



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Rekia GUERAR, Aicha ZAOU

Le : Samedi 03 octobre 2020

Thème

Effets inhibiteurs de certaines huiles essentielles vis-à-vis *Helicobacter pylori* isolée à partir des biopsies gastriques

Jury :

M. Salem BELKASSA	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Widad BOUGUENOUN	MCB	Université de Biskra	Examineur
M. Fethi BENBLAID	MCB	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2019 -2020

Remerciement

On remercie ALLAH, le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce travail.

Nous remercions vivement notre encadreur Dr. Benbelaid Fethi de nous avoir suivis régulièrement pour la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury.

Nous tenons à exprimer également nos profondes reconnaissances aux médecins d'exploration endoscopique Dr. Milate, Dr. Boudoucha ; Dr. Zyani et Dr. Boughzala ; les fermières Mm. Roufieda et Mr. Mohamed qui nous a permis de récupérer les biopsies gastriques.

Nous tenons également à remercier Dr. Khalil Chef du laboratoire de Bactériologie d'hôpital Elhakim Saàdan et fermier Asmhane pour nous avoir accueillis au sein de leur laboratoire.

Nous remercierons beaucoup Dr. Hassiba Chef de service de maternité d'hôpital Bachir Bennisr qui nous a permis de prendre le sang.

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail

A :

Mes parents symbole de bonté par excellence,

Source de tendresse et le bonheur de ma vie.

En me guidant toujours avec ses conseils,

Et ses prières que Dieu la garde pour moi.

A mes chers frères : Ahmed, Younes, Abd Elmounime,

Naser Dine, Ibrahime, Bobeker ; Abdestar,

A Mes chers sœurs : Salwa, Karima, Zieneb, Kaltoume.

À mes amis les plus proches : Nesrine, Zieneb, Achwak, Ahlam.

Et à la fin à toutes les personnes m'ayant consacré un moment

pour m'aider,

Me conseiller, m'encourager.

Guerar Rekia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A :

*Mes chers parents **NACER-EDDINE** et **OULIYA**
Pour tous ses sacrifices, encouragement et leur amour,*

*Je souhaite que ce travail soit le fruit de vos durs labeurs,
Qu'Allah les protèges et prolonge leur vie.*

*A mes chers sœur : **Yassmine, Achwak** et **Khadija** merci de
m'avoir supporté durant toutes ces années.*

Je vous aime !

*A mon petit frère : **Adel**.*

*A tout la famille **ZAOUI** et la famille **Abdelmajid**,*

A toutes mes chers amis,

A tous ceux que j'aime et à tous ceux qui m'aiment.

ZAOUI AICHA

Table de matières

Remerciement	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des tableaux	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

Première partie : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : GENERALITES SUR L'INFECTION D'*HELICOBACTER PYLORI*

1.1. Historique	3
1.2. Caractères générales sur <i>H. pylori</i>	3
1.2.1. Taxonomie	3
1.2.2. Caractères bactériologiques et culturaux	3
1.2.3. Morphologie et mobilité	4
1.2.4. Caractères biochimiques et enzymatiques	4
1.2.5. Caractères génotypiques	4
1.3. Épidémiologie.....	5
1.3.1. Prévalence et l'incidence de l'infection de <i>H. pylori</i>	5
1.3.2. Réservoir d' <i>H.pylori</i>	5
1.3.3. Mode de transmission	5
1.3.3.1. Transmission oro-orale.....	5
1.3.3.2. Transmission féco-orale	6
1.3.3.3. Transmission par les sources d'eau et les aliments	6
1.3.3.4. Transmission iatrogène	6
1.4. Physiopathologie à l'infection d' <i>H. pylori</i>	6
1.4.1. Mécanisme de physiopathologie	6
1.4.2. Facteurs de virulences.....	7
1.4.2.1. Facteurs de colonisation	7
1.4.2.2. Facteurs de persistance	7
1.4.2.3. Facteurs de pathogénicité	7
1.5. Evolution des pathologies d'infection d' <i>H. pylori</i>	7
1.6. Méthodes de diagnostiques.....	8

Chapitre 2 : TRAITEMENT D'INFECTION D'*HELICOBACTER PYLORI*

2.1. Traitement chimique.....	9
2.1.1. Facteurs d'échecs d'éradication.....	9
2.1.2. Vaccination.....	9
2.2. Traitement naturel par les huiles essentielles.....	9
2.2.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	9
2.2.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	10
2.2.3. Mode d'action des huiles essentielles.....	10

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3 : MATERIEL ET METHODES

3.1. Etude microbiologique.....	11
3.1.1. Prélèvements.....	11
3.1.2. Transport et conservation des biopsies.....	12
3.1.3. Isolement et caractérisation d' <i>H. pylori</i>	12
3.1.3.1. Broyage manuel des biopsies.....	12
3.1.3.2. Test à l'uréase.....	12
3.1.3.3. Examen direct.....	13
3.1.3.4. Mise en culture.....	13
a) Préparation des milieux de culture.....	13
b) Isolement après l'enrichissement.....	13
c) Incubation.....	14
3.1.4. Caractérisation des isolats.....	15
3.1.4.1. Identification des caractères microbiologiques.....	15
a) Examen macroscopique.....	15
b) Examen microscopique.....	15
3.1.4.2. Identification des caractères biochimiques.....	15
a) Recherche de l'activité d'uréase.....	15
b) Recherche de la catalase.....	16
c) Recherche de l'oxydase.....	16
3.1.5. Conservation des isolats.....	16
3.1.6. Etude épidémiologique.....	16
3.1.6.1. Méthode d'étude.....	16
a) Les données anamnestiques.....	16
3.2. Antibiogramme.....	17
3.2.1. Revivification des souches.....	17

3.2.2. Standardisation des inocula.....	17
3.2.3. Méthode	17
3.3. Evaluation des huiles essentielles envers les souches cliniques d' <i>H.pylori</i>	18
3.3.1. Source du matériel végétale.....	18
3.3.2. Obtention des huiles essentielles.....	18
3.3.3. Conservation.....	19
3.3.4. Aromatogramme.....	19

Chapitre 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Etude épidémiologique	20
4.1.1. Sexe.....	20
4.1.2. Âge.....	20
4.1.3. Antécédents.....	21
4.2. Isolement et caractérisation des souches d' <i>H. pylori</i>	23
4.2.1. Test de l'uréase à partir de biopsies	23
4.2.2. Coloration de Gram à partir de biopsies	24
4.2.3. Examen macroscopique	25
4.2.4. Examen microscopique	28
4.2.4.1. Etat frais	28
4.2.4.2. Coloration de Gram.....	28
4.2.5. Caractéristiques biochimiques des isolats.....	29
4.2.5.1. Recherche de l'activité de l'uréase.....	29
4.2.5.2. Recherche de la catalase.....	30
4.2.5.3. Recherche de l'oxydase.....	30
4.3. Résultats de l'évaluation de la sensibilité des souches d' <i>H. pylori</i> vis-à- vis des agents antimicrobiens	32
4.3.1. Antibiogramme	32
4.3.2. Effets des huiles essentielles envers <i>H. pylori</i>	35
4.3.2.1. Diamètres des zones d'inhibition	35
4.3.3. Comparaison entre les effets des antibiotiques et des huiles essentielles	37
Conclusion.....	39
Références Bibliographiques.....	41
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 1. Renseignements cliniques des patients.	11
Tableau 2. Données sur les espèces végétales retenues et leurs utilisations.	18
Tableau 3. Résultats de l'étude bactériologique des biopsies.	31
Tableau 4. Résultats de l'antibiogramme des trois souches d' <i>H. pylori</i> isolées.	33
Tableau 5. Les résultats de la méthode d'aromatogramme.	36
Tableau 6. Comparaison entre la sensibilité de 3 huiles essentielles et 6 antibiotiques aux 3 isolats de <i>H. pylori</i>	37
Tableau 7. Principales méthodes de diagnostics de l'infection à <i>H.pylori</i> (De Korwin, 2016).	47
Tableau 8. Composants moyens évalués à une gamme de concentrations pour développer la formulation finale d' <i>H. pylori</i> (Degnan <i>et al.</i> , 2003).	47

Liste des figures

Figure 1. Colonie de <i>H. pylori</i> sous microscope électronique (Floch, 2016).....	4
Figure 2. Prévalence de l'infection à <i>H. pylori</i> dans le monde (Azevedo <i>et al.</i> , 2006).	5
Figure 3. Physiologie et physiopathologie de <i>H. pylori</i> (Fineberg et Pearlman, 1981).	6
Figure 4. Rôle de <i>H. pylori</i> dans le développement des pathologies gastroduodénales (Correa, 1996).....	8
Figure 5. Algorithme des trois lignes de traitement de l'infection à <i>H. pylori</i> (Bouyssou, 2014; De Korwin, 2016)	9
Figure 6. Ensemencement des isolats sur le milieu brucella au sang frais.....	14
Figure 7. Incubation des souches isolées dans jarre d'incubation en micro aérophile.....	14
Figure 8. Dispositif de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.	19
Figure 9. Répartition des patients selon le sexe en service fibroscopie de Biskra.	20
Figure 10. Répartition des patients selon l'âge en service fibroscopie de Biskra.	21
Figure 11. Répartition des patients selon les antécédents en service fibroscopie de Biskra. ..	21
Figure 12. Résultat positif du test de l'uréase à partir de biopsies.	23
Figure 13. Observation microscopique d'un frottis coloré par la méthode de Gram à partir des biopsies gastriques G x1000.....	24
Figure 14. Aspect macroscopique des colonies de <i>H. pylori</i> sur gélose brucella au sang frais.	25
Figure 15. Aspect macroscopique des colonies de <i>H. pylori</i> sur gélose brucella au sang cuit.	25
Figure 16. Aspect macroscopique des colonies de <i>H. pylori</i> sur gélose Campylobacter.....	26
Figure 17. Aspect macroscopique des colonies de <i>H. pylori</i> sur gélose Columbia.	27
Figure 18. Aspect microscopique de <i>H. pylori</i> à l'état frais (grossissement X1000).....	28
Figure 19. Aspect microscopique des isolats d' <i>H. pylori</i> par coloration de Gram sous microscope optique (grossissement X1000).	29
Figure 20. Résultats du milieu urée-indole à partir des isolats.	29
Figure 21. Résultat du test de catalase à partir des isolats.	30
Figure 22. Résultat du test de l'oxydase à partir des isolats.....	30
Figure 23. Résultats de l'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton au sang frais.....	34
Figure 24. Résultats de l'aromatogramme sur gélose Mueller-Hinton au sang frais.....	35

Liste des abréviations

BabA: Blood group antigen-binding adhesion.

BHIB: Beef Heart Infusion Broth, Bouillon Coeur Cerveille.

Cag A: Cytotoxin-associated gene A.

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

HCL : Acide chlorhydrique.

HES : Huiles essentielles.

***H. pylori* :** *Helicobacter pylori*.

IL : Interleukine.

IPP : Inhibiteurs de la pompe à protons.

LPS : Lipopolysaccharide.

MALT : Mucosa Associated Lymphoid Tissu.

Nap A : Neutrophil associated protein.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PCR : Polymérase Chain Réaction.

PH : Potentiel hydrogène.

QS: Quorum sensing.

Sab A: Sialic acid-binding adhesion.

UGD: Ulcère gastroduodéal.

Vac A: Vacuolating cytotoxin gene A.

Introduction

Introduction

Helicobacter pylori est une bactérie pathogène à Gram négatif, hélicoïdale ou spirale (Arnion, 2011). Cette espèce pathogène joue un rôle crucial dans les ulcères du duodénum et de l'estomac soit reconnu (Mcluhan, 1994). Il est aujourd'hui clairement établi que la résistance de *H. pylori* vis-à-vis l'acidité gastrique et toute la colonisation de la muqueuse gastrique est due aux facteurs de virulence principalement l'activité uréasique. *H. pylori* est reconnue récemment pour ces implications dans les différentes maladies gastroduodénales (UGD) plus ou moins graves : l'ulcère duodéal, l'ulcère gastrique, le lymphome gastrique du MALT et aussi les cancers gastriques (Mégraud, 2004).

La vie collective constitue un facteur de risque de transmission très important de *H. pylori*. L'infection se transmet de proche en proche au sein de petits foyers endémiques (Bouarioua *et al.*, 2007). Cette bactérie a de prévalence d'infection plus de 50% de la population mondiale. Ceci a conduit non seulement à réviser les traitements des ulcères, mais aussi à chercher l'éradication efficace de cette bactérie pathogène. C'est pourquoi, la communauté médicale à travers le monde d'entier vise actuellement à augmenter la pertinence d'un dépistage systématique et à prescrire un traitement préventif (Bentahar, 2018).

Actuellement, le traitement des ulcères gastroduodénaux liées à l'infection de *H. pylori* consiste à l'association des antibiotiques avec les inhibiteurs de la sécrétion acide, principalement les IPP (inhibiteurs de la pompe à protons) (Kimmel, 2018). Néanmoins, l'utilisation de ces médicaments est de plus en plus restreinte en raison des effets indésirables de ces médicaments sur la santé humaine (Bentahar, 2018). Par ailleurs, le phénomène de la résistance des souches d'*H. pylori* face aux traitements d'antibiothérapie est considéré comme la cause principale de l'échec du traitement des ulcères gastroduodénaux (Bentahar, 2018). Ainsi, le faible taux d'éradication face à un taux de réinfection considérable indique la complexité des infections liés à *H. pylori* comme un problème de santé important dans le monde (Bentahar, 2018).

L'émergence de la résistance microbienne face aux antibiotiques a poussé les chercheurs à explorer de nouvelles avenues potentielles pour assurer un développement continu de nouvelles classes de molécules antimicrobiennes (Bentahar, 2018). Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de substances biologiquement actives, principalement les huiles essentielles présentant une véritable composante pour l'avenir du système de santé dans le monde entier (Fekih, 2015).

Ainsi, l'utilisation de nouvelles thérapies alternatives serait utile pour améliorer l'éradication de l'espèce pathogène *H. pylori* chez les patients (Kimmel, 2018). En effet, les huiles essentielles ont montré des résultats encourageants dans plusieurs domaines grâce à leurs multiples mécanismes d'action antimicrobiens, alors que les huiles essentielles constituent théoriquement une aide à l'antibiothérapie (Kimmel, 2018). Par conséquent, 80 % de la population dans les pays en voie de développement, se penchent vers la phytothérapie (OMS, 2010).

Dans le but de la mise en évidence un traitement alternative naturel face aux ulcères gastroduodénaux, nous nous sommes intéressé à étudier l'effet inhibiteur de trois huiles essentielles à savoir *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum* et *Thymus fontanesii* envers des souches cliniques d'*H. pylori* isolées chez des patients atteints de symptômes d'ulcère gastroduodéal dans la région de Biskra.

Les objectifs assignés à ce travail sont :

- Collecter les données épidémiologiques des patients ayant des symptômes de maladie gastroduodénales.
- Déterminer la prévalence épidémiologique chez certains patients consultés d'endoscopie.
- Détecter la présence des souches de *H. pylori* chez des patients en consultation endoscopique afin de les caractériser et de déterminer leur sensibilité aux antibiotiques.
- Evaluer l'activité gastro protectrice des huiles essentielles des quelques alicaments sur prélèvement de biopsie des maladies gastroduodénales.
- Comparer entre les effets inhibiteurs des antibiotiques et des huiles essentielles des alicaments étudiées envers les isolats des souches de *H. pylori*.

Partie Bibliographique

Chapitre 1.
Généralités sur l'infection
d'*Helicobacter pylori*

1.1. Historique

La mise en évidence de l'espèce *H. pylori* par Marshall et Warren est en effet une découverte récente remonte à 1982. Néanmoins, l'existence de cette bactérie ainsi que les maladies liées à cette espèce sont cependant suspectées depuis plus d'un siècle (Trouillas, 2010). En 1982, J. Robin Warren et Barry J. Marshall, deux chercheurs australiens, ont isolé et cultivé un micro-organisme à partir d'estomacs humains en soulignant l'homologie de la forme entre ce micro-organisme isolé pour la première fois et celle de *Campylobacter jejuni*, d'où la dénomination *Campylobacter pyloridis*, remplacée par *Campylobacter pylori*, puis *Helicobacter pylori* (Martel *et al.*, 2005). Dans leur publication originelle, Warren et Marshall affirmaient que la plupart des ulcères gastro-intestinaux étaient causés par une infection causée par cette bactérie et non pas à cause de stress ou la nourriture épicée. Cette découverte leur valut le prix Nobel de physiologie et de médecine en 2005 (Martel *et al.*, 2005). Depuis 1994, *H. pylori* est classée comme le carcinogène de type I par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 1994). Aujourd'hui, il est clairement établi que *H. pylori* est un germe pathogène le plus redoutable de la muqueuse gastrique de l'homme (Gottrand, 2000).

1.2. Caractères générales sur *H. pylori*

1.2.1. Taxonomie

La classification actuelle de l'espèce *Helicobacter pylori* montre une appartenance au règne des *Bacteria*, la division des *Proteobacteria*, la classe des *Epsilonproteobacteria*, l'ordre des *Campylobacterales*, la famille des *Helicobacteraceae*, le genre des *Helicobacter* et l'espèce *Helicobacter pylori* (Garrity *et al.*, 2005).

