



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH  
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

**Projet de Fin d'Etudes**

Licence Sciences & Techniques  
Sciences Biologiques Appliquées et Santé  
(LST - SBAS)

**Les inflammations induites par la bactérie  
*Helicobacter Pylori***

**Présenté par :** Kenza TAYDA

**Encadré par :** Pr. El Houssaine HARKI (FST Fès)

Dr. Jawad AMMOUR (Laboratoire AMMOUR)

**Soutenu le :** 12 juin 2019

**Devant le jury composé de :**

- Pr. BEKHTI Khadija
- Pr. El Houssaine HARKI
- Dr. AMMOUR Jawad

Stage effectué au laboratoire d'anatomie pathologique AMMOUR

Année universitaire 2018-2019

## **AVANT PROPOS**

Le stage a été réalisé dans le but de découvrir le monde du travail au sein des laboratoires, et dans le but de mettre en pratique les connaissances théoriques que nous avons étudiés durant ma formation à la FST de Fès.

Aussi, il s'agit d'une opportunité précieuse pour nous initier au travail d'équipe, à développer l'esprit d'équipe, ainsi à s'intégrer à la vie active, et surmonter les divers problèmes relationnels qui surgissent souvent entre les membres de la même équipe.

J'ai passé mon stage du 1<sup>er</sup> avril au 20 mai 2019 au sein du laboratoire d'anatomie pathologique AMMOUR à Fès.

## **Remerciement :**

Avant d'entamer ce rapport, je tiens à remercier du fond du cœur toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements au Docteur AMMOR, propriétaire du laboratoire « anatomopathologique AMMOR » qui m'a donné l'opportunité de développer mes connaissances techniques et pratiques en matière d'examen histologique.

A Mme AMINA, Co encadrante externe au sein du même laboratoire, qui m'a toujours soutenu et aidé tout au long de mon stage.

Je tiens à remercier vivement le professeur HARKI, pour m'avoir encadré au cours de mon stage dans le but d'accomplir ce travail dans les meilleures conditions.

Au Pr. BEKHTI Khadija, qui a accepté de participer et de juger mon projet de fin d'études mes chaleureux remerciements.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont encouragé durant mon parcours :  
Mes parents, ma sœur et mes chers amis.

*Merci à tous.*

## **LISTE DES FIGURES :**

<b>Figure 1 :</b> Famille des Helicobacter.....	3
<b>Figure 2 :</b> Helicobacter pylori.....	5
<b>Figure 3 :</b> L'estomac humain .....	8
<b>Figure 4 :</b> La paroi de l'estomac .....	9
<b>Figure 5 :</b> le microtome .....	16
<b>Figure 6 :</b> Répartition des atteintes par <i>H.pylori</i> selon le sexe .....	20
<b>Figure 7 :</b> représente la répartition de l'infection par <i>H. pylori</i> selon l'âge.....	20

# SOMMAIRE :

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>I- Etude Bibliographique : .....</b>	<b>2</b>
<i>I-1-Historique de la découverte de la bactérie : .....</i>	<i>2</i>
<i>I-2- Généralités sur Helicobacter pylori: .....</i>	<i>2</i>
1. Les Familles d' <i>Helicobacter</i> : .....	2
2. Epidémiologie de <i>L'Helicobacter pylori</i> : .....	3
2.1. Réservoir : .....	4
2.2. Prévalence de l'infection à <i>Helicobacter pylori</i> : .....	4
2.3. Mode de Transmission : .....	4
3. Caractéristiques bactériologiques : .....	4
3.1. Taxonomie : .....	4
3.2. Morphologie : .....	5
3.3. Caractéristiques culturaux : .....	5
3.4. Caractères biochimiques : .....	5
3.5. Génomes et diversité génétique : .....	5
<i>I-3- Pathogénicité de helicobacter pylori : .....</i>	<i>6</i>
1. Facteurs de virulence bactérienne : .....	6
Facteurs de colonisation et de persistance bactérienne : .....	6
● Activité uréasique.....	6
● Mobilité .....	7
● Adhérence bactérienne .....	7
● Autres enzymes .....	7
● Persistance de la bactérie .....	8
2. Atteinte de l'estomac par <i>helicobacter pylori</i> : .....	8
2.1. Rappels anatomiques de l'estomac humain : .....	8
2.2. Manifestations cliniques : .....	9
2.3. Maladies associées à l'infection par <i>helicobacter pylori</i> : .....	9
<i>I-4-Moyens de diagnostique :. ....</i>	<i>10</i>
1. Types de prélèvements : .....	10
2. Méthodes invasives : .....	11
3. Méthodes non invasives : .....	12
<i>I-5-traitement et prévention : .....</i>	<i>12</i>
1. Prévention : .....	12
2. Traitement : .....	12
<b>II- Partie expérimentale : .....</b>	<b>14</b>
<i>Matériels et Méthodes : .....</i>	<i>14</i>
1. Enregistrements : .....	14
2. Etape macroscopique : .....	14

3. Histologie : .....	14
3.1. L'obtention des coupes : .....	14
3.2. Les étapes pratiques de la coloration : .....	17
3.3. Montage : .....	18
3.4. Etude en microscopie optique : .....	19
<b>Résultats et interprétation : .....</b>	<b>19</b>
<i>I-Profil épidémiologique des biopsies.....</i>	<i>20</i>
1. Selon le sexe : .....	20
2. Selon l'âge : .....	21
<i>II-Résultat de l'examen histologique:.....</i>	<i>21</i>
<b>Conclusion et recommandations:.....</b>	<b>22</b>
<b>Références bibliographiques :.....</b>	<b>23</b>

## **Résumé :**

Plusieurs études de population confirment l'association entre l'infection par *Helicobacter pylori* et certaines maladies comme les tumeurs gastriques malignes, carcinomes et maltomes. D'une manière générale, l'infection par *H. Pylori* précède le développement des lésions malignes et il a été mis en évidence à des stades précancéreux.

*H. Pylori* serait impliqué dans le mécanisme de carcinogenèse, du moins en partie, par induction de l'inflammation chronique et une augmentation de la prolifération cellulaire au niveau de la muqueuse gastrique

La prévention du carcinome gastrique à travers l'éradication de l'infection à *H. pylori* est insupportables du point de vue économique mais certains groupes à haut risque ont été définis et justifient un traitement d'éradication avec un suivi rigoureux.

