

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia



EPH Amizour

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Biotechnologie et santé



جامعة بجاية
Tasdawit n Bgayet
Université de Béjaïa

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue d'obtention du diplôme
MASTER

Thème
**Identification et caractérisation de la flore
intestinale des patients cancéreux (cas du cancer
colorectal)**

Présenté par :

LALAOUI Imen & LAIB Lydia

Soutenu le : 24/06/2023

Devant le jury composé de :

Mme CHIBANE. N

Présidente

Mr. ADJEBLI. A

Encadrant

Mr. DJOUDI. F

Examineur

Année universitaire: 2022 / 2023

Remerciement

Nous remercions d'abord le bon dieu, qui nous a donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements et profondes gratitudees à **Mr ADJEBLIA** de nous avoir encadré et pour sa disponibilité durant la réalisation de cette étude, sa rigueur et ses conseils avisés.

Nos remerciements s'adressent également aux membres de jury qui nous ont fait le grand honneur d'évaluer ce travail.

A tous les enseignants qui ont participé à notre formation au long de notre cursus et à tous les personnels de la faculté SNV en particulier ceux du département de microbiologie pour leurs aide importante.

Nous désirons aussi adresser nos vifs remerciements à toute l'équipe de service d'Oncologie d'hôpital d'Amizour en particulier **Dr LOUARDIANE et Dr CHERFA** pour leurs accueilles chaleureux, leurs bonne humour, leurs aides et de nous fournir tous le nécessaire pour travailler dans les meilleurs conditions.

Nous remercions également toutes l'équipe de laboratoire d'analyse médicale d'EPH Amizour en particulier **Mr AIT YEHIA, Mme MGHARA et Mme HEMMACHE** pour l'aide et le partage, soutien, patience et la confiance qu'ils (elles) nous ont apporter pour faciliter et réussir notre travail durant la période de notre stage.

Nous ne pouvons pas oublier de remercier nos chers parents, et à tous les membres de nos familles pour leurs encouragements, leurs conseils précieux et leurs soutiens inconditionnels.

Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents, pour leurs amours, soutiens, encouragements, et leurs sacrifices, eux qui m'ont guidé durant toutes mes années d'études vers le chemin de la réussite

A mes chers frères et sœurs : Fayçal, Yacine, Amel, et ma petite Cylouch à qui je souhaite un bel avenir Et réussite.

A mon petit ange Arisou et mon beau-frère Aziz

A ma chère grand-mère à qui je souhaite une longue vie

A toutes ma famille, mes tantes Salma, Lamouch, Zina, Zoulikha ...etc

Et tt mes chers oncles

A mes cousins et cousines surtout Yasmine, Djidja et Kenza

A mes best Friends Aicha Lydia Ahlem Sassa Nina Wassilou et ts mes amis(es)

Une spéciale dédicace à Mr Adjebli pour son aide précieuse

Pour la réalisation de ce travail

A mon binôme Lydia² avec qui j'ai partagé des moments de Stress, de fatigue, Mais aussi de joie, de partage Et des Moments de rires hystériques

A toute la promotion 2023 de Biotechnologie et santé

A tous ceux qui dans le cœur resteront

L. IMEN



Dédicace

Je dédie ce travail

**A ma mère, ma raison d'être, ma raison de vivre, la lanterne qui éclaire mon
Chemin et m'illumine de douceur et d'amour**

**A mon père, en signe d'amour, de reconnaissance et de gratitude pour tous les
Soutiens et les sacrifices dont il a fait preuve à mon égard.**

A mes chers frères, A mes chères sœurs

Aucun mot ne pourra décrire vos dévouements et vos sacrifices.

A tout ma famille

Et surtout NASIMA, TIZIRI, THINHINANE, MASSILYA.

**Qui font partie de ces personnes rares par leur gentillesse, leur tendresse et leurs
grands cœurs. Qu'il trouve ici, le témoignage de tout mon amour et toute ma
reconnaissance pour les meilleurs moments que nous avons passé ensemble.**

A mon cher binôme

IMEN

**Pour son encouragement et pour tous les bons moments qu'on a vécus ensemble.
J'espère que notre amitié durera éternellement**

**A tous mes amis, en témoignage de l'amitié sincère qui nous a liées et des bons
moments passés ensemble. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir
radieux et plein de bonnes promesses.**

A tous les gens qui ont cru en moi et qui me donnent l'envie d'aller en avant.

L. LYDIA

Listes des tableaux

Tableau I : Représentation de la mesure des diamètres d'inhibition des disques d'antibiotiques.....	25
Tableau II : Résultats de dénombrement de la flore totale sur GN (échantillon 1).....	30
Tableau III : Résultats de dénombrement de la flore totale sur TSA (échantillon 1)	31
Tableau IV : Résultats de dénombrement de la flore totale sur GN (échantillon 2)	31
Tableau V : Résultats de dénombrement de la flore totale sur TSA (échantillon 2)	32
Tableau VI : Résultats d'identification bactériens par les tests primaires d'orientation.....	33
Tableau VII : Résultats d'identification bactérienne par la galerie biochimique API20E.....	34
Tableau VIII : Résultats d'antibiogramme des souches bactériennes.....	36

Liste des figures

Figure 1 : anatomie du gros intestin	2
Figure 2 : Anatomie du rectum.....	3
Figure 3 : Coupe transversale du côlon.....	4
Figure 4 : Emplacement du microbiote intestinal.....	5
Figure 5 : Changement de la composition du microbiote.....	8
Figure 6 : les fonctions de la flore intestinale.....	9
Figure 7 : Solutions mères préparés.....	19
Figure 8 : Des dilutions de 10^{-1} à 10^{-7}	20
Figure 9 : Teste de Catalase.....	21
Figure 10 : Teste d'Oxydase.....	22
Figure 11 : Différents tests de la galerie API20E.....	22
Figure 12 : Préparation de la galerie API 20E.....	23
Figure 13 : Réalisation d'antibiogramme.	24
Figure 14 : Répartition graphique des patients selon l'âge.....	26
Figure 15 : Représentation des cancers colorectaux selon le sexe.....	26
Figure 16 : Répartition des patients selon les donneurs d'échantillon.....	27
Figure 17 : Représentation des patients selon le type de cancer.....	28
Figure 18 : Représentation graphique des facteurs de risque.....	29

Liste des abréviations

CCR : Cancer colorectal

ARNr : Acid Ribonuclyéique ribosomal

IgA : Immunoglobulines A

AGCC : Acide gras à chaîne courte

IDH : Indice de développement humain

MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

IMC : Indice de masse corporelle

PAF : Polypose adénomateuse familiale

APC : Polype adénomateux du colon

IMC : Indice de masse corporelle

EPH : Etablissement Public Hospitalier

SS : Salmonelle Shigelle

HK : Hecktoen

EMB : Eosine-Bleu de Méthylène.

Mc C : gélose Mac Conkey

GN : gélose nutritive.

GSC : gélose Columbia au sang cuit.

BEA : Bile Esculine Azide.

API : Appareils et Procédés d'Identification.

ONPG: Ortho-Nitrophenyl- β -galactoside

URE: uréase.

H₂S: thiosulfate de sodium.

IND: Indole.

LAC : Lactose.

VP : Voges- Proskauer

CAT : Catalase

OXY : Oxydase

GEL : Gélatine

GLU : Glucose

MAN : Mannose

TDA : Tryptophane désaminase

CIT : Citrate

INO: Inositol

SAC: Saccharose

AMY: Amylase

SOR: Sorbitol

ARA: Arabinose

RHA: Rhamnose

MEL: Melibiose

UFC : Unité formant une colonie.

ADN : Acide DésoxyriboNucléique.

PSM : Poste de sécurité microbiologique

HTA : hypertension artérielle

IND : Indénombrable

Listes des annexes

Annexe I : Fiche d'exploitation, Page 1,2

Annexe II : Réactifs, matériels (verrerie) et Appareillage utilisés

Annexe III : Composition et intérêt des milieux de culture utilisés

Annexe IV : Etape de Coloration de gram

Annexe V : Résultat de dénombrement

Annexe VI : Les résultats de colonies obtenues sur les différents milieux

Annexe VII : Galeries API20E et exemple de lecture

Annexe VIII : Exemple de résultats d'antibiogramme

Remerciement

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction	1
I. Anatomie et histologie du colon et du rectum	3
I.1. Anatomie du colon	3
I.2. Anatomie du rectum	4
I.3. Histologie du colon et du rectum	5
II. Microbiote intestinal	6
II.1. Définition de La flore intestinale	6
II.3.Composition de la flore intestinale	7
II.4.Installation chronologique de la flore intestinale :	7
II.5.Fonction de la flore intestinale	9
II.5.1.Fonctions immunitaires.....	9
II.5.2.Fonctions métaboliques	10
II.5.3.Synthèse de neurotransmetteurs :	10
III.Cancer colorectal	11
III. 1. Définition et généralités sur le cancer	11
III.2.Cancer colorectal	11
III.2.1. Épidémiologie	11
III.2.2.Les symptômes du cancer colorectal	12
III.2.3.Facteurs de risque et facteurs de protection et prévention.....	12
III.4.4.Les traitements du CCR.....	15
III.4.5 Impact de microbiome intestinal sur le développement de Cancer colorectal.....	17
Partie expérimentale	
I. Objectif de l'étude	18
I.1. Population ciblée	18
I.2. Récolte des informations sur les patients	18
I.3. Echantillonnage	18
II. Tests microbiologiques	19

II.1. Dénombrement de la flore totale.....	19
II.2. Ensemencement des échantillons.....	20
II.3. Réalisation des repiquages	20
II.4.Recherche des germes bactériens.....	20
II.4.A.Tests primaires d'orientation	21
II.4.B.Tests d'Identification : Macro-Galerie (API 20E).....	22
II.5. Réalisation d'antibiogramme	24
Résultats et discussions	
I. Caractérisation de la population d'étude	26
I.1. Répartition des patients selon l'âge.....	26
I.2. Représentation des patients selon le sexe.....	26
I.4. Représentation des patients selon le type de cancer.....	27
I.5. Représentation des patients selon les factures de risques	29
II. Analyse microbiologique.....	30
II.1. Dénombrement de la flore totale.....	30
II.2. Identification bactérienne.....	33
II.2.A.Par les tests d'orientations :	33
II.2.B.Par les galeries API20E.....	34
II.3. Résultats d'antibiogrammes.....	36

Conclusion

Conclusion et perspectives.....	37
--	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Résumé / Abstract

Introduction

Le microbiote humain regroupe l'ensemble des micro-organismes qui vivent dans l'organisme, Elles constituent la flore cutanée, buccale et intestinale. Cette dernière représente les micro-organismes qui colonisent le tube digestif, principalement l'intestin grêle et le côlon (anaérobies).Le tube digestif contient environ de 10^{14} espèces de micro-organismes: bactéries, virus, levures et archées (**Bruneau et al., 2018**).

La flore intestinale comporte des centaines d'espèces, sous-espèces, qui sont considérés comme des micro-organismes commensales, opportunistes ou pathogènes et néfastes pour l'homme (**Cinquin, 2005**). Seule une petite fraction de cette dernière est cultivable mais les progrès des techniques de séquençage à haut débit et des moyens d'analyse bio-informatique permettent aujourd'hui la caractérisation de ce microbiote.

La flore possède une composition propre à chaque individu (**Falony et al., 2016**), mais elle exerce des fonctions communes chez tous les êtres humains, parmi eux ; les fonctions métaboliques importantes qui affectent de nombreux aspects de la santé de l'hôte, la digestion, la régulation du système immunitaire, la production de nutriments et de neurotransmetteurs, ainsi que la détoxification. Cependant, les variations individuelles peuvent entraîner des différences dans les fonctions spécifique du microbiote ce qui peut engendrer des complication pour la santé (**Valdes et al., 2018**).

Une symbiose dynamique entre l'hôte et le microbiome existe dans l'intestin et des interactions spécifiques entre le microbiome et le métabolisme de l'hôte et son système immunitaire, sont essentielles pour maintenir la physiologie de l'hôte. la perturbation de cette symbiose peut jouer un rôle dans le développement de diverses maladies chroniques, y compris du cancer colorectal (**Bourlioux, 2014**).

Le cancer colorectal est parmi les cancers les plus fréquents et arrivent à la troisième cause de décès chez l'homme après le cancer du poumon et le cancer de la prostate, et à la deuxième cause chez la femme après le cancer du sein. Il représente 10 % de l'incidence mondiale du cancer (total de 19,29 millions de nouveaux cas) et 9,4 % de l'ensemble des décès dus au cancer (9,96 millions de décès au total) (**Xi et al, 2021**).

Par le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'identification de certaines souches bactériennes du microbiote intestinal des patients cancéreux (cancer colorectal) admis au niveau de service d'oncologie d'EPH d'Amizour (Wilaya de Bejaia), afin d'avoir une idée sur le déséquilibre et les perturbations qui peuvent toucher le microbiote intestinal de ces patients et faire un lien approximatif entre le microbiote intestinal et le cancer colorectal.

CHAPITRE I

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Anatomie et histologie du colon et du rectum

Le côlon et le rectum font partie du tube digestif et ont pour fonction de terminer la digestion puis d'évacuer les selles (Arc, 2014). Le colon est la partie terminale du tube digestif. Il fait suite à l'intestin grêle et se termine par le rectum (Gramont et al., 2012). Le rectum est la partie dilatée du gros intestin située dans le pelvis. Il fait suite au côlon sigmoïde, et se termine au canal anal (Vaugh et al., 2015).

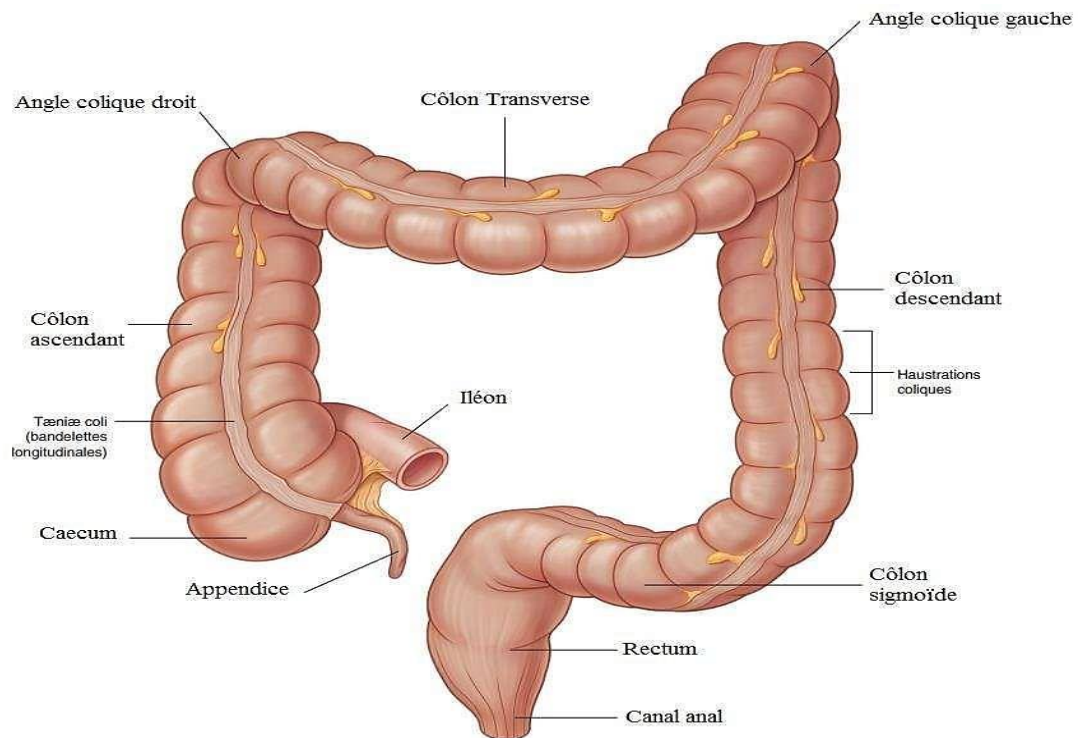


Figure 1 : anatomie du gros intestin (Richard et al., 2010).

