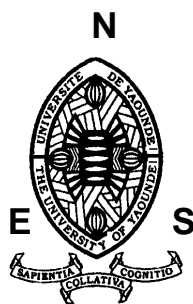


République du Cameroun
Paix-Travail-Patrie

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

ECOLE NORMALE SUPERIEURE



Republic of Cameroon
Peace-Work-Fatherland

MINISTRY OF HIGHER EDUCATION

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

HIGHER TEACHER'S TRAINING
COLLEGE

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE

**Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques
par l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* (Asteraceae)
vis-à-vis de quelques isolats cliniques de *Helicobacter pylori*
à phénotype multi-drugs-résistants**

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire

Deuxième Grade (D.I.P.E.S.II)

Par

SOUPGUI Franck Cédric

Licencié en Biologie des Organismes Animaux

Matricule : 08Q0950

Sous La direction de

KOUITCHEU MABEKU Brigitte Laure

Chargée de cours à l'Université de Dschang

Soutenu devant le jury composé de

Président : TAMESSE JOSEPH LEBEL

Professeur (ENS)

Rapporteur : KOUITCHEU MABEKU Brigitte Laure

Chargée de cours (Université de Dschang)

Examineur : FOKO DAJI Giselle Aurelie

Chargé de Cours (EN)

Année Académique : 2015-2016

DEDICACE

*A mes parents papa KAMWA Jean Pierre de regrettée
mémoire et maman MAKUISSU Jeannette.*

REMERCIEMENTS

Le Laboratoire de Pharmacie de la Faculté de Médecine des Sciences Biomédicales de l'Université de Yaoundé I a servi de cadre d'étude à la réalisation de ce travail. Au moment où celui-ci arrive à terme, je tiens à témoigner ma profonde gratitude auprès de:

✚ **DIEU** tout puissant, loué soit-il, de m'avoir accordé la force, la patience et le sacrifice pour accomplir ce modeste travail ;

✚ mon encadreur, le Dr. **KOUITCHEU MABEKU Brigitte Laure**, pour sa compréhension, ses conseils et la rigueur qu'elle a toujours manifestés ;

✚ Pr. **TAMESSE Joseph Lebel**, pour avoir contribué à la direction de ce mémoire. Grâce à ses critiques et ses remarques ce travail est parvenu à son terme ;

✚ Pr. **KOUAM Jacques**, pour avoir œuvré à la réalisation de ce travail malgré ses nombreuses occupations;

✚ Dr. **NANGA**, pour avoir mis à notre disposition la logistique nécessaire à la réalisation de ce travail ;

✚ tous les **Enseignants du Département des Sciences Biologiques**, à qui je témoigne ma profonde gratitude pour leur encadrement académique ;

✚ mon aîné de laboratoire, **EYOUM Bille Bertrand**, pour les différents commentaires apportés pour l'édifice de ce mémoire ;

✚ **BEBYBIANE Youssa** et notre fils **KAMWA SOUPGUI Lyderic Duplex**, votre amour et ce soutien moral que vous et vous seul savez me procurer m'ont permis de mener ce travail à terme;

✚ mes sœurs **KENMOGNE Evelyne**, **DJOUSSUC Gèneviève**, **MABOUDAC Aimée** et **GOUENOU Chimène L.**, qui m'ont toujours encouragé et assisté au moment opportun ;

✚ monsieur et madame **KAMEGNE**, qui m'ont encadré et soutenu pendant les moments les plus sombres de ma vie ;

✚ **DJOKO K. Joël**, **KOUAM Eric C.**, **KAMOGNE K. Brandon**, **TEBU Maurice C.**, et **TCHUEMBU Y. Valérie** pour leurs soutiens et leurs perpétuels encouragements ;

✚ toute la **Promotion 2014-2016** de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé ;

✚ je remercie enfin mes amis et ceux qui de près ou de loin m'ont accordé leur soutien multiforme durant toute la formation, qu'ils trouvent dans ce mémoire l'expression de ma profonde gratitude.

TABLE DE MATIERE

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
SOMMAIRE	iii
ABSTRACT.....	vii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
INTRODUCTION.....	1
PARTIE I : REVIEW DE LA LITTERATURE.....	4
I.1. GENERALITES SUR <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	5
I.1.1. Historique de la découverte de la bactérie.....	5
I.1.2. Caractéristiques générales.....	6
I.1.2.1. Taxonomie actuelle.....	6
I.1.2.2. Caractères morphologiques.....	6
I.1.2.3 Caractères culturels.....	7
I.1.2.4. Caractères biochimiques et enzymatiques.....	7
I.1.2.5. Caractéristiques génotypiques et diversité génétique.....	8
I.1.2.6. Autres espèces du genre <i>Helicobacter</i>	8
I.1.3. <i>H. pylori</i> et pathologies gastro-duodénales.....	9
I.1.3.1. <i>H. pylori</i> et gastrites aiguë et chronique.....	10
I.1.3.2. <i>H. pylori</i> et ulcères gastro-duodénaux.....	10
I.1.3.3. <i>H. pylori</i> et gastrite atrophique et métaplasie intestinale.....	11
I.1.3.4. <i>H. pylori</i> et cancer gastrique.....	11
I.1.3.5. <i>H. pylori</i> et lymphome gastrique du MALT.....	13
I.1.4. Réservoirs.....	13
I.1.4.1. Réservoir humain.....	13
I.1.4.2. Réservoir animal.....	13
I.1.4.3. Réservoir environnemental.....	14
I.1.5. Epidémiologie.....	14
I.1.5.1. Incidence de l'infection.....	14
I.1.5.2. Prévalence de l'infection.....	14
I.1.5.3. Facteurs de risques.....	14
I.1.5.4. Transmission de l'infection.....	17
I.1.5.4.1. Transmission interhumaine.....	17
I.1.5.4.2. Transmission oro-orale.....	17
I.1.5.4.3. Transmission gastro-orale.....	18
I.1.5.4.4. Transmission féco-orale.....	18
I.1.5.4.5. Transmission indirecte.....	18
I.1.5.4.6. Transmission iatrogénique.....	19
I.1.6. Diagnostic de l'infection à <i>H. pylori</i>	19
I.1.6.1. Diagnostic par des méthodes invasives.....	19

I.1.6.1.1. Examen anatomopathologique (histologie).....	19
I.1.6.1.2. Test rapide à l'uréase.....	20
I.1.6.1.3. Culture de <i>H. pylori</i>	20
I.1.6.1.4. Amplification génétique.....	22
I.1.6.2. Diagnostic par des méthodes non-invasives.....	23
I.1.6.2.1. Sérologie.....	23
I.1.6.2.2. Test respiratoire à l'urée marquée au ¹³ C.....	23
I.1.6.2.3. Recherche d'antigène dans les selles.....	23
I.1.7. Traitement de l'infection à <i>H. pylori</i>	24
I.1.7.1. Les antibactériens usuels.....	24
I.1.7.1.1. Métronidazole.....	25
I.1.7.1.2. Clarithromycine.....	25
I.1.7.1.3. Amoxicilline.....	25
I.1.7.1.4. Tétracyclines.....	25
I.1.7.1.5. Autres antibactériens.....	26
I.1.7.2. Schémas thérapeutiques.....	26
I.1.7.2.1. Traitement de première ligne.....	26
I.1.7.2.2. Traitement de deuxième ligne.....	27
I.1.7.2.3. Traitement de 3ème ligne (« Rescue therapy »).....	27
I.1.7.2.4. Thérapie séquentielle.....	27
I.1.7.2.5. Autres schémas thérapeutiques.....	27
I.1.7.2.6. Thérapies non conventionnelles.....	28
I.1.7.3. Facteurs d'échecs d'éradication.....	28
I.1.7.3.1. Défaut d'observance du traitement.....	28
I.1.7.3.2. La résistance aux antibiotiques.....	28
I.1.7.3.3. Autres facteurs d'échec d'éradication.....	29
I.1.8. Résistance bactérienne aux antimicrobiens.....	29
I.1.8.1. Types de résistances.....	29
I.1.8.2. Mécanisme d'apparition des résistances.....	29
I.1.8.3. Résistance chez <i>H. pylori</i>	30
I.1.8.3.1. Résistance aux nitro-imidazoles.....	30
I.1.8.3.2. Résistance aux macrolides.....	31
I.1.8.3.3. Résistance à l'amoxicilline.....	31
I.1.8.3.4. Résistance aux tétracyclines.....	31
I.1.8.3.5. Résistance aux rifamycines.....	32
I.1.8.3.6. Résistance aux fluoroquinolones.....	32
I.1.9. Méthodes de l'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	32
I.1.9.1. Mesure des paramètres d'inhibition (CMI et CMB).....	32
I.1.9.1.1. Concentration minimale inhibitrice.....	32
I.1.9.1.1.1. Méthode de dilution en milieu liquide.....	33
I.1.9.1.1.2. Méthode de diffusion.....	34
I.1.9.1.1.3. Méthode de l'E-test®.....	34

I.1.9.1.1.4. Méthode turbidimétrique.....	35
I.1.9.1.2. Concentration Minimale Bactéricide.....	35
I.1.9.2. Interprétation des paramètres d'inhibition.....	35
I.1.10. Lutte contre la résistance par association d'antibiotiques	35
I.1.10.1. Types d'interactions.....	36
I.1.10.2. Principes généraux des associations d'antibiotiques.....	36
I.1.10.3. Mécanisme d'action des associations d'antibiotiques	37
I.1.10.4. Méthodes d'étude des associations d'antibiotiques.....	37
I.2. GENERALITES SUR <i>EMILIA COCCINEA</i>.....	37
I.2.1. Taxonomie et description botanique.....	37
I.2.1.1. Taxonomie.....	37
I.2.1.2. Description botanique.....	38
I.2.2. Répartition géographique.....	39
I.2.3. Propriétés chimiques.....	40
I.2.4. Usages et intérêts traditionnels.....	40
I.2.4.1. Usages de <i>Emilia coccinea</i>	40
I.2.4.2 Intérêts traditionnels de <i>Emilia coccinea</i>	40
I.2.5. Pharmacologie antérieurs de Emilia coccinea au Cameroun.....	41
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES.....	43
II.1. MATERIEL.....	44
II.1.1. Matériel biologique.....	44
II.1.1.1. Micro-organismes.....	44
II.1.1.2. Matériel végétal.....	44
II.1.2. Equipements et réactifs utilisés.....	45
II.1.2.1. Equipements.....	45
II.1.2.2. Réactifs utilisés.....	45
II.1.2.2.1. Milieux de culture.....	45
II.1.2.2.2. Les antibiotiques.....	45
II.2. METHODES.....	46
II.2.1. Test de viabilité, activation et conservations des isolats cliniques.....	46
II.2.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité anti- <i>Helicobacter pylori</i> des extraits de plantes et des antibiotiques de référence.....	46
II.2.2.1. Préparation des extraits de plantes.....	47
II.2.2.2. Préparation des solutions mères d'extrait de plantes et d'antibiotiques.....	47
II.2.2.3. Préparation des inocula bactériens.....	47
II.2.2.4. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).....	48
II.2.3. Etude de la sensibilité des isolats cliniques aux associations d'extraits de plantes et d'antibiotiques.....	49
II.2.4. Analyse statistique.....	50
PARTIE III :RESULTATS ET DISCUSSION.....	51
III.1. RESULTATS.....	52

III.1.1. EXTRACTION.....	52
III.1.2. Activité anti- <i>H. pylori</i> des extraits de plantes et des antibiotiques de référence.....	52
III.1.3. Effet potentialisateur des antibiotiques par l'extrait au méthanol de <i>Emilia coccinea</i> vis-à-vis de <i>Helicobacter pylori</i>	56
III.2. DISCUSSION.....	58
PARTIE IV : APPROCHE DIDACTIQUE.....	60
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71
ANNEXES	91

ABSTRACT

H. pylori is the only bacterial species recognized by the World Health Organization (WHO) as being carcinogenic for Man. Because of the defect of observance of the patient and mainly to resistance of antibiotics formerly effective against this bacterium, about half of the world population is infected by it, particularly in the developing countries. In parallel, many medicinal plants showed more than one once their properties antimicrobic; nearly 80% of the populations depend on traditional medicine for their care on primary health. Within the framework of the fight against the unceasingly increasing emergence of the resistance of the stocks of *H. pylori*, the principal objective of our work was to potentiate the antimicrobic effect of some usual antibiotics by the extracts of medicinal plants towards ten clinical isolates of *H. pylori* with phenotype multi-drugs-resistant. This by evaluating *in vitro* the anti-*H. pylori* activity of 16 extracts of medicinal plants and 6 usual antibiotics by the method of microdilution in liquid medium initially; then by evaluating *in vitro* the anti-*H. pylori* activity of associations of extracts of plant and antibiotics by the method of the chess-board. Only the methanolic extract of *Emilia coccinea* showed a notable anti-*H. pylori* activity with a value of CMI of 64 µg/ml towards 60% of the clinical isolates used. Contrary to clarithromycin, doxycyclin and ciprofloxacin which presented an anti-*H. pylori* activity very high towards all the clinical isolates (CMI = 0.125 µg/ml), amoxicillin, erythromycin and metronidazole did not present any antimicrobic activity (CMI very high \geq 128 µg/ml). The methanolic extract of *Emilia coccinea* association with amoxicillin presented synergy effects (FIC < 0.0625 and FIC < 0.125), that with the erythromycin presented synergy (FIC = 0.0625) and addition (FIC = 1) effects and that with the metronidazole presented addition effects (FIC = 1). It thus comes out from this study that methanolic extract of *Emilia coccinea* (Asteraceae) would potentiate the antimicrobic effects of amoxicillin, of erythromycin and of metronidazole towards some clinical isolates of *Helicobacter pylori* with phenotype multi-drugs-resistant.

Keys words : *Helicobacter pylori*, *Emilia coccinea* (Asteraceae), antimicrobic activity, synergy effect.

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien
- ARN** : Acide ribonucléique
- BHI** : Broth Hearth Infusion
- cagA** : Cytotoxin Associated Gene A
- cag-PAI** : Complexe de pathogénicité cag (cag PAtrogenicity Island)
- CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- dupA** : duodenal ulcer promoting gene A
- ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- H. pylori*** : *Helicobacter pylori*
- IARC** : International Agency for Research on Cancer (CIRC Centre International de Recherche sur le Cancer)
- IL** : Interleukine
- INT** : *p*-iodonitrotetrazolium Chloride
- IPP** : Inhibiteurs de la Pompe à Proton
- MALT** : Tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue)
- NF-κB** : Nuclear Factor-kappa B (Facteur Nucléaire-kappa B)
- NHPH** : Helicobacters autres que *H. pylori*. (Non-*H. pylori* Helicobacters)
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- PCR** : Polymerase Chain Reaction (Amplification en chaîne par la polymérase)
- PLP** : protéines liant les pénicillines
- RGO** : reflux gastro-œsophagien
- VacA** : Vacuolating Cytotoxin Agent A (Cytotoxine vacuolisante A)
- UFC** : Unité Formant Colonies
- Ø** : Diamètre

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Morphologie de <i>H. pylori</i> en microscopie électronique.....	7
Figure 2 : <i>H. pylori</i> dans le développement des pathologies gastroduodénales	9
Figure 3 : Ulcères visualisés lors d'une endoscopie.	11
Figure 4 : Adénocarcinome gastrique visualisé par endoscopie.....	12
Figure 5 : Lymphome gastrique du MALT.....	13
Figure 6 : Répartition géographique de la prévalence	15
Figure 7 : Culture de <i>H. pylori</i> obtenue après 3 jours d'incubation	22
Figure 8 : Principe du test respiratoire à l'urée marquée au ¹³C.....	23
Figure 9 : Méthode de dilution en milieu liquide.....	33
Figure 10 : Méthode de diffusion en gélose.....	34
Figure 11 : feuilles de <i>Emilia coccinea</i>.....	39
Figure 12 : fleurs et fruits de <i>Emilia coccinea</i>.....	39ii

LISTE DES TABLEAUX

Travaux 1 : Pharmacologie antérieurs de <i>Emilia coccinea</i> au Cameroun.....	41
Tableau 2 : Plantes utilisées.....	44
Tableau 3: Antibiotiques de référence utilisés.....	46
Tableau 4 : Néphélomètre standard de Mc Farland (Hang, 1999).....	47
Tableau 5 : Rendements d'extraction des extraits préparés.....	52
Tableau 6:Concentrations minimales inhibitrices (µg/ml) des extraits de plantes et des antibiotiques de référence vis-à-vis des isolats cliniques de <i>Helicobacter pylori</i>.....	54
Tableau 7 :Concentrations minimales inhibitrices (µg/ml) des antibiotiques vis-à-vis de l'isolat clinique de <i>H. pylori</i> α6 en absence et en présence d'extrait de <i>Emilia coccinea</i>.....	56ii

INTRODUCTION GENERALE

Depuis la découverte en 1982 de l'implication de *Helicobacter pylori* dans l'étiologie des pathologies gastriques par Barry James Marshall et John Robin Warren, il est aujourd'hui clairement établi que toute colonisation de la muqueuse de l'estomac par *H. pylori* entraîne une gastrite pouvant évoluer vers des formes plus sévères de gastrites aiguë et chronique, d'ulcères gastro-duodénaux, de gastrite atrophique, de métaplasie intestinale, de lymphome gastrique du MALT et de cancer gastrique (Correa 1996). *H. pylori* est la seule espèce bactérienne reconnue par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme étant cancérogène pour l'Homme. L'infection est généralement acquise dans l'enfance et perdure pendant des dizaines d'années (Glynn *et al.* 2002). Près de la moitié de la population mondiale en est infectée, particulièrement dans les pays en développement (Brown 2000, Vale & Vitor 2010).

Actuellement le taux de succès d'éradication de l'infection est à son plus bas niveau, notamment en raison du défaut d'observance du patient et principalement de la résistance aux antibiotiques jadis efficaces contre cette bactérie (Courillon-Mallet 2005). Cette problématique de la résistance aux antibiotiques rappelle qu'il est impératif de trouver de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne ou alors pouvant potentialiser l'effet antimicrobien des antibiotiques.

Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour leurs soins de santé primaire (OMS 2002). En Afrique et au Cameroun, l'utilisation des plantes médicinales est très souvent considérée comme une méthode de traitement plus appropriée vers laquelle les populations urbaines et rurales se tournent de plus en plus pour résoudre leurs problèmes de santé (Marshall 1998, Betti 2002).

Les plantes médicinales contiennent un grand nombre de molécules, dont certaines sont capables d'inhiber la croissance bactérienne en agissant sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques ; ce qui leur confère ainsi une activité antimicrobienne et une valeur clinique significative dans le traitement des infections aux souches microbiennes résistantes (Eloff 1998).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la lutte contre l'émergence sans cesse croissante de la résistance des souches de *H. pylori*. L'objectif principal est de potentialiser l'effet antimicrobien de quelques antibiotiques usuels par les extraits de plantes médicinales vis-à-vis de quelques isolats cliniques de *H. pylori* à phénotype multi-drugs-résistants. Plus spécifiquement il est question de :

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

- Evaluer *in vitro* l'activité anti-*H. pylori* de quelques extraits de plantes médicinales camerounaises afin de repérer ceux ayant une activité antimicrobienne ;
- Evaluer *in vitro* l'activité anti-*H. pylori* de quelques antibiotiques utilisés dans les schémas thérapeutiques de cette infection afin de repérer ceux ayant perdu leur activité ;
- Evaluer *in vitro* l'activité anti-*H. pylori* des associations d'extraits de plante a activité anti-*H. pylori* notable et d'antibiotiques a activité réduite afin de dégager le caractère de l'association.

PARTIE I
REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1.GENERALITES SUR *HELICOBACTER PYLORI*

I.1.1. Historique de la découverte de la bactérie

Des travaux récents indiquent que *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) était déjà présent dans l'estomac des *Homo sapiens* il y a environ 58000 ans, avant les grandes migrations de l'homme moderne partant de l'Afrique de l'est vers l'Asie et l'Europe (Linz *et al.* 2007). Les premières descriptions de la présence d'une bactérie hélicoïdale dans des estomacs humains datent de 1906 (Kreinitz 1905). Diverses publications mentionnent ensuite la présence de bactéries dans l'estomac humain à l'examen histologique mais ce n'est qu'en 1982 que deux chercheurs australiens, R. Warren (pathologiste) et B. Marshall (gastroentérologue), réussirent à la cultiver.

En 1979, la bactérie fut redécouverte par deux chercheurs australiens Barry Marshall et Robin Warren de l'hôpital « Royal de Perth ». Cette découverte est liée à une anecdote surprenante (Kidd & Modlin 1998): Le 14 avril 1982, par un heureux hasard, Barry Marshall, un jeune gastro-entérologue en stage dans le service de Robin Warren, est chargé de mettre en culture des biopsies gastriques. Il échoue, après de nombreuses tentatives avortées (34 fois) à faire pousser un micro-organisme pour cause d'incubation trop courte (en respectant les 48 heures de culture du protocole classique). Au 35^{ème} essai, il oublie ses boîtes de culture durant le long week-end de Pâques. Résultat, cinq jours plus tard, *Helicobacter pylori* avait prospéré.

La publication de leur recherche fut d'abord refusée en 1982 par la société Australienne de Gastroentérologie, mais ensuite acceptée lors du 2^{ème} Congrès international sur les infections à *Campylobacter* (2nd International Microbiology Workshop on Campylobacter infections) organisée à Bruxelles la même année. Ils la baptisèrent initialement *Campylobacter-like* organisme (CLO) car ils pensaient que c'était une nouvelle espèce du genre *Campylobacter* (Marshall & Warren 1984). La bactérie fut ensuite appelée *Campylobacter pyloridis* (Marshall *et al.* 1984) suite à la suggestion de Skirrow (Skirrow 1983). Pour des raisons de grammaire latine, elle fut ensuite dénommée *Campylobacter pylori* (Marshall & Goodwin 1987) puis *Helicobacter pyloridis*, et enfin *Helicobacter pylori* aux vues des caractéristiques morphologiques, structurelles et génétiques spécifiques à ce nouveau genre (Marshall & Godwin 1987, Goodwin *et al.* 1989).

Marshall et Warren ont continué leurs travaux en démontrant une forte association entre la présence de *H. pylori* et l'inflammation gastrique des patients souffrant de gastrite et de maladie ulcéreuse peptique (Marshall & Warren 1984). Malgré ces travaux, la communauté

scientifique, réfutait ces observations. B. Marshall procéda alors à une autoingestion d'une solution concentrée de bactérie pour prouver les effets sur son propre estomac et la disparition des symptômes par administration d'un traitement incluant un antibiotique (tinidazole) et des sels de Bismuth, satisfaisant ainsi à 3 des 4 postulats de Koch pour la description d'un nouvel agent infectieux (Marshall *et al.* 1985). Dans la foulée, leurs observations furent confirmées durant cette même période par d'autres études entraînant un autre bouleversement avec la mise en cause de la bactérie dans deux pathologies tumorales graves, l'adénocarcinome gastrique et le lymphome gastrique du MALT, modifiant ainsi leur prise en charge (Steer 1984). C'est ainsi que les antibiotiques firent leur apparition dans le domaine de la pathologie gastro-duodénale. Découverte couronnée en décembre 2005 par l'attribution du Prix Nobel de Médecine et de Physiologie à B. Marshall et R. Warren pour leurs travaux sur *H. pylori*.

I.1.2. Caractéristiques générales

I.1.2.1. Taxonomie actuelle

H. pylori est une bactérie classée dans :

- le règne des Bacteria ;
- le domaine des Eubacteria (Woese&Fox 1977) ;
- la division des Proteobacteria ;
- la classe des Epsilonproteobacteria ;
- l'ordre des Campylobacterales ;
- la famille des Helicobacteriaceae ;
- le genre *Helicobacter* (Goodwin *et al.* 1989) ;
- l'espèce *Helicobacter pylori* (Marshall *et al.* 1985) Goodwin *et al.* 1989.

I.1.2.2. Caractères morphologiques

H. pylori est un bacille gram négatif, spiralé, non sporulé mesurant de 2 à 6 µm de long et 0,5 à 1 µm de large (Goodwin *et al.* 1989), pouvant également exister sous une forme ronde dite coccoïde viable mais non cultivable *in vitro* (Kusters *et al.* 1997). Il se caractérise par la présence de 3 à 5 flagelles unipolaires (figure 1), engainés par une double couche phospholipidique et composé de deux sous-unités structurales distinctes : les flagellines FlaA et FlaB. Cet appareil flagellaire lui confère une parfaite mobilité dans la muqueuse gastrique (O'Toole *et al.* 2000).