1.2.2. Caractères bactériologiques et culturels

H. pylori est une bactérie micro-aérophile exigeant 5% d'oxygène et 5 à 10% de dioxyde de carbone, ayant un optimum de croissance à 37°C (Cherkaoui Malki, 2018) et qu'elle pousse sur un intervalle de pH allant de 5.5 à 8,5 *in vitro* (Raaf, 2018). C'est une bactérie fragile, donc pour qu'elle soit isolée, cette espèce exige des conditions particulières de prélèvement ainsi que des milieux de culture adaptés à base d'agar tels que la gélose « cœur-cerveille », la gélose Columbia ou la gélose Wilkins Chalgren, dont l'ajout des facteurs de croissance, des oligoéléments et des vitamines est obligatoire (Elios *et al.*, 2005). Ainsi dans les conditions optimales, les colonies de *H. pylori* apparaissent en 3 à 7 jours pour une primo culture ; entre 2 à 4 jours pour un repiquage. Les colonies sont petites, régulières, rondes, bombées, transparentes et luisantes (Lin *et al.*, 1994).

1.2.3. Morphologie et mobilité

H. pylori est un bacille hélicoïdal à Gram négatif, a une forme spiralée de 3 à 5 µm de long et 1 µm de diamètre. Cette bactérie est mobile par 4 à 6 flagelles polaires et engainés (Ferrand, 2009). Après l'isolement de la bactérie par la culture *in vitro*, la morphologie peut varier entre une forme bacillaire, en U, en C ou en O (Miendje Deyi, 2011) (Figure 1).

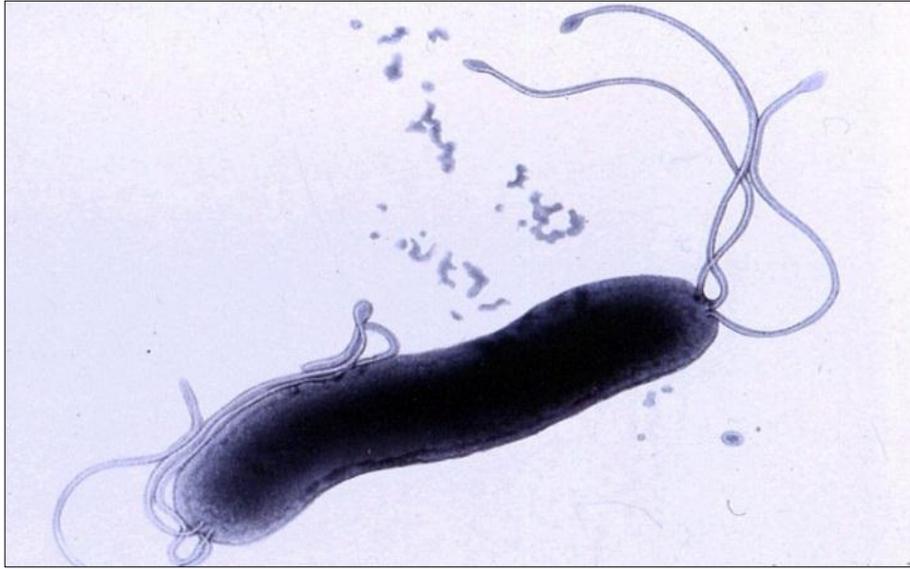


Figure 1. Colonie de *H. pylori* sous microscope électronique (Floch, 2016).

1.2.4. Caractères biochimiques et enzymatiques

Le germe *H. pylori* est doté d'un potentiel enzymatique lui permettant de coloniser la muqueuse gastrique. Il s'agit de : une catalase, une oxydase, une nitrate réductase ainsi qu'une uréase très active (Ferrand, 2009; Gueneau *et al.*, 2002). Cette bactérie possède également les phosphatases alcalines. En revanche, elle est incapable de fermenter les sucres, elle dite asaccharolytique (Bessede, 2012). Ainsi, cette espèce est dite chimioorganotrophe, car elle tire son énergie d'acides aminés et d'acides organiques (Cherkaoui Malki, 2018).

1.2.5. Caractères génotypiques

Le matériel génétique de *H. pylori* est un chromosome circulaire hétérogène qui présente une diversité génomique très large ainsi qu'un taux de mutation et de recombinaison importants (Leclerc, 2006). Cette bactérie a la faculté de changer son génotype et phénotype pendant la colonisation d'un individu, ce qui explique en partie le développement de résistances aux antibiotiques (Guyane et Bastaraud, 2017).

1.3. Épidémiologie

1.3.1. Prévalence et l'incidence de l'infection de *H. pylori*

L'infection à *H. pylori* est l'une des infections les plus répandues dans le monde. En effet, près de la moitié de la population mondiale est porteuse de la bactérie. Toutefois, la prévalence varie de 20 à 90% selon les pays, l'infection étant plus fréquente dans les pays en voie de développement (Leclerc, 2006) (Figure 2).

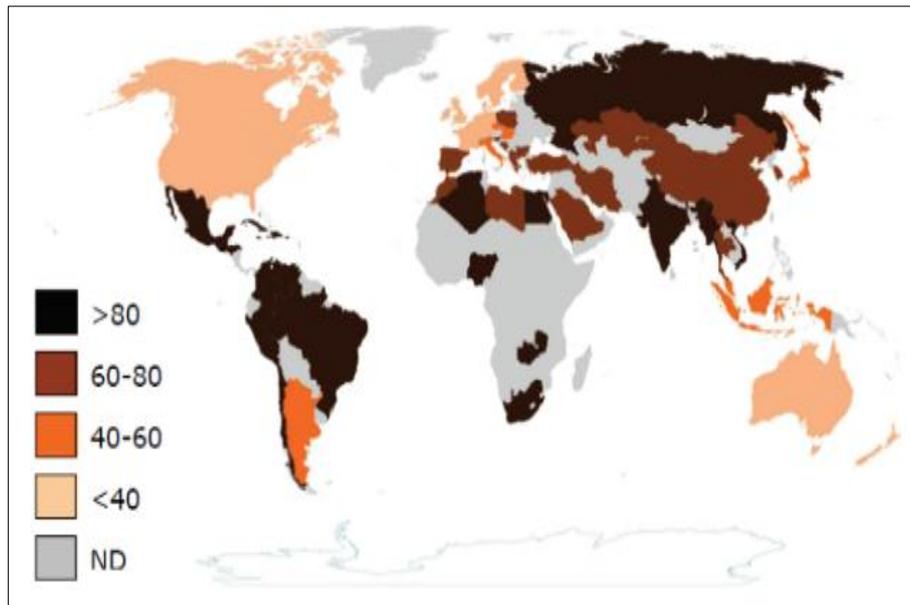


Figure 2. Prévalence de l'infection à *H. pylori* dans le monde (Azevedo *et al.*, 2006).

1.3.2. Réservoir d'*H. pylori*

L'homme représente le réservoir majeur d'*H. pylori*, exclusivement retrouvée dans la muqueuse gastrique de façon homo ou hétérotopique (Guyane et Bastaraud, 2017). Il est à évoquer que certains animaux présentent également comme des réservoirs pour *H. pylori* notamment les primates, le porc et le chat (Michenot, 2001). Cependant, *H. pylori* peut présenter une survie limitée dans un milieu aquatique (Mégraud, 2003).

1.3.3. Mode de transmission

1.3.3.1. Transmission oro-orale

Cette transmission se fait à partir de la salive soit d'une façon accidentel ou bien temporaire (régurgitation du liquide gastrique, vomissement) (Zine-Charaf, 2007).

1.3.3.2. Transmission féco-orale

H. pylori se transmet d'un hôte vers un autre hôte à partir des selles pourrait se faire directement par les mains en cas d'hygiène déficiente (Cherkaoui Malki, 2018).

1.3.3.3. Transmission par les sources d'eau et les aliments

H. pylori a notamment été retrouvée dans les eaux d'un canal servant pour les égouts (Guyane et Bastaraud, 2017).

1.3.3.4. Transmission iatrogène

La contamination de ces bactérie se fait à partir des appareils médicaux (endoscopes) contaminés qui ne sont pas désinfectés entre deux patients (Cherkaoui Malki, 2018).

1.4. Physiopathologie à l'infection d'*H. pylori*

1.4.1. Mécanisme de physiopathologie

H. pylori est naturellement présent au niveau du pylore, mais il peut se trouve également dans le reste de l'estomac. *H. pylori* a la capacité de résister à l'acidité du suc gastrique grâce à une uréase membranaire. Celle-ci lui permet de transformer l'urée présente dans le suc gastrique en ammoniac, ainsi de faire remonter le pH localement autour de lui pour neutraliser l'acidité. *H. pylori* plonge grâce à ses flagelles dans le mucus gastrique tapissant alors la muqueuse gastrique et s'y multiplie (Trouillas, 2010). *H. pylori* parvient aussi à échapper contre l'immunité humorale par des mécanismes complexes; ce qui va permettre à la bactérie d'évoluer durant des années causant une inflammation chronique dans la muqueuse gastrique (De Korwin, 1993 ; Fauchere, 1994) (Figure 3).

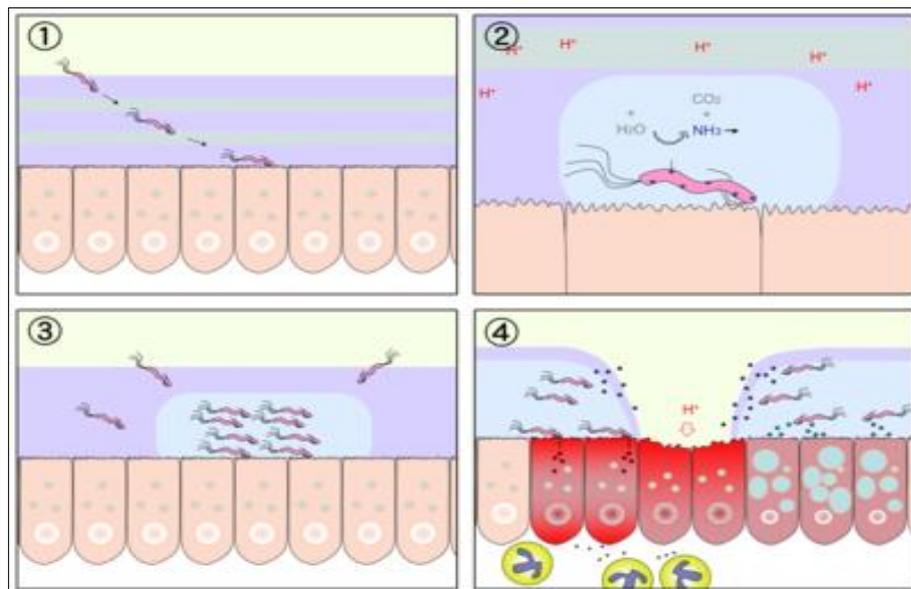


Figure 3. Physiologie et physiopathologie de *H. pylori* (Fineberg et Pearlman, 1981).

1.4.2. Facteurs de virulences

H. pylori dispose de nombreux facteurs essentiels à la survie dans l'environnement gastrique les répartit en trois groupes :

1.4.2.1. Facteurs de colonisation

Tout d'abord, la mobilité de *H. pylori* ainsi que sa morphologie spiralée lui permettent de coloniser la muqueuse gastrique. Tandis que LPS (Lipopolysaccharides) considéré comme un porteur d'antigènes Lewis permettant à la bactérie d'échapper vis-à-vis la réponse immunitaire de l'hôte. Alors que l'uréase est un primordiale facteur de virulence, joue un rôle dans la neutralisation de l'acidité gastrique et favorisant ainsi l'implantation et la survie de la bactérie (Zacharie, 2014). En outre, l'adhésine principalement le BabA (blood group antigen-binding adhesion) et le SabA (Sialic acid-binding adhesion) sont multiples et très variables permettant une adaptation constante de la bactérie à la réponse immunitaire intense (Libbey, 2017).

1.4.2.2. Facteurs de persistance

Chez *H. pylori* il y'a des facteurs de persistance tels que la catalase responsable de la dégradation de peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène; une alkylhydroperoxyde réductase c'est des protéines antioxydantes dont une protéine NapA (Neutrophil associated protein) et une thioredoxine réduisant le stress oxydactif (Zacharie, 2014).

1.4.2.3. Facteurs de pathogénicité

Premièrement, on a l'îlot de pathogénicité cag (Cytotoxin-associated gene) est un facteur permet la synthèse d'un appareil permettant la translocation de la protéine cagA (Cytotoxin-associated gene A) dans les cellules épithéliales et induit la production d'IL-8 (Cover et Blaser, 2009). Il participant ainsi que au processus d'adhésion de la bactérie (Lacave *et al.*, 2005). Deuxièmement, le Cytotoxine vacuolisante VacA qui responsable de la formation de canaux membranaire et la perturbation des fonctions endosomales/lysosomales, l'apoptose et un effet immunosuppresseur (Isomoto *et al.*, 2010).

1.5. Evolution des pathologies d'infection d'*H. pylori*

L'infection par *H. pylori* s'évolue d'une façon lente et prolongée d'une gastrite aiguë vers chronique, puis une atrophie de la muqueuse. Après, il y'aura le développement des métaplasies sur cette atrophie suivies de dysplasies (Mustapha, 2011). Le degré d'atrophie qui en résulte explique l'apparition d'ulcère gastroduodéal (Lai et Sung, 2007). 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).

Ainsi que, Le lymphome du MALT est une autre manifestation d'infection 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 *et al.*, 2008) (Figure 4).

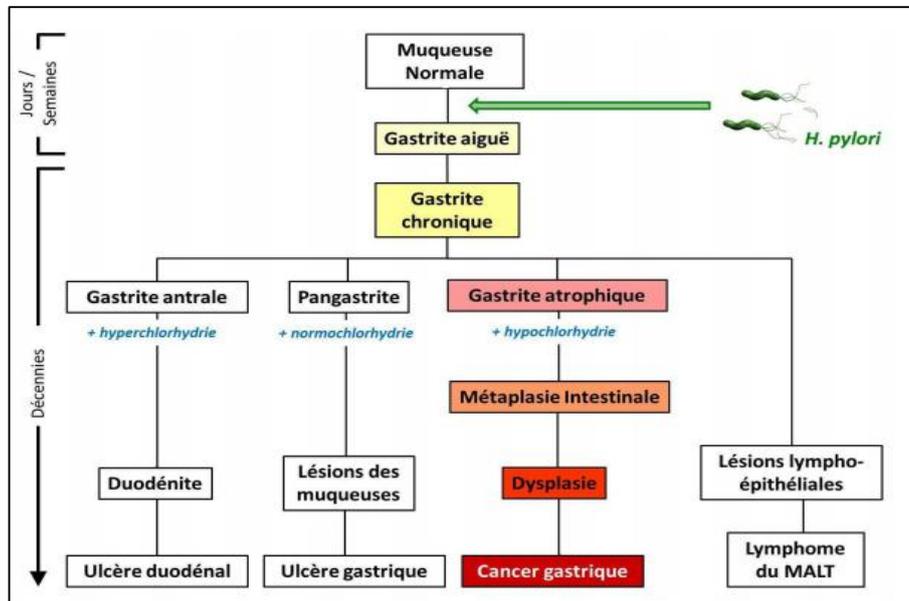


Figure 4. Rôle de *H. pylori* dans le développement des pathologies gastroduodénales (Correa, 1996).

En plus, certaines maladies extradiigestives seraient associées à cette infection comme des maladies auto-immunes, des anémies ferriprives, la maladie de Parkinson, des troubles dermatologiques, des maladies cardio-vasculaires et même encourt une carence en vitamine B12 (Wroblewski *et al.*, 2010).

1.6. Méthodes de diagnostics

Les tests diagnostiques sont deux types, soit direct, nécessitant des biopsies gastriques, soit indirect, qui ne nécessitant pas de biopsies gastriques ; qui présentent la sensibilité et la spécificité des différentes techniques de dépistage (Burri et Meier, 2011). Voir l'annexe n°01 (Tableau 1).

Chapitre 2.
Traitement d'infection
d'*Helicobacter pylori*

2.1. Traitement chimique

Les traitements d'éradication de *H. pylori* comprennent un inhibiteur de la pompe à protons (IPP) associé à un ou plusieurs antibiotiques (amoxicilline, clarithromycine, métronidazole, tétracycline, lévofloxacine, rifampicine) (Figure.5) et/ou des sels de bismuth (Raaf, 2018) sous le nom de PYLERA® commercialisé depuis le 01 Avril 2013 (Fakhar, 2018).