I.1. Anatomie du colon

Le côlon ou gros intestin est un long conduit creux à l'extrémité du tube digestif qui est situé dans l'abdomen. Son diamètre moyen est de 4 cm pour une longueur de 1,5 mètre (Faucheron, 2005).

D'après Gaillot (2006), il est divisé en plusieurs parties (Figure 1) :

- Le caecum.
- Le colon droit.
- Le colon transverse.
- Le colon gauche.
- Le colon pelvien ou sigmoïde.

Il est divisé en deux parties fonctionnelles :

- **Proximale** : correspondant au côlon ascendant et à la moitié droite du côlon transverse; elle a une fonction de réservoir et de réabsorption de l'eau et des électrolytes.
- **Distale** : correspondant au reste du côlon: c'est une zone d'activité motrice qui assure l'acheminement des matières vers l'autre zone réservoir: le sigmoïde et le rectum (**Dilal, 2019**).

I.2. Anatomie du rectum

Le rectum est le segment terminal du tube digestif (**Calan et al., 2004**). Il mesure 12 à 14 cm de long et 6 cm de large (**Fianjaha, 2000**). Il prend son origine au niveau de la charnière recto-sigmoïdienne, à hauteur de la troisième vertèbre sacrée en faisant suite au côlon sigmoïde. Il s'achève en faisant un angle de 80° avec l'anus. Le rectum est situé dans le petit bassin, devant le sacrum et le coccyx (**Fianjaha, 2000**).

D'après (**Assudine, 2022**), le rectum se divise en deux parties :

- Le rectum pelvien ou ampoule rectale qui permet le stockage des matières fécales en attente de la défécation.
- Le rectum périnéal ou canal anal qui permet la continence.

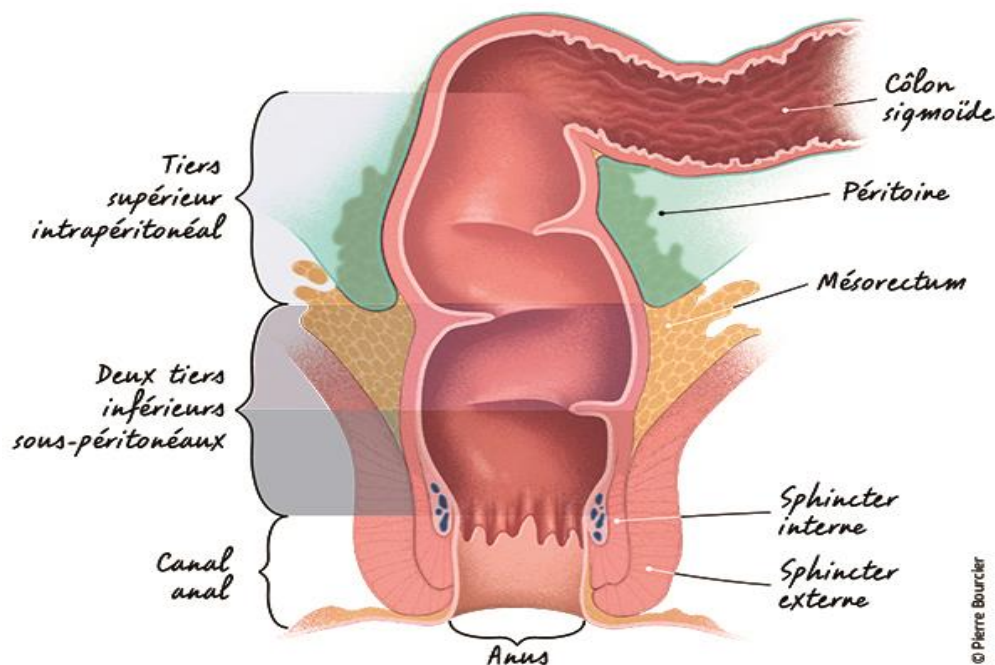


Figure 2 : Anatomie du rectum (**Inca, 2021**).

I.3. Histologie du colon et du rectum

Le côlon est constitué de la succession des couches suivantes : séreuse, musculuse, sous muqueuse et muqueuse (**figure 3**).

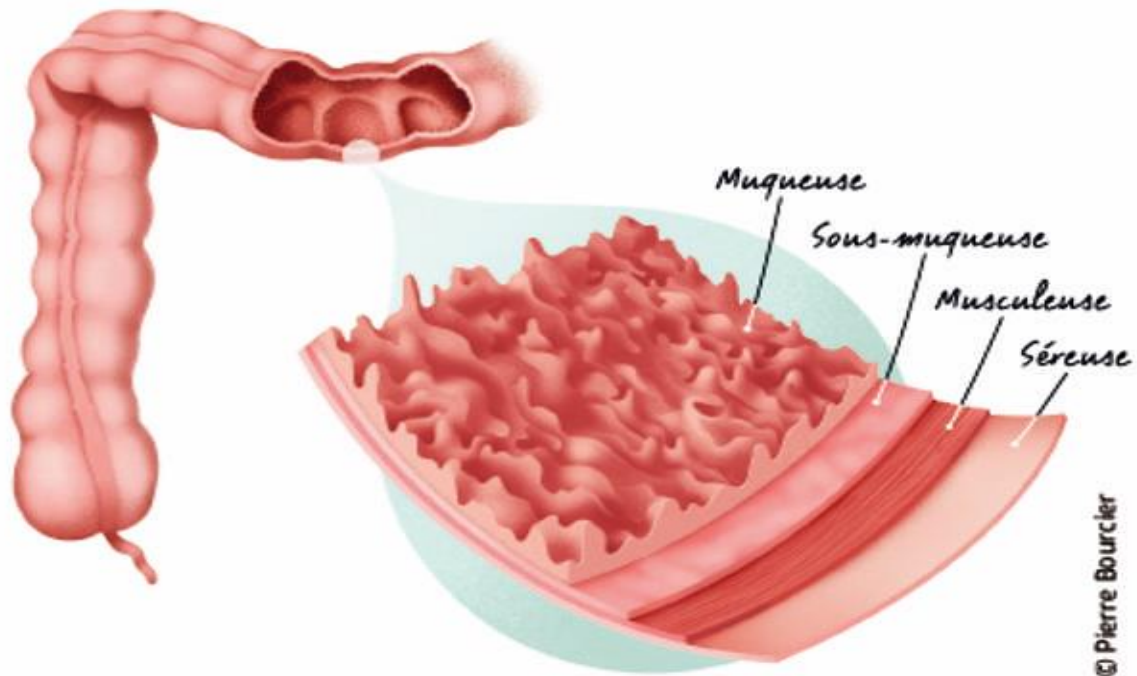


Figure 3: Coupe transversale du côlon montrant les différentes couches de la paroi colique (e.cancer.fr).

- **Muqueuse** : n'a pas de villosités mais uniquement des cryptes ou glandes dites « de Lieberkühn » (cellules caliciformes, majoritaires + entérocytes) (Dilal, 2019).
- **Sous-muqueuse** : tissu conjonctif vascularisé, réseau de nerfs sympathiques.
- **Musculaire** : compose de deux couches : l'une superficielle, longitudinale, incomplète, épaisse seulement au niveau des bandelettes ; l'autre, profonde, formée de fibres circulaires (Alan et James, 1993). Entre ces deux couches, on observe des plexus nerveux, les plexus d'Auerbach, responsables de l'innervation végétative du tube digestif. (Figure 4)
- **Sous-sérique** correspond à un tissu adipeux et vascularisé, bordé de la séreuse (péritoine) en périphérie. Elle a un rôle protecteur. (Guennouni, 2014).

II. Microbiote intestinal

II.1. Définition de La flore intestinale

La flore vient remplacer le terme microbiote intestinal qui correspond à l'écosystème microbien du tube digestif gastro-intestinal qui fait partie des sites corporels les plus complexes, comprenant 500 à 1 000 espèces différentes (Vogtmann et Goedert, 2016). Il fait référence à la population bactérienne présente dans le tube digestif, mais aussi les autres micro-organismes (les virus, les archées et les champignons). Cette importante population microbienne vit en symbiose avec son hôte et se nourrit de substrats végétaux et animaux issus de notre alimentation, ainsi que de substrats endogènes (mucines) propres à l'hôte.

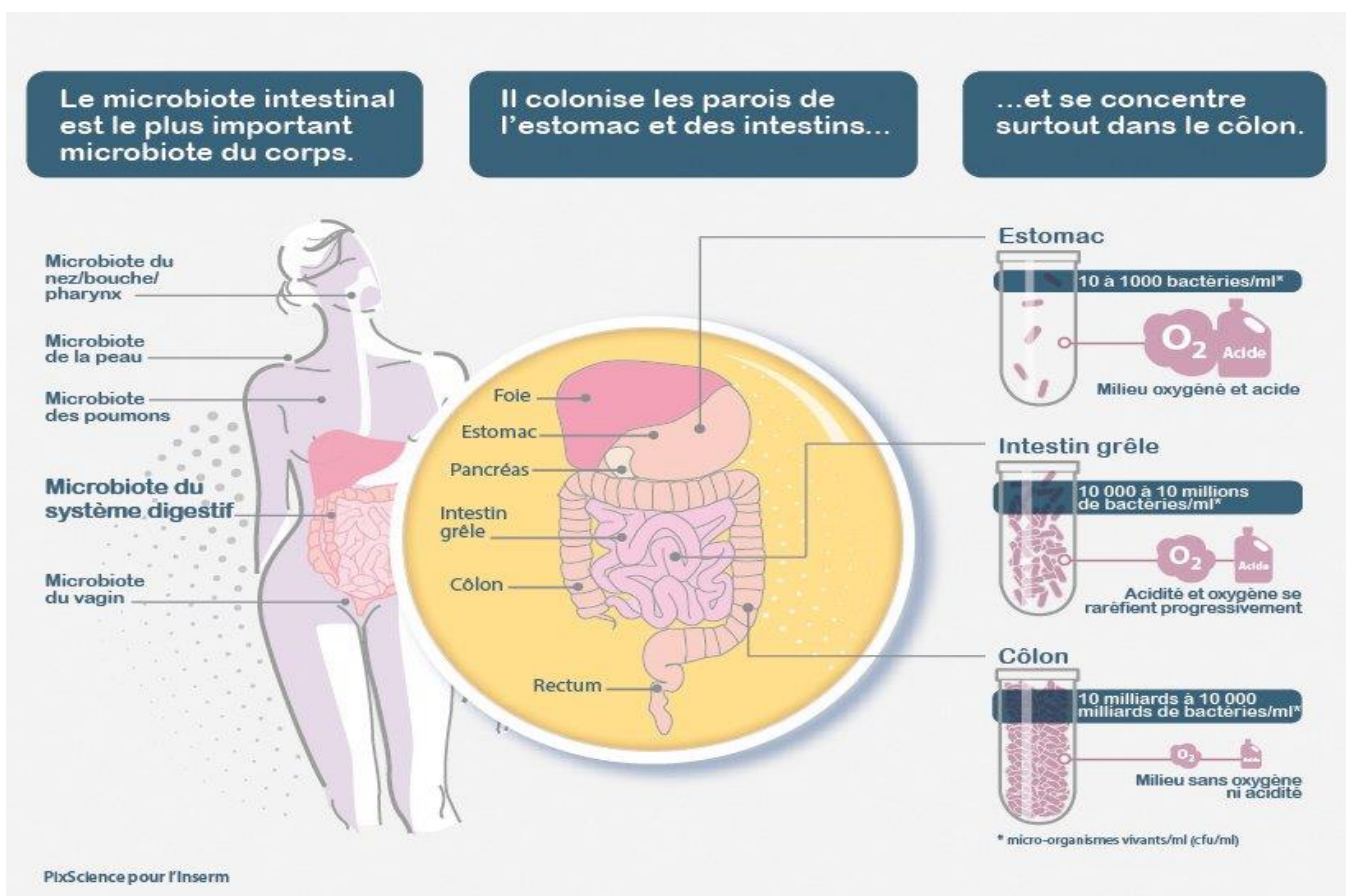


Figure 4 : Emplacement du microbiote intestinal (Inserm, 2021).

Les micro-organismes interagissent avec leur hôte par l'expression de plusieurs millions de gènes, qui constituent ensemble le microbiome humain (Blum, 2017). Chaque souche bactérienne possède un génome contenant des milliers de gènes, offrant plus de diversité génétique que le génome humain. (Vogtmann et Goedert, 2016).

Un microbiome équilibré dans sa composition en espèces bactériennes chez les sujets sains est dit "en état de **"biose"** ou **"eubiose"**". Tandis que le terme « **dysbiose** » désigne le déséquilibre du microbiome, avec des conséquences néfastes pour l'individu.

Ce déséquilibre se traduit souvent par un excès de micro-organismes pathogènes ou un manque de micro-organismes bénéfiques pour l'hôte. Cela permet d'étudier et d'établir des liens entre cette situation de dysbiose et diverses pathologies, dans le but de développer des stratégies de restauration des équilibres écologiques (Nau, 2011).

II.3.Composition de la flore intestinale

Les micro-organismes présents dans le tube digestif humain : bactéries, virus, levures et archées sont distribués le long d'un gradient de concentration dans le tube digestif, avec la plus grande densité dans le côlon. Le côlon distal est 100 fois plus dense que le côlon proximal en raison de l'augmentation des espèces anaérobies strict (Bruneau et al., 2018).

Les progrès en biologie moléculaire, et particulièrement le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S de la petite sous-unité du ribosome bactérien a permis d'identifier la composition du microbiome intestinal. Les espèces bactériennes intestinales sont divisées en 4 phyla essentiel : *firmicutes*, *bacteroidetes*, *actinobacteria*, et *proteobacteria*. Les *firmicutes* et les *bacteroidetes* ce sont les deux phyla qui dominent le microbiome avec une représentativité respective de 60–75 % et 30–40 % (Landman et Quévrain, 2016). Comme pour tout écosystème bactérien, plus de 90 % des espèces du microbiome intestinal ne sont pas cultivables. Les bactéries anaérobies facultatives constituent le microbiome sous-dominant. Outre la flore dominante et sous-dominante, il existe également une flore transitoire très polymorphe constituée de bactéries lactiques et de levures (Inserm, 2021).

