

Université Abderrahmane MIRA, Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée au Diagnostic



Réf :

MEMOIRE

De fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
Master

Thème

**Caractérisation du microbiome chez
les patients atteints d'insuffisance
rénale terminale**

Réalisé par :

M^{elle} HIDOUCHE Fairouz

Président du jury :

Encadreur : M^r DJOUDI Ferhat (Pr)

Présidente : M^{me} GHAROUT-SAIT Alima (MCA)

Examinatrice: M^{me} BOUCHERBA Nawel (Pr)

Année universitaire :2023/2024

Remerciement

La réalisation d ce mémoire n'était possible que grâce au concours de plusieurs contributions envers qui je voudrai adresser la plus grande des gratitudes

Je tiens tout d'abord à témoigner ma reconnaissance envers l'équipe pédagogique de l'université de Bejaïa notamment mon encadrant Mr Djoudi Ferhat qui a fournis des efforts exceptionnels pour la bonne réalisation de ce travail. Ce travail n'aurait pas vu le jour sans sa généreuse contribution, par ailleurs je ne peux que saluer sa patience, et son dévouement.

Je désire aussi à remercier chaleureusement tous les patients qui ont contribué la base de ce mémoire sans oublier d'adresser mes remerciements a tout le personnel du service d'hémodialyse au sein d'EPH privé le rameau d'olivier.

Je remercie aussi mon papa chéri sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé

Enfinement un grand merci à ma propre personne, pour toutes les efforts que j'ai faite pour la réalisation de ce mémoire notamment toutes les nuit que j'ai passé à le réaliser et pour tout le courage que j'avais pour dépasser tous les obstacles au cour de mon parcours, ma voie vers la réussite

Dédicace

Je dédier mon humble travail à ces personnes qui font partie intégrante de ma vie grâce à qui j'ai pu en arriver là où j'en suis

Tout d'abord à mon cher père Mr Ahmed Hidouche qui a toujours été là pour moi et qui a fait en sorte que je ne manque de rien pour réussir

Ensuite je ne peux ne pas dédier mon travail à ma défunte maman chérie Mme Latrech Atika que dieu lui accorde sa divine miséricorde et lui ouvre les portes de son Eden vaste paradis

Sans oublier mon meilleur mon conseiller confident mon ami mon ange gardien Fares Kheyar

Et enfin à toute personne qui m'aurait apporté un quelconque soutien même avec un petit mot, message d'encouragement

Je tiens à vous manifester mes sincères remerciements

Liste des abréviations

IRT: Insuffisance rénale terminale

TFG : taux de filtration glomérulaire

CKD : Chronic kidney disease

MRC : Maladie renal chronique

IRC: insuffisance renale chronique

PM: Poids moleculaire

EPO : érythropoïétine

Liste des tableaux

Tableau 1 : résultats d'identification API 20e chez les patients IRC	17
Tableau 2 : Résultat de l'identification de galerie API20e des personnes saines.....	18

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de l'arbre phylogénétique des bactéries résidant dans le côlon montrant l'abondance relative des phyla majoritaires du microbiote intestinal humain. Entre parenthèse, la proportion des différents phyla dans le microbiote intestinal total est précisée. Les groupes, genres et espèces bactériennes qui peuvent être importants pour la santé humaine sont indiqués	2
Figure 2 : le tube digestif humain.....	4
Figure 3 : l'intestin grêle	5
Figure 4 : Appareil urinaire chez l'homme	9
Figure 5 : galerie API20e	14
Figure 6 : interprétation de galerie Api 20E.....	15
Figure 7 : Graphique montrant les résultats obtenus après culture bactérienne	16
Figure 8 : Résultat obtenue de l'identification API20e chez les personnes saines.....	18
Figure 9 : Graphique comparatif entre les souches isolées chez les IRT et personnes saines.....	19

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des Tableaux

Liste des figures

Introduction Générale1

Chapitre I

I Le microbiome intestinal..... 2

I.1 Le microbiote cutané..... 2

I.2 Le microbiote buccal..... 3

I.3 Le microbiote vaginal..... 3

I.4 Le microbiote pulmonaire 3

I.5 Le microbiote intestinal..... 3

II Anatomo-physiologie de tube digestif 4

II.1 Physiologie de l'intestin grêle 5

II.2 Physiologie du colon 6

II.3 Microbiote intestinal et écosystème de tube digestif..... 7

II.3.1 Composition de microbiote intestinal..... 7

II.3.2 Rôle microbiote intestinal 7

III Insuffisance rénal chronique terminal 8

III.1 Rappel anatomique du rein..... 8

III.2 Physiologie du rein..... 9

III.3 Insuffisance rénale chronique..... 10

III.4 L'insuffisance rénal chronique terminale..... 11

III.4.1 Epidémiologie 11

III.4.2 Traitement de l'insuffisance renal terminal..... 11

IV L'insuffisance rénal terminal et microbiote intestinal 12

Chapitre II

I Cadre de l'étude et objectifs 13

II Les prélèvent 13

III Culture bactériologique..... 13

IV Purification des colonies 13

V Identification 13

Table des matières

Chapitre III

I	Population étudiée.....	16
II	Résultats de la culture bactérienne	16
III	Discussion générale.....	20
	Conclusion Générale	23

Bibliographie

Les annexes

Résumé

Introduction

Introduction

La collection de micro-organismes colonisant notre tractus gastro intestinal a été dans un premier temps appelée « flore intestinale ». Le microbiote intestinal humain est composé approximativement de 10^{14} bactéries, auxquelles il faudrait ajouter les virus et les champignons, le tout représentant une masse d'environ un kilogramme. L'identification et l'étude de ces bactéries intestinales sont très difficiles car la grande majorité de ces espèces est anaérobie et seulement 20 % sont cultivables par les méthodes bactériologiques classiques [1].

Le microbiote intestinal étant impliqué dans le métabolisme, de maturation de système immunitaire et d'autres fonctions, nous montre que ce dernier joue un rôle crucial dans la santé humaine. Il est fascinant de contempler la dynamique de la symbiose entre l'organisme hôte et son microbiote. Cette symbiose s'illustre via un processus Co-évolutif d'interactions bénéfiques entre le microbiote et la barrière intestinale [2].

La compréhension de ces relations symbiotiques entre la muqueuse intestinale et son microbiote est effectivement d'importance compte tenu des corrélations qui ont été identifiées entre l'altération de la composition des communautés microbiennes intestinales dite dysbiose.

Il est aujourd'hui clairement établi que le microbiote intestinal joue un rôle dans certaines pathologies du système digestif (cancer colorectal, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) mais également dans les cas d'obésité et l'insuffisance rénale chronique.

Des études récentes démontrent l'existence d'une relation entre le rein et le microbiote intestinal, parfois appelée « axe intestin-rein ». Les patients souffrant de maladie rénale chronique (MRC) ont une composition altérée du microbiote intestinal, certaines études montrent qu'une éventuelle relation existe entre ce microbiote et l'insuffisance rénale chronique terminal.

C'est dans cette optique que nous avons entamé le travail suivant, afin de vérifier et de comparer la composante du microbiote cultivable entre les patients atteints d'IRC et des personnes en bonne santé comme témoins. En d'autres termes ; existe-t-il un lien entre le microbiote intestinal et l'IRC ?

Chapitre I :
Partie bibliographique

I Le microbiome intestinal

Un microbiote est l'ensemble des micro-organismes – bactéries, virus, parasites et champignons non pathogènes, dits commensaux – qui vivent dans un environnement spécifique. Dans l'organisme, le microbiote intestinal est le plus « peuplé » d'entre eux, abritant 10^{12} à 10^{14} micro-organismes. Il est principalement localisé dans l'intestin grêle et le côlon, réparti entre la lumière du tube digestif et le biofilm protecteur formé par le mucus intestinal qui recouvre sa paroi intérieure. L'acidité gastrique n'étant pas favorable à la présence de la plupart des micro-organismes, l'estomac héberge cent millions de fois moins de bactéries commensales que le côlon [3].

