

PCR Mobidiag : un « impact énorme » sur le traitement des infections à *Helicobacter pylori*

Nous avons rencontré le Dr Frédéric HELUWAERT, clinicien gastro-entérologue, et le Dr Hélène PETITPREZ, biologiste médicale qui utilisent en routine le test PCR Amplidiag® *H. pylori*+ClariR fabriqué par la société Mobidiag. Ils nous ont fait part de leur expérience.



Dr Hélène PETITPREZ et Dr Frédéric HELUWAERT

Spectra Diagnostic : Docteur HELUWAERT, quelle est la nature de l'infection *Helicobacter pylori* et quelles en sont ses conséquences cliniques ?

Frédéric HELUWAERT : L'*Helicobacter pylori* est une pathologie infectieuse qui a un retentissement au niveau gastroduodéal. Il faut donc à la fois réfléchir comme un infectiologue et comme un gastro-entérologue sur les lésions qui sont induites, sur le risque des lésions pré-neoplasiques au risque de cancer. La contamination survient dans l'enfance, dans les 5 à 10 premières années de la vie, le plus souvent de manière intra-familiale. Un long processus peut ensuite conduire à la survenue d'un cancer à un âge moyen de 65 ans. Les lésions surviennent toujours selon une séquence bien définie. L'*Helicobacter pylori* va induire tout d'abord une gastrite chronique, puis une atrophie, une métaplasie et enfin une dysplasie. Elles

vont évoluer avec l'âge avec un point de non-retour qui est situé entre l'atrophie et la métaplasie. En éradiquant les sujets avant le stade d'atrophie, il y a une restitution de la lésion et le risque de cancer devient quasiment nul. Si des lésions évoluées sont présentes (atrophie +/- métaplasie diffuse), il faut faire une nouvelle gastroscopie dans les 3 à 5 ans pour vérifier que la lésion n'évolue pas.

Spectra Diagnostic : Quelles sont les conséquences de cette infection au niveau mondial et quelle est la situation en France ?

Frédéric HELUWAERT : Au niveau mondial, le cancer de l'estomac est le 3^e cancer par fréquence de décès, après le cancer du poumon et le cancer du foie. Les pays d'Asie comme la Chine et le Japon sont très impactés et la question est d'éradiquer massivement l'*Helicobacter pylori*. En France, comparativement, nous n'avons pas beaucoup de cancer de l'estomac. Nous recensons 6500 cas par an (données 2017). C'est le 13^e cancer par fréquence, et le 8^e par fréquence de décès. C'est pourquoi nous pratiquons un dépistage ciblé avec de bons outils. Parmi les

patients infectés, moins d'1 % vont développer un cancer, 20 % vont être atteints d'un ulcère, 15 à 20 % d'une gastrite atrophique avec métaplasie. Ils pourront souffrir d'une carence en fer et en vitamine B12. La plupart, soit 60 à 70 %, seront toute leur vie porteurs de la bactérie sans subir de désagrément. C'est ainsi qu'en voulant bien faire, nous allons probablement traiter 60 % des patients inutilement. Il faut privilégier les sujets jeunes. Nous sommes certains qu'une éradication de la bactérie annule pour eux tout risque d'évolution vers une pathologie de l'estomac. Il faut aussi en priorité traiter les personnes qui ont les bonnes indications. Chez un patient ayant un ulcère à l'estomac, il faut éradiquer la bactérie, sinon il subira une récurrence. Il faut aussi rechercher la bactérie chez toutes les personnes ayant des antécédents familiaux de cancer de l'estomac. L'utilisation de la PCR est ainsi un service rendu majeur pour la prise en charge.



Kit Amplidiag® *H.pylori*+ClariR

Spectra Diagnostic : Quelle est la prévalence de l'infection *Helicobacter pylori* au niveau mondial et comment varie-t-elle en France ?

Frédéric HELUWAERT : La prévalence est très variable selon les continents. Elle est très élevée en Afrique et en Amérique du Sud, où elle se situe entre 80 et 90 %, de même qu'en Asie où elle atteint 70 %. En France, 15% de la population française est porteuse de l'*Helicobacter pylori*, moins de 5 % chez l'enfant. Sachant qu'il n'existe pas de recontamination à l'âge adulte et qu'une éradication est définitive, il convient d'être hyper rigoureux et de bien faire. Toutefois si globalement la prévalence nationale est faible, le chiffre n'est pas très significatif. Pour certains centres hospitaliers du territoire français, la prévalence peut atteindre 45 % en fonction du recrutement de la patientèle. On peut réfléchir de manière globale (taux de résistance de l'infection à la clarithromycine au sein d'un pays), mais tant que possible, il faut agir à l'échelle du patient (patient infecté par une souche sensible ou résistante à la clarithromycine) avant d'administrer un traitement.

