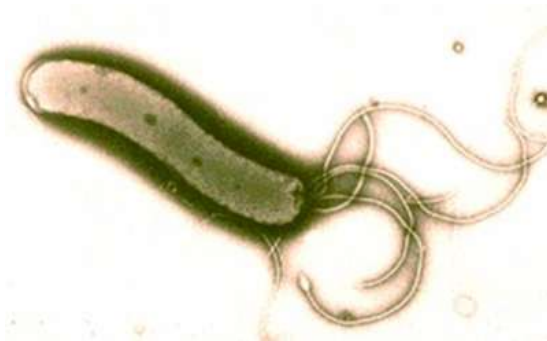


● ● ●

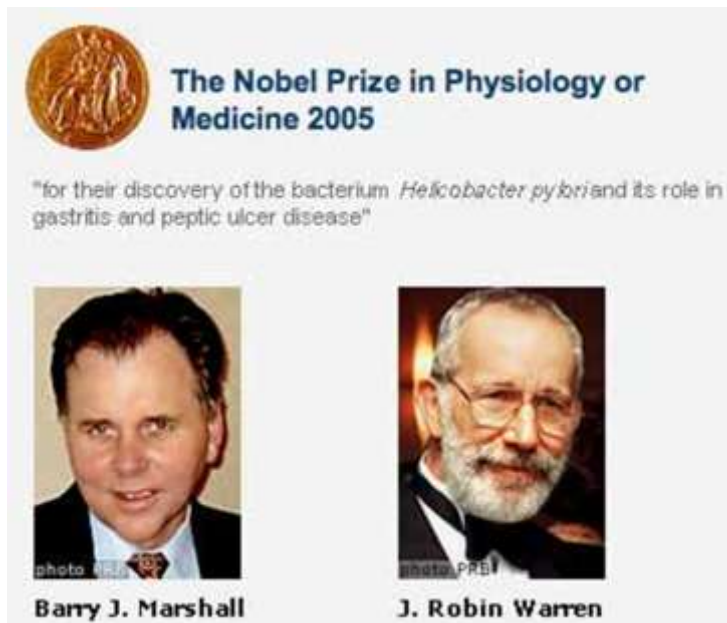
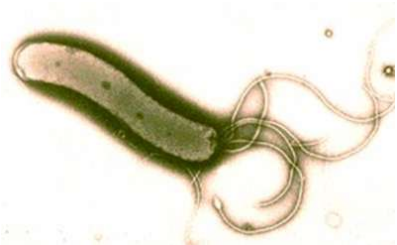
Diagnostic bactériologique et moléculaire d'*Helicobacter pylori*



M.N Korichi-Ouar

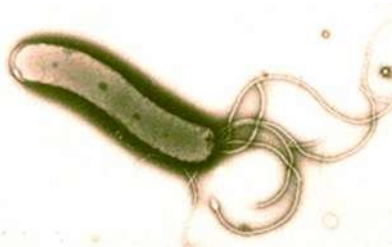
Introduction

- L'infection à *Helicobacter pylori* : infection bactérienne chronique de l'estomac (gastrites , ulcères , lymphome gastrique du MALT)
- Elle s'acquiert généralement pendant l'enfance, mais persiste toute la vie tant qu'il n'y a pas d'éradication



● ● ● | Introduction (suite)

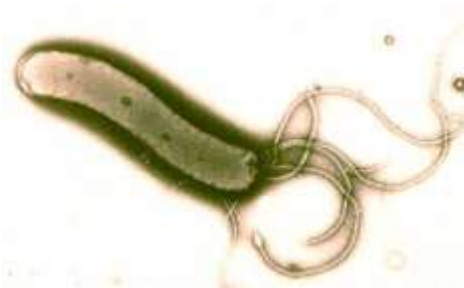
- *Helicobacter pylori* : bactérie spiralée exigeante à croissance lente (3-4 jours)
forme ronde dite coccoïde viable mais non cultivable
- L'identification et l'antibiogramme nécessitent (48 à 72 H)
- Délais importants pour le diagnostic
- Existence des techniques de biologie moléculaire





Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report

Peter Malfertheiner,¹ Francis Megraud,² Colm A O'Morain,³ John Atherton,⁴ Anthony T R Axon,⁵ Franco Bazzoli,⁶ Gian Franco Gensini,⁸ Javier P Gisbert,⁹ David Y Graham,¹⁰ Theodore Rokkas,¹¹ Emad M El-Omar,⁷ Ernst J Kuipers,¹² The European Helicobacter Study Group (EHSg)

