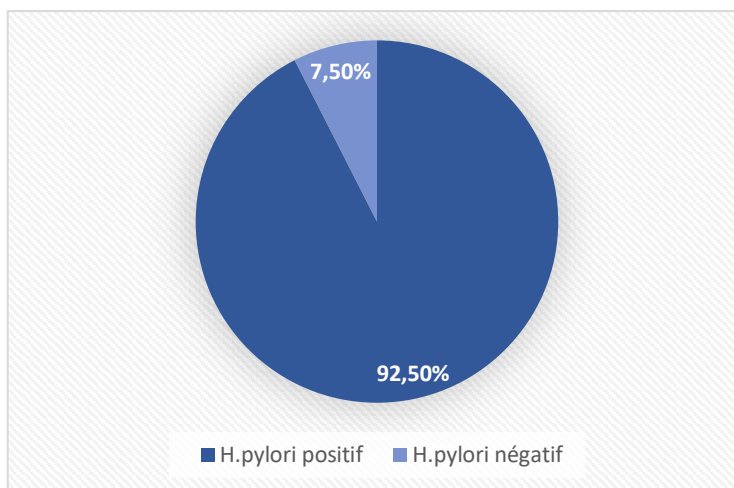


Figure 21 : Prévalence de l'infection à *H. pylori* chez la population étudiée.

2. La prévalence de l'infection en fonction du sexe

L'étude de l'association de la prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction de sexe a montré que l'infection à *H. pylori* est environ la même chez les hommes que chez les femmes. En effet 89,7% des femmes et 95,1% des hommes étaient *H. pylori* positifs (**Figure 22**). L'association entre l'infection à *H. pylori* et le sexe ne montre pas de différence statistiquement significative (**P value = 0,314**).

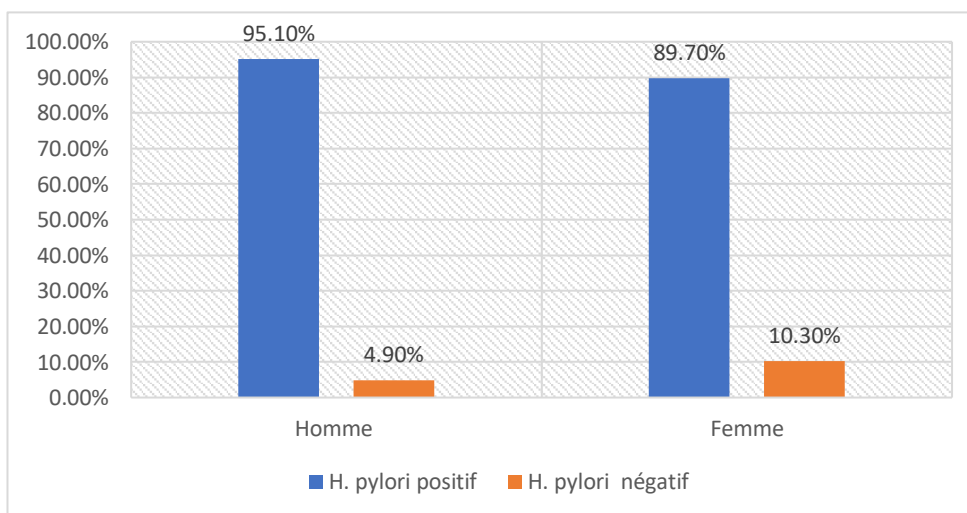


Figure 22 : Représentation graphique de la prévalence d'*H. pylori* en fonction de sexe.

3. La prévalence de l'infection en fonction de l'âge

L'analyse de la prévalence de l'infection à *H. pylori* selon les différentes tranches d'âge de notre population a montré que l'infection était de 90,9% (20/22) chez les patients d'âge compris entre [20-39 ans], de 88,90% (32/36) chez les patients entre [40-59 ans], et enfin de 100% (22/22) chez les patients entre [60-85 ans], (**Figure 23**). En utilisant le logiciel IBM SPSS statistics, la distribution de l'infection à *H. pylori* selon les différentes tranches d'âge n'a pas montré de différence statistiquement significative (**P value= 0,410**).

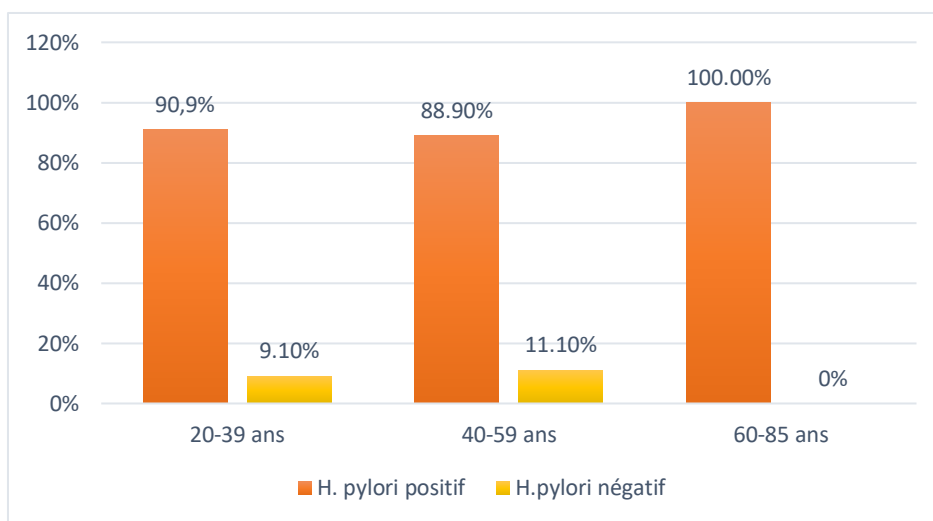


Figure 23 : Distribution de la prévalence d'*H. pylori* en fonction des différentes tranches d'âge.

4. La prévalence de l'infection en fonction du lieu d'habitat

L'étude de la distribution de l'infection à *H. pylori* selon le lieu d'habitat a montré que 95,80 % (46/48) des patients vivant dans des milieux urbains et 87,50 % (28/32) venant des milieux ruraux, étaient *H. pylori* positifs, (**Figure 24**). L'étude de l'association de l'infection à *H. pylori* et le lieu d'habitat n'a pas montré une différence statistiquement significative (**P value= 0,17**).

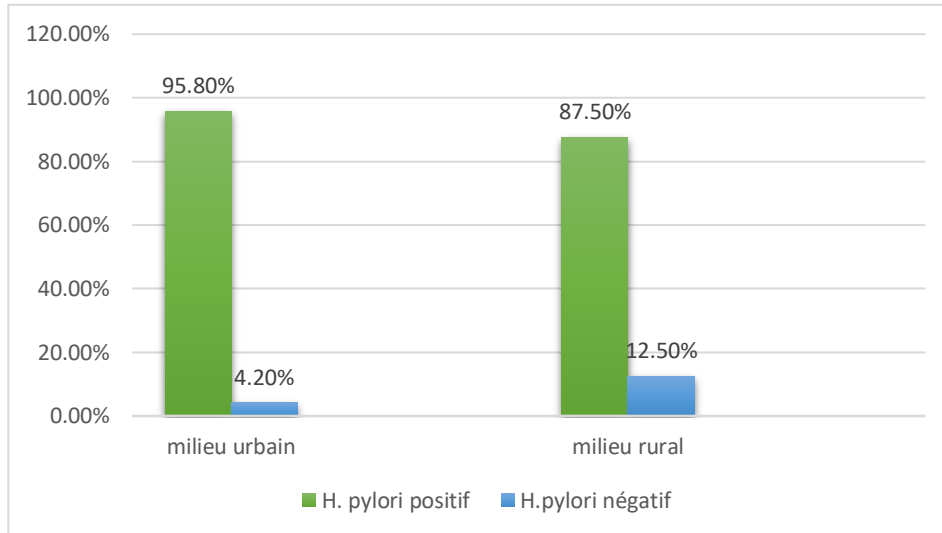


Figure 24 : Distribution de la prévalence d'*H. pylori* en fonction du lieu d'habitat.

5. La prévalence de l'infection en fonction de la consommation du tabac

Dans la présente étude, l'analyse de la prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction de la consommation du tabac a montré que l'infection était de 93,1 % (54/58) chez les patients non consommateurs du tabac, et de 90,9 % (20/22) chez les sujets consommateurs du tabac (**Figure 25**). L'étude de l'infection à *H. pylori* et la consommation du tabac n'a pas montré une différence statistiquement significative (**P value= 0,53**).

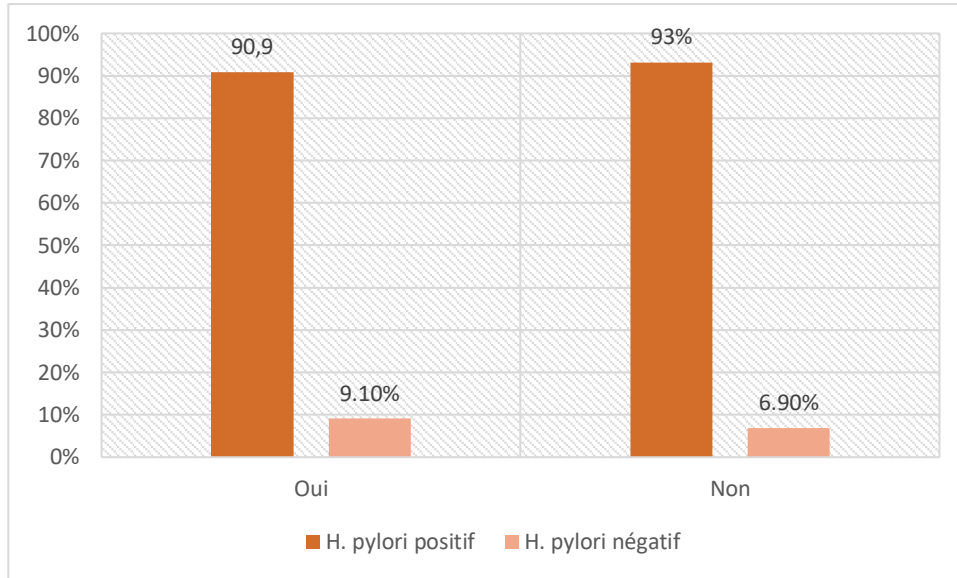


Figure 25 : Représentation graphique de la prévalence d'*H. pylori* en fonction de la consommation du tabac.

6. La prévalence de l'infection en fonction de la consommation d'alcool

En étudiant l'association de l'infection à *H. pylori* et la consommation d'alcool. On a trouvé que l'infection à *H. pylori* est environ la même chez les consommateurs d'alcool que chez les non consommateurs. En effet 91,70 % (11/12) des consommateurs et 92,6 % (63/68) des non consommateurs étaient *H. pylori* positifs, (**Figure 26**). L'étude de cette association n'a pas montré une différence statistiquement significative (**P value= 0,63**).