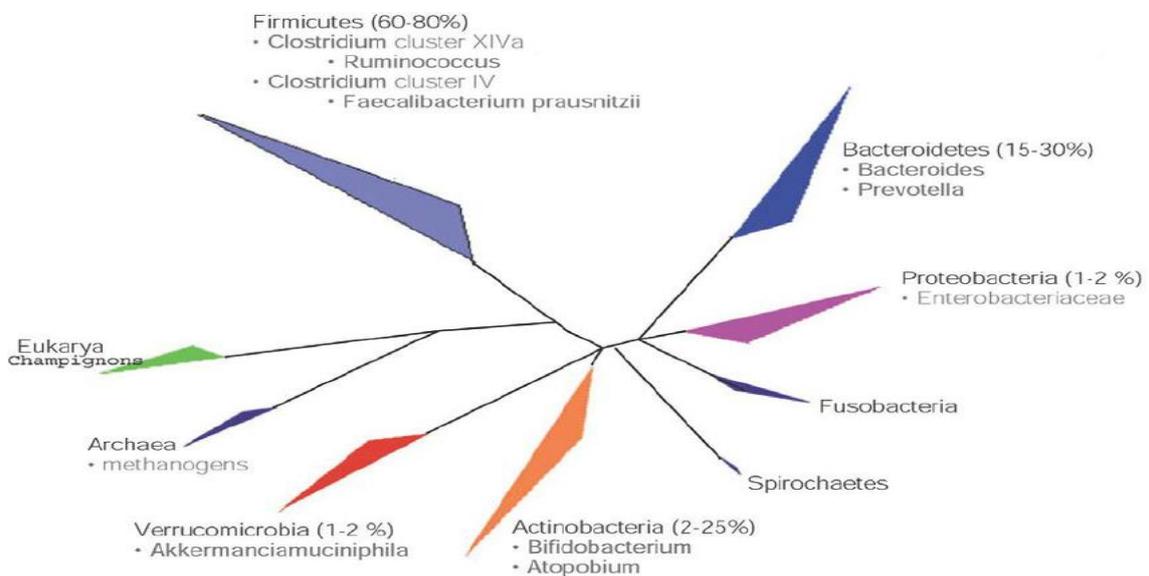


Figure 1 : Représentation schématisée de l'arbre phylogénétique des bactéries résidant dans le côlon montrant l'abondance relative des phyla majoritaires du microbiote intestinal humain. Entre parenthèse, la proportion des différents phyla dans le microbiote intestinal total est précisée. Les groupes, genres et espèces bactériennes qui peuvent être importants pour la santé humaine sont indiqués

Il existe plusieurs types de microbiote dans notre organisme :

I.1 Le microbiote cutané

Le microbiote cutané peut varier chez une même personne selon son âge, son état de santé, l'humidité et la température de l'air. L'utilisation de produits cosmétiques peut aussi le modifier. Le microbiote cutané est présent dans les trois couches de l'épiderme : épiderme, derme, hypoderme. La flore cutanée joue plusieurs rôles. En occupant l'espace,

elle empêche l'installation de micro-organismes pathogènes. Elle peut aussi synthétiser des molécules toxiques pour les espèces pathogènes.

I.2 Le microbiote buccal

À l'instar des autres microbiotes, le microbiote buccal n'est pas stable et peut varier, notamment en fonction de notre hygiène buccale et de notre alimentation. Comme le microbiote cutané, le microbiote buccal occupe l'espace pour défendre la bouche contre les agents pathogènes. Une dysbiose, c'est-à-dire une rupture de l'équilibre du microbiote buccal, peut entraîner la survenue de caries, de gingivites ou de parodontites.

I.3 Le microbiote vaginal

Le microbiote vaginal est majoritairement composé de lactobacilles. Leur rôle est de stimuler le système immunitaire local. Celui-ci forme un film, une sorte de bouclier protecteur contre les infections. Il évolue selon le moment du cycle et selon les périodes de la vie (puberté, ménopause).

I.4 Le microbiote pulmonaire

Le microbiote pulmonaire est le moins connu des microbiotes, en partie car il est difficile d'accès. Il est beaucoup moins dense que les autres microbiotes mais, chez les individus sains, il est extrêmement varié. Ses fonctions sont essentielles. Il joue un rôle barrière contre les pathogènes. Il stimule le système immunitaire pulmonaire. Il intervient dans la tolérance aux allergènes et joue un rôle dans la morphologie des poumons.

I.5 Le microbiote intestinal

Des micro-organismes, principalement des bactéries, qui habitent le tube digestif humain. Ces micro-organismes résident principalement dans le côlon, mais ils sont également présents dans l'intestin grêle. Le microbiote intestinal joue un rôle crucial dans de nombreux aspects de la santé humaine, notamment la digestion des aliments, la régulation du système immunitaire, la synthèse de certaines vitamines, la protection contre les agents pathogènes, et même l'influence sur le comportement et le métabolisme. Un équilibre sain du microbiote intestinal est essentiel pour maintenir une bonne santé digestive et générale [4].

II Anatomio-physiologie de tube digestif

Le tube digestif, cette merveille de la nature, est un orchestre parfaitement réglé, où chaque organe joue sa partition avec précision. Commençons notre exploration anatomique, en découvrant comment chaque segment contribue à la symphonie de la digestion.

C'est le plus dense des microbiotes. Il se situe principalement au niveau de l'intestin grêle et du côlon. Il y a aussi quelques micro-organismes au niveau de l'estomac. Ce microbiote se nourrit de notre alimentation, notamment de fibres alimentaires. Le microbiote intestinal intervient dans de très nombreuses fonctions

L'appareil digestif s'étend sur environ neuf mètres à partir de la bouche jusqu'à l'anus et est divisé en différentes parties. Chaque partie a un rôle spécifique. La dernière étape est l'élimination des matières fécales.

L'appareil gastro-intestinal est composé de :

- La bouche
- L'œsophage
- L'estomac
- L'intestin grêle : jéjunum et & iléon
- Le gros intestin : côlon
- Le rectum
- L'anus

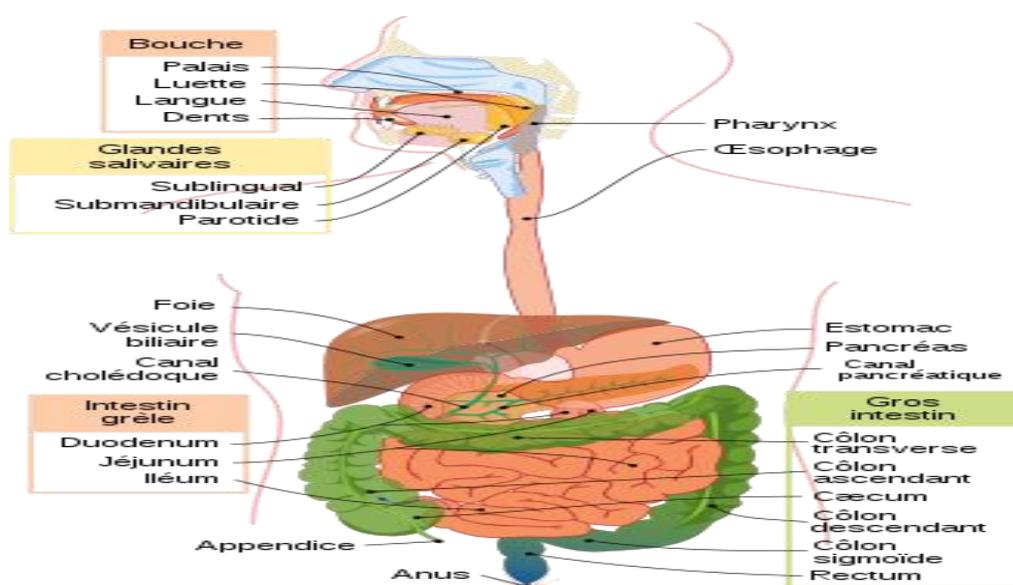


Figure 2 : le tube digestif humain

II.1 Physiologie de l'intestin grêle

Un certain nombre d'organes fonctionnent en parallèle de l'appareil digestif. Ces derniers produisent des liquides et des enzymes aidant la digestion :

- Les glandes salivaires dans la bouche
- Les sucs gastriques dans l'estomac
- Le foie et la vésicule biliaire
- Le pancréas

L'intestin grêle mesure 5 à 7 mètres de long chez l'adulte. Il est divisé en trois parties principales :

- Le duodénum
- Le jéjunum
- L'iléon

Le jéjunum et l'iléon sont reliés à la paroi abdominale par le mésentère. Le mésentère contient des artères, des veines et des vaisseaux lymphatiques responsables du transport de l'oxygène et des nutriments de la lumière de l'intestin grêle vers le sang et inversement.