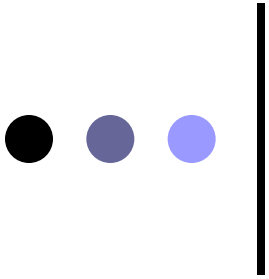




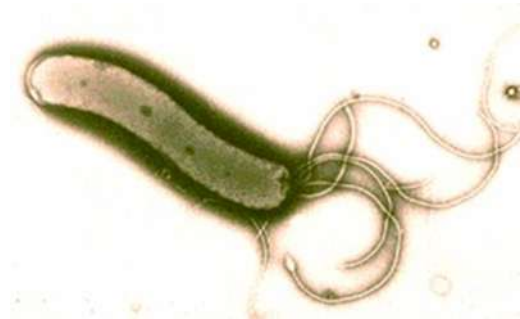
Prélèvement et transport

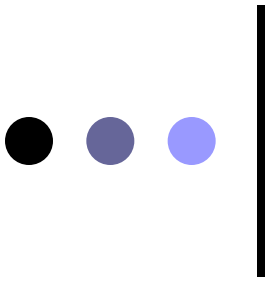
Arrêt des IPP :2 semaines

- **Prélèvement** : au minimum 2 biopsies antrales et 2 biopsies fundiques (une de chaque pour l'examen direct, l'autre pour la culture bactériologique, PCR).
- **Acheminement rapide au laboratoire**
 - Température ambiante (2h et 4h maximum) dans un bouillon nutritif stérile ou dans du sérum physiologique stérile.
 - Il est préférable de mettre une poche de glace (ice-box) pour un transport à + 4 °C
 - Il existe des milieux de transport gélosé Portagerm Pylori (bioMérieux ®).
 - Pour le transport à distance : carboglace.
 - Fiche de renseignement: vérification de l'éradication , traitement..

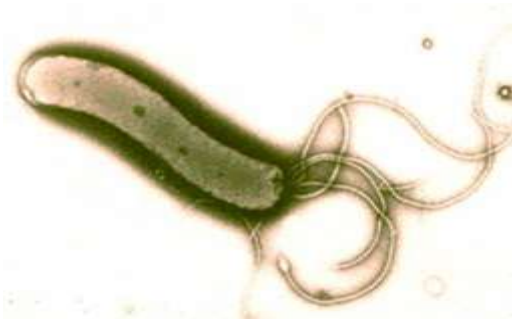


Diagnostic au laboratoire





Techniques invasives





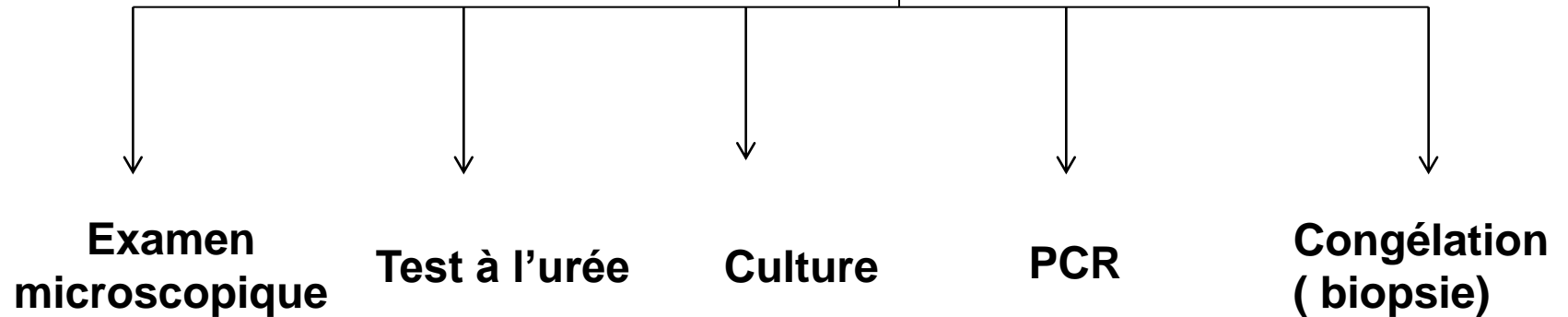
Biopsie
(2 antrales et 2 fundiques)



