

UTILISATION COUPLÉE DU TEST RAPIDE À L'URÉASE ET DE LA MICROSCOPIE POUR LA VULGARISATION DU DIAGNOSTIC DE L'INFECTION

À *HELICOBACTER PYLORI*

GBONON MBENGUE VALÉRIE C.¹, GNAHORÉ DJÉDA FRANCK ARNAUD²,
DIPLO TCHEPÉ FLORE BERNADETTE¹, N'GUÉSSAN JEAN-DAVID²,
DJAMAN ALLICO JOSEP^{1,2} GUESSENND NATHALIE¹, DOSSO MIREILLE¹

RESUME

L'infection à *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est l'infection bactérienne chronique la plus répandue dans le monde. En Côte d'Ivoire, l'examen histologique est la méthode de diagnostic la plus utilisée. Des méthodes basées sur l'évaluation des caractères biochimiques et bactériologiques de *H. pylori* seraient une alternative dans la vulgarisation du diagnostic de l'infection à *H. pylori*. Cette étude s'est déroulée de septembre à novembre 2016. Un total de trente patients a été inclus dans l'étude et soixante biopsies gastriques ont été collectées à raison de deux biopsies par patient dont

une biopsie au niveau de l'antrum et une au niveau du fundus. Le test rapide à l'uréase présentait une sensibilité de 88% et une spécificité de 100%. La vitesse de virage du test à l'uréase est significativement corrélée avec la quantité de *H. pylori* observée au microscope. L'utilisation couplée de la microscopie et du test rapide à l'uréase confère un taux de 88 % de réussite dans le diagnostic de *H. pylori*.

Mots-clés : *H. pylori* ; TEST RAPIDE À L'URÉASE ; MICROSCOPIE, BIOPSIES GASTRIQUE.

I. INTRODUCTION

L'infection à *H. pylori* est une infection bactérienne très répandue dans le monde avec une prévalence d'environ 50%^(1,2,3). Cette prévalence varie en fonction du statut socio-économique des individus et du degré de promiscuité⁽⁴⁾. *H. pylori* est la principale cause de pathologies gastriques tels que les gastrites, les maladies ulcérées, le lymphome de Malt et le cancer gastrique^(5,6,7). Le diagnostic est basé sur deux types de méthodes, les méthodes invasives nécessitant des prélèvements de biopsie, constituées de l'examen histologique, du test rapide à l'uréase, de la culture et de la détection moléculaire^(8,9) et des méthodes non invasives qui comprennent la sérologie, le test respiratoire et la détection immunologique des antigènes bactériens dans les selles⁽¹⁰⁾.

En Côte d'Ivoire, l'examen histologique est la méthode de diagnostic la plus utilisée et la seule façon de contrôler l'éradication de la bactérie étant donné l'indisponibilité des méthodes telles que la culture et la détection moléculaire nécessitant l'acquisition d'un plateau technique difficilement accessible par les petits laboratoires et centres hospitaliers régionaux. Par conséquent, des méthodes basées sur l'évaluation des caractères biochimiques et bactériologiques de *H. pylori* seraient une alternative dans la vulgarisation du diagnostic de l'infection à *H. pylori* dans notre contexte hospitalier. Le but de ce travail est de contribuer à la vulgarisation du diagnostic de *H. pylori* directement à partir de biopsies gastriques en associant le test rapide à l'uréase et la microscopie.

1- Département de Bactériologie Virologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

2- Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire

II. MATERIEL ET METHODES

II-1. MATERIEL

Cette étude s'est déroulée de septembre à novembre 2016 et à concerner cinq établissements sanitaires privés de la ville d'Abidjan pour la collecte des échantillons de biopsies gastriques. Les patients ambulatoires ou hospitalisés présentant une symptomatologie clinique justifiant d'une endoscopie digestive haute avec biopsie ont été inclus dans l'étude. Un consentement libre et éclairé était obtenu du patient avant chaque prélèvement. Les patients présentant une hémorragie digestive lors des prélèvements n'ont pas été inclus dans l'étude. Pour chaque patient, deux biopsies gastriques ont été collectées, une au niveau de l'antrum et une au niveau du fundus. Les biopsies gastriques ont été envoyées au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour les analyses bactériologiques et enzymatiques.