II.4.Installation chronologique de la flore intestinale

Lors de la naissance, le mode d'accouchement détermine la primo-colonisation bactérienne du tractus gastro-intestinal du nouveau-né, stérile à la naissance. Ainsi, l'enfant par voie basse est d'abord colonisé par des bactéries d'origine maternelle, en particulier des bactéries vaginales, fécales ou cutanées (Anders, 2008). Ensuite, les intestins du nouveau-né sont rapidement colonisés par les bactéries de l'environnement, essentiellement des *Escherichia coli* et des streptocoques, puis par celles contenues dans son alimentation, à base de lait, notamment les bifidobactéries et les lactobacilles. Plus tard, d'autres genres bactériens s'installent dans le tractus intestinal comme *Bacteroides* et *Eubacterium*.

L'âge du sevrage est une étape transitoire qui induit de forts changements dans la composition du microbiote par l'introduction d'aliments solides et variés (légumes, féculents). Le microbiote intestinal d'un enfant, stabilise après le sevrage, est considéré comme étant en équilibre entre les deuxièmes et troisièmes années (Anders, 2008).

La composition du microbiote évolue en fonction de l'âge, avec des changements de population bactérienne

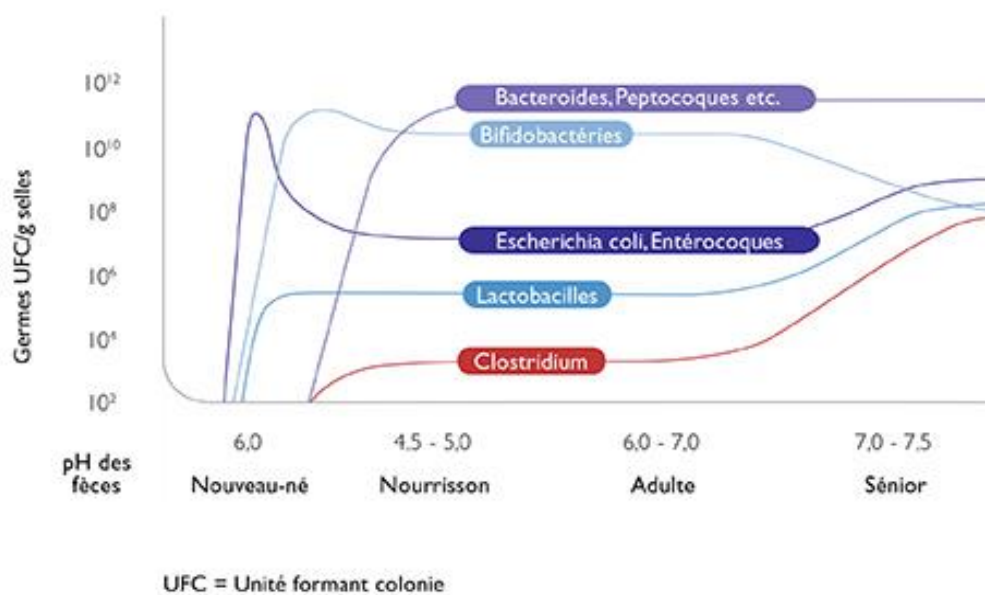


Figure 5 : Changement de la composition du microbiote. (Marie , 2020).

La colonisation microbienne se fait de façon ordonnée et elle dépend de facteurs « Extrinsicèques » (exogènes) et « intrinsicèques » (endogènes):

❖ « **Les facteurs exogènes** » : Ils sont liés au contact avec la flore microbienne maternelle (fécale, vaginale et cutanée), la flore environnementale et le type d'alimentation et parfois l'antibiothérapie peut aussi avoir un effet perturbateur.

Récemment, des études ont incriminé le lait maternel dans le transport au nouveau-né de bactéries provenant du microbiome maternel. En effet, le lait maternel n'est pas stérile même s'il est collecté de manière aseptique (Perez et al., 2007).

❖ « **Les facteurs endogènes** » : concerne les sécrétions du tractus digestif ainsi que le système immunitaire et les produits métaboliques des premiers microorganismes qui sont déjà installés.

II.5.Fonction de la flore intestinale

Le rôle le plus important des bactéries intestinales est la digestion des substrats non digérés par l'hôte. Ce processus métabolique permet de fournir jusqu'à 10 % des besoins énergétiques de l'homme (Mcneil, 1984). D'autres rôles bénéfiques pour l'organisme ont été associés au microbiote intestinal, notamment la mise en place et la maturation du système immunitaire (Korneychuk, 2014) et la protection contre les micro-organismes pathogènes (Guarner et Malagelada, 2003).

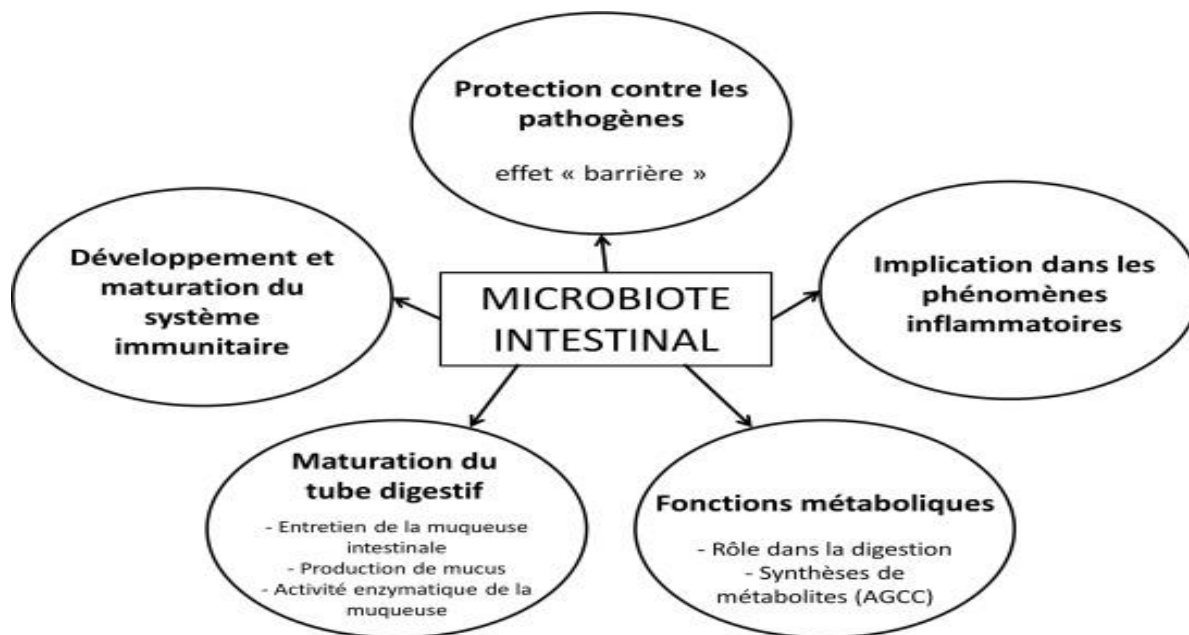


Figure 6: les fonctions de la flore intestinales (Bruneau *et al.*, 2018).

II.5.1.Fonctions immunitaires

Le microbiote intestinal protège l'hôte aussi bien des bactéries pathogènes exogènes que des bactéries présentes dans l'intestin en faible quantité et potentiellement nocives si elles se retrouvent en excès. Cet effet de barrière est assuré par les mécanismes de régulation du système immunitaire ; Stimulation de la production par les cellules épithéliales d'une partie importante des peptides antimicrobiens jouant un rôle majeur dans la défense contre les bactéries pathogènes (Dilal, 2019), la production des bactériocines ayant des propriétés antibiotiques et la Stimulation de la production des cytokines et immunoglobulines A (IgA) sécrétoires et maturation des cellules immunitaires (Belkaid, 2014). La perméabilité de la barrière intestinale peut être modifiée par les bactéries en réduisant les jonctions entre les cellules épithéliales pour but de limiter le passage des éléments dans la circulation sanguine (Termaroli et Backhed, 2012).

II.5.2.Fonctions métaboliques

Le microbiote exerce un rôle dans la digestion et le métabolisme de nombreux nutriments non- ou partiellement digérés par l'hôte. Ces derniers sont des sources d'énergie pour les bactéries et permettent de générer des métabolites bénéfiques pour l'hôte.

Le microbiote intervient dans le métabolisme des glucides par un mécanisme de dégradation anaérobie des glucides fermentescibles dans le côlon. Des bactéries fibrolytiques hydrolysent les polymères glucidiques en fragments de petite taille. Les bactéries glycolytiques utilisent la voie de la glycolyse pour convertir les glucides en pyruvate, lui-même transformé en acides gras à chaînes courtes (AGCC) : acétate, propionate, butyrate. Ces derniers apportent de l'énergie à tout l'organisme. Le butyrate est le principal nutriment des colonocytes et inhiberait la prolifération des cellules cancéreuses (**Bernalier, 2010**).

Le microbiote assure également le métabolisme des protéines, principales sources d'azote, nécessaire aux bactéries coliques. Des phénomènes d'hydrolyses permettent leurs transformations en petits peptides puis en acides aminés. Différentes voies aboutissent à la formation de nombreux composés, dont des AGCC (**Beaugerie et al., 2014**). Par ailleurs, le microbiote joue un rôle dans le métabolisme des lipides en transformant les acides gras non absorbés par le côlon, ainsi que le cholestérol en coprostanol, qui n'est pas absorbé, donc il sera éliminé dans les selles (**Bruneau et al., 2018**).

II.5.3.Synthèse de neurotransmetteurs

Les neurotransmetteurs (ou neuromédiateurs) sont des molécules chimiques qui assurent la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses. Les bactéries de cette flore fournissent également une synthèse des neurotransmetteurs similaires à celles de notre tissu épithélial qui peut agir sur le système SNC par les voies de communication entre le microbiote intestinal et le cerveau. Les bactéries du microbiote intestinal telles que les *Lactobacillus* sont également capables de synthétiser des neurotransmetteurs tels que la sérotonine, la dopamine et l'acide gamma-aminobutyrique (AGAB), qui peuvent avoir un impact sur l'humeur et le comportement de l'hôte (**Strandwitz, 2018**).

III. Cancer colorectal

III. 1. Définition et généralités sur le cancer

Le cancer est défini comme une augmentation incontrôlée et maligne de la prolifération cellulaire anarchique provoqué par l'accumulation de mutations génétiques et épigénétiques. Ces cellules dérégulées finissent par former une masse qu'on appelle tumeur maligne. Les cellules cancéreuses ont tendance à envahir les tissus voisins et à se détacher de la tumeur, elles migrent alors par les vaisseaux sanguins et les vaisseaux lymphatiques pour aller former une autre tumeur ce qu'on appelle la métastase (**Mosnier et al., 2005**).

III.2.Cancer colorectal

Le cancer colorectal est une tumeur maligne de la muqueuse (paroi interne) du côlon ou du rectum, ces derniers constituent le gros intestin, la dernière partie du tube digestif (Environ 40 % des cancers touchent le rectum et 60 % le côlon. Il fait suite dans 60 à 80 % des cas à une tumeur bénigne, appelée communément polype de type adénomateux ou festonné. Le processus de transformation d'un polype en cancer est de 5 à 10 ans. Le cancer colorectal est généralement un adénocarcinome (**Gramont et al., 2012**).

III.2.1. Épidémiologie

Le cancer colorectal (CCR) représente un réel problème de santé publique ; il est le deuxième cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les femmes et le troisième chez les hommes dans le monde (**Jemal et al., 2011**).

❖ Dans le monde

Chaque année, près de 1,5 million de nouveaux cas de cancer colorectal sont diagnostiqués dans le monde. Dans 95% des cas, les sujets atteints ont plus de 50 ans avec un âge moyen de 70 ans au moment du diagnostic chez l'homme, et 73 ans chez la femme (**has-sante.fr, 2012**). Il représente 10 % de l'incidence mondiale du cancer (total de 19,29 millions de nouveaux cas) et 9,4 % de l'ensemble des décès dus au cancer (9,96 millions de décès au total) (**Xi et al., 2021**).

❖ En Algérie

L'Algérie enregistre près de 6.500 nouveaux cas du cancer colorectal (CCR), dont 3.500 chez les hommes et 3.000 cas chez les femmes, selon les registres du cancer de l'Institut national de santé publique (**Insp, 2021**).

III.2.2. Les symptômes du cancer colorectal

Le cancer colorectal est un type de cancer qui se développe dans le gros intestin (côlon) ou le rectum. Les symptômes du cancer colorectal peuvent varier d'une personne à l'autre et dépendent souvent du stade de la maladie.

✓ **Changements dans les habitudes intestinales**

La nature d'un changement dans les habitudes intestinales peut être décrite comme un changement dans la fréquence des défécations, la consistance des selles, la forme des selles et la difficulté d'évacuation. Souvent, les termes généraux de constipation ou de diarrhée sont utilisés (George et al., 2010).

✓ **Présence du Sang dans les selles**

La présence de sang dans les selles peut être un symptôme du cancer colorectal, mais cela ne signifie pas nécessairement que toute personne qui présente ce symptôme d'un cancer colorectal. Le sang dans les selles peut également être provoqué par d'autres infections, telles que des hémorroïdes, des fissures anales, des infections ou des inflammations du système digestif (American Cancer Society, 2021).

✓ **La perte du poids**

La perte de poids inexplicable peut être un symptôme du cancer colorectal, bien que cela ne soit pas un symptôme très fréquent. Cependant, une perte de 5 % du poids corporel en 6 à 12 mois est considérée comme significative. Dans le CCR et dans des affections bénignes graves, telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, les patients peuvent perdre du poids de manière significative, mais cela se manifeste généralement plus tard (Fozard et al., 2010).

✓ **Des douleurs ou des malaises abdominaux**

Les maux de ventre et des gaz ou des ballonnements avec des sensations de très grandes fatigues et une douleur inhabituelle lors de l'évacuation des selles.

III.2.3. Facteurs de risque et facteurs de protection et prévention

III.2.3.a. Facteur de risque

De nombreux facteurs sont impliqués dans le développement du cancer colorectal. Il a été démontré que les personnes présentent un risque plus élevé de CCR si elles (ou leurs proches) ont des antécédents de polypes du côlon, une maladie intestinale inflammatoire, un diabète ou une cholécystectomie (Sawicki, 2021).

❖ Facteurs de risque lié à l'âge

Les cancers colorectaux sont assez rares avant 50 ans et la plupart surviennent après l'âge de 65 ans, le risque augmente significativement et progressivement à partir de 50 ans et l'âge Moyen du diagnostic des cancers colorectaux est de 70 ans (Manceau *et al.*, 2011).

❖ Facteur de risque lié à une mutation génétique héréditaire

• La polypose adénomateuse familiale

La polypose adénomateuse familiale (PAF) est une maladie à transmission autosomique dominante, caractérisée par la présence de centaines ou de milliers d'adénomes au niveau du côlon ou du rectum; elle est causée par des mutation du gène APC qu'une personne hérite de ses parents (Bercovich *et al.*, 2009). Sans traitement pour la PAF, la plupart des personnes atteintes développeront des polypes qui se transforment en un cancer.