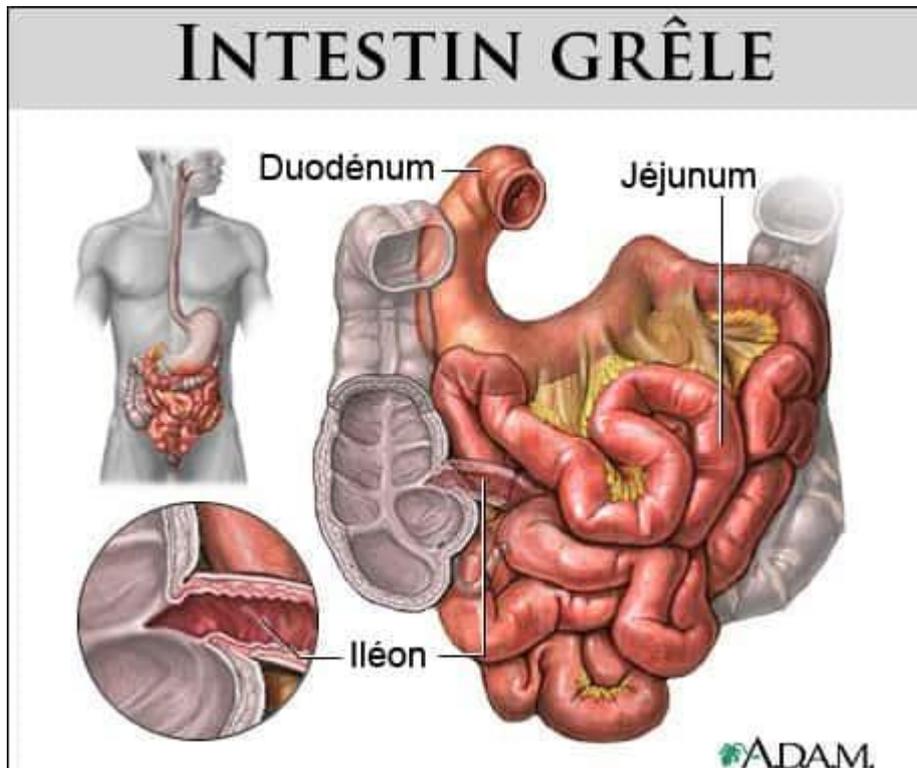


Figure 3 : l'intestin grêle

Le gros intestin mesure 1 à 2 mètres de long chez l'adulte. Il est divisé en six parties :

- Le côlon ascendant

- Le côlon transverse
- Le côlon descendant
- Le côlon sigmoïde en forme de S
- Le rectum : partie terminale de l'appareil digestif. Les selles sont recueillies dans l'ampoule rectale. Lorsque l'ampoule est pleine, l'envie d'aller à la selle se fait ressentir
- L'anus : orifice terminal de l'appareil digestif

L'intestin grêle est composé de 4 enveloppes superposées : la muqueuse, la sous-muqueuse, une couche externe constituée de fibres musculaires et enfin la séreuse. La surface d'échange entre le contenu luminal et les cellules qui constituent la muqueuse, les entérocytes, est très importante du fait de ses nombreux replis qui présentent eux-mêmes des villosités (c'est-à-dire des reliefs en forme de doigts de gant) et des microvillosités.

II.2 Physiologie du colon

Absorption d'eau et d'électrolytes : L'une des principales fonctions du côlon est d'absorber l'eau et les électrolytes des matières non digérées qui lui parviennent depuis l'intestin grêle. Cette absorption réduit le contenu liquide des selles, les rendant plus solides.

Formation des selles : Le côlon est responsable de la formation des selles à partir des déchets alimentaires non absorbés, des cellules intestinales mortes, des bactéries et du mucus. Pendant que les matières traversent le côlon, l'eau est absorbée, concentrant les déchets et formant des selles.

Fermentation des fibres alimentaires : Les fibres alimentaires non digestibles par les enzymes humaines atteignent le côlon où elles sont fermentées par des bactéries bénéfiques. Cette fermentation produit des acides gras à chaîne courte, tels que l'acétate, le propionate et le butyrate, qui sont utilisés comme source d'énergie par les cellules de la muqueuse intestinale et jouent un rôle dans la santé intestinale.

Stockage des matières fécales : Le côlon agit comme un réservoir de stockage temporaire pour les selles avant leur élimination du corps. Il peut étirer et se contracter pour accommoder différentes quantités de matières fécales, permettant un contrôle volontaire sur le processus d'élimination.

Équilibre de la flore intestinale : Le côlon héberge une grande population de bactéries intestinales bénéfiques, appelée microbiote intestinal, qui joue un rôle crucial dans la santé digestive et générale. Ces bactéries aident à décomposer certains composés, synthétiser des

vitamines, maintenir l'intégrité de la paroi intestinale et fournir une protection contre les pathogènes.

Élimination des déchets : Une fois que les selles sont formées dans le côlon, elles sont propulsées vers le rectum par des contractions musculaires appelées péristaltisme. Lorsque le rectum est suffisamment distendu, il déclenche le réflexe de défécation, permettant l'élimination contrôlée des selles à travers l'anus.

II.3 Microbiote intestinal et écosystème de tube digestif

II.3.1 Composition de microbiote intestinal

Bien qu'à chacun son microbiote ; la caractérisation de l'ensemble des génomes microbiens retrouvés dans l'intestin (le metagénome intestinal) par séquençage haut débit a permis d'identifier un millier d'espèces différentes, dont une large majorité correspond à des bactéries.

Il est apparu qu'à l'instar de l'empreinte digitale, le microbiote intestinal est propre à chaque individu : il est unique sur le plan qualitatif et quantitatif. Parmi les 160 espèces de bactéries que comporte en moyenne le microbiote d'un individu sain, seule la moitié est communément retrouvée d'un individu à l'autre. Il existerait cependant un socle commun de 15 à 20 espèces présentes chez tous les êtres humains, en charge des fonctions essentielles du microbiote.

Par ailleurs, bien que cela soit discuté, il semble que l'on puisse distinguer des groupes de la population selon la nature des espèces qui prédominent dans leur microbiote.

Il existe 3 sous catégories :

- La flore dominante, composée à 90 % de *Firmicutes* et de *Bacteroidetes*;
- La flore sous-dominante, pouvant comporter des espèces pathogènes dont la prolifération est limitée par la flore dominante ;
- Une flore de passage, provenant de l'alimentation.

II.3.2 Rôle microbiote intestinal

- Effet de barrière vis-à-vis des pathogènes Compétition métabolique, occupation de sites d'adhésion, modification de la sécrétion du mucus, protection cellulaire (lymphocytes intra- épithéliaux) et humorale (IgA) envers les virus, bactéries et parasites pathogènes.

- Fonction trophique sur la muqueuse, notamment par la production d'acides gras à chaînes courtes.
- Maturation immunitaire Effet protecteur de l'épithélium intestinal qui empêche l'induction de réponses immunitaires envers les aliments et les souches bactériennes commensales. (Tolérance orale).
- Actions métaboliques Digestion des aliments Production de gaz et d'acide gras à chaînes courtes Production de vitamines (K, folates) Métabolisation des acides biliaires, d'hormones, de médicaments et xénobiotiques divers [5].

III Insuffisance rénale chronique terminal

Les reins sont 2 organes pairs et symétriquement situés dans le rétro-péritoine, de part et d'autre de la colonne vertébrale (rachis) dans des cavités nommées fosses lombaires.

III.1 Rappel anatomique du rein

Les reins sont situés bien au-dessus du bas du dos se sont localisés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale sous les dernières côtes. Chaque rein mesure environ 11 cm de long et est relié à l'artère aorte et à la veine cave inférieure par l'artère et la veine rénale.

