

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE M'HAMED BOUGUERA BOUMERDES

Faculté des sciences

Département Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biochimie Appliqué

Thème

**Recherche des Champignons et Levures dans les Urines des Parents des
Enfants Autistes**

Réalisé par :

Khachkhouché Dalia

Boukandoura Hanane

Bouzerkoune Manel

Devant le jury :

Présidente : Dr. GUETTAF HASSIBA M.C.B

Examinatrice : Dr. AIT KAKI ASMA M.C.A

Encadreuse : Dr. HAROUZ HABIBA M.C.B

Année Universitaire : 2021/2022

Résumé

L'autisme est l'une des maladies les plus courantes aujourd'hui. Des études ont montré que le sang et l'urine des enfants autistes et leur maman contient des formes atypiques de bactéries et de champignons. Le but de cette étude est la recherche des champignons et levures dans les urines des parents d'enfants autistes, les urines des enfants autistes sont analysées comme contrôle. On a fait un examen macroscopique des urines des urines et un dénombrement des champignons bactéries et levures. Les résultats obtenus sur les 16 familles autistes et normales montrent qu'il n'y a pas de différence entre le nombre de sujets infectés dans les deux types de familles. Par contre il ya plus d'infection par des levures chez les enfants autistes.

Mots clés : Autisme, le sang, bactéries, champignons,

Summary

Autism is one of the most common diseases today. Studies have shown that the blood and urine of autistic children and their mothers contains atypical forms of bacteria and fungi. The purpose of this study is the search for fungi and yeasts in the urine of parents of autistic children, the urine of autistic children is analyzed as a control. We made a macroscopic examination of the urine of the urine and an enumeration of the fungi bacteria and yeasts. The results obtained on the 16 autistic and normal families show that there is no difference between the number of infected subjects in the two types of families. On the other hand, there are more yeast infections in children with autism.

Keywords: Autism, blood, bacteria, fungi, urine.

ملخص

التوحد هو أحد الامراض الأكثر شيوعا اليوم. أظهرت الدراسات ان دم وبول الأطفال المصابين بالتوحد وامهاتهم يحتوي على اشكال نمطية من البكتيريا والفطريات. الغرض من هذه الدراسة هو البحث عن الفطريات والخمائر في بول اباء الأطفال المصابين بالتوحد، ويتم تحليل بول الأطفال المصابين بالتوحد كعنصر تحكم. قمنا بإجراء فحص مجهري للبول وتعداد البكتيريا والخمائر والفطريات. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها على 16 عائلة متوحدة وعائلة عادية انه لا يوجد فرق بين عدد المصابين في نوعي العائلات. من ناحية أخرى هناك المزيد من عدوى الخميرة لدى الأطفال المصابين بالتوحد.

الكلمات المفتاحية: التوحد، الدم، البكتيريا، الفطريات، البول

Sommaire :

Remerciement.....	
Dédicace	
Listes des figures	
Listes des tableaux.....	
Listes des abréviations	
Introduction.....	1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

1. Microbiote de corps humains.....	2
1.2. Types de microbiote	2
1.2.1. Microbiote intestinal	2
1.2.2. Microbiote sanguin	3
1.2.3. Microbiote vaginal	3
1.2.4. Microbiote urinaire.....	3
1.3. Fonctions du microbiote intestinale	3
1.3.1. Fonction protectrice	3
1.3.2. Fonction métabolique.....	4
1.3.3. Fonction immunitaire	4
1.4. Lien entre le microbiote et le cerveau	4
1.4.1. Voie sanguine	5
1.4.2. Voie nerveuse	5
1.4.3. Voie immune	5
1.4.4. Voie endocrine	6

1.5. Microbiote et modulation du système immunitaire	7
2. Dérégulation de microbiote dans la maladie de l'autisme	7
2.1. Définition de l'autisme	7
2.1.1. Hypothèses étiologiques de l'autisme	7
2.1.2. Clinique des troubles autistiques	8
2.1.3. Epidémiologie	9
2.2. Dérégulation de microbiote	12
2.2.1. Dérégulation de microbiote intestinal.....	12
2.2.2. Dérégulation de microbiote sanguin.....	12
2.2.3. Dérégulation de microbiote urinaire.....	13

Chapitre II : Matériel et méthode

1. Type d'étude	15
2. Lieu et période de l'étude	15
3. Echantillonnage.....	15
3.1. Critère d'inclusion	15
4. Matériel et produits de manipulation.....	16
5. Prélèvement des urines	16
6. Analyse des urines	17
6.1. Examen macroscopique des urines	17
6.2. Mesure de pH.....	17
7. Dénombrement des bactéries, levures et champignons.	18
7.1. Préparation des milieux de culture.....	18
8. Technique d'ensemencement.....	19
9. Lecture des résultats	21

9.1. Identification microscopique des champignons et levures	21
--	----

Chapitre III : Résultats et discussion

1. Résultats d'analyse macroscopique des urines	23
1.1. L'examen macroscopique des urines	23
1.2. Aspect	24
1.3. Couleur	25
2. Résultats test pH.....	27
3. Dénombrement des bactéries, moisissures et levures	28
4. Résultat de l'observation macroscopique et microscopique des moisissures et levures	31
Discussion	33
Conclusion.....	35
Référence bibliographique	36
Résumé	

REMERCIEMENT

*Tout d'abord, nous remercions DIEU tout puissant
Qui nous a donné le courage et la patience d'accomplir
Ce modeste travail*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent en
Premier lieu à nos honorables encadrateurs*

*Mm HAROUZE HABIBA pour ses orientations, son aide, sa
Rigueur scientifique et pour la confiance qu'elle nous a accordé
tout au long de cette étude.*

*Nos remerciements s'adressent également à
Pour le grand honneur de présider le jury.*

*À Dr aït kakí Asma pour avoir bien voulu examiner ce travail.
Je tiens de remercier monsieur BEKOU professeure à l'hôpital
De cheraga service pédopsychiatrie qui nous a conseillé*

*Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou
de loin à la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère Nacéra

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon chère père IBRAHIM

Tu es mon seul soutien, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai eu pour toi. Rien n'est comparable à tes sacrifices pour mes études.

A mes frères Noureddine et abdallah

Mes anges gardiens je vous souhaite tout le bonheur, de santé et de réussite

A mes charmantes sœurs

Farida et Nabila à qui je souhaite tout le bonheur et beaucoup de réussite.

A mes chères amies

Manel, Hanane, nouira et Dounia Mercie pour les bons moments qu'on a passé ensemble.

DALIA

Dédicace

Aucune expression, aussi élaborée soit _elle, ne pourrait traduire ma profonde gratitude et ma reconnaissance pour toute ces années.

Je dédie ce modeste travail ;

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

A la lumière des jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A MES frères Mohamed, Zouhir, Hamid

A mes sœurs Soumia, Ahlam, Warda, Wiham.

A toute mes nièces et mes belles sœurs et toute la famille Boukandoura.

A tous mes amies chères à mon cœur et mon binôme.

A tous personnes qui mon aide dans mes études

Hanane

Dédicace

Mon Cher Père

A qui Dieu a confié prestige et dignité. A mon père « Ahmed » qui m'a appris à donner sans attendre. A qui je porte son nom avec fierté. J'espère que Dieu prolonge votre vie pour voir les fruits qui sont venus récolter après une longue attente, et vos paroles resteront des étoiles pour me guider aujourd'hui, demain et pour toujours À ceux qui se sont sacrifiés.

Ma Chère Mère

Je dédie ma graduation à l'âme de ma mère « Djamila » qui est partie pour un monde meilleur, et qui est restée gravée dans mon cœur jusqu'à la fin de mes jours, et comme j'aimerais qu'elle soit avec moi et partage ma joie, que Dieu ait pitié d'elle dans le vaste paradis. Merci Dieu Tout-Puissant - Amen -.

Mes Frères et Sœurs

À ceux qui sont les plus proches de moi de mon âme, A ceux qui ont partagé mon sein de douleur, et avec eux je tire ma fierté et ma détermination. Mes chers Frères « Nassim » et « Alla » et

Mes belles-sœurs « Hana » et « Narimane ».

Mon Mari

Pour l'amour et l'affection qui nous unissent. Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu. « Anis » Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur.

Liste des figures

Figure 1 : Répartition topographique du microbiote humain adulte sain.....	2
Figure 2 : Lien entre l'intestin et le cerveau.....	5
Figure3 : Modulation du microbiote du système nerveux central (SNC).....	6
Figure 4 : schémas représente la méthode de travail.....	17
Figure 5 : Mode d'utilisation des bandelettes PH (Photographie originale)	18
Figure 6: Technique d'ensemencement des urines (Photographie originale)	20
Figure 7 : Techniques de la mise en culture des urines et incubation des boites ensemencées.....	20
Figure 8 : Différents aspects et couleurs des urines (Photographie originale)	23
Figure 9: Répartition des sujets selon l'aspect des urines.....	24
Figure10 : Répartition des patients selon la couleur des urines chez les famille ayant un enfant autiste	25
Figure 11 : Répartition des patients selon la couleur des urines observés.....	26
Figure 12: Répartition des patients selon le PH chez les familles ayant un enfant autiste.....	27
Figure 13: Répartition des patients selon le pH chez les famille normal.....	28
Figure 14: Répartition des sujets selon le nombre infectés par des champignons.....	29
Figure 15: Répartition des sujets présentent une infection urinaire bactérienne.....	30
Figure 16: Répartition des sujets selon le nombre d'infection urinaire par des levures.....	30
Figure 17: colonie Aspergillus Fumigatu	31
Figure18: colonie de penicillium.....	31
Figure 19: Forme de levure sous microscope.....	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Prévalence des TSA	10
Tableau 2 : Critères d'inclusion.....	15
Tableau 3: pourcentage des sujets réparties selon l'aspect des urines.....	24
Tableau 4: pourcentage des sujets réparties selon la couleurs des urines	25
Tableau 5: pourcentage des patients réparties selon la couleur des urines observés.....	26
Tableau 6: pourcentage des sujets réparties selon le pH chez les famille ayant un enfants autiste..	27
Tableau 7: pourcentage des sujets réparties selon le pH chez les famille normale.....	28
Tableau 8: Sujets réparties selon le pourcentage d'infection par les champignons.....	29
Tableau 9: pourcentage des sujets infectés par les bactéries.....	30
Tableau 10: pourcentage des sujets présentent une infection par les levures.....	31

Liste des abréviations

APA : American Psychiatric Association

ASAS: Australian Scale for Asperger's Syndrome

ADI -R: Autism Diagnostic Interview – Revised

ADN : Acide Désoxyribose Nucléique

BECS : Batterie d'évaluation du développement cognitif et social

CRP : Protéine C Réactive

DSM: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder

VE : vésicules membranaires extracellulaires

GN : Gélose nutritive

LPS : Lipopolysaccharide

IMC : indice de masse corporelle

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SNAP : Special Needs Autism Project

STB : sclérose tubéreuse de Bourneville

TED : Troubles Envahissant du Développement

TSA : Troubles du Spectre Autistique

5-HT: 5-Hydroxytryptamine (Sérotonine)

INTRODUCTION

L'être humain vit continuellement en association avec une population diversifiée et complexe de microorganisme appelé « microbiote » ce dernier regroupe un nombre significatif de microorganisme qui ont un impact important sur le métabolisme et la physiologie de l'hôte dont l'une de ces principaux effets bénéfiques est la protection l'amélioration de la résistance de l'hôte aux maladies infectieuses. Le déséquilibre est l'altération quantitative et qualitative de cette flore peuvent mener vers le développement de certaines maladies **(Clavel., 2019)**.

Parmi ces pathologies, on cite les maladies de dysfonctionnements du système nerveux central, le cancer et le diabète. Une étude récente a montré qu'une différence entre le microbiote des patients atteints de la maladie de autisme et les sujets sains. L'étude a révélé une diminution de la famille *Prevotellaceae*. Cette diminution peut être liée à la diminution de la thiamine et de folates l'un des signes physiologiques de la maladie de autisme **(Descoins, 2017)**.

L'étude de Vogt et al sur les rongeurs suppose que l'altération de microbiote peut mener à un dépôt d'amyloïde quoique les espèces associées à ce dysfonctionnement restent méconnues. Le microbiote des patients atteints de la maladie de autisme est caractérisé par la présence significative de certaines espèces bactériennes telles que les *Firmicutes* et les *Bacteroides* avec une faible présence d'autres comme les *Bifidobacterium* **(Vogt et al., 2017)**. La diversité du microbiote intestinal sanguins et urinaires sont associée à différents facteurs liés à l'individu qui peuvent influencer leur activité métabolique y compris l'état de l'individu, l'âge, l'antécédent clinique, l'environnement et l'alimentation **(Corthier et al., 2007)**.

