



Les candidats doivent remplir cette page puis remettre cette chemise accompagnée de la version finale de leur mémoire à leur superviseur.

Numéro de session du candidat

Nom du candidat

Nom de l'établissement

Sessions d'examens (mai ou novembre)

Mai

Année

2015

Matière du Programme du diplôme dans laquelle ce mémoire est inscrit : Biologie

(Dans le cas d'un mémoire de langue, précisez la langue et s'il s'agit du groupe 1 ou 2.)

Titre du mémoire : Étude sur les propriétés antibactériennes de la
salive des *Canis lupus familiaris*

Déclaration du candidat

Cette déclaration doit être signée par le candidat, sans quoi une note de zéro sera attribuée au travail.

Le mémoire ci-joint est le fruit de mon travail personnel (mis à part les conseils permis par le Baccalauréat International que j'ai pu recevoir).

J'ai signalé tous les emprunts d'idées, d'éléments graphiques ou de paroles, qu'ils aient été communiqués originellement par écrit, visuellement ou oralement.

Je suis conscient que la longueur maximale fixée pour les mémoires est de 4 000 mots et que les examinateurs ne sont pas tenus de lire au-delà de cette limite.

Ceci est la version finale de mon mémoire.

Signature du candidat : _____

Date : 18/02/2015

Rapport et déclaration du superviseur.

Le superviseur doit remplir ce rapport, signer la déclaration et remettre au coordonnateur du Programme du diplôme la version définitive du mémoire dans la présente chemise.

Nom du superviseur [en CAPITALES] _____

Le cas échéant, veuillez décrire le travail du candidat, le contexte dans lequel il a entrepris sa recherche, les difficultés rencontrées et sa façon de les surmonter (voir les pages 13 et 14 du guide Le mémoire). L'entretien de conclusion (ou soutenance) pourra s'avérer utile pour cette tâche. Les remarques du superviseur peuvent aider l'examineur à attribuer un niveau pour le critère K (évaluation globale). Ne faites aucun commentaire sur les circonstances personnelles défavorables qui auraient pu affecter le candidat. Si le temps passé avec le candidat est égal à zéro, vous devrez l'expliquer et indiquer comment il vous a été possible de vérifier que le mémoire était bien le fruit du travail du candidat en question. Vous pouvez joindre une feuille supplémentaire si l'espace fourni ci-après est insuffisant.

L'étudiante a bien travaillé. Par contre, elle trouve que la planification des expériences est assez faible. Il aurait été facile d'améliorer l'expérience en planifiant mieux les gélules et l'utilisation de la salive. J'ai rencontré à quelques reprises. Elle était motivée, à son affaire et assez organisée. La finition et la présentation présentent certaines lacunes.

Cette déclaration doit être signée par le superviseur, sans quoi une note de zéro sera attribuée au travail.

J'ai lu la version finale du mémoire qui sera envoyée à l'examineur.

À ma connaissance, le mémoire constitue le travail authentique du candidat.

Comme indiqué dans la section « Responsabilités du superviseur » du Guide du mémoire, il est recommandé au superviseur de consacrer entre trois et cinq heures d'encadrement à chaque candidat. Les établissements seront contactés si le champ destiné au nombre d'heures n'a pas été rempli ou s'il a été rempli avec un 0 sans qu'aucune explication ne soit apportée. Les établissements seront également contactés si le nombre d'heures d'encadrement est sensiblement supérieur à la recommandation du guide.

J'ai consacré heures d'encadrement au candidat pour ce mémoire.

Signature du superviseur :

Date : 19/2/2015

Formulaire d'évaluation (réservé à l'examinateur)

Numéro de session du candidat		
-------------------------------	--	--

Critères d'évaluation	Niveau					
	L'examinateur 1	Max.	L'examinateur 2	Max.	L'examinateur 3	
A Question de recherche	2	2		2		
B Introduction	2	2		2		
C Recherche	2	4		4		
D Connaissance et compréhension du sujet étudié	2	4		4		
E Raisonnement	3 →	4		4		
F Utilisation des compétences d'analyse et d'évaluation adaptées à la matière	2	4		4		
G Utilisation d'un langage adapté à la matière	3	4		4		
H Conclusion	1	2		2		
I Présentation formelle	2	4		4		
J Résumé	1	2		2		
K Évaluation globale	2	4		4		
Total sur 36	22					

Nom de l'examinateur 1 : _____
[en CAPITALES]

Code de l'examinateur : _____

Nom de l'examinateur 2 : _____
[en CAPITALES]

Code de l'examinateur : _____

Nom de l'examinateur 3 : _____
[en CAPITALES]

Code de l'examinateur : _____

Réservé au Centre de l'évaluation de l'IB : B : _____

Réservé au Centre de l'évaluation de l'IB : A : _____

Programme du baccalauréat international en science santé

Biologie

MÉMOIRE

Étude sur les propriétés antibactériennes de la salive des *Canis lupus familiaris*

Travail présenté à

L'organisation du Baccalauréat international

TABLE DES MATIÈRES

	Page
RÉSUMÉ.....	3
INTRODUCTION.....	4
Conception :	
-But.....	5
-Théorie.....	5
-Hypothèse.....	7
-Variables.....	8
-Protocole.....	10
Résultats :	
- Données brutes.....	14
-Traitement des données.....	16
-Données transformées.....	17
Analyse des résultats.....	18
Évaluation et améliorations possible de la méthode.....	20
CONCLUSION.....	23
RÉFÉRENCE.....	24
ANNEXE 1.....	25
BIBLIOGRAPHIE.....	26