Chaque rein pèse environ 150 g. Le rein comporte 2 régions bien distinctes : le cortex où se trouvent tous les glomérules et la médullaire dont l'extrémité interne ou papille se projette dans la cavité excrétrice (petit calice). L'urine sort du tube collecteur et s'écoule dans les calices, le bassinet puis l'uretère. Les 2 uretères s'abouchent dans la vessie après un trajet sous muqueux qui assure un dispositif anti-reflux

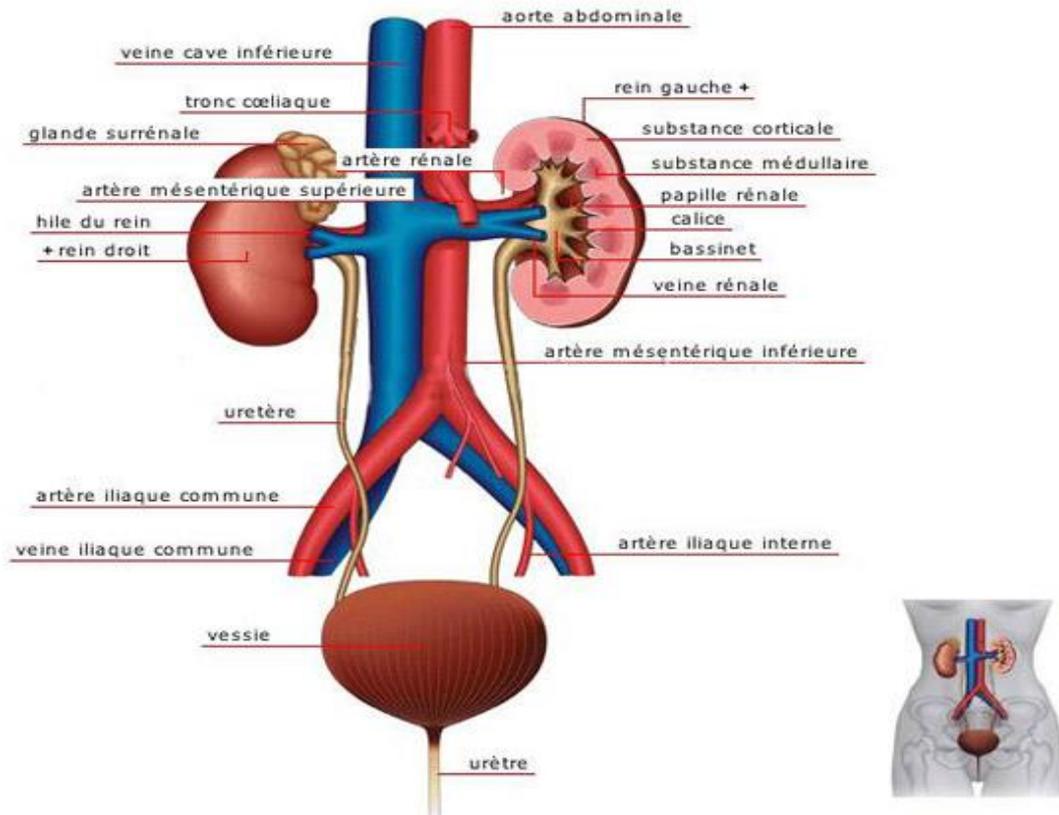


Figure 4 : Appareil urinaire chez l'homme

Le néphron = unité fonctionnelle du rein. Environ 1 million de néphrons par rein
 Chaque néphron comporte un glomérule renfermant un peloton de capillaires limités par une membrane basale et entourée de cellules épithéliales urinaires appelées podocytes. Cet ensemble est entouré de la capsule de Bowman

III.2 Physiologie du rein

La physiologie rénale est essentielle pour comprendre comment les reins contribuent à l'équilibre interne de l'organisme. En maintenant l'équilibre hydrique, en éliminant les déchets et en régulant la pression artérielle, les reins jouent un rôle indispensable dans la santé globale du corps. Des dysfonctionnements rénaux peuvent entraîner de graves complications, soulignant l'importance de ces organes dans la physiologie humaine.

Les fonctions rénales. Deux principales fonctions de rein :

Fonction exocrine du rein :

Le rein assure le maintien des volumes des fluides de l'organisme (eau et compartiments hydriques). Le rein assure le maintien du bilan (quantité) et de la composition (concentration) ionique d'un grand nombre d'ions mono- et divalents Na, K, Ca, Mg... Cette fonction, dite homéostatique, est

assurée par la filtration glomérulaire et les modifications tubulaires, celles-ci étant régulées. Le rein assure l'excrétion des déchets métaboliques terminaux endogènes, tels que l'urée, la créatinine, l'acide urique et l'oxalate. Le rein assure aussi l'élimination des toxines et médicaments. Le mécanisme d'élimination varie selon la substance considérée : filtration glomérulaire et modifications tubulaires.

Fonction endocrine du rein

Le rein représente un véritable organe endocrine capable de synthèse et de sécrétion d'un grand nombre d'hormones et de médiateurs autacoïdes. Le rein assure un rôle important dans la régulation endocrine du volume extracellulaire et de la pression artérielle. La rénine est une hormone exclusivement synthétisée dans le rein ; elle est responsable de l'étape limitante de l'activation du système rénine-angiotensines-aldostérone aboutissant à la production d'un vasoconstricteur puissant l'angiotensine II, celle-ci étant également la stimuline principale de l'aldostérone, hormone impliquée dans la rétention du sel et l'excrétion du potassium. Les prostaglandines rénales jouent un rôle important dans l'adaptation de la microcirculation rénale en cas d'hypovolémie et dans l'excrétion rénale du sodium. Le rein assure la synthèse et la libération de l'érythropoïétine. L'érythropoïétine est la principale hormone stimulant la production médullaire des érythrocytes et régulant la masse globulaire. La carence relative en EPO explique l'anémie de l'insuffisance rénale chronique. Le rein assure également la régulation hormonale du métabolisme minéral en assurant la formation de calcitriol (1 α -25 dihydroxy cholécalférol); la 1 α hydroxylase est une enzyme présente exclusivement au niveau des cellules tubulaires proximales qui assure la production de l'hormone active à partir du 25-OH-vit D3. Le rein joue un rôle très important dans le catabolisme des protéines de petit poids moléculaire, en particulier des hormones polypeptidiques. Ces protéines de petit PM (< 40 KD) sont librement filtrées par le glomérule, réabsorbées à plus de 99% et catabolisées dans le tube proximal. Cette importante fonction tubulaire permet d'une part de limiter la perte urinaire de nutriments azotés et d'autre part de réguler efficacement la concentration plasmatique de ces protéines et hormones polypeptidiques [11].

III.3 Insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est la résultante de la perte progressive de fonctions de reins. Elle est la conséquence commune de la destruction irréversible du

parenchyme rénal au cours de maladies très diverses affectant les reins ou les voies excrétrices. Elle se traduit par une altération biologique et de troubles clinique décrits sous le terme (d'urémie chronique). Les principales causes de l'IRC sont :

- ✓ Néphropathie vasculaire (23%) [due à l'hypertension artérielle]
- ✓ Néphropathie diabétique (21%)
- ✓ Glomérulonéphrites chronique (20%)
- ✓ Néphropathie interstitielle chronique (14%) [lésion du tissu interstitiel]
- ✓ Maladies héréditaires (9%) [la maladie polykystique]
- ✓ Autres indéterminées (7%) [6].

III.4 L'insuffisance rénale chronique terminale

L'IRCT est une condition médicale (le stade final d'IRC) dans laquelle les reins ont perdu de manière irréversible la majeure partie de leur capacité à fonctionner. Cette perte de fonction rénale est souvent mesurée par le taux de filtration glomérulaire (TFG), et l'IRCT est généralement définie comme un Taux de filtration glomérulaire (TFG) inférieur à 15 ml/min/1,73 m².

Le taux de filtration glomérulaire (TFG) est une mesure de la fonction rénale, qui estime la quantité de sang que les glomérules, les structures de filtration des reins, sont capables de filtrer par unité de temps. Le TFG est exprimé en millilitres par minute (ml/min) et est généralement ajusté pour une surface corporelle standard de 1,73 mètres carrés (ml/min/1,73 m²) [7].

III.4.1 Epidémiologie

En Algérie, la prévalence de l'insuffisance rénale chronique est en constante augmentation. D'après Graba et ses collaborateurs, plus de 3500 nouveaux cas sont enregistrés chaque année, en raison du vieillissement de la population et de l'augmentation des pathologies métaboliques qui endommagent les reins, particulièrement le diabète et l'hypertension artérielle

III.4.2 Traitement de l'insuffisance rénale terminale

Le choix du traitement dépend de plusieurs facteurs, y compris l'état de santé général du patient, ses préférences personnelles, et la disponibilité des options de traitement. Une approche multidisciplinaire impliquant néphrologues, infirmières

spécialisées, diététiciens, et autres professionnels de santé est essentielle pour offrir les meilleurs soins possibles aux patients atteints d'insuffisance rénale terminale. Les traitements principaux pour l'IRT incluent la dialyse et la transplantation rénale.