L'objectif de notre travail est d'étudier la flore fongique chez les enfants autistes et leurs parents.

Notre travail comporte deux parties: la première partie nous avons réalisé un examen macroscopique des urines. la deuxième partie dénombrement des champignons et levures.

Chapitre I: Synthèse bibliographies

1. Microbiote de corps humain

Notre corps est plus qu'une simple collection de cellules humaines. En fait, nous avons environ 10^{14} micro-organismes (environ 10 à 100 fois le nombre de cellules de notre corps), principalement des bactéries (plus de 500 espèces), qui vivent sur notre peau, dans notre tube digestif (qui n'est pas stérile) et dans d'autres parties de notre corps (nez, lobes d'oreilles et vagin), représentant une biomasse de 1 à 1,5 kg (weberTK, polauco ,2012).

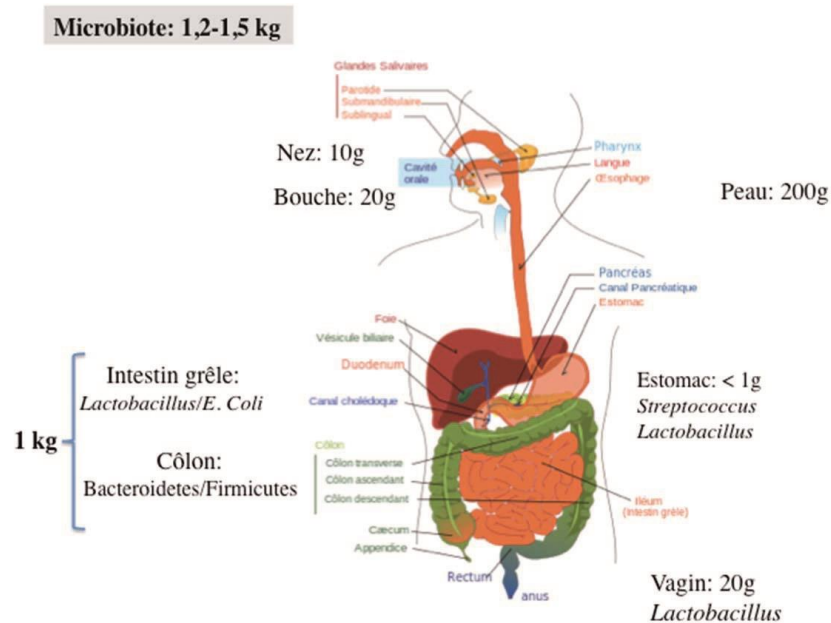


Figure 1 : répartition topographique du microbiote humain adulte sain

1.2. Types de microbiote

1.2.1. Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal, également connu sous le nom de microflore intestinale, est la collection de bactéries qui vivent dans le tube digestif. A l'âge adulte, le tube digestif humain peut contenir jusqu'à 10^{14} micro-organismes (100 000 milliards), soit dix fois le nombre de cellules dans le corps. Le corps humain contient près de 3 millions de gènes. Soit 100 fois Le nombre de gènes trouvés dans la nature. Dans le génome humain (bourlioux *et al.*,2014).

1.2.2. Microbiote sanguin

Malgré le fait que des études récentes semblent soutenir l'existence d'un microbiome sanguin chez l'homme en bonne santé, notre compréhension de la diversité phylogénétique des bactéries transmises par le sang reste limitée. Contrairement aux phyla bactériens couramment observés dans la MI humaines. Firmicutes et Bacteroidetes, le HBM semble être dominé par les phyla actinobactéries protéobactéries, suivis des firmicutes et bactéries du sang, des bacterodes revanche selon les études. En 2008, Moriyama et al ont identifié un groupe de taxons bactériens dans leur étude des bactéries présent dans le sang de deux personnes saines, principalement des bacilles, des flavobactéries, des sténotrophomes en utilisant une approche basée sur la culture (**Damgaard et al.,2008**). Ils ont découvert une croissance bactérienne dans le sang d'environ 62 %des personnes en bonne santé

1.2.3. Microbiote vaginal

L'environnement vaginal est constitué d'une phase liquide riche en produits chimiques dérivés de l'eau et du plasma qui sont complétés par des composants de la gloire cervicale. Les cellules vaginales exfoliées, les leucocytes et les bactéries sont parmi les éléments solides et figuratifs de l'environnement vaginal. Selon que la flore est normale ou pathologique, la concentration varie de 10⁶ à 10¹² bactéries par gramme de sécrétion vaginale (**l'Andaman et quévrain.,2016**).

1.2.4. Microbiote urinaire

A été découverte (**whiteside et al., 2015**) depuis 2012 sur le nom de uribiome ou flore urinaire composé entre 1354 et 2069 groupes de microorganismes environ 50% lactobacilles et 12 bifidobactéries et prés de 2 de Escherichia coli cette composition est différent chez les deux sexe femme et homme cette diversité être bouleversé dans la pathologie de tractus urinaires chez les femmes leur importance est dans le développement de différent trouble urinaire et certaines pathologies comme l' hypertrophie bénigne de la prostate ou le caner de vessie (**Estella ., 2019**)

1.3. Fonctions du microbiote intestinale

1.3.1. Fonction protectrice

Il inhibe la croissance de micro-organismes potentiellement pathogènes en les maintenant au sol (adhésion au mucus près de l'épithélium digestif et circulation à la lumière du tube digestif), ou en

réduisant leur production de toxines pathogènes en altérant les conditions environnementales (pH, bactériocine et production de défense) (**De Filippo et al ; 2010**).

1.3.2. Fonction métabolique

Les principales sources d'énergie pour le microbiote intestinal sont les glucides et les protéines trouvées dans les fibres alimentaires non digérées dans le tube digestif supérieur qui se retrouvent dans le Côlon. Le caractère et la quantité de substrats disponibles En conséquence, ils dépendent des Individus et de leurs habitudes alimentaires, ce qui est un facteur Environnemental qui peuvent avoir un impact sur l'équilibre du microbiote. Le processus de biotransformation, Ces nombreux substrats utilisés par le microbiote colique (glucides, protéines et lipides), d'une part, Un grand nombre d'hydrolases sont impliquées (polysaccharides, glycosidases, peptidase, etc.), permet aux bactéries D'obtenir l'énergie dont ils ont besoin pour la croissance et, d'autre part, génère le Production d'un large éventail de métabolites, dont la majorité sont absorbées et utilisées par l'hôte (**Pryde et al., 2002, Landman et Quevrain.,2016**).

1.3.3. Fonction immunitaire

En l'absence de microbiote intestinal, le tube digestif ne mûrit pas et reste atrophié (diminution de l'épaisseur muqueuse, de la taille des villosités et du bord en brosse).

Elle Joue également un rôle dans le développement du système circulatoire qui irrigue la muqueuse gastro-intestinale (angiogenèse). L'absence de flore intestinale chez la souris réduit le nombre de cellules immunitaires dans la muqueuse intestinale (**Macpherson et al ; 2004**) ; notre microbiote joue un rôle important dans la mise en place de notre système immunitaire intestinal en assurant une stimulation constante (rôle d'activation, rôle de modulation de réponses spécifiques, rôle de régulation pour la mise en place de fonctions suppressives).

1.4. Lien entre le microbiote intestinal et le cerveau

Notre cerveau et notre tube digestif communiquent via l'axe de l'intestin cerveau ou Brain Gut axis, garantissant un tractus gastro-intestinal coordonné et adaptable à son environnement en milieu physiologique (**grenham et al.,2011**). Les molécules dérivées de la fermentation et des endotoxines dérivées de bactéries fonctionnent sur le SNC via une variété de voies sanguin.

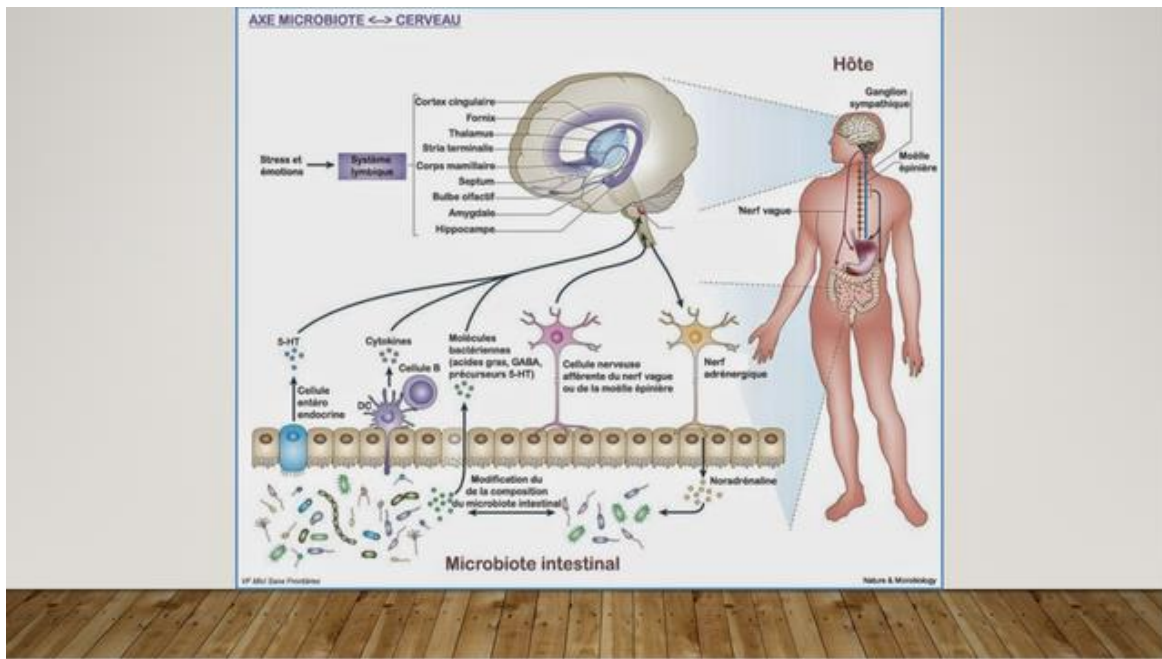


Figure 2 : le lien entre l'intestin et le cerveau

1.4.1. Voie sanguine

Les molécules libérées dans l'intestin (comme les produits de la fermentation et neurotransmetteurs ou les molécules constitutives de la paroi bactériennes LPS et flagelline) vont atteindre la circulation sanguine en utilisant les voies paracellulaires après absorption par les entérocytes elles vont traverser la barrière hémato-encéphalique, en entraînant des modifications dans le fonctionnement du SNC (**Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017**).

1.4.2. Voie nerveuse

La voie nerveuse est possible pour les molécules constitutives des bactéries (LPS et flagelline) plus que les molécules libérées (produits de la fermentation et neurotransmetteurs). En fait, les afférences du système nerveux entérique ont des récepteurs aux constituants des bactéries qui peuvent être activées ensuite par plusieurs molécules libérées en intégrant des messages viscéraux dans les voies cérébrales (**Jaglin, 2013; Descoins, 2017**).

1.4.3. Voie immune

La présence des molécules nocives bactériennes telles que l'ammoniaque, le phénol, l'indole, le sulfide et la hausse de la perméabilité de l'intestin permettent la stimulation des cellules immunitaires. La quantité des cytokines pro-inflammatoires augmente en vue de la modification attribuée à l'équilibre

cytokinique, ces dernières vont influencer le cerveau par deux voies, soit la circulation systémique, soit, par un contact avec le SNE ou bien le tissu endocrine intestinal (**Jaglin, 2013; Descoins, 2017**).

1.4.4. Voie endocrine

La stimulation des cellules endocrines intestinales s'effectue par des substances issues du système immunitaire, et elles libèrent des neuropeptides qui agissent localement sur les afférences du SNE ou joindre le SNC utilisant la voie systémique. La sérotonine (5-HT) est un neuropeptide régulateur de l'inflammation intestinale synthétisé par les cellules entérochromaffines, bien que, d'autres cellules entéro-endocrines produisent des neuropeptides bioactifs tels que le glucagon-like peptide (GLP), le peptide pancréatique PYY et la cholécystokinine (CCK) (**Mazzoli et Pessione, 2016**).