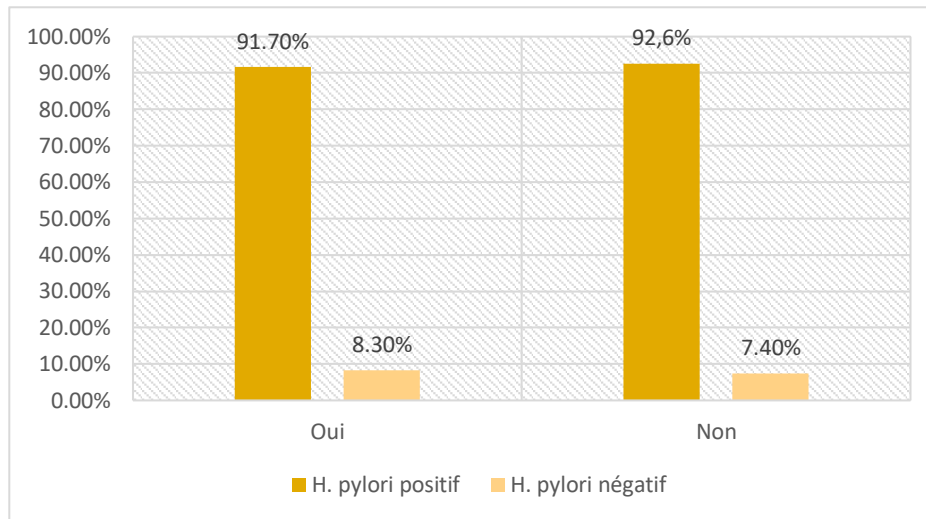


Figure 26 : Représentation graphique de la prévalence d'*H. pylori* en fonction de la consommation d'alcool.

7. La prévalence de l'infection en fonction des pathologies gastriques

Dans notre étude, les résultats ont montré que l'infection à *H. pylori* est élevée dans les différentes lésions gastriques. En effet, *H. pylori* est détectée avec une prévalence de 91,5 % (43/47) chez les patients atteints de la gastrite chronique, 94 % (17/18) chez les patients souffrants de la gastrite atrophique, 90,90 % (10/11) chez les sujets diagnostiqués avec une métaplasie intestinale, et enfin 100% (4/4) chez les patients atteints du cancer gastrique (**Figure 27**). Cependant sur le plan statistique, la fréquence de l'infection à *H. pylori* en fonction des lésions gastriques reste non significative (**P value= 1**).

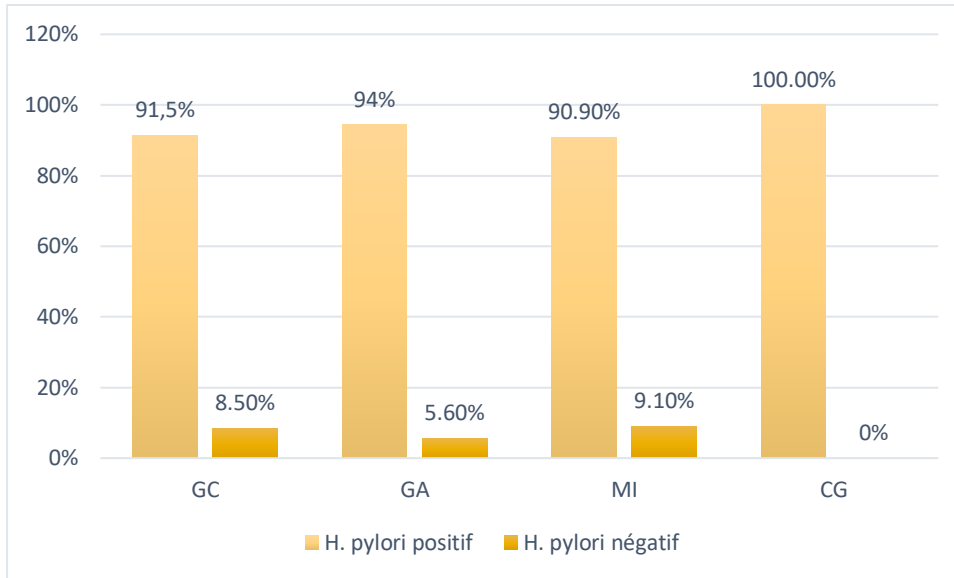


Figure 27 : Distribution de la prévalence d'*H. pylori* en fonction des lésions gastriques.

GC : Gastrite chronique, **GA** : Gastrite atrophique, **MI** : Métaplasie intestinale, **CG** : Cancer gastrique.

III. Distribution des lésions gastriques en fonction des facteurs socio-économique

L'étude de l'association entre les différents facteurs socio-économique (âge, sexe, lieu de naissance, consommation du tabac et de l'alcool) avec la gravité des lésions gastriques a été effectuée sur les patients positifs à *H. pylori* (N = 74).

Tableau IX : Description de la population.

Caractéristiques de la population		Effectif (%)
Sexe	Femmes	35 (47,3)
	Hommes	39 (52,7)
Âge	[20-39]	21 (28,4)
	[40-59]	32 (43,2)
	[60-85]	21 (28,4)
Lieu d'habitation	Urbain	46 (62,2)
	Rural	28 (37,8)
Tabac	Oui	20 (27)
	Non	54 (73)
Alcool	Oui	11 (15,9)
	Non	63 (85,1)
Pathologies gastriques	Gastrite chronique	44 (59,5)
	Gastrite atrophique	16 (21,6)
	Métaplasie intestinale	10 (13,5)
	Cancer gastrique	4 (5,4)

1. Distribution des lésions gastriques en fonction du sexe

Dans notre étude, nous n'avons pas remarqué de différence entre le sexe et les différentes lésions gastriques (répartition est montré dans la **Figure 28**). La gastrite chronique s'est manifestée plus chez les femmes avec un taux de 47,7%. Tandis que pour la métaplasie intestinale le taux élevé était de 60% chez les hommes. Concernant la gastrite atrophique et le cancer gastrique nous avons eu la même fréquence chez les deux sexes (50%).

L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative entre la distribution des lésions et le sexe (**P value = 0,956**).

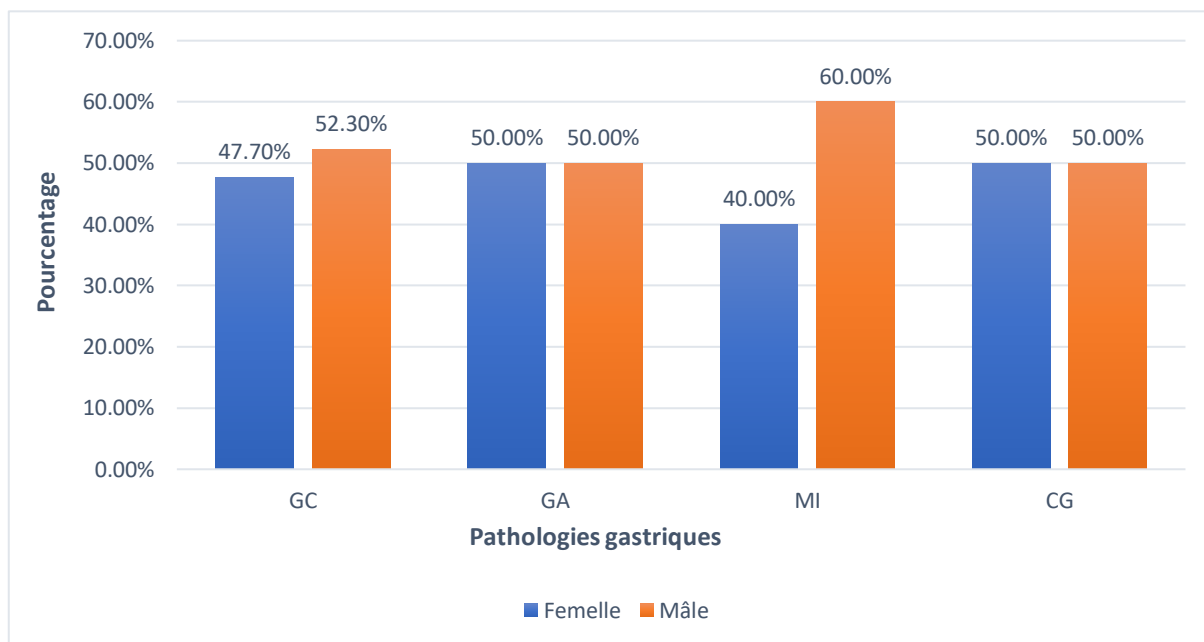


Figure 28 : Distribution des pathologies gastriques en fonction du sexe.

GC : Gastrite chronique, **GA** : Gastrite atrophique, **MI** : Métaplasie intestinale, **CG** : Cancer Gastrique.

2. Distribution des lésions gastriques en fonction de l'âge

Pour la gastrite chronique, la gastrite atrophique et la métaplasie intestinale le taux était plus élevé chez les personnes de la tranche d'âge [40-59 ans] respectivement ; 40,90%, 50% et 50%. Le cancer gastrique, été élevé chez la tranche d'âge [60-85 ans] (50%) alors que les deux autres tranches présentaient le même taux (25%) (**Figure 29**).

Dans notre étude, l'association entre l'âge et les lésions gastriques n'a montré aucune différence statistiquement significative (**P value = 0,526**).

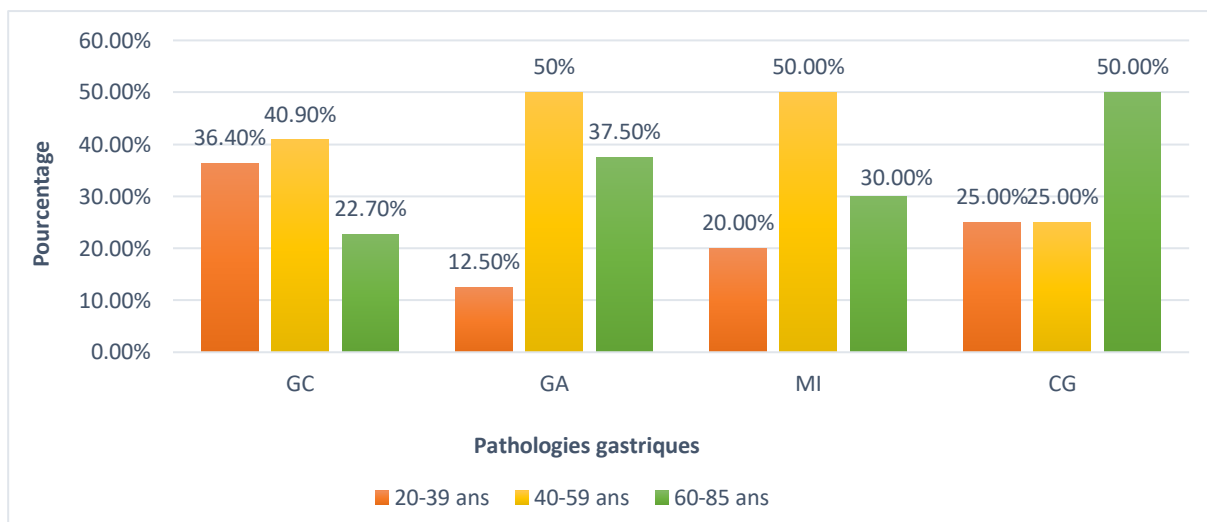


Figure 29 : Distribution des pathologies gastriques en fonctions des classes d'âge.