IV L'insuffisance rénal terminal et microbiote intestinal

L'IRC se caractérise par une rétention dans l'organisme de toxines urémiques qui ne peuvent plus être éliminées hors de l'organisme par les reins. Ce processus induit l'apparition de plusieurs pathologies associées à l'IRC et regroupées sous le terme de syndrome urémique. Il s'agit notamment de pathologies cardio-vasculaires qui apparaissent très tôt, avant même que la filtration glomérulaire soit insuffisante pour assurer la survie de l'organisme. Les patients souffrent également de pathologies osseuses, de dénutrition, d'anémie et de diabète. Enfin, on observe également des altérations de la fonction et de la structure de l'intestin, cette dernière étant altérée et modifiée induit notamment une augmentation des bactéries pétrifiantes et une augmentation de bactérie à l'origine de productions des toxines urémique.

Des études récentes démontrent l'existence d'une relation entre le rein et le microbiote intestinal, parfois appelée «axe intestin-rein». Les patients souffrant de maladie rénale chronique (MRC) ont une composition altérée du microbiote intestinal. Ayant un mode de vie spécifique les patients atteints d'IRT suivent un régime alimentaire pauvre en sel, phosphore et de potassium, limitant la consommation des protéines animales et souvent sous traitement d'exalate, d'OPO et de fer, ce qui induit une modification de la flore intestinale [8].

Chapitre II : Partie pratique

I Cadre de l'étude et objectifs

Ce travail a porté sur l'étude de microbiote des patients souffrant d'insuffisance rénale chronique terminal ainsi que le microbiote des personnes saines à partir des selles des deux sujets. La période de prélèvement s'est étalée sur deux mois, d'Avril à Juin 2024

II Les prélèvements

Les prélèvements ont été effectués au niveau de service d'hémodialyse au sein de l'EPH privé le rameau d'olivier pour les personnes atteintes d'IRT. D'autres prélèvements ont été réalisés chez des personnes ne présentant aucune maladie connue.

Echantillons de selles dans un pot à coproculture pour les deux sujets récupérés et acheminés au laboratoire de microbiologie à l'université Targa Ouzemmour Bejaia.

III Culture bactériologique

Tous les prélèvements réalisés ont fait l'objet de culture dans le but d'isoler et d'identifier les germes cultivables, la méthodologie utilisée est la suivante :

- 1- A partir du prélèvement, environ 10 g ont été prélevés puis dilués dans 0 ml avec de l'eau physiologique stérile.
- 2- A partir de la dilution et à l'aide d'une anse en plastique à usage unique, des boîtes de gélose chromagar orientation ont été ensemencées par stries.
- 3- Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24H

IV Purification des colonies

Les boîtes incubées ont donné plusieurs colonies différentes. Une étape de purification a été effectuée afin de sélectionner individuellement chaque type, selon la couleur sur la gélose chromagar

V Identification

L'identification a été orientée par la couleur des colonies sur chromagar ainsi que par la coloration Gram. L'identification a été confirmée par la réalisation de galerie API 20^E et 20 Staph comme suit :

La galerie API 20 comporte 20 micro-tubes contenant des substrats sous forme déshydratée permettant de réaliser des tests biochimiques miniaturisés. Cette méthode d'identification est organisée sur 4 étapes.



Figure 5 : galerie API20e

➤ **Préparation de la galerie :**

- ✓ Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau physiologique dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- ✓ Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- ✓ Déposer la galerie dans la boîte d'incubation

➤ **Préparation de l'inoculum :**

- ✓ Remplir le tube à essai stérile avec de l'eau physiologique stérile
- ✓ A partir d'une culture fraîche, prélever à l'aide d'une anse en plastique une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- ✓ Réaliser une suspension bactérienne en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu

➤ **Ensemencement de la galerie :**

- ✓ Remplir tubes et cupules des tests : CIT, VP, GEL avec la suspension bactérienne en utilisant la micropipette ayant servi au prélèvement.
- ✓ Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- ✓ Créer une anaérobiose dans les tests ; ADH, LDC, ODC, URE, H2S en remplissant leurs cupules d'huile d'émersion.
- ✓ Refermer la boîte et la placer dans un incubateur à 37 °C pendant 18 à 24 heures

➤ **Lecture de la galerie**

- ✓ Après 24 heures à 37° C, la lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture.
- ✓ Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées.
- ✓ Identification des souches sur le site internet dédié à cet effet par le producteur de ces galeries (<https://apiweb.biomerieux.com/login>)

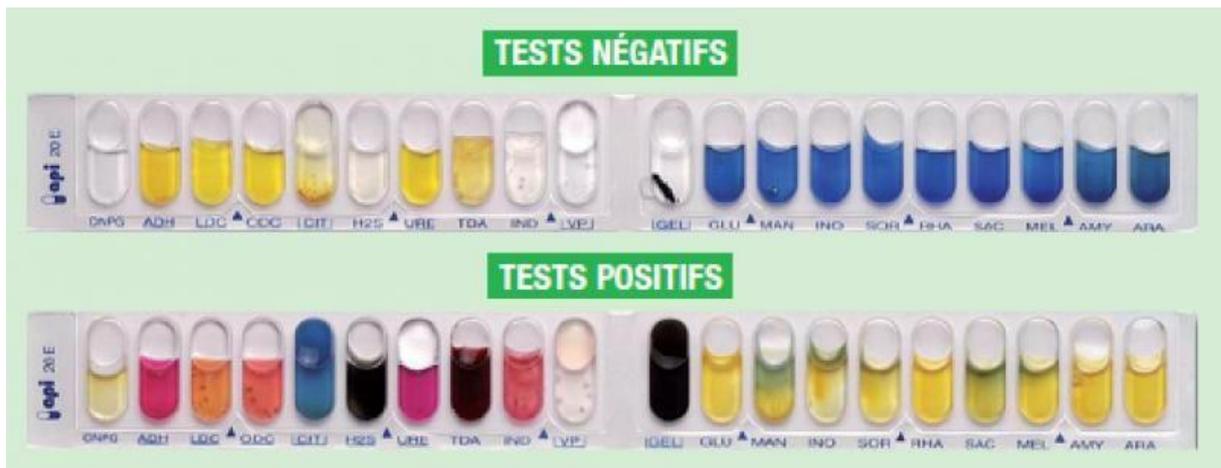


Figure 6 : interprétation de galerie Api 20E

Matériel utilisé

Le matériel, les milieux de cultures, les réactifs, les colorants et les appareillages utilisés dans la partie expérimentale sont rapportés dans les annexes.

Chapitre III :
Résultats et discussion

Résultats et Discussion

I Population étudiée

Au total, 18 patients souffrant d'IRT et 7 personnes saines ont été prélevés durant la période d'étude.

II Résultats de la culture bactérienne

Chaque prélèvement a fait l'objet d'une culture sur la gélose chromagar orientation. Les colonies sélectionnées ont été identifiées par coloration de Gram et Galerie API. Pour certain patients, la culture bactérienne a donné lieu à une seule colonie bien distincte par prélèvement. Cependant, d'autres prélèvements ont permis l'isolement de deux à trois colonies différentes par patient, les résultats sont donnés par le Tableau II.

On constate que l'espèce dominante est *Klebsiela pneumoniae* présentant près de 31% des espèces isolée chez les patients avec IRT, suivie par *E. coli* présentant 24,17%. Alors que *Serratia marcescens* et *Pasteurella pneumotropica* repensent, respectivement, 20,67 et 13,8%