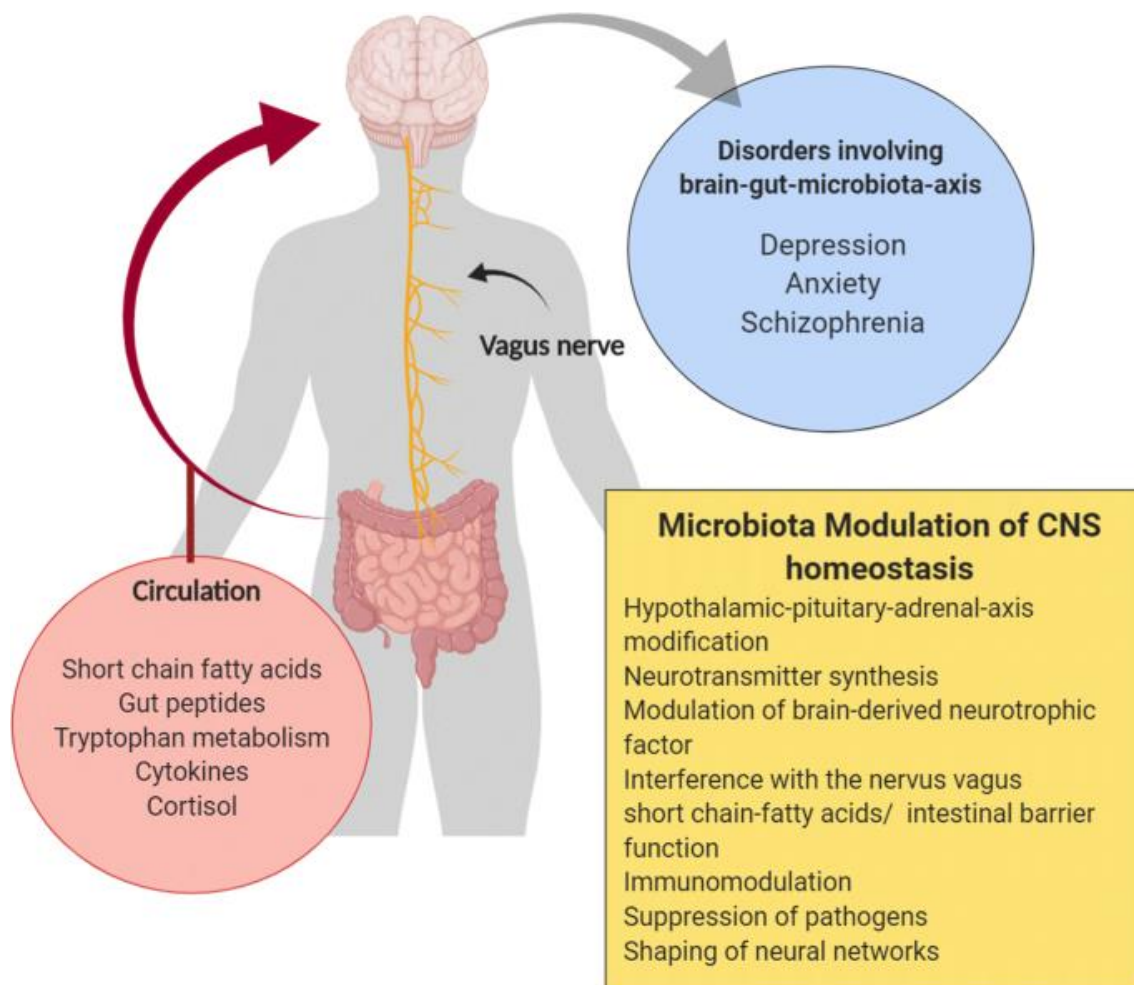


Figure 3 : Modulation du microbiote du système nerveux central (SNC)

1.5. Microbiote et modulation du système immunitaire

De nombreuses études ont démontré la capacité des bactéries à déclencher la production de cytokines pro-inflammatoires IL-1, IL-6 et TNF- α . Ces derniers agissent sur le SNC par différents moyens, par une activation des afférences du nerf vague, par une diffusion simple dans les organes circum-ventriculaires comme l'area postrema (ou également appelé aire du vomissement) car cette zone ne possède pas une barrière hémato-encéphalique (BHE), par le médiateur de transporteurs localisés sur la BHE, ou par l'activation des récepteurs situés sur des macrophages périvasculaires et sur les cellules endothéliales cérébrales, ce qui conduit à la production prostaglandines (**Dantzer et al., 2008**). Les cytokines pro-inflammatoires sont impliquées dans plusieurs maladies issues du dysfonctionnement de SNC notamment la dépression (**Jaglin, 2013 ; Descoins, 2017**).

2. Dérégulation de microbiote dans la maladie de l'autisme

2.1. Définition de l'autisme

L'autisme n'est pas une maladie, c'est un trouble du développement d'origine neurologiques. Ce problème touche environ une personne sur 100, les garçons étant cinq fois plus touchés que les filles. Elle se caractérise par des perturbations des interactions sociales, de la communication et du langage, ainsi que par l'absence de sens conceptuel (**Husson et al., 2020**).

Les premières descriptions cliniques de l'autisme par Léo Kanner datent des années 1940 (**Kanner. et al., 1943**) ; il fait référence à des "problèmes affectifs de contact autistiques", les principaux symptômes étant un isolement extrême et une forte résistance au changement. Jusqu'aux années 1970 et 1980, où ces deux maladies étaient clairement séparées, l'autisme était lié à la schizophrénie infantile (**Guibert et al., 2005**)

2.1.1. Hypothèses étiologiques de l'autisme

Les causes de l'autisme sont actuellement inconnues et font l'objet de nombreuses études. Il semble y'avoir un accord parmi les professionnels de la santé pour accepter une étiologie multifactorielle.

A. Déterminisme génétique

A ce jour, on reconnaît l'origine génétique de ce trouble ; des études faisant état d'un taux d'hérédité allant jusqu'à 90% chez les jumeaux monozygotes (**Rosenberg et al., 2009**) signifiant que les facteurs génétiques jouent un rôle majeur dans l'apparition du phénotype.

Un certain nombre de gènes ont été identifiés, par exemple le gène Shank3, situé sur le chromosome 22. Actuellement, la recherche médicale, en particulier la recherche génétique, en est encore à ses débuts pour identifier les gènes responsables de l'autisme. L'autisme présente une hétérogénéité importante dans le degré et la diversité de ses manifestations – capacités verbales et cognitives, intégration sociale, etc. En plus de la multiplicité des gènes qui composent le génome humain. Le nombre de gènes responsables et leur combinaison potentielle pour créer une prédisposition reflète la diversité de la maladie. Plusieurs études ont établi un lien entre les duplications du chromosome 15 et le cancer (**Cook et ses collègues. ;1997**). Un gène sur le chromosome 7 avec la possibilité d'une participation d'un autre gène situé sur le chromosome 16, le gène du transporteur de la sérotonine (**Tordjman, 2001**), un gène impliqué dans l'étiologie de l'autisme parmi ceux qui sont responsable du développement embryonnaire du système nerveux (**Rodier et al. ; 1998**), ou encore le gène C4B sur le chromosome 6 (**Warren et al.,1995**).

B. Facteurs environnementaux

De nombreux facteurs environnementaux ont été impliqués comme facteurs augmentant le risque d'autisme. Par exemple, les souffrances néonatales, les expositions toxiques (polluants de l'air, Exposition in utero aux médicaments) ou encore l'exposition à des virus ou vaccins spécifiques sont autant de possibilités.

C. Causes neurobiologiques

La majorité de ces études partent de l'hypothèse d'un problème de maturation cérébrale : le cerveau ne se développe pas normalement et présente des anomalies, tant au niveau de la structure que de la fonction des artères cérébrales. Des défauts de croissance neuronale ont été découverts dans diverses zones du cerveau (**Wegiel et al.,2014**). D'autres chercheurs affirment que le développement des synapses excitatrices dans certaines zones du cortex cérébral a changé (**Tang et al.,2014**).

2.1.2. Clinique des troubles autistiques

A. Troubles des interactions sociales

Ces perturbations se présentent comme un manque de réciprocité sociale ou émotionnelle, ainsi que des difficultés dans le développement, le maintien et la compréhension des relations sociales. Les personnes autistes sont confrontées à des défis importants pour établir des relations avec leurs pairs, faire preuve de responsabilité sociale et utiliser et traiter de manière appropriée les comportements non verbaux et verbaux tels que le contact visuel et les expressions faciales, le **DSM 5 (APA., 2013)**. Les enfants autistes sont incapables de s'engager avec d'autres enfants ; ils préfèrent s'isoler, ne répondent pas aux appels adressés à leur nom et évitent de les regarder

B. Problèmes de communication verbale et non verbale

L'altération de la communication se caractérise souvent par un retard linguistique, qui survient à la suite d'un usage répété et stéréotypé de la langue parlée, ou par l'absence complète de son développement. Les patients autistes sont également limités dans leur communication non verbale : ils utilisent peu de gestes sociaux, peu de gestes interactifs et peu ou pas d'imitation. Il y a certaines bizarreries dans le jeu de « le faire apparaître » chez les enfants, le (**DSM 5 APA., 2013**).

C. Comportements répétitifs et intérêts restreints

Ces perturbations se manifestent par le caractère stéréotypé ou répétitif du mouvement, l'utilisation d'objets ou du langage, l'intolérance au changement, l'adhésion à des routines et des intérêts fixes.

Les enfants autistes peuvent être fascinés par des objets insolites (morceaux de ficelle, panaches, miettes, etc.) ou utiliser des objets ou des jouets insolites (tourner indéfiniment au volant d'une petite voiture, etc.) (**DSM 5 APA., 2013**).

2.1.3. Epidémiologie

L'épidémiologie de l'autisme étudie les facteurs influant sur les troubles du spectre de l'autisme

A. Prévalence

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses études se sont concentrées sur la prévalence de l'autisme et sur l'ensemble des problèmes liés à l'autisme. Lotter a mené l'une des premières études sur

la prévalence de l'autisme au France en 1966. Il a utilisé les critères de Kanner et a découvert un taux de prévalence de 4 à 5 enfants autistes pour 10 000 enfants (**Lotter.,1966**). En 1979, l'équipe de Wing et Gould identifie trois fois plus d'enfants atteints de troubles du spectre autistique mais qui ne répondent pas à tous les critères autistiques de Kanner (**Wing et Gould.,1979**). Selon les estimations les plus récentes, qui reposent principalement sur des études nord-américaines ou européennes, la prévalence de l'autisme varie de 20 à 30 pour 10 000 et la prévalence des problèmes liés à l'autisme varie de 90 à 120 pour 10 000. (**Fombonne., 2012**). Baird et ses collègues ont mené l'étude SNAP en 2006, qui a utilisé des instruments de diagnostic recommandés à l'échelle internationale tels que l'ADI-R (Autism Diagnostic Interview-Revised) et l'ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule). La prévalence de l'autisme s'est avérée être de 25 pour 10 000 dans cette étude. Même si les seuils ADI et ADOS sont respectés, ce chiffre monte à 39 pour 10 000 lorsque le diagnostic est posé par un groupe d'experts. Les objectifs de l'ADOS n'ont pas été atteints (**Baird et al., 2006**).

L'observation d'une augmentation de la prévalence dans le temps, basée sur des études méthodologiques strictes, a suscité d'importantes spéculations sur les causes de ce changement.

Diverses hypothèses ont été avancées, alimentant le débat autour de la question suivante : « Une augmentation de la prévalence de l'autisme peut-elle être attribuée à une augmentation de son incidence ? Les médias ont été captivés par cette question et se sont prononcés à ce sujet. « Épidémie d'autisme » basée sur des études impliquant une variété de facteurs environnementaux (nutrition, vaccinations, pollution, etc.). A titre d'exemple, le sujet des implications du RDR a été soulevé pour la première fois en 1998 (Wakefield et coll, 1998) et a depuis été soutenu par d'autres études (**Taylor et al., 1999, Destefano et Thompson., 2004**).