GC : Gastrite chronique, **GA** : Gastrite atrophique, **MI** : Métaplasie intestinale, **CG** : Cancer Gastrique.

3. Distribution des lésions gastriques en fonction du lieu d'habitation

Dans notre étude les patients issus du milieu urbain, 65,9% ont développé une gastrite chronique, 56,3% une gastrite atrophique, 60% une métaplasie intestinale et 50% un cancer gastrique. Alors que chez les patients qui viennent du milieu rural, le taux de la gastrite chronique était de 34,1%, 43,8% pour la gastrite atrophique, 40% pour la métaplasie intestinale et 50% pour le cancer gastrique (**Figure 30**).

L'étude statistique menée sur notre population n'a montré aucune différence significative entre le lieu d'habitation et la gravité des lésions (**P value = 0,803**).

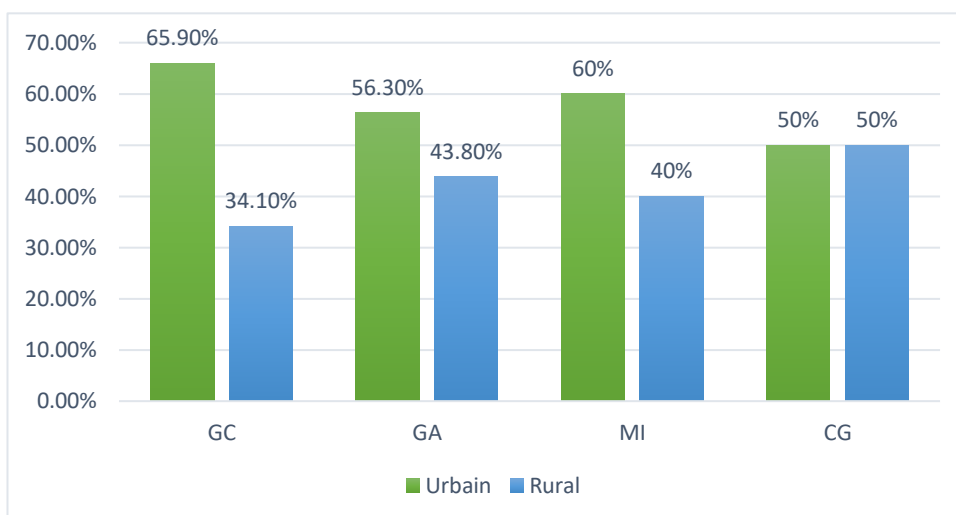


Figure 30 : Distribution des pathologies gastriques en fonction du lieu d'habitation.

4. Distribution des lésions gastriques en fonction de la consommation du tabac

Dans la population étudiée, la fréquence de la gastrite chronique était plus élevée chez les non-fumeurs avec un pourcentage de 72,7% par rapport aux fumeurs. Chez les non-fumeurs, la gastrite atrophique, elle était présente avec un pourcentage de 62,5%. La métaplasie intestinale était présente avec un pourcentage de 90%. Enfin, le cancer était également dominant chez les non-fumeurs avec un pourcentage de 75% (**Figure 31**). L'analyse statistique de cette association n'a montré aucune différence significative (**P value = 0,498**).

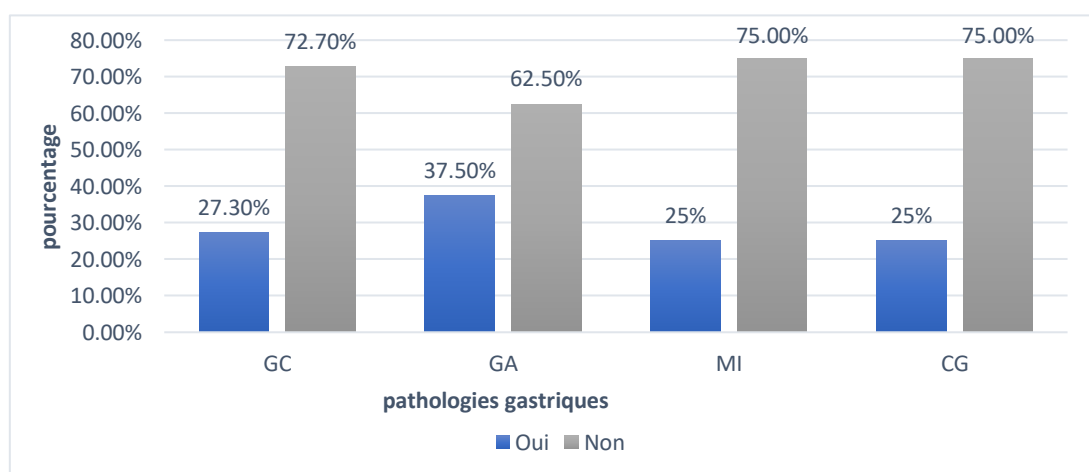


Figure 31 : Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation du tabac.

5. Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation de l'alcool

Dans le cas de l'alcool, la plupart de la population étudiée est non consommatrice de l'alcool. Le taux de la gastrite chronique et atrophique domine chez cette catégorie (respectivement 81,8% et 81,3%). Concernant la métaplasie et le cancer gastrique, la totalité des cas étaient des non consommateurs de l'alcool (**Figure 32**). L'analyse statistique de cette association n'a montré aucune différence significative (**P value = 0,495**).

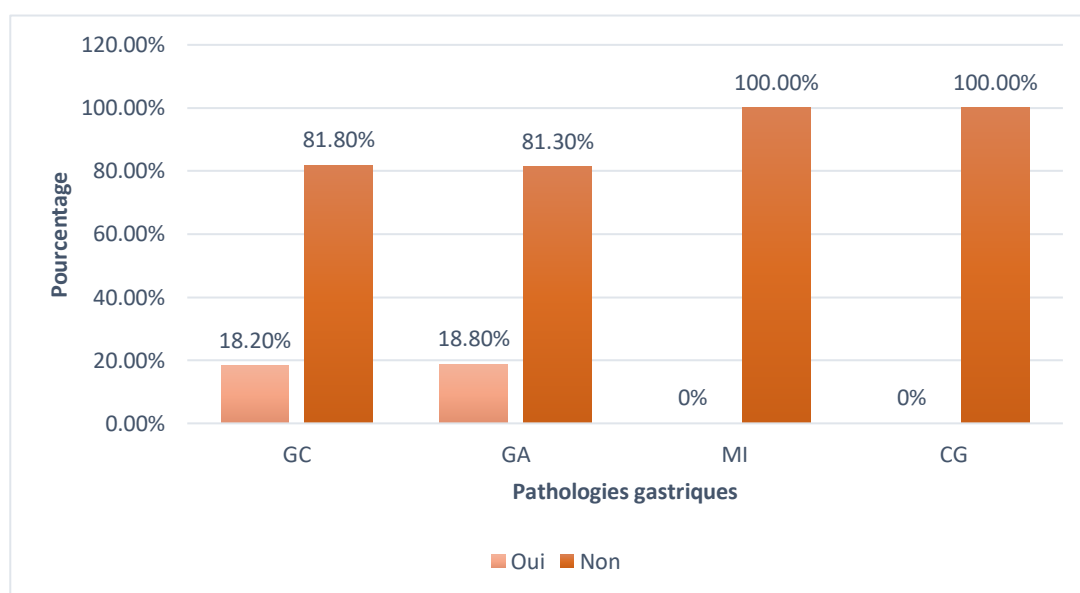


Figure 32 : Distribution des pathologies gastriques en fonction de la consommation de l'alcool.

IV. Etude du facteur de virulence VacA et son association avec les lésions gastriques

1. Prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA dans la population étudiée.

Dans la population étudiée 10 patients ne disposaient pas de résultat de génotypage de la région s du gène vac A dont les 4 patients cancéreux, 5 patients souffrant d'une gastrite chronique et 1 souffrant d'une gastrite atrophique. Le total des patients sur lesquels l'étude a été faite est de N = 64 et la prévalence est décrite dans le (**Figure 33**).

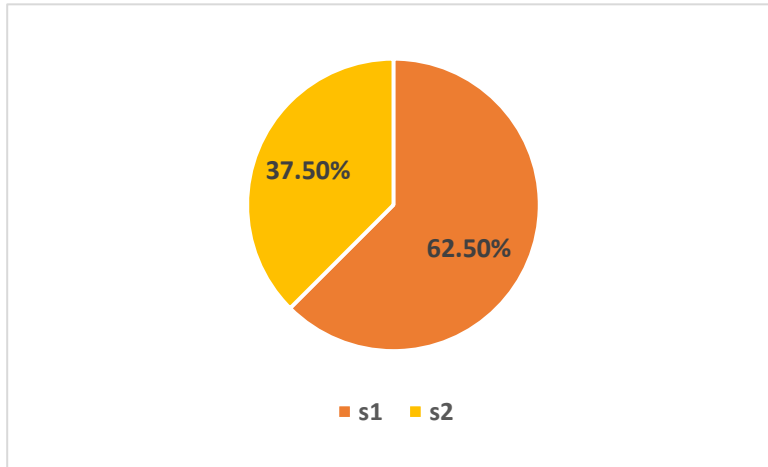


Figure 33 : Prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA dans la population étudiée.

2. Distribution des génotypes de la régions s du gène vacA en fonction des lésions gastriques

Le génotype s1 était plus dominant que le génotype s2 chez la population étudiée. Les génotype s1 et s2 étaient plus dominant chez les patients souffrant d'une gastrite chronique (respectivement 55% et 70,8%). L'analyse statistique de cette association n'a montré aucune différence significative (**P value = 0,471**). La distribution des génotypes s1 et s2 en fonction des différentes lésions gastriques est décrite dans le (**Figure 34**).