RÉSUMÉ

Le mémoire ci-dessous consiste en un laboratoire de microbiologie. En effet, la question de recherche qui guide tout le travail est la suivante : La salive de *Canis lupus familiaris* aura-t-elle un effet sur la croissance de la bactérie *Staphylococcus epidermidis* dans des conditions de laboratoire? Une importante recherche démontre les propriétés antibactériennes de la salive humaine, dont la composition est pratiquement identique à la salive de *Canis lupus familiaris*. Elle contiendrait, entre autres, des lysozymes, des IgA, de la lactoferrine et une enzyme nommée lactoperoxydase. La bactérie utilisée *S.epidermidis* est une bactérie gram positif donc sensible à plusieurs antibiotiques dont la Nafcilline et la Vancomycine. Elle est néanmoins résistante à la pénicilline. L'expérience consistait en un antibiogramme sur un tapis de bactéries. On remplaçait les antibiotiques par des pastilles imbibées de salive de chiens provenant de trois chiens différents. Des témoins positifs, soient des antibiotiques, et négatifs, soit de l'eau saline, ont aussi été réalisés. Aucune claire conclusion n'a pu être tirée des résultats obtenus. En effet, il n'y avait aucune zone d'inhibition présente autour des disques de salive canine. Toutefois, la salive n'étant pas stérile, il était impossible de conclure que la salive n'avait pas de propriétés antibactériennes. De plus, autour des tampons de salive, il y avait un disque plus opaque de bactéries. Puisque le niveau de sécurité du laboratoire ne permettait pas d'ouvrir les géloses et donc de différencier les différentes bactéries, il était impossible de savoir si cette zone était due à la présence initiale de bactéries dans la salive canine ou encore d'une croissance accélérée de *S. epidermidis*. La congélation de la salive, la possible contamination de celle-ci par des bactéries canines ainsi que la mauvaise gestion des répliques sont des erreurs qui peuvent justifier un écart à la théorie.

1

INTRODUCTION

Les chiens font partis de notre vie quotidienne. En effet, ils sont souvent représentés comme le meilleur ami de l'homme. Au Québec, près d'un quart des ménages possède un chien. Effectivement, 24% des foyers posséderaient au moins un chien selon un sondage de léger marketing réalisé pour l'association des médecins vétérinaires du Québec en pratique des petits animaux.[1] Ils sont donc très présents partout autour de nous et nous sommes sujet à leur être en contact régulièrement. Ceux qui ont des amis canins ou qui en ont déjà eu savent que lorsqu'ils sont blessés ou qu'ils perçoivent une blessure chez autrui qu'ils sont par instinct tentés de lécher la plaie. Certaines rumeurs affirment que la salive canine aurait des propriétés antibactériennes et donc qu'elle favoriserait la guérison. Le but de cette expérimentation était de découvrir, par un raisonnement scientifique et par des tests en laboratoire, la véracité de cet énoncé. La question centrale de recherche permettant d'y arriver est la suivante : La salive de *Canis lupus familiaris* aura-t-elle un effet sur la croissance de la bactérie *Staphylococcus epidermidis* dans des conditions de laboratoire? Ainsi, en exposant des bactéries retrouvées à la surface de la peau et qu'elle pénètre facilement dans le corps par une légère coupure, il sera possible de voir si la salive canine est capable de les éliminer par des quelconques propriétés chimiques antibactériennes.

CONCEPTION

Question de recherche :

La salive de *Canis lupus familiaris* aura-t-elle un effet sur la croissance de la bactérie *Staphylococcus epidermidis* dans des conditions de laboratoire?

2

Théorie :

Composition de la salive

Premièrement, il est important de définir que la salive des chien est très semblable à celle de l'humain. En effet, selon le Traité de chimie générale, les chiens auraient plus de matières solides, organiques et inorganiques, dans leur salive, mais le reste de la composition de celle-ci est entièrement identique. [2] De plus, dans le livre Leçons d'anatomie comparée, Lauret et Lassagne ont analysé de la salive de chien, de cheval et d'humain pour ce rendre compte qu'elle était identique. [3] De ce fait, on peut supposer qu'un élément présent dans la salive humaine a de fortes chances de se retrouver dans la salive canine.

La salive humaine est une substance composée de plusieurs éléments chimique qui à plusieurs fonctions. Elle est en grande majorité composée d'eau (97-99,5%) [4]. Toutefois, il y a plusieurs autres éléments essentiels qui se retrouvent dans notre salive. Par exemple, elle contient aussi de la mucine, des bicarbonates, des enzymes (amylase salivaire) et plusieurs produits antibactériens. Chacun de ces composés possède une fonction bien précise. En effet, l'eau sert, entre autre, à l'humidification du bol alimentaire et la solubilisation des substances. La mucine quant à elle sert à la déglutition. Les enzymes remplissent plusieurs fonctions. Elles servent à la digestion des glucides. L'amylase salivaire permet de séparer les sucres complexes en disaccharides. Finalement, les produits antibactériens présents dans la salive ont comme rôle principal d'éviter l'entrée des agents pathogènes provenant de l'extérieur du corps, c'est-à-dire provenant de la surface de la peau, des aliments consommés ou de l'air ambiant, par le

tube digestif. Ce sont donc ces éléments qui nous intéressent dans le cadre de ce laboratoire. Les principaux composés antibactériens présents sont les lysozymes, les Immunoglobulines A (IgA), la lactoperoxidase et la lactoferrine. [4]

Éléments antibactériens (enzymes à action antibactérienne)

Tout d'abord, les lysozymes sont des enzymes présentes naturellement dans la salive, la sueur, les larmes et plusieurs autres fluides du corps humain. Elles font parties du mécanisme de défense du corps. Cette enzyme agit comme un catalyseur afin de provoquer l'hydrolyse des molécules de peptidoglycane formant la paroi cellulaire des bactéries. Les bactéries sont donc détruites lorsqu'elles perdent leur paroi. Si l'on suit ce raisonnement, il est logique de dire que les bactéries les plus affectées par les lysozymes sont les bactéries gram positif puisqu'elles ont seulement une paroi de peptidoglycane tandis que les bactéries gram négatif ont aussi une membrane de lipopolysaccharides. [5]

Ensuite, la salive contiendrait de la lactoferrine. Elle peut agir en tant qu'agent antibactérien en se liant au fer. En effet, le fer est souvent utilisé par les agents pathogènes pour croître et se reproduire. La lactoferrine, quant à elle, se lie facilement au fer. Elle priverait donc les bactéries de fer et freinerait leur croissance. Elle agit aussi comme antibiotique et est encore plus efficace lorsqu'elle est utilisée avec les lysozymes. On remarque que la concentration en lactoferrine augmente dans les régions infectées. Toutefois, la salive prélevée ne sera pas un site d'infection donc sa concentration ne devrait pas être affecté par ce facteur.