Broyage des biopsies

scalpel à usage unique

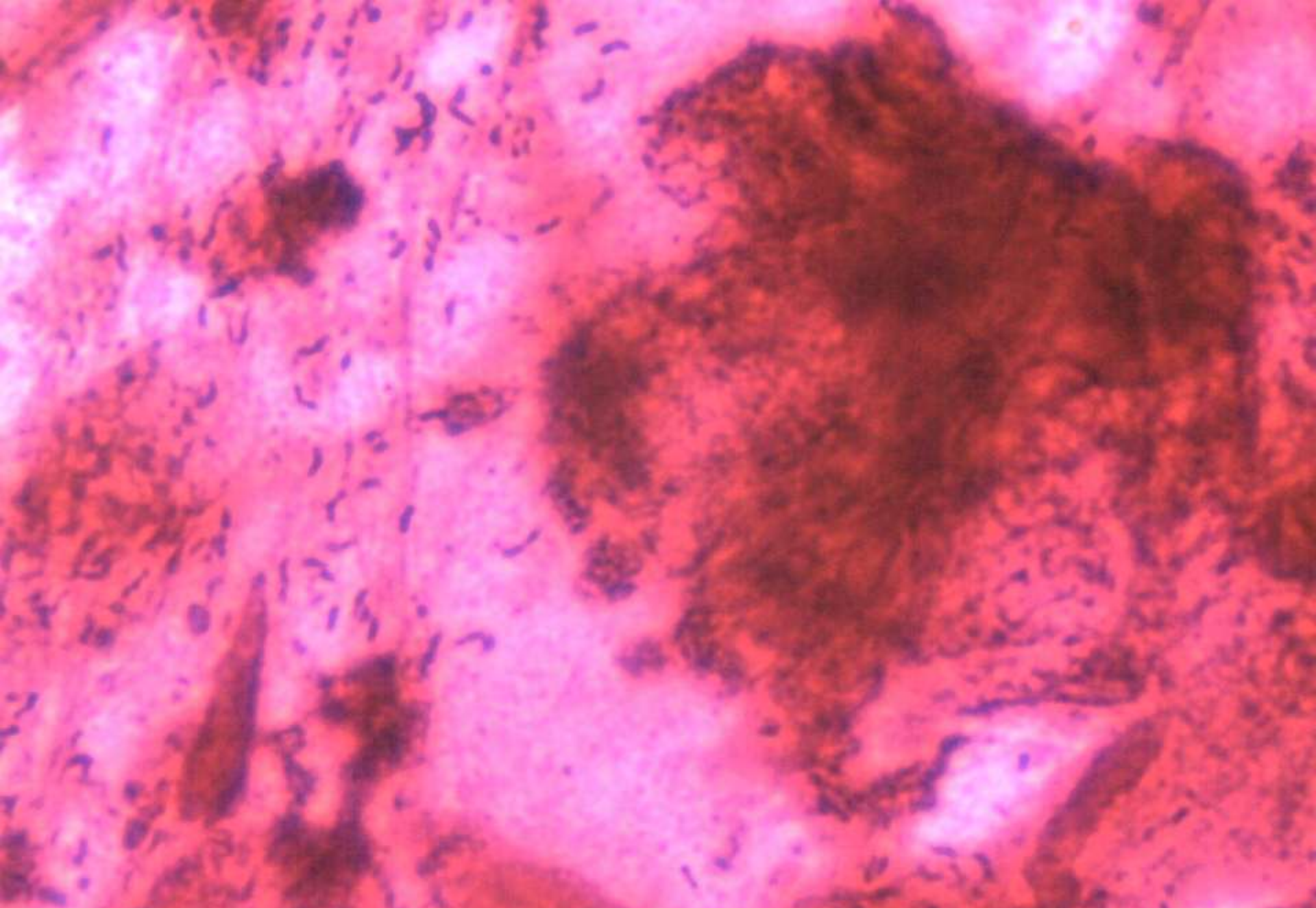
Dans 1ml de bouillon



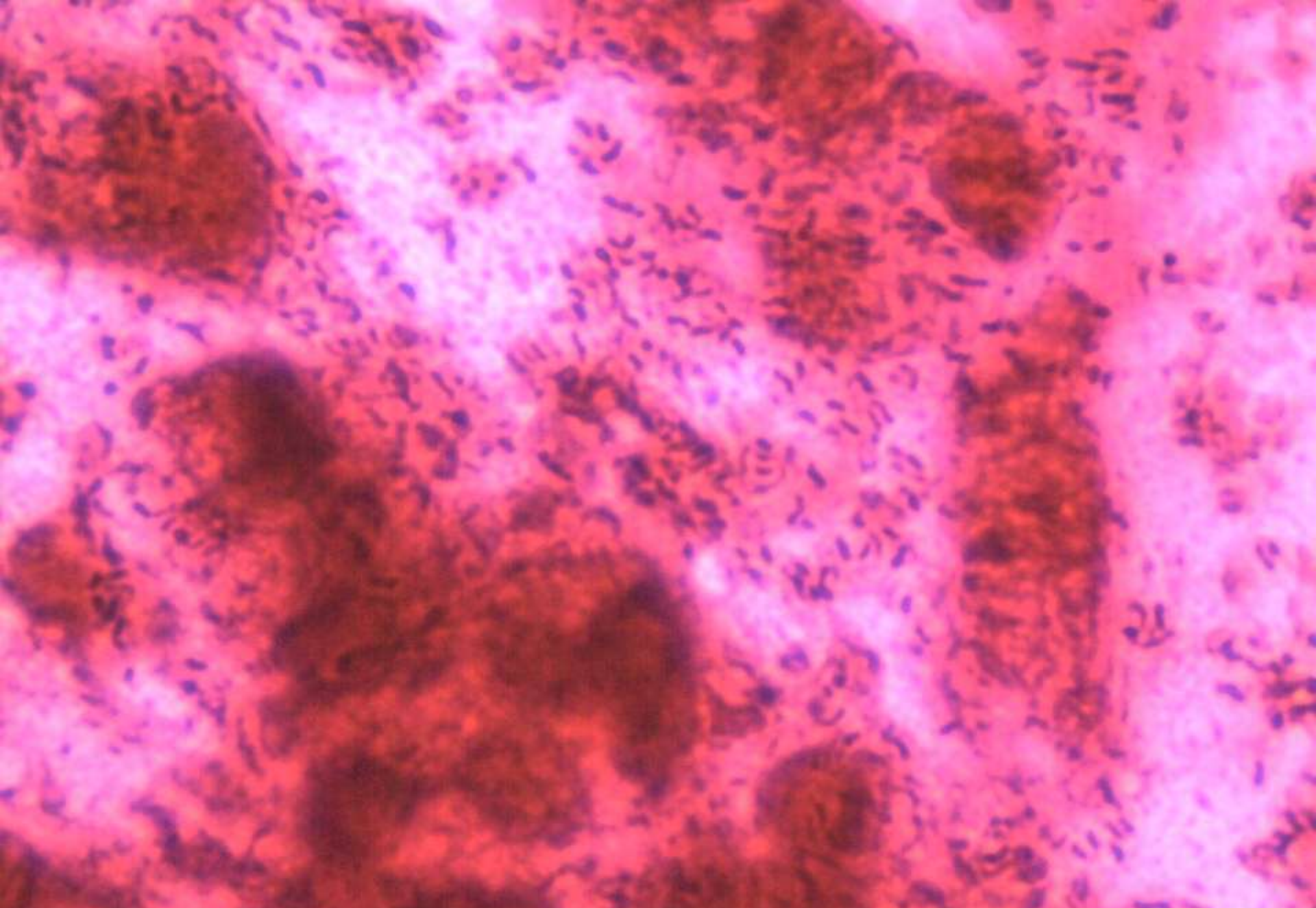


Examen microscopique

- Ecrasement de la biopsie sur une lame sous forme d'un frottis.
- Coloration de Gram,
- Lecture au microscope (100X à immersion).
- Repérer les bacilles à Gram négatif spiralés ou incurvés ou des forme cocoides regroupés à proximité des cellules épithéliales dans les trainées de mucus.



Unité *Helicobacter pylori* / LARH-laboratoire des enterobactéries et autres bactéries apparentées -IPA