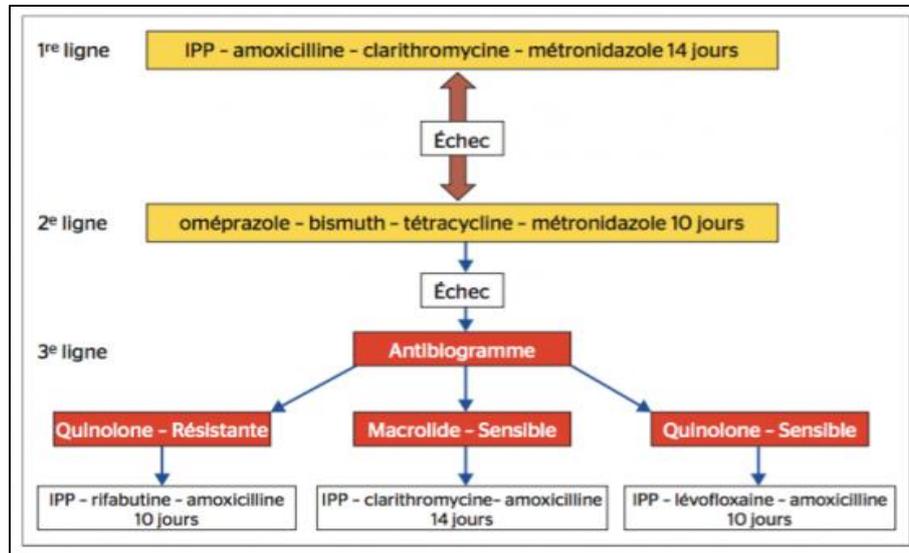


Figure 5. Algorithme des trois lignes de traitement de l'infection à *H. pylori* (Bouyssou, 2014; De Korwin, 2016) .

2.1.1. Facteurs d'échecs d'éradication

Les principales causes de l'échec du traitement d'éradication de *H. pylori* sont : la résistance aux antibiotiques et la mauvaise observance de traitement à cause des effets secondaires des antibiotiques entraînant l'inefficacité de la thérapie (Raaf, 2018).

2.1.2. Vaccination

Le développement d'un vaccin anti *H. pylori* reste la meilleure stratégie pour améliorer considérablement les options de traitement (Raaf, 2018).

2.2. Traitement naturel par les huiles essentielles

2.2.1. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles, isolées des plantes par Hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba et Kunicka, 2003). Les HEs sont obtenues à partir des fleurs, feuilles, écorces, bois, rhizomes, fruits, ou grains (Degryse *et al.*, 2008). Ces huiles volatiles contiennent des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé a été prouvée (Laurent, 2017). Les HEs combinent des composés très variés qui peuvent être partagés en trois grands groupes :

Les terpènes : monoterpènes et sesquiterpènes dont les formes oxydées et hydrocarbonées. Les phénylpropanoïdes, ex : alcool cinnamique, coumarine. Le troisième groupe regroupe les molécules qui ne sont pas classées parmi les autres groupes ainsi sont des composés très divers (acides, alcools, aldéhydes, esters...) (Bourrain, 2013).

2.2.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Nombreuses études pharmaceutiques ont démontré les vertus antiseptiques des HEs aussi bien envers les bactéries, les champignons pathogènes ainsi que les virus (Ouiza, 2018). Les HEs peuvent constituer une thérapie naturelle alternative à faible coût en remplaçant les traitements conventionnels aux antibiotiques. Concernant leur activité antimicrobienne, les HEs peuvent soit induire une activité microbienne létale dite bactéricide ou occasionner une inhibition temporaire de la croissance du germe dite activité bactériostatique (Ouiza, 2018). Certaines plantes médicinales ont un effet *in vitro* sur *H. pylori*, qui pourraient représenter une source potentielle de nouveaux agents antibactériens (Asha *et al.*, 2013).

2.2.3. Mode d'action des huiles essentielles

Certains auteurs ont commencé à décortiquer spécifiquement l'action des HEs et leurs composants majoritaires sur les cibles bactériennes (Bouyahya *et al.*, 2017). Cependant, les mécanismes antimicrobiens restent moins clairs et complexes (Tiwari *et al.*, 2009). Par ailleurs, le caractère lipophile des molécules constituant les HEs les rend capables de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire et de s'accumuler entre les phospholipides (Bouyahya *et al.*, 2017). En plus, grâce à leur caractéristique hydrophobe, les HEs diminuent en effet le taux des acides gras insaturés dans les bactéries qui sont généralement responsables de la fluidité membranaire, même-si à des concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Bouyahya *et al.*, 2017). Plusieurs travaux récemment réalisés ont montré que les HEs se présentent comme de véritables candidats contre le quorum sensing (QS) (Luciardi *et al.*, 2016). L'HE de *Thymus vulgare* et ses composés majoritaires (carvacrol et thymol) ont été aussi testés pour leurs effets antibiofilm et anti-QS contre *Pseudomonas fluorescens KM121* (Myszka *et al.*, 2016).

Partie expérimentale

Chapitre 3.

Matériel et méthodes

3.1. Etude microbiologique

3.1.1. Prélèvements

Durant une période de 4 mois allant de Novembre 2019 à Février 2020, sept patients présentant une symptomatologie gastroduodénale évocatrice ont été l'origine des souches cliniques d'*Helicobacter spp* pour notre étude. Les patients ont subi une endoscopie digestive haute afin de prélever deux biopsies gastriques de l'antrum et de fundus au niveau du service de fibroscopie, de l'hôpital Hakime Saàdane de Biskra. L'âge, le sexe et l'aspect endoscopique des patients sont présentés dans le Tableau 1. Le matériel d'endoscopie (fibroscope et pince) est nettoyé entre chaque examen dans une solution de Cidex (Désinfectant des médicaux) puis rincé à l'eau de robinet.

Tableau 1. Renseignements cliniques des patients.

Patient	Sexe	Age	Aspect endoscopie	Photos
01	Homme	71	Gastrite fundique subatrophique	
02	Femme	23	Ulcère superficielle	
03	Homme	29	D'un pan gastrite érythémateuse	
04	Femme	64	Gastrite antrale erosive	
05	Femme	46	Gastrite antrale érythémateuse	
06	Femme	31	Micronodule antrale	
07	Homme	47	Gastrite légèrement fundique	

3.1.2. Transport et conservation des biopsies

Les espèces d'*Helicobacter spp* sont des bactéries fragiles nécessitant ainsi des conditions de transport particulières. Les biopsies récupérées ont été transportées soit dans l'eau physiologique à 4°C si la durée ne dépasse pas les 4h, sinon dans le bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) additionné du glycérol à 25%. Après le prélèvement des biopsies, les échantillons ont été acheminés au laboratoire pédagogique de département des sciences de la nature et de la vie.

3.1.3. Isolement et caractérisation d'*Helicobacter pylori*

Cette partie du travail a pour but d'isoler et de caractériser les souches de *H. pylori* responsables de pathologies gastroduodénales à partir des biopsies gastriques antrales et fundiques récupérées. Les souches isolées ainsi identifiées ont été étudiées dans un premier temps pour la mise en évidence de leur sensibilité envers les antibiotiques. Après, ces souches ont été utilisées pour étudier les effets antimicrobiens des huiles essentielles.

3.1.3.1. Broyage manuel des biopsies

Avant la mise en culture, les biopsies doivent être broyées pour permettre la dispersion et de libération des germes. Tout d'abord, des fragments de biopsie ont été déposés à l'aide d'une anse de platine stérile dans un tube Eppendorf stérile de 1.5 ml. Ensuite, quelques gouttes de bouillon d'enrichissement (BHIB) ont été ajoutées à l'aide d'une pastette afin d'obtenir de suspension bien homogénéisée. Plus d'autant le broyage était effectué à l'aide d'un scalpel stérile pendant 10 seconds maximums. Puis, compléter un volume d'environ 1ml. Les suspensions ainsi préparées ont subi trois traitements pour confirmer la présence d'*H. pylori* à savoir le test à l'uréase, la coloration de Gram et la mise en primoculture.

3.1.3.2. Test à l'uréase

Cette technique est réalisée pour détecter l'activité enzymatique d'uréase en déposant une partie de la biopsie broyée dans le milieu urée-indole. Ce dernier contient en plus de l'urée un indicateur coloré de pH qui est le rouge de phénol. La présence de *H. pylori* dans l'échantillon test se manifeste après incubation à 37°C pendant 24 à 48h, par le virage de l'indicateur au rose violacé.

3.1.3.3. Examen direct

Des petits fragments de chaque biopsie broyée ont été étalés en frottis sur une lame en verre stérile avec une goutte d'eau physiologique. Après séchage à l'air, les lames ont subi la coloration de Gram. L'observation des frottis est réalisée à immersion au microscope optique grossissement 1000 pour détecter la présence de *H. pylori* à la surface de l'épithélium de la muqueuse gastrique des patients.

3.1.3.4. Mise en culture

a) Préparation des milieux de culture

Des milieux de culture spécifiques ont été utilisés pour l'isolement des souches de *H. pylori* à partir des biopsies gastriques. Il s'agit de la gélose brucella au sang préparée à base de gélose au sang Columbia additionnée du sang frais humain de groupe (O-), ainsi que la gélose Campylobacter. Des suppléments d'antibiotiques ont été ajoutés pour rendre les milieux sélectifs uniquement pour *H. pylori* et pour prévenir également les contaminations de fond. Les antibiotiques sont la vancomycine (10 mg/L), du triméthoprim (5 mg/L) et de l'amphotéricine B (5 mg/L) (voir l'annexe n°02).

En outre, pour un excellent isolement des souches de *H. pylori*, nous avons utilisé des milieux modifiés de brucella et de Columbia. Ces milieux ont été préparés par l'ajout séquentiel des composants spécifiques qui sont : le rouge de phénol, les antibiotiques (vancomycine, triméthoprim, amphotéricine B) et l'urée. L'addition des composés est effectuée aseptiquement avec une agitation constante et une température fixée à 50°C. À la fin de la préparation 0.8 ml de 1 N HCl a été ajoutée pour diminuer le pH dans le sens que la couleur devienne de le rouge au jaune-orange (pH final à 45 C° : 5.7 ; pH final à 22 C° est 6.0).

b) Isolement après l'enrichissement

La suspension préparée de chaque biopsie est déposée dans 9 ml de bouillon d'enrichissement (bouillon de BHIB), puis incubée pendant 48h à 37 C° en atmosphère micro aérophile. À partir la culture ainsi obtenu, 2 ou 3 gouttes de suspension ont été ensemencé sous forme de quadrants à l'aide de pipette pasteur stérile au centre de gélose de milieu de culture sélective (Figure 6).



Figure 6. Ensemencement des isolats sur le milieu brucella au sang frais.

c) Incubation

Les boîtes sont placées dans une jarre d'incubation en atmosphère micro aérophile, puis incubées à 37 °C dans l'étuve pendant 5 à 7 jours (Figure 7). Les cultures sont contrôlées chaque deux jour à partir du 5^{ème} jusqu'au 12^{ème} jour. Cette primoculture permet d'isoler *H. pylori* sur les boîtes de pétri. Cependant, des réensemencements en subculture sont nécessaires pour obtenir des cultures très riches.



Figure 7. Incubation des souches isolées dans jarre d'incubation en micro aérophile.

3.1.4. Caractérisation des isolats

L'identification de souches est basée sur des caractères morphologiques, l'examen microscopique par l'état frais et coloration de Gram et sur des tests biochimiques essentiels : uréase très intense, catalase et oxydase.

3.1.4.1. Identification des caractères microbiologiques

a) Examen macroscopique

Après culture des échantillons de biopsies sur les géloses sélectives, les colonies ayant poussé sur la surface de la gélose ont été caractérisées par des observations macroscopiques de la forme, la taille, l'aspect et la couleur des colonies.

b) Examen microscopique

➤ Etat frais

L'observation à l'état frais est effectuée obligatoirement avant de réaliser les repiquages. À l'aide d'une pipette pasteur stérile, une petite goutte d'eau physiologique est déposée au centre d'une lame stérile préalablement annotée. Puis, une suspension bactérienne est préparée en mélangeant quelques colonies prélevées via anse de platine stérile avec la goutte d'eau physiologique. Le mélange est ensuite recouvert par une lamelle couvre-objet. La préparation est examinée au microscope optique grossissement X400 ou X1000 avec le condensateur au minimum et diaphragme légèrement ouvert.

➤ Coloration de Gram

Un frottis est préparé à partir des colonies suspectes en fixant sur une lame en verre stérile une goutte de la suspension bactérienne examinée. Ensuite, chaque frottis ainsi préparé est coloré par la méthode de Gram. La lecture des frottis est réalisée à l'huile d'immersion au grossissement X1000 sous microscope optique pour détecter la présence des formes typiques de *H. pylori*.

3.1.4.2. Identification des caractères biochimiques

a) Recherche de l'activité d'uréase

À l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies sont prélevées ainsi déposées dans un tube Eppendorf stérile contenant de l'urée-indole. Les tubes préparés sont alors incubés pendant 24 heures à 37 C°. Le résultat positif se traduit par le virage de couleur de la solution de l'orange vers le rose violacé.

b) Recherche de la catalase

La présence de cette enzyme est vérifiée en mélangeant quelques colonies avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame en verre stérile. L'apparition de bulles de gaz signifie que l'isolat est doté de la catalase.

c) Recherche de l'oxydase

Ce teste est effectué en déposant quelque colonies bactériennes sur un disque d'oxydase imbibé au préalable par de l'eau distillée, le tout est déposé sur une lame stérile. Le virage de la couleur des disques vers le violet indique une réaction positive.

3.1.5. Conservation des isolats

La conservation à court durée (environ une semaine) des souches est possible dans les mêmes boîtes de culture si ces derniers sont maintenues à + 4°C en atmosphère micro aérophile. Tandis que pour une conservation adéquate à long terme, les souches purifiées ainsi caractérisées sont ensemencées dans le bouillon BHIB additionné de 25% de glycérol, puis congelées à - 20°C.

3.1.6. Etude épidémiologique

Dans notre travail nous avons réalisé une étude prospective (Novembre 2019 jusqu'au Février 2020) portée sur sept patients ayant les mêmes symptômes, ainsi suivies chez un médecin gastroentérologue au service d'endoscopie d'hôpital Hakime Saàdane de Biskra. Un questionnaire a été effectué (voir l'annexe n°03) présentant certaines paramètres essentielles dont l'âge, le sexe et les antécédents des patients.

3.1.6.1. Méthode d'étude

Une fiche d'exploitation a été faite dans le but d'analyser les éléments suivants :

a) Les données anamnestiques

- ✓ Age ;
- ✓ Sexe ;
- ✓ Date de consultée ;
- ✓ Région ;
- ✓ Type d'habitat ;
- ✓ Niveau d'instruction ;
- ✓ Aspect endoscopie ;
- ✓ Le traitement suivi ;
- ✓ Maladies associées ;
- ✓ Les pathologies gastriques liées à *H. pylori*.
- ✓ Le nombre de prélèvement ;
- ✓ Résultats d'examen direct et de culture.

3.2. Antibiogramme

3.2.1. Revivification des souches

Les souches conservées d'*H. pylori* ont été revivifiées par ensemencement dans des tubes à essai stériles remplis de Bouillon de Mueller-Hinton (Conda Pronadisa™, Espagne), puis incubées pendant 24h à 37°C.

3.2.2. Standardisation des inocula

La réalisation de l'antibiogramme nécessite la standardisation de la charge microbienne des suspensions à étudier selon les recommandations de l'EUCAST 2019. Les inocula sont préparés ainsi : à partir d'une culture jeune, pure et bien caractérisée, une quantité est mise dans des tubes à hémolyse stériles, puis diluées par l'ajout de bouillon Mueller-Hinton (Conda Pronadisa™, Espagne). Ensuite, les tubes à hémolyse sont bien homogénéisés à l'aide d'un vortex. La standardisation est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre pour fixer la densité optique entre 0.580-0.585 à une longueur d'onde 625 nm, ce qui correspond à une charge bactérienne très dense de 3 Mac Ferland.

3.2.3. Méthode

L'antibiogramme a été réalisé selon standardisation de l'EUCAST 2019. La préparation du milieu Mueller-Hinton (gélose). Des boîtes de pétri, préalablement remplies par 15 ml de la gélose Mueller-Hinton (Conda Pronadisa™, Espagne) supplémenté de 10% du sang humain frais, sont ensemencées en nappe à l'aide d'un écouvillon stérile à partir des inocula standardisés à 3 Mac Ferland. Les ensemencements sont effectués en stries parallèles et serrées que possible à la surface de la gélose dans le but d'obtenir un tapis adéquat après culture. Après inoculation des boîtes, des disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose pré-ensemencée. Ensuite, les boîtes sont incubées à l'envers dans une atmosphère micro aéroophile pendant 72 heures à 37°C. La lecture des résultats s'effectue par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition apparue à l'aide d'un pied à coulisse.

La sensibilité des souches d'*H. pylori* a été évaluée envers six antibiotiques à savoir : Ciprofloxacine (5µg), Rifampicine (30µg), Amoxicilline (2µg), Tétracycline (30ug), AC Nalidixique (30ug), Métronidazole (5ug).

3.3. Evaluation des huiles essentielles envers les souches cliniques d'*H. pylori*

3.3.1. Source du matériel végétale

Trois alicaments ont été sélectionnés pour cette étude (voir annexe n°04), en fonction de leur utilisation traditionnelle dans les traitements des pathologies gastroduodénale, spécifiquement les douleurs de l'estomac. Il s'agit des espèces suivantes : *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum* et *Thymus fontanesii*. Le matériel végétal des trois plantes a été acheté à l'herboristerie du marché de la ville de Biskra. Les données sur les trois alicaments sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2. Données sur les espèces végétales retenues et leurs utilisations.