Les IgA sont des protéines qui empêchent les agents pathogènes de se lier aux cellules des muqueuses et se retrouvent en grande partie dans la salive, les larmes et les autres sécrétions du corps humain.

De plus, la salive contient une enzyme appelée lactoperoxydase. Son rôle est d'utiliser le thiocyanate, provenant des bactéries déjà présentes dans la salive, comme substrat et de, par la suite, à l'aide de peroxyde oxyder ce dernier. Cela libère plusieurs ions qui vont dénaturer, c'est-à-dire rendre inactive, les protéines des bactéries. De ce

fait, les bactéries ne seront plus fonctionnelles sans leurs protéines inhibant ainsi leur pouvoir pathogène. Ces ions ne sont toutefois pas nocifs pour nos propres cellules. Cette enzyme est présente à la fois dans la salive, mais aussi dans les larmes et le lait maternel.

Staphylococcus Epidermidis

La bactérie utilisée afin de tester les propriétés antibactériennes de la salive de *Canis lupus familiaris* est *staphylococcus epidermidis*. C'est une bactérie dans la famille des staphylocoques blancs et elle est gram positif. C'est une bactérie que l'on considère d'opportuniste. En effet, elle vie naturellement sur notre épiderme et sur nos muqueuses. Toutefois, si une occasion se présente, elle entre dans notre corps et causes des infections. C'est pour cela que la majorité des infections avec *S. epidermidis* sont causés par des opérations avec des instruments contaminés. Cette bactérie se prête bien à l'expérience puisque c'est une bactérie présente sur la peau. De ce fait, lorsqu'un chien lèche une plaie c'est une bactérie qui est plutôt susceptible de s'introduire dans le corps. Ce n'est pas une bactérie très virulente comparativement à sa cousine staphylococcus aureus. Néanmoins, elle est assez résistante aux antibiotiques, notamment à la pénicilline. [6] Les principaux antibiotiques qui peuvent être utilisés contre *S. epidermidis* sont «Nafcillin, Vancomycin, Telavancin, Cefazoline, Clindamycin, Dicloxacillin, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Minocycline, Linezolid, Quinupristin/dalfopristin, Daptomycin et Tigecycline.» [7]

Hypothèse :

La salive de *Canis lupus familiaris* semble bel et bien avoir des propriétés antibactériennes capables de freiner la croissance de *staphylococcus epidermidis*. En effet, elle contiendrait, comme la salive humaine, des lysozymes qui sont des enzymes capables de détruire les bactéries et plus particulièrement les bactéries gram positif. *S. epidermidis* est une bactérie gram positif et devrait donc être affecté par les lysozymes

présents dans la salive. De plus, la salive contient plusieurs autres éléments antibactériens susceptibles de freiner la croissance de *S. epidermidis*.

Variables

Variables indépendante:

La variable indépendante de ce mémoire est nul autre que la salive de chien (*Canis lupus familiaris*). Elle sera mise en contact avec les bactéries grâce à un tampon de papier filtre. Ce dernier sera imbibé de salive canine avant d'être déposé sur la gélose nutritive contenant un tapis de bactérie. Il y aura tout d'abord une série de trois témoins positifs et négatifs. Cela veut donc dire qu'il y aura trois tampons de papier filtre imbibés d'eau distillée salée (qui n'affectera pas les bactéries) et trois d'antibiotique étant efficaces contre *Staphylococcus epidermidis*. Par la suite, il y aura des séries de papier filtre imbibées pour chacun des 3 échantillons de salive recueillis de 3 chiens différents, d'âges différents ainsi que de différentes race.

Une autre variable indépendante sera constituée des antibiotiques utilisés pour le témoin positif. En effet, les antibiotiques ne sont pas tous efficace contre *S. epidermidis*. Les antibiotiques utilisés seront de l'Ampiciline 10µg, du Sulfisoxazole 0,25 mg, de la Péniciline 10 iu/IE/ui, de l'Érythromycine 15 µg, de la Tétracycline 30 µg, de la Streptomycine 10 µg, du Chloramphénicol 30 µg et du Bacitracin 10 iu/IE/UI.

Variable dépendante :

La variable dépendante de cette expérimentation sera l'effet antibactérien de la salive de chien sur un tapis de bactéries (*S. epidermidis*) Cet effet sera quantifié grâce à la zone d'exclusion dans le tapis de bactérie sur gélose nutritive aux alentours des tampons de papier filtre enduit de salive canine. Elle sera mesurée en diamètre à l'aide d'une règle de 15 centimètres.