Figure 1 : Morphologie de *H. pylori* en microscopie électronique (x 30 000) (GEFH, <http://www.helicobacter.fr>)

I.1.2.3 Caractères cultureux

H. pylori est une bactérie micro-aérophile, sa croissance est optimale dans une atmosphère humide contenant un taux d'O₂ de 2 à 5 % et un taux de CO₂ de 10 % (Mégraud & Lehours 2007). Sa croissance est possible dans une gamme de pH comprise entre 5,5 et 8 et de façon optimale à pH neutre, à température optimale de 37°C et nécessite 2 à 5 jours d'incubation (Kusters *et al.* 2006).

L'isolement et la culture requièrent des milieux de croissance enrichis en sang ou sérum (<http://www.helicobacter.fr/index.php/diagnostic-tests-invasifs/bacteriologie>) tels que :

- La gélose sélective *Helicobacter pylori* de bioMérieux.
- La gélose Colombia/Brucella de Wilkins Chargren, enrichie de 10 % de sang de cheval ou de sang de mouton.

I.1.2.4. Caractères biochimiques et enzymatiques

L'activité enzymatique la plus caractéristique de *H. pylori* est son uréase qui lui permet de résister à l'acidité gastrique, en créant un environnement alcalin par hydrolyse de l'urée en ammoniac et CO₂ (Mégraud *et al.* 1985). L'uréase est une métallo-enzyme sécrétée en quantité abondante par toutes les souches ; elle représente 6 à 10% des protéines exprimées par *H. pylori* (Mobley *et al.* 1988). *H. pylori* possède aussi une catalase (Hazell *et al.* 1991), une oxydase (Maier *et al.* 1996) et une superoxyde dismutase qui décompose les ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et oxygène (Mégraud & Lehours 2007). La bactérie synthétise également une gamma glutamyl transférase, une leucine aminopeptidase et une phosphatase alcaline (Mégraud *et al.* 1985).

I.1.2.5. Caractéristiques génotypiques et diversité génétique

Le génome complet (souche *H. pylori* 26695) a été séquencé pour la première fois en 1997 chez un patient anglais présentant une gastrique chronique (Tomb *et al.* 1997), suivi peu après du génome de la souche J99 chez un patient américain souffrant d'ulcère duodénal (Alm *et al.* 1999) ; d'autres séquençages ont été réalisées sur des souches d'origines pathologiques et géographiques diverses et ont permis, en étudiant le gène de virulence, d'apporter de nombreux éléments sur l'explication du caractère plus ou moins pathogène de la bactérie (de Korwin & Lehours 2010).

Le génome se compose d'un seul chromosome circulaire de petite taille, 1,6 Mbp (De Reuse & Bereswill 2007), avec une proportion de Guanine + Cytosine (GC %) comprise entre 35 et 40 % (Krusters *et al.* 2006). Une partie du génome essentielle à la physiologie de la bactérie, est commune à l'ensemble des souches et comprend environ 1200 gènes (Gressmann *et al.* 2005).

La comparaison génomique des différentes souches séquencées a révélé une grande variation au niveau de séquences nucléotidiques de gènes particuliers. Des différences génomiques ont été aussi observées entre les souches provenant des zones géographiques différentes (Linz *et al.* 2007).

Les gènes concernés par cette diversité génétique sont particulièrement impliqués dans la virulence de la bactérie, expliquant ainsi, en partie, la grande variabilité du pouvoir pathogène de *H. pylori* (Blaser & Berg 2001). La bactérie est donc génétiquement très hétérogène capable de s'adapter parfaitement à son environnement et ce, grâce à des taux de mutations et de recombinaisons élevés (Falush *et al.* 2001). Chaque souche possède des séquences uniques (Gressmann *et al.* 2005).

I.1.2.6. Autres espèces du genre *Helicobacter*

A ce jour, on dénombre une quarantaine d'*Helicobacters* autres que *H. pylori* (NHPH = Non- *H. pylori* *Helicobacters*). Certaines espèces ont un tropisme gastrique, cependant la majorité est constituée d'espèces entéro-hépatiques.

➤ Espèces gastriques :

Des NHPH avec une morphologie spiralée ont été détectés chez de très rares patients (< 0,5%) ayant subi une endoscopie (Holck *et al.* 1997). Initialement tous regroupés sous le vocable *H.*

heilmannii, le séquençage a permis de caractériser 5 principales espèces que l'on retrouve aussi au niveau de l'estomac des animaux (Haesebrouck *et al.* 2009) :

- *H. suis*, espèce la plus fréquente chez l'homme, isolée pour la 1ère fois par une équipe vétérinaire belge à partir de l'estomac d'un porc ;
- *H. felis*, retrouvé chez les chats, les chiens. L'homme serait un hôte occasionnel ;
- *H. bizzozeronii*, cultivé pour la 1ère fois en 1996 et identifié comme tel, quelques années plus tard ;
- *H. salomonis*, isolé également dans l'estomac des chiens ;
- '*Candidatus Helicobacter heilmannii*', en cours de reconnaissance.

➤ Espèces entéro-hépatiques :

Elles sont retrouvées dans le tractus intestinal et le foie des mammifères et des oiseaux. Elles peuvent occasionner des inflammations ou des affections malignes chez des individus présentant un déficit immunitaire. Les principales espèces retrouvées chez l'homme sont : *H. canadensis*, *H. canis*, *H. cinaedi*, *H. fennelliae*, *H. pullorum*, *H. rappini* et *H. winghamensis* (Laharie *et al.* 2009).

I.1.3. *H. pylori* et pathologies gastro-duodénales

L'infection par *H. pylori* provoque systématiquement une gastrite aiguë majoritairement asymptomatique mais pouvant évoluer vers des pathologies plus sévères telles que les ulcères gastriques et duodénaux (10 à 20 %), le cancer gastrique (1 à 2 %) et le lymphome du MALT.

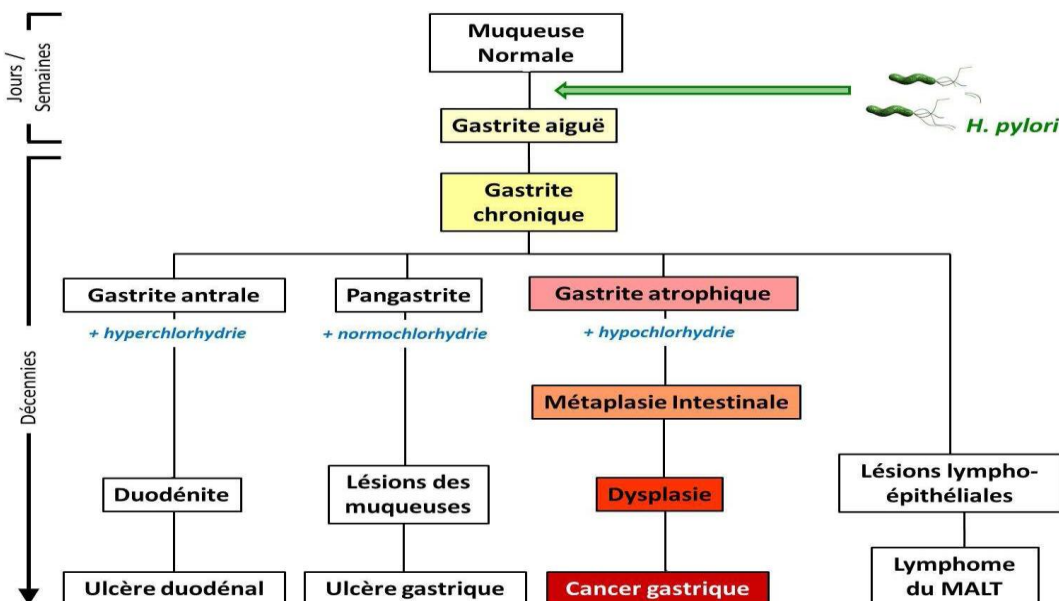


Figure 2 : *H. pylori* dans le développement des pathologies gastroduodénales (Correa 1996)

I.1.3.1. *H. pylori* et gastrites aiguë et chronique

La gastrite est la lésion élémentaire et le point clé dans la pathogénie liée à *H. pylori*. L'infection par *H. pylori* induit une infiltration massive de polynucléaires neutrophiles au niveau de la muqueuse gastrique. La phagocytose des bactéries provoque la libération de substances toxiques induisant des lésions (Graham *et al.* 2004). Cet état inflammatoire ainsi que la persistance de la bactérie sont des étapes clés dans le passage de la gastrite aiguë vers une gastrite chronique (Kusters *et al.* 2006). A ce stade, une forte corrélation existe entre le niveau de sécrétion d'acide, la distribution de la gastrite et l'évolution vers l'ulcère ou le cancer (Kusters *et al.* 2006). La gastrite touchant l'ensemble de l'estomac est généralement associée à une hypochlorhydrie pouvant évoluer vers une atrophie puis un cancer gastrique (Atherton 2006). La gastrite chronique va évoluer en fonction de la localisation de l'infection (Uemera *et al.* 2001). Le degré d'acidité influence par la suite l'évolution vers des lésions néoplasiques ou vers la maladie ulcéreuse gastrique ou duodénale telles que l'ulcère gastro-duodéal (Marshall *et al.* 1984), le cancer gastrique (Correa *et al.* 1975) ou le lymphome du MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) à faible degré de malignité (Wotherspoon *et al.* 1991).

I.1.3.2. *H. pylori* et ulcères gastro-duodénaux

La maladie ulcéreuse gastro-duodénale résulte d'un déséquilibre, en un point précis de la muqueuse gastrique, entre les facteurs d'agression (sécrétion acide, prise d'anti-inflammatoires, tabac) et les facteurs de défense et de réparation (mucus). Le lien entre *H. pylori* et la maladie ulcéreuse peptique a été clairement établi (Marshall *et al.* 1984).

Histologiquement, les ulcères gastriques et duodénaux se caractérisent par des lésions d'au moins 0,5 cm de diamètre, sous forme arrondie et profondes, à bords nets et recouvertes d'une fausse membrane jaunâtre avec perte de substance localisée (Bouarioua *et al.* 2007). Ces deux types d'ulcères sont fortement associés à *H. pylori* et se développent dans les sites où l'inflammation est la plus sévère (Kusters *et al.* 2006).

➤ **L'ulcère gastrique** est localisé vers l'antra, plus précisément dans la région de transition entre le corps de l'estomac et l'antra. L'ulcère gastrique résulte d'une pangastrite associée à une normochlorhydrie ou une hypochlorhydrie (Atherton 2006).

➤ **L'ulcère duodéal** est localisé au niveau du bulbe duodéal le plus exposé à l'acidité gastrique. La gastrite à prédominance antrale associée à une hyperchlorhydrie entraîne le

développement de l'ulcère duodénal (Atherton 2006). Les patients atteints d'ulcère duodénal présentent des scores d'inflammation très élevés, des niveaux élevés de gastrine et d'acidité (el-Omar *et al.* 1995).

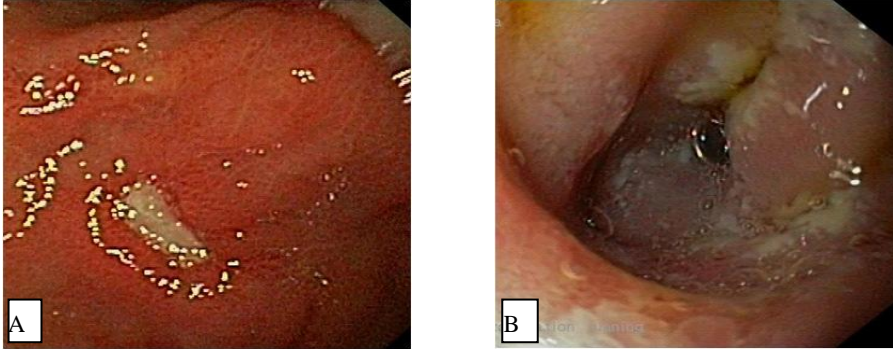


Figure 3 : Ulcères visualisés lors d'une endoscopie. (GEFH, <http://www.helicobacter.fr>)

A. Ulcère gastrique pré-pylorique

B. Multiples ulcères bulbaires

I.1.3.3. *H. pylori* et gastrite atrophique et métaplasie intestinale

L'inflammation chronique induite par *H. 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. Cet état de gastrite atrophique et métaplasie intestinale a lieu chez 50 % des patients infectés par *H. pylori* (Kuipers *et al.* 1995b). Les patients chez qui la production d'acide est diminuée montrent une progression plus rapide vers l'atrophie (Kuipers *et al.* 1996). Les régions de métaplasie intestinale s'amplifient au cours du temps et augmentent considérablement le risque de cancer gastrique en fonction de la sévérité de l'atrophie (El-Omar *et al.* 1997).

I.1.3.4. *H. pylori* et cancer gastrique

A l'échelle planétaire, l'adénocarcinome gastrique est le quatrième cancer par sa fréquence et le deuxième par sa mortalité (Yaghoobi *et al.* 2010). Son incidence varie en fonction des pays ; plus de 70 % des cas surviennent dans les pays en développement dont la moitié en Asie de l'est (Globocan 2012).

La 1ère étude démontrant l'implication de *H. pylori* dans l'adénocarcinome gastrique (3,6 fois plus de risque chez les sujets infectés) remonte à 1991 (Parsonnet *et al.* 1991). Par la suite, de nombreuses études prospectives ont été réalisées dans le monde, confirmant la

potentialisation du risque de cancer gastrique en cas d'infection par *H. pylori*. La conséquence logique de toutes ces études a été le classement de *H. pylori* parmi les carcinogènes de classe I, en 1994 par l'Agence International de Recherche sur le Cancer (IARC 1994). A ce jour, *H. pylori* reste l'unique infection bactérienne associée au développement de cancer chez l'homme (environ 80 % de cas de cancers de l'estomac) (INCa 2014).

Histologiquement, l'adénocarcinome gastrique, induit par *H. pylori* débute par une lésion pré-cancéreuse représentée par une gastrite chronique inflammatoire. Il peut se présenter sous deux formes (Polk & Peek 2010) :

➤ L'adénocarcinome de type diffus avec apparition rapide du cancer. Il serait secondaire aux altérations chromosomiques induites par le stress oxydatif en réponse à une réaction inflammatoire liée à l'infection à *H. pylori* ;

➤ L'adénocarcinome de type intestinal plus fréquent, avec apparition du cancer après plusieurs dizaines d'années d'altération des cellules épithéliales gastriques. Il est issu d'un long processus de carcinogénèse appelé « cascade de Correa » (Correa *et al.* 1975). Cette cascade histologique comprend plusieurs étapes. Elle débute par une gastrite chronique superficielle non atrophique qui évolue progressivement vers une atrophie gastrique (50 % des cas) (réduction du nombre des glandes gastriques). Elle est suivie d'une métaplasie intestinale (40 %), se caractérisant par le remplacement des cellules épithéliales gastriques par des cellules de type intestinal. Enfin, une dysplasie apparaît (8%) (modification de la morphologie des cellules) avant la survenue du cancer gastrique (< 5%) (Correa & Piazzolo 2012) (Figure 4).



Figure 4 : Adénocarcinome gastrique visualisé par endoscopie. (GEFH, <http://www.helicobacter.fr>)

I.1.3.5. *H. pylori* et 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 & de Vries 2008). L'association entre le lymphome gastrique du MALT et la présence de *H. pylori* a été évoquée dans les années 90 (Parsonnet *et al.* 1994). Elle est aujourd'hui bien établie puisqu'environ 90 % des sujets malades sont porteurs de la bactérie (Kusters *et al.* 2006).

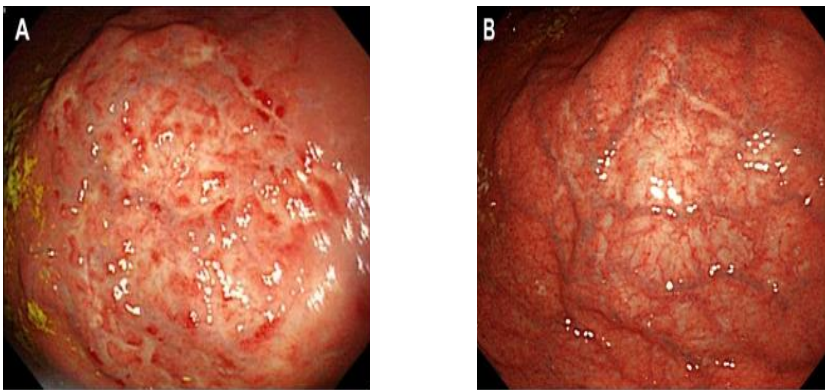


Figure 5 : Lymphome gastrique du MALT, visualisé par endoscopie (Suzuki *et al.* 2009)

(A) Endoscopie réalisée 1 mois après éradication de *H. pylori*.

(B) Endoscopie réalisée 22 mois après éradication.

I.1.4. Réservoirs

I.1.4.1. Réservoir humain

L'Homme est le principal réservoir de *H. pylori* et l'estomac son habitat majoritaire (Cover & Blaser 2009). En dehors de la muqueuse gastrique, *H. pylori* a pu être détecté dans la salive, les selles (Momtaz *et al.* 2012) et la plaque dentaire (Al Sayed *et al.* 2014) par des méthodes de Polymerase Chain Reaction (PCR). Ces réservoirs extra-gastriques sont transitoires et seraient impliqués dans la transmission de la bactérie. De plus, la présence de *H. pylori* dans la plaque dentaire pourrait expliquer la ré-infection chez certains sujets (Al Sayed *et al.* 2014).

I.1.4.2 Réservoir animal

H. pylori a été détecté dans l'estomac de quelques primates non humains (singes). Cependant, ces réservoirs restent très négligeables comparativement à l'Homme (Fox 1995, Handt *et al.* 1997). Ils ne peuvent être incriminés dans la transmission de la bactérie en raison

du contact insignifiant entre les humains et les singes. Par ailleurs il est aujourd'hui établi que les *Helicobacter* rencontrés dans l'estomac de certains animaux sont spécifiques de leur hôte (Solnick & Shauer 2001).

I.1.4.3. Réservoir environnemental

Plusieurs études, réalisées principalement dans les pays en développement, suggèrent l'existence de réservoirs environnementaux (aliments et sources d'eau) (Khalifa *et al.* 2010). De l'ADN appartenant à *H. pylori* a bien été retrouvé dans l'eau, au sein de biofilms des aliments par des techniques moléculaires (Azevedo *et al.* 2009).

I.1.5. Epidémiologie

I.1.5.1. Incidence de l'infection

Le taux d'acquisition d'une nouvelle infection à *H. pylori* dans les pays en développement est de 1 à 2 % par année (Frenck & Clemens J. 2003). Dans les pays développés, il est de l'ordre de 0,2 à 1 % (Brown 2000); néanmoins il peut être plus élevé lorsque les contacts sont rapprochés entre les personnes. Par exemple, l'incidence peut être de 5 % chez les personnes travaillant dans un institut de soins (Triantafillidis *et al.* 2002), de 2 à 4 % chez des sujets s'occupant des handicapés mentaux (De Schryver *et al.* 2008). Un taux d'acquisition de 30 % en 9 mois a même été décrit pour des jeunes recrues (19-23 ans) de l'armée Hongroise (Fürész *et al.* 2004).

I.1.5.2. Prévalence de l'infection

A l'échelle mondiale la prévalence à *H. pylori* est supérieure à 50% (Brown 2000). Elle dépend du taux d'acquisition, de la clearance de l'infection et de la durée entre les 2 étapes précédentes. La prévalence de l'infection varie d'un pays à l'autre et même au sein d'un même pays, en fonction de plusieurs facteurs, entre autres, l'âge, le statut socio-économique, les appartenances ethniques et les relations interfamiliales (Mitchell *et al.* 1992a, Malaty *et al.* 1999, Brown 2000, Miendje Deyi *et al.* 2011).

I.1.5.3. Facteurs de risques

Entre autres facteurs nous avons :

- L'influence du pays.

Comme l'illustre la figure 6 ci-dessous, la prévalence de l'infection est plus élevée dans les pays en développement (Vale & Vitor 2010).

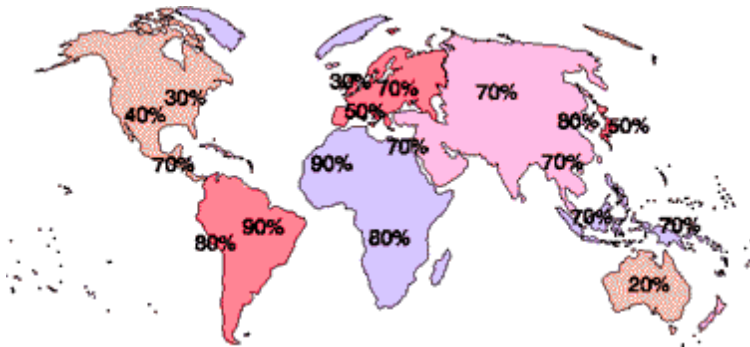


Figure 6 : Répartition géographique de la prévalence (% de la population infectée) de l'infection à *H. pylori* dans le monde (http://www.helicobacter.com/h_epidemiology.html)

➤ L'influence de l'âge.

L'infection à *H. pylori* survient essentiellement pendant l'enfance (Glynn *et al.* 2002). Les études montrent qu'elle s'acquiert à un âge souvent inférieur à 5 ans (Salih 2009). Elle est de 3 à 10 % par an dans les pays en voie de développement et de 1 % par an dans les pays industrialisés (Ernst & Gold 2000). La prévalence augmente avec l'âge. Chez l'adulte, elle atteint souvent 80 à 90 % (Mitchell *et al.* 1992a). La majorité des sujets se contamine durant l'enfance et le reste toute la vie.

➤ L'influence du statut social.

La prévalence de l'infection est nettement plus élevée dans les populations défavorisées (Malaty *et al.* 1996, Brown 2000).

➤ L'influence du cadre de vie.

D'une façon générale, le risque d'infection est accru lorsque plusieurs personnes sont en contact étroit, que ce soit en famille (Malaty *et al.* 1996), en maison de soins (Malaty *et al.* 1996), en institut psychiatrique (De Hert *et al.* 1997), en centres pour handicapés mentaux ou moteurs (Kitchens *et al.* 2007), en institut pour enfants dyslexiques (Harris *et al.* 1995), en camp militaire (Fürész *et al.* 2004), ou chez les sous-marinières et marins (Jackman *et al.* 2006).

➤ L'influence de la profession.

Le travail de groupe est également un facteur de risque d'acquisition de l'infection (Triantafyllidis *et al.* 2002). On a révélé des proportions de personnes infectées beaucoup plus

élevées chez certains professionnels de santé : le personnel de gastro-entérologie (Velasco Elizalde *et al.* 2007), les infirmières (Triantafillidis *et al.* 2002), les ambulanciers (Birkenfeld *et al.* 2004), les chirurgiens (Upile *et al.* 2002) et les personnes travaillant dans des centres pour handicapés (De Schryver *et al.* 2008). En ce qui concerne les dentistes, les données sont contradictoires : soit la prévalence est comparable à celle de la population générale, soit elle est plus élevée (Matsuda *et al.* 2005).

➤ L'influence du sexe.

L'influence du sexe sur la prévalence de l'infection est controversée. Néanmoins il ressort d'une méta-analyse que la prévalence serait plus élevée chez les adultes de sexe masculin (de Martel & Parsonnet 2006).

➤ L'influence du poids.

Une corrélation positive a été mise en évidence avec l'index de poids corporel des patients (Arslan *et al.* 2009). Cette association ne fait pas l'unanimité (Ioannou *et al.* 2005). Il est plus communément admis que l'infection à *H. pylori* pourrait prévenir l'obésité et d'autres troubles du métabolisme (Cover *et al.* 2009). En effet, l'éradication de *H. pylori* est parfois suivie conjointement d'une prise de poids (Weigt *et al.* 2009).

➤ L'influence des facteurs héréditaires.

Elle a été mise en évidence par une étude originale de Malaty et ses collègues effectuée sur les jumeaux suédois monozygotes et dizygotes. Le taux de concordance de l'infection à *H. pylori* était plus élevé dans les paires de jumeaux monozygotes (81%) que dans les paires de jumeaux dizygotes (63%) ($P = 0,001$), qu'ils soient élevés séparément ou non (Malaty *et al.* 1994).