Test à l'urée





Culture

- Skirrow
- Columbia + supplément Hp +15 % de sang

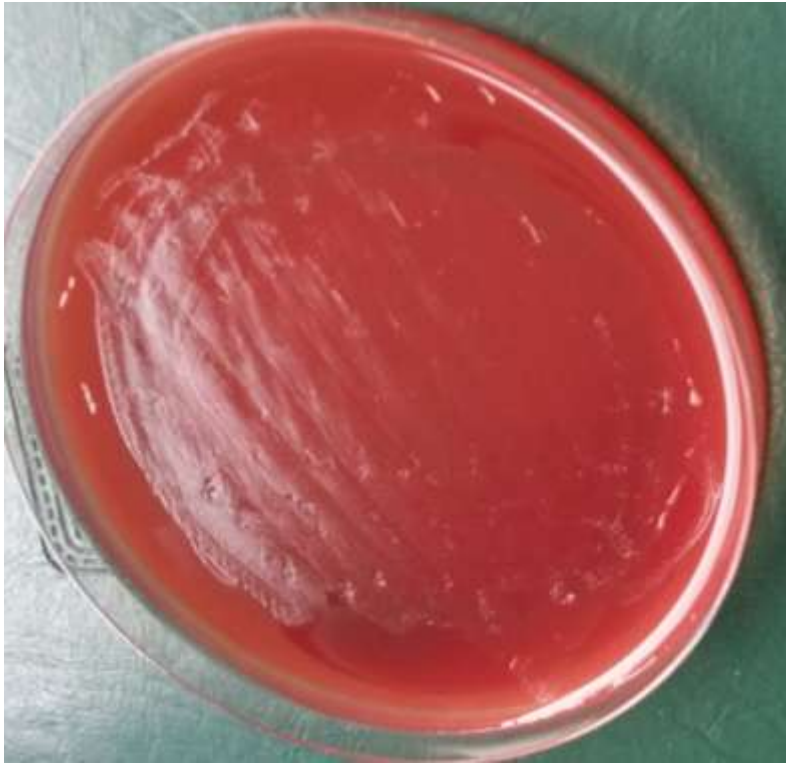
Serontensemencés par 4 gouttes du broyat



Incubation (micro-aérophilie)

Température 37 °C (3-4 J)

Culture



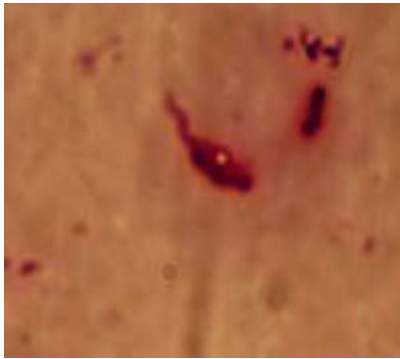
Les colonies sont petites, brillantes et sur milieu au sang non hémolytiques.

Problème de contamination



● ● ●

Identification *d'Helicobacter pylori*



Antibiogramme



Clarithromycine , lévofloxacine , amoxicilline , tétracycline , rifampicine ,
métronidazole

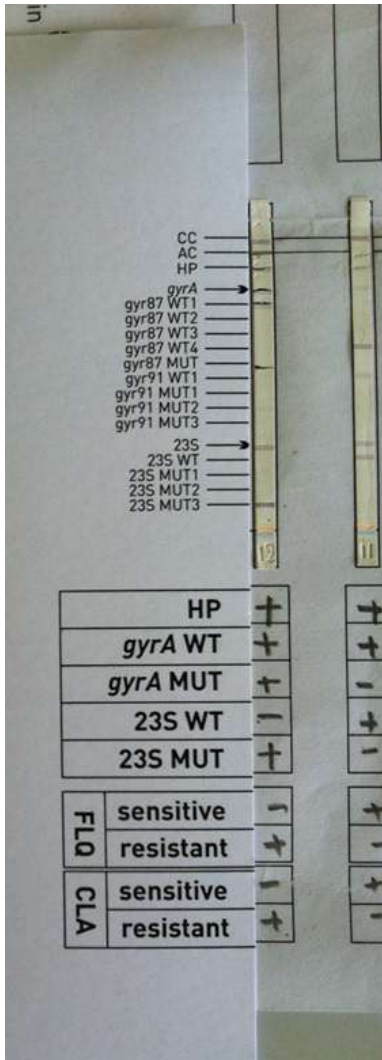
PCR

Broyat de
biopsie ou
culture



Extraction d'ADN (Kit)

PCR multiplex





	Culture	PCR
Avantages	Identification du germe et antibiogramme (CMI)	Sensibilité Spécificité Condition de transport facilitée Détermination des mutations des résistance et des gènes de virulences
Inconvénients	Techniques longues Fastidieuses Absence de culture (formes rondes)	pas de germe