Variables contrôlées :

- Température : La température de l'incubateur doit demeurer la même tout au long du mémoire puisque certaines températures, 37 degrés par exemple, favorisent davantage la croissance de bactéries. De ce fait, il se pourrait que certains résultats soient erronés par une croissance plus rapide des bactéries ou dû tout simplement à une absence de bactéries. Pour éviter une telle erreur, les géloses contenant les bactéries seront placées dans une étuve où la température demeure à 37° Celsius. Puisque les bactéries qui nous intéressent plus particulièrement sont celles d'ordre médicale, leur température idéale de croissance est semblable à celle du corps humain, c'est-à-dire 37° Celsius.
- Quantité de salive : la quantité de salive déposée sur la gélose pour une certaine surface doit être constante. En effet, c'est la quantité de salive canine qui va déterminer la quantité d'agents antibactériens présents ou non dans celle-ci. Par exemple, s'il y a une concentration de 2 agents bactériens par microlitre de salive et que sur une gélose on dépose 100 microlitres de salive et que sur une autre on en dépose 50 microlitres de salive, il est très probable que sur la première gélose les effets des agents antibactériens se fassent plus ressentir. Afin d'être, dans la mesure du possible, précis et constant, la quantité sera mesurée par un tampon que l'on imbibera de salive, qui sera essuyé sur le rebord du contenant puis déposé sur la gélose.
- Type de bactérie : la bactérie utilisée pour cette expérimentation sera toujours la même soit *Staphylococcus epidermidis*. De ce fait, il sera possible d'évaluer les propriétés antibactériennes de la salive canine sur une seule souche de bactérie. En effet, il est possible que les éléments présents dans la salive canine permettent de se débarrasser de certaines bactéries spécifiques.
- Durée de l'incubation: Le temps destiné à l'incubation des géloses doit être constant pour toutes celles utilisées lors de cette expérimentation. En effet, les bactéries se multiplient très rapidement dans l'étuve. Si les géloses ne passent pas exactement le même temps dans l'étuve, il sera difficile de juger de la croissance des bactéries puisque celle-ci aura aussi été influencée par un temps

plus ou moins long dans l'étuve. Afin d'éviter toute confusion de ce genre, les géloses passeront exactement 24 heures à l'étuve.

- Concentration des bactéries du tapis : La concentration en bactéries du tapis doit être le plus constant possible. Afin de prévenir cette erreur et de contrôler cette variable, le tapis sera toujours fait à partir du même bouillon de bactéries qui sera bien brassé afin de s'assurer d'une concentration semblable en bactéries pour chacun des tapis. De plus, le tapis sera toujours fait à partir de 100 microlitres de bouillon de bactérie. Aussi, ce 100 microlitres sera étalé sur toute la surface de gélose de façon uniforme.

PROTOCOLE

Matériel

- 6 géloses nutritives (QUELAB)
- Tige d'étalement
- 6 morceaux de paraffine
- *Staphylococcus epidermidis* en solution concentrée
- Antibiotique contre *staphylococcus epidermidis* (Ampiciline 10µg, Sulfisoxazole 0,25 mg, Péniciline 10 iu/IE/ui, Érythromycine 15 µg, Tétracycline 30 µg, Streptomycine 10 µg, Chloramphénicol 30 µg et Bacitracin 10 iu/IE/UI)
- 15 tampons de papier de 6 mm de diamètre (Becton, Dickinson and Company Sparks, MD 21152)
- Pince
- Briquet
- Bécher
- Éthanol
- Micropipette et ses embouts
- 1 ml de salive d'un Golden retriever croisé avec un Labrador blond de 3 ans
- 1 ml de salive d'un husky croisé bouvier bernois de 5 mois
- 1 ml de salive d'un husky croisé bouvier bernois de 5 mois
- Crayon permanent

- 7 bouillons nutritifs (QUELAB)
- 1 écouvillon stérile
- 4 pipettes stériles
- 3 micro-tubes à centrifugeuse de 1,5 ml

Manipulations

PARTIE A : Ensemencer *staphylococcus epidermidis* afin d'avoir suffisamment de souches pour pouvoir réaliser l'expérience

1. À l'aide d'un écouvillon, récolter quelques colonies de *Staphylococcus epidermidis* provenant d'une gélose préalablement ensemencé par une technicienne.
2. Mélanger celles-ci dans un tube contenant x ml de bouillon.
3. À l'aide d'une pipette stérile, prélever environ 1 ml du bouillon précédent.
4. Déposer 5 gouttes dans chacun des 6 autres bouillons préalablement identifiés.
5. Refermer les bouillons et agiter légèrement.
6. Mettre les bouillons à l'étuve durant 24 h minimum ou jusqu'à l'apparition d'un nombre de bactéries suffisant.
7. Retirer les bouillons de l'étuve et les mettre au réfrigérateur jusqu'à la PARTIE D.

PARTIE B : Prélever les échantillons de salive canine

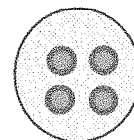
8. À l'aide d'une pipette stérile, prélever de la salive de chien sous la langue.
9. Déposer celle-ci dans un récipient pour centrifugeuse stérile de 1,5 ml préalablement identifié avec la date et les informations concernant le chien (nom, âge race etc.).
10. Répéter les étapes 7 et 8 jusqu'à ce qu'on obtienne 0.5 ml de salive.
11. Répéter les étapes 7 à 9 avec les deux autres chiens.
12. Mettre les récipients au congélateur jusqu'à la réalisation de la PARTIE D.

PARTIE C : Analyse de la présence bactérienne initialement présente dans la salive canine


13. À l'aide d'une micropipette, pipeter 100 µl de salive d'un chien.
14. Déposer le contenu de la pipette sur une gélose préalablement identifiée et séparée en trois parties.
15. Étendre la goutte de salive au moyen d'une tige d'étalement préalablement stérilisé à l'aide de l'éthanol.
16. Répéter les étapes 12 à 14 pour la salive des deux autres chiens.
17. Sceller hermétiquement la gélose à l'aide d'un morceau de paraffine.
18. Mettre la gélose à l'étuve pour 24 heures.
19. Noter le nombre de bactérie par 100µl de salive de chien pour les trois chiens.