Durant ce stage, nous avons constaté que les femmes sont les plus touchées par *H. pylori* avec un pourcentage de 60.90% et la tranche d'âge la plus touchée par cette maladie se situe entre 30 et 50 ans.

## **Introduction :**

De nos jours l'infection par *Helicobacter pylori*, est mondialement répandue. La bactérie vit exclusivement dans l'estomac humain et c'est la seule bactérie connue pouvant survivre dans un environnement aussi acide. Son enveloppe hélicoïdale l'aide à se fixer dans le mucus de la paroi afin de la coloniser et d'y persister.

Après la découverte de *H. pylori* dans l'estomac humain, les pathologies gastriques ont été bouleversées. Le rôle pathogène de cette bactérie au niveau de la muqueuse gastrique a été largement étudié. Par conséquent, son implication dans les maladies gastriques les plus sévères de types tumorales a été confirmée.

Son traitement nécessite un diagnostic antécédent qui s'effectue par différentes méthodes certaines sont invasives d'autre non. Quel que soit la méthode, le but reste le même : vérifier sa présence au niveau de l'estomac et ainsi donner un traitement pour l'éradiquer.

L'objectif de mon stage est double : d'abord connaître les différentes techniques histologiques conduisant à un pronostic fiable, en suite suivre le profil épidémiologique de l'infection par *H. pylori* sur une période de 8 mois ; du 01 octobre 2018 au 20 mai 2019; pour mieux comprendre ces causes chez les patients objet de cette étude.

# ***I-Etude Bibliographique***

## ***I-1-Historique de la découverte de la bactérie***

Depuis longtemps la communauté médicale pensait qu'aucune bactérie ne pouvait survivre bien longtemps dans l'environnement acide de l'estomac. Les scientifiques considéraient que les maladies gastriques sont liées à un régime alimentaire inadéquat ou au stress.

En 1906, un médecin Allemand a observé pour la première fois des bactéries spiralées dans l'estomac humain mais les scientifiques restaient convaincus de la stérilité gastrique. En 1982, la première culture d'une bactérie résidante dans l'estomac humain a été obtenue par Barry Marshall et Robin Warren.

Après des études morphologiques de la bactérie détectée, cette dernière a été nommée *Campylobacter pylori* vu sa morphologie et son caractère micro aéroophile comparables à ceux de *Campylobacter jejuni*.

Finalement, après le séquençage de son ADN ils ont montré que la bactérie n'appartenait pas au genre *Campylobacter*, elle fut placée dans un nouveau genre : *Helicobacter*.

En 1994 et après un long débat, les scientifiques Warren et Marshall affirment que la plupart des ulcères stomacaux et gastriques étaient causés par une infection de cette bactérie, et non par le stress ou le régime alimentaire, comme on le pensait auparavant.

## ***I-2- Généralités sur Helicobacter pylori***

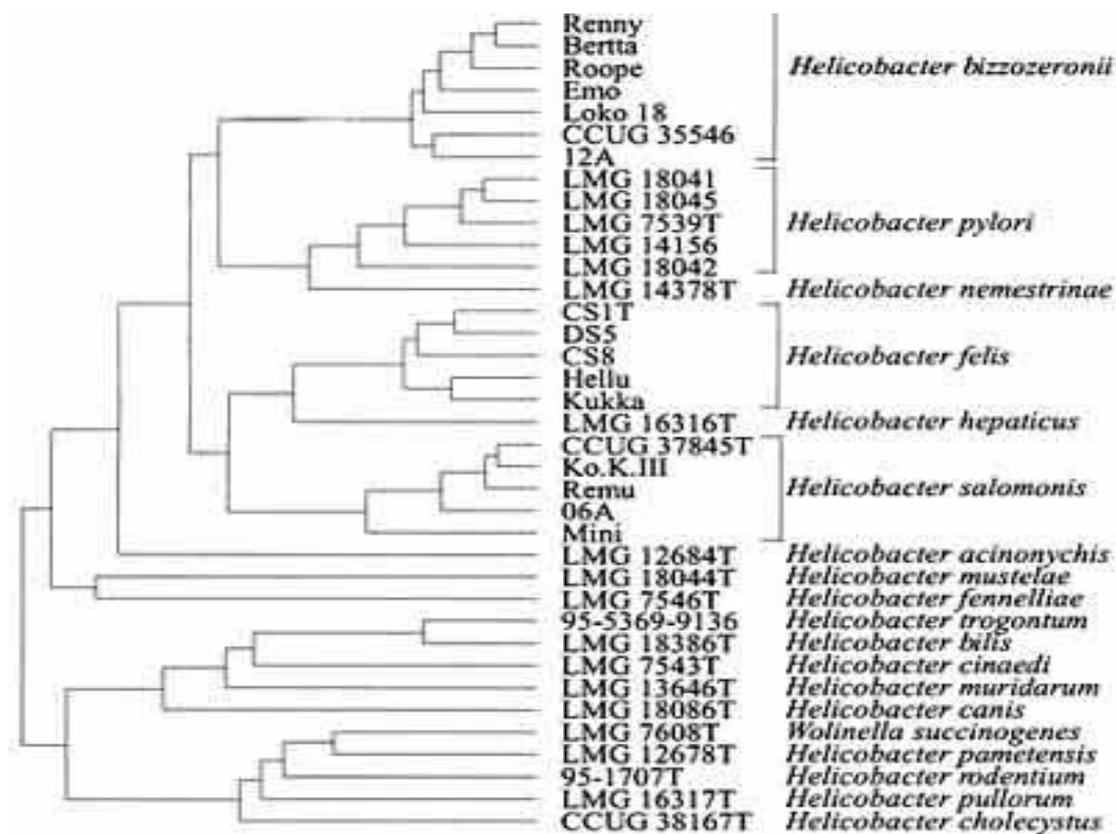
### **1. Les Familles d'Helicobacter**

*Helicobacter pylori* est sans doute le chef de file des bactéries du genre *Helicobacter*. De nombreuses espèces sont maintenant caractérisées (figure 1) et classiquement divisées en deux grands groupes: *les Helicobacters gastriques et les Helicobacters entérohépatiques*.

Dans ces deux groupes, seules certaines espèces ont pu être isolées chez l'homme, les autres étant uniquement rencontrées chez les animaux.