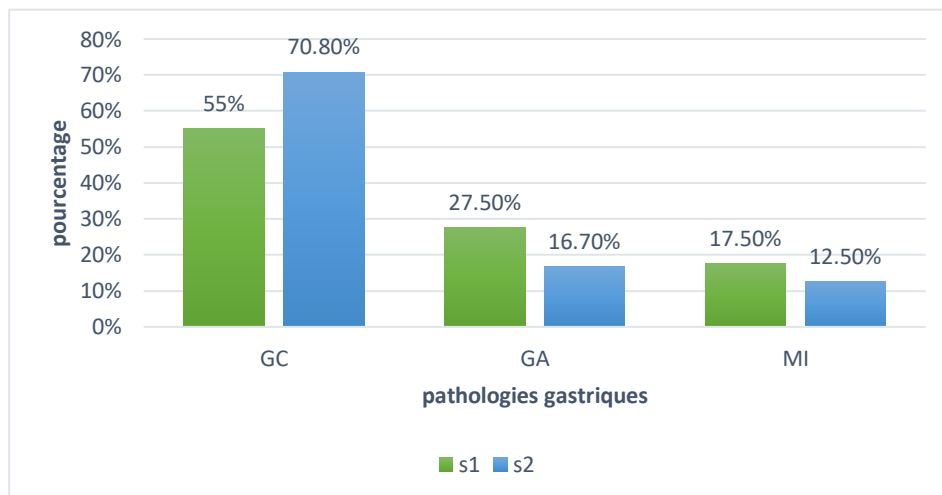


Figure 34 : Distribution des génotypes s1 et s2 de la région s en fonction des pathologies gastriques.

V. Résultats expérimentaux

a) Contrôle de l'ADN

Le gel ci-dessous représente la visualisation des bandes d'ADN après l'extraction. On observe que les bandes des puits 1 et 2 contiennent une quantité décente de l'ADN avec présence des smires dans le deuxième puit, le puit 3 contient une faible quantité d'ADN et le dernier puit absence de l'ADN (**Figure 35**).

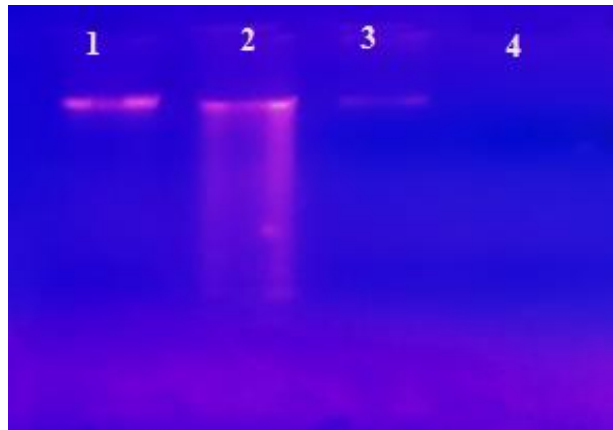


Figure 35 : Profil d'électrophorèse du contrôle de l'ADN.

b) Amplification du gène ureC

Le témoin positif est l'ADN d'un patient dont l'amplification du gène ureC a été déjà faite et il est utilisé pour s'assurer qu'il s'agit bien du même gène amplifié dans les autres échantillons. La figure montre qu'il y'a présence des bandes dans les puits des échantillons 1, 2, 3, 4, 7 et 8 c'est-à-dire qu'ils ont été amplifiés et les patients sont positifs à *H. pylori*. Cependant le puit 6 ne présente aucune bande (patient négatif) (**Figure 36**).

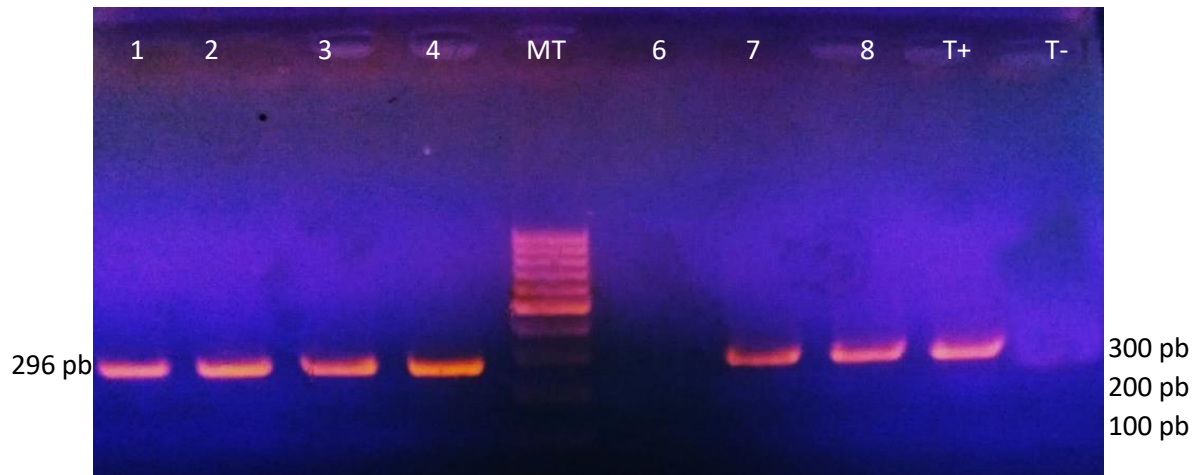


Figure 36 : Profil d'électrophorèse de la PCR du gène ure C.

T+ : témoin positif, T- : témoin négatif, puits 1,2,3,4,7 et 8 : présence d'ADN, puit 6 : absence d'ADN.

c) Amplification du gène vacA

L'amplification du gène vacA spécifique à la bactérie a été effectuée selon les conditions optimales décrites précédemment.

Les 6 patients positifs à *H. pylori* ont subi une amplification du gène vacA pour déterminer la prévalence des génotypes de la région s. Les résultats de la migration des produits de cette amplification sont représentés sur la (**Figure 37**).

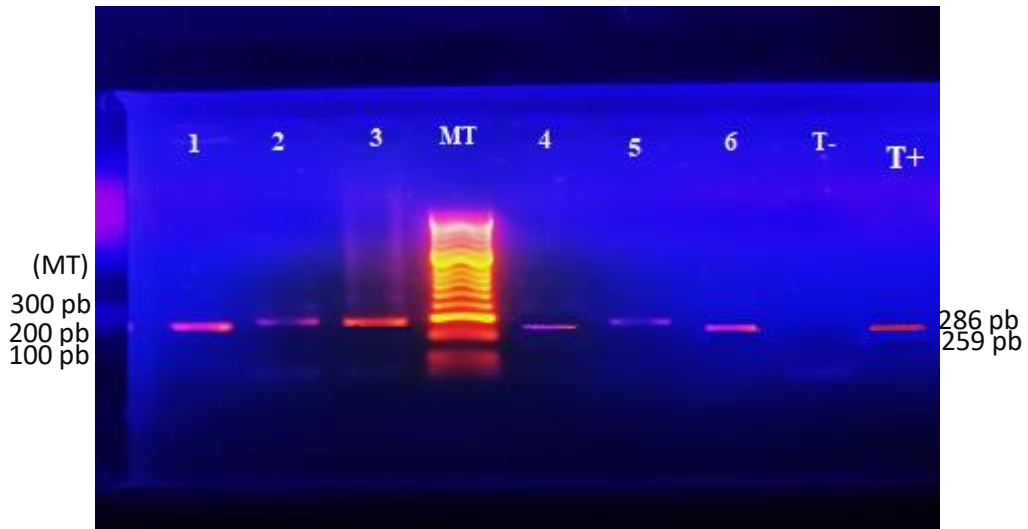


Figure 37 : Profil d'électrophorèse de la PCR du gène vacA.

T- : Témoin négatif ; T+ ; MT : Marqueur de taille phage phiX174 (100 bp).

La figure montre l'absence de bande dans le puit du témoin négatif (T-), ce qui valide la réaction de la PCR par absence de contamination dans le mix. Le reste des puits présentent une bande confirmant la présence d'amplification. La taille des amplicons est de 259 pb observée dans les puits n° 1, n° 4, n° 6 et celui du témoin positif, ce qui correspond à la taille de la région s1 selon le marqueur de taille (MT), pour le reste des amplicons (puit n°2, n°3 et n°5) sont de taille de 286 bp ce qui correspond à la taille de la région s2 du gène vacA.

Partie 4 : DISCUSSION

Le cancer gastrique est l'un des néoplasmes les plus agressifs, il est observé partout dans le monde (Sobhani 2004).

En se basant sur les données du GLOBOCAN 2008, le cancer gastrique constitue le second cancer digestif après les cancers colorectaux et la quatrième cause de décès par cancer (Ferlay J, *et al.*, 2008). Au Maroc il se situe au premier rang de l'ensemble des cancers digestifs (Fadlouallah *et al.* 2015), ce qui affirme qu'il représente encore de nos jours un sérieux problème de santé publique mondiale.

Ce néoplasme se développe en une cascade appelée carcinogénèse gastrique : la gastrite chronique progresse à travers les stades pré-malignes de la gastrite atrophique, la métaplasie intestinale, et la dysplasie, jusqu'au cancer gastrique (De Vries and Kuipers 2007).

Il est maintenant clairement établi que *H. pylori* est une bactérie dont la responsabilité est connue dans les pathologies gastriques telles que les gastrites, l'ulcère ou encore le développement du cancer gastrique (Fakhar 2018). En effet, cette bactérie a été classée par l'IARC comme facteur carcinogène, avec un risque relatif de cancer gastrique de 2 à 6 fois plus élevé chez les patients infectés par *H. pylori* par rapport à une population non infectée (Aparicio. T *et al.*, 2004 ; Rajesh P. *et al.*, 2011). L'adénocarcinome gastrique est un cancer dont l'incidence reste variable à travers le monde. Nous avons remarqué que dans de nombreuses régions du monde, le taux de la prévalence de l'infection à *H. pylori* et la fréquence des cancers gastrique sont en concordance, comme en Asie de l'Est (Japon, Chine et Corée) (Yingsong Lin, *et al.*, 2011), où les taux élevés de l'infection à *H. pylori* reflètent les taux élevés de cancer gastrique. Cependant cette association n'est pas universelle, en Afrique où la prévalence de *H. pylori* est augmentée, variant entre 70% et 92%. Par contre l'incidence du cancer gastrique reste faible (Asombang AW, *et al.* 2012). Toutes ces observations suggèrent que la carcinogénèse soit un processus multifactoriel, influencé par les facteurs de virulence de la bactérie, les polymorphismes génétiques et les prédispositions de l'hôte ainsi les facteurs environnementaux (Liboko *et al.* 2022). Le gène *vacA* est présent chez toutes les souches de *H. pylori*, mais la forme bioactive de la toxine VacA a été trouvée dans moins de la moitié d'entre elles (Atherton and Blaser 2009), en raison de la diversité allélique au niveau du gène *vacA*.