Plantes	Appellation locale	Utilisations	Parties utilisées	Origine
<i>Cinnamomum cassia</i>	Qirfa	Protège le corps contre les bactéries ; traiter les troubles digestives (Auroche, 1993).	Ecorces	Marché de Biskra
<i>Syzygium aromaticum</i>	clou de girofle	Des propriétés antiseptiques, antivirales, antimicrobiennes, une action anti inflammatoire (Cristina et Rebière, 2019).	Les griffes et les clous	
<i>Thymus Fontanesii</i>	Zaâtare	Activant la circulation artérielle, améliorant la digestion, renforçant les défenses immunitaires (Padrini et Lucheroni, 1996).	Les parties aériennes	

3.3.2. Obtention des huiles essentielles

Les extractions des huiles essentielles ont été réalisées par Hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger (Figure 8). Dans un ballon en pyrex de 2L, 100 g de matière végétale sèche est mélangée avec de l'eau distillée, puis le tout est déposé sur un chauffe-ballon. Le ballon est branché avec un système fermé en verre constitué de : une colonne pour mener les vapeurs d'eau chargées de l'huile essentielle, un réfrigérant pour la condensation des vapeurs, une burette pour la collecte des condensats dans laquelle le volume de l'huile

essentielle récupérée est lu directement, et un retour de la phase aqueuse vers le ballon pour prévenir sa déshydratation. L'extraction est déroulée jusqu'à l'obtention d'un volume constant de l'huile essentielle avec une durée allant de 3h jusqu'à 5h au maximum.



Figure 8. Dispositif de type Clevenger utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

3.3.3. Conservation

Les huiles essentielles récupérées, après l'extraction ont été déshydratées sur le sulfate de magnésium ($MgSO_4$), puis conservées à 4 °C dans des flacons spécifiques fumés jusqu'à leur utilisation à l'abri de la lumière (Zenati, 2016).

3.3.4. Aromatogramme

L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées a été évaluée par la méthode d'aromatogramme connue par la technique de Vincent (Pibiri, 2006). Des disques en papier filtre à 6 mm de diamètre sont imprégnés de 5 μ l d'huile essentielle et déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage avec de la suspension microbienne standardisée. Les souches sont ensemencées sur gélose Mueller-Hinton additionné de 10% de sang humain frais et incubées à 37 °C pendant 24h. Après l'incubation, les résultats sont lus par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

Chapitre 4.

Résultats et discussion

4.1. Etude épidémiologique

Une étude prospective a été portée sur sept patients ayant les mêmes symptômes suivis chez les médecins gastroentérologues au niveau du service de fibroscopie à Biskra. Un questionnaire est passé dont l'âge, le sexe et les antécédents (aspect endoscopique) des patients sont représentés dans le Tableau 1.

4.1.1. Sexe

Parmi les 7 cas qu'on a étudié leur état et d'après le questionnaire effectué, 57% des malades sont du sexe féminin et 43% sont des hommes. Ceci peut être dû aux facteurs favorisant la maladie chez les femmes par rapport aux hommes (Figure 9).

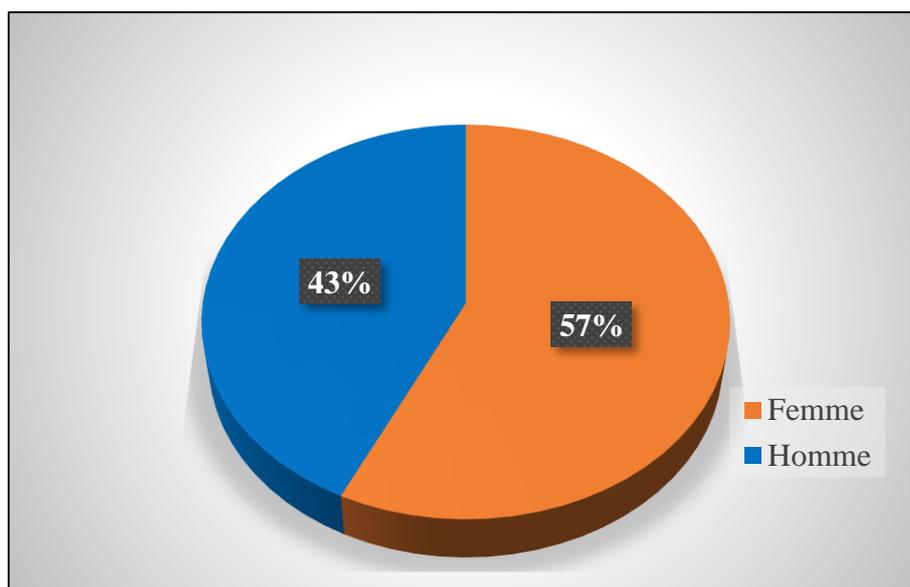


Figure 9. Répartition des patients selon le sexe en service fibroscopie de Biskra.

4.1.2. Âge

L'âge de la population infectée est représenté avec des extrêmes allant de 18 à 75 ans. La tranche d'âge de 36 à 75 ans était la plus représentative, environ 4/7 de patients (57.14%) ; suivie par la tranche d'âge de 18 à 35 qui représente 3/7 de patients (42.85 %). Alors que la classe des patients < 17 ans est inexistante dans cette étude (Figure 10).

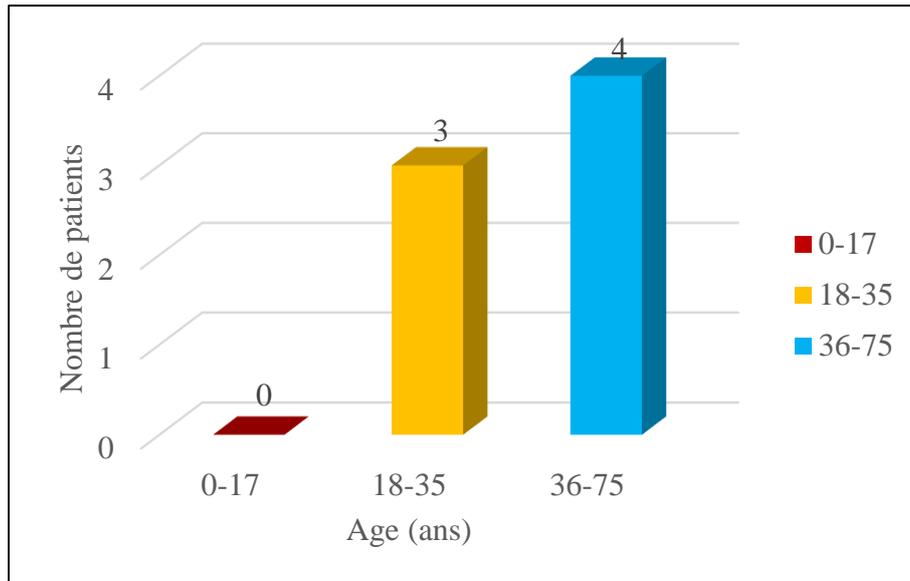


Figure 10. Répartition des patients selon l'âge en service fibroscopie de Biskra.

4.1.3. Antécédents

Les résultats de notre étude épidémiologique montrent que 100% des patients avaient des douleurs abdominales chroniques, annexite, stress et une affection médicale sévère. Nous avons remarqué que 57.14% des cas souffraient de vomissement et 42.85% des cas étudiés ayant des conflits de gastrite. Tandis que les autres environ 14.85% des cas avaient des symptômes chroniques et des hémorragies digestives surtout chez les personnes âgées et les consommateurs du tabac (Figure 11).

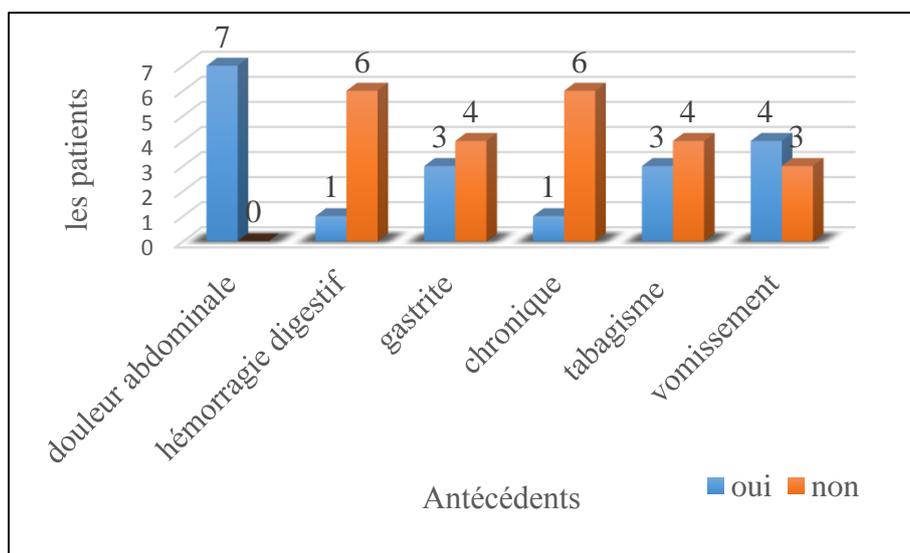


Figure 11. Répartition des patients selon les antécédents en service fibroscopie de Biskra.

Une étude prospective est menée sur des patients ayant subi une endoscopie digestive haute. Cette approche consiste à estimer la prévalence de l'infection par *H. pylori* chez les patients atteints de pathologies gastroduodénales. *H. pylori* est l'un des agents pathogènes gastro-intestinaux les plus courants infectant près de 50% de la population humaine (Crabtree *et al.*, 1991). Nous constatons que le pourcentage de patients infectés dans notre étude est de 57.14% parmi les patients consultés au service de fibroscopie de l'hôpital Hakime Saàdane de Biskra. Nous avons également remarqué dans cette étude que les ulcères gastroduodénaux sont rares chez les enfants de moins de 15 ans ainsi que chez les sujets dépassant les 60 ans avec une fréquence maximale située entre 25 et 65 ans. Ces constatations viennent de confirmer des faits bien connus qui font de l'ulcère d'estomac et de duodéal une maladie du sujet adulte. Nous avons trouvé, entre autres, que les femmes (57%) ont une susceptibilité aux ulcères gastroduodénaux plus grande que l'homme (43%).

D'après la bibliographie, nous avons constatés que la prévalence de l'infection par *H. pylori* est estimée à 63.15% dans une étude effectuée à Tlemcen (Merad-Boudia, 2013). Egalement, l'espèce bactérienne *H. pylori* a été identifiée chez 8 patients présentant des pathologies gastroduodénales à Tipaza, ce qui présente un pourcentage de 87% (Driouche et Rabahi, 2017). Dans un travail réalisé par d'Otth *et al.* (2011). dans le sud du Chili sur 240 patients ayant une gastrite ou un ulcère gastrique, *H. pylori* a été isolée à partir de 99 patients (soit 41.3%) avec une fréquence légèrement plus élevée pour les femmes (42% des cultures positives) que les hommes (40.2% des cultures positives). En ce qui concerne l'âge, dans le même travail, les fréquences les plus élevées d'isolation ont été obtenus chez des patients âgés entre 21-30 ans (55%), 41-50 ans (52.6%).

Le stress, le mode de nutrition et le tabac sont considérés comme des facteurs aggravants les problèmes des ulcères gastroduodénaux (Ouattara *et al.*, 1999). Dans notre étude, nous avons trouvé que les antécédents dominants étaient des vomissements (57.14%) et des conflits de gastrite (42.85%). De plus, certains patients avaient des symptômes chroniques et des hémorragies digestives et surtout chez les consommateurs de tabac (14.85%). D'après Ibara *et al.* (1993), concernant, la prédominance de la maladie est représentée par 16% sont des fumeurs. Selon les mêmes auteurs, le stress est rencontré chez près de 25% des patients. Donc, La connaissance du profil épidémiologique d'infection *H. pylori* nous apparaît comme une nécessité, car elle permettra d'identifier les populations cibles qui devraient bénéficier d'une exploration endoscopique au moindre doute.

4.2. Isolement et caractérisation des souches d' *H. pylori*

4.2.1. Test de l'uréase à partir de biopsies

Le test de l'uréase est basé sur la mise en évidence de l'uréase chez les souches d'*H. pylori* détectée après ensemencement des broyats des biopsies gastriques antrales et fundique dans un milieu urée-indole. Les résultats sont lus après incubation de 24h à 48h à 37°C, un virage de couleur de l'orange vers le rose violacé a été observé avec quelques prélèvements (Figure 12).



Figure 12. Résultat positif du test de l'uréase à partir de biopsies.

En revenant à la littérature, nous avons confirmé que ce caractère biochimique lié à l'uréase a été démontré par de nombreux auteurs dont Sobhani *et al.*(1991); Lamouliatte *et al.*(1992); Lozniewski (1996); Mégraud (1996); De Korwin (2003). Ces auteurs ont signalés que tout résultat positif de l'uréase est donc présumé en rapport avec l'infection à *H. pylori* en raison de la forte activité uréasique de cette bactérie après 24h ; le changement de la couleur du milieu urée - indole de l'orange au rose ou rouge indique alors la présence de la bactérie dans la biopsie gastrique. L'uréase de cette bactérie hydrolyse l'urée en ammoniac et en bicarbonates dans le but de neutraliser l'acidité de l'estomac, c'est un moyen pour adhérer aux cellules du mucus (Sobhani *et al.*,1995). Cependant, les faux tests négatifs pour les autres biopsies pourraient être due à un inoculum de départ trop faible, ou à la répartition hétérogène de *H. pylori* sur la surface de la muqueuse gastrique (Riachi, 1995; Lozniewski, 1996).

4.2.2. Coloration de Gram à partir de biopsies

L'observation sous microscope optique à l'immersion des frottis colorés, préalablement préparés à partir des biopsies, a montré la présence des bactéries bacilles incurvées et spiralées à Gram négatif dans quelques biopsies (Grossissement X1000) correspondent à celles d'*H. pylori* (Figure 13).

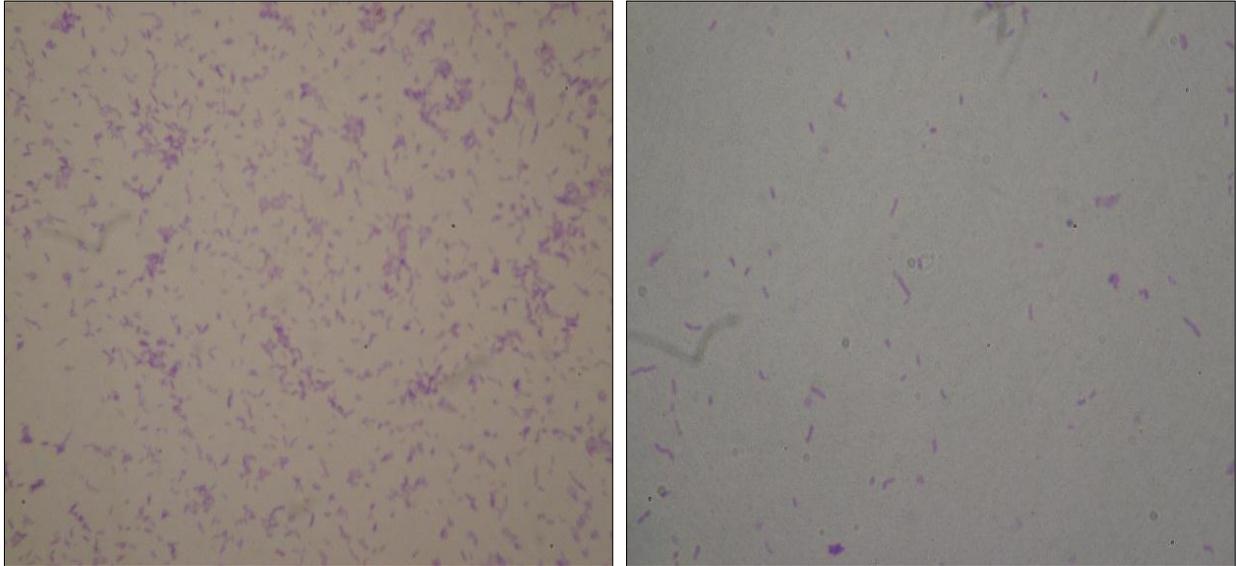


Figure 13. Observation microscopique d'un frottis coloré par la méthode de Gram à partir des biopsies gastriques G x1000.

D'après Faik et Raiss (1998), l'examen bactériologique nécessite des biopsies conservées dans le sérum physiologique à 4°C. Il faut donc utiliser un milieu de transport si le délai entre le prélèvement et la réalisation de l'examen ne dépasse pas 4 heures. Au-delà de 24 heures, la congélation à -70°C permet de prolonger l'examen. Dans une coloration de Gram, les bacilles à Gram négatif sont recherchés sur l'ensemble du frottis. Ensuite les suspensions de biopsies broyées sont ensemencées dans deux milieux de culture dont l'un est sélectif. L'incubation est ensuite effectuée à 37°C sous une atmosphère micro aéroophile.