La pathogénicité de *Helicobacter pylori* est maintenant bien étudiée. Deux souches ont été séquencées, l'une isolée d'un patient atteint d'ulcère, l'autre associée à une gastrite.

Le rôle des *Helicobacters entérohépatiques* dans les maladies hépatobiliaires commence à être bien documenté. À l'inverse, les connaissances sur la pathogénicité d'autres espèces sont bloquées à cause de la difficulté de les isoler et donc d'accéder à leur information génétique.



**Figure 1** : Famille des Helicobacter

( <http://www.microbes-edu.org/etudiant/helicob.html>.)

## 2. Epidémiologie d'*Helicobacter pylori*

L'infection par *Helicobacter pylori* est capable d'atteindre toutes les populations, surtout lorsque les conditions socio-économiques sont défavorables. La prévalence de cette infection est de 70 à 90% dans les pays en voie de développement, alors qu'elle ne représente que 20 à 30% dans les pays industrialisés (1) (2).

### 2.1. Réservoir

L'estomac humain est le réservoir principal de *H. pylori* où elle s'attache aux cellules épithéliales de la muqueuse gastrique.

Il peut y avoir une extension de *H. pylori* dans le duodénum proximal ou l'œsophage.

*H. pylori* a été trouvée dans la salive, la plaque dentaire et les excréments.

Plusieurs animaux qui avaient été considérés comme des réservoirs potentiels (porc, chat, mouton, singe) sont maintenant disculpés.

## 2.2. Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori*

La variabilité de la prévalence de cette infection dépend de plusieurs facteurs, à citer les plus importants qui sont l'âge et les conditions socio-économiques du pays.

Cependant, elle est très répandue dans les pays en voie de développement et sa prévalence peut atteindre 90% (3).

Cette forte prévalence est liée, entre autres, aux conditions sanitaires et l'absence de prévention et traitement.

## 2.3. Mode de Transmission

Jusqu'à présent, le mode de transmission de *H. pylori* reste mal connu.

Elle peut être interhumaine, hydrique ou alimentaire.

La transmission gastro-orale par les vomissures a également été suggérée et repose sur la présence de la bactérie dans les sécrétions gastriques.

À cause de sa sensibilité à la bile (secrété par le foie), *H. pylori* ne peut survivre que brièvement dans l'intestin lors du transit intestinal, ce qui fait que sa présence dans les selles est rarement rencontrée. Le fait que les selles peuvent renfermer des formes d'*H. pylori* viables, on peut dire que la transmission par voie féco-orale peut avoir lieu.

Ce mode de transmission est généralement décrit dans les pays en développement et est lié à une mauvaise hygiène fécale ou au non traitement des eaux.

## 3. Caractéristiques bactériologiques

### 3.1. Taxonomie

*H.pylori* est une bactérie appartenant au :

Règne : Eubactéries,

Embranchement : *Proteobacteria*,

Classe : *Epsilonproteobacteria*,

Ordre : *Campylobacterales*,

Famille : *Helicobacteraceae*

Genre : *Helicobacter*

### 3.2. Morphologie

*H. pylori* est une bactérie à Gram négatif incurvé, présentant plusieurs flagelles polaires (figure 2). Il se présente sous forme spiralée, incurvée ou en forme de U ou O dans les

jeunes cultures qui peuvent évoluer vers des formes coccoïdes non cultivables en milieu défavorable. Cette forme coccoïde est plus résistante permettant à *H. pylori* de survivre dans un environnement hostile.



**Figure 2 :** Helicobacter pylori

([https://news.vanderbilt.edu/2019/03/28/cancer-prevention-drug-also-disables-h-pylori-bacterium/.](https://news.vanderbilt.edu/2019/03/28/cancer-prevention-drug-also-disables-h-pylori-bacterium/))

### 3.3. Caractéristiques culturaux

*H. pylori* est une bactérie micro-aérophile et exige une atmosphère humide qui contient 2 à 5% d'oxygène et 10% de dioxyde de carbone pour une croissance optimale sur milieu solide contenant du sang et enrichi avec divers facteurs de croissance (vitamine BL2, L-glutamine et la L-cystéine). Les cultures sont obtenues de façon optimale à une température de 37 °C après 3 à 5 jours d'incubation. Le pH optimal de croissance varie entre pH 6,9 et 8,0.

### 3.4. Caractéristiques biochimiques

La principale caractéristique d'*H. pylori* réside dans son activité uréasique qui lui permet de résister à l'acidité gastrique, tout en créant un environnement alcalin par hydrolyse de l'urée. D'autres enzymes lui permettent de réagir face à la réponse immunitaire et sont indispensables pour sa persistance (l'oxydase, le cytochrome catalase et le supéroxyde dismutase...).

### 3.5. Génomes et diversité génétique

Le génome de *H. pylori* est constitué d'un seul chromosome circulaire d'une taille de 1,6 mbp.

Il code pour environ 27000 protéines dont 500 sont reconnues spécifiques à la bactérie, ce qui fait de l'*H. pylori* une bactérie particulière.

Le génome de *H. pylori* présente un grand polymorphisme entre les différentes souches. Cette variabilité génétique est due aux gènes de virulence qui sont très polymorphes.

Ce polymorphisme implique une grande variabilité du pouvoir pathogène et permet *H. pylori* de s'adapter parfaitement à son environnement (4).

### I-3– Pathogénicité de *helicobacter pylori*

*H. pylori* est une bactérie à fort pouvoir pathogène, sa présence dans l'estomac entraîne une gastrite (inflammation de la muqueuse gastrique).

La gastrite passe généralement invisible au premier stade de l'infection, et évolue vers une gastrite chronique, mais elle peut conduire à des pathologies très sévères particulièrement l'ulcère gastroduodénale et des pathologies tumorales.

L'évolution de la maladie dépend de 3 facteurs : les gènes de virulence de la souche, l'hôte et l'environnement.

#### 1. Facteurs de virulence bactérienne

La virulence de *H. pylori* réside dans sa capacité d'adhérer aux cellules épithéliales, persister tout en résistant à l'acidité gastrique et en échappant à la réponse immunitaire, pour exercer son pouvoir pathogène en attaquant la muqueuse gastrique.

Les facteurs les plus importants de la virulence sont la cytotoxine vacuolante (*vacA*) et le gène A associé à la cytotoxine (*cagA*) (5).