La protéine VacA joue un rôle majeur dans la pathogenèse de *H. pylori*. Contrairement à d'autres toxines bactériennes porogènes, la toxine VacA agit à l'intérieur des cellules (Ivie *et al.* 2010), affectant à la fois les cellules de l'épithélium gastrique et les cellules immunitaires.

Au Maroc, à l'heure actuelle, rares sont les études traitant de l'aspect épidémiologique de *H. pylori* et son rôle dans la pathogenèse gastrique. Dans ce contexte, notre travail s'inscrit dans le but d'étudier la prévalence de cette infection et son association avec les différents facteurs socio-économiques chez une population marocaine, ainsi que d'étudier la prévalence du facteur de virulence VacA et enfin, notre travail s'est intéressé à l'étude de l'association du gène *vacA* avec la carcinogenèse gastrique. Tout ceci afin de discuter l'utilisation potentielle de ce facteur de virulence comme marqueur prédictif dans le suivi des patients infectés par *H. pylori* et présentant un risque élevé de développer un cancer gastrique.

La prévalence de l'infection par cette bactérie est comprise entre 20 et 40 % dans les pays industrialisés ; elle atteint 70 à 90 % dans les pays en voie de développement. Dans la présente étude, la prévalence de l'infection à *H. pylori* dans la population étudiée a été de 92,5 %, correspond bien aux prévalences notées dans les pays en voie de développement, et ce qui est en accord avec les résultats rapportés par plusieurs études marocaines (Essadik *et al.* 2013; Bounder.G *et al.* 2017). Dans une étude menée sur une population marocaine, Bounder. G *et al.* ont démontré une prévalence de 92 % (Bounder.G *et al.* 2017). Des résultats similaires ont été observés dans certains pays en développement, en Afrique (Afrique du Sud : 87 % (Dube, C. *et al.*, 2009 ; Côte d'Ivoire : 80 % (Doffou *et al.* 2022) ; Égypte : 72 % (Mohammad, M. A., *et al.*, 2008). Contrairement aux pays développés, comme l'Australie, la Suisse, et plus généralement l'Amérique du Nord et l'Europe de l'Ouest où cette incidence est faible et varie entre 7% et 33% (Muhammad, J. S., *et al.* 2012).

L'analyse de la prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction du sexe n'a réussi à mettre en évidence aucune différence significative. La prévalence de l'infection à *H. pylori* était légèrement plus élevée chez les hommes (95,1 %) comparée à celle des femmes (89,7 %). Nos observations sont en accord avec une étude menée sur une population marocaine

(Essadik *et al.* 2013). En revanche une autre étude a montré que les deux sexes sont exposés d'une façon similaire à l'infection (Bouder.G *et al.* 2017).

Par ailleurs, la distribution de l'infection selon les différentes tranches d'âges n'a pas montré de résultat significatif non plus du faible effectif de la population incluse dans l'étude, En revanche, les données retrouvées par Essadik et al ont démontré qu'il y a une association significative entre la prévalence de l'infection à *H. pylori* et l'âge, l'association était d'autant plus forte chez les patients appartenant à la tranche d'âge [31-40 ans]. En effet, la prévalence à l'infection enregistré dans cette tranche d'âge était de 80,2 % (Essadik *et al.* 2013).

Notre étude a concerné des patients issus de différents lieux d'habitation. En effet, les résultats ont démontré que (95,8 %) des patients vivant dans des milieux urbains et (87,5 %) des patients venant des milieux ruraux étaient *H. pylori* positifs. Ces résultats ne sont pas significatifs et sont en accord avec une étude marocaine dans laquelle ont montré que (65,4 %) des patients issus d'un milieu urbain étaient *H. pylori* positifs contre (34,5 %) des patients issus d'un milieu rural (Benajah *et al.* 2013).

Concernant l'étude de la prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction de la consommation du tabac et d'alcool elle n'a montré aucune différence significative. Une étude menée au Maroc par l'équipe de Boukhris et al. est en accord avec nos résultats (Boukhris *et al.* 2013).

L'analyse de la prévalence de l'infection à *H. pylori* en fonction de la distribution des différentes pathologies gastriques n'a réussi à mettre en évidence aucune différence significative. En effet, il a été démontré que l'infection à *H. pylori* concernait 91,5 % des individus souffrants de la gastrite chronique, 94,4 % des sujets atteints de la gastrite atrophique, 90,9 % des sujets atteints d'une métaplasie intestinale et enfin 100 % des patients présentaient un cancer gastrique. En revanche, dans une étude marocaine Bouder G et al ont démontré que les lésions gastriques étaient fortement associées à *H. pylori* : 91,2 % des patients infectés avaient une gastrite chronique, 89 % des patients présentaient une gastrite

atrophique, 94 % des patients avaient une métaplasie intestinale et enfin 82,6 % des sujets étaient diagnostiqués avec un cancer gastrique (Bouder.G *et al.* 2017)

Il est important de rappeler que le développement du cancer gastrique repose sur l'interaction complexe des facteurs bactériens (facteurs de virulence), des facteurs de l'hôte (polymorphisme des gènes de l'inflammation), et des facteurs environnementaux. Il a effectivement été démontré que l'âge, le sexe, la consommation du tabac et d'alcool ainsi que la provenance des patients constituaient de potentiels facteurs de risque pour le développement de ce néoplasme. Dans ce contexte, nous avons étudié l'association de ces différents facteurs avec la sévérité des lésions gastriques.

La distribution des lésions gastriques en fonction du sexe a également été évaluée dans notre étude. Nos résultats ont montré que la fréquence des deux sexes était identique dans la gastrite atrophique, et elle est environ la même dans le cas de la gastrite chronique. En revanche nous avons remarqué que les hommes développent d'avantage des métaplasies intestinales (60%) que les femmes (50%). Nos résultats sont en accord avec une autre étude marocaine qui a démontré une association positive entre le sexe masculin et la métaplasie intestinale (Boukhris *et al.* 2013). Cependant pour la fréquence des cancéreux était la même chez les deux sexes ; cette donnée n'est cependant pas significative pour autant car le nombre total des patients atteints de cancer gastrique ne dépasse pas 4 patients. Néanmoins, une étude menée par Shichijo *et al.*, a prouvé l'association entre le sexe masculin et le risque de cancer gastrique. Par conséquent, il semblerait que les hommes soient plus susceptibles de développer un cancer gastrique vu leur haute prévalence dans la métaplasie intestinale (Shichijo *et al.* 2017).

Dans notre travail, l'étude de l'impact de l'âge sur le développement des différentes lésions gastriques liées à l'infection à *H. pylori* a montré que les lésions gastriques sévères étaient plus diagnostiquées dans les tranches d'âge avancées. En effet, nous avons remarqué que les lésions précancéreuses gastriques (gastrite atrophique et la métaplasie intestinale) étaient plus manifestées (50 % pour les deux) dans la tranche d'âge [40-59 ans], alors que le cancer gastrique était plus diagnostiqué dans la tranche d'âge [60-85 ans] (50%). En revanche la gastrite chronique a été plus présente dans la tranche d'âge la moins avancée

[20-39 ans] et [40-59 ans] (36,4% et 40,9% respectivement). Nos observations sont en accord avec d'autres études marocaines, qui ont démontré que les lésions gastriques sévères (gastrite atrophique, métaplasie intestinale, et cancer gastrique) étaient plus diagnostiquées dans les tranches d'âge avancées (Bouder. G *et al.* 2017; Boukhris *et al.* 2013).

Dans notre travail, l'étude de la distribution des lésions gastriques en fonction du lieu d'habitation, n'a montré aucune association significative. Nous avons remarqué que les patients provenant des milieux urbains étaient plus atteints par les différentes lésions gastriques (la gastrite chronique 65,9 %, la gastrite atrophique 56,3 %, et la métaplasie intestinale 60 %). Alors que pour le cas du cancer gastrique la fréquence des patients vivant dans des milieux urbains était la même que chez les patients venant des milieux ruraux (50 %). En revanche une étude marocaine a montré qu'il y a une association entre la distribution des lésions gastriques et le lieu d'habitation et que les patients provenant des zones rurales étaient plus atteints par les différentes pathologies gastriques. Ces différences pourraient être dues au faible niveau socio-économique rencontré dans ces régions, ce qui traduit par un accès limité à un diagnostic précoce des lésions gastriques (Boukhris *et al.* 2013).

Concernant la consommation du tabac, nous n'avons trouvé aucune association entre ce facteur et la progression de la carcinogenèse gastrique. Néanmoins, nous avons remarqué une fréquence élevée des non consommateurs de tabac dans les différentes lésions précancéreuses gastriques. Plusieurs études ont considéré le tabagisme comme un facteur de risque dans la survenue du cancer gastrique, il était classé par l'agence internationale de recherche des cancer (IARC) comme carcinogène du groupe 1 au niveau gastrique, des études coréennes avaient montré une association entre la durée du tabagisme, l'incidence et la mortalité liée au cancer gastrique (Kim Y, *et al.*, 2007 ; Yun YH, *et al.*, 2005 ; Jee SH, *et al.*, 2004), ce risque est surtout accru en cas d'association avec l'infection par *H. pylori*. En revanche dans une étude allemande, aucune relation significative n'a été trouvée entre le tabac et le cancer gastrique (Jan Bornschein, *et al.*, 2011).

Concernant l'implication de la consommation d'alcool sur la gravité des lésions gastriques, nous n'avons trouvé aucune association entre ce facteur et la gravité des lésions gastriques. Notre résultat est en accord avec une étude menée au Maroc (Boukhris *et al.* 2013).

La région signal du gène *vacA* influence l'activité vacuolaire de la protéine VacA. Le génotype s1 contient une région hydrophobe adjacente au site de clivage protéolytique qui augmente l'insertion membranaire et la formation de canaux membranaires anioniques (Jones *et al.* 2011). Presque toutes les souches s1 possèdent une activité cytotoxique, tandis que dans les souches s2, elle est bloquée (Dong *et al.* 2009). D'autre part, il existe des différences dans la répartition géographique des différents génotypes de la région s du gène *vacA* (Yamaoka, 2008), ainsi que des résultats différents en ce qui concerne l'association entre la prévalence de certains allèles et la gravité des lésions gastriques.