4.2.3. Examen macroscopique

Après 5 jours d'incubation des prélèvements à 37°C en atmosphère micro aérophile, de petites colonies ont été apparues. Généralement les colonies constatées avaient les caractéristiques suivantes : rondes, transparentes à grisâtres, brillantes, bombées (0.5 à 1 mm de diamètre), avec un contour régulier. Il est à noter que ces caractéristiques culturales correspondent à celles d'*H. pylori* sur les trois milieux de culture différents (gélase de Columbia au sang frais et brucella au sang frais et cuit et de compylobacter) (Figure 14 et Figure 15 et Figure 16).

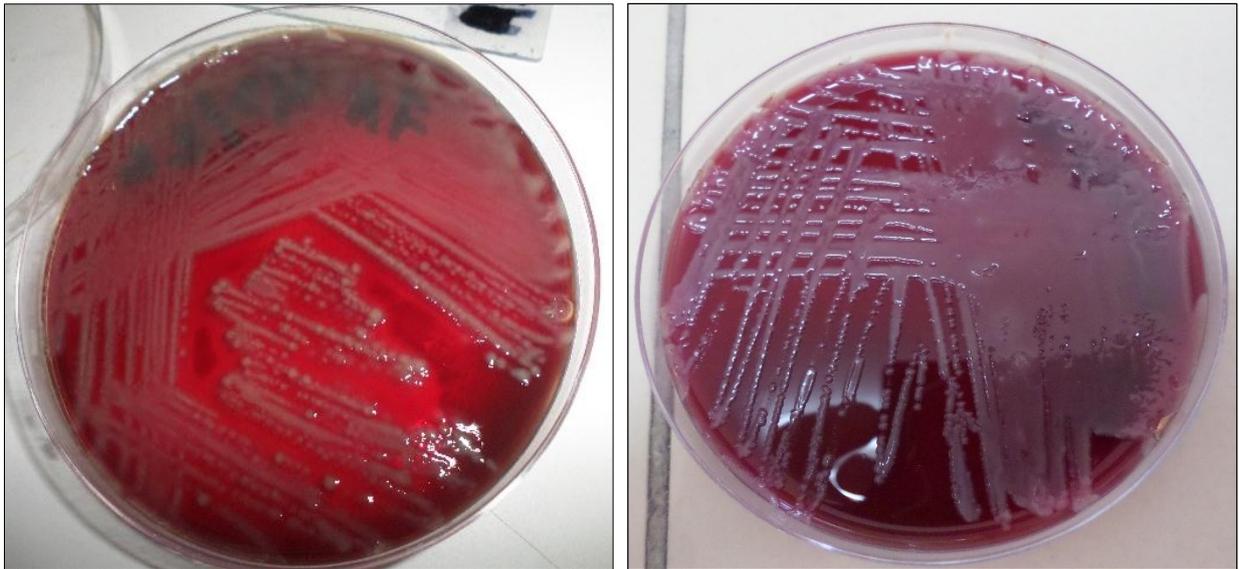


Figure 14. Aspect macroscopique des colonies de *H. pylori* sur gélose brucella au sang frais.



Figure 15. Aspect macroscopique des colonies de *H. pylori* sur gélose brucella au sang cuit.

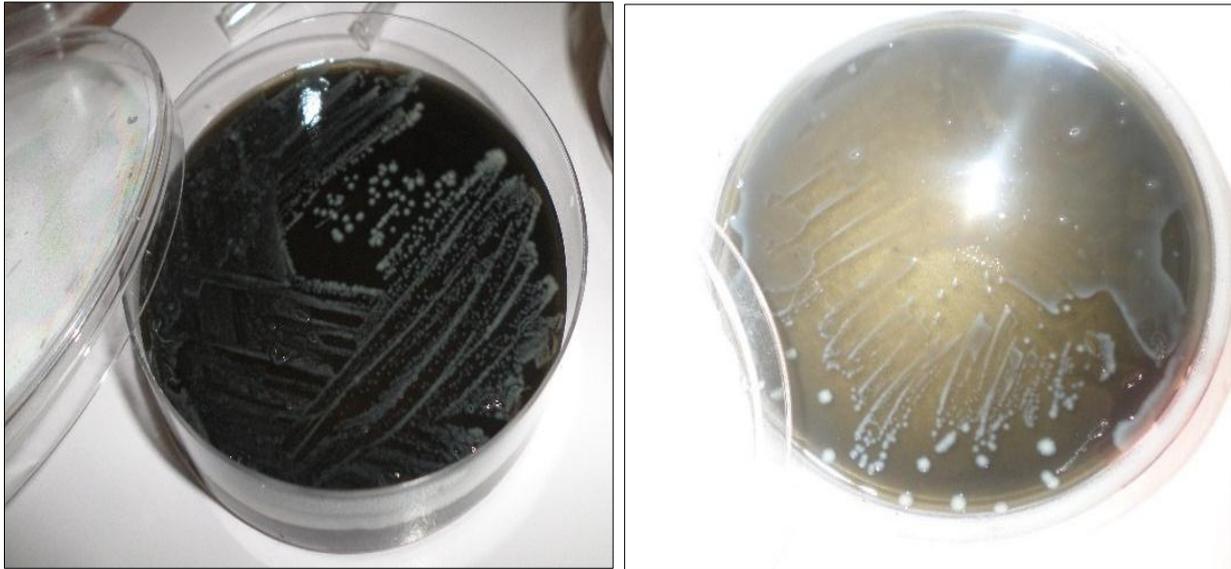


Figure 16. Aspect macroscopique des colonies de *H. pylori* sur gélose Campylobacter.

Selon Mégraud (2004), *H. pylori* est responsable de 7 ulcères gastriques sur 10 et de 9 ulcères duodénaux sur 10. Les caractères cultureux de *H. pylori* montrent que celle-ci pousse lentement (3 à 4 jours minimum) en exigeant des conditions de culture particulières (micro-aérophile) ainsi que des milieux de culture additionnés de sang, de sérum ou de suppléments d'enrichissement (Flandrois, 1997). Il fallait assurer ainsi des conditions favorables pour la croissance d'*H. pylori*, soit une atmosphère micro-aérophile et des milieux riches et sélectifs qui contiennent différents antibiotiques pour éliminer toute contamination possible (Sobhani *et al.*, 1991; Mégraud, 1994; Cellini *et al.*, 1995). Après incubation, les caractères cultureux correspondant à *H. pylori* sont des colonies transparentes, luisantes, visqueuses et fines appariassent sur la gélose de Columbia au sang frais aussi sur la gélose chocolatée, avec un diamètre de 1 mm (Avril *et al.*, 1995).

L'utilisation d'indicateur de pH coloré augmente considérablement la chance pour isoler *H. pylori* parmi les organismes gastriques, car ce système est basé sur la dégradation de l'urée pour neutraliser le milieu acide. La croissance des colonies et la production subséquente d'uréase ont entraîné l'hydrolyse de l'urée en ammonium et bicarbonate, neutralisant ainsi une zone discrète autour de chaque colonie. Cette zone de neutralisation a été marquée par une zone de rouge autour de la colonie lorsque le pH du milieu est passé d'environ 6.0 à 7.5 ; ainsi que le virage totale de couleur de milieu vers le rouge. L'incorporation de l'indicateur de couleur a accéléré l'identification présomptive des colonies de *H. pylori* d'au moins 12 h (de 48 à 72 h) (Figure 17).

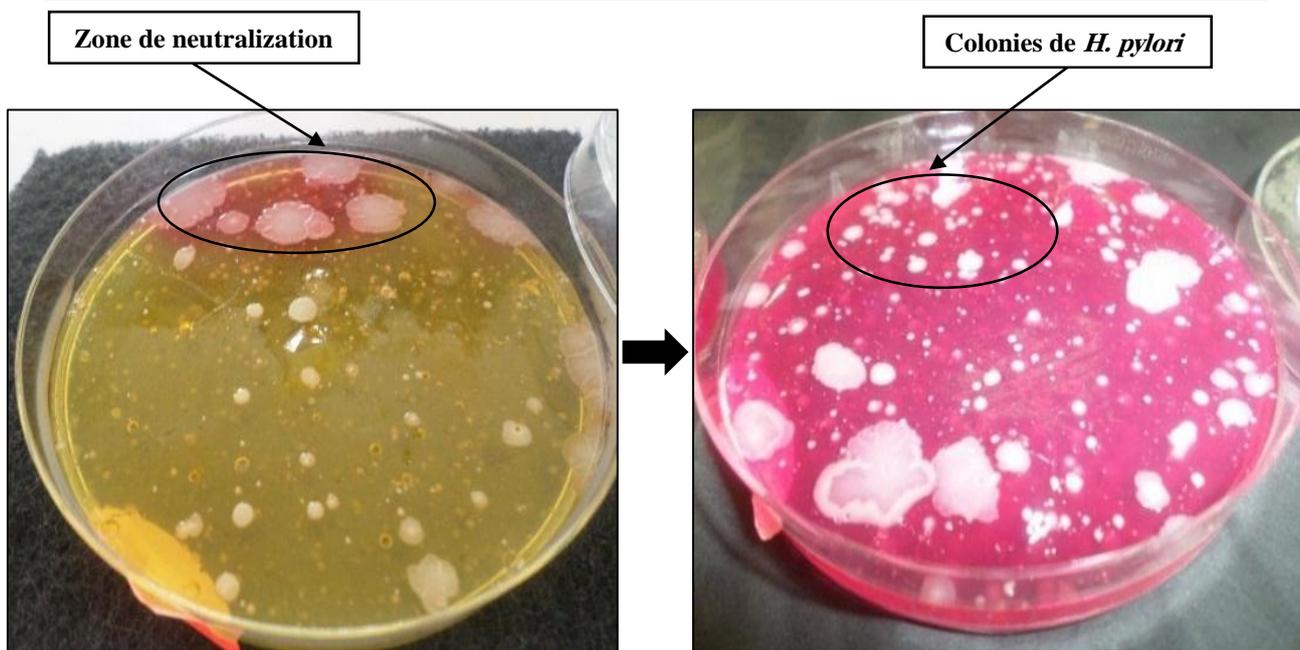


Figure 17. Aspect macroscopique des colonies de *H. pylori* sur gélose Columbia.

Dans une étude réalisée par Degnan *et al.* (2003), les auteurs ont montrés que *H. pylori* est une bactérie à croissance relativement lente, nécessite généralement environ 4 jours pour développer des colonies discernables. Ainsi, les auteurs ont utilisés un milieu sélectif (gélose HP) contenant un nouveau mélange de suppléments de croissance tels que l'amphotéricine B et polymyxine B. Le milieu de culture utilisé contient également un indicateur de pH le rouge phénol et d'acide chlorhydrique (HCL) pour la mise en évidence de la production d'uréase. Cette idée de détecter la production d'uréase en utilisant le changement de couleur du jaune au rouge est apparue auparavant dans un essai clinique (test d'uréase rapide CLO ; Delta West Pty Ltd., Bentley, Australie). Toutefois, cette stratégie n'étaient pas utilisée dans des milieux solides conçus pour la culture d'*Helicobacter* (Degnan *et al.*, 2003). L'ajout de ce système de couleur réduit considérablement (d'environ 14%) le temps nécessaire pour faire croître les colonies jusqu'au point d'identification visuelle présomptive ; même sur du milieu HP inoculé avec de fortes charges bactériennes. La colonie de fond occasionnelle qui s'est développée a été facilement différenciée de *H. pylori* (Degnan *et al.*, 2003). Le niveau optimal de chaque additif est déterminé selon le temps d'incubation le plus court nécessaire pour identifier de manière présumée une colonie de *H. pylori*. La concentration est également associée à la capacité des composés à empêcher la culture de toute flore étrangère présente dans l'échantillon de l'eau (Degnan *et al.*, 2003).

4.2.4. Examen microscopique

4.2.4.1. Etat frais

Les souches suspectées d'être *H. pylori* ont été examinées sous microscope optique au grossissement X1000. La morphologie des cellules constatée correspond à celle d'un *H. pylori* ; bacille spiralé ou incurvé et mobile (Figure 18).

D'après certains auteurs Lamouliatte *et al.* (1992) ; Aspinall *et al.* (1995), les souches de *H. pylori* ont montré une mobilité lors d'un examen direct à l'état frais. Il s'agit donc de bactéries mobiles. Cette mobilité est due à sa forme spiralée et à la présence des flagelles polaires. Cette propriété permet à *H. pylori* de se déplacer dans le mucus gastrique (Lamouliatte *et al.*, 1992; Fauchere, 1994).

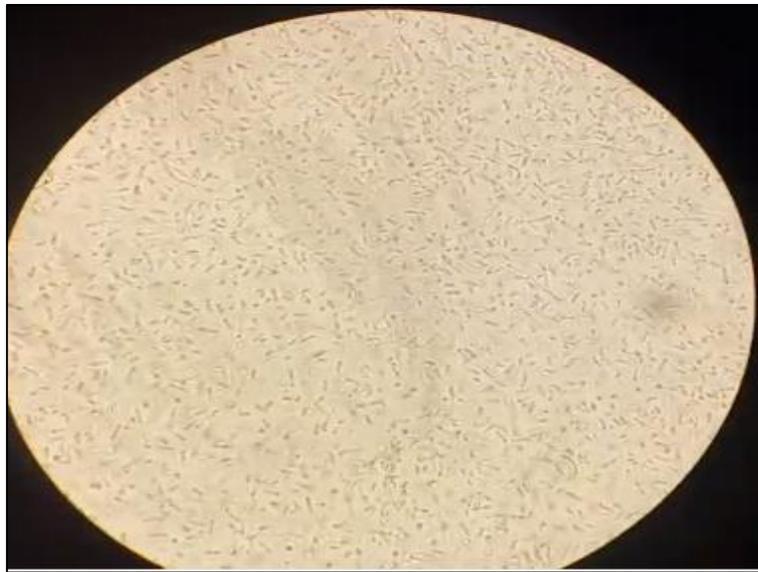


Figure 18. Aspect microscopique de *H. pylori* à l'état frais (grossissement X1000).

4.2.4.2. Coloration de Gram

Les observations des frottis montrent la présence de bacilles droits à Gram négatif, incurvés, en virgule, en forme de C, V ou S (Figure 19). Ce sont les caractères morphologiques typiques de *H. pylori* sous microscope optique. L'examen microscopique nous a permis également de vérifier la pureté des souches. Les bactéries évoluent rapidement au cours des repiquages vers des formes à aspect en coccoïde.

D'autre part, les souches isolées possèdent des formes cellulaires variables (incurvés, en virgules, en forme de C, de V ou de S), morphologie particulière de *H. pylori* (Fauchere, 1994). De plus, après culture, un examen microscopique d'un frottis préparé à partir des colonies suspectes, il a permis d'observer des fins bacilles à Gram négatif qui peuvent être de *H. pylori* ; ces caractères ont été démontrés par les travaux de Sobhani *et al.* (1995).

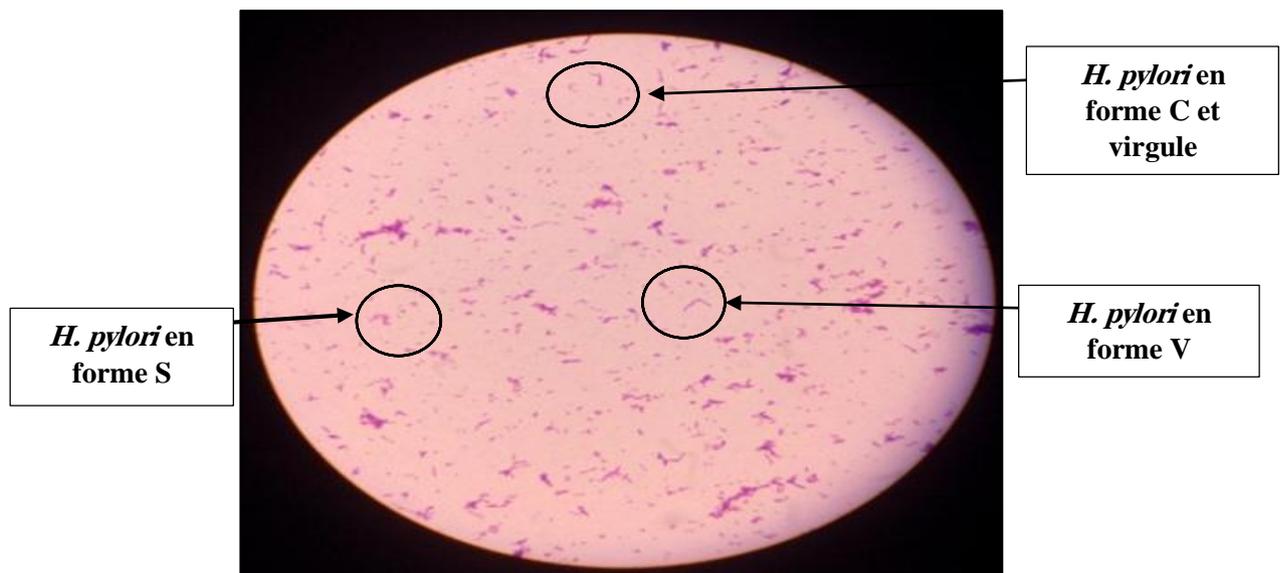


Figure 19. Aspect microscopique des isolats d'*H. pylori* par coloration de Gram sous microscope optique (grossissement X1000).