Le gène *vac A* code pour une cytotoxine qui induit une vacuolisation des cellules épithéliales *in vitro*, alors que le *cag A* est un gène qui code pour un antigène immunodominant.

#### Facteurs de colonisation et de persistance bactérienne

- Activité uréasique

Le pH de la muqueuse gastrique peut varier entre 4 et 6,5. Cette acidité empêche la colonisation de l'estomac sauf que, *H. pylori* possède un système de défense qui lui permet de résister à une telle acidité.

Cette résistance est due à l'enzyme uréase qui transforme l'urée de l'estomac en ammoniac et en dioxyde de carbone.

L'ammoniac va partiellement neutraliser l'acidité gastrique (qui sert entre autres à tuer les bactéries), cela crée ainsi un microenvironnement favorable au développement de la bactérie, en la protégeant de l'acide de l'estomac.

Cet ammoniac est toxique pour les cellules épithéliales et va, avec d'autres produits sécrétés par *H. pylori* (protéases, catalases, phospholipases etc.), attaquer les cellules gastriques, pour débiter de ce fait le processus de formation d'ulcère.

- Mobilité

La mobilité de *H. pylori* est un facteur indispensable à sa survie et à la colonisation de la muqueuse gastrique. Elle lui permet aussi de se propager à travers le mucus qui couvre les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique.

Cette mobilité de *H. pylori* est assurée par cinq à sept flagelles unipolaires. Ces flagelles sont entourés par une gaine, qui les protège de l'acidité gastrique. Les filaments flagellaires de cette bactérie sont constitués par des polymères de deux sous-unités de flagelline : une majeure FlaA et une mineur, FlaB.

- Adhérence bactérienne

L'adhérence de *H. pylori* à la muqueuse gastrique joue un rôle important dans la colonisation.

Elle est assurée par des interactions spécifiques entre l'adhésine bactérienne et les cellules hôtes.

Une fois *H. pylori* atteint la surface des cellules épithéliales de l'hôte, elle y adhère grâce à ses adhésines qui sont codées par un grand nombre de gènes tel que : le gène *babA*, *babB*, *alpA* *alpB* et *sabA*.

Le gène *babA* code pour l'adhésine Bab qui se fixe sur l'antigène "Lewis b" localisé à la surface des cellules épithéliales.(6)

Cette adhérence à l'épithélium gastrique peut protéger la bactérie contre les mouvements gastriques et lui permet aussi d'être en contact avec les éléments nutritifs des cellules hôtes endommagées.

- Autres enzymes

La colonisation par *H. pylori* est fortifiée grâce à certaines enzymes qui affaiblissent la barrière protectrice du mucus.

*H. pylori* possède une activité protéasique qui permet la destruction d'une protéine entrant dans la composition du mucus nommée la mucine, et possède aussi une activité lipasique qui participe dans l'altération de la structure phospholipidique de l'épithélium gastrique.

- Persistance de la bactérie

Après l'adhérence et la prolifération de *H. pylori* au niveau de la muqueuse gastrique, l'infection commence à s'exprimer. Ceci provoque une réponse immunitaire spécifique contre la bactérie.

*H. pylori* peut se dissimuler et s'échapper à la réponse immunitaire, ce qui l'aide à la colonisation, ceci grâce à son équipement enzymatique: la superoxyde dismutase, la catalase et l'alkylhydroperoxyde.(7)

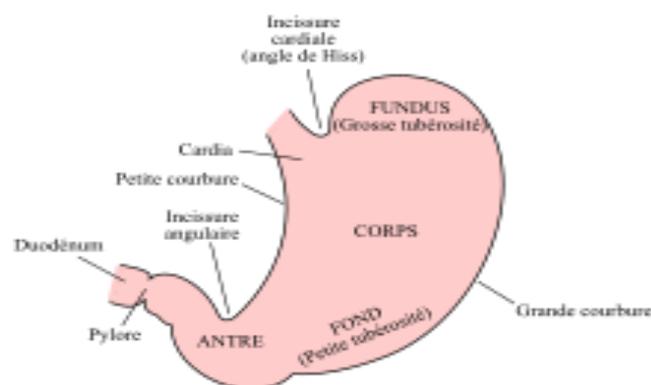
## 2. Atteinte de l'estomac par *helicobacter pylori*

### 2.1 Rappels anatomiques de l'estomac humain

L'estomac est la portion du tube digestif en forme de J située entre l'œsophage et le duodénum.

L'estomac permet d'assurer la digestion par ses fonctions mécaniques et chimiques en mélangeant les aliments aux sucs gastriques et il assure aussi la progression du bol alimentaire vers l'intestin.

L'estomac secrète de divers enzymes tel que : la lipase qui permet de dégrader les lipides, la pepsine qui transforme les protéines en peptides et de l'acide chlorhydrique.



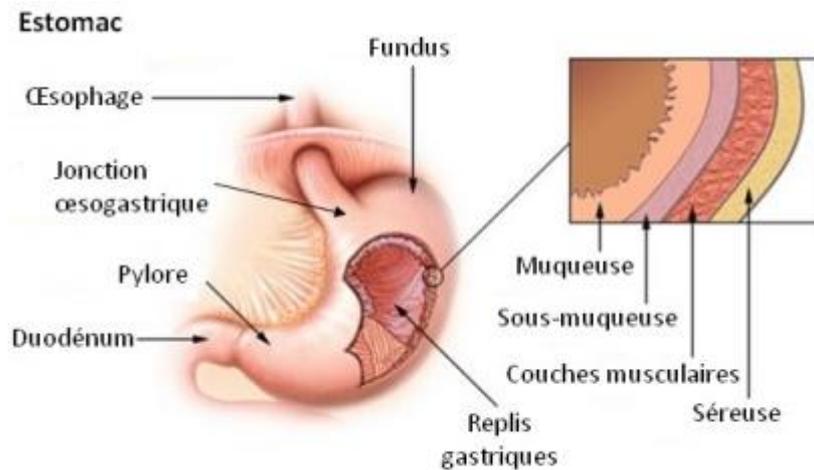
**Figure 3** : L'estomac humain (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Estomac>.)

La paroi gastrique comme les autres segments du tube digestif est formée de plusieurs couches superposées :

- muqueuse d'aspect particulier.
- musculaire muqueuse et sous muqueuse.