Tableau 1 : Prévalence des TSA

Étude	Méthode	Année	Population	Prévalence TSA (1/1 000)	Prévalence Autisme (1/1 000)
Baxter, 2015	Méta-analyse	2010	Mondiale < 27 ans (population générale)	7,2	2,4
Elsabbagh, 2012	Revue	> 2000	Europe < 18 ans	6,2	1,87
Idring, 2012	Étude de cohorte	2007	Suède < 18 ans 4-6 ans 13-17 ans	11,5 6,5 14,6	2.8

En cas de retard mental léger à sévère associé à l'autisme (2 garçons pour 1 fille) ; mais, dans l'autisme sans retard mental, la prépondérance masculine est plus importante (6 pour 1). Des recherches récentes suggèrent qu'une sex-ratio plus équilibrée de 1,6 garçons pour 1 fille est préférable (**Zwaigenbaum et al., 2012**). Cette étude met en évidence une amélioration du dépistage qui permet une meilleure identification des femmes atteintes de TSA, en particulier celles sans déficience intellectuelle, et suggère que ces femmes ont été historiquement sous-diagnostiquées. Ainsi, d'un point de vue épidémiologique, on se dirige vers un équilibrage progressif de la sex-ratio dans le TSA, tout en ayant toujours une proportion d'hommes plus élevée que de femmes.

L'origine de cette disparité donne lieu à plusieurs hypothèses qui peuvent être résumées en trois modèles. Selon la théorie de l'hyper-masculinisation du cerveau chez les personnes autistes (Baron-Cohen, 2002), le cerveau des hommes a une certaine fonction qui ressemble plus aux fonctions identifiées dans l'autisme que le cerveau des femmes. Selon Mottron, il n'y a actuellement aucune preuve que ce modèle est valide (2015).

L'existence d'un « effet protecteur » chez les femmes, qui est en partie dû à l'émergence d'une forme d'autisme, le plus souvent d'un point de vue génétique (**Robinson et al., 2013, Jacquemont et al., 2014**).

Une différence de plasticité cérébrale selon le sexe, une nouvelle hypothèse pour la sex-ratio dans l'autisme, une même mutation aurait des effets différents selon le sexe (**Motttron et al., 2015**).

C. Antécédents familiaux

Des chercheurs du King College de Londres, du Karolinska Institut et de l'Université Mont Sina aux États-Unis ont analysé les données anonymisées de 2 millions d'enfants nés en Suède entre 1982 et 2006, dont 14 516 ont reçu un diagnostic de TSA. Les chercheurs ont évalué le risque au sein de la famille en cas d'incident impliquant un jumeau identique ou dizygote, un frère, une sœur, un demi-frère, une sœur, etc.

En 2010, une revue de l'état actuel des connaissances concluait que « le risque de développer l'autisme pour un nouvel enfant dans une famille où il y a déjà un enfant atteint de TED est de 4%

Pour un garçon et de 7% pour une fille ». Si une famille a déjà deux enfants atteints de TED, le risque augmente considérablement (de 25 % à 30 %).

D. Age des parents

En 2010, une revue de l'état des connaissances concluait que « la fréquence de l'autisme infantile n'augmente que modestement avec l'âge du père et de la mère (risque multiplié par 1,3 pour une mère de plus de 35 ans et par 1,4 pour un père de plus de 40 ans). » (**Haute autorité de santé**).

2.2. Dérégulation de microbiote

2.2.1. Dérégulation de microbiote intestinal

déséquilibre quantitatif et qualitatif dans la diversité microbienne intestinale par le biais de plusieurs facteurs. Ce déséquilibre est la cause principale de certaines pathologies telles que l'obésité, le syndrome métabolique, le syndrome de l'intestin irritable, les maladies inflammatoires intestinales, les maladies auto-immunes, le cancer colorectal et hépatique, ainsi que les troubles psychiatriques dont la dépression et les troubles du spectre autistiques (TSA), etc. (**Mondor et al., 2013; Descoins, 2017**). Il a été démontré que la présence d'un microbiote équilibré est abondante pour l'expression de l'alpha-synucléine qui est une protéine importante dans le cerveau humain qui se trouve dans l'extrémité des neurones (au niveau des terminaisons présynaptiques) (**Sampson et al., 2016**).

La présence d'une dysbiose chez les patients atteints des troubles neurodégénératifs peut influencer l'état de la maladie. Ces données montrent l'effet du déséquilibre ainsi que du métabolisme de microbiote intestinal sur la communication neuronale (**Grasset et Burcelin, 2019**).

2.2.2. Dérégulation de microbiote sanguin

En basant sur l'hypothèse de l'existence d'un microbiote à variations de paroi déficientes (forme L) dans le sang humain, ils ont développé une méthode innovante qui a permis le développement d'une population de forme L à partir du sang de toutes les études. Contrairement aux volontaires sains, le sang des enfants autistes et de leurs mères est transformé dans des conditions de culture appropriées, ce qui entraîne des bactéries et des champignons détectables, un processus qui peut être démontré à l'aide d'un microscope électronique et d'un microscope optique, et peut être divisé en deux types d'états : un microbiote sain (« eu biotique ») et un microbiote dysbiotique (« dysbiotique ») chez les enfants autistes et leurs mères. (**Markova.,2019**).

La présence dans le sang d'une variante sans paroi du cycle de vie des champignons filamenteux. Amplification des IgG, IgM spécifiques ainsi que la croissance typique des moisissures a été un argument décisif pour la présence d'*Aspergillus Fumigatus* chez presque tous les enfants autistes. Ils ont montré dans des études antérieures que les formes L filtrables pouvaient être transmises par le regard vertical de la mère à l'enfant avant la naissance, ce qui implique que les enfants peuvent déjà être colonisés par des champignons, et qu'une 'Aspergillose silencieuse' pourrait contribuer voire être une cause majeure cause de problèmes neurodéveloppementaux dans l'enfance. (**Markova.,2019**).

2.2.3. Dérégulation de microbiote urinaire

Le microbiote corporel représente par les véhicules électriques bactériens dans l'urine des personnes autistes. Des études identifient des profils de microbiote nettement modifiés dans les TSA par rapport aux témoins sains non-TSA et suggèrent que les VE bactériennes dans l'urine peuvent être utiles pour l'évaluation de la composition du microbiote dans les TSA (**Yunjin et al.,2017**).

Les bactéries à Gram négatif sécrètent des vésicules membranaires extracellulaires (EV), également appelées nanovésicules, pour communiquer avec les cellules hôtes (**Kuehn et al.,2005**), et sont détectées dans les selles, ainsi que dans l'urine et le serum sanguin (**Kang et al.,2013, jang et al.,2015, yoo et al.,2016**). Les véhicules électriques sécrétés par les bactéries gram-négatives contiennent de l'ADN, de l'ARN, des protéases, des phospholipases, des adhésines, des toxines et des composés

immunomodulateurs. Les véhicules électriques dérivés de bactéries sont associés à la cytotoxicité, à la fixation bactérienne, au transfert d'ADN intercellulaire et à l'invasion (**Kuehn et al.,2005, Ellis et al.,2010, Maldonado et al.,2011**). Les bactéries Gram-positives produisent également des EV, qui contiennent du peptidoglycane, de l'acide lipotéichoïque, des protéines de virulence, de l'ADN et de l'ARN (**Lee et al., 2009, Brown et al.,2014**). Lorsque des EV bactériens ont été injectés par voie intrapéritonéale chez des souris, les EV ont été rapidement distribués dans tout le corps avec une accumulation dans le foie, les poumons, la rate et les reins en moins de 3 h (**jang et al.,2015**). Les EV dérivés de bactéries dans le sang et l'urine représentent les principaux constituants des microbes dans le corps, à savoir le microbiote intestinal (**Kang et al.,2013, yoo et al.,2016**), et indiquent le microbiote qui est métaboliquement ou pathologiquement actif (**Kang et al.,2013, jang et al.,2015**).

Objectif de travail (**Yunjin et al.,2017**) ont montre une dérégulation de microbiote urinaire chez les enfants autistes mais seulement la partie bactérienne de microbiote qui a été étudiée. Notre travail avait comme objectif d'étudier la partie fongique de microbiote urinaire avec un dénombrement des champignons et levures. (**Markova et al., 2019**) ont montré que le déreglement de la flore fongique sanguine des enfants autistes été présent aussi chez les mamans des enfants autistes, c'est la raison pour laquelle ont à intégrés les parents des enfants autistes dans notre étude.

Chapitre II: Matériel et Méthode

1. Type d'études

Il s'agissait d'une étude d'examen macroscopique des urines et un dénombrement des levures et champignons.

2. Lieu et période de l'étude

L'étude a été menée à partir des résultats d'analyses microbiologique des urines, qui ont été pris de de l'hôpital (service pédopsychiatrique) cheraga, willaya d'Alger. L'étude couvrait la période allant 8/05/2022 à 08/07/2022.

3. Echantillonnage

Nous avons reçu 96 prélèvements urinaires (16 familles ayant un enfant autiste et 16 familles normale).

3.1. Critères d'inclusion :

Tableau 2 : critères d'inclusion

Paramètre	Critères d'inclusion
L'Age des enfants	Entre 7 – 10 ans
L'Age des pères	Entre 35-55 ans
L'AGE des mères	Entre 25_40 ans
Type de prélèvement	Urinaire
La date de prélèvement	Le 8 mai jusqu'à 8 juillet 2022

4. Matériel et produits de manipulation

- Pots stérile (pour les urines).
- Les tubes a éssis.
- Bandellette de pH.
- Centrifugeuse.
- Lame et lamelle.
- Microscope optique.
- Bec benzenes.
- Boites de pétrie.
- Anse de platine.
- Etuve a 37C° et 25C°.
- Pipette Pasteur.
- Eau distillé.
- Autoclave
- La Haute
- Bleu de méthylène.
- Milieu de culture (gélose nutritive et sabouraud).

5. Prélèvement des urines

Le prélèvement des urines réalisé si possible au moins 4 h après la miction précédente pour permettre un temps de stase suffisant dans la vessie.

Le prélèvement précédé d'une hygiène des mains (lavage à l'eau et au savon ou friction avec une solution hydro-alcoolique) et d'une toilette de la région urétrale ou vulvaire à l'aide de savon ou de lingettes, suivie d'un rinçage et de l'application d'un antiseptique (d'un seul geste d'avant vers l'arrière chez la femme), les grandes lèvres ou le prépuce étant maintenus écartés .

Chez l'adulte, les urines prélevées après toilette locale, sans contact du jet urinaire avec les lèvres vulvaires chez la femme ni le prépuce chez l'homme, et en milieu de jet pour avoir éliminé une partie des germes de l'extrémité de l'urètre. Les urines sont prélevées dans un flacon stérile sans en toucher le bord supérieur.

En cas de pertes vaginales, il est indispensable de mettre au préalable un tampon, pour éviter la contamination. En cas d'incontinence totale, on aura recours à un sondage « aller-retour » chez la femme, et à la pose d'un collecteur pénien chez l'homme.

Le prélèvement transporté rapidement au laboratoire (pour éviter la pullulation microbienne de l'inévitable minime contamination par la flore périnéale, ce qui rendrait des résultats faussement positifs). Les urines ne doivent jamais être conservées plus de 2 h à température ambiante ou plus de 24 h à +4°C.