• Le syndrome de Lynch

Le syndrome de lynch est un cancer héréditaire du côlon sans polypose(HNPCC), causé par des changements dans les gènes qui aident normalement une cellule à réparer l'ADN endommagé. Une mutation dans l'un des gènes de réparation de l'ADN (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2 et EPCAM), peut permettre aux erreurs d'ADN de ne pas être corrigées. Ces erreurs affecteront parfois les gènes régulateurs de la croissance, ce qui peut conduire au développement d'un cancer ans (Bentabak *et al.*, 2016).

❖ Facteur de risque lié à une maladie inflammatoire du côlon

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) regroupent deux maladies qui se caractérisent par une inflammation de la paroi d'une partie du tube digestif évoluant par poussées : la maladie de **Crohn** et la **rectocolite hémorragique**. Ces maladies touchent environ une personne sur mille (incidence de 5 cas/100 000 habitants/an) à un âge compris entre 20 et 30 ans. Le risque augmente avec la durée de l'MICI et son étendue dans le côlon (has-sante, 2013).

✓ Facteurs de risque liés au mode de vie

• La consommation d'alcool

La consommation d'alcool augmente le risque de cancer colorectal, son effet dépend de la quantité totale consommée d'alcool.

Les mécanismes en jeu sont la carence en folate et la transformation de l'alcool en acétaldéhyde (molécule cancérigène) par le microbiote colique. L'alcool est classé dans le groupe 1 dits agents nutritionnels cancérigènes pour l'homme (**Fedriko et al., 2011**).

- **Le tabagisme**

Le tabac est un facteur indépendant de l'alcool pour le risque d'adénome et de cancer rectocolique. (**Liang et al., 2009**).

- **Le surpoids et l'obésité**

Le cancer colorectal est plus fréquent chez les personnes en surpoids ou obèses que chez les personnes de poids normal. L'augmentation de l'indice de masse corporelle (IMC), provoque un risque de cancer colorectal. (**cancer.ca/fr**).

- **La consommation de viande et de charcuterie**

La consommation de viandes rouges (bœuf, veau, mouton, agneau, porc, chèvre) et de charcuteries (viandes conservées par fumaison, séchage, salage ou addition de conservateurs) augmente le risque de cancer colorectal. Les mécanismes en jeu sont liés à un apport de sels nitrites (charcuterie) ou à la production de composés N-nitrosés cancérigènes, de radicaux libres et de cytokines pro inflammatoires liés à l'excès de fer héminique (**Aykan, 2015**).

- **Comportement sédentaire**

Il a été démontré que le risque de développer un cancer colorectal était étroitement lié à la Sédentarité, il est connu que la pratique régulière d'une activité physique réduirait le risque de Cancers en général et du cancer colorectal en particulier, notamment par l'amélioration du Transit intestinal, ce qui diminue le temps passé par les selles dans le côlon. (**Kushi et al., 2012**).

- **Alimentation faible en fibre**

Une alimentation pauvre en fibres augmente le risque de cancer colorectal. Les preuves suggèrent que la consommation d'aliments contenant des fibres alimentaires peut protéger contre le cancer colorectal (**Kouchik et al., 2007**).

- **Diabète**

Les patients atteints de diabète de type 2 ont une incidence plus élevée de cancer colorectal. L'hyper-insulination serait un promoteur dans la cancérogenèse.

Les cellules coliques malignes ont des récepteurs à l'insulin growth factor (IGF) I pouvant être activés en cas d'hyperinsulinisme (**Yuhara et al., 2011**).

III.4.3.b.Facteurs de protection

Une activité sportive régulière (environ 30 minutes par jour) diminue le risque d'apparition de CCR. Des aliments ont été prouvés protecteurs vis-à-vis de ce type de cancer : calcium (plus spécifiquement le lait), les fruits variés et les légumes frais (fibres). Il est aussi conseillé de consommer 5 fruits et légumes par jour (**Finlay et Macrae, 2022**).

III.4.3.c.Facteurs de prévention

✓ Dépistage et diagnostic

Le dépistage est un examen à visée diagnostique, il est réalisé chez un sujet présentant des symptômes évoquant la présence d'un polype ou cancer colorectal, il peut aider à détecter la maladie à un stade précoce et à identifier les polypes précancéreux avant qu'ils se transforment en cancer. Ses recommandations varient en fonction de l'âge, des antécédents familiaux et d'autres facteurs de risque. Les recommandations courantes incluent un test de dépistage de sang occulte dans les selles (FOBT), un test de dépistage de l'ADN fécal (FIT-DNA) et une coloscopie. Ces tests doivent être répétés régulièrement à intervalles déterminés en fonction des résultats et du risque individuel (**Ladabaum et al., 2020**).

III.4.4.Les traitements du CCR

Le choix du traitement se fait en concertation entre les médecins (chirurgien, radiothérapeute, oncologue et médecin traitant) et avec l'accord du malade.

Le traitement du cancer colorectal est adapté à chaque cas en fonction de la localisation et du stade de de la tumeur (**Guillemot, 2013**).

➤ Le traitement chirurgical du cancer du côlon ou du rectum

La chirurgie correspond à une résection colique, appelée « Colectomie », qui consiste à enlever la zone du colon touchée avec une marge de sécurité de 5 cm autour de la tumeur (**Garnier et Delamare, 1972**). La voie d'abord peut se faire par la parotomie ou par cœlioscopie, qui permet d'améliorer la qualité de vie des patients en diminuant la douleur postopératoire, la durée d'hospitalisation ainsi que les risques d'occlusion intestinale et d'événement. La zone retirée est plus ou moins importante selon la localisation de la tumeur et son degré d'avancement (**Céréales et al., 2008**).

- Hémi colectomie droite ou gauche : pour les tumeurs localisées au niveau du côlon droit ou gauche respectivement. Ce geste consiste à retirer la moitié droite ou gauche du côlon ainsi que la moitié adjacente du côlon transverse.
- Sigmoidectomie : pour les tumeurs du sigmoïde.
- Colectomie totale : pour quelques cas très avancés.
- Proctectomie : pour les tumeurs localisées au niveau du rectum.

➤ **La chimiothérapie**

La chimiothérapie consiste à administrer à un patient une ou plusieurs molécules destinées à détruire le plus spécifiquement possible les cellules cancéreuses (**fondation-arc.org**). Elle peut être proposée après une chirurgie si la tumeur a envahi les ganglions de voisinage. En l'absence d'atteinte de ces ganglions, elle est discutée au cas par cas. Également, la chimiothérapie est systématiquement prescrite avant une première opération chirurgicale pour le cas de cancer colorectal métastasé afin de la faciliter ou à la place de la chirurgie lorsque celle-ci n'est pas envisageable. Elle est administrée, le plus souvent, par injection dans une veine, mais aussi sous forme de comprimés (**Céréales et al., 2008**).

➤ **Les thérapies ciblées**

Les thérapies ciblées sont des médicaments anticancéreux bloquant un mécanisme précis de la cellule cancéreuse. Ces traitements sont prescrits dans le traitement des tumeurs métastatiques, souvent en complément de la chimiothérapie (**fondation-arc.org, 2021**).

Deux grands types sont utilisés dans le traitement du cancer colorectal

- les anti-angiogéniques, qui bloquent la formation des nouveaux vaisseaux dans et autour de la tumeur ;
- les anti-récepteurs à l'Epidermal Growth Factor qui empêchent la prolifération de la tumeur.

➤ **La radiothérapie**

La radiothérapie est un traitement localisé des cancers du rectum. Elle précède en général la chirurgie et est souvent associée à une chimiothérapie.

Elle a essentiellement pour but de diminuer le risque de récurrence locale, elle consiste à délivrer des doses de rayons dont l'énergie est capable de détruire avec précision les cellules cancéreuses en les empêchant de se multiplier (**Inca, 2021**).

III.5. Impact de microbiome intestinal sur le développement de Cancer colorectal

Le microbiote intestinal joue un rôle important dans le développement et la progression du cancer colorectal. Des études ont montré que des déséquilibres dans la composition du microbiote, tels qu'une diminution des bactéries bénéfiques et une augmentation des bactéries pathogènes, peuvent contribuer au développement du cancer colorectal (**Gagnière et al., 2017**).

Plusieurs mécanismes sont impliqués dans l'effet du microbiote sur le cancer colorectal, notamment l'inflammation chronique de la muqueuse intestinale, la production de métabolites toxiques tels que les nitrosamines, l'altération de l'immunité locale et la modulation des voies de signalisation cellulaires (**Tjalsma et al., 2012**).

Les bactéries spécifiques du microbiote ont également été impliquées dans le développement du cancer colorectal. Par exemple, les bactéries du genre *Fusobacterium* ont été trouvées en grande quantité dans les tissus cancéreux colorectaux par rapport aux tissus sains, et leur présence a été associée à une inflammation accrue et à une progression tumorale. De plus, certaines souches bactériennes ont été associées à une réduction du risque de cancer colorectal, telles que les bifidobactéries et les lactobacilles, qui ont des effets bénéfiques sur l'immunité locale et la santé intestinale (**Flangan et al., 2014**).

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

I. Objectif de l'étude

Cette étude a été effectuée sur des patients atteints d'un cancer colorectal au niveau du service oncologie de l'EPH d'Amizour. Un échantillonnage de la matière fécale ainsi qu'une récolte de données sur les patients a été effectuée durant une période d'un mois, allant d'avril 2023 à mai 2023.

L'analyse des échantillons a été réalisée au niveau de laboratoire de bactériologie d'EPH Amizour.

I.1. Population ciblée

L'étude était basée sur 37 patients atteints de cancer colorectal, dans la région de Bejaia, âgée de 30 à 80 ans de différent sexe. Le principal critère de choix d'un patient est de ne pas avoir une stomie digestive (colostomies), pour éviter la contamination de la flore bactérienne.

I.2. Récolte des informations sur les patients

Les informations ont été recueillies sur 37 patients externes, Les sources des informations collectées de chaque patient ont été obtenues par deux manières.

- Traitement des dossiers médicaux de patients du service d'oncologie d'EPH d'Amizour, pour collecter les différentes données renfermant : âge, sexe, les antécédents médicaux et familiaux, siège de cancer, extension métastatique, le type et le nombre de chimiothérapie prise, la présence d'une infection préalable, traitement aux antibiotiques, et l'opération chirurgicale.
- Elaboration d'un questionnaire afin d'avoir le maximum d'information sur l'alimentation, les habitudes toxiques et le mode de vie de chaque patients questionnaire en **Annexe N° I**.

I.3. Échantillonnage

Parmi les 37 patients questionnés, un total de neuf patients ont accepté de nous fournir la matière fécale indispensable sur laquelle nous avons effectué des tests microbiologiques permettant l'identification éventuelle de bactéries associées à ces patients.

Ces patients ont reçu un consentement et une explication sur l'objectif de notre étude afin de nous donner leur approbation par une signature montrant leur accord pour

récolter la matière fécale suivie d'un questionnaire. Un sac stérile leur a été donné en montrant la manière de son utilisation afin d'éviter la contamination de la matière fécale, les sacs ont été étiquetés montrant la date et l'heure du prélèvement.

II. Tests microbiologiques

Les échantillons ont été acheminés d'une manière stérile en respectant au maximum les conditions d'asepsies au laboratoire d'analyse médicale ou ils ont été stockés à 4°C pour d'éventuelles analyses.

Les différentes analyses menées, visent à identifier les microorganismes plus précisément les bactéries présentes dans la flore intestinale des patients cancéreux.

II.1. Dénombrement de la flore totale

A / Préparation des solutions mères

- Peser 10 gramme de selle frais pour avoir un échantillon représentatif dans des conditions stérile en utilisant une spatule métallique, une feuille, et une balance à côté d'un bec benzène.
- Mettre environ 10 gramme de selles dans des flacons étiqueter qui contient 90 ml d'eau physiologique.
- Vortexer jusqu'à ce que les milieux soit homogène.



Figure 7 : Solutions mères préparés

B/ Préparation des dilutions

- Des dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-7} ont été réalisées pour diminuer la charge des microorganismes. Afin d'avoir une charge microbienne quantifiable permettant d'effectuer un dénombrement à l'œil nu.
- Ensemencement par méthode de râteaux dans des boîtes de pétri en partant de 10^{-1} à 10^{-7} sur GN et TSA.

- Pour chaque dilution on utilise 3 boites.
- Pipeter grâce à une micropipette 100µl (0.1 ml) de solution dans chaque dilution et la mètre en centre de la gélose.
- Etaler convenablement la suspension sur toutes la gélose et d'une manier homogène.
- Refaire la même procédure pour les trois boites et pour chaque dilution.
- Incuber à 37°C pendant 24H.
- Apres 24H d'incubation Vien le passage ou dénombrement.



Figure 8 : Des dilutions de 10^{-1} à 10^{-7}

II.2. Ensemencement des échantillons

- Ensemencement des échantillons sur les différents milieux de cultures ; SS.HK.EMB, McConkey, Chapman, BEA, GSC (**Annexe VI**)
- Incubation à 37°C pendant 24H.

II.3. Réalisation des repiquages

Des repiquages successifs sont réalisés afin de purifier les souches isolées. Des colonies morphologiquement bien distingués ont été prélevées à partir des milieux de culture sélectifs ; ont été repiqué sur les mêmes milieux, puis incubées à 37°C pendant 24h.

II.4.Recherche des germes bactériens

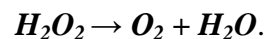
La recherche est basée sur l'identification des genres bactériens qui contiennent des espèces opportunistes et pathogènes susceptibles d'être la cause de développement d'un CCR ou d'aggraver l'état du patient.

II.4.A. Tests primaires d'orientation

Des tests primaires: test de catalase et coloration de Gram, ont été effectués pour les colonies obtenues avec un aspect particulier et dominant pour chaque milieu de culture.

✓ Test de catalase

Consiste à déposer une colonie à l'aide d'une pipette pasteur sur une gouttelette d'eau oxygénée (H_2O_2). La catalase est une enzyme qui dégrade l' H_2O_2 en eau et dioxygène.



Observation

Présence d'effervescence : bactérie a catalase+.

Absence d'effervescence : bactérie a catalase-.

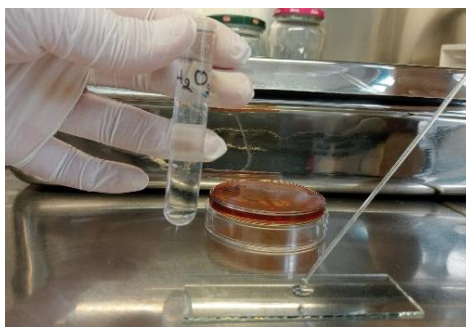


Figure 9: Test de Catalase.