-muscleuse en 3 couches, dont la circulaire moyenne s'épaissit dans l'antrum et constitue le sphincter pylorique.

-séreuse renferment les vaisseaux et les nerfs.



**Figure 4** : La paroi de l'estomac

<https://www.lilly.fr/fr/maladie/le-cancer/le-cancer-de-l-estomac/definition-et-symptomes.aspx>

## 2.2. Manifestations cliniques

L'infection par *H. pylori* provoque une inflammation appelée gastrite chronique qui peut évoluer vers un ulcère gastroduodéal ou même un cancer gastrique.

Ces différentes pathologies se constituent sur plusieurs années et évoluent lentement

Parfois il peut s'écouler plus de 30ans avant que des symptômes n'apparaissent (1)(2).

## 2.3. Maladies associées à l'infection par helicobacter pylori

*H. pylori* peut causer plusieurs maladies plus ou moins graves selon les individus :

### GASTRITE :

La phase aiguë est sous forme d'ensemble des lésions inflammatoires aiguës observées au niveau de l'estomac induite par *H. pylori*.

Elle peut être associée à des symptômes comme les nausées, les vomissements et une inflammation de la muqueuse gastrique.

Elle est caractérisée par une introduction massive de polynucléaires neutrophiles et de lymphoplasmocytes dans la muqueuse gastrique.

La phase chronique est asymptomatique chez la plupart des sujets .La gastrite chronique va permettre l'induction soit d'un effet positif soit d'un effet négatif sur la sécrétion acide.

## ULCERE DUODENALE :

L'ulcère résulte d'un déséquilibre en un point précis de la muqueuse.

Lors de l'attaque d'*H. pylori* une augmentation de l'acide gastrique se produit, cette forte concentration acide va affaiblir de plus en plus la muqueuse duodénale et qui va provoquer l'ulcère duodénal.

L'ulcère se révèle par des douleurs épigastriques, des vomissements, une hémorragie et même une perforation de l'estomac.

## CANCER GASTRIQUE :

La présence d'*H. pylori* dans la muqueuse gastrique est associée à différentes substances (l'ammoniac, les phospholipases, des cytotoxines) qui provoquent des mutations au niveau des cellules épithéliales qui pourront induire le cancer gastrique.

L'infection à *H. pylori* est la principale cause du cancer gastrique mais elle n'est pas la seule vu la présence d'autres facteurs.

## LYMPHOME GASTRIQUE MALT :

L'estomac est normalement dépourvu de lymphocytes, mais lors de l'infection chronique par *helicobacter pylori* une introduction massive de lymphocytes dans la muqueuse gastrique aura lieu.

Le lymphome est caractérisé par une prolifération des lymphocytes qui peut provoquer une destruction des glandes gastriques et conduit à la formation des lésions épithéliales tumorales.

Les principaux symptômes de ce lymphome sont : la fièvre, nausées, fatigue, une perte de poids, anémie et douleurs abdominales.

## I-4-Moyens de diagnostique

### 1. Types de prélèvements

L'infection par *H. pylori* peut être révélée par différentes méthodes :

- Des méthodes invasives : nécessitent la réalisation de biopsies gastriques sous endoscopie. Ces biopsies sont le complément d'un examen endoscopique de la muqueuse gastrique. Parmi les techniques pratiquées sur la biopsie on peut citer :

- Examen anatomo-pathologique.
- Examen microscopique et histologique d'un frottis de biopsie.
- Culture.
- La technique PCR.
- Test rapide à l'uréase.

-Des méthodes non invasives : recherchent la présence d'*H. pylori* dans les différents fluides biologiques tel que le sang, air expiré, urine, fèces.

Parmi les techniques les plus utilisées on trouve :

- La sérologie.
- le test respiratoire à l'urée marqué au <sup>13</sup>C.
- Recherche d'antigènes dans les selles (8).

## 2. Méthodes invasives

Ces méthodes sont réalisées à partir d'un prélèvement effectuée lors de l'endoscopie.

Cela permet de cultiver la bactérie et aussi de réaliser un antibiogramme, PCR, histologie.

### a-La culture :

Cette méthode est totalement spécifique et sensible, elle permet par ailleurs la réalisation d'un antibiogramme qui permettra de déterminer la sensibilité d'*H. pylori* vis-à-vis des différents antibiotiques.

### b-Examen histologique :

C'est une technique qui est dotée d'une bonne spécificité et une bonne sensibilité. Le but de cette technique est de permettre l'évaluation des lésions histologiques de la muqueuse gastrique.

### c-Test à l'uréase :

Ce test consiste à immerger le prélèvement biopsique dans une solution ou un gel contenant de l'urée en présence d'un indicateur pH.

Il repose sur la forte activité uréasique d'*H. pylori* ; si *H. pylori* est présente dans le prélèvement, elle produira l'uréase qui va hydrolyser l'urée en ammonium augmentant ainsi le ph du milieu tout en changeant la couleur de l'indicateur de pH.

Sa négativité n'exclut pas une infection.

#### d-PCR (polymerase chain reaction) :

L'amplification génique de l'ADN d'*H. pylori* à partir des biopsies gastriques est une technique très sensible qui permet de détecter des facteurs de virulence de la bactérie (vacA, cagA...etc.).

### 3. Méthodes non invasives

#### a-Test respiratoire à l'urée marquée au $^{13}\text{C}$ :

Ce test est simple, inoffensif, facile à répéter et très précis.

La méthode repose sur l'hydrolyse de l'urée en ammonium et en bicarbonate par l'uréase bactérienne. Les bicarbonates sont transformés en acide carbonique marqué en  $^{13}\text{C}$  qui va être expiré par la suite. L'élévation du taux de gaz carbonique marqué va permettre de détecter la bactérie.

#### b-Sérologie :

Basés sur le dosage d'IgG produits lors de la réaction de l'organisme contre la bactérie *H. pylori* dans le sang.

Cette méthode est d'une faible sensibilité et d'une faible spécificité. Elle explore une exposition antérieure et non une infection actuelle.

#### c-Recherche dans les selles :

Ce type de méthode présente une spécificité et une sensibilité supérieure à 90%.

Les tests les plus utilisés sont fondés sur la détection des Ag par des anticorps poly clonaux, de nouveaux tests appliquant des anticorps monoclonaux étant en cours d'évaluation.