➤ L'influence de l'ethnie.

Dans une étude comparant des enfants blancs et noirs vivant dans un même pays et ayant un statut socio-économique équivalent, Malaty et ses collègues ont observé un taux d'acquisition 4 fois plus élevé dans la communauté noire. Par ailleurs, lors des 12 années de suivi, une clearance sans traitement de l'infection a été observée, de 4 % chez les noirs et 50 % chez les blancs (Malaty *et al.* 1999).

➤ L'influence du temps.

Globalement, on assiste à une diminution de la prévalence au cours du temps (Miendje Deyi *et al.* 2011). L'acquisition de *H. pylori* diminue dans les pays développés à un rythme plus rapide que dans les pays en développement, probablement attribuable à l'amélioration plus

rapide des pratiques d'hygiène dans les pays développés et à la plus grande accessibilité aux antibiotiques (Brown 2000).

I.1.5.4. Transmission de l'infection

Le mode de transmission de *H. pylori* est l'un des domaines les plus controversés dans l'étude de cet agent pathogène. A ce jour, en plus de l'estomac humain, l'isolation de *H. pylori* à partir des selles (Haggerty *et al.* 2003), du vomi (Parsonnet *et al.* 1999) ou de l'eau contaminée (Lu *et al.* 2002) a pu être effectuée dans de très rares cas. Par conséquent le mécanisme par lequel il colonise l'estomac humain reste assez méconnu. Cependant l'accent est porté sur la contamination interhumaine par contact direct selon des modalités variables : oro-orale, féco-orale et gastro-orale (Brown 2000, Mégraud 2003a). La contamination indirecte par les sources d'eau et les aliments est aussi évoquée ainsi que, très rarement, une voie iatrogénique durant les endoscopies.

I.1.5.4.1. Transmission interhumaine

Elle est facilitée par l'immaturation de la muqueuse gastrique qui favorise l'implantation de la bactérie et par certains facteurs influençant la contamination ; notamment l'hygiène, les gastro-entérites, les contacts rapprochés et les logements surpeuplés (Brown 2000). La voie intrafamiliale est prédominante (Schwarz *et al.* 2008) : des parents aux enfants, au sein des fratries et entre conjoints (Mégraud 2003a). Le rôle de la mère semble prédominant dans la transmission à la descendance (Vale & Vitor 2010).

I.1.5.4.2. Transmission oro-orale

L'acquisition de l'infection à *H. pylori* chez des singes rhésus socialisés est plus compatible avec la transmission oro-orale (Solnick *et al.* 2006). Ce mode de transmission peut être potentialisé par les habitudes alimentaires spécifiques, tels que la pré-mastication des aliments par la mère avant l'alimentation des enfants dans certains pays africains (Azevedo *et al.* 2009), ainsi que l'utilisation de baguettes et de repas en commun dans certaines communautés d'immigrants chinois (Lambert *et al.* 1995). Il est aussi observé au sein des couples dont l'un des conjoints est infecté (Brenner *et al.* 1999). Cette hypothèse oro-orale est confortée par la similitude de ces souches avec celles de la muqueuse gastrique (Cellini *et al.* 1995).

I.1.5.4.3. Transmission gastro-orale

Cette hypothèse est étayée par plusieurs études qui stipulent que *H. pylori* a été détecté dans le suc gastrique (Leung *et al.*1999b), dans le liquide gastrique contaminé, lors de vomissements ou de reflux gastro-œsophagien (RGO) (Mégraud 2003a), et aussi dans des échantillons d'air pendant le processus de vomissement (Parsonnet *et al.*1999). En outre, un taux élevé d'infection active à *H. pylori* a été détecté dans la fratrie des enfants infectés présentant des épisodes de vomissements (Perry *et al.*2006). L'hypothèse gastro-orale explique aussi l'observation d'une plus forte prévalence de l'infection à *H. pylori* chez les gastro-entérologues effectuant des endoscopies (Velasco Elizalde *et al.*2007), ainsi que chez les chirurgiens exposés aux sécrétions/aérosolisations oro-gastriques (Upile *et al.*2002).

I.1.5.4.4. Transmission féco-orale

En fonction des études, l'ADN de *H. pylori* a été détecté dans les selles de 10 à 90% des patients infectés (Namavar *et al.* 1995). Un cas isolé de colonisation rectale dont la symptomatologie a disparu avec l'éradication de *H. pylori* a été décrit en 1990 (Dye *et al.* 1990). En principe *H. pylori* ne survit que très rarement au passage intestinal en raison du changement de pH et de l'effet bactéricide des sels biliaires (Azevedo *et al.* 2007) ; Ainsi, les rares cas d'isolement de souches viables (Haggerty *et al.* 2003) semblent être reliés à une accélération du transit intestinal (Parsonnet *et al.* 1999) qui faciliterait alors ce mode de transmission.

I.1.5.4.5. Transmission indirecte

L'homme pourrait aussi s'infecter indirectement via l'alimentation, les eaux non traitées, les animaux; cependant, il n'est pas encore prouvé que ce soient des véhicules naturels ou primaires de la transmission (Vale & Vítor 2010).

➤ Alimentation : une corrélation positive a été décrite entre la prévalence de l'infection et la consommation de certaines denrées alimentaires provenant des vendeurs de rue au Pérou (Begue *et al.* 1998). De même, la consommation fréquente de légumes crus (probablement contaminés par les selles humaines) a été associée à une plus forte prévalence de l'infection au Chili (Hopkins *et al.* 1993) et en Colombie (Goodman *et al.* 1996). *H. pylori* a en outre été détecté dans le lait de vache et de mouton (Fujimura *et al.* 2002).

➤ Animaux : de nombreuses études mettent en exergue le rôle de réservoir de *H. pylori* des animaux, notamment les singes, les chats, le mouton, les cafards, et peut être même les mouches (Brown 2000). Néanmoins, à ce jour, aucune preuve de transmission par les animaux n'a été objectivée.

➤ Eau : les eaux d'égouts sont largement incriminées dans la littérature comme vecteurs de l'infection à *H. pylori*, et ce, particulièrement dans les pays en développement (Hopkins et al. 1993). *H. pylori* a aussi été détecté dans des eaux plus saines : eau courante (Goodman et al. 1996), eau de source (Horiuchi et al. 2001) et eau municipale (Lu et al. 2002).

I.1.5.4.6. Transmission iatrogénique

Cette voie concerne essentiellement les gastro-entérologues qui ont un risque plus élevé d'infection à *H. pylori* lors des endoscopies (Peters et al. 2011), ainsi que les infirmiers manipulant les sondes gastriques et chez les patients par le biais des appareillages médicaux (endoscopie, instruments d'hygiène dentaire) mal désinfectés.

I.1.6. Diagnostic de l'infection à *H. pylori*

De nombreuses techniques sont disponibles, elles se répartissent selon deux approches : les méthodes directes ou invasives, effectuées sur biopsies gastriques obtenues par voie endoscopique ; et les méthodes indirectes ou non invasives ne nécessitant pas de gastroscopie (Mégraud 2010).

I.1.6.1. Diagnostic par des méthodes invasives

Il est déconseillé de procéder au diagnostic d'une infection à *H. pylori* à partir de matériels biologiques obtenus suite à une endoscopie lorsque le patient prend des antibiotiques ou des anti-sécrétoires (les IPP en particulier). La recommandation générale est d'éviter ces médicaments au minimum les 2 semaines précédant l'endoscopie (Jonkers et al. 1997a).

I.1.6.1.1. Examen anatomopathologique (histologie)

Historiquement, le diagnostic initial d'une infection par *H. pylori* était effectué par une analyse histologique (Marshall & Warren 1984). Cette méthode diagnostique reste l'une des plus couramment utilisées en raison de sa disponibilité, de sa réalisation aisée dans les

laboratoires et de sa fiabilité (de Korwin 2003). Elle permet conjointement le dépistage de la gastrite et la recherche de complications, telles qu'inflammation, atrophie, métaplasie intestinale, dysplasie, lymphome ou cancer ; atout non négligeable pour la prévention du cancer gastrique (Mégraud 2010). La sensibilité augmentant avec le nombre de biopsies, il est conseillé de prélever 2 biopsies de l'antra et 2 au niveau du fundus (Bayerdorffer 1989). Après coloration des coupes de biopsies, *H. pylori* apparaît sous forme de bactéries incurvées à la surface de l'épithélium de la muqueuse.

Les principales limites de l'histologie sont la nécessité d'avoir de bons prélèvements pouvant mettre en évidence les surfaces épithéliales, et d'autre part, le manque de sensibilité. De nombreuses études révèlent que la qualité de l'examen dépend en effet de l'expertise de l'anatomo-pathologiste (Jonkers *et al.* 1997b). La sensibilité et la spécificité de l'examen peuvent être améliorées par immuno-histochimie (Jonkers *et al.* 1997b).

I.1.6.1.2. Test rapide à l'uréase

Utilisé pour la première fois en 1985 (McNulty *et al.* 1985), ce test est basé sur la puissante activité uréasique produite par *H. pylori*. La biopsie gastrique est placée dans un milieu contenant de l'urée, suite à la production d'ammonium associée à l'activité de l'uréase bactérienne, un changement de pH est mis en évidence par le virage colorimétrique d'un indicateur de pH (de Korwin 2003).

Les gros avantages sont : sa simplicité, son faible coût et sa facilité d'exécution. Il s'effectue facilement dans une salle d'endoscopie. Lors d'un premier dépistage et en dehors de tout traitement, la positivité de ce test peut être suffisante pour démarrer le traitement (Malfertheiner *et al.* 2007).

I.1.6.1.3. Culture de *H. pylori*

➤ Collection et transport des échantillons.

Vu la distribution inégale de *H. pylori* au niveau de l'estomac, plus le nombre d'échantillons sera élevé, plus grandes seront les chances de détection de *H. pylori* (Bayerdorffer *et al.* 1989). Il est souhaitable d'avoir au minimum un échantillon de l'antra et un du fundus.

La collecte à partir du suc gastrique s'est avérée moins sensible que l'endoscopie (Perez-Trallero *et al.* 1995). Plus prometteuse est l'usage d'une brosse oro-gastrique extensible ; elle permet de « brosser » la muqueuse gastrique, ramenant ainsi plus de matériel bactérien

(Graham *et al.* 2005). De rares cas de bactériémies avec isolement de *H. pylori* ont été décrits (Ndawula *et al.* 1994). Des isollements de *H. pylori* à partir des selles (Haggerty *et al.* 2003), de vomi (Parsonnet *et al.* 1999) et de tissu hépatique (de Magalhães Queiroz & Santos 2001) ont pu être effectués dans de très rares cas.

Généralement, les biopsies sont transportées dans une gélose semi-solide. Elles peuvent être conservées réfrigérées pendant 24h. Au-delà, il est préférable de les congeler à -70°C ou dans de l'azote liquide (Heep *et al.* 1999).

➤ **Ensemencement.**

La biopsie broyée est ensemencée sur des milieux gélosés frais conservés dans des boîtes fermées à 4°C pour maintenir l'humidité et éviter l'exposition à la lumière. La plupart de milieux gélosés (Columbia, Wilkins- Chalgren,...) peuvent être utilisés, néanmoins l'ajout de sang ou de sérum (5 à 10%) est indispensable pour la croissance de *H. pylori*.

Les principaux antimicrobiens utilisés pour rendre les milieux sélectifs sont la vancomycine ou la teicoplanine pour inhiber les cocci à Gram positif ; la polymyxine, l'acide nalidixique, la colistine, le triméthoprime ou la cefsulodine pour inhiber les bacilles à Gram négatif, et enfin de la nystatine ou l'amphotéricine B pour inhiber les champignons (Mégraud & Lehours 2007).

➤ **Incubation.**

Les boîtes sont incubées, en milieu humide, en atmosphère microaérobie (5 à 6 % d'O₂, 8 à 10 % de CO₂ et 80 à 85 % de N₂). La température optimale de croissance est de 37°C. Certaines souches peuvent néanmoins se développer à 30°C ou 42°C (Mégraud *et al.* 1985). La durée d'incubation est de 3 à 10 jours (moyenne de 7 jours) pour une primo-culture. La subculture (repiquage) est obtenue plus facilement après 48 à 72h. Cependant, il faut éviter d'aller au-delà de 3 jours car une fois que le plateau de croissance est atteint, les bactéries deviennent coccoïdes et par conséquent non viables, probablement dû à un manque de nutriments adéquats (Kusters *et al.* 1997).

➤ **Examen des cultures.**

L'aspect macroscopique obtenu sur milieux sélectifs est assez présomptif de *H. pylori* (Figure 7). On observe de petites colonies (de l'ordre de 1 mm de diamètre) translucides, non pigmentées. L'identification est confirmée par un examen microscopique et par des tests enzymatiques caractéristiques de la bactérie : catalase, cytochrome oxydase et uréase (Mégraud *et al.* 1985).

La culture est considérée comme étant la méthode de référence. Elle a le gros avantage de permettre, après antibiogramme, d'adapter le traitement antibiotique à la sensibilité de la souche isolée. Différentes méthodes ont été proposées à cet effet. Les plus utilisées sont la méthode de diffusion à partir de disques et la détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) par l'usage des epsilomètres (Mégraud & Lehours 2007).



Figure 7 : Culture de *H. pylori* obtenue après 3 jours d'incubation (GEFH, <http://www.helicobacter.fr>)

I.1.6.1.4. Amplification génétique

L'amplification génétique par PCR (Polymerase Chain Reaction) est une technique moléculaire permettant de détecter l'acide désoxyribonucléique (ADN) de *H. pylori*. Elle peut être réalisée sur différents supports : biopsie fraîche, liquide gastrique, selles, urines, salive, plaque dentaire (Rimbara *et al.* 2013). Elle a une excellente sensibilité et spécificité, pour le diagnostic de l'infection, supérieures à celle de l'histologie (Tankovic *et al.* 2007) et donne un résultat rapide en deux trois heures. C'est une alternative à la culture avec antibiogramme et présente l'avantage d'être une méthode rapide réalisable même sur les bactéries non viables. La PCR est aussi utilisée pour détecter les principales mutations en cause dans la résistance et rechercher des gènes de virulence tels que *cagA* ou *vacA* (Cambau *et al.* 2009).

Les gros inconvénients, limitant l'usage de la PCR classique pour le diagnostic de l'infection à *H. pylori*, sont les risques de contamination et l'absence de standardisation.

I.1.6.2. Diagnostic par des méthodes non-invasives

I.1.6.2.1. Sérologie

C'est une méthode simple, peu coûteuse et très accessible qui consiste en la recherche des anticorps anti-*H. pylori* (IgG) dans le sang. Contrairement aux autres tests, les résultats ne sont pas influencés par l'hémorragie, la prise médicamenteuse ou la densité bactérienne. La persistance, parfois prolongée, des anticorps dirigés contre *H. pylori*, ne permet pas de distinguer une infection encore active d'une infection asymptomatique. La sensibilité et la spécificité varient de 71 à 95%, selon les kits commercialisés (Mégraud & Lehours, 2007). Au laboratoire, la méthode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est la plus utilisée pour détecter les IgG (Nahon *et al.* 2008).

I.1.6.2.2. Test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C

Le test respiratoire fut le tout 1er des tests non-invasifs (Graham *et al.* 1987). Il consiste à faire absorber au patient de l'urée marquée au ^{13}C puis à rechercher cet isotope dans le CO_2 expiré. Si le patient est infecté, l'urée est métabolisée par *H. pylori* et le ^{13}C expiré peut être détecté et quantifié (Mégraud 2010). Ce test, incontestablement le plus sensible (98%), présente l'avantage de rechercher la présence de la bactérie dans la totalité de l'estomac. Il est recommandé pour le contrôle d'éradication 4 semaines après l'arrêt d'un traitement (Malfertheiner *et al.* 2007).

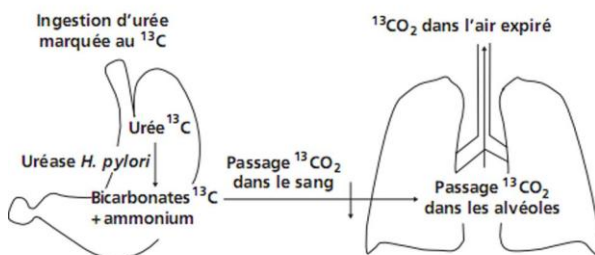


Figure 8 : Principe du test respiratoire à l'urée marquée au ^{13}C

(http://umvf.univnantes.fr/hepato-gastro-enterologie/enseignement/item290/site/html/1_14_1.html)

I.1.6.2.3. Recherche d'antigène dans les selles

Basée sur l'élimination de *H. pylori* par les selles, cette méthode de diagnostic a été proposée en 1998 (Makristathis *et al.* 1998). La recherche d'antigène spécifique de *H. pylori*

s'effectue sur selles fraîches ou conservées à basse température ou même congelées à -70°C . Différents kits sont proposés à cet effet ; ceux utilisant les anticorps monoclonaux (méthode ELISA, immuno-chromatographie) offrent de meilleurs résultats (Blanco *et al.* 2008). En pratique, ce test peut servir au diagnostic primaire de l'infection mais s'avère surtout utile pour le contrôle de l'efficacité du traitement d'éradication. Assez pratique en pédiatrie, il pourrait être utilisé comme alternative au test respiratoire pour le contrôle d'éradication (Malfertheiner *et al.* 2007).

I.1.7. Traitement de l'infection à *H. pylori*

Suite à la reconnaissance de *H. pylori* comme agent étiologique des maladies gastroduodénales, un grand espoir est né de pouvoir guérir ses maladies avec des traitements antibiotiques. Toutefois, on est actuellement confronté à un risque d'échec dû à l'augmentation des résistances. Les caractéristiques optimales d'une molécule anti-*H. pylori* sont (Vakil & Mégraud 2007) :

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

I.1.7.1. Les antibactériens usuels

En 1942, Waksman a défini l'antibiotique comme étant toute substance produite par des micro-organismes et capable, à faible concentration, d'empêcher la croissance d'autres micro-organismes ou de les détruire (Legba 1989). Les antibiotiques agissent par (Jehl F *et al.* 2003) :

- inhibition de la synthèse du peptidoglycane ;
- inhibition de la synthèse protéique ;
- inhibition de la synthèse des acides nucléiques ;
- inhibition de la synthèse des folates ;
- altération des membranes.

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

I.1.7.1.1. Métronidazole

Le métronidazole appartient à la famille des 5-nitroimidazolés. Il s'agit de dérivés semi-synthétiques de l'azomycine produite par les *Streptomyces*. C'est une prodrogue. Pour être actif, le NO₂ du nitro-imidazole doit être réduit à l'intérieur de la bactérie notamment par des nitroréductases. Les radicaux générés provoquent des mutations de l'ADN bactérien conduisant à la mort de la bactérie (Podie 1999).

I.1.7.1.2. Clarithromycine

La clarithromycine tout comme l'érythromycine, est un antibiotique bactériostatique de la famille des macrolides. C'est la molécule au rapport dose-efficacité le plus élevé (Cammarota *et al.* 2004). Elle est la plus utilisée pour la thérapie anti-*H. pylori* car elle diffuse très bien dans la muqueuse gastrique et agit en synergie avec les supprimeurs de l'acidité. Elle se fixe sur la sous-unité 50S du ribosome bactérien, notamment au niveau de l'ARN ribosomal (ARNr) 23S. Il en résulte une inhibition de l'élongation du peptide en cours de synthèse, par blocage des étapes de transfert peptidique ou de translocation (Weisblum 1995).

I.1.7.1.3. Amoxicilline

L'amoxicilline appartient à la famille des bêtalactamines. C'est une amino-pénicilline dont la structure résulte de l'addition d'un groupe amino à la benzylpénicilline. Elle inhibe la synthèse du peptidoglycane, constituant de la paroi bactérienne, en s'attaquant aux protéines liant les pénicillines (PLP ou, PBP = Penicillins Binding Proteins).

I.1.7.1.4. Tétracyclines

Les tétracyclines inhibent la synthèse des protéines bactérienne en se liant à la sous-unité 30S du ribosome où elles bloquent la fixation de l'aminoacyl-ARNt provoquant la synthèse d'un peptide tronqué. Les molécules utilisées sont la tétracycline et la doxycycline.

I.1.7.1.5. Autres antibactériens

➤ Fluoroquinolones. Elles sont très actives sur *H. pylori* par inhibition de la sous-unité A de l'ADN gyrase bactérienne codée par le gène *gyrA*. Cette enzyme est un tétramère constitué de deux sous-unités A codées par le gène *gyrA* et deux sous-unités B codées par le gène *gyrB*. Les molécules utilisables sont la lévofloxacine et la moxifloxacine.

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

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

➤ Furazolidone. Dérivé du nitrofurane et étudiée dès les années 90 pour son activité anti-*H. pylori* (Xiao *et al.* 1990). En pratique, c'est face à la flambée de la résistance aux antibiotiques de premier choix que son usage est actuellement préconisé (Graham & Fischbach 2010).

➤ Molécules en cours d'études cliniques : les dérivés de la benzamide, les pyloricidines, et la nitazoxanide (Graham & Fischbach 2010).

I.1.7.2. Schémas thérapeutiques

Le traitement inclut soit un inhibiteur de la sécrétion acide, soit un inhibiteur de la pompe à proton (IPP) ; car ils ont une activité bactériostatique sur *H. pylori* et agissent en synergie avec certains antibiotiques en supprimant l'acidité gastrique ce qui potentialise la pénétration des sels de Bismuth dans la muqueuse gastrique et l'activité des antibiotiques (Erah *et al.* 1997).

I.1.7.2.1. Traitement de première ligne

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

I.1.7.2.2. Traitement de deuxième ligne

Les schémas thérapeutiques proposés en 2^{ème} ligne sont :

- La quadri-thérapie (10 à 14 jours) incluant le Bismuth, IPP + Sels de Bismuth + tétracycline + métronidazole. Le taux d'éradication est de l'ordre de 85% (Fischbach *et al.* 2004) ;
- Des thérapies incluant les nouvelles générations de fluoroquinolones (lévofloxacine, moxifloxacine), généralement associées à l'amoxicilline et un IP. Ce schéma devient fortement limité par l'accroissement rapide de la résistance aux quinolones (Bogaerts *et al.* 2006) ;
- Des schémas incluant les rifamycines (rifampicine, rifabutine) ou la furazolidone ont également été proposés (Malfertheiner *et al.* 2007).

I.1.7.2.3. Traitement de 3^{ème} ligne (« Rescue therapy »)

L'adaptation de la thérapie en fonction de l'antibiogramme est indispensable en cas d'échec d'éradication. Une stratégie thérapeutique basée sur les tests de sensibilité serait plus efficace, préserverait le capital thérapeutique, limiterait la sélection des mutants résistants et serait probablement moins coûteuse (Malfertheiner *et al.* 2007, Graham & Fischbach 2010).

I.1.7.2.4 Thérapie séquentielle

Ce schéma prometteur, propose de manière successive les mêmes médicaments. Il consiste en 5 jours de traitement avec un IPP et de l'amoxicilline suivi de 5 jours de prise d'IPP avec deux autres antibiotiques (clarithromycine et métronidazole). Il a été d'ailleurs proposé récemment comme traitement de première ligne (Gatta *et al.* 2009).

I.1.7.2.5. Autres schémas thérapeutiques

- Schémas classiques avec de hautes doses d'IPP permettant d'obtenir 82 à 84% d'éradication comparé à 74 à 77% avec une simple dose (Villoria *et al.* 2008) ;
- Schémas classiques avec de hautes doses d'antibiotiques (Bardhan *et al.* 2000) ;
- Schémas classiques avec une augmentation de la durée du traitement (Chey & Wong 2007) ;
- Schémas classiques avec prise concomitante d'IPP et de trois antibiotiques (Graham & Shiotani 2008).

I.1.7.2.6. Thérapies non conventionnelles

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

➤ Les probiotiques sont des micro-organismes qui constituent la flore buccale, intestinale et vaginale. Ils peuvent être ajoutés à l'ensemble des schémas thérapeutiques anti-*H. pylori* (Malfertheiner *et al.* 2007) ;

➤ La N-acétylcystéine est un dérivé synthétique de la cystéine. Grâce à ses propriétés mucolytiques, un prétraitement à la N-acétylcystéine pourrait dissoudre le biofilm de *H. pylori* et rendre les bactéries plus vulnérables à l'attaque des antibiotiques (Cammara *et al.* 2010) ;

➤ L'association de Vitamine C à un schéma thérapeutique contenant la clarithromycine pourrait améliorer le traitement (Chuang *et al.* 2007).