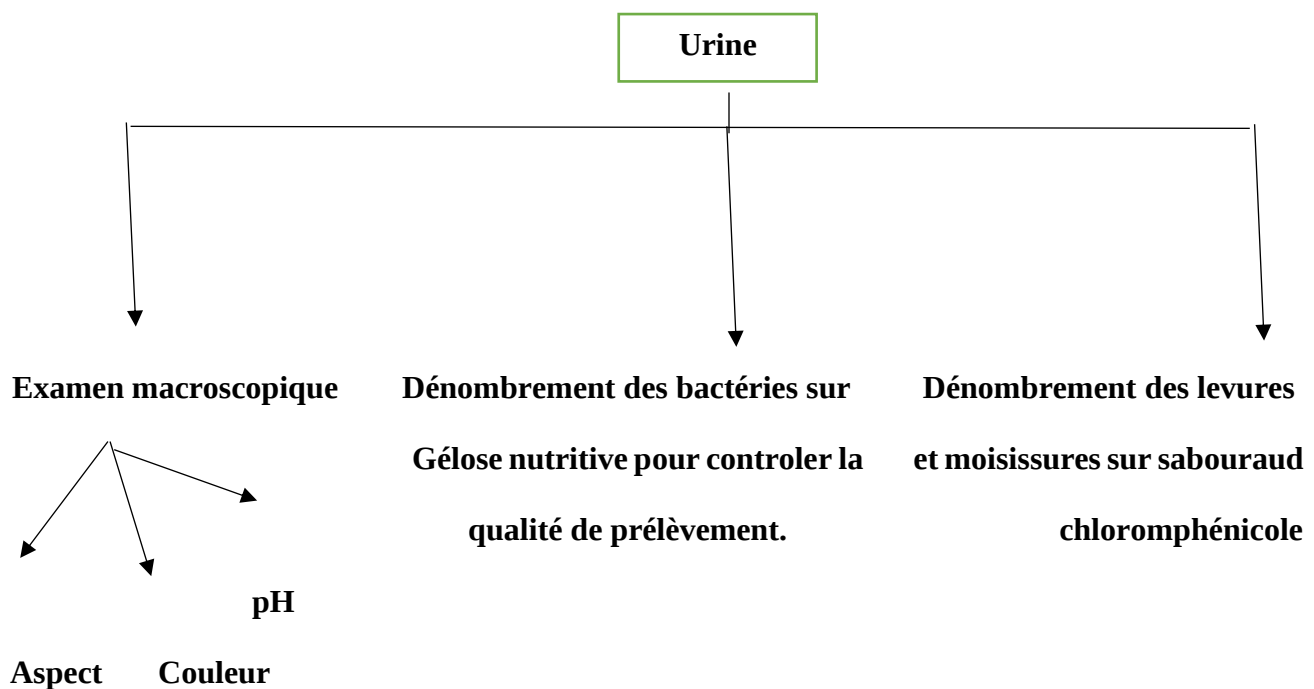


Figure 4: schémas représente la méthode de travail

6. Analyse des Urines

6.1. Examen macroscopique des urines

La couleur et l'aspect de l'urine révèlent beaucoup d'informations et orientent la lecture microscopique du spécimen si nécessaire, L'analyse se fait par observation.

6.2. Mesure de pH

Le pH de l'urine permet de savoir si notre organisme est en situation d'équilibre ou de déséquilibre, grâce à une échelle de valeurs allant de 0 au chiffre 14.

L'analyse se fait:

- D'abord, mélanger correctement l'urine en tournant lentement à plusieurs reprises le récipient.
- Sortir une bandelette du flacon et le reboucher aussitôt.
- Tromper les zones réactivées bandelette pH (BPH) dans l'urine et retirer immédiatement ce dernier.
- Eliminer l'excès d'urine en tapotant légèrement la bandelette sur le bord du récipient, puis tenir la bandelette horizontalement et laisser quelques secondes.
- Comparer les zones réactives avec les couleurs de bandelette pH.



Figure 5 : Mode d'utilisation des bandelettes PH (Photographie originale).

7. Dénombrement des bactéries, levures et champignons

7.1. Préparation des milieux de culture

- **Milieu gélose nutritive**
 - Déposer le matériel nécessaire pour la préparation sur la pailasse
 - Verser 1 litre d'eau distillé et laisser stériliser.
 - Peser 23 g de la poudre gélose nutritive équivalent de 1 litre d'eau
 - Verser la poudre dans l'eau et mélanger bien jusqu'à la dissolution totale
 - Stériliser les milieux préparés par l'autoclave.
 - Laisser refroidir la préparation dans la zone stérile devant le bec benzène
 - Couler la gélose dans les boîtes pétries à côté de bec benzène.

- **Milieu sabouraud chloromphénicole**
 - Suspendre 65g dans 1 litre d'eau distillé.
 - Porter à ébullition pour désordre complètement le milieu.
 - Stériliser par autoclavage une pression de 15 livres (121 C°) pendant 30 minute
 - Refroidir a 45 – 50 C°
 - Bien mélanger et verser dans des boîtes de pétrie stérile

8. Technique d'ensemencement

Ensemencement dans la boîte de Pétrie (contient le milieu de culture solide).

a) Ensemencement en masse (milieu sabouraud).

- A proximité du bec benzène, remplir 10 ml de l'urine dans un tube à essai.
- Mettre les tubes dans un Centrifugeuse pendant 10 minute.
- A l'aide du pipette Pasteur on jet le surnagent.
- Récupérer le culot sur la boîte pétrie puis verser le milieu sabouraud.
- Faire homogénéiser le culot avec toute la masse de milieu.
- Incuber les boîtes dans l'étuve à 25C° pendant 3 à 5 jours.

b) Ensemencement en surface (milieu gélose nutritive).

- Avant l'ensemencement, homogénéiser bien l'urine par simple agitation.
- A proximité du bec bunsen on prélève verticalement à l'aide d'une anse de platine stérile une goutte d'urine.
- Déposer la goutte d'urine sur le haut de la gélose nutritive.
- Faire des stries serrées à partir de la pointe de dépôt jusqu'à la fin de boîte.
- Les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37C° pendant 24 heures.



Figure 6 : Technique d'ensemencement des urines (Photographie originale)



Figure 7 : Les techniques de la mise en culture des urines et incubation des boîtesensemencées.

9. Lecture des résultats

La lecture s'effectue sur les colonies bien isolées, quotidiennement par observation macroscopique et microscopique pour déterminer le développement des levures, champignons et bactéries sur milieu sabouraud et gélose nutritive.

- **Champignons**

L'aspect des colonies: les moisissures ont une texture: duveteuse, laineuse, cotonneuse, veloutée, poudreuse ou granuleuse; et parfois certaines avoir une apparence glabre en raison de l'absence ou la pauvreté du mycélium aérien.

- **Levures**

La plupart de levure ont des colonies ronds de couleurs blanc crème à jaunâtre, de texture variable plus ou moins crémeuses et granuleuses selon les espèces

- **Bactéries**

De nombreuses espèces bactériennes ont une forme des colonies rondes de couleur blanc avec des bords réguliers ou irréguliers.

9.1. Identification microscopique des champignons et levures

L'identification microscopique est effectuée par un prélèvement d'un petit fragment mycélien à l'aide d'une anse de platine stérile. Puis le fragment est déposé sur une lame en lui ajoutant le Bleu de Méthylène, ensuite recouvert d'une lamelle; L'observation est effectuée au microscope optique aux différents grossissements ($\times 10$, $\times 40$) ainsi qu'à l'immersion ($\times 100$).

Chapitre III: Résultats et Discussion

1. Résultats de l'analyse macroscopique des urines

1.1. Examen macroscopique des urines

Après homogénéisation des urines, l'observation à l'œil nu a permis de distinguer les différents aspects des urines. Sur les échantillons prélevés, plusieurs types d'aspects macroscopiques ont été observés: urines claires ou urines troubles avec des colorations variées (jaune, orange, rouge...etc.).

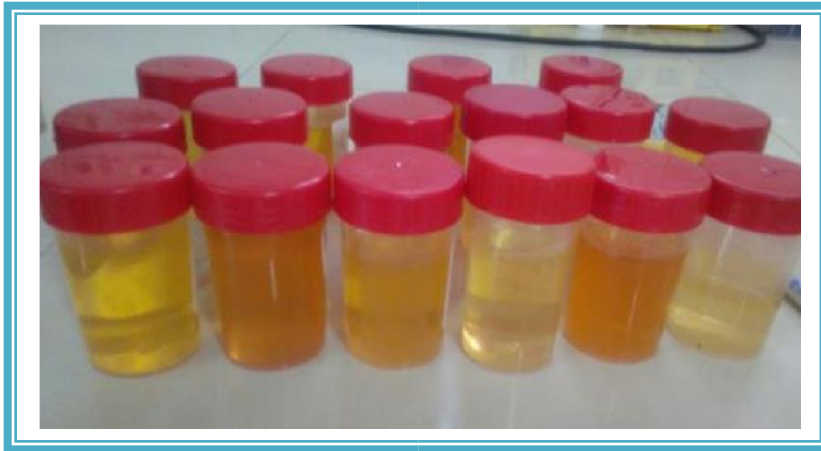


Figure 8 : Déférents aspects et couleurs des urines (Photographie originale).

- Une urine de couleur jaune est une urine normale (la couleur jaune est due à un pigment « urochrome »), l'intensité de la couleur (pâle ou foncée) est proportionnelle à la concentration de l'urine (selon l'état d'hydratation du patient ; c'est-à-dire une urine claire est due à une hydratation intense ce qui signifie que le patient boit suffisamment de liquides.
- L'apparition d'une couleur anormale de l'urine, comme (orange, rouge), peut être due à l'ingestion de certains aliments ou de sang (rouge). Ainsi, la couleur de l'urine peut être altérée par plusieurs médicaments et par certains suppléments vitaminiques. ▪ L'urine normale présente un aspect clair. Une urine trouble est due à la présence d'éléments cellulaires et de cristaux, ce qui peut traduire une infection des voies urinaires.

1.2. Aspect

Les résultats montrent que dans l'ensemble des cas 16 familles autistes la prédominance est de l'aspect des urines troubles avec un pourcentage de 56.25% (9/16) chez les pères par contre un pourcentage de 87.5% (14/16) de l'aspect des urines claire chez les mères des familles normales.

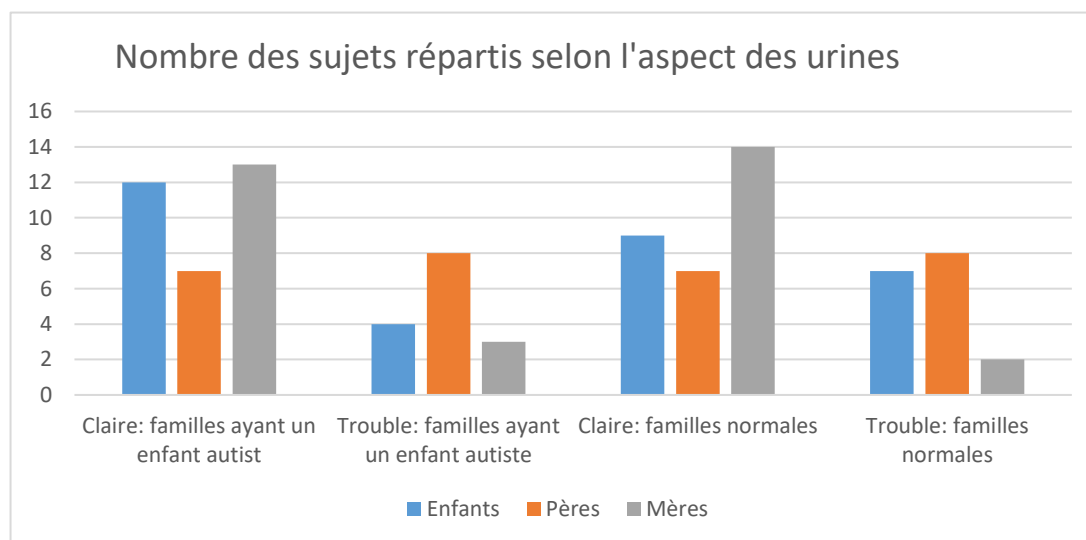


Figure 9: Répartition des patients selon l'aspect des urines.

Tableau 3: pourcentage des sujets réparties selon l'aspect des urines

Aspect	Enfants	Pères	Mères
Claire (Familles ayant un enfant autiste)	(75%)	(43.75%)	(81.25%)
Trouble (Familles ayant un enfant autiste)	(25%)	(56.25 %)	(18.75%)
Claire (Famille normal)	(56.25%)	(50%)	(87.5 %)
Trouble (Famille normal)	(43.75%)	(50 %)	(12.5%)

1.3. Couleur

1.3.1. Familles ayant un enfant autiste

La couleur habituel des urines est jaune claire mais il peut avoir des différentes couleurs à cause de l'utilisation de certains médicaments ou certaines maladies.