## I-5- traitement et prévention

### 1. Prévention

Les attitudes et les moyens de prévention et de contrôle comprennent le lavage des mains, la consommation d'aliments propres, de boissons provenant de sources d'eau propres et le suivi de cas.

Ces mesures concernent toute la population.

### 2. Traitement

Le traitement de première intention de l'infection à *H. pylori* est un agent anti sécrétoire IPP (inhibiteurs de la pompe à protons) à deux antibiotiques clarithromycine et amoxicilline pendant 7 jours.

En cas d'échec de ce traitement, une résistance à la clarithromycine est souvent en cause donc un traitement de deuxième intention aura lieu et cet antibiotique sera remplacé par la métronidazole pendant 14 jours.

La surveillance de l'efficacité du traitement est réalisée par un test respiratoire 4 à 5 semaines après l'arrêt du traitement.

En cas d'échec d'éradication, le traitement de deuxième ligne consiste en une quadrithérapie de 10 à 14 jours en incluant IPP + Sels de Bismuth + tétracycline + métronidazole. (9)

Après 2 échecs successifs, la détection de la résistance aux antibiotiques par un antibiogramme s'impose nécessaire.

# II- Partie Expérimentale

## Matériel et Méthodes

Mon étude histologique qui a été déroulée dans le laboratoire d'anatomie pathologique AMMOUR à Fès sur une période d'un mois et demi, est rétrospective et descriptive.

Pour réaliser ce travail nous avons recueillis pendant la période de stage, une centaine de fragments de biopsies gastriques de différents patients présentant des symptômes de gastrite.

### 1. Enregistrement

Chaque prélèvement reçu est enregistré et reçoit un numéro d'identification unique.

Celui-ci sera retranscrit sur les blocs et les lames, qui seront examinées au microscope après le traitement technique du prélèvement (Voir ci-dessous).

Chaque prélèvement doit être accompagné d'une fiche de renseignements remplie par le médecin prescripteur.

### 2. Etape macroscopique :

La prise en charge macroscopique détaillée est une partie essentielle de l'étude, elle a pour objectif d'obtenir des informations concernant la taille des biopsies et leur nombre.

Dans tous les cas, il est important de fournir au pathologiste des renseignements cliniques et radiologiques.

La prise en charge macroscopique doit être adaptée au type de prélèvement reçu.

### 3. Histologie

#### 3.1. L'obtention des Coupes

##### 3.1.1. Fixation

- But

L'histologie permet d'étudier la morphologie des tissus vivants c'est-à-dire la structure qui était dans l'organisme, mais pour que cette étude soit réalisable il faut immobiliser les tissus dans un état aussi proche que possible de l'état vivant afin de lui permettre de résister à toutes les manipulations.

Il est important de noter que toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible.

- Mécanismes de la fixation

La fixation agit sur des molécules qui composent les tissus.

Ce mécanisme comporte deux actions:

- la première est l'inactivation des molécules qui pourraient changer la morphologie des tissus (les enzymes).
- la seconde consiste en la préservation de l'intégrité chimique des tissus ce qui permet de faire la relation entre leur morphologie et leur chimie.

- Les effets de la fixation

Immobilisation des cellules et des tissus.

Durcissement des tissus.

Solidification du matériel colloïdal.

Inhibition de la putréfaction des tissus.

Inhibition de l'autolyse tissulaire.

- Les types de fixation

La fixation se fait soit par des procédés chimiques soit par des procédés physiques.

Mais le plus utilisé est le procédé chimique en utilisant un procédé de fixation par immersion dans le formol ou le formaldéhyde qui est un gaz incolore et inflammable en solution aqueuse saturé (40%).

La durée de la fixation dépend de la taille du prélèvement : au minimum 2 à 5 heures pour une biopsie.

### 3.1.2. Circulation

En histologie, il est nécessaire d'obtenir des coupes minces à partir de pièces tissulaires.

L'épaisseur à laquelle on doit pouvoir confectionner les coupes varie habituellement de 3 à 6  $\mu\text{m}$ , c'est pour ça il est indispensable d'augmenter la rigidité du tissu surtout si on veut le couper très mince.

La fixation donne déjà au tissu une certaine rigidité mais qui reste insuffisante, pour mieux durcir le tissu on procède à : la congélation et l'imprégnation qui donneront une résistance mécanique.

On utilise des milieux d'inclusion qui n'ont aucune affinité pour l'eau ; le liquide de l'inclusion ne pourra pas pénétrer dans le tissu et l'eau que contient le tissu demeurera emprisonnée.

- Etapes de la circulation

A) le mordantage

Les tissus fixés au formol se colorent mal donc on les laisse passer dans un mélange fixateur mordant qui est contenu dans le premier bain de circulation.

Le post mordantage ne sert pas vraiment à faciliter l'imprégnation du tissu par la paraffine mais c'est une étape couplée à la circulation.

B) la déshydratation

La première étape de la circulation est la déshydratation : elle consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient en utilisant l'éthanol puisque la plupart des fixateurs sont des mélanges aqueux.

C) l'éclaircissement

Cette étape consiste à remplacer l'éthanol par un solvant de la paraffine en utilisant des hydrocarbures benzéniques comme le xylène ou le toluène.

D) l'imprégnation

L'imprégnation est la dernière étape de la circulation, elle consiste à imprégner les tissus à l'aide de la paraffine liquide à 56 °C.

Ces étapes sont automatisées dans un appareil à inclusion.

Dans le laboratoire AMMOUR, on utilise un appareil à bain unique qui ne comprend qu'un seul contenant dans lequel les divers réactifs passent successivement, Ceux-ci sont entreposés dans des bouteilles reliées au bain et les changements de liquide se font à l'aide d'une pompe.

Ce procédé évite le déplacement des tissus et leur contact avec l'air ambiant, il réduit aussi grandement l'émission des vapeurs des solvants dans l'atmosphère de travail.

### 3.1.3.L'enrobage

Cette étape manuelle suit la circulation.

Elle consiste à réorienter convenablement le fragment tissulaire dans le sens de la coupe dans un moule de paraffine.

