

## ■ Revues générales

# Diagnostic des infections pédiatriques à *Helicobacter pylori* par PCR dans les selles

**RÉSUMÉ :** Plusieurs kits de PCR en temps réel réalisés à partir des selles des patients ont été récemment mis sur le marché, permettant de diagnostiquer l'infection par *H. pylori* et de détecter sa résistance à la clarithromycine d'une manière non invasive. Certains de ces kits ont d'excellentes performances. Cette innovation va révolutionner le diagnostic des infections à *H. pylori*, particulièrement chez l'enfant, en permettant un traitement adapté à la résistance de la bactérie sans avoir recours à une technique invasive. La PCR à partir des selles sera particulièrement contributive quand l'endoscopie ne sera pas indiquée ou que les biopsies gastriques n'auront pas été réalisées spécifiquement pour l'envoi à un laboratoire spécialisé capable d'effectuer une culture et un antibiogramme et/ou une PCR.



**N. SALHI<sup>1</sup>, J. RAYMOND<sup>2</sup>, C. BURUCOA<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Service de pédiatrie, CH de NIORT,

<sup>2</sup> Laboratoire de bactériologie,

Hôpital du KREMLIN-BICÊTRE,

<sup>3</sup> Laboratoire de bactériologie hygiène,

CHU de POITIERS.

## ■ En préambule

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) est une bactérie spiralée microaérophile à Gram négatif colonisant les cryptes de la muqueuse gastrique des humains [1]. *H. pylori* ne possède pas de réservoir animal ni environnemental [2]. La transmission est interhumaine, essentiellement intrafamiliale, et s'effectue dans les premières années de la vie [2]. *H. pylori* infecte la moitié de la population mondiale, 30 % de la population française. La prévalence, faible chez les enfants, augmente avec l'âge (effet de cohorte). Elle est plus élevée chez les personnes originaires de pays en développement [2].

La majorité des personnes infectées présente une gastrite chronique, la plupart du temps asymptomatique. Seulement 5 à 10 % des personnes infectées vont développer, le plus souvent à l'âge adulte, un ulcère gastrique ou duodénal et 1 à 3 % un cancer gastrique (adénocarcinome ou lymphome du MALT) [1]. En France, cela représente chaque année

80 000 cas d'ulcères gastroduodénaux et 6 000 cancers gastriques (taux de survie à 5 ans de 20 %). *H. pylori* est reconnu comme carcinogène de classe 1 par l'Organisation mondiale de la santé ([OMS] 800 000 morts par cancer gastrique dans le monde chaque année). Les enfants et les adolescents développent rarement des complications de l'infection chronique par comparaison à l'adulte, et les indications de recherche et de traitement d'une infection à *H. pylori* sont restreintes à la rare maladie peptique de l'enfant [3].

Les traitements d'éradication de l'infection par *H. pylori* comprennent un inhibiteur de la pompe à protons (IPP) associé à 2 ou 3 antibiotiques, choisis parmi la clarithromycine, l'amoxicilline, la lévofloxacine, le métronidazole, la tétracycline et la rifamycine. Le traitement guérit les ulcères gastroduodénaux et évite leurs récurrences, il prévient l'évolution vers l'adénocarcinome gastrique et guérit les lymphomes du MALT sans translocation associée [4]. En France, les indications de diagnostic

## Revue générale

et de traitement des adultes sont bien encadrées par des recommandations de la Haute Autorité de santé (HAS). Pour les enfants, plusieurs recommandations ont déjà été publiées [5, 6].

Chez l'enfant, le diagnostic initial doit reposer sur l'endoscopie digestive haute avec prélèvement de biopsies gastriques antrales et fundiques. Il est en effet recommandé de tester systématiquement la susceptibilité aux antibiotiques des souches bactériennes avant le début de l'antibiothérapie afin de guider le choix des antibiotiques (antibiothérapie orientée). La détection des résistances ne pouvait se faire jusqu'à maintenant que par culture ou PCR à partir des biopsies gastriques prélevées au cours d'une endoscopie. En pratique, en l'absence de résistance à l'amoxicilline et en raison du manque de fiabilité de la détermination de la résistance au métronidazole, la détection de la résistance à la clarithromycine est le point clé du choix thérapeutique. Si la souche infectante est sensible à la clarithromycine, une trithérapie par IPP-amoxicilline-clarithromycine permet une éradication dans plus de 90 % des cas. Si la souche est résistante à la clarithromycine, on choisira une trithérapie par IPP-amoxicilline-métronidazole.