Dans la présente étude la prévalence des génotypes s1 et s2 était de (62,5% et 37,5% respectivement). A l'échelle mondiale cette distribution est presque similaire à une étude menée sur une population en Bulgarie (Yordanov *et al.* 2012), où le génotype s1 est prédominant par rapport au génotype s2 (86,6 % et 13,45 % respectivement). Cependant, d'autres études menées au Maroc ont révélé un taux de prévalence des génotypes s1 et s2 (48,5 % et 51,5 % respectivement) (Jouimyi *et al.* 2021), et (48,3 % et 51,7% respectivement) (Boukhris *et al.* 2013), et presque la même distribution des deux génotypes a été trouvée dans une étude menée sur une population espagnole (40 % et 53 % respectivement) (González *et al.* 2011).

Dans notre travail, la distribution des génotypes s1 s2 en fonction de développement des lésions gastriques n'a montré aucune différence significative vu le faible effectif de notre population. Nous avons remarqué que la fréquence du génotype s2 était plus élevée que le génotype s1 dans le cas de la gastrite chronique (70,8 % et 55 % respectivement), ce résultat était en accord avec une étude marocaine (Khadir *et al.* 2017). En revanche la fréquence du génotype s1 était plus élevée dans le cas de la gastrite atrophique et la métaplasie intestinale (27,5 % et 17,9 % respectivement) par rapport au génotype s2 (16,7 % et 12,5 % respectivement). Les résultats de notre travail ont été renforcés à l'échelle nationale par l'étude menée par Jouimyi. R *et al* qui ont trouvé une fréquence élevée du

génotype s1 dans le cas de la gastrite atrophique et la métaplasie intestinale (57 % et 64 % respectivement) par rapport au génotype s2 (Jouimyi *et al.* 2021). A l'échelle mondiale. Notre résultat est en accord avec des travaux effectués aux Etats-Unis, qui ont prouvé que les souches de *H. pylori* avec vacA de type s1 sont généralement cytotoxiques in vitro et sont associées à des niveaux élevés d'inflammation gastrique in vivo (Atherton *et al.* 1997).

Les toxines VacA de type s1 contiennent une extrémité N-terminale hydrophobe, alors que les toxines VacA de type s2 ont une courte extension N-terminale de 12 acides aminés, qui est principalement hydrophile (Atherton *et al.* 1995). Ceci a été expliqué par des études effectuées par Bernard *et al.* Et Ye *et al.*, qui ont travaillé sur la forme toxigène s1 de VacA, et ont démontré que la suppression de son extrémité N-terminale hydrophobe abolit l'activité vacuolatrice de cette toxine (de Bernard *et al.* 1998; Ye *et al.* 1999).

Conclusion et perspectives

Dans notre étude, la prévalence de l'infection à *H. pylori* a été de 92,50 %. Nous avons également trouvé que l'âge avancé, le sexe masculin, la consommation du tabac et d'alcool, et le lieu d'habitation des patients pouvaient être de potentiels facteurs de risque pour le développement du cancer gastrique.

L'étude de la prévalence des génotypes s1 et s2 du gène vacA a montré un taux de (62,50 % et 37,50 % respectivement). Une augmentation de la fréquence des souches VacA de type s1 en fonction de la sévérité des lésions gastriques a été observée.

A travers nos résultats, nous pouvons conclure que l'infection par les souches *H. pylori* possédant le gène vacA avec le génotype s1 de la région « s » représente un facteur de risque important pour le développement du cancer gastrique. Il est donc nécessaire de mettre à jour les recommandations concernant le diagnostic, le traitement d'éradication et le suivi des patients afin d'éviter l'évolution d'une gastrite chronique pouvant être rapidement traitée vers un cancer gastrique.

A l'échelle mondiale, l'infection par *H. pylori* est considérée un problème de santé public.

Bien que la prévalence de l'infection à *H. pylori* est élevée au Maroc, les recherches sur le rôle des facteurs de virulence de cette bactérie, notamment de la toxine VacA dans le développement de cancer gastrique ne sont qu'à leur début. Ainsi, nos travaux génèrent de nombreuses perspectives :

- ✓ Augmenter l'effectif de la population pour avoir plus de signification.
- ✓ Etudier les autres régions du gène vacA, notamment les régions m, i, et d, et leur association avec le développement du cancer gastrique.
- ✓ Etudier la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes au Maroc, afin d'établir un traitement plus efficace.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ✚ Ahmad. T, Pakistan, (2014). Utilisation des techniques nucléaires pour détecter une Infection à *Helicobacter pylori*, IAEA Bulletin 55 – 1 / Mars 2014 | 19.
- ✚ Alexandre G. (2022). Méthodes diagnostiques non invasives de l'*Helicobacter pylori* :19 2022.
- ✚ Alkim H, Koksal AR, Boga S, et al. (2017). Role of bismuth in the eradication of *Helicobacter pylori*. Am J Ther 2017;24: e751–e757.
- ✚ Amilon, KR ; Letley, DP ; Hiver, JA ; Robinson, K. ; Atherton, JC, (2015). L'expression de la cytotoxine A vacuolante du facteur de virulence *Helicobacter pylori* (*vacA*) est influencée par une structure tige-boucle potentielle dans la région 5 'non traduite du transcrit. *Mol. Microbiol.*, 98, 831–846.
- ✚ Anthony Lopez. (2018). Microbiote et cancer, La Lettre de l'Hépto-gastroentérologue.
- ✚ Aparicio. T, Yacoub. M, Karila-Kohen. P, René. E. (2004) Adénocarcinome gastrique : notions fondamentales, diagnostic et traitement. EMC;1(1) :1-84.
- ✚ Arnion, H. (2011). Étude de petits ARNs chez une bactérie : *Helicobacter pylori*.
- ✚ Asombang AW, Kelly P. (2012). Gastric cancer in Africa: what do we know about incidence and risk factors. Trans R Soc Trop Med Hyg.Feb;106(2):69-74.
- ✚ Atherton JC, Cao P, Peek RM, et al (1995) Mosaicism in Vacuolating Cytotoxin Alleles of *Helicobacter pylori*: Association of specific VacA types with cytotoxin production and peptic ulceration (*). Journal of Biological Chemistry 270:17771–17777.
- ✚ Atherton J, Peek R, Tham K, et al (1997) Clinical and pathological importance of heterogeneity in *vacA*, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 112:92–99.
- ✚ Atherton JC, Blaser MJ (2009) Coadaptation of *Helicobacter pylori* and humans: ancient history, modern implications. J Clin Invest 119:2475–2487.
- ✚ Attaf N., Cherkaoui N., Choulli M.K., Ghazali L., Mokhtari A., SoulaymaniA. (2004) ; Profil épidémiologique de l'infection à *Helicobacter pylori* dans la région de Gharb-chrarda –Béni Hssen. Biologie et santé. ;4 (1):25-34.

- ✚ Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, Schiavon S, Guariso G, Ceroti M, Nitti D, Rugge M, Plebani M, Atherton JC. (2008). Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* 135:91–99.
- ✚ Benajah DA, Lahbabi M, Alaoui S, et al (2013) Prevalence of *Helicobacter pylori* and its recurrence after successful eradication in a developing nation (Morocco). *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology* 37:519–526.
- ✚ Bertholom C. Infections à *Helicobacter pylori*. *Option/Bio* (2015) ;26 :13–5.
- ✚ Bertholom C. *Helicobacter* et cancer. *Option/Bio* (2018) ;29 :22–3.
- ✚ Bessaguet F, de Bandt J-P, Desmoulière A. (2021). ; L'estomac. *Actualités Pharmaceutiques* ;60 :53–6.
- ✚ Bossali. F, DEBY G, AHOU-APENDI CR, NDOLO D, NDZIESSI G, ATIPO-IBARA BI, IBARA JR., (2017) - Etude de la prise en charge de l'infection à *Helicobacter pylori* dans les villes de pointe-noire et de brazzaville en 2015.
- ✚ Boukhris SA, Amarti A, Rhazi KE, et al (2013) *Helicobacter pylori* Genotypes Associated with Gastric Histo-Pathological Damages in a Moroccan Population. *PLOS ONE* 8: e82646.
- ✚ Bounder G, Boura H, Maachi F, Lebrazi H.; (2017). Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and related gastric pathologies in Moroccan population. *J Life Sci*; 11: 211-218.
- ✚ Bouyssou C. ;(2014). Évolution des stratégies thérapeutiques pour *Helicobacter pylori*. *Actualités Pharmaceutiques* ; 53 : 25-30.
- ✚ Bui D., Brown H.E., Harris R.B., et Oren E., (2016) - Serologic Evidence for Fecal–Oral Transmission of *Helicobacter pylori*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94 (1): 82-88.
- ✚ Capelle, L. G., A. C. de Vries, et al. (2008), "Gastric MALT lymphoma: epidemiology and high adenocarcinoma risk in a nation-wide study." *Eur J Cancer*.44(16): 2470-2476.
- ✚ Chtourou L, Ksouda K, Gargouri L, Kharrat D, Moalla M, Affes H, et al., (2019). Diagnostic et traitement de l'infection a *Helicobacter pylori*. *Diagnosis and treatment of Helicobacter pylori infection* n.d.:10.

- # Cover TL. (2016) *Helicobacter pylori* Diversity and Gastric Cancer Risk. MBio;7: e01869-15.
- # De Bernard M, Burroni D, Papini E, et al (1998) Identification of the *Helicobacter pylori* VacA Toxin Domain Active in the Cell Cytosol. Infection and Immunity 66:6014–6016.
- # De Korwin J D, Lehours P. (2010) ; *Helicobacter pylori* : notions fondamentales, épidémiologie, méthodes diagnostiques. EMC - Gastro-Entérologie; 5(3):1-16.
- # Delchier JC, De Korwin JD, Mégraud F, et al. (2014). Infection à *H. pylori* et cancers gastriques. Rev Prat ;(2): 187-214.
- # De Vries AC, Kuipers EJ (2007) Epidemiology of Premalignant Gastric Lesions: Implications for the Development of Screening and Surveillance Strategies. *Helicobacter* 12:22–31.
- # Ding L., El Zaatari M. et marchand J.L. (2016). ; Récapitulation de la pathogénèse du cancer gastrique humain : modèles expérimentaux du cancer de l'estomac. Adv. Exp. Med. Biol, 908 :441–478.
- # Doffou S, Bangoura A, Yaogo A, et al (2022) Etude comparative de trois trithérapies dans l'éradication d'*Helicobacter pylori* dans une zone de forte prévalence (Afrique de l'Ouest)
- # Dong Q-J, Wang Q, Xin Y-N, et al (2009) Comparative genomics of *Helicobacter pylori*. World J Gastroenterol 15:3984–3991.
- # Dube, C., Nkosi, T. C., Clarke, A. M., Mkwetshana, N., Green E., and Ndip, R. N. (2009) “*Helicobacter pylori* Antigenemia in an Asymptomatic Population of Eastern Cape Province, South Africa: Public Health Implications.” Rev. Environ Health 24: 249-55.
- # El-Omar, E.M., Rabkin, C.S., Gammon, M.D., Vaughan, T.L., Risch, H.A., Schoenberg, J.B., Stanford, J.L., Mayne, S.T., Goedert, J., Blot, W.J., others, (2003). Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. Gastroenterology 124, 1193–1201.
- # Essadik A, Benomar H, Rafik I, et al (2013) Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection à *Helicobacter pylori* à travers une étude marocaine. Hegel 3:163–169.
- # Fadlouallah M, Krami H, Errabih I, et al (2015) Le cancer gastrique : aspects épidémiologiques au Maroc. J Afr Cancer 7:8–15.