I.1.7.3. Facteurs d'échecs d'éradication

Les principales causes de l'échec du traitement (absence d'éradication de *H. pylori* de la muqueuse gastrique, persistance des lésions de gastrites) sont : le défaut d'observance du patient et la résistance aux antibiotiques (Courillon-Mallet 2005).

I.1.7.3.1. Défaut d'observance du traitement

Reliée à la lourdeur des thérapies et aux effets secondaires des antibiotiques, la mauvaise observance semble être une importante cause d'échec de traitement. Graham *et al.* avaient démontré que le taux d'éradication était de 96 % pour les patients ayant pris plus de 60 % des médicaments prescrits et 69 % pour les patients qui étaient moins assidus (Graham *et al.* 1992).

I.1.7.3.2. La résistance aux antibiotiques

Des cas de résistance de *H. pylori* ont été décrits pour tous les antibiotiques proposés pour l'éradication (Vakil & Mégraud 2007). Le taux de résistance aux antibiotiques est beaucoup plus élevé en cas d'échec d'éradication (Agudo *et al.* 2010) et est proportionnel au nombre de tentatives infructueuses (Miendje *et al.* 2011).

I.1.7.3.3. Autres facteurs d'échec d'éradication

- Le polymorphisme du Cytochrome P450, qui influence la vitesse du métabolisme des IPP chez les patients (Furuta *et al.* 2001) ;
- La durée du traitement (Malfertheiner *et al.* 2007) ;
- Le tabagisme (Camargo *et al.* 2007) ;
- La nature et la posologie des antibiotiques (Laurent *et al.* 2001).

I.1.8. Résistance bactérienne aux antimicrobiens

I.1.8.1. Types de résistances

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique lorsqu'elle peut croître en présence d'une concentration plus élevée de cet antibiotique que la concentration qui inhibe la majorité des souches de la même espèce (Podie 1999, Hounton 2000).

On distingue deux types de résistances :

- la résistance naturelle

Elle concerne toutes les souches d'une même espèce, elle fait partie du patrimoine génétique de l'espèce dont le support génétique est le chromosome (Hounton 2000). Chez *H. pylori*, la résistance naturelle concerne quelques antibiotiques, principalement la vancomycine, les sulfamides, la polymyxine, le triméthoprim (Popsai *et al.* 2005).

- la résistance acquise

Elle correspond à l'apparition d'une résistance à un antibiotique chez une souche normalement sensible au départ. Elle s'acquiert à la suite d'évènements génétiques variés notamment les mutations chromosomiques ou acquisition de gènes (plasmides ou transposons) (Hounton 2000).

I.1.8.2. Mécanisme d'apparition des résistances

Les bactéries se défendent contre les antibiotiques par (Mouton *et al.* 1993, Carlet 1998) :

- réduction de la quantité d'antibiotique atteignant la cible par diminution de la perméabilité (obstruction ou disparition des porines) ou par apparition de systèmes d'efflux (protéines jouant le rôle de pompe à extrusion qui expulsent l'antibiotique dès qu'il apparaît dans la cellule bactérienne) ;

- inactivation de l'antibiotique par destruction ou modification de la molécule par ajout de radicaux ;
- modification de la cible de l'antibiotique.

Il existe 2 mécanismes d'apparition des résistances

(<https://wf.lerelaisinternet.com/wf029/consultation/fichesanal/fichesinterp/infectiologie>) :

- la transmission verticale, lorsque les conditions de vie deviennent désagréables, la bactérie peut muter et transmettre à sa descendance la résistance ;
- la transmission horizontale, les bactéries peuvent être parasitées par des virus dont l'ADN code une multirésistance aux antibiotiques. Elle est responsable de la majorité des résistances.

Contrairement à la majorité des bactéries, *H. pylori* devient résistant aux antibiotiques essentiellement par une acquisition de mutations ponctuelles au niveau du chromosome bactérien. Par conséquent la transmission de la résistance à la descendance d'une souche est essentiellement verticale. Elle peut exister avant même la mise sous traitement, on parle de résistance primaire ou bien, survenir au cours du traitement, c'est la résistance secondaire. Certaines souches peuvent développer des pompes d'efflux, notamment vis-à-vis de la clarithromycine, du métronidazole et de la tétracycline. Ce mécanisme de résistance serait plus fréquent chez des souches multi-résistantes (Liu *et al.* 2008). Néanmoins la résistance intrinsèque, par éjection des molécules à l'extérieur de la cellule, n'affecte que la tétracycline (Wu *et al.* 2005).

I.1.8.3. Résistance chez *H. pylori*

I.1.8.3.1. Résistance aux nitro-imidazoles

Une résistance au métronidazole acquise en cours de traitement est fréquemment observée chez *H. pylori*. Elle est principalement liée à la présence d'une mutation chromosomique du gène *rdxA* codant pour la NADPH nitroréductase insensible à l'oxygène (Hoffman *et al.* 1996). D'autres mutations sur d'autres gènes seraient également impliquées: *frxA* (NADPH flavin oxidoreductase), *fdxB* (ferredoxin-like protein) (Marais *et al.* 2003). Dans les pays en voie de développement, la prévalence de la résistance reste élevée (50 à 80 %), le métronidazole étant très utilisé pour traiter certaines parasitoses (Mégraud 2004). En Europe les taux de résistance sont plus élevés dans les pays de l'ouest et centraux (43 %) (Mégraud *et al.* 2013).

I.1.8.3.2. Résistance aux macrolides

La région la plus décisive pour l'activité des macrolides est une boucle très conservée entre les espèces, dans le domaine V de l'ARNr 23S, région impliquée dans le transfert peptidique (Meier *et al.* 1994). Des mutations dans la boucle V de l'ARN ribosomique 23S sont responsables d'une diminution de la fixation des macrolides et donc de l'apparition d'une résistance (Versalovic *et al.* 1996). Les trois mutations les plus fréquentes, A2142G, A2143G, et A2142C, sont responsables de plus de 90 % des cas de résistance à la clarithromycine (Giorgio *et al.* 2013). Une étude multicentrique européenne réalisée en 1998 dans 17 pays, avait montré un taux moyen de résistance primaire à la clarithromycine de 9,9 à 10,8 % (Megraud *et al.* 1999). En dehors de l'Europe, la prévalence était inférieure à 4 % au Canada et de 10 à 15 % aux Etats-Unis (Meyer *et al.* 2002). En ce qui concerne l'Asie, des prévalences de 20 % ou plus ont été décrites au Japon et en Corée du sud (Kobayashi *et al.* 2007).

I.1.8.3.3. Résistance à l'amoxicilline

De rares cas de souches résistantes à l'amoxicilline ont été rapportées (inférieur à 1 %) (Mégraud 2004, Mégraud *et al.* 2013). Elles sont liées à des mutations ponctuelles dans le gène codant pour les PLP entraînant un blocage du transport de l'antibiotique. L'un des 1er cas a été décrit en 1996 aux Pays-Bas chez un patient ayant été traité plusieurs fois par amoxicilline suite à une infection respiratoire chronique. La souche de *H. pylori* isolée montrait une résistance stable (CMI = 8 µg/ml) non reliée à une production de b-lactamase (Van Zwet *et al.* 1998). Dans la majorité des cas décrits, les mutations impliquent le gène *pbp-1a* où l'on note une substitution de la sérine par l'arginine en position 414 (Gerrits *et al.* 2002).

I.1.8.3.4. Résistance aux tétracyclines

De rares cas de résistance de *H. pylori* aux tétracyclines ont été décrits (inférieur à 1 %). Le 1er cas remonte à 1996, en Australie, où une souche résistante à la tétracycline a été isolée chez un malade après une tentative d'éradication infructueuse (Midolo *et al.* 1996). La survenue de la résistance nécessite un triplet de mutations au niveau des codons 926 à 928 (AGA remplacé par TTC) de l'ARN 16S qui est localisé au niveau de la boucle h1 où la

tétracycline se fixe sur le ribosome. Ce changement de triplet concerne les deux opérons *rrn* 16S et affecte aussi la minocycline et la doxycycline (Trieber & Taylor 2002).

I.1.8.3.5. Résistance aux rifamycines

Des cas de résistance de *H. pylori* à la rifampicine ont été décrits. Ils sont généralement associés à des mutations du gène *rpoB* au niveau des codons 524, 525, et 585 tels que décrits pour *Mycobacterium tuberculosis* et *Escherichia coli* (Heep *et al.* 1999). Une autre mutation, acquise sous traitement, a été décrite au niveau du codon 149 (V149F : remplacement de la valine par la phenylalanine). Toutes ces mutations affectent l'ensemble des molécules du groupe des rifamycines (Heep *et al.* 2000).

I.1.8.3.6. Résistance aux fluoroquinolones

H. pylori est naturellement résistant à l'acide nalidixique suivant un mécanisme non encore élucidé. L'acquisition de la résistance aux fluoroquinolones est liée à la survenue de mutations dans la « Quinolone Resistance Determining Region » (QRDR) du gène *gyrA* au niveau des codons 86, 87 et 91 (Moore *et al.* 1995, Tankovic *et al.* 2003). Elles concernent presque tous les 2 acides aminés suivants : Asn-87 et/ou Asp-91 (Moore *et al.* 1995, Miyachi *et al.* 2006). La résistance est de l'ordre de 5 % dans la plupart des pays, des taux proches de 20 % ont été trouvés en Italie, au Portugal, en Corée, au Japon et en Belgique (Debets-Ossenkopp *et al.* 1999, Boyanova *et al.* 2000, Cabrita *et al.* 2000, Tankovic *et al.* 2003, Kim *et al.* 2004, Bogaerts *et al.* 2006, Miyachi *et al.* 2006, Zullo *et al.* 2007).

I.9. Méthodes de l'évaluation de l'activité antimicrobienne

L'action d'un antibiotique sur une souche bactérienne peut être caractérisée par deux paramètres : sa concentration minimale inhibitrice (CMI) et sa concentration minimale bactéricide (CMB) (Robert-Dernuet 1995, Berche *et al.* 1988).

I.1.9.1. Mesure des paramètres d'inhibition (CMI et CMB)

I.1.9.1.1. Concentration minimale inhibitrice

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique inhibant en 18 à 24 heures la multiplication des bactéries (bactériostase). Deux concentrations critiques sont définies : la concentration critique basse *c* et la concentration critique haute *C* auxquelles

correspondent des diamètres critiques d'inhibition D, et d, respectivement. Aux regards de ces concentrations et diamètres critiques des antibiotiques, les profils de sensibilités des souches bactériennes peuvent être établit (CA-SFM 2010) :

Catégorie	CMI (mg/L)	Diamètre (\emptyset) (mm)
Sensible (S)	$CMI \leq c$	$\emptyset \geq D$
Résistante (R)	$CMI > C$	$\emptyset < d$
Intermédiaire (I)	$c < CMI \leq C$	$d \leq \emptyset < D$

Pour la détermination de la CMI, on a recours à plusieurs méthodes appliquées dans des conditions bien standardisées.

I.1.9.1.1.1. Méthode de dilution en milieu liquide

On prépare une série d'une dizaine de tubes à hémolyse (macrodilution) ou une plaque de microtitration de 24 ou 96 puits (microdilution), dans lesquels on répartit une même quantité de bouillon nutritif ensemencé par une culture de bactéries en phase exponentielle décroissance ; on distribue ensuite dans chaque puits ou tube, à l'exception du premier qui servira de témoin, des quantités croissantes de l'antibiotique étudié, réalisant ainsi une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2 (Duval & Soussy 1980).

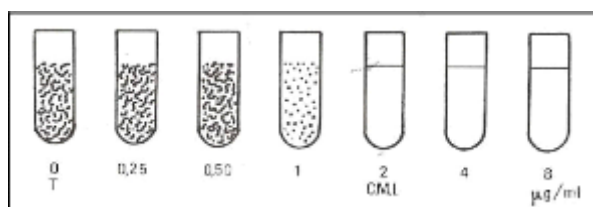


Figure 9 : Méthode de dilution en milieu liquide (Duval & Soussy 1980)

Les tubes sont placés à l'étuve à 37°C pendant 24 h, après quoi on les observe macroscopiquement (à l'œil nu), Dans un certain nombre de tubes, la culture s'est développée, un trouble nettement visible en est la traduction. A partir d'une certaine concentration, il n'y a plus de culture visible. Le premier tube dans lequel il n'y a plus de culture visible indique la concentration minimum inhibitrice.

I.1.9.1.1.2. Méthode de diffusion

➤ **sur disque** : elle consiste à déposer a la surface de la gélose (Muller-Hinton) d'une boîte de Pétri des disques de papier buvard imprégnés des différents antibiotiques testés. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose a partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles a la distance de diffusion. Si avant de déposer les disques, on a ensemencé uniformément la surface de la gélose avec le germe à étudier, les auréoles apparaissent après 24 heures d'étuve, limitant une zone d'inhibition dont le diamètre permet de mesurer la CMI, (il est évident que la culture s'arrête là où, dans la gélose, il existe une concentration d'antibiotique égale à la CMI) (Duval & Soussy 1980).



Figure 10 : Méthode de diffusion en gélose (Duval & Soussy 1980)

Pour chaque antibiotique on mesure le diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne dans deux directions perpendiculaires et on retient la moyenne. On pourra en déduire la valeur approchée de la CMI de l'agent antimicrobien vis à vis de la souche étudiée (Berche *et al.* 1988, Amhis *et al.* 2001).

➤ **par puits** : C'est une méthode semblable à la méthode des disques à la seule différence qu'ici les disques de papier sont remplacés par des puits qui sont creusés dans la gélose et un volume fixe d'antibactérien est introduit dans chaque puits. Après incubation les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour des puits (Berche *et al.* 1988).

I.1.9.1.1.3. Méthode de l'E-test®

Le principe de l'E-test® est basé sur la combinaison des deux concepts : dilution et diffusion. Le système E-test® consiste en une bande en plastique non poreuse calibrée par un gradient préétabli de concentration d'antibiotiques couvrant 15 dilutions pour déterminer la CMI en µg/ml d'une souche testée en milieu gélosé (Brown & Brown 1991). Le gradient couvre une rangée de concentrations allant de 0,016 à 256 µg/ml ou 0,002 à 32 µg/ml selon

l'antibiotique. L'inoculum est préparé en réalisant une suspension calibrée à l'échelle 0.5 Mac Farland de colonies à partir d'une culture pure de 20 à 24 heures. L'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse. La valeur de la CMI correspond au point d'intersection entre la limite de la zone d'inhibition et la bande d'E-test®.

I.1.9.1.1.4. Méthode turbidimétrique

Elle consiste à mesurer l'opacité d'un tube où se trouve un milieu renfermant des germes et l'antibiotique à tester. Plus l'opacité est grande, plus l'activité de l'antibiotique est faible (Driehuis & Teernstra 1992).

I.1.9.1.2. Concentration Minimale Bactéricide

La CMB est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique détruisant après 18 heures de contact à 34°C 99,9 % d'une population bactérienne. La CMB est déterminée à partir de la CMI ; la méthode employée consiste à ensemencer, sur un milieu gélosé dépourvu d'antibiotique, une quantité définie de tous les tubes ou puits ne présentant pas de trouble visible (Méthode de dilution) et à dénombrer les survivants. Le nombre de survivants est comparé au nombre des bactéries initialement présentes.

I.1.9.2. Interprétation des paramètres d'inhibition

- Si le rapport CMB/CMI = 1 ou 2 l'antibiotique est dit bactéricide.
- Si le rapport CMB/CMI = 4 à 16 l'antibiotique est dit bactériostatique.
- La CMB d'un antibiotique est parfois éloignée de la CMI ; le rapport CMB/CMI supérieur ou égal 32 : on parle alors de tolérance des bactéries à l'antibiotique. La tolérance exprime des isolats bactériens inhibés mais non détruits par des concentrations d'antibiotiques bactéricides ; il n'y a pas de modification de la CMI mais les bactéries échappent à l'action létale de l'antibiotique ; on observe un ralentissement du pouvoir bactéricide.

I.1.10. Lutte contre la résistance par association d'antibiotiques

Lors d'une infection mineure, l'antibiothérapie peut-être simplement guidée par l'antibiogramme de la souche isolée. Cependant, l'association d'antibiotique peut-être légitimée pour plusieurs raisons (Gueye 1993) :

- élargir le spectre antibactérien ;

- obtenir un effet synergique pour renforcer la bactéricidie ;
- prévenir l'émergence des mutants résistants.

L'efficacité thérapeutique de certaines associations a été démontrée expérimentalement et/ou confirmée par des essais cliniques (Helmer *et al.* 1986).

I.1.10.1. Types d'interactions

Les premiers travaux concernant les associations antibiotiques remontent à Jawetz et Gunnison (1952), ils ont décrit quatre types d'interactions. Quand on associe un antibiotique A et un antibiotique B il en résulte sur le plan bactériologique soit :

- l'addition : l'effet de l'association est égale à la somme des effets de chaque antibiotique étudié de façon isolée à la même concentration que dans l'association : $(A+B) = (A) + (B)$;

- l'indifférence : l'activité de l'un des antibiotiques n'est pas affectée par la présence de l'autre ;

- la synergie : l'effet de l'association est significativement supérieur à l'efficacité de chaque antibiotique étudié isolément à la même concentration : $(A + B) > (A) + (B)$;

- L'antagonisme : l'association diminue l'activité de l'un ou de l'autre des antibiotiques. Son activité est inférieure à la somme des effets de chaque antibiotique pris indépendamment: $(A + B) < (A) + (B)$.

On définit aussi un autre type d'interaction en cinétique de bactéricidie : la dominance. L'antibiotique dominant impose à l'association sa dynamique d'action (cela se manifeste pendant la phase précoce de bactéricidie) (Loussouarn 1998).

I.1.10.2. Principes généraux des associations d'antibiotiques

Le choix d'une association de deux antibiotiques doit tenir compte des propriétés bactériologiques de chaque antibiotique pour éviter les phénomènes d'antagonisme. Sur ces propriétés ont été édictées les règles de Jawetz (1953) (Loussouarn 1998) :

- Règle 1 : Les antibiotiques bactéricides actifs sur les germes en croissance présentent le plus souvent un effet antagoniste avec les antibiotiques bactériostatiques ;

- Règle 2 : Les antibiotiques actifs sur les germes en croissance présentent le plus souvent un effet synergique ou indifférent avec les antibiotiques bactéricides actifs sur les germes en phase de repos ;

- Règle 3 : Les antibiotiques bactéricides actifs sur les germes en phase de repos présentent un effet additif ou synergique avec les antibiotiques bactériostatiques ;
- Règle 4 : Les antibiotiques bactériostatiques présentent habituellement entre eux un effet additif.

I.1.10.3. Mécanisme d'action des associations d'antibiotiques

Généralement on décrit trois types de mécanismes d'action pour ces associations d'antibiotiques (Loussouarn 1998) :

- Une des molécules facilite la pénétration de l'autre à l'intérieur de la bactérie ;
- Le blocage d'une voie métabolique en deux sites différents ;
- L'inhibition par la première molécule d'une enzyme bactérienne inactivant la seconde.

I.1.10.4. Méthodes d'étude des associations d'antibiotiques

(http://www.medbc.com/meditline/review/brulures/vol_1/num_3/text/vol1n3p141.asp) :

L'étude des associations d'antibiotiques s'apprécie en mesurant l'activité bactéricide de deux antibiotiques à temps fixe (en 24 heures) ou à temps variable (en cinétique).

A temps fixe, la technique de l'échiquier est la plus complète, mais la plus fastidieuse à mettre en œuvre. Elle consiste à étudier différentes concentrations de deux antibiotiques seuls et associés. Les résultats sont exprimés d'une part pour la bactériostase par le FIC index (*fractionnal inhibitory concentration index*) et d'autre part pour la bactéricidie par le FBC index (*fractionnal bactericidal concentration index*). Une association est synergique si ces index sont $< 0,5$ et antagoniste s'ils sont > 2 .

A temps variable, les interactions entre antibiotiques peuvent être étudiées en cinétique. Des courbes de bactéricidie sont tracées en exposant les bactéries à 2 antibiotiques seuls et associés ; l'association sera synergique si une diminution de $2 \times \log_{10}$ est obtenue avec l'association par rapport à l'antibiotique le plus efficace pris isolément.

I.2. GENERALITES SUR *EMILIA COCCINEA*

I.2.1. Taxonomie et description botanique

I.2.1.1. Taxonomie

Emilia coccinea est une plante herbacée classée dans :

- le règne des Plantae ;

- le sous-règne des Tracheobionta ;
- la division des Magnoliophyta ;
- la classe des Magnoliopsida ;
- la sous-classe des Asteridae ;
- l'ordre des Asterales ;
- la famille des Asteraceae ;
- la sous-famille des Asteroideae ;
- la tribu des Senecioneae ;
- le genre *Emilia* ;
- l'espèce *Emilia coccinea* (Sims.) G.Don.1839.

Emilia coccinea, de nom commun Cucolie écarlate, Emilie, feuilles ou herbe de lapin, compte plusieurs synonymes (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php) : *Cacalia coccinea* Sims., *Cacalia gracilis* DC., *Emilia flamma* Cass., *Emilia gracilis* DC., *Emiliaprenanthoides* C.B.Rob., *Emilia sagittata* (Vahl) DC., *Emilia taiwanensis* S.S. Ying., *Senecio auriculatus* Burm.f., *Senecio javanicus* (Burm.f.) Koord. et *Emilia lisowskiana* C.Jeffrey.

Emilia coccinea peut être confondu avec *Crepidoides Crassocephalum* (Benth.) S. Moore, cette dernière possède des feuilles avec une marge dentée, ce qui n'est pas le cas pour *Emilia coccinea* (Olorode 1973).

I.2.1.2. Description botanique

Emilia coccinea est une plante herbacée au port érigée atteignant de 20 à 90 cm de hauteur. La tige cylindrique, pleine est très pubescente dans sa partie inférieure, nettement moins dans sa partie supérieure (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php).

Les feuilles sont simples et alternes. Les feuilles inférieures sont courtement pétiolées, pétiole ailé, le limbe est spatulé à elliptique d'environ 3,5 cm × 3 cm. Les feuilles médianes et supérieures sont sessiles, embrassantes, le limbe est spatulé à lancéolé atteignant 9 cm × 6 cm. La marge des feuilles est entière (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php).



Figure 11 : feuilles de *Emilia coccinea*.

(http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php)

Inflorescence en capitules terminaux, discoïdes, groupés par 1 à 6 en corymbes, à 12 ou 16 fleurs. Les fleurs orange-jaune à orange sont bisexuées, régulières ; la corolle tubulaire de 7 à 10 mm de long, étamines à anthères cohérentes formant un tube ; ovaire infère. Les fruits sont des akènes de 2 à 5 mm de long courtement poilu : pappus de 3 à 6 mm de long (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php).



Figure 12 : fleurs et fruits de *Emilia coccinea*

A : fleurs ; B : fruits

(http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php)

I.2.2. Répartition géographique

Emilia coccinea est originaire d'Afrique. Elle est présente à l'état sauvage en Sierra Leone, au Liberia, en Côte d'Ivoire, au Ghana, au Togo, au Nigeria, au Cameroun, en Guinée équatoriale, en Centrafrique, en R.D. du Congo, en Zambie et en Angola, et peut-être en

Guinée, au Soudan et en Ouganda (Lisowski 1990, Lisowski 1997). La cucolie écarlate a été introduite à la Réunion comme plante ornementale, présente dans les jardins et parcs, l'espèce s'est naturalisée (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php). Plusieurs espèces du genre *Emilia* se sont aussi naturalisées dans les Amériques.

I.2.3. Propriétés chimiques

Emilia coccinea est une plante à huiles essentielles (Ngoule *et al.* 2015). La composition des feuilles fraîches pour 100 g de partie comestible est de : eau 79,9 g, énergie 268 kJ (64 kcal), protéines 3,2 g, lipides 0,7 g, glucides 14,0 g, fibres 1,9 g, Ca 260 mg et P 52 mg (Leung *et al.* 1968, Jeffrey 1997). Des alcaloïdes pyrrolyzidines et des flavonoïdes toxiques ont été isolés à partir d'autres espèces d'*Emilia*. Le jus de feuilles frais, des extraits méthanoliques et aqueux d'*Emilia sonchifolia* (L.) DC. et d'*Emilia prenanthoidea* DC. ont montré une activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire (Leung *et al.* 1968, Jeffrey 1997).