PARTIE D : Évaluation de l'impact de la salive sur un tapis de *Staphylococcus Epidermidis*

20. À l'aide d'une micropipette, pipeter 100 µl d'un des bouillons de *staphylococcus epidermidis* préparés précédemment. (choisir un bouillon contenant une bonne quantité de la bactérie)
21. Déposer le bouillon prélevé sur une gélose préalablement identifiée avec le nom du chien.
22. Étendre la goutte déposée à l'aide de la tige d'étalement préalablement stérilisée (avec l'éthanol).
23. À l'aide de pinces stériles, prendre un tampon stérile et le tremper dans la salive de chien.
24. Lorsqu'il est bien imbibé, essuyer le surplus sur le rebord du contenant et déposer celui-ci sur la gélose.
25. Appuyer légèrement sur celui avec l'extrémité des pinces.
26. Répéter les étapes 22 à 24 trois autres fois afin d'avoir quatre tampons, soit quatre répliques, sur la gélose et qu'ils soient positionnés comme ceci :
27. Sceller la gélose à l'aide d'un morceau de paraffine.
28. Répéter les étapes 19 à 26 pour les deux autres chiens.
29. Mettre les trois géloses à l'étuve pour 24 heures.



PARTIE E : Préparation des témoins

30. Préparer la gélose du témoin négatif avec du bouillon de *staphylococcus epidermidis* tel qu'expliqué aux étapes 19 à 21.
31. À l'aide de pinces stériles, prendre un tampon stérile et déposer quelques gouttes d'eau saline sur celui-ci.
32. Lorsqu'il est bien imbibé, déposer celui-ci sur la gélose.
33. Appuyer légèrement sur celui-ci.
34. Répéter les étapes 22 à 24 trois autres fois afin d'avoir quatre tampons sur la gélose et qu'ils soient positionnés comme ceci : Le diagramme illustre un tampon stérile représenté par un grand cercle. À l'intérieur de ce cercle, quatre petits cercles sont disposés en une configuration carrée (deux en haut, deux en bas), indiquant les positions où l'eau saline doit être déposée.
35. Sceller la gélose avec un morceau de paraffine.
36. Préparer la gélose du témoin positif avec du bouillon de *staphylococcus epidermidis* tel qu'expliquer aux étapes 19 à 21.
37. Déposer le distributeur d'antibiotique au-dessus de la gélose et déposer les tampons d'antibiotiques sur la gélose.
38. Sceller la gélose à l'aide d'un morceau de paraffine.
39. Mettre les deux géloses à l'étuve pour 24 heures.

PARTIE F : Prise des résultats

40. Sortir les géloses de l'étuve.
41. Mesurer, à l'aide d'une règle, le diamètre des cercles d'inhibition autour des tampons et noter les.
42. Prendre les géloses en photos et noter les caractéristiques qualitatives de celle-ci.


RÉSULTATS

Données brutes

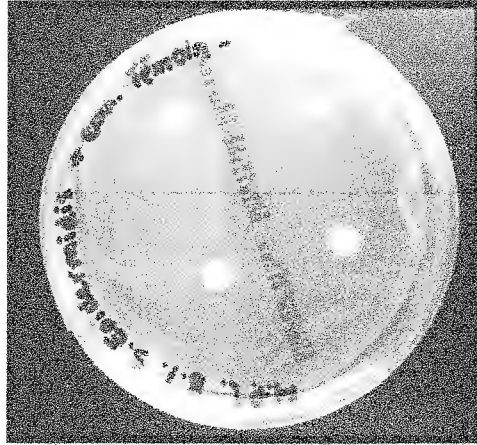
Tableau 1: Nombre de bactéries inconnues présentes dans 100µl de salive de *Canis lupus familiaris*

Origine de la salive	Nombre de bactéries présentes
Buddy (Labrador croisé Golden Retrievers, 3 ans)	71 -
Ozzie (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	176 -
Wolf (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	Tapis de bactéries (plus de 200) -

Tableau 2 : Zone d'inhibition autour de tampons imbibés de différents produits sur un tapis de *Staphylococcus epidermidis*

	Observations qualitatives (Photos des géloses)
Témoin positif (antibiotiques)	

Témoignage négatif (eau saline)



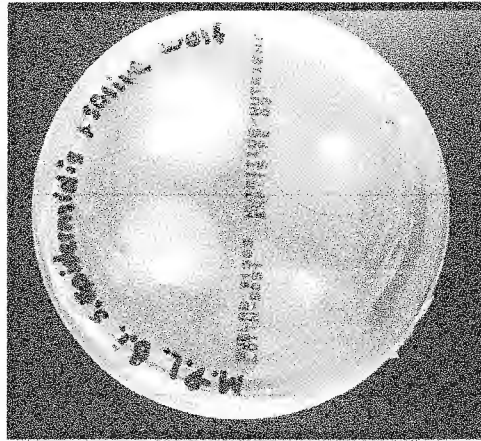
Salive de Buddy
(Labrador croisé Golden
Retrievers, 3 ans)



Salive d'Ozzie (Husky
croisé Bouvier bernois, 5
mois)



Salive de Wolf (Husky
croisé Bouvier bernois, 5
mois)



(Autres données brutes en Annexe 1)

Transformation des données

Une moyenne a été réalisée afin de voir plus facilement une tendance dans les données. Le calcul suivant a été utilisé pour la calculer.

$$\text{moyenne} = \frac{\text{donnée 1} + \text{donnée 2} + \text{donnée 3} + \dots + \text{donnée n}}{n} \quad \checkmark$$

Exemple de calcul de la moyenne du diamètre d'inhibition des tampons imbibés d'antibiotiques

$$\text{moyenne} = \frac{2.5\text{cm} + 2.6\text{cm} + 2.8\text{cm} + 2.1\text{cm}}{4} = 2.5\text{cm}$$