✓ Test d'oxydase

A l'aide de pinces, on place un disque d'oxydase sur une lame porte objet. On choisit une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester puis on prélève la colonie choisie à l'aide d'une pipette pasteur. On frotte doucement la colonie sur le disque et observe l'apparition d'une coloration violette après 30 secondes. La lecture se fait comme suite :

Réaction positive : apparition d'une coloration bleu foncé à violet.

Réaction négative : absence de coloration.

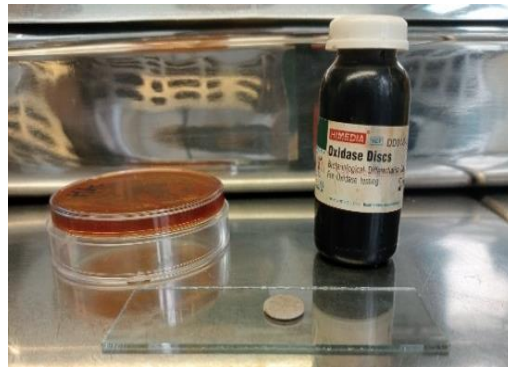


Figure 10: Test d'Oxydase.

II.4.B. Tests d'Identification : Macro-Galerie (API 20E)

L'identification du genre et d'espèce des souches bactériennes a été poursuivi par la recherche de caractères biochimiques du métabolisme glucidique et protéique, en ensemençant une galerie d'identification contenant une bande de plastique à 20 mini-chambres (Puits) des milieux déshydratés ayant des compositions chimiquement définies pour chaque test, pour la détection de l'activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés par les organismes inoculés.

✓ **Les différents tests dans l'API 20E**

Cette galerie permet la réalisation de 20 tests : ONPG, ADH, LDC, ODC, CIT, H₂S, URE, TDA, IND, VP, GEL, GLU, MAN, INO, SOR, RHA, SAC, MEL, AMY, ARA.



Figure 11 : Différents tests de la galerie API20E

✓ **Protocol d'utilisation**

1. Réalisation d'une suspension bactérienne en cultivant une seule colonie isolée à partir d'une culture pure dans l'eau distillée (5ml) puis vortexer afin d'homogénéiser la solution.

2. Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Puis déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation
3. Remplissage des micro-tubes de la galerie (**Figure 12**) à l'aide d'une micropipette (Remplissage du tube et de la cupule des puits: (CIT, VP, GEL). Remplissage du tube avec la solution bactérienne et avec de l'huile de paraffine dans les cupules des puits afin de créer une anaérobiose: (ADH, LDC, ODC, URE, H2S). Remplissage des tubes uniquement du reste des puits de la galerie).
4. Incubation du plateau à 37°C pendant 18 à 24 heures.
5. Après incubation à l'étuve, une lecture des virages des couleurs obtenus dans les différents puits et après ajout de réactifs (une goutte de réactif de chlorure ferrique; une goutte de réactif Kovacs, une goutte de réactif VP1 puis VP2). Qui permet par la suite l'identification bactérienne à l'aide d'un catalogue analytique.

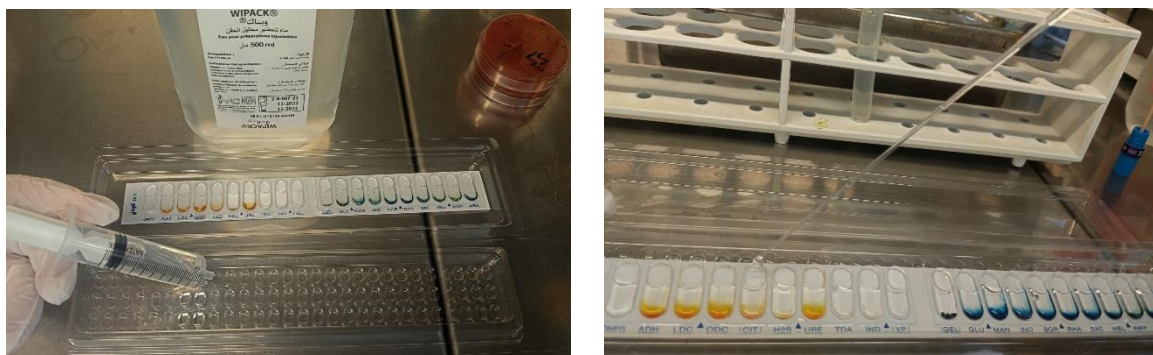


Figure 12 : Préparation de la galerie API 20E.

II.5. Réalisation d'antibiogramme

L'**antibiogramme** est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une **bactérie** à différents antibiotiques en utilisant une boîte de gélose Mueller-Hinton (MH)

✓ **Protocole d'utilisation**

- Préparation d'une suspension bactérienne en cultivant une seule colonie isolée à partir d'une culture pure dans l'eau distillée (5ml) puis vortexer afin d'homogénéiser la solution.
- Réalisation d'un tapis cellulaire sur la boîte de la gélose Mueller-Hinton en faisant des striées serrées à l'aide d'un écouvillon sur la totalité de la surface.
- séchage de 3 à 5 minutes.
- dépôt des disques d'antibiotiques sur la gélose.
- Incubation dans l'étuve à 37°C pendant 16 à 24 heures.
- Lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des auréoles (zones d'inhibition de croissance de la souche microbienne) En se référant aux tableaux de la norme CLSI.

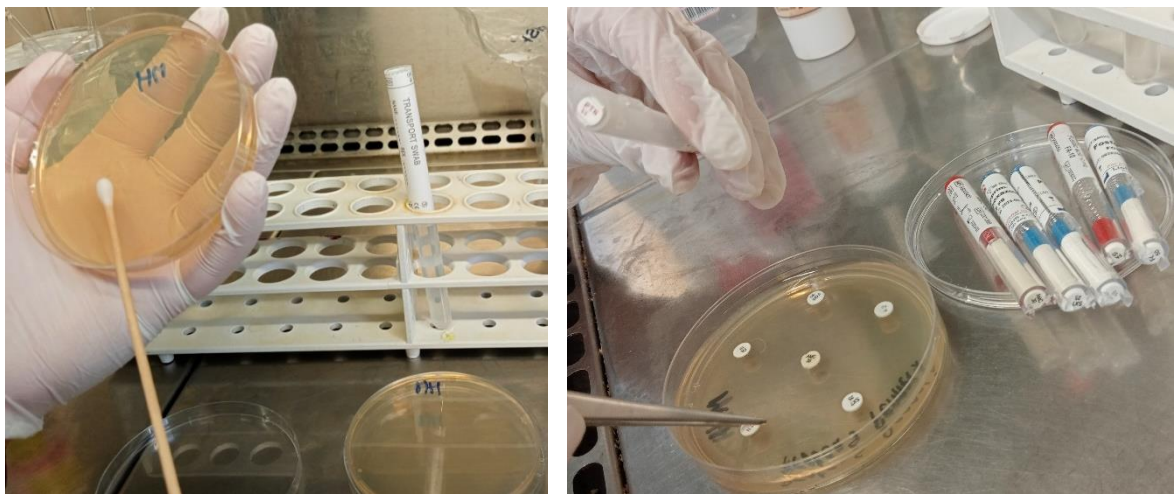


Figure 13 : Réalisation d'antibiogramme.

Tableau I : Représentation de la mesure des diamètres d'inhibition des disques d'antibiotique

Familles	Antibiotiques	Résistance	Sensibilité
Pénicillines	Amoxicilline	<6	≥21
	Pénicilline	<26	≥26
Bêta- lactamines	Cefoxitine	<15	≥22
	Ceftazidine	< 21	≥26
	Imipenème	<17	≥24
Polymyxine	Colistine.s	<15	≥15
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	< 22	≥25
A.phosphoniques	Fosfomycine	<14	≥14
Aminosides	Gentamicine	<16	≥18

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Caractérisation de la population d'étude

I.1. Répartition des patients selon l'âge

Le nombre de patients atteints du CCR est exprimé en fonction de leur âge (**figure 14**). Nous avons distingué les patients dans la tranche d'âge (40 à 80 ans) la plus touchée par le CCR.

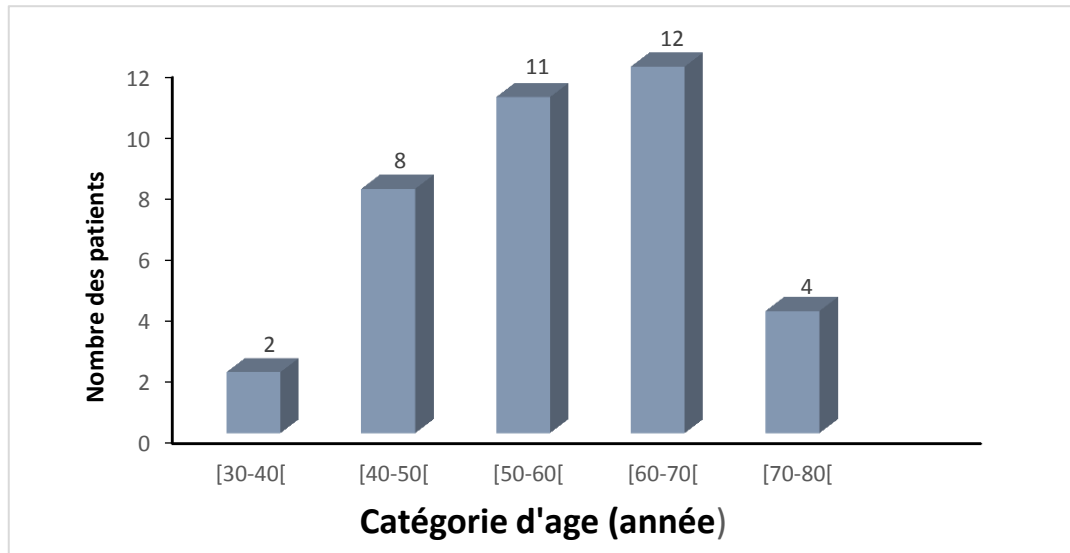


Figure 14: Répartition graphique des patients selon l'âge.

L'âge est un facteur de risque important du cancer colorectal. Le cancer colorectal est rarement enregistré avant 30 ans. La plupart des cancers colorectaux surviennent chez les personnes de plus de 50 ans. Nos résultats sont cohérents avec ceux de (**Aparicio et al., 2005**), qui ont constaté que la majorité des patients âgés atteints de CCR avaient entre 60 et 75 ans.

I.2. Représentation des patients selon le sexe

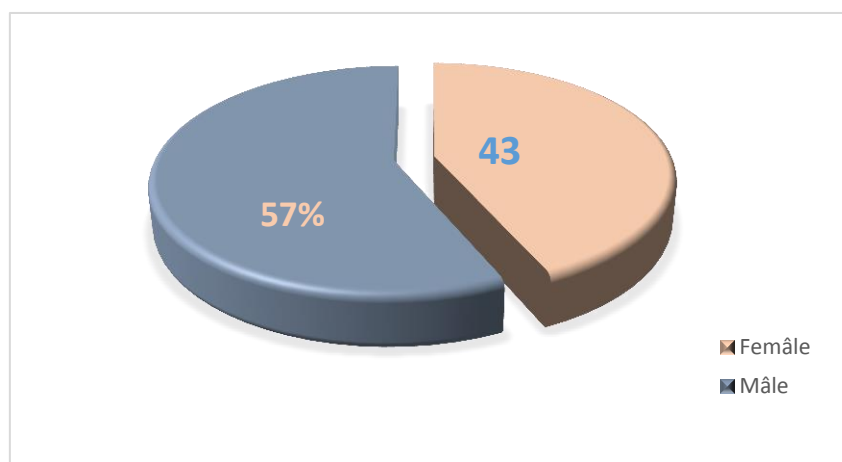


Figure 15 : Représentation des cancers colorectaux selon le sexe.

Parmi les 37 patients atteints du CCR, 21 (57%) étaient des hommes et 16 (43%) étaient des femmes (**Figure 15**). Cela suggère que les hommes ont un risque plus élevé de cancer colorectal que les femmes. Selon les résultats obtenus par (**Ferlay et al., 2014**), le CCR se classe au 2ème rang chez les hommes et au 3ème chez les femmes en termes de mortalité.

Cette différence peut être due à une exposition plus importante des hommes aux facteurs de risque du CCR, comme le tabac, l'alcool et la chique en ce qui concerne le style de vie, ou encore les conditions de travail plus rudes (**Kushi et al., 2012**).

I.3. Répartition des patients selon les donneurs d'échantillon

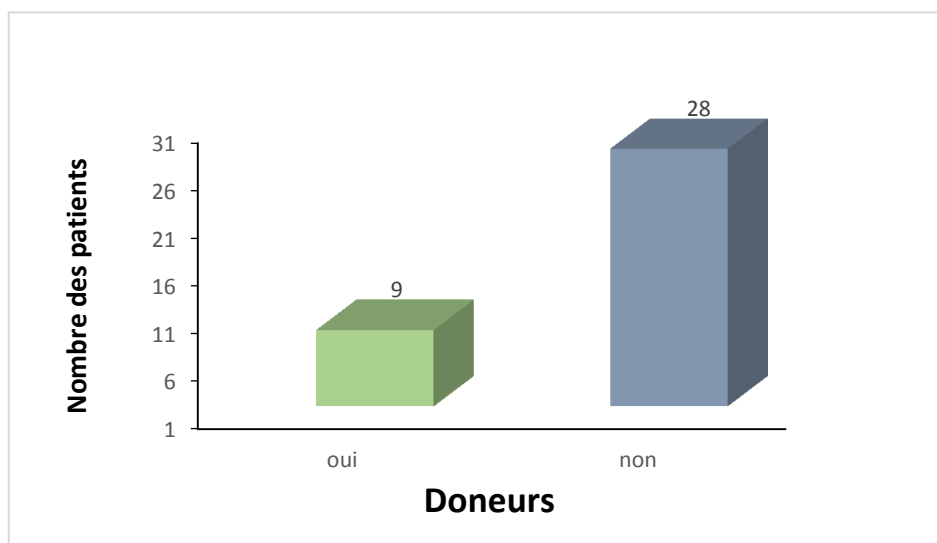


Figure 16: Répartition des patients selon les donneurs d'échantillons

Un total de 37 patients a accepté de répondre au questionnaire. Uniquement 09 patients ont accepté de participer à l'étude soit 24.32% contre 28 patients qui ont refusés de fournir leur matière fécale soit 75.68% (**Figure 16**). Les principales raisons qui empêchent les patients de nous fournir leurs matières fécales sont dues aux constipations ou les douleurs aiguës et/ou chroniques qui affectent la plupart des patients après une chimiothérapie, de même ces maladies cancéreuses sont considérées comme un sujet tabou dans notre société.

I.4. Représentation des patients selon le type de cancer

On admet que le cancer du côlon sigmoïde est majoritaire, suivi du cancer du rectum. Ces résultats sont cohérents avec l'étude de (**Touati et al., 2020**). Celle-ci a été réalisée sur des patients atteints de cancer colorectal à l'EPH d'Amizour qui a montré que la localisation principale du CCR se situe dans le côlon sigmoïde.