### Résistance aux antibiotiques de *H. pylori*

La résistance aux antibiotiques utilisés dans le traitement d'éradication est la première cause d'échec des traitements. La mauvaise observance en est la deuxième, elle est favorisée par les effets secondaires importants des associations d'antibiotiques.

Chez *H. pylori*, la résistance aux antibiotiques est due à des mutations dans les gènes codants pour les cibles des antibiotiques. De nombreuses mutations responsables de la résistance à la clarithromycine ont été décrites dans l'ADNr23S, à la lévofloxacine dans le gène

*gyrA*, à la tétracycline dans l'ADNr16S, à la rifamycine dans le gène *rpoB*, au métronidazole dans les gènes *rdxA* et *frxA*, à l'amoxicilline dans le gène de la PLP-1A. Les infections à *H. pylori* associent parfois plusieurs souches (infection multiple) ou une seule souche mais avec coexistence d'isolats sensibles et résistants aux antibiotiques (infection mixte) [7, 8].

La résistance de *H. pylori* aux antibiotiques n'a cessé de progresser depuis la découverte de cette bactérie en 1982. La résistance primaire (patients naïfs de traitement anti-*H. pylori*) atteint aujourd'hui en France 23 % pour la clarithromycine, 30 % pour le métronidazole et 5 % pour la lévofloxacine chez l'enfant (données personnelles). La résistance à la clarithromycine est généralement plus élevée chez les enfants, soumis à une plus forte pression de sélection par les macrolides que les adultes [8]. Cette augmentation de la prévalence de la résistance primaire de *H. pylori* a été responsable de l'augmentation des échecs thérapeutiques de la trithérapie (IPP-amoxicilline-clarithromycine) proposée comme traitement empirique de première ligne dès 1995 [4]. Depuis 10 ans, les consensus se sont adaptés à cette situation en proposant l'utilisation toujours empirique de quadrithérapies non bismuthées (IPP + 3 antibiotiques) ou bismuthée (IPP + bismuth et 2 antibiotiques) [4]. Cette escalade thérapeutique est vraisemblablement responsable de l'augmentation continue de la prévalence de la résistance aux antibiotiques de *H. pylori*.

En France, ce n'est qu'en 2017 qu'un traitement guidé par les résultats d'un antibiogramme réalisé sur la souche isolée par culture ou d'une PCR détectant les mutations responsables de la résistance à la clarithromycine a été recommandé par le Groupe d'études français des *Helicobacter* (GEFH) puis par la HAS [5]. Cette stratégie de traitement guidé nécessite la réalisation de biopsies gastriques, et la culture de cette bactérie de culture délicate et/ou d'une PCR en temps réel.

Cette stratégie est fortement freinée par le caractère invasif de la fibroscopie, la difficulté de la culture et le non-remboursement de la PCR.

Le diagnostic des infections à *Helicobacter pylori* chez l'enfant nécessite, plus que chez l'adulte, de pratiquer des examens invasifs reposant sur la pratique d'une endoscopie gastroduodénale et de biopsies gastriques [3]. Les recommandations européennes et américaines pédiatriques préconisent en effet de ne traiter une infection à *H. pylori* que sur documentation microbiologique de la sensibilité aux antibiotiques [6]. En France et dans de nombreux pays, la difficulté de l'accessibilité à la culture et à l'antibiogramme freine le recours à un traitement guidé. Il est fréquent que le diagnostic de l'infection à *H. pylori* soit obtenu par l'examen histologique sans que des biopsies aient été adressées à un laboratoire de bactériologie capable de réaliser un antibiogramme. Dans cette situation fréquente, un test non invasif permettant de confirmer l'infection et de détecter la résistance à la clarithromycine révolutionnerait la prise en charge des infections à *H. pylori* de l'enfant en permettant un traitement guidé.