II-2. MÉTHODES

II-2-1. Test rapide à l'uréase

Les fragments de biopsie fraîchement prélevés ont été déposé dans du tube de 1,5 mL contenant 0,5 mL de milieu Urée-Indole dans l'heure qui suivait le prélèvement. Le test était positif lorsque le milieu Urée-Indole dans lequel était plongé la biopsie passait dans un délai 30 min à 1 heure, de la coloration jaune-orangé à la coloration rose fuchsia indiquant une activité uréasique. Il était donc négatif lorsque le milieu ne changeait pas de coloration au bout d'une heure.

II-2-2. Observation au microscope optique

L'observation au microscope a nécessité au préalable une coloration de Gram des frottis réalisés à partir de biopsies gastriques. En particulier, la fuchsine utilisée pour l'étape de recoloration des frottis était concentrée contrairement à la fuchsine non concentrée. L'observation s'est faite au microscope optique à X100 et à immersion. Les *Helicobacter pylori*

à la coloration de Gram, apparaissent colorées en rose, spiralées. Elles sont parfois rares ou groupées en « bande de poisson ». La présence de *H. pylori* a été constatée devant toute lame présentant des bactéries de morphologie typique au frottis coloré que le test rapide à l'uréase soit positif ou non.

II-2-3. Méthodes statistiques

La sensibilité et la spécificité du test rapide à l'uréase a été évalué en calculant les valeurs prédictives positives et les valeurs prédictives négatives en utilisant la microscopie comme test standard. La corrélation entre les deux tests diagnostiques a été étudiée à l'aide du logiciel R en utilisant le test exact de Fisher avec un coefficient de significativité $p < 0.05$.

III. RESULTATS

III-1. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DES PATIENTS.

La population étudiée était à majorité féminine à 67% (20/30) avec un sex ratio H/F de 0,5. La tranche d'âge la plus fréquente était celle supérieure à 50 ans. La moyenne d'âge était de 37 ans avec un minimum de 17 ans et un maximum de 63 ans. Le motif de consultation majeur était l'épigastralgie (50%). La répartition des patients selon le profil épidémiologique est présentée dans le tableau 1.

III-2. PRÉVALENCE DE L'INFECTION DANS LA POPULATION ÉTUDIÉE

La prévalence de l'infection à *H. pylori* selon la microscopie était de 60 %. Le test rapide à l'uréase présentait une sensibilité de 88% et une spécificité de 100% pour une valeur prédictive positive de 100% et une valeur prédictive négative de 86% (Tableau 2).

III-3. CORRÉLATION ENTRE LES DEUX TECHNIQUES

L'étude de la corrélation entre la vitesse de virage du test rapide à l'uréase et la quantité de *H. pylori* observée dans les frottis (Tableau 3), a permis d'obtenir une valeur de $p = 0.002$ pour

un seuil de significativité $\alpha=0,05$. Cette valeur permet d'affirmer qu'il existe une corrélation entre la vitesse de virage du test rapide à l'uréase et la quantité de *H. pylori* observée.

Tableau 1 : Répartition des patients selon le profil épidémiologique.

	Patients	Effectif	Pourcentage %
Sexe	Homme	10	33
	Femme	20	67
Age	< 20 ans	5	16,66
	21-30 ans	5	16,66
Profession	31-40 ans	7	23,33
	41-50 ans	5	16,66
Indication endoscopique	> 50 ans	8	26,66
	Sans emploi	9	30
Indication endoscopique	Employé	7	23,33
	Etudiants et élèves	6	20
Indication endoscopique	Secteur informel	8	26,66
	Epigastralgie	15	50
Dyspepsie	Dyspepsie	7	23,33
Vomissements intempestifs	Vomissements intempestifs	3	10
Autres	Autres	5	16,66

Tableau 2 : Sensibilité ; Spécificité, Valeur Prédictive Positive et Valeur Prédictive Négative du test à l'urée.