4.2.5. Caractéristiques biochimiques des isolats

L'identification des souches cliniques était effectuée par des tests à savoir : la recherche de l'uréase, de la catalase et de l'oxydase.

4.2.5.1. Recherche de l'activité de l'uréase

Après incubation à 37°C pendant 24h des tubes contenant le milieu urée-indole préalablement ensemencé par les isolats, un virage de couleur de l'orange vers le rose violacé a été observé (Figure 20). Ce résultat indique la présence de l'uréase très intense chez certaines souches isolées, ce qui confirme leur appartenance à l'espèce *H. pylori*.

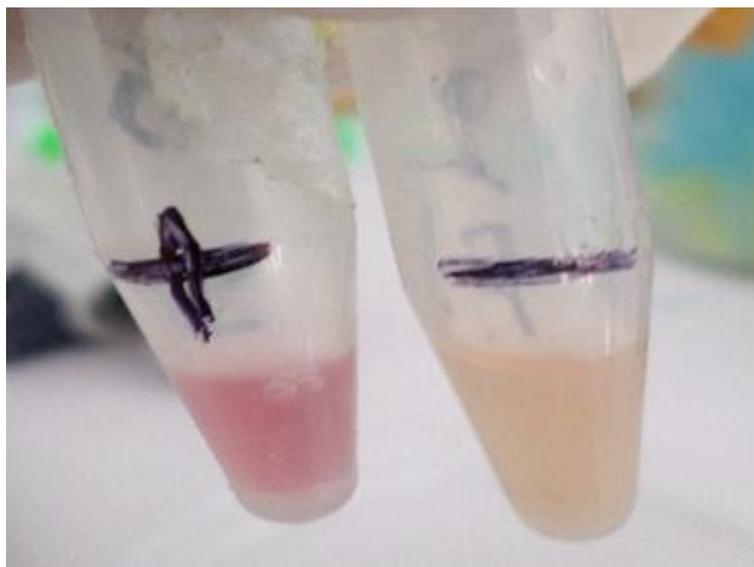


Figure 20. Résultats du milieu urée-indole à partir des isolats.

4.2.5.2. Recherche de la catalase

Le dépôt des colonies isolées dans l'eau oxygéné à 10 volumes a révélé l'apparition des bulles d'air à la surface de la lame (Figure 21). Ce résultat positif indique la présence de la catalase, un caractère biochimique essentiel pour confirmer l'identification d'*H. pylori*.



Figure 21. Résultat du test de catalase à partir des isolats.

4.2.5.3. Recherche de l'oxydase

Les colonies des isolats déposées sur un disque d'oxydase révèlent l'apparition d'une coloration violette (Figure 22). Ce qui indique la présence d'une oxydase caractérisant *H. pylori*.



Figure 22. Résultat du test de l'oxydase à partir des isolats.

Les résultats positifs de ces trois caractères biochimiques confirment qu'il s'agit bien de *H. pylori* chez de nombreux auteurs qui sont : Sobhani *et al.* (1991) ; Fauchere (1994) ; Mégraud (1994) ; Yousfi (1997) ; Medouakh et Bensoltane (2010). D'autant plus, En Algérie, d'après Allen *et al.* (2007) ont isolés une souche de *H. pylori* à partir d'une biopsie gastrique prélevée à 2 cm du pylore d'un patient présentant un ulcère. Son identification a été faite par l'appréciation de la morphologie de cette bactérie et des caractères biochimiques tels que : l'oxydase, l'uréase, la catalase sont également recherchés à partir des colonies suspectes.

Durant notre étude épidémiologique de quatre mois, on a pu isoler quatre souches de *H. pylori* à partir de septes biopsies gastriques antrales et fundiques provenant des patients présentant une symptomatologie gastroduodénale. Les résultats de l'étude bactériologique des biopsies sont consignés dans le Tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3. Résultats de l'étude bactériologique des biopsies.

Les tests des biopsies				Les tests des isolats				
Biopsie	Coloration de Gram	Urée indole	Culture	Etat frais	Coloration de Gram	Urée indole	Catalase	Oxydase
BHp1	+	++	+	+	+	+	+	+
BHp2	+	+	+	+	+	+	+	+
BHp3	+	+	+	Nd	+	-	+	-
BHp4	+	Nd	+	Nd	+	-	+	+
BHp5	+	Nd	+	+	+	+	+	+
BHp6	+	+	+	+	+	+	+	+
BHp7	+	+	+	+	+	++	+	+

Légende : BHp : Biopsie d'*H. pylori* ; + : positif ; - : négatif ; Nd : non déterminé.

Dans ce travail, les résultats obtenus ont montré que seulement quatre biopsies étaient contaminées par *H. pylori*. Tandis que les autres biopsies présentant une négativité (résultat de la culture faussement négatif). Cela ne signifie pas forcément l'absence de la bactérie car celle-ci est hautement fragile et nécessite des conditions de transport et une atmosphère de culture très astreignantes.

Egalement, l'échec de la culture de *H. pylori* est probablement dû à l'erreur de l'échantillonnage ou de l'incubation. L'échec de la culture dans ces conditions peut être traduit selon Lozniewski (1996); Mégraud (1996) et Yousfi (1997) par la sensibilité de la technique extrêmement dépendante des conditions de transport, de stockage et de culture fournies au laboratoire (mode de culture des prélèvements, milieux spéciaux, atmosphère micro aérophile).

En effet, la croissance de *H. pylori* semble influencée par la température, le contact avec l'oxygène, la dessiccation, le milieu de transport et le laps de temps avant de traiter les biopsies (Mégraud, 1994; Yousfi, 1997).

De plus, la distribution irrégulière de la bactérie dans la muqueuse gastrique peut influencer l'apparition des colonies dans les milieux de culture et peut donc contribuer à des résultats faussement négatifs (Yousfi, 1997). Pour cela, certains auteurs ont recommandé la réalisation de plusieurs biopsies dans des différents sites de la muqueuse gastrique, améliorant ainsi le rendement de la culture (Mégraud, 1994; Yousfi, 1997).

4.3. Résultats de l'évaluation de la sensibilité des souches d'*H. pylori* vis-à-vis des agents antimicrobiens

4.3.1. Antibiogramme

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*H. pylori* est très utile pour le choix thérapeutique. La lecture des résultats d'antibiogramme s'effectue par la mesure des diamètres de la zone d'inhibition apparue dans les boîtes de pétri à l'aide de pied de coulisse. Les résultats de l'antibiogramme envers les souches cliniques de *H. pylori*, basés sur la standardisation CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), sont présentés dans le Tableau 4 ci-après.

Tableau 4. Résultats de l'antibiogramme des trois souches d'*H. pylori* isolées.

Les antibiotiques	DMI (mm)	Les souches		
		HP 1	HP 6	HP 7
Rifampicine (TM) 30ug	22	R	R	S
Amoxicilline (AMX) 2µg	20	R	R	R
Métronidazole (MTR) 5µg	19	R	R	R
Ciprofloxacine (CIP) 5µg	20	S	R	S
Tétracycline (TET) 30ug	19	R	S	S
AC Nalidixique (NA) (30ug)	14	S	S	R

Légende : mm : millimètre ; **R** : résistante ; **S** : sensible ; **HP** : *H. pylori*

L'étude de la sensibilité des souches d'*H. pylori* aux antibiotiques indiquent que deux souches cliniques d'*H. pylori* sont sensibles vis-à-vis à la tétracycline et l'acide nalidixique. En revanche, les souches d'*H. pylori* montrent une résistance remarquable envers les antibiotiques testés tels que le métronidazole et l'amoxicilline. D'autre part, nous avons également constaté qu'il y a une synergie très claire entre ciprofloxacine et rifampicine pour la souche Hp7 (Figure 23). Par conséquent, l'association entre ces deux antibiotiques induit à une bonne éradication des souches d'*H. pylori*.

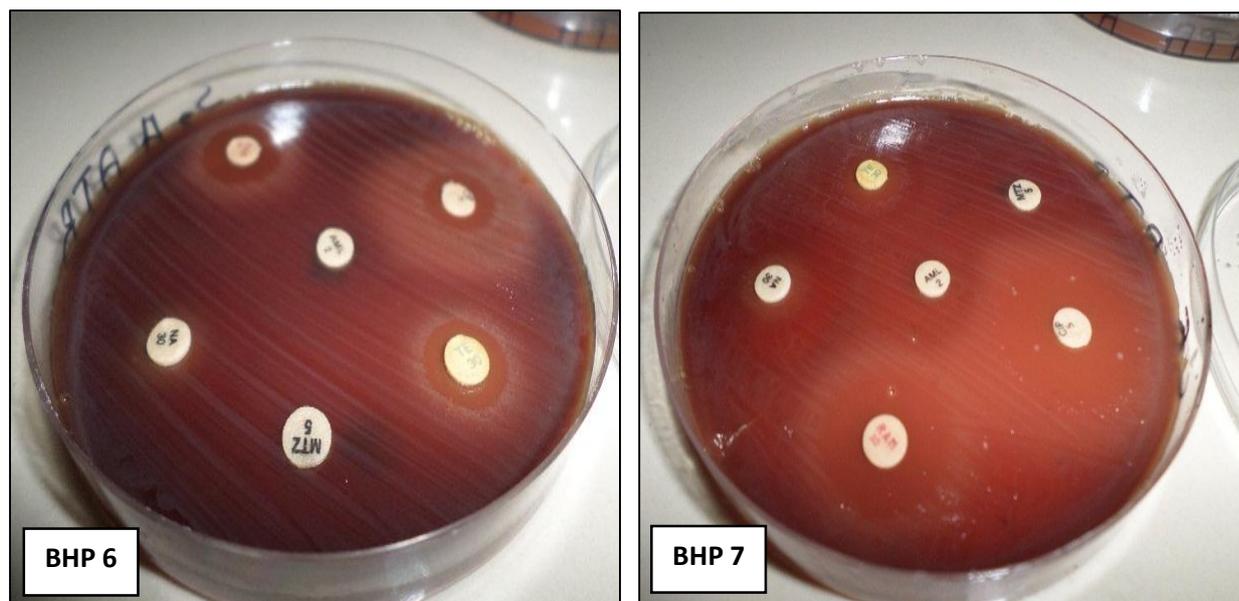


Figure 23. Résultats de l'antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton au sang frais.

La sensibilité de *H. pylori* envers les antibiotiques utilisés a été étudiée par plusieurs auteurs qui sont Adeyemi *et al.* (1999) ; Megraud (1994) ; Fellous (2009) ; Raymond *et al.* (2010). L'étude réalisée en Tunisie sur des enfants infectés par *H. pylori* a montré l'absence de la résistance envers l'amoxicilline, un taux de résistance moyen à la clarithromycine et un taux de résistance élevé au métronidazole (Mazigh Mrad *et al.*, 2005).

En Algérie, la résistance de *H. pylori* à la clarithromycine et au métronidazole a été évaluée de 12% et 37%, respectivement (Khoder *et al.*, 2009). De même, l'étude de la sensibilité de 530 souches de *H. pylori* collectées à Paris et à Poitiers a révélé l'absence totale de la résistance envers l'amoxicilline et à la tétracycline, 26% (138 cas) de résistance ont été constatée à la clarithromycine et 61% (324 cas) de résistance au métronidazole (Raymond *et al.*, 2010).

La résistance au métronidazole et parfois à la clarithromycine pose de nombreux problèmes à l'inverse de l'amoxicilline et de la tétracycline; en effet, ces antibiotiques sont de plus en plus inefficaces pour le traitement des infections causées par *H. pylori* (De Korwin, 2003). Cette résistance vis-à-vis les antibiotiques recommandés en thérapie constitue le principal facteur d'échec des traitements d'éradication. Elle doit donc inciter les gastrologues à ne traiter les malades infectés par *H. pylori* qu'en fonction des résultats de test de sensibilité classique (antibiogramme) ; ceci pour un traitement d'éradication efficace de l'*H. pylori* (Fellous, 2009; Raymond *et al.*, 2010).

4.3.2. Effets des huiles essentielles envers *H. pylori*

4.3.2.1. Diamètres des zones d'inhibition

Les résultats de l'effet inhibiteur des extraits de trois alicaments utilisés sur les souches cliniques d'*H. pylori* sont présentés dans la Figure 24.

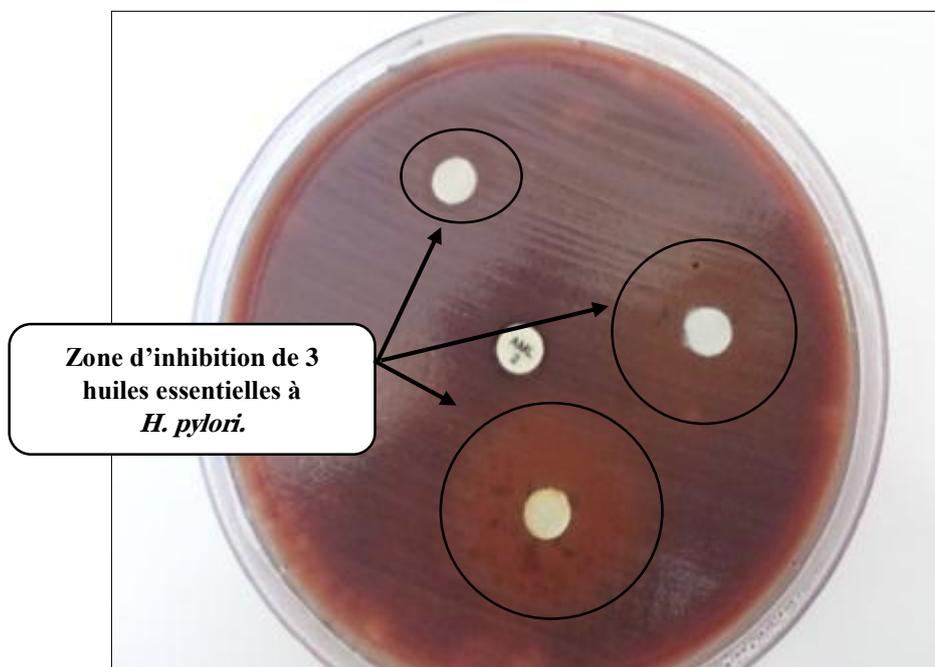


Figure 24. Résultats de l'aromatogramme sur gélose Mueller-Hinton au sang frais.

D'après les résultats ci-dessous (Tableau 5), on remarque que l'huile essentielle la plus active contre les souches *H. pylori* est celle de *Cinnamomum cassia* avec une moyenne des zones d'inhibition de (29 mm), suivie par l'huile de *Syzygium aromaticum* (27 mm). Tandis que l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* a un effet moins actif avec une moyenne des zones d'inhibition de (12 mm).

La comparaison de nos résultats avec ceux trouvés par d'autres auteurs montre que l'activité de *Cinnamomum cassia* trouvé par Lee *et al.* (2010) envers des isolats d'*H. pylori* étaient nettement inférieure de la nôtre avec des zones d'inhibition de 14 mm. Dans un autre travail effectué par Tabak *et al.* (1999) ; les auteurs ont trouvé des résultats des effets des huiles essentielles supérieures aux nôtres concernant le genre *Thymus* (*Thymus vulgaris*) avec des zones d'inhibition égale 23 mm.

Tableau 5. Les résultats de la méthode d'aromatogramme.

Souches <i>H. pylori</i>	Zones d'inhibition en (mm)		
	<i>Cinnamomum cassia</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Thymus fontanesii</i>
HP1	31	30	14
HP6	25	30	10
HP7	30	20	12
Moyenne (D)	29	27	12

Mm : millimètre. **HP** : *H. pylori* ; **D** : Diamètre.

Tout d'abord, l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* est riche en phénylpropanoïdes dont le cinnamaldéhyde est le composé majoritaire (75.85%) (Zenati, 2016). Ainsi que, les essais ont en outre montré que l'écorce de cannelle infusée peut prévenir la formation d'ulcères de l'estomac (Jean *et al.*, 2006).

D'autre part, dans de nombreuses études publiées, les auteurs ont confirmé que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* possède un potentiel antimicrobien intéressant, qui pourrait être attribuée à son composé majoritaire "l'eugénol"(89.6%) (Santin *et al.*, 2011). D'ailleurs, les travaux de Valero et Giner (2006) ont prouvé que l'eugénol parmi d'autres composés a provoqué l'inhibition de la croissance des bactéries. C'est ainsi les clous de girofle sont utilisés pour traiter les maladies infectieuses comme un antibactérien, dont les troubles gastro-intestinaux et les inflammations (Domaracký *et al.*, 2007) . De plus, certains résultats ont montré que l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* ainsi que son principal composant (eugénol) possèdent une activité contre les ulcères d'estomac (Capasso *et al.*, 2000). Egalement, certains auteurs ont démontré que l'huile essentielle et l'eugénol ont la propriété de stimuler et d'améliorer la synthèse du mucus, un facteur gastro protecteur important (Santin *et al.*, 2011) .