I.2.4. Usages et intérêts traditionnels

I.2.4.1. Usages de *Emilia coccinea*

En Afrique de l'Ouest, en R.D. du Congo, au Kenya, en Tanzanie et au Malawi, les feuilles d'*Emilia coccinea* sont parfois consommées comme légume, crus en salade ou cuites (Busson 1965, Leung *et al.* 1968). La plante sert de fourrage aux lapins et aux cobayes au Gabon et au Cameroun d'où le nom de feuilles ou herbe de lapin. *Emilia coccinea* est largement cultivée comme plante ornementale dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées.

I.2.4.2 Intérêts traditionnels de *Emilia coccinea*

En Tanzanie, les feuilles vertes broyées sont utilisées pour soigner les blessures, les plaies et la sinusite. Des feuilles séchées en poudre sont également appliquées sur les plaies. Les racines ou les feuilles sont bouillies et la décoction est utilisée pour traiter la syphilis (http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php).

Au Nigeria, au Cameroun et au Gabon, les feuilles sont utilisées pour soigner les troubles oculaires ainsi que la filariose (Burkill 1985, Gill & Omoigui 1987, Morton 1993).

Au Gabon, les feuilles macérées sont utilisées pour traiter les problèmes cardiaques et les feuilles broyées mélangées avec de la limaille de cuivre sont utilisées pour panser les ulcères (Raponda-Walker & Sillans 1961).

Au Nigeria, une décoction de feuilles est utilisée comme fébrifuge (Burkill 1985, Gill & Omoigui 1987).

Au Congo, le jus des feuilles est utilisé pour traiter toutes sortes de troubles de la peau (abcès du sein, ulcères provoqués par le pian, affections lépreuses), ainsi que contre la gale, les poux et la teigne (Busson 1965). *Emilia coccinea* est aussi utilisée pour le traitement d'une affection grave dénommée "*Mwandza*" (foudre) (Onanga *et al* 1997)

La hernie, le mal de dos, la syphilis, la gonorrhée, le mal de gorge, les convulsions, la dilatation de la rate, le vertige, l'épilepsie et les problèmes de menstruation sont tous répertoriés comme étant soignés traditionnellement au moyen d'*Emilia coccinea*. On lui attribue aussi des propriétés laxatives et anti-abortives.

I.2.5. Pharmacologie antérieurs de *Emilia coccinea* au Cameroun

Les informations pharmacologiques antérieures en rapport avec *Emiliacoccinea* au Cameroun sont reportées dans le tableau ci-dessous.

Travaux 1 : Pharmacologie antérieurs de *Emilia coccinea* au Cameroun

Maladie soignée	Partie utilisée	Localités	Références
Mal des oreilles et Blessure récente (saignement)	Feuilles	Sous bassins versants Kambo et Longmayagui (Douala, Cameroun)	(Ndjouondo <i>et al.</i> 2015).
Les troubles infectieux, ophtalmologiques, cardiovasculaires, digestifs et stomacaux.	Feuilles, tiges	Les marchés de la ville de Douala, Cameroun	(Ladoh-Yemeda <i>et al.</i> 2016)
Jaunisse	Feuilles	Trois marchés de la ville de Douala (Nkololoun, Dakar et Chèvres)	(Dibong <i>et al.</i> 2011)

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

les gastralgies	Les feuilles sont utilisées dans la production du Polagastral A-T-200 du Pr. Kamsu Kom.	Commercialisé dans plusieurs villes	(Pousset 2006)
Mal d'oreille	feuilles fraîches	ville Douala	(Yinyang 2014)
Typhoïde, Diarrhée, Paludisme et Otite	Tige feuillée + <i>Elaeis guineensis</i>	marchés et villages du Centre et du Littoral	(Dibong <i>et al.</i> 2015)

***PARTIE II
MATÉRIEL ET MÉTHODES***

II.1. MATERIEL

II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique a été constitué de plusieurs souches d'*H. pylori* et de plusieurs plantes médicinales.

II.1.1.1. Micro-organismes

Les souches microbiennes utilisées dans le cadre de ce travail nous ont été gracieusement offertes par l'équipe de recherche du Dr KOUITCHEU. Elles étaient constituées de dix (10) isolats cliniques de *Helicobacter pylori*, prélevés des biopsies gastriques des patients souffrant d'ulcères gastroduodénaux des services de gastroentérologie de l'Hôpital Laquintinie et de l'Hôpital Général de Douala. Ces isolats cliniques conservés au laboratoire à température comprise entre 8 - 4°C, ont été nommés suivant les résultats de la fibroscopie *H. pylori a1* à *a10*.

II.1.1.2. Matériel végétal

Sept (7) plantes sélectionnées à partir d'un renseignement ethnobotanique auprès des tradipraticiens ont été utilisées dans cette étude ; au terme de laquelle, seuls les extraits ayant présenté une activité antimicrobienne ont été retenues pour la suite. Les échantillons ont été récoltés dans les villages de Baham et Mfou et identifiés à l'herbier national du Cameroun. Les informations relatives à ces différentes plantes figurent dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Plantes utilisées

Espèce végétales (Famille)	Nom local	Lieu et période de récolte	Partie utilisée	Code d'identification
<i>Aspilia africana</i> (Asteraceae)	Cia-msung	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun village Baham ; Mai 2015	Feuilles	50749 HNC
<i>Dichrocephala intergrifolia</i> (Asteraceae)	Mbac-fack	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun village Baham ; Mai 2015	Feuilles	37065 HNC
<i>Emilia coccinea</i> (Asteraceae)	Mhei-lapin	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun village Baham ; Mai 2015	Feuilles	59675 HNC
<i>Erigeron floribundus</i>	Mhei-gam	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun	Feuilles	15603 HNC

(Asteraceae)		village Baham ; Mai 2015		
<i>Garcinia lucida</i> (Cluciacées)	Essok	Mefou-Afamba du Centre Cameroun village Mfou ; Mai 2015	Feuilles et Ecorcede tronc	57192 HNC
<i>Kalanchoe crenata</i> (Crassulacées)	Ntan-keyouc	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun village Baham ; Mai 2015	Feuilles	35196 HNC
<i>Markhamea lutea</i> (Bignoniaceae)	Wagne	Hauts-Plateaux de l'Ouest Cameroun village Baham ; Mai 2015		48359 HNC

II.1.2. Equipements et réactifs utilisés

II.1.2.1. Equipements

Etuve (BIOBASE BJPX-Spring), congélateur (BIOBASE BXC-YL270), réfrigérateur (BIOBASE BXR-Y10), bec Bensen, autoclave (LS-B75L), bain-marie (BIOLABO SYSTEM), balance électronique (BK-JA5003B), centrifugeuse (90-3), évaporateur rotatif (Büchi R200), jarre, plaques de microtitration (96puits), multi-pipettes, embouts et verreries.

II.1.2.2. Réactifs utilisés

II.1.2.2.1. Milieux de culture

Trois (3) milieux de culture ont été utilisés dans ce travail :

- Le milieu Urée-indole (Biomérieux France) pour l'identification et la caractérisation biochimique (des isolats cliniques) ;
- Le milieu Columbia Agar (Biomérieux France) pour la culture et l'entretien des isolats cliniques ;
- Le bouillon Cœur-cerveille (Accumix Belgique) pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices de la croissance bactérienne.

II.1.2.2.2. Les antibiotiques

Six (6) antibiotiques appartenant à cinq (5) familles différentes ont été utilisés dans le cadre de notre travail (Tableau 3).

Tableau 3:Antibiotiques de référence utilisés.

Famille	Antibiotiques
β lactamines	Amoxicilline
Tétracyclines	Doxycycline
Macrolides	Clarithromycine, Erythromycine
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine
Produits nitrés (nitro-imidazolés)	Métronidazole

II.2. METHODES

L'évaluation antimicrobienne des extraits de plantes et des antibiotiques dans le cadre de ce travail a été réalisée *in vitro*.

II.2.1. Test de viabilité, activation et conservations des isolats cliniques

Les isolats cliniques ont été soumis à un test rapide à l'uréase pour vérifier leur viabilité. Sur une tablette en plastique blanc, a été mélangée une goutte de milieu Urée-Indole ainsi qu'une colonie bactérienne. Le virage du milieu du jaune-orangé au bout de quelques minutes au rose fuschia révèle la présence de l'uréase bactérienne et donc une viabilité des souches.

L'activation des souches de *Helicobacter pylori* s'est faite sur milieu Columbia Agar additionné de 5 % de sang cuit, coulé dans des boîtes de pétri stériles. L'ensemencement s'est fait par stries à partir des colonies de ré-isolements.

Ces boîtes de pétri fermées ont été incubés pendant 2 jours à 37°C et en micro-aérophilie. Pour une conservation de longue durée, l'ensemencement se fait sur un milieu bouillon cœur-cerveille (BHI) additionné de 15 à 20 % de glycérol et à température comprise entre 8 - 4°C.

II.2.2. Evaluation *in vitro* de l'activité anti-*Helicobacter pylori* des extraits de plantes et des antibiotiques de référence

L'étude de la sensibilité de la bactérie aux extraits de plantes ainsi qu'aux antibiotiques ci-dessus cités a été effectuée par la méthode de dilution en milieu liquide.

II.2.2.1. Préparation des extraits de plantes

Les différentes parties des plantes choisies ont été lavées, séchées à l'abri du soleil, broyées et macérées dans du méthanol d'une part et de l'acétate d'éthyle d'autre part (à raison de 6 L par kg de matière végétale), pendant 48 heures en homogénéisant régulièrement. L'homogénat obtenu a été filtré sur papier Whatman n°1 et le filtrat concentré au moyen d'un évaporateur rotatif (Büchi R200) à 65°C pour le méthanol et à 40°C pour l'acétate d'éthyle. Les extraits ont été récupérés et sécher à l'étuve à 40°C pour évaporation complète des solvants d'extraction. Le rendement de chaque extrait a été évalué par rapport à la masse de matière végétale sèche de départ.

II.2.2.2. Préparation des solutions mères d'extrait de plantes et d'antibiotiques

Les solutions mères des extraits ont été préparées en dissolvant 10 mg d'extrait dans 122 µl de DMSO. Après dissolution complète de l'extrait, le milieu de culture a été ajouté pour un volume final de 2441 µl, correspondant à une concentration d'extrait de 4096 µg/ml. La ciprofloxacine, la doxycycline, la clarithromycine, l'amoxicilline, l'érythromycine et le métronidazole ont été utilisés comme antibiotiques de référence (témoin positif) pour les tests antibactériens. Les solutions mères de ces substances pures, ont été préparées à une concentration de 2048 µg/ml.

II.2.2.3. Préparation des inocula bactériens

Des suspensions de bactéries ont été préparées à partir des colonies de culture de bactéries âgées de 48 heures dans 10 ml de solution de NaCl 0,9% stérile. Ces suspensions ont été obtenues en comparant leur turbidité à celle de 0,5 d'échelle néphélométrie de Mc Farland ayant une densité cellulaire de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Soixante sept microlitres (67µl) de chacune des suspensions bactériennes a été complétée à 50 ml avec du bouillon Cœur-cerveille (BHI) additionné de 5% de sérum de veau, afin d'ajuster leur densité à 2×10^5 UFC/ml.

Tableau 4 : Néphélomètre standard de Mc Farland (Hang, 1999)

Echelle de Mc Farland	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1% BaCl ₂ (ml)	0,00	0,05	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
1% H ₂ SO ₄ (ml)	0,00	9,95	9,90	9,80	9,70	9,60	9,50	9,40	9,30	9,20	9,10

Eau distillée	10,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Densité approximative des cellules (X 10⁸ UFC/ml)	0,00	1,5	3,00	6,00	9,00	12,00	15,00	18,00	21,00	24,00	27,00
	0,00	0,13	0,20	0,33	0,49	0,64	0,66	0,72	0,94	0,101	0,118

II.2.2.4. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI)

Les CMI des extraits sur les différents isolats bactériens ont été déterminées par la méthode de microdilution en milieu liquide tel que décrite par Newton *et al.* (2002) en utilisant des microplaques de 96 puits. Chaque concentration a été testée (dans deux puits) et le test répété 3 fois. Cent microlitres (100 µl) de milieu de culture (BHI) additionné de 5% de sérum de veau ont été introduits dans chaque puits. 100 µl de solution mère d'extrait à la concentration de 4096 µg/ml ont été introduites dans les premiers puits de chaque colonne (de huit puits) ; des dilutions successives en série de facteur 2 ont été faites dans les autres puits en maintenant le volume final à 100 µl de la façon à obtenir huit (8) concentrations (2048 - 16 µg/ml) d'extraits, puis 100 µl d'inoculum ont été introduit pour finalement avoir des concentrations d'extraits allant de 1024 - 8 µg/ml. D'après la classification rapportée par Kuete, un extrait de plante possède une activité notable lorsque sa CMI < 100 µg/ml, une activité modérée lorsque 100 < CMI ≤ 625 µg/ml et une faible activité lorsque CMI > 625 µg/ml (Kuete 2010).

Pour le control positif, 100 µl des solutions mères de ciprofloxacine, de doxycycline, de clarithromycine, d'amoxicilline, d'érythromycine et de métronidazole de concentration 2048 µg/ml ont été introduites dans les premiers puits des deux dernières colonnes de puits. Des dilutions successives en série de facteur 2 ont été faites dans les autres puits en maintenant le volume final à 100 µl de la façon à obtenir treize (13) concentrations (1024 – 0,25 µg/ml) de ciprofloxacine, doxycycline, clarithromycine, métronidazole, érythromycine et amoxicilline, puis 100 µl d'inoculum ont été introduit dans chaque puis ramenant les concentrations d'antibiotiques finalement testés entre 512 – 0.125 µg/ml.

Enfin, deux colonnes de puits témoins négatifs, contenant uniquement du BHI et l'inoculum sans extrait, ni antibiotiques ont été réalisés. Les microplaques ont été recouvertes à l'aide de couvercles stériles, placées dans la jarre et incubées dans l'étuve. Après 48 heures

d'incubation à 37°C, la croissance bactérienne a été révélée dans chaque puits par ajout de 40µl d'une solution de INT (*p*-iodonitrotetrazolium Chloride) 0,2% ; puis réincubée pendant 30 minutes à 37°C (Mativandlela *et al.* 2006). Après ré-incubation, le changement de coloration du jaune au rose a été noté comparativement aux témoins négatifs. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) étaient définies comme étant les plus petites concentrations de substances pour lesquelles nous n'avons pas eu de coloration rose, indicatif d'une absence de croissance bactérienne.

II.2.3. Etude de la sensibilité des isolats cliniques aux associations d'extraits de plantes et d'antibiotiques

L'extrait de plante utilisé dans ce cadre a été l'extrait au méthanol de *Emilia coccinea*, extrait ayant présenté la meilleure activité antimicrobienne au vu des résultats précédents. L'effet potentialisateur de cet extrait a été évalué vis-à-vis des antibiotiques n'ayant présentés aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des isolats testés au regard des valeurs de CMI obtenues. Il s'agissait de la métronidazole, de l'érythromycine et de l'amoxicilline.

L'évaluation de l'interaction entre l'extrait de plante la plus active (*Emilia coccinea*) et les antibiotiques à activité réduite a été effectuée par la méthode dite de l'échiquier (Schaad UB *et al.* 1995). Cette technique consiste à tester l'effet de la substance potentialisatrice aux concentrations inférieure ou égale à la CMI en présence des concentrations d'antibiotique correspondantes aux fractions de CMI de ce dernier. Il s'agit d'un test de sensibilité sur plaque de microtitration qui dérive de la technique de dilution en milieu liquide et permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique pris isolément et de son association avec un autre antibiotique ou une substance antimicrobienne potentielle.

L'activité antimicrobienne des antibiotiques sélectionnés a été évaluée à la concentration égale à la CMI ainsi qu'à celles correspondantes aux fractions de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16 fois la CMI de chaque antibiotique en présence des concentrations égales à la CMI et à la CMI/2 de l'extrait de plante sélectionné. L'isolat clinique utilisé a été *H pylori* α6 en raison de sa plus faible sensibilité. La préparation des inocula, les ensemencements, l'incubation et les lectures de CMI ont été semblables à ceux décrits par la méthode de microdilution en milieu liquide. Ainsi, les valeurs de CMI des différents antibiotiques pris isolément et en association ont été notées pour chaque concentration de l'extrait de plante sélectionnée. Les valeurs des

FIC (*fractionnal inhibitory concentration*) pour chaque antibiotique ont été ensuite calculées suivant la formule ci-après : $FIC = \text{CMI de l'antibiotique en association} / \text{CMI de l'antibiotique seul}$.

Le caractère des différentes associations a été enfin déterminé au vue des valeurs de FIC calculées dans chaque rangée, mais dont, seul le FIC le plus bas à été considéré comme caractéristique de l'association. Selon la valeur du FIC, quatre catégories d'association sont définies (Courvalin P. *et al.* (2006) :

- synergique si le FIC le plus favorable est inférieur ou égal à 0,75 ;
- additive si le FIC le plus favorable est égal à 1 ;
- indifférente si le FIC le plus favorable est supérieur à 1 et inférieur à 2.
- antagoniste si le FIC le plus favorable est supérieur ou égale à 2.

II.2.4. Analyse statistique

Pour analyser nos données, nous avons utilisé les logiciels suivants :

- Microsoft Office Excel 2007 qui nous a permis de saisir les données recueillies et de réaliser les tableaux;
- Microsoft Office Word 2007 qui nous a permis de saisir et traiter les textes et de construire les tableaux.

PARTIE III
RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. RESULTATS

III.1.1. EXTRACTION

Les rendements d'extraction des extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol des différents spécimens de plantes sont consignés dans le tableau 5 ci-après. De façon générale les rendements des extraits à l'acétate d'éthyle ont été inférieurs à ceux au méthanol.

Tableau 5 : Rendements d'extraction des extraits préparés

Espèce végétales	Solvant d'extraction	Rendement d'extraction (%)
<i>Aspilia africana</i> (Asteraceae)	Méthanol	3,35
	Acétate d'éthyle	1,34
<i>Dichrocephala intergrifolia</i> (Asteraceae)	Méthanol	3,56
	Acétate d'éthyle	1,46
<i>Emilia coccinea</i> (Asteraceae)	Méthanol	7,55
	Acétate d'éthyle	2,08
<i>Erigeron floribundus</i> (Asteraceae)	Méthanol	5,76
	Acétate d'éthyle	3,84
<i>Garcinia lucida</i> (Cluciacées) feuille	Méthanol	7,31
	Acétate d'éthyle	2,13
<i>Garcinia lucida</i> (Cluciacées) écorce de tronc	Méthanol	7,81
	Acétate d'éthyle	2,37
<i>Kalanchoe crenata</i> (Crassulacées)	Méthanol	8,69
	Acétate d'éthyle	5,21
<i>Markhamea lutea</i> (Bignoniaceae)	Méthanol	5,71
	Acétate d'éthyle	3,26

III.1.2. Activité anti-*H. pylori* des extraits de plantes et des antibiotiques de référence

La révélation de la croissance bactérienne dans les puits des microplaques a permis de déterminer les différentes CMI des extraits de plantes et des antibiotiques consignées dans le tableau 6.

De façon générale, l'activité anti-*H. pylori* des différents extraits de plantes testés a varié d'une plante à l'autre et en fonction du solvant d'extraction avec les valeurs de CMI comprises entre 64 et >1024 µg/ml. Au vue de la classification rapportée par Kuete (2010), les extraits au méthanol ont présenté une activité anti-*H. pylori* légèrement meilleur que ceux à l'acétate d'éthyle chez toutes les plantes ; à l'exception des extraits de *Markhamea lutea*, de *Aspilia africana* et de *Kalanchoe crenata* avec des activités antimicrobiennes inversement

meilleurs ou identiques suivant les solvants d'extraction. L'activité anti-*H. pylori* la plus intéressante dans l'ensemble a été, et de loin, celle fournie par l'extrait au méthanol de *Emilia coccinea* avec une CMI de 64 µg/ml vis-à-vis de 60% (6/10) des isolats cliniques, de 128 µg/ml vis-à-vis de 10% (1/10) des isolats cliniques, de 256 µg/ml vis-à-vis de 20% (2/10) des isolats cliniques et de 512 µg/ml vis-à-vis de 10% (1/10) des isolats cliniques ; suivie de l'activité de l'extrait au méthanol des feuilles de *Garcinia lucida* avec une CMI de 128 µg/ml vis-à-vis de 10% (1/10) des isolats cliniques, de 256 µg/ml vis-à-vis de 60% (6/10) des isolats cliniques et de 512 µg/ml vis-à-vis de 30% (3/10) des isolats cliniques. Par contre, les extraits de *Kalanchoe crenata* et celui à l'acétate d'éthyle de l'écorce de tronc de *Garcinia lucida* n'ont présenté aucune activité anti-*H. pylori* (CMI \geq 1024 µg/ml).

Au vue des concentrations critiques établit par la CA-SFM (2010), l'amoxicilline, l'érythromycine et le métronidazole n'ont présenté aucune activité antimicrobienne vis-à-vis de tous les isolats cliniques (CMI très élevée \geq 128 µg/ml) ; contrairement à la clarithromycine, la doxycycline et la ciprofloxacine qui ont présenté une activité anti-*H. pylori* très élevée vis-à-vis de tous les isolats cliniques (CMI = 0,125 µg/ml).

Par ailleurs, tous les isolats cliniques ont exprimé une résistance vis-à-vis de plusieurs extraits de plantes (lecture en colonnes), avec des valeurs de CMI des extraits > 512 µg/ml (10 à 12 extraits sur 16 sont concernés par isolat) soit un total de 63,13 % (101/160) de cas de résistance. L'isolat clinique le plus résistant, *H. pylori* α 6 (12 extraits sur 16), est suivi de près par *H. pylori* α 3, *H. pylori* α 4, *H. pylori* α 7 et *H. pylori* 10 (11 extraits sur 16).

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

Tableau 6 : Concentrations minimales inhibitrices ($\mu\text{g/ml}$) des extraits de plantes et des antibiotiques de référence vis-à-vis des isolats cliniques de *Helicobacter pylori*

Extraits de plantes / Antibiotiques	Solvant utilisé	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 1$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 2$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 3$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 4$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 5$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 6$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 7$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 8$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 9$	<i>H.</i> <i>pylori</i> $\alpha 10$
<i>Aspilia africana</i> (Asteraceae)	MeOH	>1024	1024	>1024	>1024	>1024	1024	>1024	1024	1024	>1024
	AE	512	512	1024	1024	512	512	1024	256	>1024	>1024
<i>Dichrocephala intergrifolia</i> (Asteraceae)	MeOH	512	1024	1024	512	1024	1024	>1024	1024	512	1024
	AE	>1024	1024	>1024	>1024	>1024	>1024	512	>1024	>1024	>1024
<i>Emilia coccinea</i> (Asteraceae)	MeOH	64	256	512	64	256	64	128	64	64	64
	AE	1024	1024	1024	1024	256	1024	512	1024	512	512
<i>Erigeron floribundus</i> (Asteraceae)	MeOH	>1024	512	>1024	>1024	512	512	1024	256	512	>1024
	AE	512	1024	512	1024	1024	1024	1024	1024	>1024	1024
<i>Garcinia lucida</i> (Cluciacées) feuille	MeOH	512	256	512	128	256	256	256	256	256	512
	AE	512	512	512	1024	1024	1024	512	512	512	512
<i>Garcinia lucida</i>	MeOH	>1024	1024	>1024	512	512	1024	>1024	512	512	512

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

(Cluciacées) écorce de tronc	AE	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	>1024	1024	1024	>1024
<i>Kalanchoe crenata</i> (Crassulacées)	MeOH	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
	AE	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
<i>Markhamea lutea</i> (Bignoniaceae)	MeOH	>1024	512	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024
	AE	512	1024	512	512	512	1024	1024	512	512	>1024
Amoxicilline	/	>512	>512	>512	>512	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Erythromycine	/	128	128	128	128	128	128	128	128	128	128
Métronidazole	/	256	256	256	256	256	256	256	256	256	256
Clarithromycine	/	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Ciprofloxacine	/	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
Doxycycline	/	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125

III.1.3. Effet potentialisateur des antibiotiques par l'extrait au méthanol de *Emilia coccinea* vis-à-vis de *Helicobacter pylori*

La révélation de la croissance bactérienne dans les puits des microplaques a permis de déterminer les différentes CMI des antibiotiques en association pour chaque concentration de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea*, de calculer les valeurs des FIC (*fractionnal inhibitory concentration*) pour chaque antibiotique et de caractériser les différentes associations. De façon générale, l'extrait au méthanol de *Emilia coccinea* (Asteraceae) a un effet potentialisateur sur l'activité anti-*H. pylori* de ces différents antibiotiques :

➤ Les valeurs des différents FIC de l'amoxicilline en association aux différentes concentrations (CMI =64 µg/ml et CMI = 32 µg/ml) de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* ont été remarquables (< 0,0625 et < 0,125 respectivement) et caractéristiques des associations à effet synergétique ;

➤ Les valeurs des différents FIC de l'érythromycine en association aux différentes concentrations (CMI =64 µg/ml et CMI = 32 µg/ml) de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* ont été de 0,0625 et 1 respectivement ; caractéristiques des associations à effet synergétique et additif respectivement.