Résultat du test	Présence de <i>H. pylori</i>	Absence de <i>H. pylori</i>	Total	
Test positif	31	0	31	VPP = 100%
Test négatif	4	25	29	VPN = 86%
Total	35	25	60	
Sensibilité =		Spécificité		
88%		=100%		

Tableau 3 : Corrélation entre la vitesse de virage du test rapide à l'uréase et la quantité de *H. pylori* observée.

Quantité de bactéries observées	Vitesse du virage du test à l'urée			Total
	Rapide	Lent	Très lent	
Abondant	14	0	0	14
Moyennement abondant	6	3	1	10
Faible	2		3 2	7
Total	22	6	3	31

DISCUSSION

En côté d'Ivoire, la fréquence de l'infection à *H. pylori* reste élevée et demeure un véritable problème de santé publique (11). Cette étude a été mené pour fournir une alternative aux petits laboratoires et centres hospitaliers régionaux afin de vulgariser le diagnostic de l'infection à *H. pylori* car les méthodes utilisées sont accessibles. Dans notre population d'étude, une prédominance féminine a été observé à 67%. Ces résultats sont comparables à ceux d'une étude ivoirienne qui a relevé une prédominance féminine de 62,2% (12). La prévalence de l'infection à *H. pylori* selon notre étude est de 60% et se positionne largement dans l'intervalle des valeurs observées dans les séries Africaines variant entre 55% et 94% (13,14,15). Des résultats similaires ont été observés d'abord par Baako et Darko qui ont obtenu une prévalence de l'infection de 74,4% chez des patients ghanéens atteints de dyspepsie en utilisant également le test rapide à l'uréase (16) et ensuite chez Holcombe *et al* au nord-est du Nigeria qui ont obtenu une prévalence de 84%

chez des patients atteins de dyspepsie en utilisant l'histologie avec une coloration au Giemsa modifié (17). Ces prévalences élevées de l'infection à *H. pylori* obtenues pourraient être dues aux pratiques socioculturelles et aux conditions environnementales particulièrement décrite en Afrique et qui favoriseraient une infection précoce c'est-à-dire contractée dans l'enfance. Des études menées en Amérique du sud ont montré qu'il existe une association entre l'infection à *H. pylori* et les conditions d'hygiène liée à la pauvreté (18,19). La prévalence de l'infection à *H. pylori* de 60% dans notre étude reste supérieure à celles des études européennes qui varient entre 20% et 30% (12,13), Américaines (9,4%) (20), Canadiennes (23,1%) (21), Chinoises (42,8%) (22) et Iranaises (43%) (23). Cette prévalence pourrait s'expliquer par les conditions de précarité et de promiscuité qui caractérisent certaines populations des pays en voie de développement. La sensibilité et la spécificité du test à l'uréase sont respectivement de 88% et 100%. Ces résultats

sont en accord avec ceux de certains auteurs qui ont montré que le test à l'urée a une sensibilité de 90% et une spécificité de 100% (8, 24, 25). Le test rapide à l'uréase est un test simple et rapide, mais la sensibilité est influencée par la densité bactérienne dans la biopsie (26,27,28).

La quantité de bactéries observée au microscope sur les frottis est significativement corrélée avec la vitesse du virage de l'indicateur de pH du test à l'uréase. Adiloglu *et al* ont montré qu'il

existait une corrélation entre les valeurs élevées de la détection des antigènes dans les selles (HpSa) et la charge bactérienne au niveau de l'estomac (29). Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Labenz et al qui ont étudié la vitesse de réaction du test à l'uréase ainsi que le dégagement de $^{13}\text{CO}_2$ dans le test respiratoire à l'urée marqué, ils ont montré que ces deux tests étaient significativement corrélés avec la densité de *H. pylori* déterminée histologiquement (30).