Concernant le thym, son huile essentielle est caractérisée par un fort potentiel antimicrobien (Cosentino *et al.*, 1999). Le thymol est l'un des principaux composés reconnus dans l'huile essentielle de quelque *Lamiaceae* notamment les thyms dont le *Thymus fontanesii* avec un contenu peut atteindre jusqu'à 84% (Kaloustian *et al.*, 2008). Toutefois, il existe parfois des variations dans la composition chimique des huiles essentielles des thyms liées beaucoup plus à plusieurs paramètres tels que les facteurs environnementales, les conditions climatiques

et géographiques et à la méthode d'extraction, qui influe considérablement sur la composition chimique des huiles essentielles (Ložienė *et al.*, 2007). Plusieurs études ont montré que le thymol possède de nombreuses activités biologiques tels que l'activité antibactérienne, anti-cancérogène, anti-inflammatoires (Szentandrassy *et al.*, 2003; Ipek *et al.*, 2005).

4.3.3. Comparaison entre les effets des antibiotiques et des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées ainsi que les antibiotiques étaient déterminée contre trois isolats cliniques d'*H. pylori* par la méthode de diffusion des disques. Les résultats du test d'aromatogramme ont montré une sensibilité remarquable chez 2 /3 des isolats avec des diamètres de zones d'inhibitions moyennes comprises entre 12 et 31 mm. Par contre les antibiotiques sont moins effaçasses car y'avais des résistances des souches observées envers la plupart des antibiotiques testés. Par conséquent, l'utilisation des plantes médicinales et alimentaires (aliments) telle que des huiles *Cinnamomum cassia*, *Syzygium aromaticum* et *Thymus fontanesii* pourraient source précieuse des agents antimicrobiens envers *H. pylori* et pourraient être de ce fait, une alternative aux antibiotiques (Tableau 6).

Tableau 6. Comparaison entre la sensibilité de 3 huiles essentielles et 6 antibiotiques aux 3 isolats de *H. pylori*.

Isolats de <i>H.pylori</i>	Zone d'inhibition en (mm)								
	Huiles essentielles			Antibiotiques					
	<i>C.Cassia</i>	<i>S.aromaticum</i>	<i>T.fontanesii</i>	RIF	AMX	MET	CIP	TE	NA
HP1	31	30	14	R	R	R	28	R	26
HP6	25	30	10	R	R	R	R	19	30
HP7	30	20	12	24	R	R	29	23	R

Légende: mm: millimètre; **R:** résistante; **HP:** *H. pylori*; **C.Cassia:** *Cinnamomum cassia*; **S.Aromaticum:** *Syzygium aromaticum*; **T.fontanesii;** *Thymus fontanesii*. **CIP :** Ciprofloxacine, **RIF :** Rifampicine, **AMX :** Amoxicilline, **TET :** Tétracycline, **NA :** Acide. Nalidixique, **MET :** Métronidazole.

Dans une autre étude réalisée par Chabenat (2017), les auteurs ont constaté, en comparant les résultats de l'aromatogramme avec celles de l'antibiogramme, que l'huile essentielle de girofle et de cannelle et aussi de thym possèdent un pouvoir antimicrobien supérieur à celui des agents antimicrobiens standards utilisés. Les auteurs ont également démontré que la croissance de toutes les souches microbiennes a été inhibée par l'huile essentielle ; ce qui n'est pas le cas de tous les antibiotiques. De plus, l'étude menée par Caillet et Lacroix (2007) indique que les huiles essentielles en générale sont pourvues d'un effet antibactérien. Cet effet s'explique en trois phases générales : Premièrement, les molécules de l'huile essentielle vont attaquer la membrane de la bactérie. Deuxièmement, l'huile essentielle va acidifier l'intérieur de la bactérie pour bloquer la production d'énergie et de composantes de structure. Enfin, si la bactérie survit, l'huile attaquera directement le matériel génétique de cette dernière. Il est à noter que les composés minoritaires peuvent avoir une part de contribution; en effet, ces derniers y agissent de manière synergique avec les composés majoritaires (Lahlou, 2004).

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail nous sommes intéressés à étudier pour la première fois la prévalence et la détection des souches d'*H. pylori* responsables de problèmes gastriques dans la région de Biskra. Une étude macroscopique, microscopique et biochimique montre que quatre souches isolées à partir de sept biopsies gastriques sont des bactéries bacilles hélicoïdales à Gram négatif, catalase, uréase et oxydase positif. D'après la bibliographie, ces tests préliminaires sont suffisants pour confirmer l'appartenance des souches isolées à l'espèce *H. pylori*.

Un examen d'antibiogramme est réalisé afin d'étudier la sensibilité des souches isolées aux antibiotiques pour conduire à un traitement efficace. Les résultats ont révélé que certaines souches de *H. pylori* sont sensibles aux tétracyclines et l'acide nalidixique. Par contre, nous avons constaté des résistances particulièrement vis-à-vis le métronidazole et l'amoxicilline.

Le développement de thérapies alternatives serait utile non seulement pour améliorer l'éradication chez les patients porteurs de la bactérie surtout envers les souches multi-résistantes, et aussi, afin de minimiser les effets secondaires des médicaments. Trois huiles essentielles obtenues à partir des alicaments ont été sélectionnées pour notre étude dans le but de traiter les ulcères gastrites et duodénaux. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été testée par aromatochrome dont les résultats ont montré que les huiles de *Cinnamomum cassia* suivie par celle de *Syzygium aromaticum* sont les plus actives contre les souches d'*H. pylori* testées. Par contre, l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* est moins efficace.

L'originalité de notre travail était d'étudier pour la première fois l'activité antibiofilm des huiles essentielles contre les souches cliniques d'*H. pylori*. En effet, la colonisation de cette espèce pathogène dans le mucus d'estomac est toujours sous forme de biofilms adhérente. Ce mode de vie augmente significativement la résistance des bactéries protégées dans l'intérieure envers les agents antimicrobien dont les antibiotiques. Malheureusement, nous n'avons pas eu la chance de réaliser cette étude à cause de la pandémie mondiale de coronavirus (COVID-19). Nous espérons compléter cette étude à l'avenir pour la mise en évidence d'un traitement efficace envers les biofilms d'*H. pylori*.

Partant du fait qu'une huile essentielle pourrait très efficace *in vitro*, il serait très intéressant de vérifier ce pouvoir d'éradication dans une étude *in vivo*, pour obtenir une vue globale sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles testés. D'autant plus, On constate ce travail comme une contribution à la recherche dans ce domaine et nous espérons, avec nos

résultats, avoir participé à la valorisation de la médecine traditionnelle pour parvenir à la disponibilité de médicaments à base de plantes médicinales locales efficaces et accessibles pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal et l'infection à *H. pylori*.

Finalement, Il serait souhaitable d'effectuer des études complémentaires dans le but d'utiliser des souches bien particulières de probiotiques aidant à l'éradication l'infection à *H. pylori* après l'échec du traitement par les antibiotiques. Les bactéries lactiques pourraient donc être exploitées et utilisées comme un agent adjuvant. Des données suggèrent que les produits laitiers probiotiques favorisent la santé digestive et une bonne santé générale en améliorant les microbiotes intestinaux.

Références Bibliographiques

- Adeyemi, E. O., Danial, M. F., Helal, T., Benedict, S., & Abdulle, A. M. (1999). The outcome of a 2-week treatment of *Helicobacter pylori*-positive duodenal ulcer with omeprazole-based antibiotic regimen in a region with high metronidazole resistance rate. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 11(11), 1259–1263.
- Allen et al, L.-A. H. (2007). Phagocytosis and persistence of *Helicobacter pylori*. *Cellular microbiology*, 9(4), 817–828.
- Arnion, H. (2011). Étude de petits ARNs chez une bactérie : *Helicobacter pylori*.
- Asha, M. K., Debraj, D., Edwin, J. R., Srikanth, H. S., Muruganatham, N., Dethé, S. M., Anirban, B., Jaya, B., Deepak, M., & Agarwal, A. (2013). In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid, rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. *Journal of ethno pharmacology*, 145(2), 581–586.
- Aspinall, G. O., Monteiro, M. A., & Moran, A. P. (1995). Chemical structures of lipopolysaccharides : A window on strain-to-strain variations in *H. pylori*. *Gut*, 37(Suppl. 1), A17.
- Auteroche, B. (1993). Une plante familière de la pharmacopée chinoise : Le cannellier-*Cinnamomum cassia* Presl. (Gui). *Méridiens (Paris. 1968)*, 101, 87–98.
- Avril et al, D. H., Denis F, Monteh H. (1995). *Bactériologie clinique*. Pp 25 : 293-295.
- Azevedo, N. F., Guimarães, N., Keevil, C. W., & Vieira, M. J. (2006). Biofilms as possible microenvironments for *H. pylori* subsistence in water-exposed environments.
- Bentahar, A. (2018). L'Ulcère gastroduodéal à *Helicobacter pylori* : Aspects épidémiologique et phytothérapeutique traditionnel en Nord-Est Algérien [PhD Thesis].
- Bessedé, E. (2012). Etude des mécanismes de la carcinogénèse gastrique induite par *Helicobacter pylori* impliquant la transition épithélio-mésenchymateuse [PhD Thesis]. Bordeaux 2.
- Bouarioua, N., Merrouche, M., Pospai, D., & Mignon, M. (2007). Physiopathologie de la maladie ulcéreuse gastroduodénale à l'ère d'«*Helicobacter pylori*». *EMC-Gastro-entérologie. janv*, 2(4), 1–12.
- Bourrain, J.-L. (2013). Allergies aux huiles essentielles : Aspects pratiques. *Revue Française d'Allergologie*, 53, 30–32.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1–11.
- Bouyssou, C. (2014). Évolution des stratégies thérapeutiques pour *Helicobacter pylori*. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(536), 25–30.
- Burri, E., et Meier, R. (2011). Ulcères peptiques mise à jour 2011. *Forum Médical Suisse*, 11, 897–906.
- Caillet, S., et Lacroix, M. (2007). Les huiles essentielles : Leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA*, 1–8.
- Capasso, R., Pinto, L., Vuotto, M. L., & Di Carlo, G. (2000). Preventive effect of eugenol on PAF and ethanol-induced gastric mucosal damage. *Fitoterapia*, 71, S131–S137.

- Capelle, L. G., de Vries, A. C., Looman, C. W., Casparie, M. K., Boot, H., Meijer, G. A., & Kuipers, E. J. (2008). Gastric MALT lymphoma: Epidemiology and high adenocarcinoma risk in a nation-wide study. *European Journal of Cancer*, 44(16), 2470–2476.
- Cellini, L., Allocati, N., Piattelli, A., Petrelli, I., Fanci, P., & Dainelli, B. (1995). Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from dental plaque in dyspeptic patients. *The new microbiologica*, 18(2), 187–192.
- Chabenat, H. (2017). Potentialité *in vitro* de 10 huiles essentielles, seules ou en association, dans le traitement des infections bactériennes cutanées [PhD Thesis].
- Cherkaoui malki, M. (2018). Y a-t-il une corrélation entre la densité bactérienne et l'apparition des lésions prénéoplasiques chez les patients infectés par l'*Helicobacter pylori* [PhD Thesis].
- Correa, P. (1996). *Helicobacter pylori* and gastric cancer : State of the art. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 5(6), 477–481.
- Cosentino, S., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in applied microbiology*, 29(2), 130–135.
- Cover, T. L., & Blaser, M. J. (2009). *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*, 136(6), 1863–1873.
- Crabtree, J. E., Taylor, J. D., Heatley, R. V., Shallcross, T. M., Rathbone, B. J., Wyatt, J. I., & Tompkins, D. S. (1991). Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration, and gastric pathology. *The Lancet*, 338(8763), 332–335.
- De Korwin, J. D. (1993). *Helicobacter pylori* et muqueuses gastriques et duodénales. *Lett Infectiol*, 8(5), 164–171.
- De Korwin, J. D. (2016). Nouvelles recommandations sur la prise en charge des patients infectés par *Helicobacter pylori*. *POST'U*, 19–29.
- De Korwin, J.-D. (2003). Advantages and limitations of diagnostic methods for *H. pylori* infection. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 27(3 Pt 2), 380–390.
- De la Guyane, E., & BASTARAUD, H. (2017). Pratiques des médecins généralistes en Guadeloupe dans la prise en charge des patients infectés par *Helicobacter pylori*.
- de Martel, C., Llosa, A. E., Farr, S. M., Friedman, G. D., Vogelmann, J. H., Orentreich, N., Corley, D. A., & Parsonnet, J. (2005). *Helicobacter pylori* infection and the risk of development of esophageal adenocarcinoma. *The Journal of infectious diseases*, 191(5), 761–767.
- Degnan, A. J., Sonzogni, W. C., & Standridge, J. H. (2003). Development of a plating medium for selection of *Helicobacter pylori* from water samples. *Applied and environmental microbiology*, 69(5), 2914–2918.
- Degryse, A. C., Delpla, I., & Voinier, M. A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire*.
- D'Elis, M. M., Amedei, A., Benagiano, M., Azzurri, A., & Del Prete, G. (2005). *Helicobacter pylori*, T cells and cytokines : The “dangerous liaisons”. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 44(2), 113–119.

- Domaracký, M., Rehak, P., Juhás, Š., & Koppel, J. (2007). Effects of selected plant essential oils on the growth and development of mouse preimplantation embryos *in vivo*. *Physiological research*, 56(1), 20-26.
- Driouche et Rabahi. (2017). Exploration de la maladie ulcéreuse en Algérie.
- El-Omar, E. M., Oien, K., El-Nujumi, A., Gillen, D., Wirz, A., Dahill, S., Williams, C., Ardill, J. E., & McColl, K. E. (1997). *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology*, 113(1), 15–24.
- Faik, M., & Raiss, M. (1998). *Helicobacter pylori* et pathologie gastrique. *Médecine du Maghreb*, 19(70), 159–162.
- Fakhar, N. (2018). *Helicobacter pylori* et santé parodontale [PhD Thesis]. Université de Lorraine.
- Fauchere, J.-L. (1994). Infections gastriques à *Helicobacter pylori*. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 18(3), 212–216.
- Fekih, N. (2015). Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinus* poussant en Algérie [PhD Thesis].
- Fellous, M. (2009). Résistances aux antibiotiques de *Helicobacter pylori* [PhD Thesis]. Université Paris Descartes.
- Ferrand, J. (2009). *Helicobacter pylori* dans un modèle de carcinogénèse gastrique impliquant les cellules souches mésenchymateuses [PhD Thesis]. Bordeaux 2.
- Fineberg, H., & Pearlman, L. (1981). Surgical treatment of peptic ulcer in the United States : Trends before and after the introduction of cimetidine. *The Lancet*, 317(8233), 1305–1307.
- Flandrois, J.-P. (1997). Bactériologie médicale. Lyon, Presses Universitaires de Lyon, Collection AZAY.
- Floch, P. (2016). Apport des modèles murins dans la compréhension de la lymphomagénèse gastrique induite par l'infection à *Helicobacter pylori* [PhD Thesis].
- Garrity, G. M., Bell, J. A., & Lilburn, T. (2005). Class V. *Epsilonproteobacteria* class. Nov. In *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (p. 1145–1194). Springer.
- Gottrand, F. (2000). Place d'*Helicobacter pylori* dans les douleurs abdominales de l'enfant. *Archives de pédiatrie*, 7(2), 197–200.
- Gueneau, P., Fuenmayor, J., Aristimuño, O. C., Cedeño, S., Báez, E., Reyes, N., Michelangeli, F., & Domínguez-Bello, M.-G. (2002). Are goats naturally resistant to gastric *Helicobacter* infection? *Veterinary microbiology*, 84(1-2), 115–121.
- Ibara, J. R., Ikourou, A., & Itoua Ngaporo, A. (1993). Les ulcères gastriques et duodénaux à Brazzaville. À propos de 728 cas. *Médecine d'Afrique noire*, 40, 459–465.
- Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B. A., Kurkcuoglu, M., & Baser, K. H. C. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames *Salmonella*/microsomal test. *Food Chemistry*, 93(3), 551–556.
- Isomoto, H., Moss, J., & Hirayama, T. (2010). Pleiotropic actions of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin, VacA. *The Tohoku journal of experimental medicine*, 220(1), 3–14.
- Jean, M. R. S., Dunkle-Blatter, S. E., & Petrick, A. T. (2006). Laparoscopic management of perforated marginal ulcer after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 2(6), 668-675.

- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813–829.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F. (2008). Étude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160–164.
- Khoder, G., Yamaoka, Y., Fauchère, J.-L., Burucoa, C., & Atanassov, C. (2009). Proteomic *Helicobacter pylori* biomarkers discriminating between duodenal ulcer and gastric cancer. *Journal of Chromatography B*, 877(11–12), 1193–1199.
- Kimmel, R. (2018). Intérêt des probiotiques dans le traitement de l'infection à *Helicobacter pylori* : *Revue de la littérature* [PhD Thesis]. Université de Lorraine.
- Lacave, R., Larsen, C. J., & Robert, J. (2005). *Cancérologie fondamentale*. John Libbey Eurotext.
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435–448.
- Lai, L. H., & Sung, J. J. (2007). *Helicobacter pylori* and benign upper digestive disease. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 21(2), 261–279.
- Lamouliatte, H., Mégrand, F., & Cayla, R. (1992). *Helicobacter pylori* et pathologie Gastroduodénale. *Encyclopédie Médico-chirurgicale. Editions techniques. EMC*.
- Laurent, K. (2017). L'application des huiles essentielles en dermatologie : Escarres, ulcères veineux et artériels [PhD Thesis].
- Leclerc, H. (2006). Epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* infection. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 190(4–5), 949.
- Lee, H.-A., Hong, S., Oh, H.-G., Park, S.-H., Kim, Y.-C., Jeong, G.-S., & Kim, O. (2010). *In vitro* and *in vivo* Antibacterial Activities of *Cinnamomum cassia* Extracts Against *Helicobacter pylori*. *Laboratory Animal Research*, 26(1), 21–29.
- Libbey, P. (2017). Met defends suggestive painting of girl after petition calls for its removal. *The New York Times*, 4.
- Lin, S. K., Lambert, J. R., Schembri, M. A., Nicholson, L., & Korman, M. G. (1994). *Helicobacter pylori* prevalence in endoscopy and medical staff. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 9(4), 319–324.
- Ložienė, K., Venskutonis, P. R., Šipailienė, A., & Labokas, J. (2007). Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chemistry*, 103(2), 546–559.
- Lozniewski, A. (1996). Méthodes diagnostiques de l'infection à *Helicobacter pylori*. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 20(1BIS), S111–S118.
- Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Cartagena, E., Bardón, A., & Arena, M. E. (2016). Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 373–380.
- Mazigh Mrad, S., Boukthir, S., Fdhila, F., Fendri, C., & Barsaoui, S. (2005). L'infection à *Helicobacter pylori* chez l'enfant : Résultat de l'antibiogramme. *Tunisie médicale*, 83(10), 599–602.

- McLuhan, M., & McLuhan, M. A. (1994). *Understanding media : The extensions of man*. MIT press.
- Medouakh, L., et Bensoltane, A. (2010). Microbiological evidence of *Helicobacter pylori* from patients suffering from gastroduodenal disease. (a). *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 9–15.
- Mégraud, F. (1994). Mise en évidence de *Helicobacter pylori* au niveau de biopsies gastriques par les méthodes bactériologiques. *Revue française des laboratoires*.
- Mégraud, F. (1996). Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 31(sup215), 57–62.
- Mégraud, F. (2003). Quand et comment s'infecte-t-on par *Helicobacter pylori* Gastroentérologie clinique et biologique, 27(3), 374–379.
- Mégraud, F. (2004). *H. pylori* antibiotic resistance : Prevalence, importance, and advances in testing. *Gut*, 53(9), 1374–1384.
- Merad-boudia, Z. (2013). Apports des nanotechnologies dans la prise en charge du cancer : Du dépistage au traitement. *Onko+*, 5(41), 138–141.
- Michenot, F. R. V. (2001). Ulcères gastro-duodénaux : Confirmer l'éradication d'HP. *Actualités pharmaceutiques*, 398, 25–27.
- Miendje Deyi, V. (2011). Pratical use of *HelicoDRTM* in the management of *H.pylori* diagnosis and antimicrobial susceptibility testing.
- Mustapha, P. (2011). Etude des interactions entre *Helicobacter pylori* et les cellules épithéliales gastriques [PhD Thesis].
- Myszka, K., Schmidt, M. T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., & Czaczyk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens KM121* by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. *International Bio deterioration & Biodegradation*, 114, 252–259.
- OMS. (1994). *IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. 177–240.
- OMS. (2010). L'infection à *Helicobacter pylori* chez 755 patients présentant des symptômes digestifs : Institut Pasteur du Maroc.
- Oth, L., Wilson, M., Fernández, H., Oth, C., Toledo, C., Cárcamo, V., Rivera, P., & Ruiz, L. (2011). Isolation of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa and susceptibility to five antimicrobial drugs in Southern Chile. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(2), 442–447.
- Ouattara et al, S. S., Diallo A., Adom A., Niamkey K. & Beda Y., (1999). Aspects Epidemiologiques des Ulcères Gastro-Duodénaux. 46 (2) : 102.
- Ouiza, M. A. C. (2018). Filière : Sciences Agronomique [PhD Thesis]. Université de Bejaïa.
- Padrini, F., et Lucheroni, M. T. (1996). *El gran libro de los aceites esenciales*. Editorial de Vecchi.
- Pibiri, M.-C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. EPFL.
- Raaf, N. (2018). Prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* et typage moléculaire des souches isolées à Alger (Algérie) [PhD Thesis].
- Raymond, J., Lamarque, D., Kalach, N., Chaussade, S., & Burucoa, C. (2010). High level of antimicrobial resistance in French *Helicobacter pylori* isolates. *Helicobacter*, 15(1), 21–27.

- Rebiere, C., & Rebiere, O. (s. d.).(2019) Plantes aromatiques pour votre santé : Petit guide digital des herbes aromatiques, graines et épices et leurs propriétés médicinales, recettes simples et gourmandes pour vous faire plaisir. Rebiere.
<https://books.google.dz/books?id=BN6RDwAAQBAJ>
- Riachi, G. (1995). Colin R., “*Helicobacter pylori*. Méthodes de recherche “. Les dossiers du praticien. *Impact. Med*, 303, 1–22.
- Santin, J. R., Lemos, M., Klein-Júnior, L. C., Machado, I. D., Costa, P., de Oliveira, A. P., Tilia, C., de Souza, J. P., de Sousa, J. P. B., & Bastos, J. K. (2011). Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. *Naunyn-Schmiedeberg’s archives of pharmacology*, 383(2), 149–158.
- Sobhani, I., Flourie, B., Lavergne, A., Colimon, R., & Mignon, M. (1991). *Helicobacter pylori* et pathologie gastroduodénale. II, Aspects cliniques et thérapeutiques. *Gastroentérologie clinique et biologique*, 15(5), 412–420.
- Sobhani, I., Vallot, T., & Mignon, M. (1995). *Helicobacter pylori*, une bactérie redécouverte : Son implication dans les maladies gastro-duodénales. *La Presse médicale* (1983), 24(2), 67–79.
- Szentandrassy, N., Szentesi, P., Magyar, J., Nánási, P. P., & Csernoch, L. (2003). Effect of thymol on kinetic properties of Ca and K currents in rat skeletal muscle. *BMC pharmacology*, 3(1), 1–8.
- Tabak, M., Armon, R., & Neeman, I. (1999). Cinnamon extracts’ inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. *Journal of ethnopharmacology*, 67(3), 269–277.
- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O’Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(14), 5987–6000.
- Trouillas, S. (2010). Éradication d’*Helicobacter pylori* : Évaluation d’un traitement non conventionnel : Comparaison de l’association Métronidazole-Amoxicilline à forte dose versus l’association recommandée Clarithromycine-Amoxicilline à dose modérée [PhD Thesis].
- Valero, M., & Giner, M. J. (2006). Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. *International journal of food microbiology*, 106(1), 90–94.
- Wroblewski, L. E., Peek, R. M., & Wilson, K. T. (2010). *Helicobacter pylori* and gastric cancer : Factors that modulate disease risk. *Clinical microbiology reviews*, 23(4), 713–739.
- Yousfi, M. M. (1997). eddy R., Osato MS and Graham D., “Antre ou corps gastrique : Quel est le meilleur site biopsique pour mettre en culture. *Helicobacter pylori* “. *Helicobacter*, 1, 25–26.
- Zacharie, S. (2014). *Faculté de Pharmacie* [PhD Thesis]. Université de Limoges.
- Zenati, F. (2016). La juridictionnalisation de la Cour de cassation. *Revue trimestrielle de droit civil*, 114, 511.
- Zine-Charaf, A. (2007). Pathologie gastriques et infection à *Helicobacter pylori*. 2 : 21p.

Annexes

Annexe n°1

Tableau 7. Principales méthodes de diagnostics de l'infection à *H. pylori* (De Korwin, 2016).

	Méthodes invasives			Méthodes non invasives	
Test diagnostique	Anatomie pathologie	Culture	Amplification génique (PCR)	Sérologie	Test respiratoire à l'urée 13C
sensibilité	+++	++	+++	+++	+++
spécificité	++	+++	++	++	+++
Avantages	-Disponibilité -Typage gastrite	-Test de référence -Antibiogramme	-Conservation biopsie -Détection résistance antibiotiques	-Faible cout -Remboursement	-Disponibilité - Infection active
Inconvénients	- Gastroskopie - Sensibilité dépendante charge bactérienne	- Gastroskopie - Centre spécialisé -Milieu transport biopsie	- Gastroskopie -Non remboursé	- Pas détection infection active - performance KIT ELISA	- Sensibilité - Non réalisable d'estomac opéré

+ (performance) ++ (bonne) +++ (excellente).

Annexe n°02

Tableau 8. Composants moyens évalués à une gamme de concentrations pour développer la formulation finale d'*H. pylori* (Degnan *et al.*, 2003).

Les ingrédients	Gamme testée (1 litre)	Niveau Optimal (1 litre)
Amphotericine B	0–7.5 mg	5 mg
Vancomycine	0–10 mg	10 mg
Trimethoprime	0–5 mg	5 mg
Urée	0–1.0 g	600 mg
Rouge de phénole	0–200 mg	100 mg
HCL (1N)	0–2 ml	0.8 ml

Annexe n°3. Questionnaire



Université Mohamed khieder Biskra
Faculté sciences de la nature et de la vie



Questionnaire

Formulaire de Renseignements :

Date :

N° d'ordre :

Nom :

prénom :

Age :

sexe :

Lieu de résidence

Paramètre socioéconomique :

Niveau d'instruction :

Analphabète primaire secondaire universitaire

Type d'habitat : individuelle sélective

Une maladie gastrique/ ulcère : oui non

Antécédents : Douleur abdominale Hémorragie digestif

Gastrite Chronique tabagisme stress

Autres maladies associées :

Diabète anémie maladie de foie

Affection cutanée maladie immunitaire autre

Le traitement suivi actuellement / avancée oui non

Si oui depuis combien de temps :

Types de traitement : Antibiotique anti inflammation

Anti sécrétoire IPP autre médicaments

Résultat de l'investigation

Aspect endoscopique

Muqueux d'aspect normal inflammation gastrite

Ulcère gastrique ulcère duodéal

Ulcère gastroduodéal

Examen directe :

Etat frais :

Coloration de Gram :

Test rapide à l'uréase : positive négative

Résultat de culture :

La présence de *Helicobacter pylori* : oui non

Annexe n°4. Plantes étudiées

❖ Classification botanique de *Thymus fontanesii*

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Phanérogames*

Sous-embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Eudicots*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus fontanesii*.



Thymus fontanesii

❖ Classification botanique de *Syzygium aromaticum*

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta* (= *phanérogames*)

Sous-embranchement : *Magnoliophytina* (= *angiospermes*)

Classe : *Magnoliopsida* (= *dicotylédones*)

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Espèce : *Syzygium. Aromaticum*.



Syzygium. Aromaticum.

❖ Classification botanique de *Cinnamomum cassia*

Règne : *plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Spermaphytes.*

Sous embranchement : *Angiospermes.*

Classe : *Dicotylédones.*

Sous classe : *Magnolidées.*

Ordre : *Laurales* ou *magoliales*

Famille : *Lauracées.*

Genre : *Cinnamomum.*

Espèce : *Cinnamomum cassia.*



Cinnamomum cassia.

Annexe n°5. Milieu de culture

Pour 1 litre d'eau distillée

Composition du milieu urée -idole

L-tryptophane.....	3 g
Urée.....	20 g
Monophydrégénophosphate de potassium	1 g
Dihydrégénophosphate de potassium.....	1 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Éthanol à.....	95°
Giensa Lent.....	10 ml
Rouge de phénol	25 mg.

Composition de Bouillon coeur-cervelle

Extrait coeur-cervelle.....	17.5 g
Peptone pancréatique de gélatine	10.0 g
Chlorure de sodium.....	05.0 g
Phosphate disodique	2.5 g
Glucose.....	2.0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7.4 ± 0.2.

Composition de Bouillon Mueller-Hinton

Extrait de viande de bœuf.....	2ml
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5 g
Amidon de maïs soluble	1.5 g

pH = 7.3 +/- 0.1.

Composition du milieu Mueller-Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	300.0 ml
Peptone de caséine.....	17.5 g
Amidon de maïs.....	1.5 g

Agar : 17.0 g pH = 7.4.

Composition du milieu Columbia

Polypeptones	17.0 g
Peptone pancréatique de coeur.....	3.0 g
Amidon de maïs.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Extrait de levure.....	3.0 g
Agar	13.5 g

pH = 7.3 +/- 0.2.

Composition du milieu Brucella

Peptone.....	10.10
Extrait de viande de bœuf.....	5.0
Glucose.....	10.0
Chlorure de sodium.....	5.0
Agar	15.0

PH 7.5 ± 0.2.

Composition du milieu Compylobacter

Mélange de peptones.....	18.0 g
Extrait de levure.....	5.0 g
Amidon de maïs.....	1.0 g
Chlorure de sodium.....	5.0 g
Charbon activé.....	4.0g
Hémine.....	32.0 mg
Pyruvate de sodium.....	0.1 g
Agar.....	10.0 g

pH = 7.4.

Résumés

الملخص

والهدف من هذا العمل هو الكشف في المختبر عن الإمكانيات المثبطة للزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها من ثلاثة نباتات طبية على البكتيريا المسببة للأمراض *Helicobacter pylori* معزولة عن الخزعات المعدة. وقد تم تسليط الضوء على وجود هذا النوع من الثقافات التي من خلالها كنا قادرين على عزل أربع سلالات من *Helicobacter pylori*. ووفقاً لدراستنا الوبائية، وجدنا أنه *Helicobacter pylori* هو العامل المسبب الرئيسي في مرض UGD بنسبة (57.14%) في منطقة بسكرة. وبالإضافة إلى ذلك، أظهر لنا المضادات الحيوية أن سلالات *Helicobacter pylori* المعزولة مقاومة خاصة لـ amoxicilline و metronidazole. من ناحية أخرى، اختبرنا نشاط مضادات الميكروبات للزيوت الأساسية مقابل *Helicobacter pylori* عن طريق الطريقة المباشرة للانتشار. وأظهرت النتائج مناطق تثبيط واسعة التي يتم تسجيل أكبر هالة (31 ملم) من قبل الزيت الأساسي من *Cinnamomum cassia*، ثم *Syzygium aromaticum* (30ملم) و (*Thymus fontanesii*) (14 ملم).

الكلمات الرئيسية: *Helicobacter pylori*، القرحة الهضمية، مضاد حيوي، آثار مثبطات، الزيوت الأساسية.

Résumé

Le but de ce travail est de détecter *in vitro* le potentiel inhibiteur des huiles essentielles obtenues de trois plantes médicinales sur la bactérie pathogène *Helicobacter pylori* isolée des biopsies gastriques. La présence de cette espèce a été mise en évidence par des cultures à travers lesquelles nous avons pu isoler quatre souches de *Helicobacter pylori*. Selon notre étude épidémiologique, nous avons constaté que *Helicobacter pylori* est le facteur étiologique majeur dans la maladie UGD par (57.14%) dans la région de Biskra. Par ailleurs, l'antibiogramme réalisé nous a montré que les souches de *Helicobacter pylori* isolées sont résistantes surtout envers l'amoxicilline et le métronidazole. D'autre part, nous avons testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles vis-à-vis *Helicobacter pylori* par la méthode directe de diffusion. Les résultats ont démontré des zones d'inhibition larges dont le plus grand halo (31 mm) est enregistré par l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, puis *Syzygium aromaticum* (30 mm) et *Thymus fontanesii* (14 mm).

Mots clés : *Helicobacter pylori*, Ulcère gastroduodénale, Antibiogramme, Effets inhibiteurs, Huiles essentielles.

Abstract

The aim of this work is to detect *in vitro* the inhibitory potential of essential oils obtained from three medicinal plants on the pathogenic bacterium *Helicobacter pylori* isolated from gastric biopsies. The presence of this species was highlighted by cultures through which we were able to isolate four strains of *Helicobacter pylori*. According to our epidemiological study, we found that *Helicobacter pylori* is the major etiological factor in UGD disease by (57.14%) Biskra region. In addition, the antibiotic showed us that isolated *Helicobacter pylori* strains are resistant especially to amoxicillin and metronidazole. On the other hand, we tested the antimicrobial activity of essential oils vis-à-vis *Helicobacter pylori* by the direct method of diffusion. The results demonstrated broad inhibition zones whose largest halo (31 mm) is recorded by the essential oil of *Cinnamomum cassia*, then *Syzygium aromaticum* (30 mm) and *Thymus fontanesii* (14 mm).

Keywords: *Helicobacter pylori*, Gastroduodenal ulcer, Antibiotic, Inhibitor effects, Essential Oils.