- ✚ Fauconnier A., Chapron C., Dubuisson J-B., Vieira M., Dousset B. et Bréart G. (2002). - Relation between Pain Symptoms and the Anatomic Location of Deep Infiltrating Endometriosis. *Fertility and Sterility*, 78 (4): 719-26.
- ✚ Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 Int J Cancer.;127(12):2893-917.
- ✚ Fischer, W.; Buhrdorf, R.; Gerland, E.; Haas, R. (2001). Membrane externe ciblant les protéines passagères par l'autotransporteur de cytotoxines vacuolantes de *Helicobacter pylori*. *Infecter. Immun*, 69, 6769–6775.
- ✚ Fischer W. (2011). Assembly and molecular mode of action of the *Helicobacter pylori* Cag type IV secretion apparatus. *The FEBS journal*; 278(8): 1203-12.
- ✚ Foegeding N, Caston R, McClain M, Ohi M, Cover T. (2016). An Overview of *Helicobacter pylori* VacA Toxin Biology. *Toxins*;8:173.
- ✚ Fougere É. (2019). ; Ulcère gastro-duodéal à *Helicobacter pylori*. *Actualités Pharmaceutiques* 58 :14–7.
- ✚ Fujikawa, A. ; Shirasaka, D. ; Yamamoto, S. ; Ota, H. ; Yahiro, K. ; Fukada, M.; Shintani, T.; Wada, A.; Aoyama, N.; Hirayama, T.; *et al.*(2003). Mice deficient in protein tyrosine phosphatase receptor type z are resistant to gastric ulcer induction by VacA of *Helicobacter pylori*. *Nat. Genet.*, 33, 375–381.
- ✚ Gonciarz W, Krupa A, Moran AP, Tomaszewska A, Chmiela M. (2021). Interference of LPS *H. pylori* with IL-33-Driven Regeneration of Caviae porcellus Primary Gastric Epithelial Cells and Fibroblasts. *Cells*; 10:1385.
- ✚ González CA, Figueiredo C, Lic BC, et al (2011). *Helicobacter pylori* cagA and vacA Genotypes as Predictors of Progression of Gastric Preneoplastic Lesions: A Long-Term Follow-Up in a High-Risk Area in Spain. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG* 106:867–874.
- ✚ Gressot P, Frossard J-L, Grosgrain O, Marti C. (2019). First line eradication treatment of *Helicobacter pylori* in 2019. *Revue Medicale Suisse* 2019;15:1854–8.
- ✚ Guetarni H., (2013) : Effet antibactérien des bactéries lactiques isolées à partir de lait crus algériens sur la croissance de *H.pylori*, Université ES-Sénia, Oran.
- ✚ Gupta, V.R.; Patel, H.K.; Kostolansky, S.S.; Ballivian, R.A.; Eichberg, J.; Blanke, S.R.(2008) Sphingomyelin functions as a novel receptor for *Helicobacter pylori* VacA. *PLoS Pathog*, 4, e1000073.

- # Hasosah M., Satti M., Shehzad A., Alsahafi A., Sukkar G., Alzaben A., Sunaid A., (2015) - Prevalence and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection in Saudi Children: A Three-Year Prospective Controlled Study. *Helicobacter*, 20 (1): 56-63.
- # Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al.:(2017). Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. ;153(2):420-9.
- # Ivie SE, McClain MS, Algood HMS, et al (2010). Analysis of a β -helical region in the p55 domain of *Helicobacter pylori* vacuolating toxin. *BMC Microbiology* 10:60.
- # Jan Bornschein, Theodore Rokkas, Michael Selgrad and Peter Malfertheiner. (2011), Gastric Cancer: Clinical Aspects, Epidemiology and Molecular Background. *Helicobacter*. ;16 Suppl 1:45-52.
- # Jee SH, Samet JM, Ohrr H, Kim JH, Kim IS. (2004). Smoking and cancer risk in Korean men and women. *Cancer Causes Control*;15(4):341-348.
- # Jiang Q., Hiratsuka K., Taylor D.E., (1996) - Variability of gene order in different *Helicobacter pylori* strains contributes to genome diversity. *Molecular Microbiology*, 20 (4) : 833-42.
- # Jones KR, Jang S, Chang JY, et al (2011) Polymorphisms in the Intermediate Region of VacA Impact *Helicobacter pylori* -Induced Disease Development. *Journal of Clinical Microbiology* 49:101–110.
- # Jouimy MR, Boudier G, Essaidi I, et al (2021) Association of *Helicobacter pylori* vacA polymorphisms with the risk of gastric precancerous lesions in a Moroccan population. *The Journal of Infection in Developing Countries* 15:1124–1132.
- # Khadir ME, Boukhris SA, Benajah D-A, et al (2017) VacA and CagA Status as Biomarker of Two Opposite End Outcomes of *Helicobacter pylori* Infection (Gastric Cancer and Duodenal Ulcer) in a Moroccan Population. *PLOS ONE* 12:e0170616.
- # Kim Y, Shin A, Gwack J, Jun JK, Park SK, Kang D, et al. (2007). Cigarette smoking and gastric cancer risk in a communitybased cohort study in Korea. *J Prev Med Public Health*. ;40(6):467-474.
- # Kim N, éditeur. (2016). *Helicobacter pylori*. Springer Singapore.

- # Kuipers, E. J., L. Lundell, et al. (1996). "Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication." *N Engl J Med.*334(16): 1018-1022.
- # Kusters J.G., A.H.M. van Vliet, et Kuipers EJ., (2006) - Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19 (3): 449-90.
- # Labenz J. Current role of acid suppressants in *Helicobacter pylori* eradication therapy.(2001). *Best Pract Res Clin Gastroenterol* ;15:413-31.
- # Lahbabi, M., Alaoui, S., El Rhazi, K., El Abkari, M., Nejjari, C., Amarii, A., Bennani, B., Mahmoud, M., Ibrahim, A., and Benajah, D.A; (2013). Sequential therapy versus standard triple-drug therapy for *Helicobacter pylori* eradication: result of the HPFEZ randomized study. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 37: 416-21.
- # Lamarque D, Burucoa C, Courillon-Mallet A, de Korwin JD, Delchier JC, Fauchère JL, et al. (2012). Révision des recommandations françaises sur la prise en charge de l'infection par *Helicobacter pylori*. *Hépatogastro*; 19:475–502.
- # Liboko AFB, Kabore DD, Ndingossoka RJ, et al (2022) Aspects Cliniques et Histologiques des Cancers de l'Estomac au Centre Hospitalier et Universitaire de Brazzaville: Clinical presentation and histopathology of gastric cancer at the University Teaching Hospital of Brazzaville. *Health Sci Dis* 23.
- # Lu. J, et al. (1999). Comparaison of Five PCR Methods for Detection of *Helicobacter pylori* DNA in Gastric Tissues. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(3), 772-774.
- # Mahdavi, J., B. Sondén, M. Hurtig et al., (2002). « *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation », *Science* , vol. 297, non. 5581, p. 573–578.
- # Maillet A, Garnier M, Quellard N, Fernandez B, Fauchère JL., (2005). DNA transfer from coccoid to bacillary forms of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*; 10:445-55.
- # Malfertheiner, P., Mégraud, F., O'Morain, C., Atherton, J., Axon, A.T., Bazzoli, F., Gensini, G.F., Gisbert, J.P., Graham, D.Y., Rokkas, T., El-Omar, E.M., and Kuipers, E.J.(2012); Management of *Helicobacter pylori* infection - The Maastricht IV/Florence Consensus Report. *Gut.* .61: 646-64.
- # Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT et al. (2017). European *Helicobacter* and Microbiota Study Group and Consensus panel.

Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. Gut.Jan;66(1):6-30.

- ✚ Marshall, B. J. and J. R. Warren. (1984); "Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration." Lancet1(8390): 1311-1315.
- ✚ Mégraud F, Bonnet F, Garnier M .(1985); Characterization of *Campylobacter pylori* dis by culture, enzymatic profile, and protein content. J Clin Microbiol : 22 ; 1007-10.
- ✚ Mégraud F, Lamouliatte H.; (1992). *Helicobacter pylori* and duodenal ulcer. Digestive diseases and sciences; 37: 769-72.
- ✚ Mégraud F. Infection à *Helicobacter pylori* : bonnes pratiques. La Presse Médicale. (2010) ;39,7-8:815-22.
- ✚ Mobley HLT. (2001),; *Helicobacter pylori* urease. In: Achtman M, Suerbaum S, eds. *Helicobacter pylori*: molecular and cellular biology. Wymondham, United Kingdom: Horizon Scientific Press,; 155-70.
- ✚ Mohammad, M. A., Hussein, L., Coward, A., and Jackson, S. J. (2008). "Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection among Egyptian Children: Impac t of Social Background and Effect on Growth." Public Health Nutr. 11: 230-6.
- ✚ Muhammad, J. S., Zaidi, S. F., and Sugiyama,T. (2012). "Epidemiological Ins and Outs of *Helicobacter pylori*: A Review." J. Pak Med Assoc. 62.
- ✚ Mustapha, P., (2011). Etude des interactions entre *Helicobacter pylori* et les cellules épithéliales gastriques (phdthesis). Université de Poitiers.
- ✚ Okuda M., Takako O., Yingsong L., Hideo Y., Kohei M., Shigeru K., Yoshihiro F., et Shogo K.; (2015) - Low Prevalence and Incidence of *Helicobacter pylori* Infection in Children: A Population-Based Study in Japan. Helicobacter, 20 (2): 133-38.
- ✚ Osaki T., Mutsuko K., Hideo Yonezawa, F., Zaman C., Takahashi M., Fujiwara S., et Shigeru K., (2015) - Analysis of Intra-Familial Transmission of *Helicobacter pylori* in Japanese Families. Journal of Medical Microbiology, 64 (Pt 1): 67-73.
- ✚ O'Toole P.W., Lane M. C. & Porwollik S.,(2000)- *Helicobacter pylori* Motility. Microbes and Infection, 2 (10) : 1207-14.