CONCLUSION

Le test rapide à l'uréase et la microscopie sont deux méthodes d'analyses accessibles par les hôpitaux régionaux et les petits laboratoires d'analyses médicales manquant de matériels de pointe. La vitesse du virage du test à l'uréase est significativement corrélée avec la quantité de

H. pylori observée au microscope. L'utilisation couplée de la microscopie et du test rapide à l'urée confère un taux de 88 % de réussite dans le diagnostic de *H. pylori*. Associés, ces deux tests peuvent être utilisés à titre informatif sur le niveau d'infestation de l'estomac par *H. pylori*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

1. Broutet, N. (1999). Epidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori*. *Revue Française des Laboratoires*, 1999(316), 25-31.
2. de Korwin, J. D. (2014). *Helicobacter pylori* 30 years after: What's new?. *La Revue de médecine interne/fondée... par la Société nationale française de médecine interne*, 35(9), 561.
3. MÉGRAUD, F. (2003). Quand et comment s'infecte-t-on par *Helicobacter pylori*? *Gastroentérologie clinique et biologique*, 27(3-C2), 374-379.
4. De Korwin, J. D., 2015.- Infection à *Helicobacter pylori*, place de l'interniste 72^e congrès de la Société nationale française de médecine interne, Tours, pp 10-12.
5. Logan, R. H. (1994). Conference: *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *The Lancet*, 344(8929), 1078-1079.
6. Watanabe, T., Tada, M., Nagai, H., Sasaki, S., & Nakao, M. (1998). *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils. *Gastroenterology*, 115(3), 642-648.
7. Moussata D., De Korwin J. D., 2014.- Gastrites chroniques. EMC gastro-entérologie ; 0(0):1-12
8. Cutler, A. F., Havstad, S., Ma, C. K., Blaser, M. J., Perez-Perez, G. I., & Schubert, T. T. (1995). Accuracy of invasive and non-invasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*, 109(1), 136-141.
9. Ricci, C., Holton, J., & Vaira, D. (2007). Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best practice & research Clinical Gastroenterology*, 21(2), 299-313.
10. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, et al. (2012) Management of *Helicobacter pylori* infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. *Gut* 61: 646-664
11. Doffou, A. S., Attia, K. A., Bathaix, M. F. Y., Bangoura, A. D., Kissy-Anzouan, Y. H., Kouamé, H. D., ... & N'dri-Yoman, A. T. (2015). The *Helicobacter pylori* eradication rate in a high prevalence area (West Africa): three triple therapy comparative study. *Open Journal of Gastroenterology*, 5(12), 200.
12. Bernadette, D., Valérie, C. G., Nathalie, G., Francis, Y., Solange, K., Aboulaye, O., David, C., Joseph, D., & Mireille, D. (2017). Molecular Detection of Antibiotic Resistance of *Helicobacter pylori* from Gastric Biopsies in Abidjan (Côte d'Ivoire). *Microbiology Research Journal International*, 20(1), 1-7. <https://doi.org/10.9734/MRJI/2017/32912>