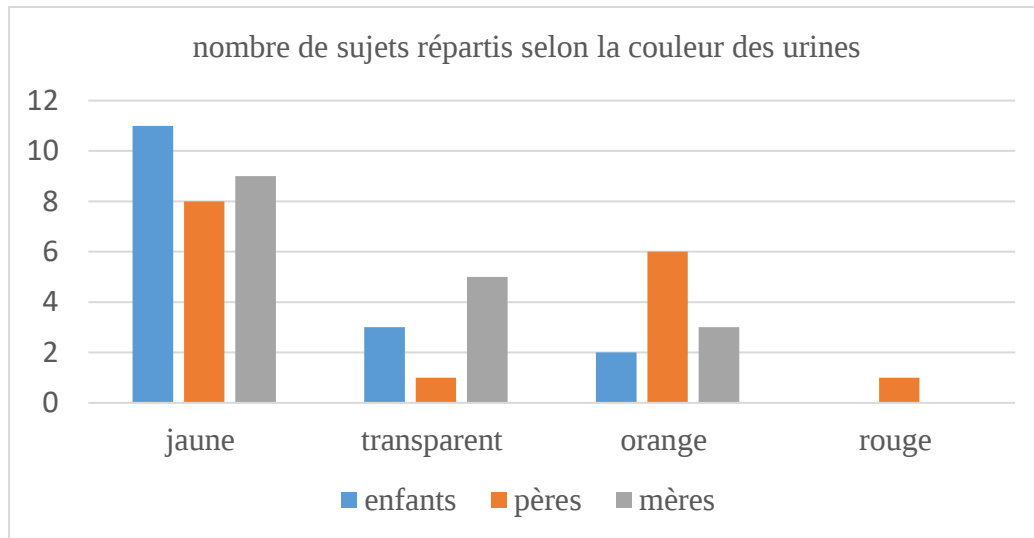


Figure 10: Répartition des patients selon la couleur des urines chez les familles ayant un enfant autiste.

Tableau 4: pourcentage des sujets répartis selon la couleur des urines.

	Enfants	Pères	Mères
Jaune	(68.75%)	(50%)	(56.25%)
Transparent	(18.75%)	(6.25%)	(31.25%)
Orange	(12.5%)	(37.5%)	(12.5%)
Rouge	0	(6.25%)	0

1.3.2. Familles normales

A partir de la comparaison des deux tableaux (tableau 4 et tableau 5) les résultats montrent que

- ✓ La couleur orange et rouge des urines appartiennent surtout aux pères avec un taux de 43.75 % (6/16) dans les familles autistes.
- ✓ La couleur transparent appartiennent surtout chez les mères 31.25% avec un proportion égale (5/16) dans les deux types des familles.
- ✓ La couleur jaune trouvé la plupart des cas dans les urines des enfants normaux et autistes.

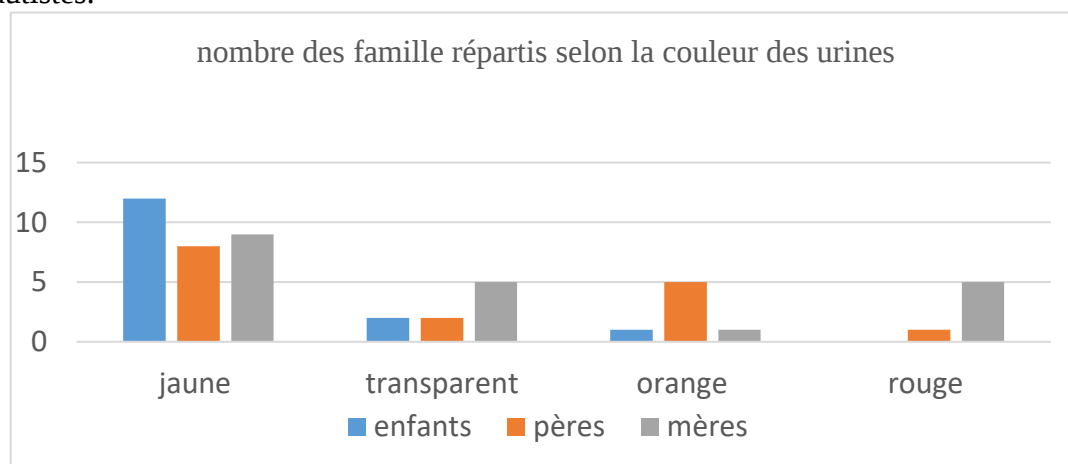


Figure 11: Répartition des patients selon la couleur des urines observés

Tableau 5: pourcentage des patients réparties selon la couleur des urines observés.

	Enfants	Pères	Mères
Jaunes	(76%)	(50%)	(56.25%)
Transparent	(12.5%)	(12.5%)	(31.5%)
Orange	(12.5%)	(32.25%)	(12.5%)
Rouge	0	(6.25%)	0

2. Résultats de teste pH

2.1. Famille ayant un enfant autiste

Les résultats montrent que la majorité des enfants autistes ont des urines acides cette observation concerne aussi les pères, par contre les mères ont plus d'urines neutres et basiques.

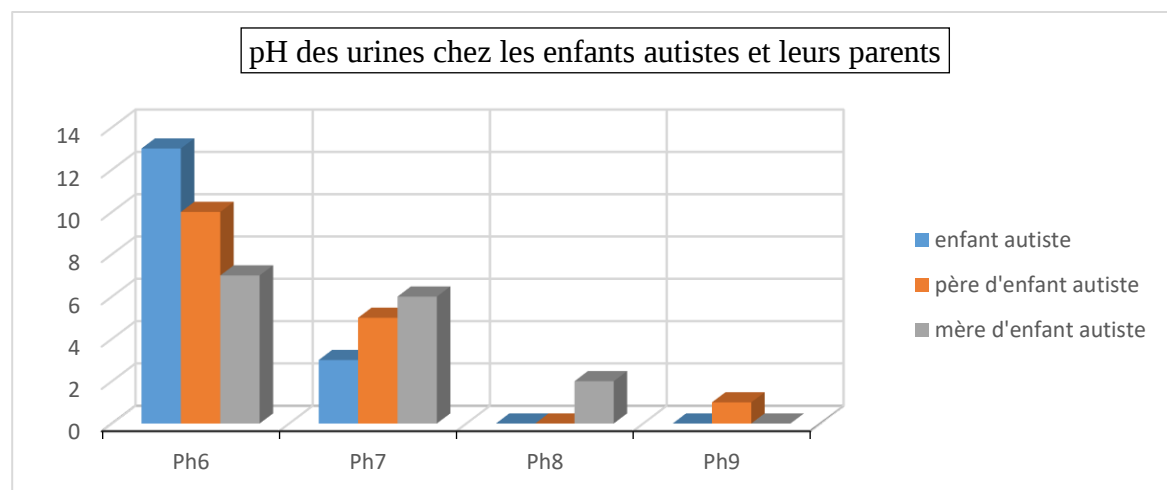


Figure 12: Répartition des patients selon le pH chez les familles ayant un enfant autiste.

Tableau 6: pourcentage des sujets organisés selon le pH chez les familles ayant un enfant autiste.

	Enfant autiste	Père d'enfant autiste	Mère d'enfant autiste
Ph6	(81.25%)	(62.5%)	(43.75%)
Ph7	(18.75%)	(31.25%)	(37.5%)
Ph8	0	0	(12.5%)
Ph9	0	(6.25%)	(6.25%)

2.2. Familles normales

Les résultats montrent que la majorité des enfants normaux ont des urines acides mais contrairement aux pères ayant un enfant autiste les pères des enfants normaux comme les mères présentent plus d'urines neutres et basiques qu'acides.

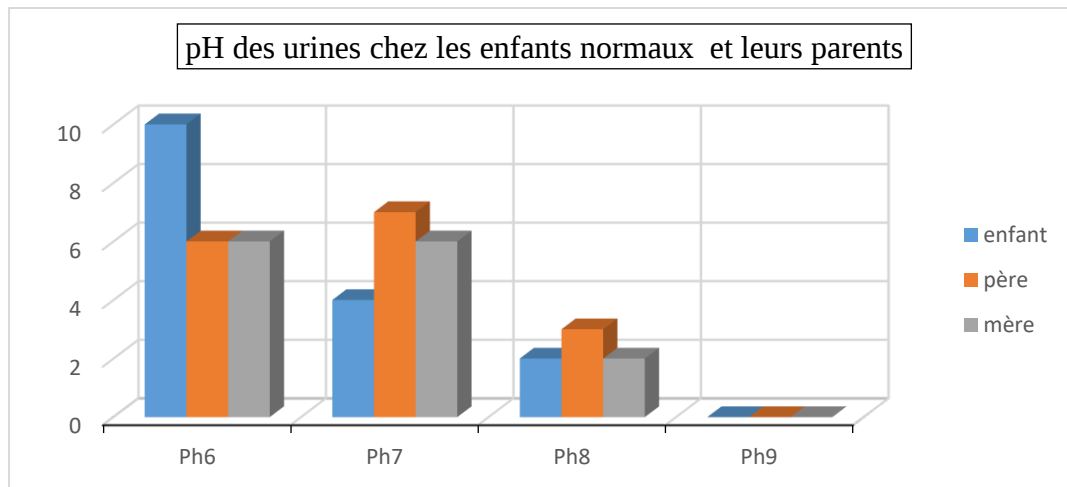


Figure 13: Répartition des patients selon le pH chez les famille normal.

Tableau 7: pourcentage des sujets organiser selon le pH chez les famille normale.

	Enfant	Père	Mère
Ph6	(62.5%)	(37.5%)	(37.5%)
Ph7	(25%)	(43.75%)	(50%)
Ph8	(12.5%)	(18.75%)	(12.5%)
Ph9	0	0	0

3. Dénombrement des bactéries, moisissures et levures

➤ dénombrement des moisissures chez les enfants normaux et autistes et leurs parents

Les résultats montrent qu'il n'y a pas une différence dans le nombre des sujets qui présentent une infection urinaire par des champignons entre les familles ayant un enfant autiste et les familles normales avec toujours une proportion plus élevée chez les parents jusqu'à la moitié.

- ✓ Il n'y a pas une différence significative dans l'infection par les champignons entre les familles normales et les familles ayant un enfant autiste.

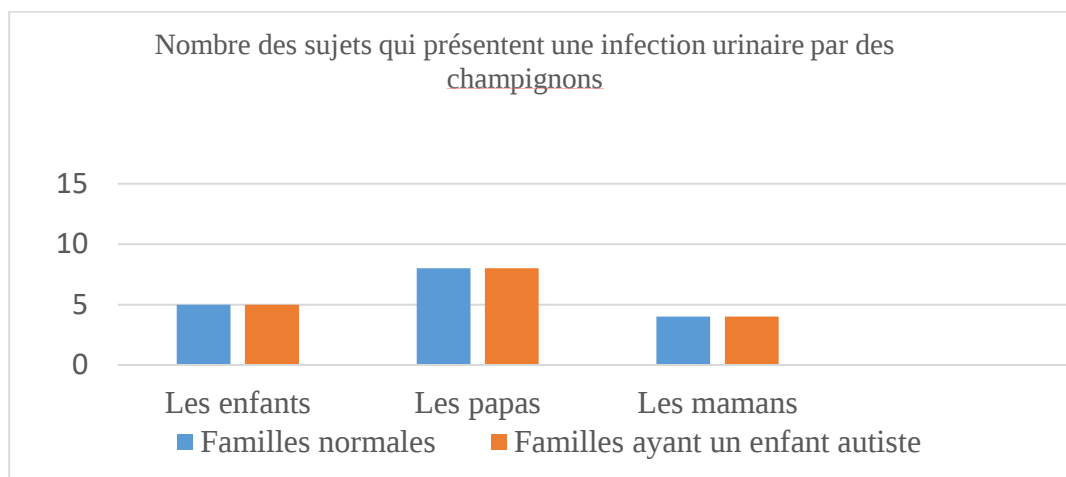


Figure 14: Répartition de sujets selon le nombre infectés par des champignons

Tableau 8: sujets réparties selon le pourcentage d'infection par les champignons.

	Enfants	Pères	Mères
Familles ayant un enfant autiste	(31.25%)	(50%)	(25%)
Famille normale	(31.25%)	(50%)	(25%)

➤ **Dénombrement des bactéries chez les enfants normaux et autistes et leurs parents**

Les résultats montrent:

- ✓ Aucune infection urinaire bactérienne chez les enfants autistes et normaux.
- ✓ Les urines des mères des enfants autistes sont plus infectées (4/16) par les bactéries que les urines des mères des enfants normaux (1/16).
- ✓ Un taux de 18.75% (3/16) présent dans les urines des pères des deux types de famille normale et autiste.