Spectra Diagnostic : Quel est le pourcentage de patients concernés au CH d'Annecy Genevois ?

Frédéric HELUWAERT : Nous avons conduit une étude monocentrique sur les patients du CH d'Annecy Genevois. De janvier 2017 à mars 2018, elle a porté sur 1585 endoscopies avec biopsies gastriques à visée bactériologique (PCR +/- culture) et anatomopathologique (antre + fundus). 358 patients ont eu une PCR et/ou une culture positive. La prévalence de l'infection à *Helicobacter pylori* était de 22,58% (358/1585). Lorsque l'on réalise une endoscopie, nous sommes donc une fois sur quatre confrontés à la présence d'un *Helicobacter pylori*. L'étude nous a montré que la PCR a détecté 27 patients *H. pylori* de plus que l'histologie sur 296 patients. L'histologie « rate » donc 9 % des patients, ou la PCR « récupère » 9 % des patients *H. pylori* positifs.

Spectra Diagnostic : Quels sont les problèmes de résistance aux antibiotiques de l'*Helicobacter pylori* ?

Frédéric HELUWAERT : En 2017, l'O.M.S. a classé l'*Helicobacter pylori* comme une bactérie dont la résistance à la clarithromycine est problématique. Il y a 20 ans, avec trois

antibiotiques pendant sept jours, nous obtenions 90 % d'éradication. Aujourd'hui, avec le même traitement, le ratio serait inférieur à 70 % car le taux de résistance à la clarithromycine a augmenté. On utilise donc communément des antibiotiques de plus en plus nombreux, pendant plus longtemps, pour couvrir derrière une efficacité empirique. Avec des moyens simples pour connaître la sensibilité de la souche, il est possible de résoudre ces problèmes. C'est pourquoi, parmi tous les outils diagnostics qui vont guider le traitement, le test PCR Amplidiag® *H. pylori*+ClariR est essentiel pour surmonter le premier obstacle qu'est la résistance à la clarithromycine.

Spectra Diagnostic : Quelle est en France la situation de la résistance aux antibiotiques de l'*Helicobacter pylori* ?

Frédéric HELUWAERT : En France, le taux de résistance primaire des souches d'*Helicobacter pylori* aux antibiotiques est de 20 % selon le Centre National de Référence. Ainsi, pour 80 % des patients, on pourrait mettre en œuvre des traitements orientés simples, c'est-à-dire deux anti-

biotiques efficaces, au lieu de la quadrithérapie concomitante recommandée (IPP, amoxicilline, clarithromycine, métronidazole) ou de la quarithérapie bismuthée.

Spectra Diagnostic : Pourquoi avez-vous décidé d'améliorer la prise en charge de vos patients au CH d'Annecy Genevois et d'utiliser la PCR pour une meilleure détection de l'infection *Helicobacter pylori* ?