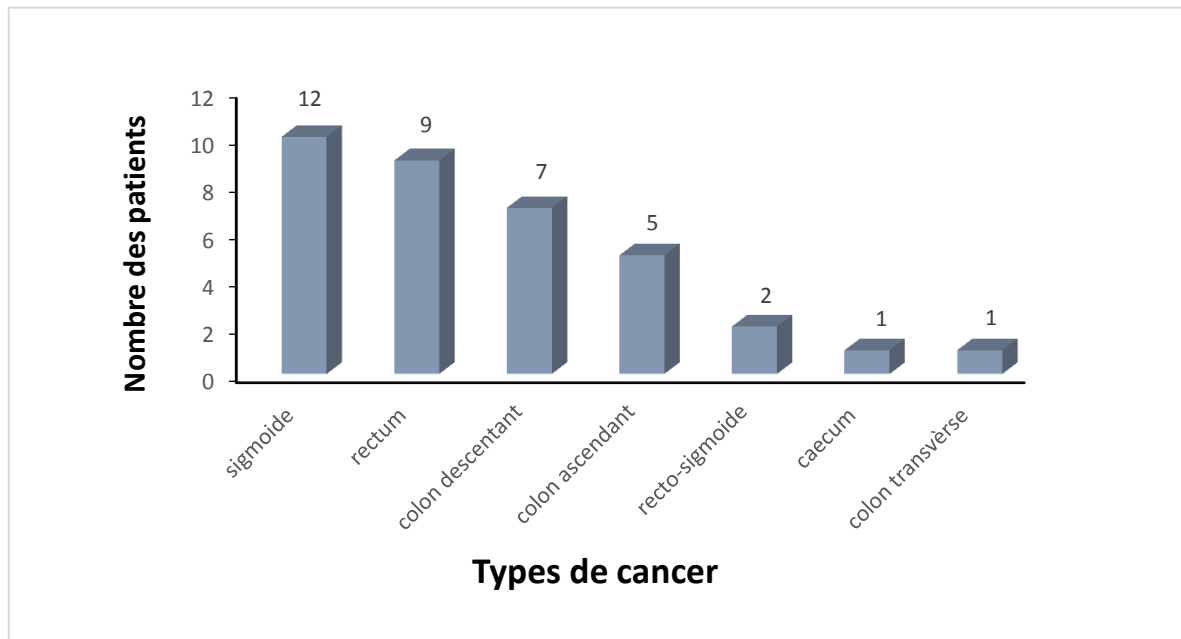


Figure 17: Représentation des patients selon le type de cancer.

Les résultats des données montrent que l'incidence du cancer colorectal varie avec la localisation de la tumeur, comme les résultats d'un indice de cancer du côlon sigmoïde plus élevé, ce qui est rationnel avec (**Chauvenet et al., 2011**), qui a montré une incidence accrue de colons droite et de gauche, Incidence plus élevée et stabilité globale des cancers sigmoïdes et rectaux (**Figure 17**).

I.5. Représentation des patients selon les factures de risques

Le traitement des dossiers médicaux des patients et l'enquête par questionnaires menée ont donné les résultats présentés dans la (figure 18). Les facteurs associés à un risque accru de développer un CCR dans la population étudiée.

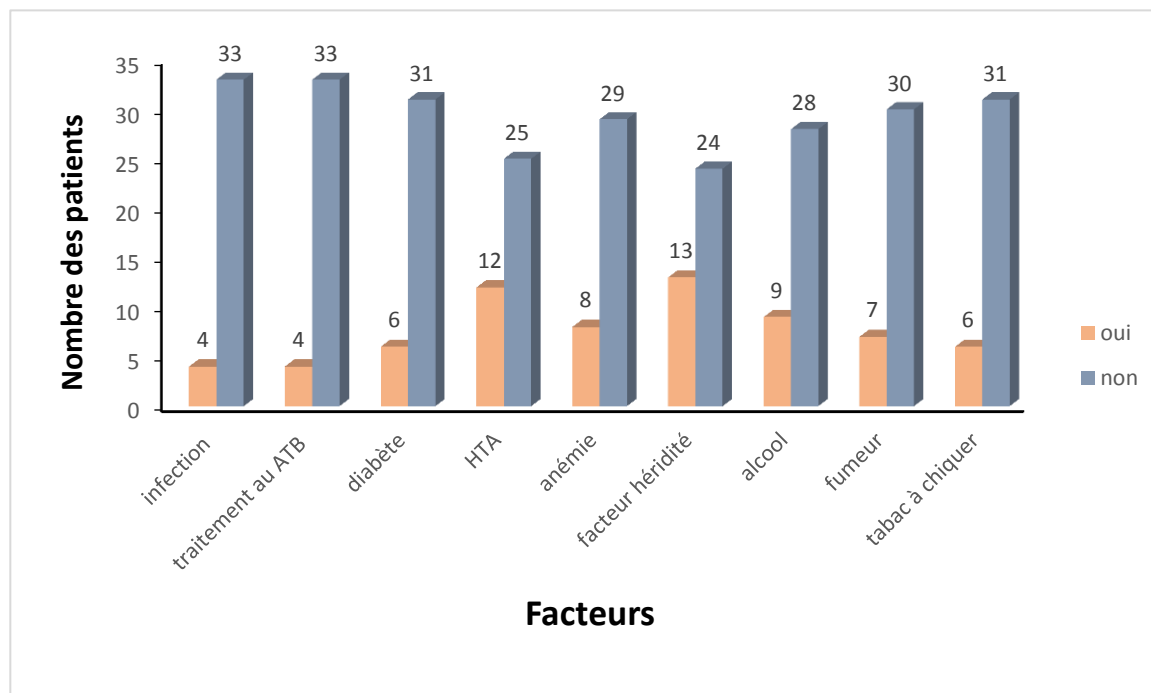


Figure 18: Représentation graphique des facteurs de risque.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les facteurs héréditaires étaient majoritairement supérieurs aux autres avec une apparence chez 13 patients qui avaient des antécédents familiaux de CCR. Ceci est cohérent avec l'étude de (Plummer et al., 2012) selon laquelle le CCR a une origine sporadique, mais 15 % à 30 % d'entre eux sont d'origine familiale.

L'hypertension artérielle (HTA) et un deuxième facteur suivant l'hérédité avec une apparence chez 12 patients, ce qui pourrait impliquer une association avec le cancer, ce qui concorde avec (Ferrara et al., 2002) que le principal mécanisme impliqué et sous-jacent à l'hypertension Le lien entre cancer et cancer se manifeste par l'angiogenèse, notamment des facteurs antigéniques tels que le VEGF (vascular endothelial growth factor).

D'autres facteurs étaient mineurs par rapport à d'autres facteurs mais avaient un impact sur le CCR, conformément aux travaux (Touati et al., 2020).

II. Analyse microbiologique

II.1. Dénombrement de la flore totale

La gélose nutritive (GN) et TSA sont utilisées pour la culture d'une grande diversité de microorganismes non exigeants. Cela donne une vue sur l'ensemble des différents microorganismes cultivables colonisent le microbiome intestinal des patients.

Les résultats de dénombrement sur gélose nutritive et TSA ont été effectués sur la matière fécale après dilution (de 10^{-1} en allant à 10^{-7}) et ensemencement sur boîte en triple. Les résultats obtenus sur l'échantillon 1 et 2 ont été représenté dans les tableaux suivants respectivement en utilisant la loi de dénombrement sur milieu sur milieu solide :

$$N(UFC/g) = \frac{\Sigma C}{(n1 + c \times 0,1)d}$$

- ΣC : Nombre total de colonies comptées dans les boîtes dont le nombre est compris entre 20 et 300 colonies.
- n1 : Nombre de boîte de Pétri comptées de la 1^{ère} dilution
- n2 : Nombre de boîte de Pétri comptées de la seconde dilution
- d : Facteur de dilution à partir duquel les 1^{ers} comptages ont été faits.

Tableau II : Résultats de dénombrement de la flore totale sur GN (échantillon 1)

Dilutions Nombre de boîtes								
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	
Boîte 1	Ind	Ind	Ind	290	56	32	4	
Boîte 2	Ind	Ind	Ind	310	67	20	3	
Boîte 3	Ind	Ind	Ind	340	59	23	3	
Total	/	/	/	940	182	75	10	

$$N(UFC/g) = \frac{182 + 75}{[(3 + 3) \times 0,1] \times 10^{-5}}$$

$$N(UFC/g) = 4.2.10^7 \text{ UFC/g}$$

Tableau III : Résultats de dénombrement de la flore totale sur TSA (échantillon 1)

Dilutions Nombre de boîtes	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Boîte 1	Ind	Ind	Ind	322	50	24	3
Boîte 2	Ind	Ind	Ind	300	63	19	1
Boîte 3	Ind	Ind	Ind	317	78	21	5
Total	/	/	/	939	191	64	9

$$N(\text{UFC}/g) = \frac{191 + 64}{[(3 + 3) \times 0,1] \times 10^{-5}}$$

$$N(\text{UFC}/g) = 4,2 \cdot 10^7 \text{ UFC/g}$$

GN=TSA

Tableau IV : Résultats de dénombrement de la flore totale sur GN (échantillon 2)

Dilutions Nombre de boîtes	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Boîte 1	Ind	Ind	Ind	127	89	51	6
Boîte 2	Ind	Ind	Ind	103	96	55	18
Boîte 3	Ind	Ind	Ind	126	107	40	12
Total	/	/	/	356	292	146	32

$$N(\text{UFC}/g) = \frac{356 + 292 + 146}{[(3 + 3 + 3) \times 0,1] \times 10^{-5}}$$

$$N(\text{UFC}/g) = 8,8 \cdot 10^6 \text{ UFC/g}$$

Tableau V : Résultats de dénombrement de la flore totale sur TSA (échantillon 2)

Dilutions Nombre de boîtes	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷
Boite 1	Ind	Ind	Ind	119	110	33	14
Boite 2	Ind	Ind	Ind	121	107	23	3
Boite 3	Ind	Ind	Ind	116	87	54	17
Total	/	/	/	356	314	120	34

$$N(UFC/g) = \frac{356 + 314 + 120}{[(3 + 3 + 3) \times 0,1] \times 10^{-4}}$$

$$N(UFC/g) = 8,7 \cdot 10^6 \text{ UFC/g}$$

GN= TSA

Après analyse des résultats du dénombrement sur les 2 milieux solides ; la gélose nutritive et le milieu TSA. On note que le premier échantillon présente une charge bactérienne plus grande que le deuxième échantillon donc les deux résultats ont montré une charge bactérienne différente l'un de l'autre. Nos résultats sont cohérents avec ceux de **(Lehri et Smali, 2022)**. Cela signifie que la composition du microbiote intestinale est propre à chaque individu.

II.2. Identification bactérienne

II.2.A.Par les tests d'orientations

Les résultats d'identification bactérienne par les tests primaires des 9 échantillons ont été représentés dans le **tableau VI** :

Tableau VI : Résultats d'identification bactériens par les tests primaires d'orientation

Ech	Espèces	Gram	Oxydase	Catalase
E1	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E2	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E3	<i>Streptococcus D</i>	Cocci. G +	-	-
E4	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E5	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E6	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E7	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-
E8	<i>Streptococcus D</i>	Cocci. G +	-	-
E 9	<i>Enterococcus sp</i>	Cocci. G +	-	-

Ces résultats montrent une apparition de l'espèce *Streptocoque D* dans 2 échantillons, ainsi que la souche *Enterococcus sp* qui marque sa présence au niveau du 7 échantillons restants, cette dernière peut être associée au développement du CCR. Nos résultats sont cohérents avec (Sears, 2014) ; selon lui la souche *Enterococcus faecalis* est retrouvée en grande quantité au cours du cancer colorectal. Elle possède la capacité d'induire la production de radicaux libres de l'oxygène (ROS) pouvant entraîner des altérations de l'ADN et des instabilités génomiques, ainsi que de produire des anions superoxydes extracellulaires. Cela qui signifie que notre souche s'agit de l'espèce faecalis.

II.2.B.Par les galeries API20E

Tableau VII : Résultats d'identification bactérienne par la galerie biochimique API20E.

Ech	Espèces	Gram	Catalase	Oxydase	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
E1	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
	<i>Proteus penneri</i>	Bacille.G -	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
E2	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
	<i>Pasteurella aerogenes</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
E3	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Bacille.G-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E4	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
E5	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+
	<i>Salmonella Arizonae</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+
E6	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E7	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
E8	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Shigella Spp</i>	Bacille.G-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+
E9	<i>E.coli</i>	Bacille.G -	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Bacille.G -	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille. G-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Les résultats d'identification bactérienne par les galeries biochimiques des 9 échantillons sont représentés dans le **tableau VII** :

Après la détection des caractères biochimiques (protéiques et glucidique), les résultats ont révélé sur la présence de quelques souches bactériennes telles que *Proteus penneri*, *Pasteurella aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *klebsilla oxytoca*, *salmonella Arizonae*, *Shigella spp*, *Enterobacter cloacae* qui sont présentes récessivement. Contrairement, aux autres souches prédominantes telles *E. coli* avec une fréquence de 9/9 échantillons et *klebsiella pneumoniae* (2/9 échantillons), qui peuvent être parmi les causes du Cancer colorectal. Nos résultat sont cohérents avec ceux de **(Martin HM et al., 2004)** ; Qui ont montré que *E. coli* est depuis longtemps suspecté de jouer un rôle pro-oncogène. De nombreuses études ont rapporté une association entre *E. coli* et le CCR. 71% des biopsies coliques provenant de patients ayant un CCR étaient colonisées par *E. coli*, contre 42% chez les sujets contrôles. Les souches de *E. coli* génotoxiques, et notamment le groupe produisant la colibactine B2, peuvent engendrer des cassures de l'ADN double-brin et une instabilité génomique. De plus, certaines interactions ont été décrites entre un autre sous-groupe de *E. coli* (*E. coli* entéropatho- gène) et le système de réparation de l'ADN MMR (mismatch repair system) qui induit à son inhibition et donc la favorisation de la carcinogénèse colique.

Concernant l'espèce *K. pneumonie*, Selon **(Strakova et Al., 2021)** cette bactérie productrice de la colibactine qui induit de graves dommages à l'ADN ; peut-être un risque de développement du cancer colorectal.

II.3. Résultats d'antibiogrammes

Les résultats des tests de sensibilités et résistances des souches bactériennes vis-à-vis quelques antibiotiques sont représentés dans le **tableau VIII** :

Tableau VIII : Résultats d'antibiogramme des souches bactériennes.

Antibiotiques	Souches							
	<i>Y. Enterocolitica</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella arizonae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebseilla Oxytoca</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Klebseilla pneumoniae</i>
Amoxicilline	R	S	R	S	R	S	S	R
Cefoxitine	S	S	S	S	S	S	S	S
Ceftazidine	S	S	S	S	S	R	R	S
Colistine.s	R	R	R	R	R	R	R	R
Imipenème	S	S	S	S	S	S	R	S
Ciprofloxacine	S	S	R	S	R	R	S	S
Fosfomycine	S	S	S	S	S	R	S	S
Pénicilline	R	R	R	R	R	R	R	R
Gentamicine	S	R	R	S	S	S	S	S

D'après ces résultats ; les espèces *Klebseilla oxytoca* et *E. coli* présentent le phénotype de résistance le plus élevé aux antibiotiques.