Un étalement de la variance sur la moyenne a aussi été réalisé dans le but de démontrer la précision des données. La formule suivante a été utilisée pour le calculer.

$$\text{étalement de la variance} = \frac{\text{donnée max} - \text{données min}}{2}$$

Exemple de calcul de l'étalement de la variance du diamètre d'inhibition des tampons imbibés d'antibiotiques

$$\text{étalement de la variance} = \frac{2.8\text{cm} - 2.1\text{cm}}{2} = 0.35\text{cm}$$

Données transformées

Tableau 5: Moyenne du diamètre du cercle d'inhibition des pastilles imbibées de salive de *Canis lupus familiaris* sur un tapis de *Staphylococcus Epidermidis* cultivé sur des géloses nutritives

	Diamètre d'inhibition (cm ± 0,2cm)			
	Moyenne	Étalement de la variance	Moyenne pour tous les chiens	Étalement de la variance pour tous les chiens
Témoin négatif (eau saline)	0	0	-----	-----
Témoin positif (antibiotiques Ampicilline 10µg, Pénicilline 10 iu, Bacitracin 10 iu, Tétracycline 30 µg,)	2,5	0,4	-----	-----
Salive de Buddy (Labrador croisé Golden Retrievers, 3 ans)	0	0	0	0
Salive d'Ozzie (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	0	0		
Salive de Wolf (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	0	0		

*Taille des tampons utilisés : 0,7 cm de diamètre

Tableau 6: Moyenne du diamètre du cercle de plus grande concentration bactérienne supposée (plus opaque)

	Diamètre (cm± 0,2 cm)			
	Moyenne	Étalement de la variance	Moyenne pour tous les chiens	Étalement de la variance pour tous les chiens
Témoin négatif (eau saline)	0,0	0,0	-----	-----
Témoin positif (antibiotiques)	0,0	0,0	-----	-----
Salive de Buddy (Labrador croisé Golden Retrievers, 3 ans)	0,8	0,6	1,48	1,75
Salive d'Ozzie (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	0,8	0,7		
Salive de Wolf (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	2,8	0,6		

*Taille des tampons utilisés : 0,7 cm de diamètre

ANALYSE DES RÉSULTATS

Le but de cette expérience était de déterminer les effets de la salive de chiens (*Canis lupus familiaris*) sur une culture de *Staphylococcus epidermidis* dans des conditions de laboratoire. Suite à l'expérimentation, il est impossible de tirer des conclusions claires face à l'impact de la salive sur *S. epidermidis*. En effet, comme on peut le voir dans le tableau 5, la salive ne crée aucun cercle d'inhibition sur un tapis de *S. epidermidis*. La moyenne pour tous les chiens confondus du diamètre du cercle d'inhibition était de 0 cm avec un étalement de la variance de 0 cm. En fait, aucun des répliques n'a engendré de cercle d'inhibition. Seulement les témoins positifs et négatifs ont agi comme prédit. Les antibiotiques ont créé de grands cercles d'inhibition et l'eau saline n'en a créé aucun. On pourrait donc en conclure que, lors de cette expérience, la salive canine n'a pas agi de façon antibactérienne sur *S. epidermidis*. Néanmoins, la concentration du tapis bactérien semblait différente aux environs des tampons imbibés de salive. La concentration semblait supérieure puisque le tapis était plus opaque. En effet, le diamètre moyen où le tapis était plus opaque (voir tableau 2) était de 1.48 cm pour tous les chiens confondus. Toutefois, sur les géloses ne contenant que de la salive de *Canis lupus familiaris*, il y a une forte présence de bactéries. Dans 100µl de salive, on retrouve 71, 176 et plus de 200 bactéries en fonction des chiens. La salive canine est donc loin d'être stérile. De ce fait, il est plus que probable que d'autres bactéries se soient multipliées sur la gélose lors de leur séjour dans l'étuve. On ignore donc si la concentration est supérieure lorsque le tapis est plus opaque ou si c'est simplement une autre bactérie autour du disque. Elles ont pu soit prendre la place de *S. epidermidis* sur la gélose simplement, car elles seraient plus résistante ou encore, car la salive à éliminer *S. epidermidis* laissant place aux bactéries inconnues. En effet, le tapis avait le même aspect autour des disques que partout ailleurs sur le reste de la gélose. Puisque l'on ignorait la nature des bactéries présentes dans la salive canine, il était impossible d'ouvrir les géloses afin de comparer les bactéries présentes. En effet, les installations sont d'un niveau de confinement 2. Cela implique que les agents pathogènes utilisés causent dans de rares cas des infections graves. Les bactéries présentes initialement dans la salive sont inconnues et les installations ne sont pas équipées pour des bactéries

très pathogènes. Puisqu'il est impossible de tirer de claires conclusions, on ne parvient pas à savoir si mes résultats correspondent à la théorie énoncée précédemment, soit que la salive contient bel et bien des propriétés antibactériennes.

ÉVALUATION ET AMÉLIORATION POSSIBLE DE LA MÉTHODE

La méthode générale utilisée était assez précise et fiable. Toutefois, elle comportait quelques points à améliorer ce qui pourrait réduire le nombre d'erreur durant l'expérimentation.

Premièrement, la conservation de la salive est une cause d'erreur majeure. En effet, afin de conserver le plus possible la salive dans l'état dans lequel on l'a prélevé, celle-ci a été conservée au congélateur. De ce fait, on évitait de détruire certains éléments de la salive tels de possibles bactéries non-pathogènes utiles pour la production hydrogène permettant l'action antibactérienne de la lactoperoxydase ou encore certaines enzymes. On empêchait ainsi la multiplication des possibles bactéries présentes. Il est toutefois possible que des changements de température drastique influencent les enzymes (protéines). Ces changements peuvent désagréger les protéines et ainsi annuler complètement l'activité des enzymes. Puisque ce sont des enzymes qui sont responsable de l'action bactéricide de la salive cela peut avoir influencé grandement les résultats.