➤ Les valeurs des différents FIC du métronidazole en association aux différentes concentrations (CMI =64 µg/ml et CMI = 32 µg/ml) de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* ont été de 1 ; caractéristiques des associations à effet additif.

Tableau 7 : Concentrations minimales inhibitrices (µg/ml) des antibiotiques vis-à-vis de l'isolat clinique de *H. pylori* α6 en absence et en présence d'extrait de *Emilia coccinea*

Antibiotiques	Conc. de <i>E.coccinea</i>	CMIdes antibiotiques en absence et en présence de l'extrait d' <i>E. coccinea</i>	Valeur de FIC	Caractère de l'association
Amoxicilline	0	> 512	-	-
	CMI 64	32	< 0,0625	Synergie
	CMI 32	64	< 0,125	Synergie
Erythromycine	0	128	-	-
	CMI 64	8	0,0625	Synergie
	CMI 32	128	1	Additive

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

Métronidazole	0	256	-	-
	CMI 64	256	1	Additive
	CMI 32	256	1	Additive

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; FIC : Fractional Inhibitory Concentration, Conc : concentration ; (-) : non applicable ; 0: uniquement l'antibiotique

III.2. DISCUSSION

Helicobacter pylori est une bactérie devenue résistante à certains antibiotiques usuels tels que l'amoxicilline, l'érythromycine et le métronidazole, justifiant ainsi le but de notre travail ; celui de potentialiser l'effet antimicrobien de quelques antibiotiques usuels par les extraits de plantes médicinales vis-à-vis de quelques isolats cliniques de *H. pylori* à phénotype multi-drugs-résistants. En effet, l'amoxicilline, l'érythromycine et le métronidazole n'ont présenté aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des dix isolats cliniques de *H. pylori* testés (CMI très élevée ≥ 128 $\mu\text{g/ml}$). Ces résultats corroborent ceux obtenus en Europe par Mégraud *et al.* (2013) en Asie par Kobayashi *et al.* (2007) et dans les pays en développement par Mégraud (2004) ; lors de leurs différentes études, ces auteurs ont fait état de ce que la résistance à ces antibiotiques est principalement liée aux mutations chromosomiques et secondairement à l'utilisation très fréquente de ces antibiotiques dans le traitement de certaines parasitoses. Contrairement à ces derniers, la clarithromycine, la ciprofloxacine et la doxycycline ont présenté une activité anti-*H. pylori* très élevée vis-à-vis de tous les isolats cliniques (CMI = 0,125 $\mu\text{g/ml}$) ; ces résultats contrastent respectivement avec ceux de Kobayashi *et al.* (2007), de Midolo *et al.* (1996) et de Zullo *et al.* (2007) ; qui, travaillant sur la résistance de *H. pylori* aux antibiotiques ont obtenu respectivement les taux de résistance de : 20 %, rare (inférieur à 1 %) et de 20 %. Ceci trouverait son explication dans le fait que l'acquisition de la résistance à ces antibiotiques par *H. pylori* est essentiellement le fruit de mutations ponctuelles au niveau du chromosome bactérien, par conséquent la transmission de la résistance à la descendance d'une souche est essentiellement verticale et donc à spectre réduit (Liu *et al.* 2008). De plus, des différences génomiques ont été aussi observées entre les souches provenant des zones géographiques différentes (Linz *et al.* 2007).

L'activité anti-*H. pylori* des différents extraits de plantes testés a varié d'une plante à l'autre et en fonction du solvant d'extraction avec les valeurs de CMI comprises entre 64 et >1024 $\mu\text{g/ml}$. Cette singularité d'activité d'une plante à l'autre, de même que d'un solvant d'extraction à l'autre serait liée à la variabilité de leur composition chimique. L'activité anti-*H. pylori* la plus importante dans l'ensemble des extraits de plantes a été de loin celle fournie par l'extrait au méthanol de *Emilia coccinea* (Asteraceae) avec une CMI de 64 $\mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de 60% des isolats cliniques, de 128 $\mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de 10% des isolats cliniques, de 256 $\mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de 20% des isolats cliniques et de 512 $\mu\text{g/ml}$ vis-à-vis de 10% des isolats

cliniques. Cette activité antimicrobienne de *Emilia coccinea* a été rapportée par Ladoh-Yemeda *et al.* (2016), Busson (1965) et Dibong *et al.* (2015). Respectivement selon ces auteurs, les extraits de *Emilia coccinea* sont utilisés pour lutter contre les infections diverses, contre les ulcères provoqués par le pian et contre la typhoïde, la diarrhée et le paludisme ; qui sont là toutes des pathologies causées par des microbes. Ceci pourrait s'expliquer par la composition chimique des extraits de plantes du genre *Emilia* qui leur confère à certaines une activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire (Leung *et al.* 1968, Jeffrey 1997). Par ailleurs, les isolats cliniques de *H. pylori* ont présenté chacun une résistance et une sensibilité singulières vis-à-vis de l'ensemble des extraits de plantes. Selon Gressmann *et al.* (2005), *H. pylori* est génétiquement très hétérogène, chaque souche possède des séquences uniques. Ce qui pourrait expliquer cette singularité.

Les associations des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* (Asteraceae) avec les différents antibiotiques n'ayant présentés aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des isolats cliniques de *H. pylori* testés ont potentialisé l'activité anti-*H. pylori* de ces différents antibiotiques par des effets de synergie cas de l'amoxicilline (FIC < 0,0625 et FIC < 0,125) et de l'érythromycine (FIC = 0,0625) et des effets d'addition cas de l'érythromycine et du métronidazole (FIC = 1). D'après Loussouarn (1998), trois mécanismes d'action d'antibiotiques en associations sont généralement décrits :

- Une des molécules facilite la pénétration de l'autre à l'intérieur de la bactérie ;
- Le blocage d'une voie métabolique en deux sites différents ;
- L'inhibition par la première molécule d'une enzyme bactérienne inactivant la seconde.

Par ailleurs, les résistances à l'amoxicilline sont liées à des mutations ponctuelles, impliquent le gène *pbp-1a*, dans le gène codant pour les PLP (protéines liant les pénicillines) entraînant un blocage du transport de l'antibiotique (Gerrits *et al.* 2002). Ainsi, l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* faciliterait le transport de l'amoxicilline au site d'action ce qui expliquerait l'effet synergique de cette association. De même, des mutations dans la boucle V de l'ARN ribosomique 23S sont responsables d'une diminution de la fixation des macrolides et donc de l'apparition d'une résistance (Versalovic *et al.* 1996). L'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* faciliterait donc la fixation de l'érythromycine sur ces récepteurs ce qui expliquerait l'effet synergique de cette association.

PARTIE IV
IMPLICATION SUR LE
SYSTEME EDUCATIF

IV.1. Didactique des sciences de la vie et de la terre, éducation à l'environnement, hygiène et biotechnologie.

Quelques définitions

➤ **La pédagogie** est une science qui s'occupe de l'éducation de l'enfant. Elle a pour objet d'éduquer et d'enseigner. Il s'agit en effet d'un ensemble de méthodes permettant de guider un élève ou une personne dans ses apprentissages.

➤ **La didactique** est l'étude des questions posées par l'enseignement et l'acquisition des connaissances dans les différentes disciplines scolaires. Elle élabore les principes théoriques concernant le contenu, la méthode et l'organisation de l'enseignement, ainsi que sur la transmission et l'acquisition de la connaissance à celui qui apprend.

➤ **Un objectif** est l'énoncé d'une intention qui définit une ou plusieurs actions concrètes, bienvisibles, évaluables, que les enseignés seront capables de réaliser à un ou plusieurs moments, tout au long et à la fin d'une leçon, en réponse à un enseignement donné.

Nous distinguons deux catégories d'objectifs :

- **les objectifs généraux** qui indiquent ce que l'apprenant sera capable de faire dans son travail après avoir suivi la leçon ou la formation ;

- **les objectifs spécifiques** ou **opérationnels** sont les objectifs que l'apprenant doit acquérir de la formation et qui présentent ce qu'il sera capable de faire sur le lieu de formation.

IV.2. Intérêt didactique de la potentialisation de l'effet antimicrobien de quelques antibiotiques usuels par les extraits de plantes médicinales

L'antibiothérapie est une technique d'aide curative apportée au système immunitaire qui utilise les antibiotiques dans le traitement des maladies. Au fil des années, cette technique s'est avérée indispensable dans lutte contre les agressions microbiennes. Mais de nos jours, de nombreux cas de résistances bactériennes aux antibiotiques sont enregistrés à travers le monde (Courillon-Mallet 2005) avec leurs lots de conséquences sanitaires. Par ailleurs, de nombreuses plantes médicinales ont démontré plus d'une fois leurs propriétés antimicrobiennes. Dès lors, des associations d'extraits de plantes médicinales avec les antibiotiques ont été envisagées dans l'optique de potentialiser l'effet antimicrobien de ces derniers dans la lutte contre les maladies microbiennes.

IV.3. COURS DE LA CLASSE DE 3^{ème} : FICHE LINEAIRE

TITRE DE LA LEÇON: Aide au système immunitaire : aide curative

INTRODUCTION

Face aux multiples agressions microbiennes, le système immunitaire n'est pas toujours capable de défendre notre organisme. Par conséquent, une aide au système immunitaire s'impose. Cette aide peut être curative.

IV.3.1. Aide ou médecine curative

L'aide curative consiste à lutter contre une infection microbienne déjà présente chez un individu. Il s'agit notamment de : la chimiothérapie, l'antibiothérapie, la sérothérapie et de séro-vaccinothérapie.

IV.3.1.1. La chimiothérapie

La chimiothérapie consiste à lutter contre une maladie (cancer) par l'utilisation de substances chimiques (Microsoft Encarta 2009).

IV.3.1.2. L'antibiothérapie

L'antibiothérapie est l'emploi des antibiotiques dans le traitement des maladies (Microsoft Encarta 2009). Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui a la propriété d'empêcher la prolifération des bactéries (effet bactériostatique) ou de les détruire (effet bactéricide). Cette pratique nécessite au préalable des tests d'antibiogramme. L'antibiogramme est une technique qui consiste à déterminer un ou plusieurs antibiotiques efficaces contre un germe donné (document 2). Les antibiotiques sont efficaces pour le traitement des maladies bactériennes et les mycoses. Cependant l'emploi abusif et désordonné des antibiotiques rend les microbes résistants, ce qui pose un véritable problème de santé publique. Il faut donc :

➤ d'une part, chercher de nouvelles molécules possédant une activité antibactérienne ou alors pouvant potentialiser l'effet antimicrobien des antibiotiques : c'est le cas de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* (Asteraceae) qui, lors d'une étude expérimentale, a potentialisé l'effet antimicrobien de l'amoxicilline, de l'érythromycine et du

métronidazole vis-à-vis de quelques isolats cliniques de *Helicobacter pylori* à phénotype multi-drugs-résistants ;

➤ et d'autre part, respecter la posologie et la durée de traitement afin de ne pas rendre les microbes résistants.

IV.3.1.3. La sérothérapie

La sérothérapie est le traitement à base d'un sérum thérapeutique. Un sérum thérapeutique est celui qui provient d'un autre sujet déjà immunisé contre un agent pathogène et qui contient des anticorps prêts à combattre. Du fait que les anticorps du sérum proviennent d'un autre organisme et ne sont pas fabriqués par le sujet qui les a reçus, sa réponse est rapide mais l'immunité qu'il procure n'est pas durable : on parle d'une immunité passive.

IV.3.1.4. La séro-vaccinothérapie

La séro-vaccinothérapie est l'association du sérum et du vaccin dans la lutte contre certaines infections microbiennes comme les épidémies de diphtérie. Le sérum agit dans l'immédiat en apportant les anticorps et le vaccin protège par la suite après guérison.

Synthèse :

Le système immunitaire est parfois incapable de défendre notre organisme contre les agressions microbiennes. C'est pour cela qu'il est nécessaire de lui apporter une aide curative. Toutefois prévenir faut mieux que guérir, c'est la raison pour laquelle l'aide préventive au système immunitaire est très recommandée.

FICHE PEDAGOGIQUE DE PREPARATION D'UNE LEÇON DE SVTEEHB

ETABLISSEMENT	LYCEE BILINGUE D'ETOUG-EBE	Nom de l'enseignant : SOUPGUI FRANCK CEDRIC	
THEME IV	LE MONDE MICROBIEN, L'AGRESSION MICROBIENNE ET PARASITAIRE, LA DEFENSE DE L'ORGANISME	Matricule : 08Q0950 Classe : 5 ^{ème} Année ENS Contact : 675 94 16 06	
CHAPITRE VII	DEFICIENCES DU SYSTEME IMMUNITAIRE ET AIDE AU SYSTEME IMMUNITAIRE.	Date :	... / ... /2016
TITRE DE LA LECON	AIDE AU SYSTEME IMMUNITAIRE: AIDE CURATIVE	Classe :	3 ^{ème} ARA 2.
		Effectif : ...	G : ... F : ...
		Durée : 50 mn	Période : 9h40 - 10h30
O.P.O :	A l'issue de cette leçon, l'élève sera capable de mémoire de : ➤ Enumérer et définir les différents types de médecines curatives.		

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

Eta- pes	O.P.O.I.	Contenus spécifiques aux O.P.O.I.	Matériels ou Supports Didactiques	ACTIVITES		Evaluation de l'atteinte des O.P.O.I.	Du- rée
				Professeur	Elève		
I N T R O	<i>1) Etablir le contrat professeur-élève</i>	O.P.O.I. : - Enumérer et définir les différents types de médecines curatives.	- Programme officiel - Craie	-Communique et écrit le titre de la leçon au tableau et dans le cahier de texte -Dicte les O.P.O.I.	-Ecoute attentivement et recopie le titre dans son cahier ; -copie les O.P.O.I dans son cahier		2 mn
	<i>2) Vérifier les pré-requis : mobiliser les ressources (savoir-faire, savoir-être)</i>	Les pré-requis : -connaître la définition de système immunitaire. -connaître les causes de la déficience du système immunitaire	-Cours et apprentissages antérieurs	-Pose les questions de l'évaluation diagnostique -Fait corriger les réponses proposées par les élèves et propose une remédiation si possible	-Répond aux questions de l'évaluation diagnostique -Corrige ses erreurs - R1 : ensemble des cellules, des tissus et des organes chargés de la défense de l'organisme contre tout élément étranger ou anormal -R2 : lorsqu'il est incapable de défendre notre organisme.	Evaluation diagnostique -Q1 : qu'est ce que le système immunitaire ? -Q2 : quand dit-on qu'il est déficient ?	5 mn

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

D U C T I O N	3) <i>Formuler le(s) problème(s) scientifiques et émettre les hypothèses</i>	<p>-Problème scientifique identifiés :</p> <p>Quelles sont les types d'aides curatives qu'on peut apporter au système immunitaire ?</p> <p>Hypothèse :</p> <p>-prescrire des antirétroviraux, -prescrire des antibiotiques.</p>	Cas clinique du virus du SIDA et ces conséquences.	<p>Q1 : en cas d'infection par le VIH, quelles sont les conséquences pour le système immunitaire ?</p> <p>Q2 : l'organisme peut-il encore se défendre des agressions microbiennes ?</p> <p>Q3 : face à un patient déjà atteint de plusieurs maladies opportunistes, pour lui venir en aide quelle est le problème que vous devez résoudre ?</p>	<p>R1 : destruction des cellules immunitaires.</p> <p>R2 : non</p> <p>R3 : comment venir en aide à son système immunitaire ? Quelles sont les types d'aides curatives qu'on peut apporter au système immunitaire ?</p>		5 mn
	4) <i>Déterminer l'intérêt de la séquence d'apprentissage (motiver les élèves)</i>	<p>Intérêt de la séquence d'enseignement-apprentissage :</p> <p>-connaître les types d'aides curatives qu'on peut apporter au système immunitaire ; -Eviter d'entrer en contact avec les microbes.</p>		<p>Q1 : sachant que notre système immunitaire peut être déficient face à certains microbes, quels avantages aurions nous au cours de cette leçon ?</p>	<p>R1 : connaître les types d'aides curatives qu'on peut apporter au système immunitaire</p>		3 mn

D E V E L O P P E M E N T	<p>O.P.O.I. :</p> <p>Enumérer et définir les différents types de médecines curatives.</p>	<p><u>IV.2.1. Aides ou médecines curatives</u></p> <p>IV.2.1.1. La chimiothérapie Lutter contre une maladie par l'utilisation de substances chimiques.</p> <p>IV.2.1.2. L'antibiothérapie Emploi des antibiotiques dans le traitement des maladies</p> <p>IV.2.1.3. La sérothérapie Traitement à base d'un sérum thérapeutique.</p> <p>IV.2.1.4. La séro-vaccinothérapie Association du sérum et du vaccin dans la lutte contre certaines infections microbiennes.</p>	<p><u>Planche :</u> Médecines curatives apportées au système immunitaire</p>	<p>-Dirige l'exploitation du document 1 et pose les questions de l'évaluation formative</p> <p>Observer attentivement les différents mécanismes de la planche, puis en déduire les différents principes.</p>	<p>-Observe, réfléchit et répond R1 : La chimiothérapie L'antibiothérapie la sérothérapie Et la séro-vaccinothérapie R2 : Chimiothérapie : lutter contre une maladie par l'utilisation de substances chimiques. Antibiothérapie : emploi des antibiotiques dans le traitement des maladies Sérothérapie : traitement à base d'un sérum thérapeutique. séro-vaccinothérapie : association sérum-vaccin dans la lutte microbienne.</p>	<p>Evaluation formative et remédiation si nécessaire</p> <p>Q 1 : énumérer les différents types d'aides curatives</p> <p>Q 2 : quelles en sont les différentes définitions ?</p>	20 mn
--	--	---	---	---	---	---	--------------

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

C O N C L U S I O N	-Rappeler les objectifs et le problème scientifique - vérifier l'atteinte des O.P.I	SYNTHESE Le système immunitaire est parfois incapable de défendre notre organisme contre les agressions microbiennes. C'est pour cela qu'il est nécessaire de lui apporter une aide curative. Toutefois prévenir faut mieux que guérir, c'est la raison pour laquelle l'aide préventive au système immunitaire est très recommandée.	Contenu de la leçon du jour.	-Q : qui va nous rappeler les objectifs et le problème scientifique ? -Pose les questions de l'évaluation sommative	-R : rappelle les objectifs et le problème scientifique -Répond aux questions de l'évaluation sommative	Evaluation sommative et remédiation si nécessaire Q1 : énumérer et définir les différents types de médecines curatives.	10 mn
--	--	--	------------------------------	--	--	---	------------------

Références bibliographiques

- Microsoft Encarta 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation. Tous droits réservés.
- Courillon-Mallet A. (2005) Résistance de *Helicobacter pylori* : chez qui s'acharner et comment ?

Post'U.<http://www.fmcgastro.org/wp-content/uploads/file/pdf/351.pdf>

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le présent travail s'inscrivait dans le cadre de la lutte contre l'émergence sans cesse croissante de la résistance des souches de *H. pylori*. L'objectif principal était de potentialiser l'effet antimicrobien de quelques antibiotiques usuels par les extraits de plantes médicinales vis-à-vis de quelques isolats cliniques de *H. pylori* à phénotype multi-drugs-résistants. Il en ressort de cette étude que, contrairement à la sensibilité antibactérienne (CMI = 0,125 µg/ml) enregistrée avec la clarithromycine, la ciprofloxacine et la doxycycline, les dix (10) isolats cliniques de *H. pylori* ont présenté une résistance de degré variable vis-à-vis de l'amoxicilline (CMI \geq 512 µg/ml), du métronidazole (CMI = 256 µg/ml) et de l'érythromycine (CMI = 128 µg/ml) ce qui témoigne de leur caractère multi-drugs-résistant. Cette résistance a été aussi enregistrée avec plusieurs extraits de plantes médicinales (63,13 % de cas de résistance), seul l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* (Asteraceae) a fait preuve d'une activité anti-*H. pylori* notable avec une valeur de CMI de 64 µg/ml vis-à-vis de 60% des isolats cliniques utilisés. Les associations de cet extrait avec l'amoxicilline, l'érythromycine et le métronidazole ont présenté des effets de synergie pour l'amoxicilline (FIC < 0,0625 et FIC < 0,125) et l'érythromycine (FIC = 0,0625) ; et des effets d'addition pour l'érythromycine et le métronidazole (FIC = 1). De ce qui précède, nous pouvons dire que l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* (Asteraceae) potentialise les effets antimicrobien de l'amoxicilline, de l'érythromycine et du métronidazole vis-à-vis des isolats cliniques de *Helicobacter pylori* à phénotype multi-drugs-résistants utilisés dans cette étude.

Toutefois il est impératif que lors de nos prochains travaux nous puissions :

- élucider le principal mécanisme de l'effet potentialisateur de l'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* ;
- évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des associations d'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* et des antibiotiques ;
- évaluer les propriétés pharmacologiques des associations d'extrait méthanolique de *Emilia coccinea* et des antibiotiques.

BIBLIOGRAPHIE

- Agudo S., Perez-Perez G., Alarcon T., Lopez-Brea M. (2010) High prevalence of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains and risk factors associated with resistance in Madrid, Spain. *Journal de Microbiologie* 48: 3703-3707.
- Al Sayed A., Anand P.S., Kamath K.P., patil S., Preethanath R.S., Anil S. (2014) An oral cavity as an extragastric reservoir of *Helicobacter pylori*. *ISRN Gastroenterology* 26: 53-69.
- Alm R.A., Ling L.S., Moir D.T., King B.L., Brown E.D., Doig P.C., Smith D.R., Noonan B., Guild B.C., deJonge B.L., Carmel G., Tummino P.J., Caruso A., Uria-Nickelsen M., Mills D.M., Ives C., Gibson R., Merberg D., Mills S.D., Jiang Q., Taylor D.E., Vovis GF., Trust TJ. (1999) Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 397: 176-180.
- Amhis W., Benslimane A., Tiouit D., Naim M. (2001) Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb* 91: 22-25
- Arslan E., Atilgan H., Yavasoglu I. (2009) The prevalence of *Helicobacter pylori* in obese subjects. *Journal International de Médecine* 20: 695-697.
- Atherton J.C. (2006) The pathogenesis of *Helicobacter pylori* -induced gastro-duodéal diseases. *Annual Review of Pathology* 1: 63-96.
- Azevedo N.F., Guimaraes N., Figueiredo C., Keevil C.W., Vieira M.J. (2009) A new model for the transmission of *Helicobacter pylori* : role of the environmental reservoirs as gene pools to increase strain diversity. *Critical Review of Microbiology* 33 (3): 157-169.
- Azevedo N.F., Huntington J., Goodman KJ. (2009) The epidemiology of *Helicobacter pylori* and public health implication. *Helicobacter* 14 (Suppl.1): 1-7.
- Bardhan K., Bayerdörffer E., Veldhuyzen Van Zanten S.J., Lind T., Mégraud F., Delchier J.C., Hellblom M., Stubberöd A., Burman C.F., Gromark P., Zeijlon L. (2000) The HOMER Study: the effect of increasing the dose of métronidazole when given with omeprazole and amoxicillin to cure *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 5: 196-201.
- Bayerdorffer E., Oertel H., Lehn N., Kasper G., Mannes G.A., Sauerbruch T., Stolte M. (1989) Topographic association between active gastritis and *Campylobacter pylori* colonisation. *Journal Clinical of Pathology* 42: 834-839.