### PCR dans les selles pour la détection de l'infection à *H. pylori* et de sa résistance à la clarithromycine

Plusieurs kits de détection par PCR de *H. pylori* et des mutations qui confèrent la résistance à la clarithromycine ont été développés sur les selles, certains commercialisés [9-16]. Ces tests réalisent une étape d'extraction de l'ADN fécal puis une étape d'amplification/hybridation par PCR en temps réel multiplexée, ciblant un gène spécifique de *H. pylori* pour détecter l'infection et la résistance à la clarithromycine. Les résultats sont obtenus en moins de 6 heures.

Les performances (sensibilité, spécificité) de la détection de l'infection ont été

évaluées en prenant comme référence la culture associée à un autre test invasif (histologie, PCR, test rapide de l'uréase) pratiquée à partir des biopsies gastriques de patients adultes ou pédiatriques. Les performances de la détection de la résistance à la clarithromycine ont été évaluées en prenant comme référence l'antibiogramme par détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches isolées en culture à partir des biopsies gastriques.

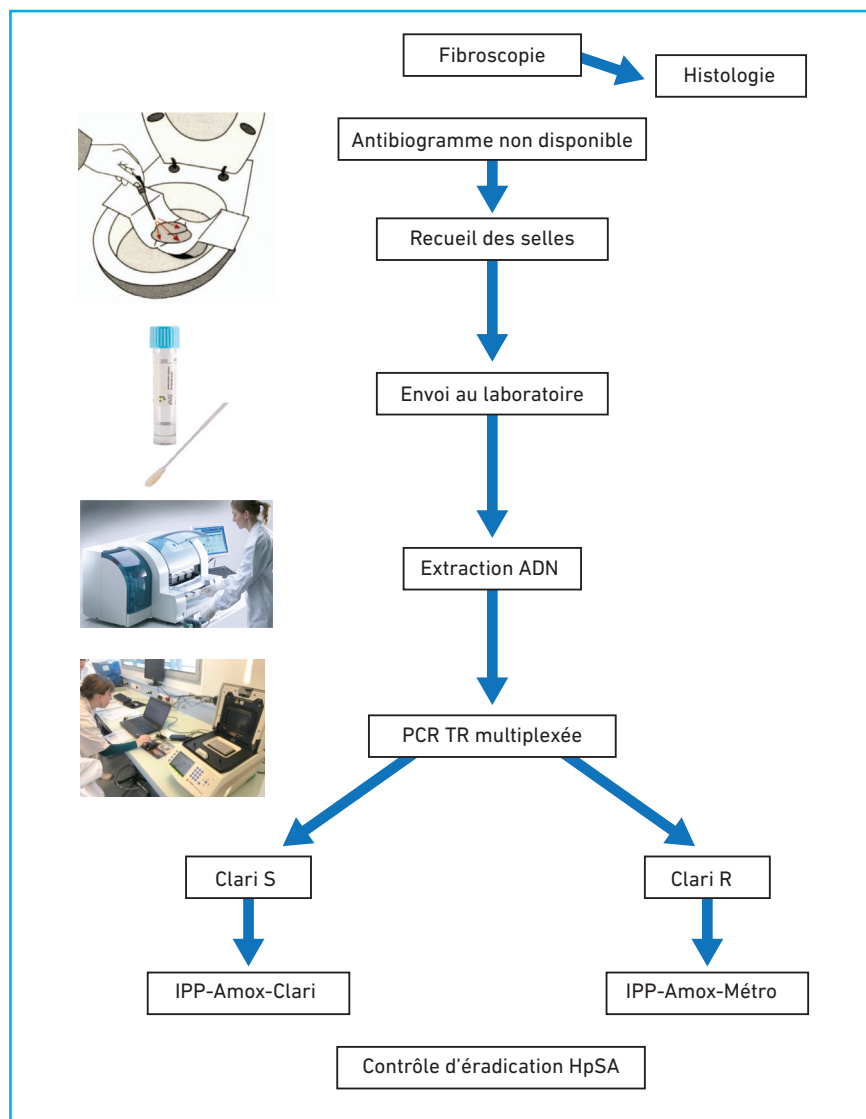
14 études ont été publiées dont 4 en population pédiatrique. Malgré des petits effectifs (23 à 294 patients) et des populations sélectionnées à forte prévalence de l'infection et de la résistance, elles rapportent des performances variables mais souvent excellentes, avec une sensibilité et une spécificité de détection de l'infection supérieures à 90 % pour 9/14 études. Les sensibilités et spécificités de détection de la résistance à la clarithromycine étaient > 90 % dans 7/11 études.