Afin d'éviter de tels changements de température, il serait préférable de conserver la salive recueillie dans le réfrigérateur. La température du réfrigérateur est de 4°C, ce qui est nettement inférieur à la température dans un congélateur. C'est cependant suffisamment froid pour ralentir considérablement la croissance bactérienne. Le contraste de température entre le réfrigérateur et la température de la pièce est beaucoup moins important qu'entre le congélateur et la température ambiante. Il y a donc moins de chance que les enzymes soient affectées pas ce dernier.

Deuxièmement, la présence de bactéries dans la salive est une cause d'erreur majeure. En effet, c'est du à la croissance bactérienne dans la région des tampons de salive canine que nous sommes dans l'impossibilité d'établir une relation entre *Staphylococcus epidermidis* et la salive canine. La présence de bactéries dans la salive cause beaucoup de questionnement sur les propriétés antibactériennes de celle-ci dans l'expérience. On ignore s'il s'agit de bactéries contenues à la base dans la salive qui se sont multipliées dans l'étuve ou s'il s'agit bel et bien de *Staphylococcus epidermidis* qui

n'a pas été éliminé par la salive. Cependant, il est impossible de stériliser la salive en la chauffant puisque cela dénaturerait les enzymes responsables de la fonction antibactérienne de celle-ci.

Une solution qui pourrait probablement régler le problème serait d'utiliser des produits antiseptiques pour stériliser ^{la bouche} la salive. En effet, les produits antiseptiques sont conçus pour être utilisés sur des plaies ou encore de la peau. Ils ne sont donc nocifs que s'ils sont avalés. On pourrait en conclure qu'ils ne dénaturent pas nos protéines ou, du moins, celles en surface. Cependant, ils permettent de détruire les bactéries ainsi que tous les autres agents pathogènes présents. La salive serait donc stérile. Elle conserverait, toutefois, des enzymes fonctionnelles qui feront leur rôle d'agents antibactériens. On éliminerait donc toute trace de bactéries étrangères sur nos géloses.

Peut-être
gargariser
(ou laver)
la bouche
avec de la
Listerine!

} peut-être

Il aurait aussi été possible de filtrer la salive initialement avant de procéder aux autres manipulations. La filtration permettrait d'éliminer les bactéries qui sont plus grosses que les protéines. La salive serait donc sensiblement stérile tout en conservant ses agents antibactériens.

Troisièmement, la méthode générale peut laisser certaines incertitudes malgré son efficacité. Effectivement, elle permettait d'observer l'impact de la salive de chien sur *staphylococcus epidermidis*. Cependant, elle ne permettait d'être assez certains de nos résultats. Il y avait un manque de fiabilité des résultats dû à la méthode. Lors des manipulations, une gélose a été faite par catégorie de salive ainsi qu'une pour le témoin positif et une pour le témoin négatif. Toutefois, en aucun cas, on s'est assuré que toutes les géloses étaient semblables. Si une d'entre elle avait été différente, il n'aurait pas été capable de la différencier. De plus, si l'une des géloses n'était pas normale et qu'elle avait permis une meilleure croissance de la bactérie, il se pourrait qu'il y aille une plus grande concentration finale de la bactérie cela aurait pu influencer nos résultats sans même que nous le sachions.

Pour s'assurer de la fiabilité des géloses et de l'homogénéité de la bactérie *staphylococcus epidermidis*, il serait utile de modifier légèrement la méthode. En effet, il suffirait de mettre un témoin positif et un témoin négatif sur chaque géloses ainsi que

de répartir les répliques d'un même chien sur différentes géloses. On se retrouverait donc avec 3 géloses seulement contenant chaque un témoin positif, un témoin négatif et un échantillon de salive canine pour chacun des chiens. Les deux témoins justifieront l'homogénéité de chaque gélose. De ce fait, il sera assuré que les conditions étaient les mêmes pour chacun des échantillons puisqu'ils se retrouvent tous sur une seule et même gélose contenant la même souche de *staphylococcus epidermidis*.

Toutes ces améliorations permettraient d'avoir une expérimentation plus précise de même que des résultats plus significatifs. Il faudrait donc antiseptiser la salive avant son utilisation, mettre la salive au réfrigérateur plutôt qu'au congélateur et il faudrait modifier la configuration des géloses.

CONCLUSION

En conclusion, il est impossible de déterminer l'effet de la salive de *Canis lupus familiaris* sur une culture de *Staphylococcus epidermidis*. En effet, les résultats soulèvent beaucoup de questionnement et sont sujets à interprétation. La méthode utilisée est assez efficace, mais aurait intérêt à être modifiée et améliorée afin d'obtenir de vrais résultats. On pourrait ainsi obtenir des réponses claires et répondre directement à notre but. Toutefois, malgré l'ajout de salive, des bactéries demeuraient toujours présentes. On peut donc en conclure qu'il n'est pas recommandé d'utiliser la salive comme substance antibactérienne et comme désinfectants pour des plaies. Une étude a cependant démontré la présence d'une protéine cicatrisante dans la salive de plusieurs animaux. [8] Ce serait donc pour cette raison que ceux-ci se lèchent lorsqu'ils sont blessés. C'est aussi probablement de là qu'est partie la rumeur comme quoi la salive serait une substance antibactérienne.