- Begue R.E., Gonzales J.L., Correa-Gracian H., Tang S.C. (1998) Dietary risk factors associated with the transmission of *Helicobacter pylori* in Lima, Peru. *Journal Tropical de Médecine* 59: 637-640.
- Berche P., Gaillaro J.L., Simonet M. (1988) Les Bactéries des infections humaines Bactériologie. PARIS: 564p.
- Betti J.L. (2002) Medicinal plants sold in Yaoundé markets Cameroon. *African Study Monographs* 23 (2): 47-64.
- Birkenfeld S., Keter D., Dikman R., Shevah O., Shirin H., Niv Y. (2004) Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in health-care personnel of primary care and Gastroenterology clinics. *Journal de gastroentérologie* 38: 19-23.
- Blanco S., Forne M., Lacoma P.C., Cuesta MA., Latorre I., Viver J.M., Fernández G., Molinos S., Domínguez J. (2008) Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *H. pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagnostic Microbiology Infection* 61: 150-155.
- Blaser M.J., Berg DE. (2001) *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. *Journal Clinical Investigation* 107 (7): 767-773.
- Bogaerts P., Berhin C., Nizet H., Glupczynski Y. (2006) Prevalence and mechanisms of resistance to fluoroquinolones in *H. pylori* strains from patients living in Belgium. *Helicobacter* 11: 441-445.
- Bouarioua N., Merrouche M., Pospai D., Mignon M. (2007) physiopathologie de la maladie ulcéreuse gastroduodénale à l'ère d' « *Helicobacter pylori* ». EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Gastroenterology* 90: 10-20.
- Boyanova L., Stancheva I., Spassova Z. (2000) Primary and combined resistance to four antimicrobial agents in *Helicobacter pylori* in Sofia, Bulgaria. *Journal Médical de Microbiologie* 49: 415-418.
- Brenner H., Rothenbacher D., Bode G., Dieudonne P., Adler G. (1999) Active infection with *Helicobacter pylori* in healthy couples. *Epidemiology Infection* 122 (1): 91-95.
- Brown D.F., Brown L. (1991) Evaluation of the E-test, a novel method of quantifying antimicrobial activity. *Journal Antimicrobial Chemother* 26: 185-190.
- Brown M. (2000) *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiology Review* 22: 283-297.
- Burkill H.M. (1985) The useful plants of West Tropical Africa. Families A–D. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, United Kingdom 2nd Edition (1): 960p.

- Busson F. (1965) Plantes alimentaires de l'ouest Africain: étude botanique, biologique et chimique. Leconte, Marseille, France: 568p.
- CA-SFM « Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ». (2010) Recommandations. Société Française de Microbiologie 50p.
- Cabrita J., Oleastro M., Matos R. (2000) Features and trends in *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in Lisbon area, Portugal (1990-1999). Journal Antimicrobial Chemother 46: 1029-1031.
- Camargo M.C., Piazuolo M.B., Mera R.M., Fonham E.T., Delgado A.G., Yopez M.C., Ceron C., Bravo L.E., Bravo J.C., Correa P. (2007) Effect of smoking on failure of *H. pylori* therapy and gastric histology in a high gastric cancer risk area of Colombia. Acta Gastroenterology Latinoam 37: 238-245.
- Cambau E., Allerheiligen V., Coulon C., Corbel C., Lascols C., Deforges L., Soussy C.J., Delchier J.C., Megraud F. (2009) Evaluation of a new test, genotype HelicoDR, for molecular detection of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. Journal de Microbiologie 47: 3600-3607.
- Cammarota G., Branca G., Ardito F., Sanguinetti M., Ianiro G., Cianci R., Torelli R., Masala G., Gasbarrini A., Fadda G., Landolfi R., Gasbarrini G. (2010) Biofilm demolition and antibiotic treatment to eradicate resistant *Helicobacter pylori*: a clinical trial. Clinical Gastroenterology and Hepatology 8: 817-820.
- Cammarota G., Cianci R., Cannizzaro O., Martino A., Fedeli P., Lecca P.G., di Caro S., Cesaro P., Branca G., Gasbarrini G. (2004) High-dose versus low-dose clarithromycin in 1-week triple therapy, including rabeprazole and levofloxacin, for *Helicobacter pylori* eradication. Journal de gastroentérologie 38: 110-114.
- Capelle L.G., de Vries A.C. (2008) Gastric MALT lymphoma: epidemiology and high adenocarcinoma risk in a nation-wide study. Journal sur le Cancer 44 (16): 2470-2476.
- Carlet J. (1998) Résistance aux antibiotiques dans les pays européens. Pathologie biologique 46 (4): 213-6.
- Cellini L., Allocati N., Piattelli A., Petrelli I., Fanci P., Dainelli B. (1995) Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from dental plaque in dyspeptic patients. New Microbiology 18: 187-192.
- Chey W.D., Wong B.C. (2007) American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. Journal de Gastroentérologie 102: 1808-1825.

- Chuang CH., Sheu BS., Kao AW., Cheng HC., Huang AH., Yang HB., Wu JJ. (2007) Adjuvant effect of vitamin C on omeprazole-amoxicillin-clarithromycin triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Hepatology Gastroenterology* 73: 320-324.
- Correa P. (1996) *Helicobacter pylori* and gastric cancer: state of the art. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention* 5 (6): 477-481.
- Correa P., Haenzel W., Cuello C., Tannenbaum S., Archer M. (1975) A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 2 (7924): 58-60.
- Correa P., Piazuelo M.B. (2012) The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis* 13 (1): 2-9.
- Courillon-Mallet A. (2005) Résistance de *Helicobacter pylori* : chez qui s'acharner et comment ? post'U. <http://www.fmcgastro.org/wp-content/uploads/file/pdf/351.pdf>
- Courvalin P., Leclercq R., Bingen E. (2006) L'antibiogramme. Paris ESKA Ed, 2e édition.
- Cover T.L., Blaser MJ. (2009) *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*. 136: 1863-7183.
- Cover T.L., Blaser M.J., Tummuru M.K., Cao P., Thompson SA. (2009) *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology* 136: 1863-7183.
- De Hert M., Hautekeete M., De Wilde D., Peuskens J. (1997) High prevalence of *Helicobacter pylori* in institutionalized schizophrenic patients. *Schizophr Res* 26: 243-244.
- de Korwin J.D. (2003) Avantages et inconvénients des différentes méthodes diagnostiques de l'infection à *H. pylori*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Gastroenterology Clinical Biology* 27 (3-C2): 380-390.
- de Korwin J.D., Lehours P. (2010) *Helicobacter pylori* : notions fondamentales, épidémiologie, méthodes diagnostiques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). *Gastroenterology* 915: 60p.
- de Magalhães Queiroz D.M., Santos A. (2001) Isolation of a *Helicobacter* strain from the human liver. *Gastroenterology* 121: 1023-1024.
- de Martel C., Parsonnet J. (2006) *Helicobacter pylori* infection and gender: a meta-analysis of population-based prevalence surveys. *Dig Dis Sci* 51: 2292-22301.
- De Reuse H., Bereswill S. (2007) Ten years after the first *Helicobacter pylori* genome: comparative and functional genomics provide new insights in the variability and adaptability of a persistent pathogen. *FEMS Immunology Medical Microbiology* 50: 165-176.

- De Schryver A., Cornelis K., van winckel m., moens g., devlies g., derthoo d., van sprundel m. (2008) the occupational risk of *Helicobacter pylori* infection among workers in institutions for people with intellectual disability. *Occup Environ Med* 65: 587-591.
- Debets-Ossenkopp Y.J., Herscheid A.J., Pot RG. (1999) Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline and trovafloxacin in The Netherlands. *Journal Antimicrobial Chemother* 43: 511-515.
- Dibong S.D., Mpondo M.E., Ngoye A., Kwin M.F., Betti JL. (2011) Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala. *Journal of Applied Biosciences* 37: 1-11.
- Dibong S.D., Mvogo PB., Vandi D., Ndjib RC., Tchamaha F.M., Mpondo E.M. (2015) Ethnobotanique des plantes médicinales anti hémorroïdaires des marchés et villages du Centre et du Littoral Cameroun. *Journal of Applied Biosciences* 96: 1-21.
- Driehuis F., Teernstra E.J.M. (1992) Method for turbidimetric estimation of lactic acid bacteria in fat-containing milk. *Neth Milk Dairy Journal* 46: 209-215.
- Duval J., Soussy CJ. (1980) Activité antibacterienne de Noriloxacine, ofloxacine et ciprofloxacine en fonction des phénotypes de résistance à l'acide nalidixique et à la Pefloxacine. *Pathologie biologique Paris* 38 (5): 376-84.
- Dye K.R., Marshall B.J., Frierson H.F., Pambianco D.J., McCallum R.W. (1990) *Campylobacter pylori* colonizing heterotopic gastric tissue in the rectum. *Journal Clinical of Pathology* 93: 144-147.
- El-Omar E.M., Oien K., Carrington M., Murray L.S., El-Nujumi A., Wirz A., Gillen D., Williams C., Fullarton G., McColl K.E. (1997) *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology* 113 (1): 15-24.
- el-Omar E.M., Penman ID., Ardill JE., Chittajallu RS., Howie C., McColl KE. (1995) *Helicobacter pylori* infection and abnormalities of acid secretion in patients with duodenal ulcer disease. *Gastroenterology* 109: 681-691.
- Eloff N.J. (1998) Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology* 60: 1-8.
- Erah P.O., Goddard A.F., Barrett D.A., Shaw P.N., Spiller R.C. (1997) The stability of amoxicillin, clarithromycin and métronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Journal Antimicrobial Chemother* 39: 5-12.

- Ernst P.B., Gold B.D. (2000) The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Annual Review of Microbiology 54: 615-640.
- Falush D., Kraft C., Taylor N.S., Correa P., Fox J.G., Achtman M., Suerbaum S. (2001) Recombination and mutation during long-term gastric colonization by *Helicobacter pylori*: Estimates of clock rates, recombination size, and minimal age. Proc Natl Acad Sci USA 98: 15056-15061.
- Fischbach L.A., van Zanten S., Dickason J. (2004) Meta-analysis: the efficacy, adverse events, and adherence related to firstline anti-*Helicobacter pylori* quadruple therapies. Aliment Pharmacol Ther 20: 1071-1082.
- Fox J.G. (1995) Non-human reservoirs of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 9 (Suppl 2): 93-103.
- Fujimura S., Kawamura T., Kato S., Tateno H., Watanabe A. (2002) Detection of *Helicobacter pylori* in cow's milk. Lett Appl Microbiol 35: 504-507.
- Fürész J., Lakatos S., Németh K., Fritz P., Simon L., Kacserka K. (2004) The prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infections among young recruits during service in the Hungarian Army. Helicobacter 9: 77-80.
- Furuta T., Shirai N., Xiao F., Ohashi K., Ishizaki T. (2001) Effect of high-dose lansoprazole on intragastric pH in subjects who are homozygous extensive metabolizers of cytochrome P450C19. Clin Pharmacol Ther 69: 158-168.
- Gatta L., Vakil N., Leandro G., Di Mario F., Vaira D. (2009) Sequential therapy or triple therapy for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials in adults and children. Journal de Gastroentérologie 104: 3069-3079.
- GEFH, <http://www.helicobacter.fr>
- Gerrits M.M., Schuijffel D., van Zwet A.A., Kuipers E.J., Vandenbroucke-Grauls C.M., Kusters J.G. (2002) Alterations in penicillin-binding protein 1A confer resistance to beta-lactam antibiotics in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 46: 2229-2233.
- Gill L.S., Omoigui J.D. (1987) The incidence of polyploidy in family Asteraceae of southern Nigeria. Review de Cytologie et de Biologie végétales, le Botaniste 10: 177-184.

- Giorgio F., Principi M., De francesco V., Zullo A., Losurdo G., Di Leo A., Ierardi E. (2013) Primary clarithromycine resistance to *Helicobacter pylori*: Is this the main reason for triple therapy failure? World Journal of Gastrointest Pathophysiol 4 (3): 43-46.
- Globocan. (2012) <http://globocan.iarc.fr/>
- Glynn M.K., Friedman C.R., Gold B.D. (2002) Seroincidence of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of rural Bolivian children: acquisition and analysis of possible risk factors. Clinical Infection Disease 35: 1059-1065.
- Goodman K.J., Correa P., Tenganá Aux H.J., Ramírez H., DeLany J.P., Guerrero Pepinosa O., López Quiñones M., Collazos Parra T. (1996) *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. Journal Epidemiology 144: 290–299.
- Goodwin C.S., Armstrong J.A., Chilvers T., Peters M., Collins D., Sly L., McConnell W., Harper W.E.S. (1989) Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. And *Helicobacter pylori* comb. nov. And *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. Int J Syst Bacteriol 39: 397-405.
- Graham D.Y., Fischbach L. (2010) *Helicobacter pylori* treatment in the era of increasing antibiotic resistance. Gut 59: 1143-1153.
- Graham D.Y., Klein P.D., Evans D.J Jr., Evans D.G., Alpert L.C., Opekun A.R., Boutton TW. (1987) *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. Lancet 1: 1174-1177.
- Graham D.Y., Kudo M., Reddy R., Opekun A.R. (2005) Practical rapid, minimally invasive, reliable nonendoscopic method to obtain *Helicobacter pylori* for culture. Helicobacter 10: 1-3.
- Graham D.Y., Lew G.M., Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J Jr., Klein P.D., Alpert L.C., Genta R.M. (1992) Factors influencing the eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy. Gastroenterology 102: 493-496.
- Graham D.Y., Lu H., Yamaoka Y. (2007) A report card to grade *Helicobacter pylori* therapy. Helicobacter 12: 275-278.
- Graham D.Y., Opekun A.R., Kudo M., Reddy R. (2004) Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. Gut 53 (9): 1235-1243.
- Graham D.Y., Shiotani A. (2008) New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. Nat Clin Pract Gastroenterology Hepatol 5: 321-31.

- Gressmann H., Linz B., Ghai R., Pleissner K.P., Schlapbach R., Yamaoka Y., Kraft C., Suerbaum S., Meyer T.F., Achtman M. (2005) Gain and loss of multiple genes during the evolution of *Helicobacter pylori*. PLoS Genet 1e: 43p.
- Gueye Seye G.N.K. (1993) Etude *in vitro* de l'activité d'associations d'antibiotiques sur des souches bactériennes multirésistantes isolées dans les C.H.0 de Dakar. Thèse de pharmacie, Dakar.
- Haesebrouck F., Pasmans F., Flahou B., Chiers K., Baele M., Meyns T., Decostere A., Ducatelle R. (2009) Gastric Helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. Clinical Microbiology Review 22: 202-223.
- Haggerty T., Shmuely H., Parsonnet J. (2003) *Helicobacter pylori* in cathartic stools of subjects with and without cimetidine-induced hypochlorhydria. Journal Médical de Microbiologie 52: 189-191.
- Handt L.K., Fox J.G., Yan L.L., Shen Z., Pouch W.J., Ngai D., Motzel S.L., Nolan T.E., Klein H.J. (1997) Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in a colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Journal de Microbiologie 35 (1): 165-168.
- Hang M. (1999) Basic technics for microbiological research: Laboratory of Microbiology Cooperative project in higher education between China and Cameroon. Science Press Beijing: 29 p.
- Harris A.W., Douds A., Meurisse E.V., Dennis M., Chambers S., Gould S.R. (1995) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in residents of a hospital for people with severe learning difficulties. Journal de Gastroentérologie 7: 21-23.
- Hazell S.L., Evans D.J., Graham D.Y. (1991) *Helicobacter pylori* catalase. Journal Microbiology 137: 57-61.
- Heep M., Beck D., Bayerdörffer E., Lehn N. (1999) Rifampin and rifabutin resistance mechanism in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 43: 1497-1499.
- Heep M., Rieger U., Beck D., Lehn N. (2000) Mutations in the beginning of the *rpoB* gene can induce resistance to rifamycins in both *Helicobacter pylori* and *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother 44: 1075-1077.
- Helmer J., Pertek J., Vivin P., Kipper R. (1986) Potentialisation d'une vitamine K par l'association Pléflacine-Rifampicine. Annale Française d'Anesthésie et de réanimation 5: 320-321.
- Hoffman P.S., Goodwin A., Johnsen J., Magee K., Veldhuyzen van Zanten S.J. (1996) Metabolic activities of metronidazolesensitive and -resistant strains of *Helicobacter*

- pylori*: repression of pyruvate oxidoreductase and expression of isocitrate lyase activity correlate with resistance. Journal of Bacteriology 178: 4822-4829.
- Holck S., Ingeholm P., Blom J., Nørgaard A., Elsborg L., Adamsen S., Andersen L.P. (1997) The histopathology of human gastric mucosa inhabited by *Helicobacter heilmannii*-like (*Gastrospirillum hominis*) organisms including one culturable case. APMIS 105: 746–756.
 - Hopkins R.J., Vial P.A., Ferreccio C., Ovalle J., Prado P., Sotomayor V., Russell R.G., Wasserman S.S., Morris J.G Jr. (1993) Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile: vegetables may serve as one route of transmission. Journal of Infection Disease 168: 222-226.
 - Horiuchi T., Ohkusa T., Watanabe M., Kobayashi D., Miwa H., Eishi Y. (2001) *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Japan. Microbiol Immunol 45: 515–519.
 - Hounton Narcisse W. (2000) Sensibilité des germes aux antibiotiques dans les infections urinaires de l'enfant à Cotonou (à propos de 213 souches bactériennes). Thèse de Médecine 30p
 - IARC. (1994) Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 61: 1-241.
 - INCa. (2014) Les facteurs de risque de cancer de l'estomac.
<http://www.e-cancer.fr/cancerinfo/les-cancers/cancer-de-lestomac/facteurs-de-risques>
 - Ioannou GN., Weiss N.S., Kearney DJ. (2005) Is *Helicobacter pylori* seropositivity related to body mass index in the United States? Aliment Pharmacol Ther 21: 765-772.
 - Jackman R.P., Schlichting C., Carr W., Dubois A. (2006) Prevalence of *Helicobacter pylori* in United States Navy submarine crews. Epidemiology Infection 134: 460-464.
 - Jeffrey C. (1997) What is *Emilia coccinea* (Sims) G. Don (Compositae)? A revision of the large-headed Emilia species of Africa. Kew Bulletin 52 (1): 205–212.
 - Jehl F., Chomar M., Weber M. (2003) De l'antibiogramme à la prescription. Editions Biomérieux 19p.
 - Jonkers D., Houben P., Stobberingh E., Stockbrugger R. (1997a) Ongoing gastric acid inhibition is a confounding factor in *Helicobacter pylori* diagnosis. Journal de Gastroentérologie 9: 49-53.
 - Jonkers D., Stobberingh E., de Bruine A., Arends JW., Stockbrugger R. (1997b) Evaluation of immunohistochemistry for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric mucosal biopsies. Journal of Infection 35: 149-154.

- Khalifa M.M., Sharaf R.R., Aziz R.K. (2010) *Helicobacter pylori*: a poor man's gut pathogen? Gut Pathogens 2: 2.
- Kidd M., Modlin I.M. (1998) A century of *Helicobacter pylori*. Digestion 59: 1-15.
- Kim J.M., Kim J.S., Jung H.C. (2004) Distribution of antibiotic MICs for *Helicobacter pylori* strains over a 16-year period in patients from Seoul, South Korea. Antimicrob Agents Chemother 48: 4843-4847.
- Kitchens D.H., Binkley C.J., Wallace D.L., Darling D. (2007) *Helicobacter pylori* infection in people who are intellectually and developmentally disabled: a review. Spec Care Dentist 27: 127-133.
- Kobayashi I., Murakami K., Kato M., Kato S., Azuma T., Takahashi S., Uemura N., Katsuyama T., Fukuda Y., Haruma K., Nasu M., Fujioka T. (2007) Changing antimicrobial susceptibility epidemiology of *Helicobacter pylori* strains in Japan between 2002 and 2005. Journal de Microbiologie 45: 4006-4010.
- Kreinitz W. (1905) Ueber das Auftreten von Spirochaetne verschiebener Form in Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi. Dtsch Med Wschr 32: 772.
- Kuete V. (2010) Potentials of Cameroonian plants and derived products against microbial infections. Planta medica 70 (14): 1479-1491.
- Kuipers E.J., Lundell L., Uytterlinde A.M., Perez-Perez G.I. (1996) Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux esophagitis treated with omeprazole or fundoplication. Journal Medical 334 (16): 1018-1022.
- Kuipers E.J., Uytterlinde A.M., Perez-Perez G.I. (1995b) Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. Lancet 345 (8964): 1525-1528.
- Kusters J.G., Arnoud H.M., Van Strijp J.A.G., Vandenbroucke-Grauls C.M. (2006) Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. Infect Immun 65 (9): 3672-3679.
- Kusters J.G., Arnoud H.M., van Vliet, Kuipers E.J. (2006) Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clinical Microbiology Review 19 (3): 449-490.
- Kusters J.G., Gerrits M.M., Van Strijp J.A.G., Vandenbroucke-Grauls C.M.J.E. (1997) Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. Infect. Immun 65: 3672-3679.
- Ladoh-Yemeda., Vandi T., Dibong S.D., Mpondo M.E., Wansi J.D., Betti J.L., Choula F., Ndongo Din1., Tomedi E.M. (2016) Étude ethnobotanique des plantes médicinales

- commercialisées dans les marchés de la ville de Douala, Cameroun. Appl Biosci 99: 1-15.
- Laharie D., Asencio C., Asselineau J., Bulois P., Bourreille A., Moreau J., Bonjean P., Lamarque D., Pariente A., Soulé J.C., Charachon A., Coffin B., Perez P., Mégraud F., Zerbib F. (2009) Association between entero-hepatic *Helicobacter species* and Crohn's disease: a prospective cross-sectional study. Aliment Pharmacol Ther 30: 283-293.
 - Lambert J.R., Lin S.K., Sievert W., Nicholson L., Schembri M., Guest C. (1995) High prevalence of *Helicobacter pylori* antibodies in an institutionalized population: evidence for person-to-person transmission. Journal de Gastroentérologie 90: 2167–2171.
 - Laurent J., Mégraud F., Fléjou J.F., Caekaert A., Barthélemy P. (2001) A randomized comparison of four omeprazole-based triple therapy regimens for the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia. Aliment Pharmacol Ther 15: 1787-1793.
 - Legba Léon. (1989) Etude de la consommation des antibiotiques dans les services chirurgicaux du C.N.H.U. Thèse de Méd 541: 28p.
 - Leung W.K., Sung J.J., Ling T.K., Siu K.L., Cheng A.F. (1999b) Use of chopsticks for eating and *Helicobacter pylori* infection. Dig Dis Sci 44: 1173-1176.
 - Leung W.T.W., Busson F., Jardin C. (1968) Food composition table for use in Africa. FAO, Rome, Italy: 306 p.
 - Linz B., Balloux F., Moodley Y., Manica A., Liu H., Roumagnac P., Falush D., Stamer C., Prugnolle F., van der Merwe S.W., Yamaoka Y., Graham D.Y., Perez-Trallero E., Wadstrom T., Suerbaum S., Achtman M. (2007) An African origin for the intimate association between humans and *Helicobacter pylori*. Nature 445: 915-918.
 - Lisowski S. (1990) Le genre *Emilia* (Asteraceae, Senecioneae) en Afrique Centrale (Congo, Zaire, Rwanda, Burundi). Polish Botanical Studies 1: 67–116.
 - Lisowski S. (1997) Le genre *Emilia* (Cass.) Cass. (Asteraceae) dans la flore de Guinée (Afrique occidentale). Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique 66(3–4): 201–206.
 - Liu Z.Q., Zheng P.Y., Yang P.C. (2008) Efflux pump gene hefA of *Helicobacter pylori* plays an important role in multidrug resistance. World J Gastroenterology 14: 5217-5222.
 - Loussouarn M. (1998) Cinétique de bactéricidie in vitro de quelques associations d'antibiotiques. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Nantes: 78p.