La dernière étude publiée en 2020 par notre équipe a été réalisée chez 1 086 patients adultes consécutifs inclus en multicentrique en France [16]. Elle a évalué les performances d'un kit récemment commercialisé: Amplidiag Helico ClariR. Elle rapporte d'excellentes performances de détection de l'infection (sensibilité 96 %, spécificité 99 %) et de détection de la résistance à la clarithromycine (sensibilité 100 %, spécificité 98 %), démontrant les qualités analytiques de cette technique de diagnostic non invasif. Elle démontre par ailleurs une très bonne adhésion des patients à la réalisation d'un auto-prélèvement au domicile à l'aide d'un kit de recueil des selles, constitué d'une nacelle en papier biodégradable à scotcher sur la cuvette des toilettes, d'un tube de conservation de l'ADN fécal (eNat, Copan) avec écouvillon permettant de prélever un peu de selles dans la nacelle. Le tube était adressé par courrier au laboratoire. L'adhésion à cet auto-prélèvement a été de 92 %, ce qui est exceptionnel pour un recueil de selles en France.

L'ensemble de ces publications souligne l'intérêt de la PCR de détection de *H. pylori* et de sa résistance à la clarithromycine à partir des selles. Les performances rapportées de ces tests sont excellentes. Elles doivent maintenant être confirmées en population pédiatrique. Ces très bonnes performances en font un outil diagnostique qui doit s'inscrire dans la stratégie de prise en charge

des infections à *H. pylori*, particulièrement chez l'enfant chez qui le caractère non invasif doit être privilégié. Cette technique devrait largement favoriser l'accès au traitement guidé dont la meilleure efficacité et l'intérêt médico-économique ont largement été démontrés.

Nous proposons en **figure 1** une stratégie de prise en charge des infections à



**Fig. 1 :** Proposition de stratégie thérapeutique des infections à *H. pylori* basée sur le test non invasif de la PCR dans les selles quand l'antibiogramme n'est pas disponible. Le recueil des selles se fait à domicile grâce à une nacelle jetable. Le prélèvement est acheminé au laboratoire par courrier à température ambiante en tube de conservation (ici eNat, Copan). L'extraction de l'ADN fécal peut être réalisé sur un automate (ici EasyMag, Biomérieux). La PCR est réalisée sur un appareil à PCR en temps réel (ici CFX96, BioRad). Amox: amoxicilline; Clari: clarithromycine; HpSA: recherche d'antigènes de *H. pylori* dans les selles; IPP: inhibiteur de la pompe à proton; Méto: métronidazole; R: résistant; S: sensible.

## Revue générale

### POINTS FORTS

- La PCR *Helicobacter* dans les selles permet de détecter à la fois l'infection et la résistance à la clarithromycine, avec d'excellentes performances.
- Elle permet de guider le traitement d'éradication selon les recommandations.
- Son caractère non invasif et la facilité à réaliser un auto-prélèvement par le patient ou sa famille confèrent une grande acceptabilité de ce test.

*H. pylori* particulièrement adaptée à l'enfant lorsque l'antibiogramme n'est pas disponible. Nous rappelons la nécessité absolue du contrôle d'éradication réalisé 4 à 6 semaines après l'arrêt du traitement. Chez l'enfant, la recherche d'antigènes de *H. pylori* dans les selles (HpSA) est particulièrement adaptée au contrôle d'éradication, avec de très bonnes performances [17, 18].

### Conclusion

La PCR de détection de *H. pylori* et de sa résistance à la clarithromycine dans les selles est un test non invasif aux très bonnes performances et à l'excellente acceptabilité des patients. Plus facile à réaliser au laboratoire que la culture, il coûte moins de 50 € (dispositif de recueil des selles, envoi postal, extraction et PCR compris). Il devrait révolutionner la prise en charge des infections à *H. pylori* et particulièrement chez l'enfant, en permettant de guider le traitement d'éradication de manière non invasive et donc de pouvoir suivre les recommandations des sociétés savantes françaises et internationales.