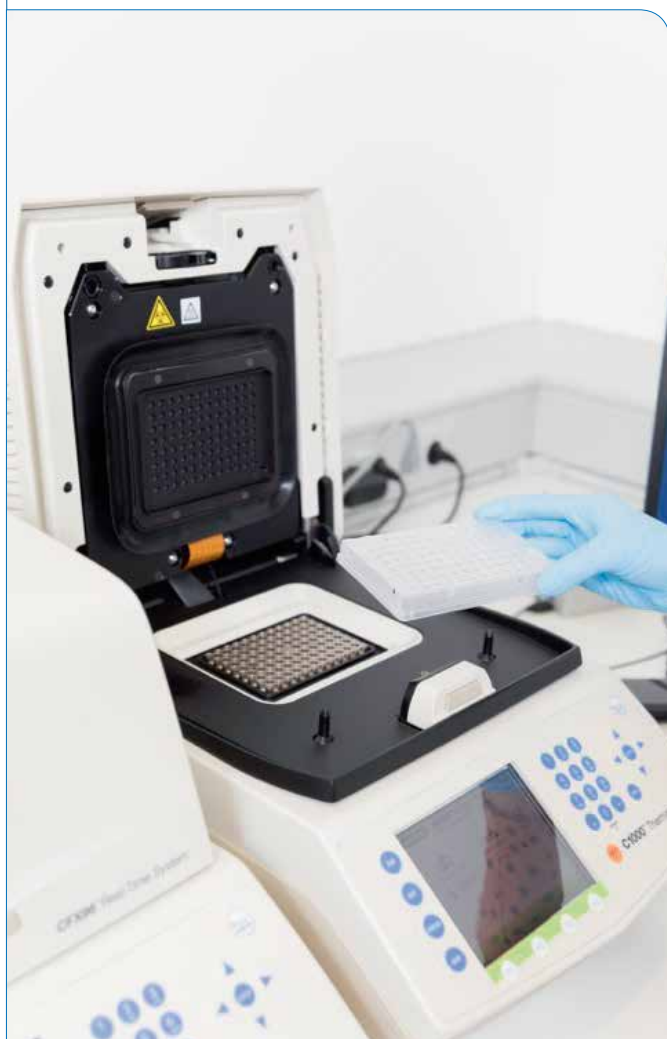
Frédéric HELUWAERT : Nous avons piloté une première thèse pour étudier les ulcères gastro duodenum. En étudiant tous les ulcères pris en charge sur l'hôpital pendant un an, nous avons constaté que l'infection *Helicobacter pylori* n'était pas forcément bien recherchée. Si elle était trouvée, elle n'était pas forcément bien traitée. Une fois sorti de l'hôpital, on ne savait pas si le patient avait ou non une infection *Helicobacter pylori*. Le praticien pensait que le médecin traitant allait traiter le patient, et le médecin traitant pensait que le patient avait été traité à l'hôpital. Nous avons créé une fiche destinée à améliorer le dialogue entre les gastro-entérologues et les médecins généralistes. Cette fiche montre comment rechercher l'infection, comment traiter, comment bien s'assurer du contrôle d'éradication de la bactérie. C'est ainsi qu'est née l'idée d'une meilleure collaboration entre les gastro-entérologues, les médecins généralistes et les patients. Une évaluation de la fiche par les médecins généralistes a montré qu'ils en étaient vraiment satisfaits. Nous avons ensuite décidé de détecter systématiquement l'infection *Helicobacter pylori* et d'améliorer nos méthodes de détection. Pour suivre les recommandations nationales, nous pratiquons systématiquement des biopsies dans l'estomac, dans l'antrum et dans le fundus. Quand la PCR est arrivée, il fallait absolument l'utiliser pour arrêter les traitements empiriques, moins bien tolérés et moins bons pour l'écologie bactérienne.

Spectra Diagnostic : Quelle est votre expérience au Centre Hospitalier Annecy Genevois concernant la résistance de l'infection aux antibiotiques de l'*Helicobacter pylori* ?

Frédéric HELUWAERT : Au CH Annecy Genevois, sur 296 patients en 2018, 50 souches ont été diagnostiquées résistantes à la clarithromycine avec la PCR versus 47 par la culture. Ainsi sur trois souches, la PCR a identifié une double population que n'a pas identifié la culture. Sur les 250 souches pour lesquelles la PCR nous a rendu « Clari S », une seule est rendue « résistante » par la culture. La PCR est donc parfaite pour identifier globalement les souches sensibles et résistantes. La PCR permet de trouver plus d'*Helicobacter pylori*, renseigne sur la sensibilité ou la résistance à la clarithromycine, en étant plus performante que la culture.

Spectra Diagnostic : Quelles sont les bénéfices de l'utilisation de la PCR pour vos patients ?

Frédéric HELUWAERT : 80% des patients sont porteurs



La gamme Amplidiag® est compatible avec le CFX 96 de Biorad.

de souches sensibles à la clarithromycine. Avec un traitement orienté IPP (inhibiteurs de la pompe à protons), amoxicilline, clarithromycine, nous atteignons 95 % de chances d'éradication, avec une meilleure tolérance pour le patient, en évitant les effets secondaires du métronidazole (qui leur serait ajouté si nous n'avions pas eu connaissance de la souche). Lors de la réalisation d'une endoscopie, la PCR détecte mieux l'*Helicobacter pylori*, ou en tout cas n'oublie pas de le détecter. Elle renseigne immédiatement sur la sensibilité de la souche. L'impact de la PCR est donc énorme. Nous n'avons quasiment plus d'échec d'éradication. Ces résultats sont obtenus en vie réelle, c'est-à-dire avec des patients qui ont pu prendre des antibiotiques avant de faire une endoscopie, des IPP qui, en diminuant la quantité de bactéries, vont rendre les tests de culture et d'anatomopathologie moins performants. Contrairement à la culture, tous ces traitements ne semblent pas avoir tant d'influence sur la PCR. La PCR améliore donc la sensibilité en vie réelle.

Spectra Diagnostic : Quelles sont les bénéfices de l'utilisation de la PCR en termes d'antibiorésistance ?