13. Mathewos, B., Moges, B., &Dagnew, M. (2013). Seroprevalence and trend of *Helicobacter pylori* infection in Gondar University Hospital among dyspeptic patients, Gondar, North West Ethiopia. *BMC research notes*, 6(1), 346.
14. Andoulo, F. A., Noah, D. N., Tagni-Sartre, M., Ndam, E. C. N., &Blackett, K. N. (2013). Epidémiologie de l'infection à *Helicobacter pylori* à Yaoundé: de la particularité à l'énigme Africaine. *The Pan African Medical Journal*, 16.
15. Olokoba, A. B., Gashau, W., Bwala, S., Adamu, A., &Salawu, F. K. (2013). *Helicobacter Pylori* Infection in Nigerians with Dyspepsia. *Ghana medical journal*, 47(2), 79-81.
16. Baako, B. N., & Darko, R. (1996). Incidence of *Helicobacter pylori* infection in Ghanaian patients with dyspeptic symptoms referred for upper gastrointestinal endoscopy. *West African journal of medicine*, 15(4), 223-227
17. Holcombe, C., Umar, H., Lucas, S. B., & Kaluba, J. (1994). Low incidence of clinically significant gastroduodenal pathology despite a high incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88(5), 569-571.
18. Epplein, M., Signorello, L. B., Zheng, W., Peek, R. M., Michel, A., Williams, S. M., ... & Blot, W. J. (2011). Race, African ancestry, and *Helicobacter pylori* infection in a low-income United States population. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, cebp-1258.
19. González, N., Fernández, L., Pérez, P. G., Saona, G., Raisler, K., Eugenia, T. M., ... & Cohen, H. (2010). *Helicobacter pylori* infection in Uruguayan patients of African origin: clinical, endoscopic and genetic characteristics. *Acta gastroenterologica Latinoamericana*, 40(3), 206-210.
20. Jackman RP, Schlinchting C, Carr W, Dubois A: Prevalence of *Helicobacter pylori* in United States navy submarine crews. *Epidemiol Infect* 2006, 134:460-464
21. Naja F, Kreiger N, Sullivan T: *Helicobacter pylori* infection in Ontario: prevalence and risk factors. *Can J Gastroenterol* 2007, 21:501-506.
22. Xia B, Xia HHX, Ma CW, Wong KW, Fung FMY, Hui CK, Chan CK, Chan AOO, Lai KC, Yuen MF, Wong BCY: Trends in the prevalence of peptic ulcer disease and *H. pylori* infection in Hong Kong. *Aliment Pharmacol Ther* 2005, 22:243-249.*
23. Sheikhian A, Ataherian S, Delfan M, Ebrahimzadeh F, Pournia Y: Prevalence and risk factor analysis of *H. pylori* health center referrals in Khorramabad (West Iran). *Asian J Epidemiol* 2011, 4:1-8
24. Saleem, M., Marudavanan, R., Gopal, R., & Mangayarkarasi, T. (2017). A comparative study of rapid urease test and dilute carbol fuchsin staining technique for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(12), 3608-3610.
25. Conclusions et recommandations révisées du Groupe de travail. Conférence de consensus *Helicobacter pylori* - Révision 1999. *Gastroenterol Clin Biol* 1999;23:C95-C104.
26. Xia HX, Keane CT, O'Morian CA. Pre-formed urease activity of *Helicobacter pylori* as determined by a viable cell count technique-clinical implication. *J Med Microbiol* 1994;40:435-439.
27. Thijs, J. C., Van Zwet, A. A., Thijs, W. J., Oey, H. B., Karrenbeld, A., Stellaard, F., ... & Kleibeuker, J. H. (1996). Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *American Journal of Gastroenterology*, 91(10).
28. James Versalovic, *Helicobacter pylori*: Pathology and Diagnostic Strategies, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 119, Issue 3, March 2003, Pages 403-412
29. Adiloglu, A. K., Isler, M., Goren, I., Candir, O., Senol, A., Onal, S., & Karahan, N. (2007). Quantitative correlation of *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test with the severity of *H. pylori*-related gastritis. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 212(2), 159-167.
30. Labenz, J., Borsch, G., Peitz, U., Aygen, S., Henemann, O., Tillenburg, B., ... & Stolte, M. (1996). Validity of a novel biopsy urease test (HUT) and a simplified 13C-urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and estimation of the severity of gastritis. *Digestion*, 57(6), 391-397.