Autres techniques

o Détection des gènes *cag* et *vac A*

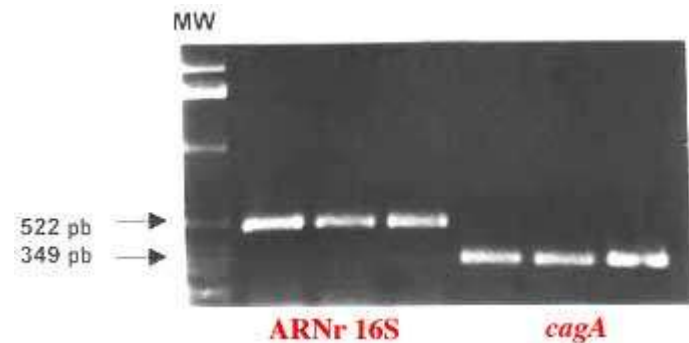
Typage du gène cag

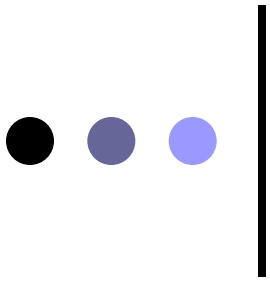
(*caractère pro-inflammatoire*) augmentant le risque de pathologie sévère (*gastrite atrophique , cancer gastrique*)

Typage et génotypage du gène vac A

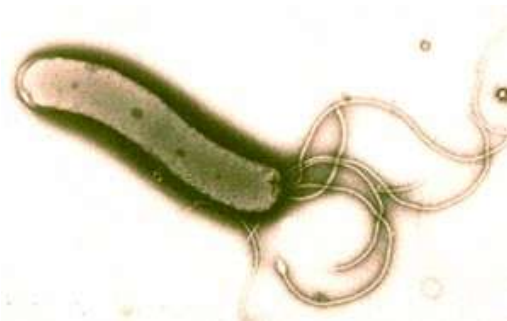
Certaines allèles augmentent le risque de développer une maladie ulcéreuse et cancéreuse

ex Vac A s1 (augmentation des risques de cancer gastrique)





Techniques non invasives





Techniques non invasives

Test respiratoire HP

- Détecte une infection active par la mise en évidence d'une activité uréasique.
- Le test fortement recommandé pour le contrôle de l'éradication

Sensibilité 88-95 %

Spécificité 95-100 %

Détection des antigènes dans les selles (ELISA)

- Identifie une infection active
- Diagnostic et le contrôle de l'éradication

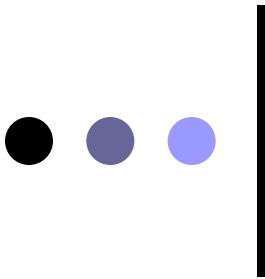
Sensibilité 94 %

Spécificité 92 %



Sérologie

- La sérologie détecte dans le sérum les anticorps IgG spécifiques dirigés contre *Helicobacter pylori* .
- Elle est recommandée: ulcère hémorragique, atrophie glandulaire, lymphome du MALT, utilisation récente d'antibiotiques ou d'IPP.



Biopsie
(2 antrales et 2 fundiques)



Broyage des
biopsies
Dans 1ml de
bouillon

scalpel à usage
unique



Examen
microscopique

Test à l'urée

Culture

PCR

Congélation
(biopsie)

Antigènes solubles

Test respiratoire

Sérologie



Antibiogramme
CMI



Helico DR
PCR identification, gènes de
résistance , gènes de
virulences)



Conclusion

Traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* en Algérie en 2010: impact de la résistance de la bactérie aux antibiotiques

B. Touchène, N. Matougui, ML Boudjella

12ème JFMC Alger 03 Juin 2010

Résistance
Clarithromycine



12 %

High-Level Primary Clarithromycin Resistance of *Helicobacter pylori* in Algiers, Algeria: A Prospective Multicenter Molecular Study

Djennane-Hadibi Fazia, Bachtarzi Mohamed, Layaida Karim, Ali Arous Nassima, Nakmouche Mhamed, Saadi Berkane, Tazir Mohamed, Ramdani-Bouguessa Nadja, and Burucoa Christophe.

Microbial Drug Resistance. -Not available-, ahead of print. doi:10.1089/mdr.2015.0209.

Résistance
Clarithromycine

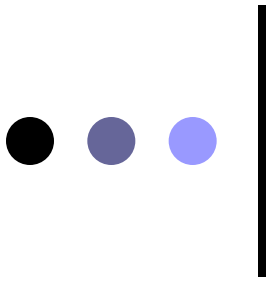


35 %



Conclusion

- Importance de la surveillance de la résistance du Hp à la clarithromycine
Par culture +antibiogramme
- Importance des tests rapide pour le diagnostic rapide de l'infection et des résistances à la Cla et FQ (PCR multiplex, HelicoDr et RT-PCR)
Pallier aux difficultés techniques liées à la culture et à la bactérie
- Contrôle de l'éradication par :
 - Test respiratoire
 - Recherche des antigènes solubles dans les selles



Merci de votre attention