Frédéric HELUWAERT : L'utilisation de la PCR est une réponse à la crainte de l'OMS d'une explosion de la résistance, qui nécessiterait alors la découverte de nouveaux antibiotiques. Actuellement, on prend encore le problème à l'envers. L'échec du traitement est lié à la résistance à la clarithromycine. Cette résistance est due à l'augmentation de sa prescription depuis 20 à 30 ans. Aujourd'hui, je suis persuadé que nous avons tous les outils pour mettre en œuvre les bons traitements. En caractérisant bien la bactérie et les souches dès le départ, avec un traitement de première intention qui nous donne 95 % de chance d'éradication, il reste encore la levofloxacine, pylera ou bien quadrithérapie bismuthée pour d'autres traitements orientés. Les problèmes viennent de la mauvaise utilisation initiale des antibiotiques. En administrant d'emblée des traitements concomitants qui ne sont pas toujours bien tolérés ; les patients, en les interrompant, favorisent les échecs de traitements et le risque d'apparition de souches résistantes.

Spectra Diagnostic : Pourquoi avoir fait le choix du test PCR Amplidiag® H. pylori+ClariR de la société Mobidiag au laboratoire ?

Hélène PETITPREZ : Nous avons choisi ce test en rapport aux cibles proposées. Il nous permet de détecter les populations sensibles et les populations résistantes. Certaines techniques proposent uniquement la cible de résistance et pas la cible de sensibilité. Comme il existe plusieurs types de mutations décrits, il était pour nous très important d'avoir la cible de sensibilité. Nous avons ainsi la possibilité de détecter des doubles populations en détectant conjointement la cible sensible et la cible résistante. Nous pouvons aussi mettre en évidence de façon indirecte des

mutations qui ne seraient pas forcément décrites et qui ne seraient pas forcément ciblées par notre technique. Par exemple, si la PCR est positive en *Helicobacter pylori*, sans avoir ni la cible sensible, ni la cible résistante, c'est donc forcément autre chose. Dans ce cas, la culture sera essentielle. Avec la PCR, on ne trouve que ce que l'on cherche. On peut très bien avoir des mutations qui n'ont pas encore été mises en évidence ou alors des mutations non ciblées par la technique.

Spectra Diagnostic : Comment avez-vous validé les performances du test ?

Hélène PETITPREZ : Notre laboratoire est accrédité sur la biologie moléculaire en bactériologie. Nous avons procédé à une comparaison de méthode avec les tests précédemment utilisés. Notre objectif était de détecter les doubles populations qui étaient détectées en culture et ne l'étaient pas avec la solution PCR que nous utilisons précédemment. Nous sommes très satisfaits des performances de la PCR Mobidiag.

Spectra Diagnostic : Comment mettez-vous en œuvre le test au laboratoire ?

Hélène PETITPREZ : La biopsie broyée et homogénéisée est immédiatementensemencée car l'*Helicobacter pylori* est très fragile. Concernant la PCR, 200µl de broyat sont extraits. Chaque échantillon est déposé 3 fois selon les recommandations de Mobidiag, le kit étant validé pour la détection de *H. pylori* dans les selles, où la cible d'intérêt est en moindre quantité. Partant de biopsies, ce dépôt en 3 points nous permet de nous assurer d'être face à une vraie positivité et non à une contamination de la plaque. Notre activité étant importante, nous utilisons des plaques de 96 puits. Si un seul des 3 puits est positif, nous avons tendance à faire une repasse pour vérification. Tous les résultats des PCR sont interprétés avec la culture. Nous réalisons deux à trois séries de PCR par semaine. Si la PCR est négative, nous ne faisons pas de culture. Nous ne gardons en culture que les prélèvements positifs en PCR. Ensuite, nous procédons à l'identification et nous réalisons les antibiogrammes sur les échantillons qui ont poussé.

Frédéric HELUWAERT : En plus de la PCR, la culture nous permet de disposer de toutes les informations nécessaires pour proposer des traitements de 2^e, 3^e, voire 4^e ligne dans les rares situations où nous sommes en échec de traitement. Exceptionnellement, nous identifions aussi des *Helicobacter* non *pylori* par l'anatomopathologie, deux à trois fois par an car la PCR ne détecte que les *Helicobacter pylori*. Leurs conséquences cliniques sont identiques.

Spectra Diagnostic : Le test n'est pas remboursé. Comment est-il financé ?

Hélène PETITPREZ : Nos actes sont déclarés en RIHN. Nous sommes remboursés en pourcentage de notre activité globale.

Frédéric HELUWAERT : J'ai présenté le projet à la direction de l'hôpital en leur démontrant l'intérêt d'utiliser la PCR. Ils ont alors validé l'utilisation de la PCR pour tous les patients.