- Lu Y., Redlinger T.E., Avitia R., Galindo A., Goodman K. (2002) Isolation and genotyping of *Helicobacter pylori* from untreated municipal wastewater. *Appl Environ Microbiol* 68: 1436-1439.
- Lu Y., Redlinger T.E., Avitia R., Galindo A., Goodman K. (2002) Isolation and genotyping of *Helicobacter pylori* from untreated municipal wastewater. *Appl Environ Microbiol* 68: 1436-1439.
- Maier R.J., Fu C., Gilbert J., Moshiri F., Olson J., Plaut A.G. (1996) Hydrogen uptake hydrogenase in *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett* 141: 71-76.
- Makristathis A., Pasching E., Schütze K., Wimmer M., Rotter M.L., Hirschl A.M. (1998) Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *Journal de Microbiologie* 36: 2772-2774.
- Malaty H.M., Engstrand L., Pedersen N.L., Graham D.Y. (1994) *Helicobacter pylori* infection: genetic and environmental influences. A study of twins. *Ann Intern Med* 120: 982-986.
- Malaty H.M., Graham D.Y., Wattigney W.A., Srinivasan S.R., Osato M., Berenson G.S. (1999) Natural history of *Helicobacter pylori* infection in childhood: 12-year follow-up cohort study in a biracial community. *Clinical Infection Disease* 28: 279–282.
- Malaty H.M., Paykov V., Bykova O., Ross A., Graham D.P., Anneger J.F., Graham D.Y. (1996) *Helicobacter pylori* and socioeconomic factors in Russia. *Helicobacter* 1: 82-87.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Bazzoli F., El-Omar E., Graham D., Hunt R., Rokkas T., Vakil N., Kuipers E.J. (2007) Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 56: 772-781
- Marais A., Bilardi C., Cantet F., Mendz G.L., Mégraud F. (2003) Characterization of the genes *rdxA* and *frxA* involved in métronidazole resistance *Helicobacter pylori*. *Res Microbiol* 154: 137-144.
- Marshall B.J., Armstrong J.A., McGeachie D.B., Glancy R.J. (1985) Attempts to fulfil Koch's postulates for pyloric *campylobacter*. *Med J Aust* 142: 436-439.
- Marshall B.J., Goodwin C.S. (1987) Revised nomenclature of *Campylobacter pylori* *dis*. *Int J Systemat Bacteriol* 37: 68.
- Marshall B.J., Royce H., Annear D.I., Goodwin C.S., Pearman J.W., Warren J.R., Armstrong J.A. (1984) Original isolation of *Campylobacter pylori* *dis* from human gastric mucosa. *Microbios Lett* 25: 83-88.

- Marshall B.J., Warren J.R. (1984) Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1:1311-1315.
- Marshall NT. (1998) Searching for a cure: conservation of medicinal wild life resources in East and Southern Africa. Traffic International, Cambridge, United Kingdom.
- Mativandlela S.P.N., Lall N., Meyer J.J.M. (2006) Antibacterial, antifungal and antitubercular activity of the roots of *Pelargonium reniforme* (CURT) and *Pelargonium sidoides* (DC) (Geraniaceae) root extracts. *S Afr J Bot* 72: 232-237.
- Matsuda R., Morizane T., Tsunematsu S., Kawana I., Tomiyama M. (2005) *Helicobacter pylori* infection in dental professionals: a 6-year prospective study. *Helicobacter* 10: 307-311.
- McNulty C.A.M., Wise R. (1985) Rapid diagnosis of *Campylobacter*-associated gastritis. *Lancet* 1: 1443-1444.
- Mégraud F. (2003a) When and how does *Helicobacter pylori* infection occur ? *Gastroenterology Clinical Biology* 27 (3-C2): 374-379.
- Mégraud F. (2004) *H pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. *Gut* 53: 1374-1384.
- Mégraud F. (2010) Infection à *Helicobacter pylori* : bonnes pratiques. *Presse Med* 39 (7-8) : 815-822.
- Mégraud F., Bonnet F., Garnier M., Lamouliatte H. (1985) Characterization of *Campylobacter pyloridis* by culture, enzymatic profile, and protein content. *Journal de Microbiologie* 22: 1007-1010.
- Mégraud F., Coenen S., Versporten A., Kist M., Lopez-Brea M., Hirschl A.M., Andersen L.P., Goossens H., Glupezynski Y. (2013) *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut* 62: 34-42.
- Mégraud F., Lehn N., Lind T., Bayerdörffer E., O'Morain C., Spiller R., Unge P., van Zanten S.V., Wrangstadh M., Burman C.F. (1999) Antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori* in a large multicenter trial: the MACH 2 study. *Antimicrob Agents Chemother* 43: 2747-2752.
- Mégraud F., Lehours P. (2007) *Helicobacter pylori* detection and antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology Review* 20 (2): 280-322.
- Meier A., Kirschner P., Springer B., Steingrube V.A., Brown B.A., Wallace R.J., Böttger E.C. (1994) Identification of mutations in 23S rRNA gene of clarithromycin resistant *Mycobacterium intracellulare*. *Antimicrobial Agents Chemother* 38: 381-384.

- Meyer J.M., Silliman N.P., Wang W. (2002) Risk factors for *Helicobacter pylori* resistance in the United States: the surveillance of *H. pylori* antimicrobial resistance partnership (SHARP) study, 1993-1999. *Ann Intern Med*136: 13-24.
- Midolo P.D., Korman M.G., Turnidge J.D., Lambert J.R. (1996) *Helicobacter pylori* resistance to tetracycline. *Lancet* 347: 1194-1195
- Miendje Deyi V.Y., Bontems P., De Koster E., Ntounda R., Van den Borre C., Cadranel S., Burette A. (2011) Multicenter survey of routine determinations of resistance of *Helicobacter pylori* to antimicrobials over the Last 20 years (1990 to 2009) in Belgium. *Journal de Microbiologie* 49: 2200-2209.
- Mitchell H.M., Li Y.Y., Hu P.J., Liu Q., Chen M., Du G.G., Wang Z.J., Lee A., Hazell S.L. (1992a) Epidemiology of *Helicobacter pylori* in southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition. *Journal of Infection Disease*166: 149-153.
- Miyachi H., Miki I., Aoyama N. (2006) Primary levofloxacin resistance and *gyrA/B* mutations among *Helicobacter pylori* in Japan. *Helicobacter*11: 243-249.
- Mobley H.L., Cortesia M.J., Rosenthal L.E., Jones B.D. (1988) Characterization of urease from *Campylobacter pylori*. *Journal de Microbiologie* 26: 831-836.
- Momtaz H., Souod N., Dabiri H., Sarshar M. (2012) Study of *Helicobacter pylori* genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy sample. *World J Gastroenterology* 18 (17): 2105-2111.
- Moore R.A., Beckthold B., Wong S., Kureishi A., Bryan L.E. (1995) Nucleotide sequence of the *gyrA* gene and characterization of ciprofloxacin-resistant mutants of *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 39: 107-111.
- Morton J.K. (1993) Chromosome numbers and polyploidy in the flora of Cameroon Mountain. *Opera Botanica* 121: 159–172.
- Mouton Y., Deboscker Y., Thabaut A. (1993) Antibiotiques- Antibiothérapie. 2ème édition, Paris : Bristol-Myers Squibb: 248p.
- Nahon S., Jouannaud V., Poupardin C., Lahmek P. (2008) Prise en charge diagnostique et thérapeutique de l'infection *Helicobacter pylori*. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris) *Gastroenterology* 9-021-E-10.
- Namavar F., Roosendaal R., Kuipers E.J., de Groot P., Bijl M.W van der., Pena A.S., de Graaff J. (1995) Presence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity, oesophagus, stomach and faeces of patients with gastritis. *Journal de Microbiologie*14: 234-237.

- Ndawula E.M., Owen R.J., Mihr G., Borman P., Hurtado A. (1994) *Helicobacter pylori* bacteraemia. Journal de Microbiologie 13: 621.
- Ndjouondo G.P., Ngene J.P., Ngoule C.C., Kidik Pouka M.C., Ndjib R.C., Dibong S.D., Mpondo M.E. (2015) Journal of Animal & Plant Sciences, Vol.25, Issue 3: 3898-3916 Publication date 31/7/2015, <http://www.m.elewa.org/JAPS>; ISSN 2071-7024: 1-18.
- Ngoule C., Ngene Jean-Pierre, Kidik Pouka Marie-Cathérine, Ndjib Rosette Christelle, Dibong Siegfried Didier, Mpondo Mpondo Emmanuel. (2015) Inventaire et caractérisation floristiques des plantes médicinales à huiles essentielles des marchés de Douala Est (Cameroun). Journal de Science Biochimique 9(2): 874-889.
- O'Toole P.W., Lane M.C., Porwollik S. (2000) *Helicobacter pylori* motility. Microbes infect 2: 1207-1214.
- Olorode O. (1973) Meiotic studies on diploid hybrids between *Emilia sonchifolia* and *E. coccinea* (Compositae). Cytologia 38(4): 725-729.
- Onanga M., Ekouya E., Ouabonzi A., Itoua C.B. (1997) Etudes ethnobotanique, pharmacologique et chimique des plantes utilisées dans le traitement des dermatoses "MWANDZA". Pharm. Méd. Trad. Afr. (9): 85-93.
- Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2002) Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Genève: 78p.
- Parsonnet J., Friedman G.D., Vandersteen D.P. (1991) *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl Med 325: 1127-1131.
- Parsonnet J., Hansen S., Rodriguez L., Gelb A.B., Warnke R.A., Jellum E., Orentreich N., Vogelmann J.H., Friedman G.D. (1994) *Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. Journal de Médecine 330: 1267-1271.
- Parsonnet J., Shmueli H., Haggerty T. (1999) Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. JAMA 282: 2240-2245.
- Perez-Trallero E., Montes M., Alcorta M., Zubillaga P., Telleria E. (1995) Non-endoscopic method to obtain *Helicobacter pylori* for culture. Lancet 345: 622-623.
- Perry S., de la Luz Sanchez M., Yang S., Haggerty T.D., Hurst P., Perez-Perez G., Parsonnet J. (2006) Gastroenteritis and transmission of *Helicobacter pylori* infection in households. Emergence des Infections 12: 1701-1708.
- Peters C., Schablon A., Harling M., Wohlert C., Torres Costa J., Nienhaus A. (2011) The occupational risk of *Helicobacter pylori* infection among Gastroenterologyogists and their assistants. BMC Infectious Diseases 11: 154.

- Podie Magne N.K. (1999) Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des germes les plus fréquemment isolés au laboratoire de bactériologie du CNHU de Cotonou (à propos de 896 souches bactériennes isolées du 1er Mars au 30 Juin 1999). Thèse de Médecine 853: 145p.
- Polk D.B., Peek R.M. (2010) *Helicobacter pylori*: gastric cancer and beyond. Nat Rev Cancer 10 (6): 403-414.
- Popsai D., Sobhani I., Mignon. (2005) Maladie ulcéreuse duodénale et gastrique non compliquée. In: Rambaud JC, ed. Traité de gastro-entérologie. Paris Flammarion p.329-346.
- Pousset J.L. (2006) Place des médicaments traditionnels en Afrique. Med Trop: 66p.
- Raponda-Walker A., Sillans R. (1961) Les plantes utiles du Gabon. Paul Lechevalier, Paris, France: 614p.
- Rimbara E., Sasatsu M., Graham D.Y. (2013) Detection of *Helicobacter pylori* in clinical samples. Methods Mol Biology 943: 279-287.
- Robert-Dernuet. (1995) Antibiotiques et antibiogrammes MONTREAL - PARIS - DECARIE – VIGOT: 322p.
- Salih B.A. (2009) *Helicobacter pylori* infection in developing countries: The burden for how long? Journal de Gastroentérologie 15 (3): 201-207.
- Schaad U.B., Abdus Salam M., Aujard Y., Dagan R., Green S.D., Peltola H. (1995) Use of fluoroquinolones in pediatrics: consensus report of an International Society of Chemotherapy commission. Pediatrics Infection Disease Journal 14(1): 1–9.
- Schwarz S., Morelli G., Kusecek B., Manica A., Balloux F., Owen R.J., Graham D.Y., van der Merwe S., Achtman M., Suerbaum S. (2008) Horizontal versus familial transmission of *Helicobacter pylori*. PLoS Pathology 4 (10): e1000180.
- Skirrow MB. (1983) Taxonomy and biotyping. Proceedings of the Second International Workshop on Campylobacter infections. London Public Health Laboratory Service: 33-38.
- Solnick J.V., Fong J., Hansen L.M., Chang K., Canfield D.R., Parsonnet J. (2006) Acquisition of *Helicobacter pylori* infection in rhesus macaques is most consistent with oral-oral transmission. Journal de Microbiologie 44: 3799-3803.
- Solnick J.V., Shauer D.B. (2001) Emergence of *Helicobacter species* in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clinical Microbiology Review 14 (1): 59-97.

- Steer H.W. (1984) Surface morphology of the gastroduodenal mucosa in duodenal ulceration. *Gut* 25: 1203-1210.
- Suzuki H., Saito Y., Hibi T. (2009) *Helicobacter pylori* and Gastric Mucosa-associated Lymphoid Tissue (MALT) Lymphoma: Updated Review of Clinical Outcomes and the Molecular Pathogenesis. *Gut Liver* 3: 81-87.
- Tankovic J., Chaumette-Planckaert M.J., Deforges L., Launay N., Le Glaunec JM., Soussy C.J., Delchier J.C. (2007) Routine use of real-time PRC for detection of *Helicobacter pylori* and of clarithromycine resistance mutations. *Gastroenterology* 31 (10): 792-795.
- Tankovic J., Lascols C., Sculo Q., Petit J.C., Soussy C.J. (2003) Single and double mutations in *gyrA* but not in *gyrB* are associated with low and high level fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 3942-4.
- Tomb J.F., White O., Kerlavage A.R., Clayton R.A., Sutton G.G., Fleischmann R.D., Ketchum K.A., Klenk H.P., Gill S., Dougherty B.A., Nelson K., Quackenbush J., Zhou L., Kirkness E.F., Peterson S., Loftus B., Richardson D., Dodson R., Khalak H.G., Glodek A., McKenney K., Fitzgerald LM., Lee N., Adams M.D., Hickey E.K., Berg D.E., Gocayne J.D., Utterback T.R., Peterson J.D., Kelley J.M., Cotton M.D., Weidman J.M., Fujii C., Bowman C., Watthey L., Wallin E., Hayes W.S., Borodovsky M., Karp P.D., Smith H.O., Fraser CM., Venter J.C. (1997) The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 388: 539-547.
- Triantafyllidis J.K., Gikas A., Hyphantis T., Cheracakis P., Rokkas T., Konstantellou E., Antoniou A., Mallas H., Androulakis G. (2002) *Helicobacter pylori* infection in hospital workers over a 5-year period: correlation with demographic and clinical parameters. *J Gastroenterology* 37: 1005-1013.
- Trieber C.A., Taylor D.E. (2002) Mutations in the 16S *rRNA* genes of *Helicobacter pylori* mediate resistance to tetracycline. *Bacteriol* 184: 2131-2140.
- Uemura N., Okamoto S., Yamamoto S., Matsumura N., Yamaguchi S., Yamakido M., Taniyama K., Sasaki N., Schlemper R.J. (2001) *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *Journal Medical* 345: 784-789.
- Upile T., East C., Paun S., Patel N., Battacharyya A. (2002) *Helicobacter pylori* infection in surgical personnel. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 27: 310-313.
- Vakil N., Mégraud F. (2007) Eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 133: 985-1001.

- Vale F.F., Vítor J.M. (2010) Transmission pathway of *Helicobacter pylori*: does food play a role in rural and urban areas? Int J Food Microbiol 138: 1-12.
- van Zwet A.A., Vandenbroucke-Grauls C.M., Thijs J.C., van der Wouden E.J., Gerrits M.M., Kusters J.G. (1998) Stable amoxicillin resistance in *Helicobacter pylori*. Lancet 352: 1595.
- Velasco Elizalde C., Fernández Ferrer M.A., Rodríguez Muñiz N. (2007) Serologic diagnosis of *Helicobacter pylori* in endoscopy personnel. Serology in endoscopists. Review Esp Enferm Dig 99: 88-93.
- Versalovic J., Shortridge D., Kibler K., Griffy M.V., Beyer J., Flamm R.K., Tanaka S.K., Graham D.Y., Go M.F. (1996) Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrobial Agents Chemother 40: 477-480.
- Villoria A., Garcia P., Calvet X., Gisbert J.P., Vergara M. (2008) Meta-analysis: High-dose proton pump inhibitors vs. Standard dose in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. Aliment Pharmacol Ther 28: 868-877.
- Weigt J., Malfertheiner P., Griffy M.V., Beyer J., Flamm R.K., Tanaka S.K. (2009) Influence of *Helicobacter pylori* on gastric regulation of food intake. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 12: 522-525.
- Weisblum B. (1995) Erythromycin resistance by ribosome modification. Antimicrobial Agents Chemother 39: 577-585.
- Wotherspoon A.C., Ortiz-Hidalgo C., Falzon M.R., Isaacson P.G. (1991) *Helicobacter pylori* -associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. Lancet 338: 1175-1176.
- Wu J.Y., Kim J.J., Reddy R., Wang W.M., Graham D.Y., Kwon D.H. (2005) Tetracycline-resistant clinical *Helicobacter pylori* isolates with and without mutations in 16S rRNA-encoding genes. Antimicrob Agents Chemother 49: 578-583.
- Xiao S.D., Liu W.Z., Xia D.H., Jiang S.J., Wang R.N., Zhang Z.H., Xu W.W. (1990) The efficacy of furazolidone and métronidazole in the treatment of chronic gastritis associated with *Helicobacter (Campylobacter) pylori*: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. Hepatology Gastroenterology 37: 503-506.
- Yaghoobi M., Bijarchi R., Narod S.A. (2010) Family history and the risk of gastric cancer. Journal sur le Cancer 102: 237-242.
- Yinyang. (2014) Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville Douala (Cameroun). Journal d'Application de Bioscience 78: 1-18.

- Zullo A., Perna F., Hassan C. (2007) Primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated in northern and central Italy. *Aliment Pharmacology Therapie* 25: 1429-1434.

Liens ou sites consultés

- <http://www.helicobacter.fr/index.php/diagnostic-tests-invasifs/bacteriologie> Webmaster. Tous droits réservés. Accès le 12 avril 2016.
- http://www.helicobacter.com/h_epidemiology.html Webmaster. Tous droits réservés. Accès le 12 avril 2016.
- http://umvf.univnantes.fr/hepato-gastro-enterologie/enseignement/item290/site/html/1_14_1.html Webmaster. Tous droits réservés. Accès le 12 avril 2016.
- <https://wf.lerelaisinternet.com/wf029/consultation/fichesanal/fichesinterp/infectiologie> Webmaster. Tous droits réservés. Accès le 12 avril 2016.
- http://www.medicbc.com/meditline/review/brulures/vol_1/num_3/text/vol1n3p141.asp Webmaster. Tous droits réservés. Accès le 12 avril 2016.
- http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php Webmaster. Tous droits réservés 2002/2016. Accès le 29 avril 2016.
- http://www.mi-aime-a-ou.com/emilia_coccinea.php Webmaster. Tous droits réservés 2002/2016. Consulté le 29 avril 2016.



ANNEXES

Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

milieu Columbia (1 litre)	milieu Cœur-cerveille (1 litre)	Milieu urée –idole (1 litre)
Polypeptones : 17,0 g/L	Broth Hearth Infusion from 250 ml	L-tryptophane : 3 g
Peptone pancréatique de cœur : 3,0 g/L	Calf brain, infusion from 200ml	Urée : 20 g
Amidon de maïs : 1,0 g/L	Proteose peptone 10g	Monophydrogénophosphate de potassium : 1 g
Chlorure de sodium : 5,0 g/L	Sodium chloride 5g	Dihydrogénophosphate de potassium : 1 g
Extrait de levure : 3,0 g/L	Dextrose 2g	Chlorure de sodium : 5 g et Éthanol à 95 °GL : 10 ml
Agar : 13,5 g/L	Disodium phosphate 2,5g	Rouge de phénol : 25 mg
pH = 7,3 ± 0,2	pH 7,4±0,2	Eau distillée : 1 l

Annexe 2 : Test de viabilité, activation des isolats et test de sensibilité



A : test rapide à uréase

B : activation des isolats

C : test de sensibilité

Annexe 3 : Quelques résultats des tests de sensibilité



Annexe 4 : Planche de la fiche pédagogique

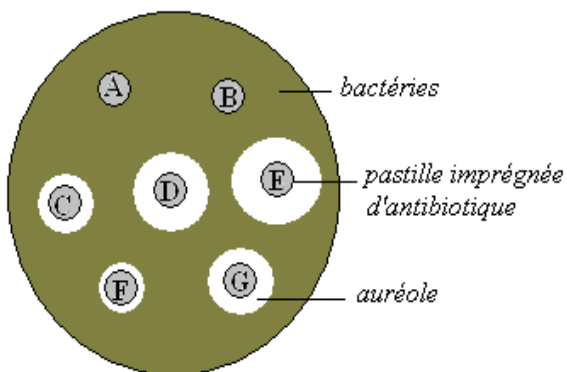
Document 1: Chimiothérapie



Administration des produits chimiques pour lutter contre la maladie

Document 2: Antibiothérapie

Sur une culture d'une souche microbienne, plusieurs pastilles imprégnées chacune d'un antibiotique différent sont déposées. Après une période d'incubation, les auréoles se forment plus ou moins autour de chaque pastille. L'antibiotique ayant la plus grande auréole est le plus efficace contre le germe dont souffre le malade.



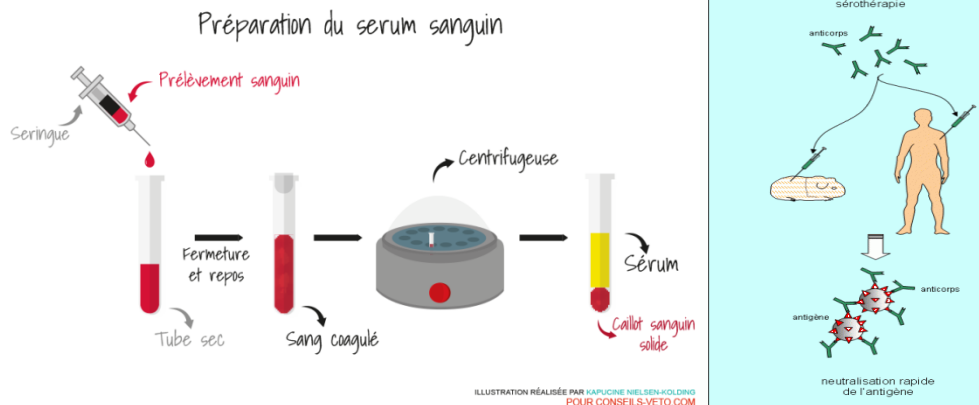
Parmi les antibiotiques A, B, C, D, E, F et G de la figure2, quels sont ceux qui :

- n'ont pas d'activités ?
- ont une activité moyenne ?
- un large spectre d'action ?

Sélection de l'antibiotique le plus efficace contre la souche microbienne par Antibiogramme

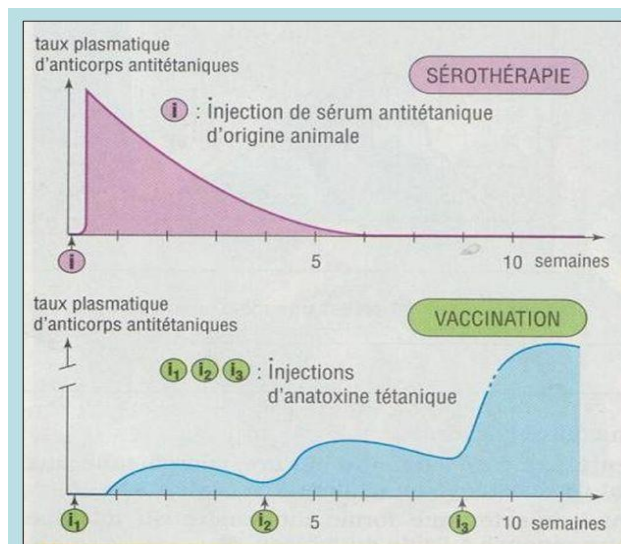
Potentialisation de l'effet antimicrobien des antibiotiques par l'extrait méthanolique de Emilia coccinea (Asteraceae) vis-à-vis de quelques isolats cliniques de Helicobacter pylori à phénotype multi-drugs-résistants

Document 3: Sérothérapie



Préparation et administration du sérum thérapeutique pour lutter contre la maladie.

Document 4: Séro-vaccinothérapie



Association de la sérothérapie et de la vaccination pour lutter contre la maladie.