### BIBLIOGRAPHIE

1. SUERBAUM S, MICHETTI P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*, 2002; 347:1175-1186.
2. BURUO C, AXON A. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 2017;22.
3. KALACH N, BONTEMPS P, RAYMOND J. L'infection à *Helicobacter pylori* chez l'enfant. *Perfectionnement en Pédiatrie*, 2018;1:119-126.
4. MALFERTHEINER P, MEGRAUD F, O'MORAIN C *et al.* Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/ Florence Consensus Report. *Gut*, 2017; 66:6-30.
5. LAMARQUE D, BURUO C, COURILLON-MALLET A *et al.* et le Groupe d'Études Français des *Helicobacter*. Révision des recommandations françaises sur la prise en charge de l'infection par *Helicobacter pylori*. *Hepato-Gastro Oncologie Digestive*, 2012;19:475-502.
6. Jones NL, Koletzko S, Goodman K *et al.*; ESPGHAN, NASPGHAN. Joint ESPGHAN/NASPGHAN Guidelines for the Management of *Helicobacter pylori* in Children and Adolescents (Update 2016). *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2017;64:991-1003.
7. BEN MANSOUR K, FENDRI C, BATTIKH H *et al.* Multiple and mixed *Helicobacter pylori* infections: Comparison of two epidemiological situations in Tunisia and France. *Infect Genet Evol*, 2016;37: 43-48.
8. RAYMOND J, BURUO C, PIETRINI O *et al.* Clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from French children: prevalence of the different mutations and coexistence of clones harboring two different mutations in the same biopsy. *Helicobacter*, 2007;12:157-163.
9. XIONG LJ, TONG Y, WANG Z *et al.* Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* by stool PCR in children: a comprehensive review of literature. *Helicobacter*, 2013;18:89-101.
10. BRENNAN DE, OMOROGBE J, HUSSEY M *et al.* Molecular detection of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in stool vs biopsy samples. *World J Gastroenterol*, 2016;22:9214-9221.
11. SUN L, TALARICO S, YAO L *et al.* Droplet digital PCR-based detection of clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* isolates reveals frequent heteroresistance. *J Clin Microbiol*, 2018;56: e00019-e00018.
12. ANGOL DC, OCAMA P, AYAZIKA KIRABO T *et al.* *Helicobacter pylori* from peptic ulcer patients in Uganda is highly resistant to clarithromycin and fluoroquinolones: results of the GenoType HelicoDR test directly applied on stool. *Biomed Res Int*, 2017;2017:5430723.
13. GIORGIO F, IERARDI E, SORRENTINO C *et al.* *Helicobacter pylori* DNA isolation in the stool: an essential pre-requisite for bacterial noninvasive molecular analysis. *Scand J Gastroenterol*, 2016;51:1429-1432.
14. BECKMAN E, SARACINO I, FIORINI G *et al.* A novel stool PCR test for *Helicobacter pylori* may predict clarithromycin resistance and eradication of infection at a high rate. *J Clin Microbiol*, 2017; 55:2400-2405.
15. BEER-DAVIDSON G, HINDIYEH M, MUHSEN K. Detection of *Helicobacter pylori* in stool samples of young children using real-time polymerase chain reaction. *Helicobacter*, 2018;23.
16. PICHON M, PICHARD B, BARRIOZ T *et al.* Diagnostic accuracy of a noninvasive test for detection of *Helicobacter pylori* and resistance to clarithromycin in stool by the amplidiag +ClariR real-time PCR assay. *J Clin Microbiol*, 2020; 58:e01787-19.
17. KALACH N, GOSSET P, DEHECQ E *et al.* A one-step immune-chromatographic *Helicobacter pylori* stool antigen test for children was quick, consistent, reliable and specific. *J Acta Paediatr*, 2017;106:2025-2030.
18. MOUBRI M, BURUO C, KALACH N *et al.* Performances of the IDEIA HpStAR stool antigen test in detection of *Helicobacter pylori* infection before and after eradication treatment in Algerian children. *J Trop Pediatr*, 2019;65:210-216.

C. Burucoa a souhaité apporté les précisions suivantes: la société Mobidiag a financé l'étude HepyStool dont C. Burucoa était l'investigateur principal et le CHU de Poitiers le promoteur. Le design, l'analyse et la publication des résultats de l'étude ont été réalisés de manière indépendante du fabricant. C. Burucoa n'a perçu aucun financement ni avantage personnel. N. Salhi et J. Raymond ont déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.