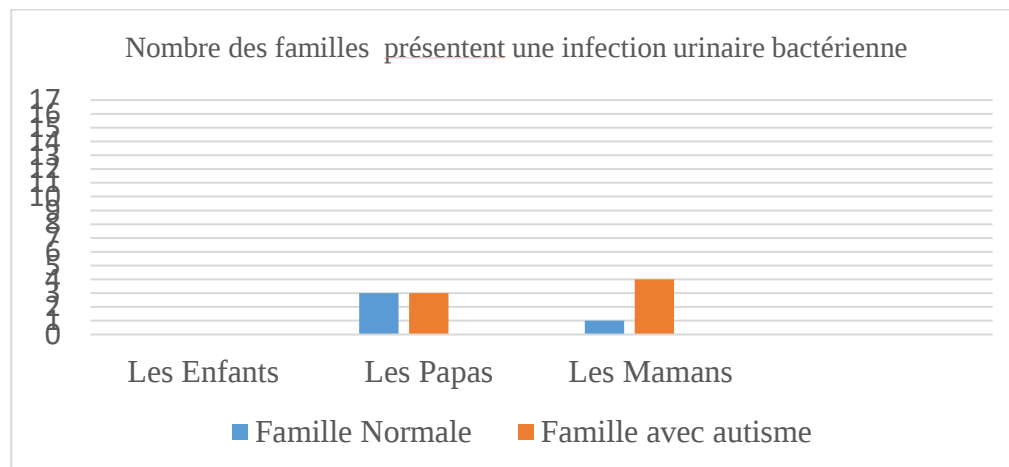


Figure 15: Répartition de sujets présentant une infection urinaire bactérienne

Tableau 9: pourcentage des sujets infectés par les bactéries.

	Enfants	Pères	Mères
Famille ayant un enfant autiste	0	(18.75%)	(25%)
Familles normale	0	(18.75%)	(6.25%)

➤ **dénombrement des Levures chez les enfants normaux et autistes et leurs parents.**

Les résultats montrent que la moitié 50 % (8/16) des urines des enfants autistes sont plus infectées par les levures par rapport aux urines des enfants normaux (2/16). Les proportions entre sujet infectés et non infectés semblent être les mêmes entre les pères et les mères de deux types de familles.

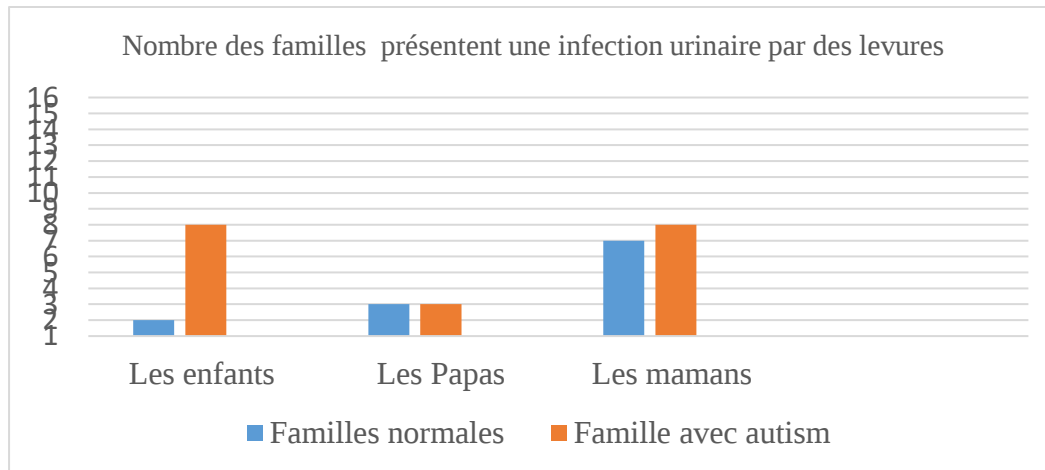


Figure 16: Répartition des sujets selon le nombre d'infection urinaire par des levures

Tableau 10: pourcentage des sujets présentent une infection par les levures.

	Enfants	Pères	Mères
Familles ayant un enfant autiste	(50%)	(18.75%)	(50%)
Familles normales	(12.5%)	(18.75%)	(43.75%)

4. Résultat de l'observation macroscopique et microscopique des moisissures et levures

Certaines souches de moisissures étaient facile à identifier selon la forme de colonie en boîte pétrie et la forme de spores sous microscope comme le *Penicillium* et l'*Aspergillus Fumigatus*, mais la majorité des colonies pour être identifié il faut passer aux techniques de biologie moléculaire

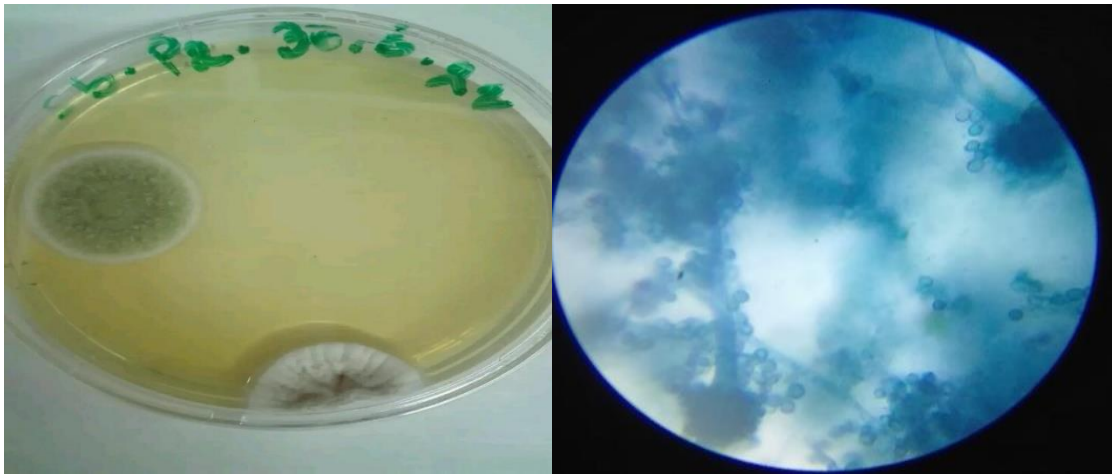


Figure 17: colonie *Aspergillus fumigatus*

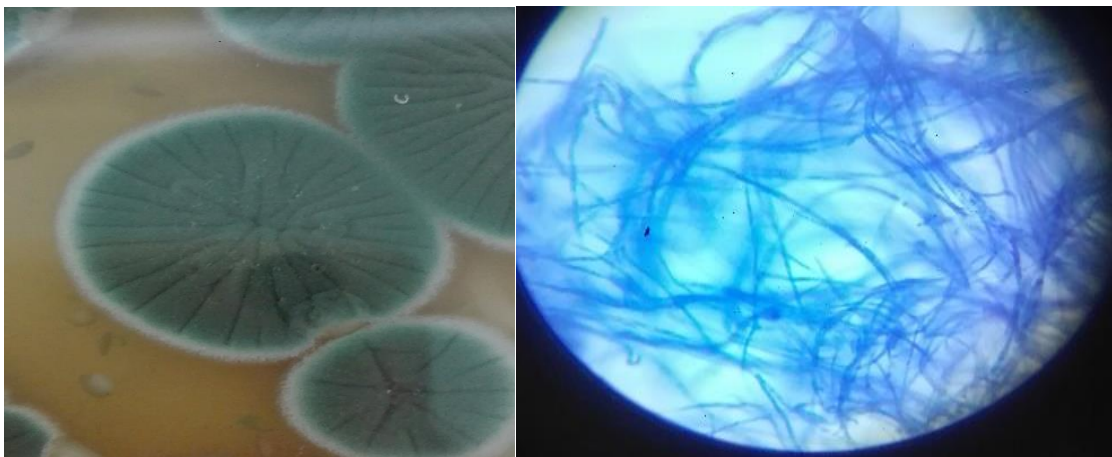


Figure18: colonie de *penicillium*

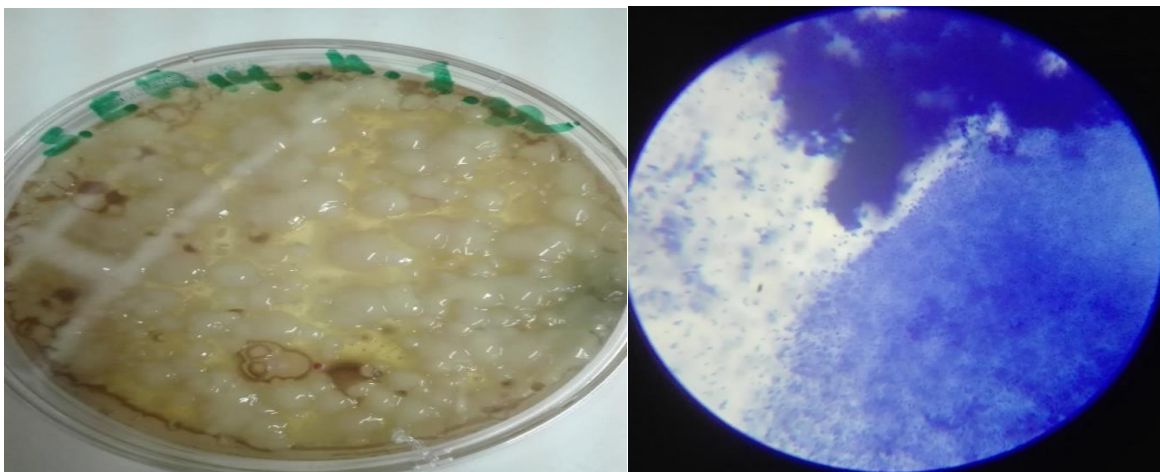


Figure 19: Forme de levure sous microscope

Discussion

L'étiologie de l'autisme n'a pas été complètement identifiée. Des causes génétiques, environnementales et infectieuses sont incriminées dans cette pathologie. Beaucoup d'études (**Karl et al., 2018**) ont démontré des déséquilibres dans la flore intestinale chez ces enfants atteints d'autisme. Cette étude est un essai préliminaire avant une étude de la flore urinaire avec séquençage d'ADN. Notre étude précédente avait montré des infections par des champignons dans les urines des enfants autistes, cette infection est décrite seulement chez les sujets immunodéprimés.

Dans cette étude des urines prélevées chez les parents ont été analysé comme un contrôle de l'environnement de l'enfant, des sujets normaux ont été aussi intégrés dans l'étude comme contrôle négatif.

Nos résultats ont montré que le trouble des urines qui est causé par la présence des leucocytes et qui témoigne d'une infection urinaire est élevé notamment chez les pères dans les deux types de familles avec une proportion semblable à celle de dénombrement des champignons. Cette corrélation concerne que l'infection par les champignons car chez les enfants autistes le nombre des sujets infectés par des levures est le nombre des urines troubles ne sont pas proportionnels.

La couleur jaune des urines est considérée comme normale (**Ammhaouch., 2017**). C'est également les urines des pères des deux types de familles qui présentent des urines orange et rouges. Cette observation témoigne d'une déshydratation et confirme l'état d'infection.

En dehors des pathologies les perturbations acido-basiques proviennent de l'alimentation et du mode de vie comme le stress le manque d'activité physique, la consommation des sucres et des féculs, les produits laitiers et viandes rouges (**Gougoux., 2005**). Les enfants des deux type de familles présentent des urines acides probablement à cause de l'alimentation actuelle. Les troubles acido-basiques notamment l'acidose est la cause des troubles digestifs, les allergies alimentaires les déséquilibres de calcium et de magnésium et ces problèmes sont très fréquents chez les enfants autistes.

Le dénombrement des bactéries sur GN est surtout un contrôle par la qualité du prélèvement et les résultats témoignent d'une absence de contamination bactérienne chez la majorité des sujets. Les quelques cas d'infection sont observés chez les femmes ça peut être soit une vrai infection bactérienne ou une contamination lors de prélèvement comme les deux vois vaginales et urinaires ne sont pas bien séparés physiquement (**cotillard et al., 2013**). En tout cas il n y a pas de difference entre les mamans d'enfants normaux et les familles d'enfants autistes. Ça était démontré que les mamans des enfants

autistes souffrent d'un stress post traumatique, mais ça ne semble pas se traduire par une immunodépression par rapport les mamans d'enfants normaux.

Le dénombrement des champignons montre que cette infection peut être présente sans l'apparition de symptômes caractéristiques. Cette infection aussi était considérée comme une infection qui touche des sujets immunodéprimés, âgés, hospitalisé sous chimiothérapie. L'infection peut être d'origine externe, mais les résultats de cultures bactérienne sur GN témoignent d'une bonne qualité de prélèvement. Pour des résultats plus pertinents il faut faire un prélèvement avec une sonde et faire un séquençage d'ADN pour éviter toute source d'infection.