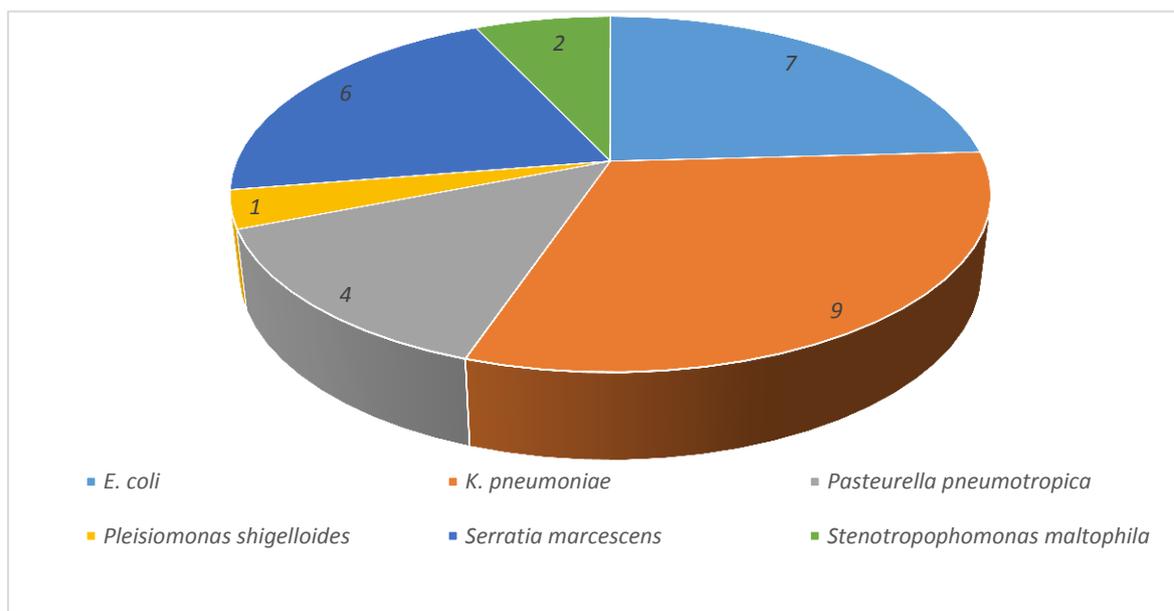


Figure 7 : Graphique montrant les résultats obtenus après culture bactérienne

Tableau 1 : résultats d'identification API 20e chez les patients IRC

Patient	Code	Couleur des colonies	Identification par galerie API20E
1	P04C1	Bleu Turquoise	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	P04C3	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
2	P05C2	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
	P05C1	Rose	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
	P05C3	P4c	<i>Pleisiomonas shigelloides</i>
3	P06C1	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
	P06C2	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
4	P07C1	Bleu Turquoise	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	P07C2	Rose	<i>E. coli</i>
	P07C3	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
5	P08C1	Rose Foncé	<i>Serratia marcescens</i>
	P08C2	Rose Clair	<i>E. coli</i>
6	P09C1	Rose	<i>E. coli</i>
7	P10C1	Bleu Métallique + Rose	<i>Serratia marcescens</i>
	P10C2	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
8	P11C1	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
9	P12C1	Rose	<i>E. coli</i>
10	P13C1	Bleu Turquoise	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
	P13C2	Rose	<i>E. coli</i>
11	P14C1	Rose	<i>E. coli</i>
	P14C2	Bleu Métallique + Rose	<i>Serratia marcescens</i>
12	P15C1	Bleu Métallique + Rose	<i>Serratia marcescens</i>
	P15C2	Rose	<i>E. coli</i>
13	P16C1	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
	P16C2	Rose	<i>Serratia marcescens</i>
14	P17C1	Bleu Turquoise	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
	P17C2	Bleu Métallique	<i>K. pneumoniae</i>
15	P18C1	Rose	<i>Serratia marcescens</i>
	P18C2	Bleu Turquoise	<i>Pasteurella pneumotropica</i>

Pour les cas contrôle (personnes saines), deux colonies par prélèvement ont été isolées puis identifiées comme précédemment. Les résultats d'identification sont listés dans le tableau II

Dans ces cas contrôles, *K. pneumoniae* ne représente que près de 7% des espèces identifiées. De plus, d'autres espèces non décrites chez les patients IRC sont rapportées, comme *Vibrio fluvialis*, *S. epidermidis* et autres (figure suivante)

Tableau 2 : Résultat de l'identification de galerie API20e des personnes saines

Contrôle	Code	Couleur des colonie	Identification par galerie API20E
1	C01C1	Bleu métallique	<i>Vibrio fluvialis</i>
	C01C2	Rose	<i>E. coli</i>
2	C02C1	Bleu turquoise	<i>K. pneumoniae</i>
	C02C2	Rose	<i>E. coli</i>
3	C03C1	Rose	<i>E. coli</i>
	C03C2	Rose	<i>Enterobacter interdmedius</i>
4	C04C1	Beu métallique et rose	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	C04C2	Blanc	<i>S. epidermidis</i>
5	C05C1	Rose	<i>Serratia plymothyca</i>
	C05C2	Rose-bleu métallique	<i>Enterobacter interdmedius</i>
6	C06C1	Rose-bleu métallique	<i>E.coli</i>
	C06C2	Bleu métallique	<i>Serratia plymothyca</i>
7	C07C1	Rose	<i>E.coli</i>
	C07C2	Bleu turquoise	<i>Vibrio fluvialis</i>