Le taux de résistance des souches à la colistine et pénicilline est 100% ceci signifie que ces dernières ne présentent pas d'activités sur la majorité des entérobactéries, et un taux de 0% à la Cefoxitine, ce qui indique que cette antibiotique présente une meilleure activité sur ces souches. Un résultat similaire été retrouvé par (**Koné et al., 2016**) prouvant que La Cefoxitine montre une bonne activité avec une sensibilité de plus de 90% chez certains entérobactéries et que ces dernières sont hautement résistantes aux pénicillines.

Conclusion et perspectives

Durant notre travail au niveau d'EPH Amizour, nous avons effectué une récolte des données ainsi qu'un échantillonnage de la matière fécale des patients atteints du cancer colorectal.

L'ensemble des données ont montrés que L'indice d'être touché par le CCR est plus élevée chez le sexe masculin que le sexe féminin. Les patients âgés entre 50 à 70 ans sont les plus touchées par le CCR. Les catégories d'âges de [30- 40] et [40- 50] ont été les moins touchées par ce type de Cancer. Cela conclure que le CCR augmente considérablement avec l'âge. Le cancer de sigmoïde, cancer de rectum, et le cancer du côlon descendant ont été les cancers les plus enregistrés parmi la population étudiée. Le facteur d'hérédité et l'hypertension artérielle sont les plus dominants par rapport aux autres facteurs de risque avec un total de 13 et 12 patients sur 36.

L'utilisation de la bactériologie nous a permis d'exploiter la flore fécale et d'identifier les différentes souches du microbiote intestinal des patients cancéreux tel qu'*Escherichia*, *Klebsiella*, *Shigella* ainsi que des *Entérocooccus*.

Certaines souches identifiées ont été dirigées vers des antibiogrammes selon la disponibilité des antibiotiques, dont les espèces *Klebsiella oxytoca* et *E.coli* présentent le phénotype de résistance le plus élevé aux antibiotique et toutes les souches testées ont développé une résistance à la pénicilline et la colistine et une sensibilité à la Cefoxitine.

Cette étude a été limitée en raison de plusieurs paramètres. Y compris une pénurie de ressources de solutions et réactifs et les outils nécessaires pour élargir les champs d'identification, En perspective, ces résultats doivent être complétés par une série d'autres tests, beaucoup plus performants à savoir :

- Mener une étude envisagée sur une large gamme d'échantillons.
- Etudier une population saine pour une comparaison qualitative et quantitative.
- Caractérisation du microbiote intestinal des patients atteints de CCR par des analyses moléculaires tel la PCR en temps réel et le séquençage de l'ARN 16S.

Bibliographie

A

- **American Cancer Society. Symptômes du cancer colorectal.** (2021).
- **Andersson Anders F., Lindberg M., Jakobsson H. et al.** Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. Stockholm: Niyaz Ahmed, 2008.
- **Assudine M. (2022).** La morbidité de la chirurgie colorectale : Expérience du service de la chirurgie viscérale II (hôpital militaire d'instruction Mohamed.Th.Doc. Université Mohammed V de Rabat. 150p.
- **Aykan NF.** (2015). Red Meat and Colorectal Cancer. *Oncol Rev.* 28; 9(1):288.

B

- **Beaugerie L, Sokol, H, Aubé C, Bardou M et al. (2014).** Les fondamentaux de la pathologie digestive© CDU-HGE. Editions Elsevier-Masson. 262p.
- **Belkaid Y, Hand TW.** (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 157, 121-141.
- **Bentebak K, Boubniber M, Feraoun S, Oukal M, Oukrif S et Terki N.** (2016). Manuel de Prise en charge Du Cancer du Rectum. *Direction générale des structures desanté.* PP.8-10.
- **Bernalier-Donadille,A.** (2010). Fermentative metabolism by the human gut microbiota. *Gastro entérologie Clinique et Biologique*, 34, 16–22.
- **Blum HE.** The human microbiome. *Adv Med Sci* 2017 ; 62 :414-20).
- **Bouladoux N, Hand TW, Naik S et Belkaid Y.** (2013).Microbiote et lymphocytes T: les meilleurs ennemis. avril;29(4).
- **Bourlioux P.** (2014). Actualité Du Microbiote Intestinal. *Annale Pharmaceutiques Françaises.*
- **Bruneau A., Baylatry, M.-T., Joly, A. C et Sokol, H.** (2018). Le microbiote intestinal: quels impacts sur la carcinogénèse et le traitement du cancer colorectal ? *Bulletin Du Cancer*, 105(1), 70-80.

C

- **Calan L, Gayet B, Bourlier P, Perniceni T.** (2004). Cancer du rectum: anatomie chirurgicale, préparation à l'intervention, installation du patient. EMC-Chirurgie, 1(3), 275- 292.
- **Céréales K et al.** (2008). Tumeur de l'appareil digestif: Maladie du côlon et du rectum Maladie du côlon et du rectum. Avril : 501© (3).
- **Cinquin, C.** (2005). Développement et validation d'un nouveau modèle de fermentation Colique in vitro avec cellules immobilisées. Québec : Page17/171.
- **Consortium IHGS.** Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 43 : 931-45).

D

- **De Gramont A., Housset M., Norddinger B. et Rougier P.** (2012). Le cancer colorectal en question. Fondation ARCAD ; 2^{ème} Edition. PP. 1-73.
- **Dilal S.** (2019). Microbiote intestinal: impact sur la carcinogénèse et le traitement du cancer colorectal.th doc. Université Mohammed V de Rabat ;p162.

F

- **Falony G et al.** (2016).Population-level analysis of gut microbiome variation. Science, 352(6285):560-564.
- **Faucheron J.** (2005). Pelvic anatomy for colorectal surgeons. Acta Chirurgica Belgica, 105(5), 471-474.
- **Fediriko V., Tramacer I., Bagnardi V., Rota M., Scotti L et Islami F.** (2011) Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall land dose-response meta-analysis of published studies. Ann Oncol 22. PP. 1958–72.
- **Feng, RM, Zong, YN, Cao SM, & Xu RH.** (2019). Current cancer situation in China: good or bad news from the 2018 Global Cancer Statistics? *Cancer Communications*, 39(1): 22.
- **Fianjaha RL.** (2000). L'opération de Babcock Bacon dans le traitement Du cancer de bas rectum a propos de 5 cas. Th. Doc. Med.N°6171. Université d'Antananarivo. 56p.

G

- **Gallot, D. (2006).** Anatomie chirurgicale du côlon. EMC Tech Chir ApparDig, 1, 1-8.
- **Gramont A, Housset M, Nordlinger B, Rougier PH. (2012).**Le cancer colorectal en questions. France. P(13 ;23,14 ;) .
- **Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Lancet 2003; 361: 512-9.**

H

- **Haute Autorité de Santé - Cancer colorectal : modalités de dépistage et de prévention chez les sujets à risque élevé et très élevé ,20 juin 2017.**
- **Hooper, L. (2004).** Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends in Microbiology*, 12(3), 129–134.

I

- **Instituts national de santé et de la recherche médicale, 2021.** Microbiote intestinal (flore intestinale) Une piste sérieuse pour comprendre l'origine de nombreuses maladies. Microbiote intestinal © PixScience pour l'Inserm, 18/10.
- **Institut national du cancer, (2021).**

J

- **Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. (2011).** Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*; 61:69-90).

K

- **Koné J, Bellahcen B, Awab A., et al. (2016).** Les entérobactéries sécrétrices de bêta- lactamases à spectre étendu (BLSE) en urologie à l'hôpital Ibn Sina de Rabat. *Revue Malienne d'infectiologie et de Microbiologie.* ; Tome 7 : 2-7 .
- **Korneychuk N. (2014).** Les cellules lymphoïdes innées contrôlent la réponse adaptative aux bactéries commensales intestinales. *Med Sci (Paris)* ; 30 : 253-7).

- **Koushik A, Hunter Dj, Spiegelman D, Brrson Wl., Van Den Brandt Pa et Buring Je.** (2007). Fruits, vegetables, and colon cancer risk in a pooled analysis of 14 cohort studies. *J Natl Cancer Inst*; 99. PP.1471–83.
- **Kushi Lh, Doyle C, et Cullough M.** (2012). American Cancer Society.

L

- **Landman C, et Quévrain E.** (2016). Le microbiote intestinal : description, rôle et implication physiopathologique. *La Revue de Médecine Interne*, 37(6), 418–423.
- **Lehri M et Smaili Y.** (2022). Identification de souches bactériennes du microbiome intestinale des patients cancéreux (cas de cancer colorectal). Univ Béjaia.
- **Liang Ps, Chen Ty, Giovannucci E.** (2009). Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*; 124(10):2406-15.

M

- **Marie Corblin.** (2020). L'implication du microbiote intestinal dans l'apparition des troubles dépressifs. université de limoges.
- **Mcneil Ni.** (1984). the contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr*; 39: 338-42.
- **Michel Ducreux ;** Fondation pour la recherche sur le cancer. (2014). Le cancer-colorectal.46p.
- **Morowitz, Michael J., et al.** (2011). Contributions of Intestinal Bacteria to Nutrition and Metabolism in the Critically Ill . *The Surgical clinics of North America*, vol. 91, no 4, août, p. 771-85.
- **Mosnier J-F, Lavergne A et Emile J-F.** (2005). Généralités sur les tumeurs. Copy right, 7. PP. 1-16.

N

- **Nau J.** (2011). Qu'est-ce donc qu'un microbiote intestinal normal ? *Rev Med Suisse*, 301(3), 1434-1435.

P

- **Perez Pf, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P. Donnet-Hughes A.** (2007). Bacterial Imprinting of the Neonatal Immune System: Lessons from Maternal Cells? *PEDIATRICS*, 119(3), 724–732.

R

- **Richard L Drake, Adam Wm Mitchel, A Wayne Vogl.** (2010). *Gray's anatomie pour les étudiants*. France : Elsevier masson.

S

- **Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arlukowicz T, & Przybyłowicz K.** (2021). Un examen du cancer colorectal en termes d'épidémiologie, de facteurs de risque, de développement, de symptômes et de diagnostic. *Cancers*, 13(9), 2025.
- **Sears Cl, Garrett Ws.** (2014) Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host Microbe*; 15 (3):317-28.
- **SKP Jean, S George, Jn Primevère, Jbj Fozard.** (2011). Symptoms and signs in patients with colorectal cancer, Jan; 13(1):17-25.
- **Strandwitz P.** (2018). Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res* 1693, 128-133.

T

- **Touati A, Talbi M, Mairi A, Adjebli A, Louardiane M et Lavinge J.** (2020). Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase-Producing Enterobacteriales Strains in Patients with Colorectal Cancer in the Oncology Unit of Amizour Hospital, Algeria: A Prospective Cohort Study. *Microbial Drug Resistance*, 26(11), 1383-1389.
- **Tremaroli V & Bäckhed F.** (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489(7415), 242-249.

V

- **Valdes A. M, Walter J, Segal, E., & Spector, T. D.** (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Bmj*, 361, k2179.

- **Vogtmann E, Goedert JJ.** (2016). Epidemiologic studies of the human microbiome and cancer. *Br J Cancer*; 114:237-42).

W

- **Waugh A, Grant A et Cosserat J.** (2015). *Ross et Wilson. Anatomie et physiologie normales et pathologiques.* Elsevier Health Sciences. 592p.
- **World health organisation 2020,**

X

- **Xi, Y, Xu, P.** (2021). Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Oct*;14(10):101174.

Y

- **Yuhara H, Steinnans C, Cohne SE, CORLEY Da, Tei Y et Buffler Pa** (2011). Is diabetes mellitus an independent risk factor for colon cancer and rectal cancer: 106. *PP*.1911–21.

Site web

- **<https://www.e-cancer.fr>** (consulté le 10/05/2023).
- <https://www.cancer.org/cancer/latest-news/signs-and-symptoms-of-colon-cancer.html> (consulté le 30/04/2023).
- https://www.has-sante.fr/jcms/c_2772744/fr/cancer-colorectal-modalites-de-depistage-et-de-prevention-chez-les-sujets-a-risque-eleve (consulté le 10/05/2023).
- <https://www.inserm.fr/dossier/microbiote-intestinal-flore-intestinale> (consulté le 22/04/2023).

Annexe I

Fiche d'exploitation, Page 1/2

Fiche d'exploitation

Nom :.....
 Prénom :.....
 Age :
 Poids :
 Date de naissance :...../...../.....
 Lieux de résidence :.....

A) Alimentations et mode de vie :

1) Nombre et type de repas par journée :

Petit-déjeuner :

Déjeuner :

La collation (l'après-midi) :

Diner :

Eau (L/jour) :

Autres :

2) Produits laitiers (*Lben*, yaourt, fromages...) ?

.....

3) Produits carnés ?

.....

4) Consommation d'alcool : Oui Non

5) Fumeur : Oui Non

6) Tabac à chéquier : Oui Non

7) Comportement sédentaire ? Oui Non

.....

8) Activités physiques ? (Marche, Sport ... etc.)

.....

B) Santé et antécédents médicaux :

1) Membre de la famille avec la même maladie (CCR) ? Oui Non

2) autre cancer :

Fiche d'exploitation, Page 2/2

3) Diabète : **Oui** **Non**

4) HTA : **Oui** **Non**

5) Anémie : **Oui** **Non**

6) Autre :

7) Siege de cancer :

Colon D Colon G colon transverse Rectum sigmoïde

8) Diarrhée : Souvent Parfois Rarement

9) Constipation : Souvent Parfois Rarement

10) Douleur abdominal : Souvent Parfois Rarement

11) A quel moment de la journée avez-vous « Moins » mal ?

•Matin • Midi • Après-midi •Le soir • imprévisible

12) A quel moment de la journée avez-vous « PLUS » mal ?

•Matin • Midi • Après-midi •Le soir • imprévisible

12) Antibiotiques : OUI NON Type d' ATB :

13) Autres Traitement particulier ? Oui Non

Type :

.....

.....

15) Opération chirurgical ? Oui Non

Type :

.....

.....

.....

Annexe II

Réactifs, matériels (verrerie) et Appareillage utilisés

Réactifs et solutions :

Ethanol; eau physiologique; eau distillée; alcool; violet de gentiane; lugol ; fuschine ; huile de paraffine.

Matériels (verrerie) et Appareillage

Erlenmeyer; éprouvette ; fiole jaugée; anse de platine; pipette pasteur; boites de pétri ; tubes à essai(en verre); micropipettes; embouts; lames et lamelles; pince en bois; mortier; spatule; verres de montres; trousse de dissection; bec bunsen; étuve réglée à 37°C; réfrigérateur réglée à 4°C ; bain marie; balance plaque; chauffante agitatrice; centrifugeuse; vortex; autoclave ; microscope optique; hotte PSM.

Annexe III

Composition et intérêt des milieux de culture utilisés.