- ✚ Palframan S-L, kwok T & Gabriel K., (2007): Vacuolating cytotoxin A (VacA), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. A key toxin for *Helicobacter*. *Gastroenterology ; Cell Communication and signaling journal*; 133 (5):926-936.
- ✚ Paredes-O., Katia Sáez E., Sanhueza E., Hebel E, González C., Briceño C., et García Cancino A., (2017) - Association between cagA, vacAi, and dupA Genes of *Helicobacter pylori* and Gastroduodenal Pathologies in Chilean Patients. *Folia Microbiologica, Mars.*
- ✚ Patel A, Shah N, Prajapati JB. (2014). Clinical application of probiotics in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. A brief review. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*; 47(5) 429-37.
- ✚ Rajesh P. Dikshit, Garima Mathur, Sharayu Mhatre et al.(2011). Epidemiological review of gastric cancer in India. *Indian J Med Paediatr Oncol.*; 32(1): 3-11.
- ✚ Raju, D.; Hussey, S.; Ang, M.; Terebiznik, M.R.; Sibony, M.; Galindo-Mata, E.; Gupta, V.; Blanke, S.R.; Delgado, A.; Romero-Gallo, J.; et al.(2012). Vacuolating cytotoxin and variants in Atg1611 that disrupt autophagy promote *Helicobacter pylori* infection in humans. *Gastroenterology*, 142, 1160–1171.
- ✚ Raymond J., Sauvestre C., Kalach N., Bergeret M. & Dupont C., (2000)- Immunoblotting and Serology for Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 19 (2): 118-21.
- ✚ Razafimahefa S-L, Rabenjanahary T-H, Rkotozafindrabe R., Zerbib F., Ramanampamonjy R. & Rajaona R., (2012) : Infection à *Helicobacter pylori*. *Rev Méd. Madag*, 2(2):125-131.
- ✚ Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Eshagh Hosseini M, Atherton JC. (2007). A new *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology* 133:926–936.
- ✚ Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EMA, Zeitune JMR.(2014). Virulence Factors of *Helicobacter pylori* .A Review.*Clin Med Insights Gastroenterol*; 7:9-17.
- ✚ Rugge.M, RM Genta, F. Di Mario et al., (2017) ; « Le cancer gastrique comme maladie évitable », *Clinical Gastroenterology and Hepatology* , vol. 15, non. 12, p. 1833–1843.

- # Sabbagh P, Mohammadnia-Afrouzi M, Javanian M, Babazadeh A, Koppolu V, Vasigala VR, et al. (2019). Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection: ideals, options, and limitations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* ;38:55–66.
- # Savoldi A, Carrara E, Graham DY, et al. (2018). Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* : a systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions. *Gastroenterology* ;155:1372-82.
- # Schmitt, W.; Haas, R. (1994). Analyse génétique de la cytotoxine vacuolante *Helicobacter pylori* : Similitudes structurelles avec le type de protéase IgA de protéine exportée. *Mol. Microbiol*, 12 , 307–319.
- # Sepulveda AR.(2013) *Helicobacter*, inflammation, and gastric cancer. *Current pathobiology reports*; 1(1): 9-18.
- # Seto, K.; Hayashi-Kuwabara, Y.; Yoneta, T.; Suda, H.; Tamaki, H. (1998). Vacuolation induced by cytotoxin from *Helicobacter pylori* is mediated by the EGF receptor in hela cells. *FEBS Lett*, 431, 347–350.
- # Shichijo S, Hirata Y, Niikura R, et al (2017) Association between gastric cancer and the Kyoto classification of gastritis. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 32:1581–1586.
- # Sobhani. L (2004) *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. 20:7.
- # Sobhani L, Valwt T, Mignon M. (1983) ; *H. pylori*. Une bactérie redécouverte. Son implication dans les maladies gastroduodénales. *La Presse médicale* ; 1995 ; 24 :67-79.
- # Talley NJ, Hunt RH. (1997).; What role does *Helicobacter pylori* play in dyspepsia and non-ulcer dyspepsia? Arguments for and against *H. pylori* being associated with dyspeptic symptoms. *Gastroenterology*.;113(6 Suppl): S67-77.
- # Tee, W., J. R. Lambert, et al. (1995). "Cytotoxin production by *Helicobacter pylori* from patients with upper gastrointestinal tract diseases." *J Clin Microbiol* 33(5): 1203-1205.
- # Tegtmeyer N, Wessler S, Backert S.(2011). Role of the Cag-pathogenicity island encoded type IV secretion system in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *The FEBS journal* ; 278(8): 1190-1202.

- ✚ Tegtmeier N, Wessler S, Necchi V, Rohde M, Harrer A, Rau TT, et al, (2017). *Helicobacter pylori* Employs a Unique Basolateral Type IV Secretion Mechanism for CagA Delivery. *Cell Host & Microbe*;22:552-560.e5.
- ✚ Trouillas, S. (2010). Éradication d'*Helicobacter pylori* : Évaluation d'un traitement non conventionnel : Comparaison de l'association Métronidazole-Amoxicilline à forte dose versus l'association recommandée Clarithromycine-Amoxicilline à dose modérée.
- ✚ Utt, M.; Danielsson, B.; Wadstrom, T.(2001). *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin binding to a putative cell surface receptor, heparan sulfate, studied by surface plasmon resonance. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, 30, 109–113.
- ✚ Van Amsterdam, K.; van Vliet, AH; Kusters, JG; Feller, M.; Dankert, J.; van der Ende, A, (2003), *Helicobacter pylori* a induit l'expression de la cytotoxine vacuolante VacA après la colonisation initiale des cellules épithéliales gastriques humaines. *FEMS Immunol. Méd. Microbiol*, 39 , 251–256.
- ✚ Varon C, Mégraud F.,(2013). Infection à *Helicobacter pylori* et cancer gastrique. *Revue Francophone des Laboratoires*, :67–76.
- ✚ Winter JA, Letley DP, Cook KW, Rhead JL, Zaitoun AA, Ingram RJ, Amilon KR, Croxall NJ, Kaye PV, Robinson K, Atherton JC. (2014). A role for the vacuolating cytotoxin, VacA, in colonization and *Helicobacter pylori*-induced metaplasia in the stomach. *J Infect Dis* 210:954–963.
- ✚ Wroblewski LE, Peek RM, Wilson KT. (2010).*Helicobacter pylori* and Gastric Cancer: Factors That Modulate Disease Risk. *CMR*. Oct ;23(4):713-39.
- ✚ Yamaoka Y (2008) Roles of the plasticity regions of *Helicobacter pylori* in gastroduodenal pathogenesis. *J Med Microbiol* 57:545–553.
- ✚ Ye D, Willhite DC, Blanke SR (1999) Identification of the Minimal Intracellular Vacuolating Domain of the *Helicobacter pylori* Vacuolating Toxin *. *Journal of Biological Chemistry* 274:9277–9282.
- ✚ Yılmaz N, Koruk Özer M. (2019). The Prevalence of *Helicobacter Pylori* babA, homB, aspA, and sabA Genes and Its Relationship with Clinical Outcomes in Turkey. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2019: e1271872.
- ✚ Yingsong Lin, Junko Ueda, Shogo Kikuchi et al. Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China. *World J Gastroenterol*. 2011 October 21; 17(39): 44214428.

- ✚ Yokota S., Konno M., Fujiwara S., Toita N., Takahashi M., Yamamoto S., Ogasawara N. & Shiraishi T. (2015)- Intrafamilial, Preferentially Mother-to-Child and Intrasposal, *Helicobacter pylori* Infection in Japan Determined by Multilocus Sequence Typing and Random Amplified Polymorphic DNA Fingerprinting. *Helicobacter*, 20 (5): 334-42.
- ✚ Yordanov D, Boyanova L, Markovska R, et al (2012) Significance of *Helicobacter pylori* vacA intermediate region genotyping—a Bulgarian study. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 74:253–257.
- ✚ Yun YH, Jung KW, Bae JM, Lee JS, Shin SA, Park SM, et al. (2005) Cigarette smoking and cancer incidence risk in adult men: National Health Insurance Corporation Study. *Cancer Detect Prev*;29(1):15-24.
- ✚ Zamani M, Ebrahimitabar F, Zamani V, Miller WH, Alizadeh-Navaei R, Shokri-Shirvani J, et al. ;(2018). Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther. Avr* ;47(7):868-76.

Annexe 1

Institut Pasteur du Maroc
1, Place Louis Pasteur Casablanca 20360
Tél : +212 (0)522 43 44 50 Fax : +212 (0)522 26 09 57
www.pasteur.ma



Laboratoire *Helicobacter pylori* et Pathologies Gastriques

Nom de l'enquêteur : Date.....

ID Patient : Téléphone :

-Sexe : F M DDN Poids / Taille
N° dans l'étude :

Informations Socio-Economiques

- Lieu d'habitation : Urbain Rural

-Profession :-Niveau socio-économique.

-Tabac (nbre de cigarette) : Oui Non. Alcool : Oui (nbre de verre) non

-Régime alimentaire : Pincée de Sel : Pincée d'épices :

Informations Cliniques

Diabète :

Prise d'antibiotiques : Non
 OuiLesquels (Date de la dernière prise et durée de traitement)

Antécédents Patient :

Maladies.gastriques.....
.....

Antécédents Familiaux :

Gastrite..... Ulcère..... Cancer gastrique.....
Autres.....

Annexe 2

Institut Pasteur du Maroc
1, Place Louis Pasteur Casablanca 20360
Tél : +212 (0)522 43 44 50 Fax : +212 (0)522 26 09 57
www.pasteur.ma



Consentement pour la participation à des Recherches scientifiques

Je soussigné (e), M/ M^{me}

.....

Accepte de participer à la recherche scientifique, s'intéressant à l'étude des Pathologies gastriques liées à *Helicobacter pylori* chez la population marocaine. Les objectifs et modalités de l'étude ont été clairement expliqués. J'accepte que les documents de mon dossier médical qui se rapporte à ces études puissent être accessibles aux responsables de ces études et éventuellement aux autorités de santé. A l'exception de ces personnes, qui traiteront les informations dans le plus strict respect du secret médical, mon anonymat sera préservé. J'ai bien compris que ma participation à ces études est volontaire. Je suis libre d'accepter ou de refuser de participer, et je suis libre d'arrêter à tout moment ma participation en cours de ces études. Cela n'influencera pas la qualité des soins qui me seront prodigués. Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de ces études de leur responsabilité. Je conserve tous mes droits garantis par la loi. Après en avoir discuté et avoir obtenu la réponse à toutes mes questions, j'accepte librement et volontairement de participer à la recherche qui m'est proposée.

Signature du sujet