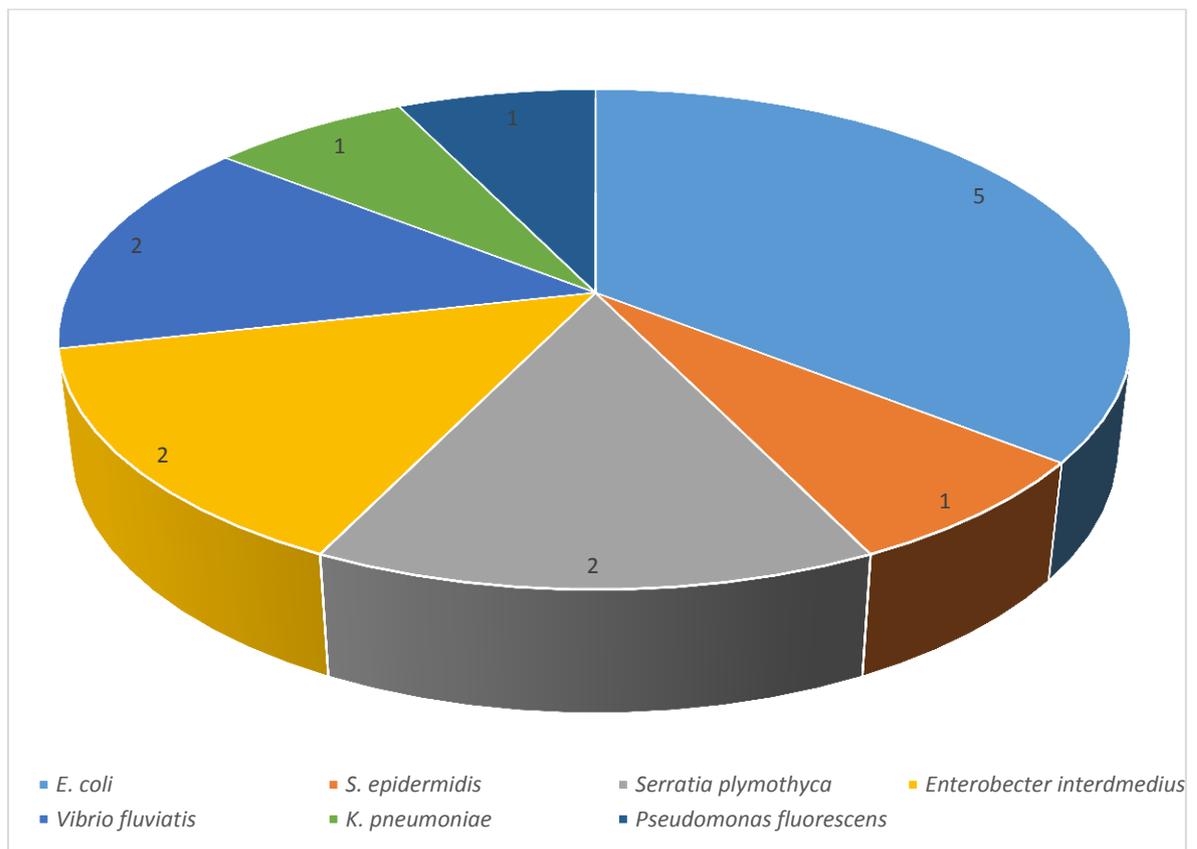


Figure 8 : Résultat obtenue de l'identification API20e chez les personnes saines

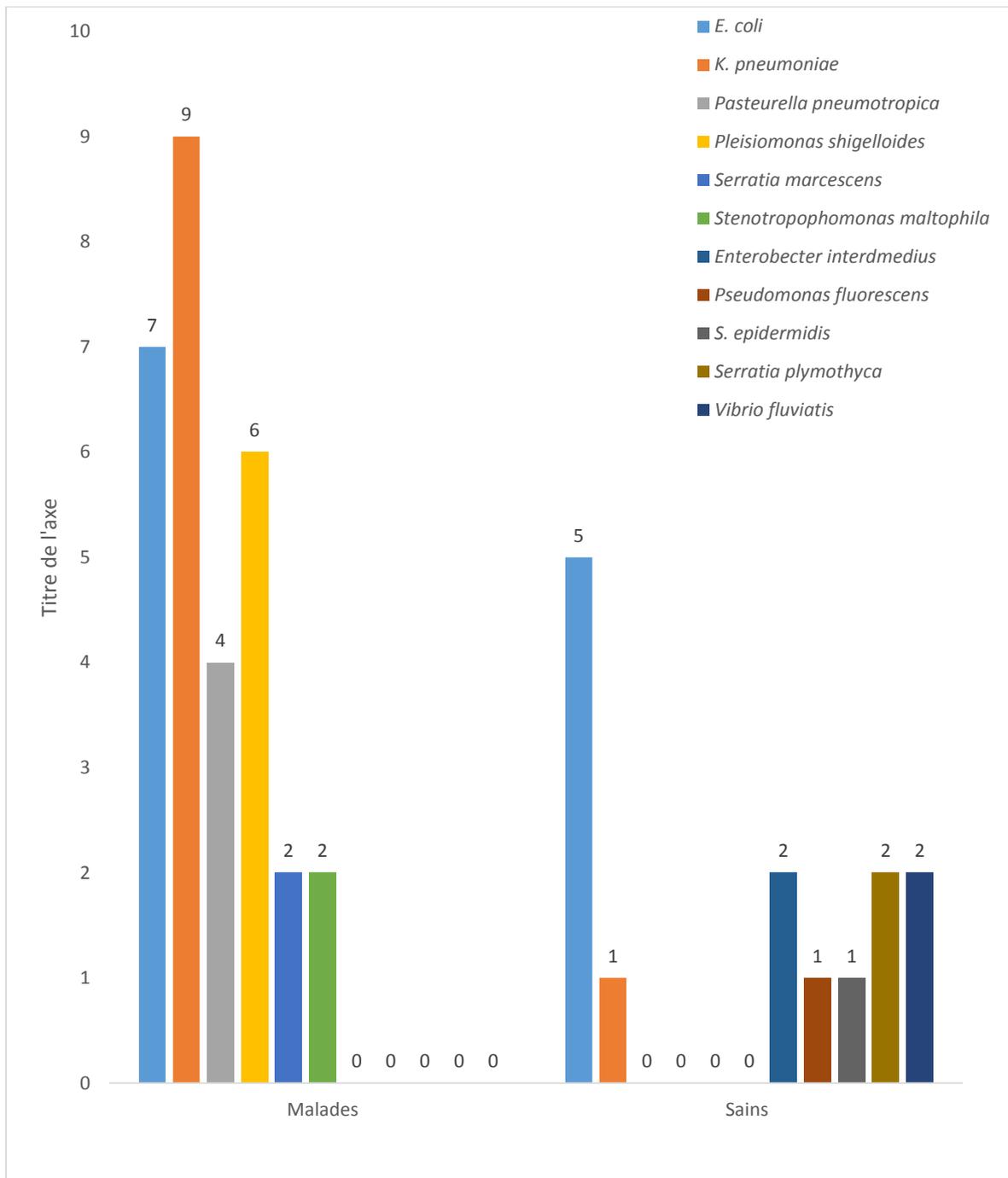


Figure 9 : Graphique comparatif entre les souches isolées chez les IRT et personnes saines

III Discussion générale

Les maladies rénales sont diverses et variées et l'insuffisance rénale chronique (IRC) est l'une des maladies les plus fréquentes. L'IRC est maladie qui a des conséquences socio-économiques considérables du fait que les soins sont onéreux et qu'ils nécessitent une prise en charge complexe. Cette maladie est à l'origine des coûts faramineux qu'ils soient directs, indirects. A titre d'exemple, l'impact financier de l'IRC est d'environ 48 milliards de dollars par an rien qu'aux États-Unis.

En Algérie, la prévalence de l'insuffisance rénale chronique est en constante augmentation. De nouveaux cas sont enregistrés chaque année avec plus de 3500 nouveaux cas., les maladies rénales chroniques affectent plus de 500 millions de personnes dans le monde, soit 10% de la population mondiale adulte. Il faut s'attendre malheureusement à ce que cette situation s'aggrave encore [9]

L'insuffisance rénale chronique est toujours la conséquence d'une maladie qui détériore progressivement le fonctionnement des reins. Deux causes principales de l'insuffisance rénale chronique sont le diabète et l'hypertension artérielle. Ces deux maladies endommagent les petits vaisseaux sanguins qui amènent le sang vers les cellules du rein chargées de l'élimination de l'eau et des déchets du métabolisme. Privées d'oxygène, ces cellules meurent et leur nombre diminue progressivement, ce qui réduit la capacité de filtration globale des reins.

D'autres maladies agissent de manière similaire à perturbant la microcirculation sanguine dans les reins : les maladies auto-immunes (par exemple, le lupus, la polyarthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn, la maladie de Berger, le purpura rhumatoïde, etc.), ou l'excès de cholestérol sanguin. L'obésité et le tabagisme, les maladies héréditaire et génétique dont la maladie polykystique des reins ou les infections urinaires hautes (pyélonéphrites) à répétition. Enfin, dans certains cas, l'insuffisance rénale chronique peut être liée à la prise au long court de médicaments toxiques pour les reins, par exemple certaines chimiothérapies anticancéreuses, certains antibiotiques, certains médicaments contre l'hypertension artérielle, ainsi que le lithium (dans le traitement des troubles bipolaires), ainsi que le changement de régime alimentaire en réduisant le rapport en protéines, de sodium et faire attention au consommation du phosphore et du potassium.

Ces dernières années, une attention croissante a été portée au rôle du microbiome intestinal dans la MRC.

Dans cette étude, nous avons rapporté certaines différences entre les patients avec IRT et les témoins. Premièrement, l'abondance de *K. pneumoniae* chez les malades comparés aux témoins. Ce résultat laisse à suggérer un hypothétique rôle de cette bactérie dans l'évolution de la maladie. D'autre part, la présence de certaines espèces bactériennes chez les témoins et son absence chez les malades, peut être interprétée comme marqueur protecteur chez les personnes saines.

Les résultats des études confirment que la composition et les fonctions de la communauté microbienne intestinale sont altérées dans les maladies rénales chroniques [5–7]. De nombreuses études ont indiqué que la progression de l'IRC jusqu'au stade terminal [12]. L'insuffisance rénale progressive entraîne des concentrations plus élevées d'urée dans le sang. L'exposition des bactéries intestinales à l'urée par les sécrétions gastro-intestinales entraîne la conversion de l'urée en ammoniac via uréase bactérienne [12].

Les résultats des études confirment que la composition et les fonctions de la communauté microbienne intestinale sont altérées dans les maladies rénales chroniques [5–7]. De nombreuses études ont indiqué que la progression de l'IRC jusqu'au stade terminal.

Le développement d'une dysbiose du microbiome intestinal chez les patients atteints d'IRC pourrait entraîner une assimilation altérée des protéines, un temps de transit intestinal prolongé, un œdème de la paroi intestinale, une acidose métabolique, un traitement par le fer et une diminution de la consommation de fibres alimentaires. Selon des études, une mauvaise assimilation des protéines dans l'urémie peut contribuer à la malnutrition et est associée à un afflux accru de protéines non digérées dans l'intestin distal, favorisant la prolifération de bactéries protéolytiques et la fermentation microbienne.

Plusieurs études ont suggéré que les microbiotes intestinaux sont modifiés quantitativement et qualitativement chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique (IRC) et d'insuffisance rénale terminale. De plus, chez les patients atteints d'IRC et d'IRT, compte de bactéries anaérobies et aérobies sont considérablement augmentées dans la population microbienne intestinale par rapport aux personnes en bonne santé. *Prevotellaceae* et *Lactobacillaceae* les familles sont diminuées chez les patients atteints d'IRC (16) et le nombre de familles est significativement plus élevé. *Clostridium perfringens* et un nombre inférieur de *Bifidobacteriaceae* sont observées chez les patients hémodialysés [14].

Dans une étude sur l'altération de microbiote intestinal suite à l'IRC, les chercheurs ont réalisé une cohorte de découverte, ils ont ensuite analysé/ plus en détails la composition

taxonomique et les altérations de microbiote intestinal la composition et l'abondance de la communauté.

