République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique

Université Yahia Fares de Médéa

Faculté des Sciences Département SNV

Projet de fin d'étude

Pour l'obtention le diplôme de master en science biologique

Spécialité microbiologie appliquée

Préparé et présenté par :

Melle. BENMOULOUD Touba Melle. BENDJABALLAH ElBatoul

Melle BENLAKEHAL Ihsane

THEME

Analyse biologique et physicochimique du microbiome salivaire comme empreinte génétique dans les maladies cancéreuses « Cancer du sein »

Membres de jurys :	Grade :	Etablissement :	
Mr.HAMMOUDI Mounir	MAA	Université de Khemis Miliana	Président
Mr.AINAS Mahfoudh	MCB	Université de Médéa	Examinateur
Mr.MOUMEN Riadh	MAA	Université de Khemis Miliana	Examinateur
Mr.OTMANINE Khaled	MAA	Université de Chlef	Encadreur

Année universitaire : 2019/2020

REMERCIMENTS

Nous tenons tout d'abord à exprimer profondément notre gratitude et nos remerciements pour le bon Aallah le tout puissant de nous avoir donné la bravoure et la puissance pour réaliser ce travail et qui nous a éclairé les chemins par la lumière de son immense savoir.

Nous remercions notre promoteur ***«Mr.OTMANINE Khaled»*** *chargé du suivi de ce travail pour sa patience, sa disponibilité et ses conseils.*

Nous tenons à exprimer nos respectueuses gratitudes et nos reconnaissances à toute l'équipe de l'EPH Mohamed Boudiaf de Médéa du directeur au dernier travailleur, particulièrement tout le groupe médical et paramédical du service d'oncologie, le service de la chirurgie femme et le laboratoire central.

En particulier, ***«Dr.kABACH Razika»*** *médecin bactériologiste****, «Dr.CHAMBAZ Ibtissem»*** *médecin mycologue,* ***«Dr.BENMHIDI»*** *médecin oncologue,* ***«Dr.MOUAZIA Laila»*** *médecin psychologue du service d'oncologie, et* ***«Dr.ZOUGARI»*** *médecin cytologiste.*

Ainsi ***«Mme.BOUKHELKHAL Selma»*** *le chef service du laboratoire central,* ***«Mr.REMICHI Ismail»*** *le chef service d'oncologie,* ***«Mme.YAHYAOUI»*** *le chef service de la chirurgie femme.*

*Et bien sûr «****Mme HAMZA Dalila****» ingénieur du laboratoire,* ***«Mr.SAFARBATI Younes»*** *et tous les employeurs du laboratoire surtout* ***Sara, Maroua, Hakima, Abdelrezak, Nouria.***

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements aux membres de jury de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce modeste travail, ***«Mr.HAMMOUDI Mounir», «Mr.AINES Mahfoudh»*** *et* ***«Mr.MOUMEN Riadh».***

Enfin, nous remercions à tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin, qu'ils trouvent ici toute notre sympathie et notre profonde gratitude.

DEDICACES

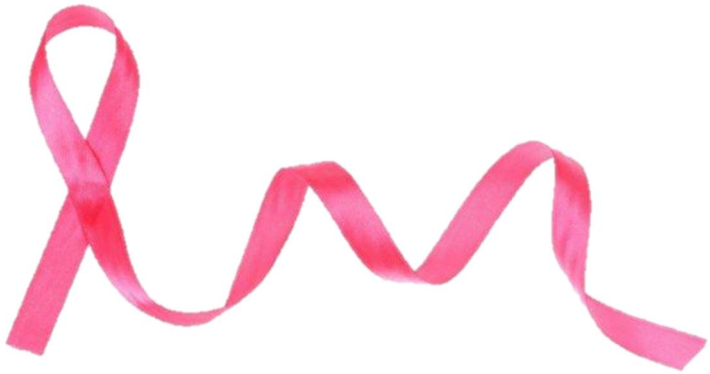
On dédie

Ce travail à toutes

Les femmes qui

Combattent le

Cancer du sein



Merci ALLAH de nous aider à terminer ce travail grâce à votre grande puissance, que nous dédions :