Spectra Diagnostic : Quels sont les bénéfices du test PCR Amplidiag® H. pylori+ClariR pour le laboratoire ?

Hélène PETITPREZ : Nous assistons à une très forte augmentation de cette activité. Nous traitons actuellement environ 2000 biopsies par an. Sans ce test, nous aurions été incapables d'absorber cette augmentation. Nous avons aussi simplifié le processus de bactériologie en ne faisant plus les examens directs sur les biopsies. Pour les prélèvements positifs en PCR, la culture reste essentielle car l'antibiogramme est indispensable.

Spectra Diagnostic : Quels sont les bénéfices du test PCR Amplidiag® H. pylori+ClariR pour le clinicien ?

Frédéric HELUWAERT : Aujourd'hui, il serait impensable de faire marche arrière. Pour nous, la démarche est très simple. Lors de l'endoscopie, nous réalisons toujours des prélèvements dans l'estomac. Chez tous les patients, le premier prélèvement est à visée bactériologique, le second à visée anatomo-pathologique. Ainsi, pour tous les patients qui ont une endoscopie, nous sommes en mesure de faire communément le maximum pour détecter l'infection : la PCR, les prélèvements à visée anapath pour détecter la bactérie en histologie, et la mise en culture. Depuis 2018, l'HAS recommande de faire un traitement orienté. Grâce à la PCR, 80 % des traitements sont simplifiés par la suppression d'un antibiotique et la diminution de leur durée. L'enjeu est important car l'infection concerne un patient ayant fait l'objet d'une endoscopie sur quatre. Nous sommes en mesure d'agir pour lutter contre l'antibiorésistance sur environ 100 000 traitements par an sur le plan national, avec une prévalence en augmentation chez les populations migrantes.

Spectra Diagnostic : Comment voyez-vous l'avenir ?

Frédéric HELUWAERT : J'ai déjà l'impression d'être dans l'avenir en utilisant la PCR. Seul le non remboursement demeure un frein. Le groupe d'étude français des *Helicobacter* (GEFH www.helicobacter.fr) rapporte l'émission en date du 24 avril 2019 d'un avis favorable de l'HAS à la mise au remboursement de la PCR *Helicobacter pylori* (avec détection de la résistance aux macrolides) sur biopsies gastriques, du test antigénique fécal dans le diagnostic et le contrôle d'éradication, du test respiratoire en plus de la sérologie en dépistage. Avec le remboursement du test, lorsque nous ferons une gastroscopie, nous ferons des prélèvements à visée bactériologique pour trouver l'*Helicobacter*, connaître sa sensibilité et sa résistance à la clarithromycine et nous ferons des prélèvements

à visée anatomo-pathologique pour évaluer le retentissement de l'infection. On ne demandera probablement plus aux anatomopathologistes de faire une recherche d'*Helicobacter* par des tests d'immunohistochimie. L'autre avancée attendue est liée au travail réalisé par le Pr Christophe BURUCOA dont l'étude est en cours de publication. Si une PCR dans les selles est aussi efficace que sur une biopsie gastrique, un médecin généraliste confronté à un sujet jeune de moins de 40 ans disposera d'un test capable de guider son traitement en évitant une gastroscopie. Au delà de 40 ans, âge où apparaissent les lésions, la gastroscopie sera encore nécessaire pour évaluer les lésions par un examen histologique. La PCR dans les selles sera aussi un atout pour les personnes souffrants de certains handicaps pour lesquels la biopsie est difficilement réalisable. ■



- Contact laboratoire : hpetitprez@ch-anneceygenevois.fr
- Contact clinicien : dr.heluwaert@gmail.com

MOBIDIAG

- Contact Mobidiag : Nathalie VANDENBROUCKE – Sales Manager
Mobidiag France – 172 rue de Charonne, B2 Le Dorian, 75011 Paris
Tel. +33 1 55 25 17 00 – Fax +33 1 55 25 17 10
nathalie.vandenbroucke@mobidiag.com – www.mobidiag.com

Mobidiag en bref :

Mobidiag développe des solutions moléculaires innovantes pour le diagnostic des maladies infectieuses et des résistances aux antibiotiques. Avec sa large gamme de tests et d'instruments basés sur une technologie de PCR bien établie, Mobidiag permet une détection rapide et économique des bactéries, parasites, virus et résistances antibiotiques les plus courants pour répondre aux exigences des laboratoires de microbiologie. Mobidiag a son siège social à Espoo, en Finlande, avec des filiales en France, en Suède et au Royaume-Uni. Pour plus d'informations www.mobidiag.com