Milieux de culture	Composition	Intérêt
Gélose SS	Peptone : 5,0 g Extrait de viande : 5,0 g Sels biliaires : 8,5 g Vert brillant : 0,33 mg Lactose : 10,0 g Rouge neutre : 25 mg Thiosulfate de sodium : 8,5 g Citrate ferrique ammoniacal : 1,0 g Citrate de sodium : 8,5 g Agar : 15,0 g pH = 7,3	Milieu sélectif permettant l'isolement des salmonelles et Shigella
Gélose Hecktoen	Protéose-Peptone : 12,0 g Extrait de levure : 3,0 g Désoxycholate de sodium : 9,0 g Lactose : 12,0 g Saccharose : 12,0 g Salicine : 2,0 g Bleu de bromothymol : 65 mg Fuchsine acide : 100 mg Thiosulfate de sodium : 5,0 g Citrate ferrique ammoniacal : 1,5 g Chlorure de sodium : 5,0 g Agar : 15,0 g pH = 7,5	Milieu sélectif permettant l'isolement des Entérobactéries
Gélose Mc Conkey	Digestion pancréatique de la Gélatine : 17.0 g/l Lactose monohydraté : 10.0 g/l Chlorure de sodium : 5.0 g/l Peptones : 3.0g/l Sels biliaires : 1.5 g/l Rouge neutre : 0.030 g/l Cristal violet : 0.001 g/l Agar bactériologique : 13.5 g/l pH 7.1± 0,2	Milieu sélectif permettant l'isolement des Entérobactéries

Gélose EMB	Peptone bactériologique : 10.0 g/l , Lactose : 5.0 g/l Saccharose : 5.0 g/l Phosphate dipotassique : 2.0 g/l Éosine : 10.4 g/l Bleu de méthylène : 0.065 g/l Agar bactériologique : 13.5 g/l pH 7.2 ± 0,2	Milieu sélectif permettant d'isoler les Entérobactéries
Gélose nutritive	Peptone de gélatine : 5.0 g/l Extrait de boeuf: 3.0 g/l Agar bactériologique : 15.0 g/l pH neutre de 6.8 ± 0.2.	Milieu non sélectif permettant la culture de plusieurs germes n'ayant pas d'exigences particulières
Gélose TSA	Tryptone : 15 g Peptone de soja : 5 g Chlorure de sodium : 5 g Agar : 15 g pH final : 7,3 ± 0,2	Milieu non sélectif et riche en nutriment permettant la culture des germes non exigeant et le dénombrement des bactéries aérobie dans l'eau, les produits laitiers, et les produit pharmaceutique
Gélose Chapman	D-mannitol 10g/l Chlorure de sodium 75g/l Digestion peptique de tissu animal 5g/l Digestion pancréatique de caséine 5g/l Extrait de boeuf 1g/l Rouge de phénol 0.025g/l Agar 15g/l , Ph 7.4 ± 0.2	Milieu sélectif permettant La croissance des germes halophiles
Gélose BEA	Extrait de bœuf : 11g/l Digestion enzymatique de gélatine : 34.5g/l Esculine : 1.0g/l Sulfate de manganèse : 0.05g/l Bile de bœuf : 2.0g/l Citrate d'ammonium ferrique : 0.5g/l Gélose : 15.0g/l Ph : 7,1	Milieu différentiel et sélectif permet la croissance des <i>Enterococcus</i> et <i>Streptococcus</i> de groupe D

Gélose Columbia au sang cuit	Incorporation de sang de mouton (10%) dans un milieu de base le Columbia à température élevée (80°C)	Milieu non sélectif enrichi favorisant la croissance des germes exigeants et anaérobies.
Gélose Mueller-Hinton	Hydrolysate acide de caséine (peptone) 17,5 g Extrait de viande 2,0 g Amidon 1,5 g Calcium 20 à 25 mg Magnésium 10 à 12,5 mg Agar 15,0 g pH = 7,4 +/- 0,2	Milieu standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries

Annexe IV

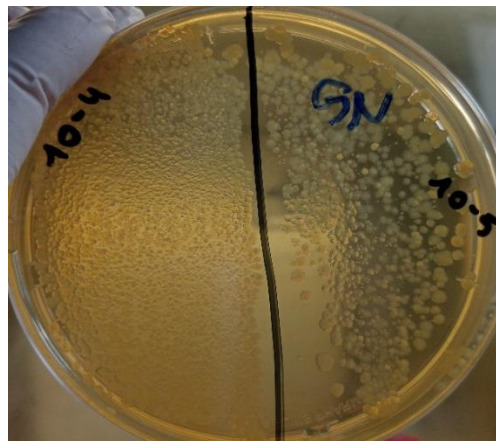
Coloration de gram

Réalisé par prélèvement d'une colonie bien isolée et l'incorporer dans une goutte d'eau physiologique stérile, faire sécher la lame dans la flamme du bec bunsen puis la recouvrir des colorants : violet de gentiane (1 min), lugol (1 min), alcool (5 secs), et la fuschine (1 min), en respectant le lavage à l'eau distillée entre chaque étape de coloration. L'observation sous microscope optique au grossissement 10x100 est faite à l'aide de l'huile à immersion.

Observation microscopique : Coloration des bactéries gram+ en violet, et gram- en rose

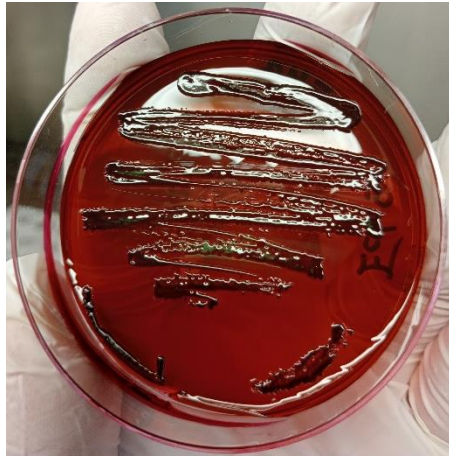
Annexe V

Résultat de dénombrement.



Annexe VI

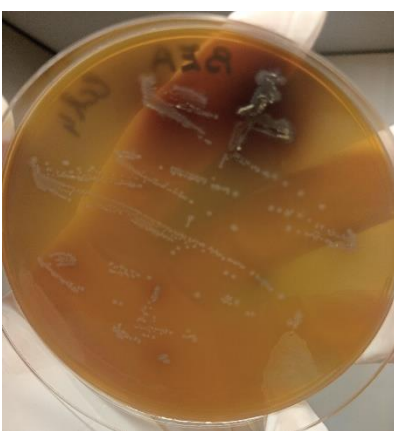
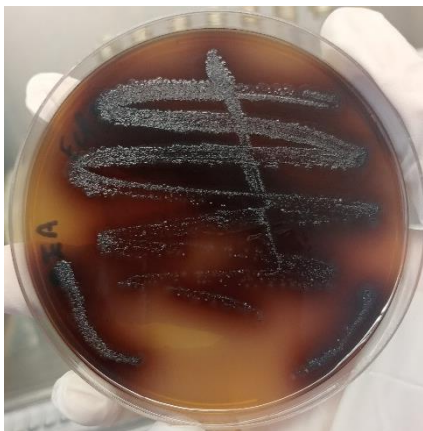
Les résultats de colonies obtenues sur les différents milieux.



A/ Sur gélose
EMB.



B/ Sur gélose
Mc Conkey.



C/ Sur gélose BEA.



**D/ Sur gélose au
Sang cuit.**



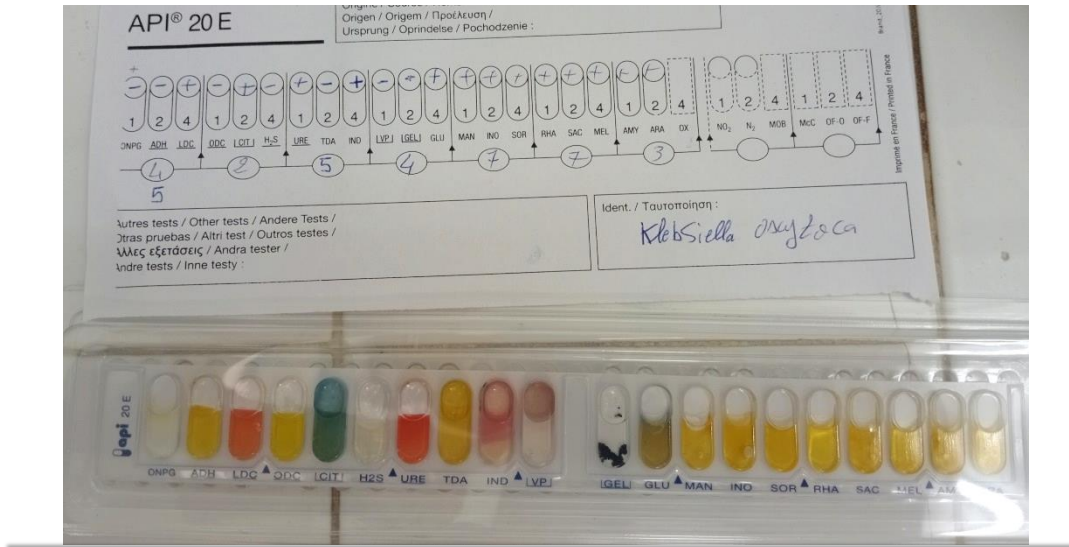
E/ Sur gélose SS.



G/ Sur gélose HK.

Annexe VII

Galeries API20E et exemple de lecture.



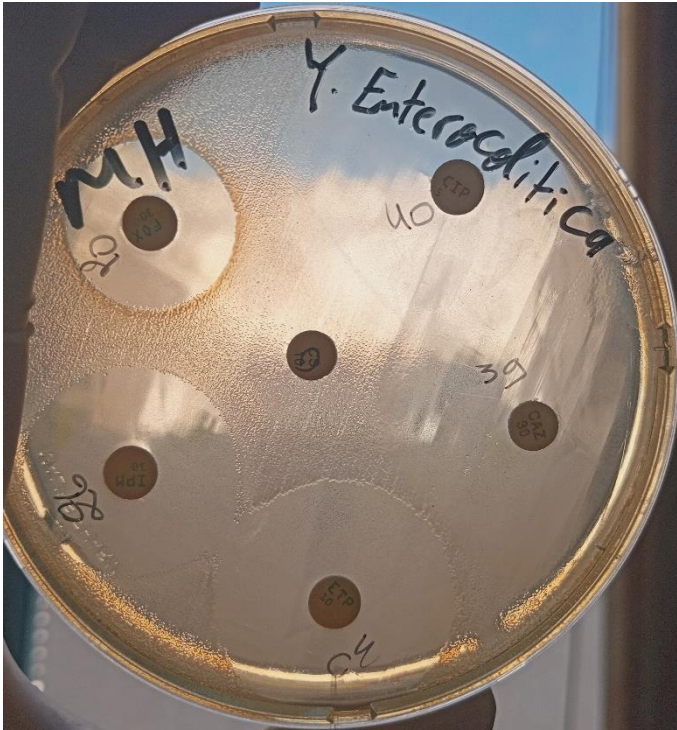
Galerie API 20^E : *Klebsiella Oxytoca*.

Microtubule	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β-galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

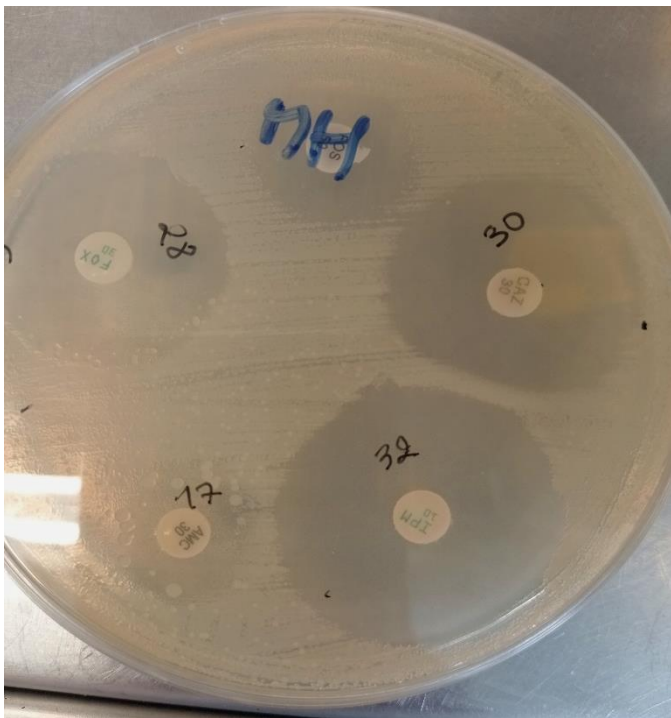
Tableau de lecture la galerie miniaturisée API 20E.

Annexe VIII

Exemple de résultats d'antibiogramme



Yersinia enterocolitica.



Salmonella arizonae

Résumé

Le cancer colorectal est le 3ème cancer dans le monde. Ce type de cancer constitue de plus en plus un problème majeur de santé publique. L'équilibre du microbiote intestinal est un gage de bonne santé et l'intérêt de son rétablissement en cas de dysbiose est largement démontré. Certaines souches bactériennes peuvent favoriser ou lutter contre le cancer colorectal. Dans notre étude on a procédé à l'étude épidémiologique par une collecte des données et l'identification des souches bactériennes du microbiote intestinal des patients cancéreux qui peuvent avoir une relation avec le développement du cancer colorectal et l'étude de la résistance vis-à-vis de certains antibiotiques. Cette présente étude a été menée sur des patients de l'EPH d'AMIZOUR qui démontre que le CCR est plus élevée chez le sexe masculin que le sexe féminin et les personnes âgés entre 50 à 70 ans sont les plus touchées ainsi la localisation de la maladie varie d'une personne à l'autre dont le colon sigmoïde est le plus dominant. L'analyse microbiologique a démontré une diversité de souches bactériennes chez les 9 patients telles qu'*E.coli*, *K.pneumonie*, *K.oxytoca*, *Shigella sp* et *Yarsinia enterocolitica*. Ces résultats nous permettent de conclure que chaque patient (échantillon) possède une flore intestinale qui lui est propre.

Mots clés: Cancer colorectal, microbiote intestinal, dysbiose, identification.

Abstract

Colorectal cancer is the third most common cancer in the world. Colorectal cancer is increasingly a major public health problem. The balance of the intestinal microbiota is a guarantee of good health and the interest of its recovery in case of dysbiosis is widely demonstrated. Some bacterial strains can promote or combat colorectal cancer. In our study, the epidemiological study was carried out by collecting information's and identifying bacterial strains of the intestinal microbiota of cancer patients who may have a relation with the development of colorectal cancer, and the study of resistance to against some antibiotics. This study was carried out on patients at the AMIZOUR hospital which shows that the CCR is higher in the male sex than the female sex and people between 50 and 70 years are most affected so the location of the disease varies from person to person whose sigmoid colon is the most dominant. The microbiological analysis showed a diversity of bacterial strains in the 9 patients such as *E.coli*, *K.pneumonia*, *K.oxytoca*, *Shigella sp* and *Yarsinia enterocolitica*. These results allow us to conclude that each patient (sample) has its own intestinal flora.

Key words: Colorectal cancer, intestinal microbiota, dysbiosis, identification.