À toutes nos chères amies, mais en particulier les magnifiques

IKRAM, SARA** et **CHAIMAA

Les plus beaux souvenirs ont été avec vous où nous avons partagés ensemble les merveilleux et inoubliables moments… Qu'Allah vous protège chères amies et que notre amitié vivra des années et des années… N'oubliez-vous jamais que vous êtes nos rires et joies…Nous vous aimons beaucoup…

Sans oublier

KAOUTHER**, **ASSIA**, **SOUMIA, BAYA** et **ASMAA

*À Madame **DALILA**, la merveilleuse et courageuse femme, vous avez notre sincère respect, notre appréciation et notre grand amour… Qu'Allah vous protège.*

À tous les professeurs qui nous ont aidés de l'école primaire à la fin de notre cursus.

À tous les amis de la promotion du Master 2 Microbiologie appliquée " 2019-2020 "

TOUBA, IHSANE et EL BATOUL…

Grâce à ALLAH le tout-puissant, et son aide, qui m'a tracé le chemin de ma vie et qui l'a décrété pour moi, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie…

À mes parents

À mon cher père : l'épaule solide, l'œil attentif, compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.

À ma chère mère : le symbole de la tendresse et l'amour ; tu m'as donné la vie et tout ce qui est possible pour réussir, qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragée et soutenue toute au long de mes études.

Merci pour vos prières et votre présence à mes côtés. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments et mon éternelle gratitude.

« Qu'Allah vous préserve et vous procure santé et longue vie ».

À mes chères sœurs et mon frère

Farouk et Manal pour leur soutien moral, et leurs sacrifices le long de ma formation, et à ma chère sœur Asmaa et sa petite princesse Sabrine.

À Mon fiancé Fouad

Merci pour ta patience, ton attention et tes encouragements. Merci pour tout.

Qu'Allah puisse bénir notre union.

À mes grands-parents

Qu'Allah vous préserve et vous procure santé et longue vie.

À mes chers cousins

Nassim, Madina, Amira, Samia et Abd El Kader et à toute ma famille sans exception.

À mes chers trinômes

Touba et El Batoul, pour rendre cette année pleine de beaux et inoubliables souvenirs, malgré tous les casse-pieds et les difficultés.

À tous mes amies

Sans exception et surtout Kaouther, Asmaa, Nada, Hind, Marwa, Yasmine, Batoul, Amel et Madina.

Ihsane. 잉산

Je ne peux adresser les prémices de cette dédicace qu'à mes parents, premiers piliers de mon éducation, en témoignage de vos prières et de tous les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

A ma mère, *pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.*

A mon père, *mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils. J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'il soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

A mes chers frères, *Mohamed Anes Benmalek et Abdelmounaim et* ***mes chères sœurs****, Farida, Hiba et Lina. Je vous souhaite beaucoup de réussite dans tout ce que vous allez entreprendre. Je vous aime très fort.*

A mes grands-parents maternels, *vous exprimez toute mon affection et ma tendresse, merci pour être toujours présents à mes côtés .Qu' Allah vous bénisse.*

A la mémoire de mes grands-parents paternels, *j'aurais aimé que vous soyez présent dans ce jour avec moi pour partager ensemble ce bonheur. Je vous souhaite qu'Allah vous accueille dans son vaste paradis.*

A toute ma famille maternelle et paternelle, *pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Je ne saurai les citer tous de façon individuelle, cependant qu'ils soient rassurés du fait que toute ma reconnaissance leur est due.*

A mes trinômes, *Ihsane et ElBatoul c'est un vrai plaisir de travailler et de créer des très beaux souvenirs avec vous. Je vous souhaite plein succès dans vous future carrières.*

A tous mes amies*, pour leur soutien, leur aide et leur présence. Vous avez toujours trouvé les mots pour me réconforter lorsque j'étais en face d'un obstacle. Merci d'être toujours là pour moi.*

Touba…

Avec l'aide d'ALLAH le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À mes chers et adorables parents "Mama et Abi"

Loyalement aucun dédicace ne sera exprimé mon amour et ma gratitude pour tous votre don, votre sacrifices et patience, votre encouragement et présence, votre soutien et amour, et votre prières tout au long de mes études, quoi que j'écris et j'exprime, je ne pourrai pas vous remercier comme il se doit. Je vous promets que je serai ce que vous voulez que je sois, je vous honorerai toute la vie et que vous serez toujours fière de votre fille Inchaallah.