Le dénombrement des levures sur saboreau chloromphénicole Montre la présence de cette infection chez les mères ça peut être une contamination par les levure de vagin, mais le résultat le plus élevé est chez les enfants autistes. Ça a déjà été démontré dans la littérature que ces enfants sont très infectés par des levures dans le tube digestif (**Kabirou., 2002**). Ce qu'est intéressant est de donner à ces enfants des traitements antifongiques et voir si il y a un changement dans la sévérité des symptômes de l'autisme.

Conclusion :

Le microbiote urinaire est considéré de plus en plus comme un partenaire symbiotique contribuant au bon état de santé générale de l'organisme. Des études récentes rapportent ces perturbation (dérégulation du microbiote) dans les trouble psychiatrique (autisme).

La flore digestive normale est habituellement le réservoir des bactéries et champignons retrouvés dans les inféction urinaires. L'infection est favorisée par la présence d'une anomalie fonctionnelle ou organique responsable de la colonisation de l'urine vésicale.

Le but de l'analyse de base de l'urine est de fournir des informations pour le diagnostic le contrôle est la prévention des maladies psychiatrique ainsi que les maladies des vois urinaires.

Beaucoup d'études ont démontré des déséquilibres dans la flore intestinale et urinaires chez ces enfants atteints d'autisme. Notre étude quant à fait sur les 16 familles autistes et normales result que

- ✓ La plupart des pères d'enfants autistes ont des urines trouble 56.25%.
- ✓ La couleur orange et rouge des urines appartiennent surtout aux pères avec un taux de 43.75 % (6/16) dans les familles autistes.
- ✓ Le pH Acide présent dans plusieurs cas des pères d'enfants autistes
- ✓ La moitié d'enfants autistes sont infectés par les levures.

Les résultats nécessitent plus d'investigation notamment un séquençage d'ADN pour la caractérisation des types de levures chez les enfants autistes, et des examens biochimiques pour les urines des pères des enfants autistes. Une corrélation aussi avec l'évolution des symptômes des enfants autistes après traitements par les antifongiques est necessaire.

Référence bibliographique

A

Alman , B ., Attia,s.,Baumgarten , Benson,C., Blay,j.y.,Bonvalot,s. ;Zafiroopoulos ;N (2020). The management of desmoid tumours :a joint global consensus -based guideline approach for adult and paediatric patients . European journal of cancer ; 127,96-107

B

Baird, G., Simonoff, E., Pickles, A., Chandler, S., Loucas, T., Meldrum, D., & Charman, T.

Bourlioux P Actualité du microbiote intestinal.A.Fr. janv 2014 ;72(1) :15-21. Modifié d ‘après Biology of microorganisms, B., Pearson Eds (12ème edition, 2009), p817.,

Brown L, Kessler A, Cabezas-Sanchez P, Luque-Garcia JL, Casadevall A. Extracellular vesicles produced by the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis* are disrupted by the lipopeptide surfactin. *Mol Microbiol.* 2014; 93:183–198. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

C

Clavel, T. (2019). Microbiote intestinal, lipides alimentaires et maladies métaboliques. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 54(6), 347-353. Doi: 10.1016/j.cnd.2019.07.005.

Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 2012, 148: 1258-70.

Corthier, G., Sokol, H., Doré, J. (2007). Diversité du microbiote et de ses fonctions. *Obésité*, 2(3), 215-220. Doi: 10.1007/s11690-007-0064-6.

D

Damgaard, C., Magnussen, K., Nevold, C., Nilsson, M., Tolker-Nielsen, T., Holmstrup, p., et al. (2015). Des bactéries viables associées aux globules rouges et au plasma dans des dons de sang fraîchement dessinés. *Plos un 10* : E0120826. Doi : 10.1371 / journal. Pone.0120826.

De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poulet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>.

Descoins, L. (2017). Microbiote et cerveau : corrélation avec les pathologies neurologiques et psychiatriques. Thèse du diplôme docteur en Pharmacie, France : Université ToulouseIII Paul Sablier, 86p.

DeStefano, F., & Thompson, W. W. (2004). MMR vaccine and autism: an update of the scientific evidence. *Expert Review of Vaccines*, 3(1), 19–22.

E

E. Louis, P. Marteau, Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, Dion, 2009, p. 107.

Estella B 2019 source urobiome up dates : advences in urinary microbiome recaerch.

F

Fombonne E. Troubles sévères du développement : le bilan à l'adolescence. Paris: CTNERH, 1995.

G

Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F. & Dinan, T. G. Brain-Gut-Microbe Communication in Health and Disease. *Front. Physiol.* 2, (2011).

Guibert C, Beaud L. Différence entre autisme de Kanner et psychose infantile : déficits d'unité vs d'identité de la situation ? *Psychiatrie de L'Enfant* 2005 ; 48: 391–423. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)] .

H

Haag, G. (1995). Grille de repérage clinique des étapes évolutives de l'autisme infantile traité. *La Psychiatrie de l'enfant*, 38(2), 495–527.

Horz, H. P., Scheer, S., Huenger, F., Vianna, M. E., & Conrads, G. (2008). Selective isolation of bacterial DNA from human clinical specimens. *Journal of microbiological methods*, 72(1), 98-102.

J

jaglin, M. (2013). Axe intestin-cerveau : effets de la production d'indole par le microbiote intestinal sur le système nerveux central. Thèse du doctorat : Biologie, France: Université Paris Sud, 291p.

Jaglin, M. (2013). Axe intestin-cerveau : effets de la production d'indole par le microbiote

Jang SC, Kim SR, Yoon YJ, Park KS, Kim JH, Lee J, Kim OY, Choi EJ, Kim DK, Choi DS, Kim YK, Park J, Di Vizio D, Gho YS. In vivo kinetic biodistribution of nano-sized outer membrane vesicles derived from bacteria. *Small*. 2015;11:456–461. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

K

Kang CS, Ban M, Choi EJ, Moon HG, Jeon JS, Kim DK, Park SK, Jeon SG, Roh TY, Myung SJ, Gho YS, Kim JG, Kim YK. Extracellular vesicles derived from gut microbiota, especially *Akkermansia muciniphila*, protect the progression of dextran sulfate sodium-induced colitis. *PLoS One*. 2013;8:e76520. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Kanner, L., & others. (1943). Autistic disturbances of affective Haag, G. (1995). Grille de repérage clinique des étapes évolutives de l'autisme infantile traité.

L

Landman C, Quevrain E (2016) [Gut microbiota: Description, role and pathophysiologic implications]. *La Revue de medecine interne* 37:418-423.

Lee EY, Choi DY, Kim DK, Kim JW, Park JO, Kim S, Kim SH, Desiderio DM, Kim YK, Kim KP, Gho YS. Grampositive bacteria produce membrane vesicles: proteomics-based characterization of *Staphylococcus aureus*-derived membrane vesicles. *Proteomics*. 2009;9:5425–5436. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)].

Lee, Y., Park, J. Y., Lee, E. H., Yang, J., Jeong, B. R., Kim, Y. K., ... & Kim, E. J. (2017). Rapid assessment of microbiota changes in individuals with autism spectrum disorder using bacteria-derived membrane vesicles in urine. *Experimental neurobiology*, 26(5), 307.

Lord, C., Rutter, M., & Couteur, A. L. (1994). Autism Diagnostic Interview-Revised: A revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 24(5), 659–685.

Lotter, V. (1966). Epidemiology of autistic conditions in young children. *Social Psychiatry*, 1(3), 124–

Lovell,B., Moss., Wetherell , M . (2012). The psychosocial , endocrine and immune consequences of caring for a child with autism ar ADHD. *Psychoneuroendocrinology* 37 (4) , 534-542.

M

Macpherson, A. J., & Harris, N. L. (2004). Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature reviews. Immunology*, 4(6), 478–485. <https://doi.org/10.1038/nri1373>.

Maldonado R, Wei R, Kachlany SC, Kazi M, Balashova NV. Cytotoxic effects of *Kingella kingae* outer membrane vesicles on human cells. *Microb Pathog.* 2011;51:22–30. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].

Markova, N. (2019). Dysbiotic microbiota in autistic children and their mothers: persistence of fungal and bacterial wall-deficient L-form variants in blood. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10

Mazzoli, R., & Pessione, E. (2016). The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1934. Doi:10.3389/fmicb.2016.01934.

Mazzoli, R., & Pessione, E. (2016). The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1934. Doi:10.3389/fmicb.2016.01934.

Mottron, L. (2004). L'autisme, une autre intelligence : diagnostic, cognition et support des personnes autistes sans déficience intellectuelle. Editions Mardaga.

P

Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ (2002) the microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS microbiology letters* 217: 133-139.

R

Rizzolatti, G., Fabbri-Destro, M., & Cattaneo, L. (2009). Mirror neurons and their clinical relevance. *Nature Clinical Practice Neurology*, 5(1), 24–34.

Rodier ,p.M., Hyman , S.L . (1998). Early environmental factors in autism . *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* , 4 (2) , 121-128

Rosenberg, R. E., Law, J. K., Yenokyan, G., McGreevy, J., Kaufmann, W. E., & Law, P. A. (2009). Characteristics and concordance of autism spectrum disorders Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE.

Rosenberg, R.E., Law, J.K., Yenokyan, G., McGready, J., Kaufmann, W.E., et Law, P.A. (2009). Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. *Arch Pediatr Adolesc Med* 163, 907–914.

Rosenberg, R.E., Law, J.K., Yenokyan, G., McGready, J., Kaufmann, W.E., et Law, P.A. (2009). Characteristics and concordance of autism spectrum disorders among 277 twin pairs. *Arch Pediatr Adolesc Med* 163, 907–914.

Ruiz L, Moles L, Gueimonde M, and Rodriguez JM. 2016. Perinatal microbiomes' influence on preterm birth and preterms' health: influencing factors and modulation strategies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 63: e193–e203. [Crossref](#) [PubMed](#) [Google Scholar](#).

S

Salonen, A., & de Vos, W. M. (2014). Impact of diet on human intestinal microbiota and health. *Annual review of food science and technology*, 5, 239–262. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182554>. intestinal sur le système nerveux central. Thèse du doctorat : Biologie, France:

T

Tang, G., Gudsnuk, K., Kuo, S.-H., Cotrina, M. L., Rosoklija, G., Sosunov, A., ... Sulzer, D. (2014). Loss of mTOR-Dependent Macro autophagy Causes Autistic-like Synaptic Pruning Deficits. *Neuron*, 83(5), 1131–1143.

Taylor, B., Miller, E., Farrington, Cp., Petropoulos, M.-C., Favot-Mayaud, I., Li, J., & Waight, P. A. (1999). Autism and measles, mumps, and rubella vaccine: no epidemiological evidence for a causal association. *The Lancet*, 353(9169), 2026–2029. Trevarthen, C., & Aitken, K. J. (2003).

Intersubjectivité chez le nourrisson : recherche, théorie et application clinique. *Devenir*, 15(4), 309–428.

Tordjman , s ., Gutknecht , L., Carlier, M ., spitz E., Antoine , C ., Slama , F .,Anderson , G.M (2001) . Role OF the serotonin transporterbgene in the behavioral expression of autism. *Molecular psychiatry* , 6(4) ,434-439.Université Paris Sud, 291p.

V

Vogt, N. M., Kerby, R. L., Dill-McFarland, K. A., Harding, S. J., Merluzzi, A. P., Johnson, S. C., Bendlin, B. B. (2017). Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific reports*, 7(1), 1-11. Doi: 10.1038/s41598-017-13601-y.

W

Weber, T. K., & Polanco, I. (2012). Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review. *Gastroenterology research and practice*, 2012, 676585. <https://doi.org/10.1155/2012/676585>.

Webet,T.K ; Polanco, I. (2012). Gastrointestinal microbiota . Gastrointestinal microbiota and some children diseases: a review *Gastroenterology research and practice*, 2012,.676585 .

Whiteside SA , RazviH, Daves et al the microbiome of the urinary tract a role beyond infection Nat Rev urol 2015 feb 12 (2) :81.90.

Wing L, Gould J. Severe impairments of social interaction and associated abnormalities in children: epidemiology and classification. J Autism Dev Disord 1979 ; 9 : 11–29. [\[Google Scholar\]](#)

Z

Zwaigenbaum, L., Bryson, S.E., Szatmari, P., Brian, J., Smith, I.M., Roberts, W., Vaillancourt, T., et Roncadin, C. (2012). Sex differences in children with autism spectrum disorder identified within a high-risk infant cohort. J Autism Dev Disord 42, 2585–2596.