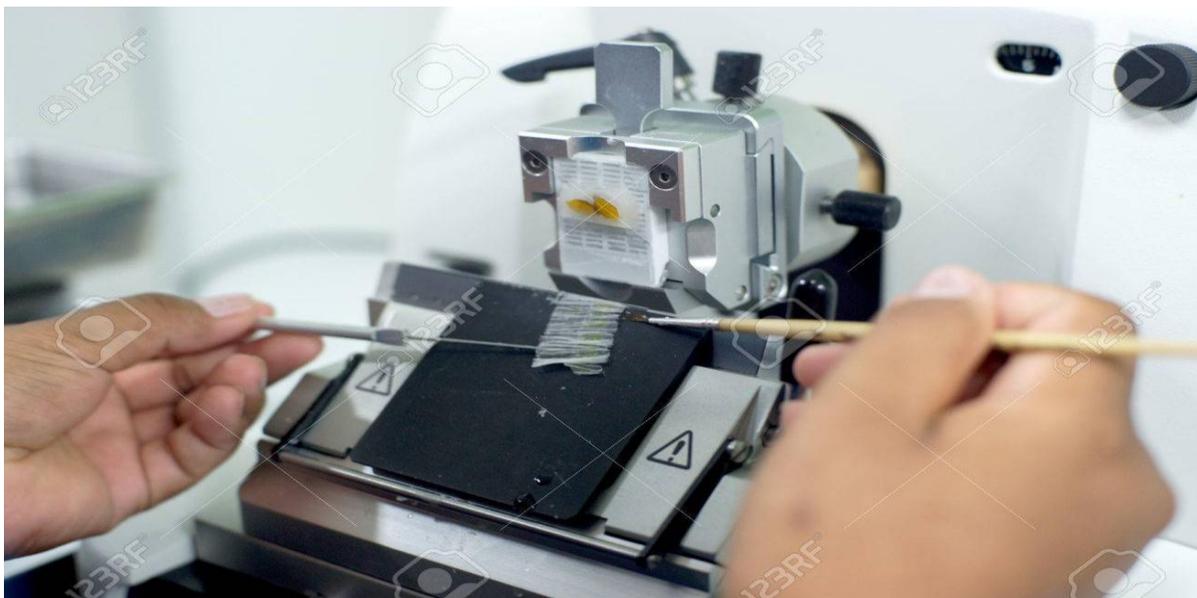
En plus de faciliter la manipulation, l'identification et l'entreposage de la pièce, l'enrobage permet de lui fournir un support externe à la fois pendant et après la coupe.

La présence du paraffine ; qui est une substance indifférente qui ne réagit pas avec les composants tissulaires ; autour du tissu facilite la coupe, à condition que le paraffine utilisé pour l'enrobage ait les mêmes caractéristiques que celle qui servi pour l'imprégnation.

#### 3.1.4. La microtomie

Après avoir inclus le tissu dans un bloc homogène, il faut en faire des coupes minces de 3 à 6 microns d'épaisseur en utilisant un microtome rotatif (figure 5).

Ces coupes vont s'étaler sur des lames.



**Figure 5** : le microtome

### 3.2. Les étapes pratiques de la coloration

La coloration s'effectue en trois temps :

- étapes préparatoires à la coloration,
- coloration proprement dite
- Etapes préparatoires au montage.

Le montage s'effectue en dehors des bains de coloration.

#### 3.2.1. Les étapes préparatoires à la coloration

Afin de préparer la coupe à recevoir les colorants qu'on veut lui faire capter on passe par deux principaux mécanismes :

- Le déparaffinage qui sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer, en utilisant le toluène car c'est l'agent éclaircissant qui dissout le mieux la paraffine, donc on passe les coupes dans deux bains de toluène pendant 3 à 5min chaque fois.
- L'hydratation qui consiste à retirer le toluène du tissu et de le remplacer par de l'eau (car la plupart des colorants sont utilisés en solution aqueuse), donc leur pénétration ne peut s'effectuer que si les coupes sont imprégnées d'eau.

Pour réaliser ceci on utilise l'éthanol en concentrations décroissantes (pour réduire la force des courants qui sont créés lors de sa sortie du tissu et l'entrée de l'eau).

#### 3.2.2. La coloration

La coloration des noyaux se fait avec un colorant foncé (bleu ou noir) ce qui permet de mettre en évidence des structures bien déterminées qui serviront de point de repère au cours de l'observation du tissu.

La coloration usuelle associe un colorant basique nucléaire (hématoxyline) et un colorant acide cytoplasmique (éosine). On y ajoute souvent du safran qui se fixe sur le collagène.

#### 3.2.3. Les étapes préparatoires au montage

Ces étapes se résument en deux étapes essentielles :

- La déshydratation qui doit être rapide car l'éthanol surtout en faible concentration est susceptible d'extraire plusieurs colorants des coupes.

On passe les coupes dans un bain d'éthanol à 95 (pour cent) pendant 30 à 60 secondes puis dans un bain d'éthanol absolu d'une durée équivalente.

- L'éclaircissement : qui consiste à passer les coupes dans un bain de toluène pendant 30 à 60secondes.

#### 3.4. Montage

C'est une étape qui consiste à fixer des lamelles de verre sur des échantillons histologiques en utilisant une résine ayant un indice de réfraction qui se rapproche de celui du verre afin de :

- Assurer une protection mécanique des coupes tissulaires (éviter l'écrasement des tissus).
- Minimiser la perte de lumière reliée à la dispersion ce qui facilite l'observation.
- Assurer une protection chimique des colorants (éviter une oxydation des colorants par l'air ambiant).

### 3.5. Etude en microscopie optique

L'observation des coupes colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique.

Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (20 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

# Résultats et interprétations

## I-Profil épidémiologique des biopsies

Les analyses de *H. pylori* du 01 octobre 2018 au 20 mai 2019 au sein du laboratoire d'anatomie pathologique AMMOUR ont donné les résultats suivants :

### 1. Selon le sexe :

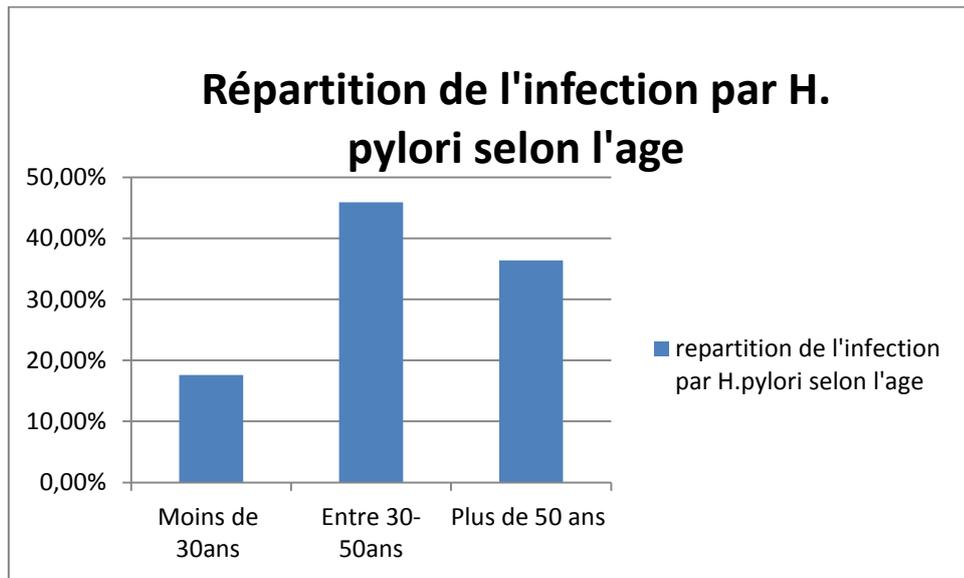


**Figure 6 :** Répartition des atteintes par *H. pylori* selon le sexe

Selon la figure 6, on note que sur 159 prélèvements examinés, 60,30% appartient à des femmes et 39,60% reviennent à des hommes. Le sexe ratio H/F=0,65 en faveur des femmes.

Par contre, d'après une étude réalisée par l'Institut Pasteur du Maroc portée sur 755 patients présentant des symptômes digestifs, ils ont montré que le sexe ne présente aucun effet sur la prévalence de l'infection par la bactérie concernée

## 2. Selon l'âge :



**Figure 7 :** représente la répartition de l'infection par *H. pylori* selon l'âge.

Les résultats donnés par la figure 7 montrent que la tranche d'âge la plus atteinte est celle de 30 à 50 ans, et la moins touchée est celle du moins de 30 ans. Et d'après l'étude réalisée par l'Institut Pasteur du Maroc la prévalence de l'infection était de 69 % dont la tranche d'âge la plus importante est entre 40-50 ans.

## II-Résultat de l'examen histologique

Les résultats de l'analyse anatomopathologique sont donnés sous la forme d'un compte-rendu écrit dans lequel on se base sur un système appelé le « Sidney System ».

Ce système comprend :

- Le type de la muqueuse gastrique atteint qui peut être de type fundique située au niveau de la grosse tubérosité et du corps de l'estomac ; ou de type antral ou pylorique au niveau de l'antra.
- L'importance de l'inflammation lymphoplasmocytaire (inflammation de la partie seulement superficielle du chorion, ou toute la hauteur).
- L'existence ou non d'une activité et son intensité (présence de polynucléaires neutrophiles).
- L'existence ou non d'une atrophie et son intensité (diminution du volume glandulaire).
- L'existence ou non d'une métaplasie intestinale et son intensité (tout en précisant alors s'il y a de la dysplasie associée).
- La présence ou non d'*H. pylori*.

## ***Conclusion et recommandations***

L'infection à *H. pylori* est universellement répandue, mais elle est plus élevée dans les pays en voie de développement, notamment chez les personnes âgées entre 40 et 50 ans.

Un diagnostic et un traitement à temps sont susceptibles d'éradiquer l'infection et éviter son évolution en ulcère, gastrite chronique ou cancer gastrique.

La découverte de cette bactérie est relativement récente au Maroc, de ce fait la population doit être sensibilisée sur :

- Le danger que présente cette bactérie
- Modalité de transmission
- Les moyens de prévention
- Les syndromes d'infection
- Le diagnostic et le traitement

Par ailleurs il faut signaler que le nombre de laboratoires d'anatomopathologique reste insuffisant pour couvrir toute la population du Royaume.

Mon étude portée sur 159 patients sur une période étalée du 1<sup>er</sup> Octobre 2018 au 20 mai 2019 ; a montré que 91 % des patients sont positifs pour *H. pylori*.

J'ai remarqué que 61 % des patients positifs sont des femmes alors que les hommes ne représentent que 39 %.

Quant à la répartition selon l'âge, nous avons affirmé que les patients ayant un âge qui varie entre 30 et 50 ans, sont les plus touchés par cette infection.

## Références bibliographiques

- 1- Sobhani I. Helicobacter pylori et cancer gastrique. Médecine/Sciences 2003;19:431-6.
- 2- Delchier JC. Les lésions pré-cancéreuses gastriques : quelle prévention ? Gastroenterol Clin Biol 2004;28(5):172-7
- 3- Nurgalieva ZZ, Malaty HM, Graham DY, Almuchambetova R, Machmudova A, Kapsultanova D, Osato MS, Hollinger FB, Zhangabylov A. Helicobacter pylori infection in Kazakhstan: effect of water source and householdhygiene. Am J Trop Med Hyg 2002; 67(2):201-6.
- 4- Gressmann H, Linz B, Ghai R, Pleiness KP, Schlapbach R, Yamaoka Y, Kraft C, Suerbaum S, Meyer TF, Achtman M. Gain and loss of multiple genesduring the evolution of Helicobacterpylori. PLoS Genet. 2005; 1(4):e43.
- 5- Frenck RW Jr, Clemens J (2003) Helicobacter in the developing world. Microbes Infect 5(8):705–713
- 6- Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET et al. Helicobacter pylori adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. Science 1998;279:373-7.
- 7- Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. Campylobacter pyloridis and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. J Infect Dis 1986; 153:658-63.
- 8- Braden B. Diagnosis of Helicobacter pylori infection. BMJ 2012;344:44-46
- 9- Fiches « Pertinence des soins » sur le diagnostic et le traitement de l'infection par H. pylori chez l'adulte et rapport d'élaboration.  
[https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_2774179/fr/pertinence-des-actes-et-prescriptions-medicamenteuses-chez-un-patient-adulte-infecte-par-helicobacter-pylori](https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2774179/fr/pertinence-des-actes-et-prescriptions-medicamenteuses-chez-un-patient-adulte-infecte-par-helicobacter-pylori) consulté en 2019.