RÉFÉRENCE

- [1] STÉRÉLISATION ANIMALE QUÉBEC. « Il y a maintenant plus de 2.5 millions de chiens et de chats au Québec », *Internet*, <http://sterilisationanimalequebec.info/statistiques/il-y-maintenant-plus-de-2-5-millions-de-chats-et-de-chiens-au-quebec/>, 9 août 2014
- [2] FREMY, Edmond et Théophile Jules, PELOUZE. Traité de chimie générale, Volume 6, Librairie de Victor Masson, Paris, 1857, p.128-136
- [3] BARON CUVIER, George. Leçon d'anatomie comparée, volume 5, deuxième édition, Crochard et C libraires, Paris, 1837, p.461-462
- [4] ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE. « La salive », *Internet*, http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/Phys_digest_6.pdf, 19 septembre 2014
- [5] LEYVRAL, Guy et Élisabeth Vierlin. Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires, 4^e édition, Rueil-Malmaison : Douin, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 2007, p.29
- [6] SANTÉ MÉDECINE.NET. « Staphylococcus epidermidis - définition », *Internet*, <http://santemedecine.commentcamarche.net/faq/22456-staphylococcus-epidermidis-definition>, 25 octobre 2014
- [7] E HERCHLINE, Thomas. « Staphylococcal infections », *Internet*, <http://emedicine.medscape.com/article/228816-overview#aw2aab6b2b2aa>, 25 octobre 2014
- [8] Dr TUTIN, Corinne, « La découverte d'une substance cicatrisante dans la salive », *Internet*, http://www.doctissimo.fr/html/sante/mag_2000/mag1103/sa_2704_cicatrisation.htm, 25 octobre 2014

ANNEXE 1

Tableaux des données brutes

Tableau 3: Zone d'inhibition autour des pastilles imbibées de salive de *Canis lupus familiaris* sur un tapis de *Staphylococcus Epidermidis*

	Diamètre du cercle d'inhibition (cm±0,2 cm)			
	1	2	3	4
Réplicas				
Témoin négatif (eau saline)	0	0	0	0
Témoin positif (antibiotiques- Ampicilline 10µg, Pénicilline 10 iu, Bacitracin 10 iu, Tétracycline 30 µg-)	2,5	2,6	2,1	2,8
Salive de Buddy (Labrador croisé Golden Retrievers, 3 ans)	0	0	0	0
Salive d'Ozzie (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	0	0	0	0
Salive de Wolf (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	0	0	0	0

*Taille des tampons utilisés : 0,7 cm de diamètre

Tableau 4: Cercle de plus grande concentration bactérienne supposée en fonction de l'origine de la salive de *Canis lupus familiaris*

	Diamètre (cm±0,2 cm)			
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4
Témoin négatif	0	0	0	0
Témoin positif	0	0	0	0
Salive de Buddy (Labrador croisé Golden Retrievers, 3 ans)	0	1	1,2	0,9
Salive d'Ozzie (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	1,3	1,1	0	0,9
Salive de Wolf (Husky croisé Bouvier bernois, 5 mois)	2,5	2,3	3	3,5

*Taille des tampons utilisés : 0,7 cm de diamètre

BIBLIOGRAPHIE

BARON CUVIER, George. Leçon d'anatomie comparée, volume 5, deuxième édition, Crochard et C libraires, Paris, 1837, p.461-462

Dr TUTIN, Corinne, « La découverte d'une substance cicatrisante dans la salive », *Internet*, http://www.doctissimo.fr/html/sante/mag_2000/mag1103/sa_2704_cicatrisation.htm, 25 octobre 2014

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE. « La salive », *Internet*, http://physiologie.envt.fr/spip/IMG/pdf/Phys_digest_6.pdf, 19 septembre 2014

E HERCHLINE, Thomas. « Staphylococcal infections », *Internet*, <http://emedicine.medscape.com/article/228816-overview#aw2aab6b2b2aa>, 25 octobre 2014

FACULTÉ DE MÉDECINE PIERRE ET MARIE CURIE. « Chapitre 6- la salive », *Internet*, <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/DGbioch/POLY.Chp.6.3.html>, 25 octobre 2014

FAMIDOO.BE. « Vrai/faux : la salive des chiens est-elle cicatrisante ? », *Internet*, <http://www.famidoo.be/fr/conseils/animaux-de-compagnie/article/vrai-faux-la-salive-des-chiens-est>, 25 octobre 2014

FREMY, Edmond et Théophile Jules, PELOUZE. Traité de chimie générale, Volume 6, Librairie de Victor Masson, Paris, 1857, p.128-136

FUTURA-SCIENCES. « Immunoglobuline », *Internet*, <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/dico/d/medecine-immunoglobuline-2431/>, 25 octobre 2014

INSTITUT PASTEUR. « Staphylocoques », *Internet*, <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/staphylocoque>, 25 octobre 2014

LEYVRAL, Guy et Élisabeth Vierlin. Microbiologie et toxicologie des aliments: Hygiène et sécurité alimentaires, 4^e édition, Rueil-Malmaison : Douin, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 2007, p.29

NUTRA NEWS. « La lactoferrine, en première ligne des défenses immunitaires », *Internet*, <http://www.nutranews.org/sujet.pl?id=221>, 25 octobre 2014

OTTO, Micheal. « Staphylococcus epidermidis – the “accidental” pathogen », *Internet*, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2807625/>, 25 octobre 2014

SANTÉ MÉDECINE.NET. « Staphylococcus epidermidis - définition », *Internet*, <http://sante-medecine.commentcamarche.net/faq/22456-staphylococcus-epidermidis-definition>, 25 octobre 2014

STÉRÉLISATION ANIMALE QUÉBEC. « Il y a maintenant plus de 2.5 millions de chiens et de chats au Québec », *Internet*, <http://sterilisationanimalequebec.info/statistiques/il-y-maintenant-plus-de-2-5-millions-de-chats-et-de-chiens-au-quebec/>, 9 août 2014

THE FREE DICTIONARY. « Lysozyme », *Internet*, <http://medicaldictionary.thefreedictionary.com/Lysosyme>, 27 octobre 2014