Cinq phylums dont Protéobactéries, Actinobactéries, et Fusobactéries étaient considérablement enrichis, tandis que quatre phylums, dont Firmicutes, Verrucomicrobies, et Bactéries non classées étaient significativement réduits chez les patients atteints d'IRC par rapport aux témoins sains y compris *Blautia*, *Roseburia*, et *Lachnospira* étaient significativement réduits dans les cas d'IRC par rapport à ceux des témoins sains

D'autre part la liste de 5 phylums et 36 genres était significativement augmentée dans la maladie rénale chronique. Cela suggère que ce sont ces populations présentant des différences d'abondance significatives qui entraînent des modifications significatives dans la composition du microbiome intestinal des MRC. Pendant ce temps, 24 genres étaient dominants dans l'IRC. Parmi eux, Entérobactéries possédant des enzymes formant de l'urée, de l'indole et du p-crésol, tandis que *Haemophilus* et *Klebsiella* production de lipopolysaccharides (LPS), d'IS ((Insulin Sensitizing) étaient les principales toxines urétiques et peuvent être utilisées comme indicateurs de progression de la MRC. La prolifération de taxons microbiens intestinaux possédant ces enzymes peut faciliter la progression de l'IRC en affectant la synthèse des molécules de toxine urémique associées à la progression de l'IRC. De plus, des niveaux élevés de LPS activent la voie NF-KB (des facteurs de transcription clé pour les macrophages M1, régulant, et favorisent la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF-), conduisant à une inflammation systémique et à la progression de l'IRC[15]

Pour conclure dans notre étude nous avons constaté que la diversité microbienne intestinale de l'IRC était significativement réduite par rapport à celle des témoins sains et que la communauté microbienne était significativement différente de celle des témoins sains. Le résultat indique que le microbiome intestinal humain a changé de manière significative, passant d'un état sain au développement d'une maladie rénale chronique. Par rapport aux témoins sains.

Ainsi nous avons analysé et comparé les résultats obtenus des personnes atteintes d'IRT et d'autres personnes saines. Nous avons constaté une abondance des *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *pleisiomonas* et *shigelloides*, d'autre part nous avons constaté l'absence de certaines espèces bactériennes présentes chez les personnes en bonne santé tel que *Pseudomonas fluorescence* et autres.

CONCLUSION GENERALE

Actuellement, aucune étude n'a pu confirmer la corrélation entre ces altérations fonctionnelles et l'IRC, mais leurs altérations significatives du microbiome intestinal de l'IRC suggèrent qu'elles pourraient avoir une signification physiologique importante dans l'apparition et le développement de l'IRC, ce qui est une direction de recherche digne d'intérêt, et une exploration plus approfondie.

De ce point nous pourrions dire que la relation entre le microbiote intestinal en général et les espèces abondantes spécifiquement est multifactoriel et complexe surtout que *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* sont les principales causes d'infection rénale, quand ces dernières ne sont pas traitées adéquatement elles peuvent évoluer vers une néphropathie conduisant à une insuffisance rénale chronique et vu l'évolution silencieuse de cette dernière les patients se trouvent dans un stade final de la maladie (stade 5) de MRC insuffisance rénale terminale .

Bibliographie

Bibliographie

- [1] Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 2012;70:38–44
- [2] Sylvain N, Thomas S et Mathias C, 2013. La dysbiose une nouvelle entité en médecine ? *Med Sci*; 29 : 586–589
- [3] Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. 2018. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*;24 (4):392–400
- [4] Ait-Zenati F, et al. Involvement of the human microbiome in frequent cancers, current knowledge and carcinogenesis mechanisms. *Bull Cancer* (2023), <https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2023.01.022>
- [5] Burcelin R, Chabo C, Blasco-Baque V, Sérino M, Amar J. 2013. Le microbiote intestinal à l'origine de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les maladies métaboliques ? *Med Sci (Paris)* ; 29 :800–6 [
- [6] Bonvalet J.P., 1980, la fonction rénale, acquisition et perspectives p187.
- [7] Antoine B et Moulomguet A. 1976, manuel des maladies de rein et des voies urinaires page 76. Masson Edition, ISBN-13 : 2225434402-978
- [8] Wang X et al. 2020; Aberrant gut microbiota alters host metabolome and impacts renal failure in humans and rodents. *Gut*. 69:2131–2142.
- [09] La société internationale de néphrologie
- [10] Laetitia Koppe et Christophe O. Soulage. 2022. Impact de la nutrition sur le microbiote intestinal dans la maladie rénale chronique Nutrition, gut microbiota and chronic kidney disease. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 57 : 325-335
- [11] Le Rein : <https://www.ifs-i-fas-saverne.fr/wp-content/uploads/2020/02/UE-2.7-S4-Le-rein-4.02.19.pdf>
- [12] Elsa Hoibian. Impact de l'insuffisance rénale chronique et de l'urémie sur la motilité et la perméabilité intestinale. *Sciences agricoles*. Université de Lyon, 2018. Français. ffNNT : 2018LYSEI066
- [13] Hobby GP, Karaduta O, Dusio GF, et al. 2019. Chronic kidney disease and the gut microbiome. *Am J Physiol Renal Physiol*. 316: F1211-F1217.
- [14] Ren Z. et al., 2020. Alteration of the human gut microbiome in chronic kidney disease. *Advanced Science*. 7, 2001936
- [15] Zhigang Ren et al Altérations du microbiome intestinal humain dans les maladies rénales chroniques

Les Annexes

Liste des annexes

Annex01	Boite de Petri double compartiment
Annexe 02	Gélose Chromgar
Annexe 03	Anse en plastique q usage unique
Annexe 04	Boites de coproculture stérile
Annexe 05	Micropipette
Annexe 06	Galerie API20e
Annexe 07	Galerie API20e staph
Annexe 08	Tubes a essaie stériles
Annexe 09	Embout stérile
Annexe 10	Eau physiologique stérile

Résumé :

L'insuffisance rénale terminale (IRT) est la phase finale de la maladie rénale chronique (MRC) où les reins cessent de fonctionner de manière adéquate pour filtrer les déchets et l'excès de liquide du sang. Les patients atteints d'IRT présentent souvent une dysbiose intestinale, caractérisée par une réduction de la diversité microbienne. Cette dernière est liée à l'accumulation de toxines urémiques, à des régimes alimentaires restrictifs, à l'usage d'antibiotiques et à des changements dans le transit intestinal. Dans le but d'étudier les caractéristiques de microbiote intestinal chez les patients atteints d'IRT, nous avons réalisé une étude comparative pendant 3 mois de stage au sein de l'établissement privé « Le Rameau d'Olivier ». Notre travail consistait à étudier la flore digestive chez deux groupes de sujet l'un des patients atteints d'IRT et l'autre de personnes saines, basé sur l'identification de la flore bactérienne. Ce travail nous a permis d'identifier et d'isoler les souches présentes dans les selles des deux groupes afin de les comparer. Une relation étroite entre l'IRT et la dysbiose de microbiote intestinal a été observée. Chez le groupe IRT, une dominance des germes isolés était de 50% pour *Klebsiella pneumoniae* principalement et 38%, 22% des *Pasterella pneumotropica* et *Pleisiomonas shigelloides*, 11% cas de *Serratia marcescens* 11% des *Stenotropophomonas*. Chez le groupe témoin, *Klebsiella pneumoniae* ne représentait que 7%, d'autre part, des espèces autres ont été rapportées, comme *Pseudomonas fluorescence* et *Straphylococcus epidermidis*.

Mot clé : Insuffisance rénal terminal, dysbiose, microbiote intestinal

.....

Abstract:

End-stage renal disease (ESRD) is the final stage of chronic kidney disease (CKD) where the kidneys stop working adequately to filter waste and excess fluid from the blood. Patients with ESRD often present with gut dysbiosis, characterized by reduced microbial diversity. The latter is linked to the accumulation of uremic toxins, restrictive diets, use of antibiotics and changes in intestinal transit. The aim of this study is to characterize the intestinal microbiota in patients with ESRD during a 3-month internship at the private establishment "Le Rameau d'Olivier". Our work consisted of studying the digestive flora in two groups of subjects, one of patients with ESRD and the other of healthy people, based on the identification of the bacterial flora. This work allowed us to identify and isolate the strains present in the stools of the two groups in order to compare them. A close relationship between ESRD and gut microbiota dysbiosis has been observed. In the CKD group, a dominance of isolated germs was 50% for *Klebsiella pneumoniae* mainly and 38%, 22% of *Pasterella pneumotropica* and *Pleisiomonas shigelloides*, 11% cases of *Serratia marcescens* and 11% of *Stenotropophomonas*. In the control group, *Klebsiella pneumoniae* represented only 7%, on the other hand, other species were reported, such as *Pseudomonas fluorescence* and *Straphylococcus epidermidis*.

Keyword: End-stage renal failure, chronic kidney disease, dysbiosis, intestinal microbiota