À ma très adorable grand-mère "Yema"

Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, sa patience et son grand amour, puisse Allah lui prêter une longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

À mes chers et magnifiques frères et sœurs

"Chiraz, Souhil, Soumia, Mohamed et Amina"

Merci d'être toujours à côté de moi par votre encouragement et votre amour infini, n'oubliez-vous pas que je vous aime beaucoup. Qu'Allah nous protège.

À mes adorables neveux et nièces,

Puisse Allah vous gardez, éclairer votre chemin et vous aider pour réaliser tous vos vœux et rêves les plus chers.

À vous mes merveilleuses partenaires dans ce travail

"TOUBA" et "IHSANE

Merci et mille mercis pour vous, c'est un vrai plaisir de nous travailler ensemble, merci pour votre patience et vos grands efforts, merci de tous les moments inoubliable, qu'Allah vous protège ainsi que vos familles, éclaire votre chemin et réalise tous vos rêves.

À ma chérie MERIEM

Nous avons passé les plus beaux moments ensemble, avec nos rires et nos pleurs, tu étais toujours à côté de moi, j'espère que notre amitié restera jusqu'au Paradis et qu'Allah te protège et te donne tout le bonheur du monde ... Merci ma chère sœur d'être dans ma vie et n'oubliez jamais que je serais toujours là pour toi.

À tous mes chères amies

*Surtout **ADILA, RANIA, ASMAA…** Qu'Allah vous protège.*

El Batoul…

Résumé

L'analyse salivaire devient la méthode moderne pour détecter l'état général du corps, ce liquide biologique est considéré comme empreinte génétique. L'objectif est de faire une analyse des paramètres physicochimiques et microbiens de la salive des patients de cancer du sein. Au cours du travail réalisé au niveau de service d'oncologie et laboratoire central de l'EPH de Médéa, durant une période allant de 1 février 2020 jusqu'à 18 mars 2020. Nous avons rempli les informations de chaque malade sur une fiche de renseignement où les données ont été traitées dans le programme SPSS et analysées par l'Excel, dont les prélèvements salivaires ont été traités en se basant sur les critères bactériologiques, mycologiques et physicochimiques. Parmi les 59 prélèvements, 10 sont des contrôles négatifs dont 50 % sont des résultats indéterminés. Les 49 prélèvements des patients de cancer du sein donnent la présence de cocci Gram positif dans tous les échantillons, 6 % des cocci Gram négatif et 65 % sont des bacilles Gram positif. L'identification microscopique affirme la présence des genres *Micrococcus sp* dans tous les prélèvements, 16 % de *Streptococcus sp*, 33 % de *Lactobacillus sp* et 37 % de *Bacillus sp*. Les affections mycologiques qui touchent 24% des patientes sont causées par *Candida albicans* et *Candidat sp*. La comparaison des résultats des patientes et du contrôle sain reste incomplète à cause de la pandémie de Covid-19.

Mots clés : analyse salivaire, empreinte génétique, cancer du sein, paramètres physicochimiques et microbiens, cocci Gram positif, bacilles Gram positif, affection mycologique.

الملخص

أصبح تحليل اللعاب، ذلك السائل البيولوجي الذي يعتبر بمثابة بصمة وراثية، الطريقة الحديثة للكشف عن الحالة العامة للجسم. الهدف هو تحليل العوامل الفيزيوكيميائية والميكروبية للعاب مرضى سرطان الثدي. خلال التربص المنجز في مصلحة الأورام السرطانية والمخبر المركزي في المؤسسة العامة الإستشفائية محمد بوضياف بالمدية، في الفترة الممتدة من 1 فيفري 2020 إلى 18 مارس 2020، قمنا بملئ البيانات الخاصة بكل مريضة في ورقة المعلومات وتمت معالجتها في برنامج SPSS وتحليلها بواسطة برنامج Excel، حيث تمت معالجة عينات اللعاب بناءً على المعايير البكتيرية، الفطرية والفيزيوكيميائية. من بين تسعة وخمسون عينة، عشرة عينات كانت خاصة بالأشخاص الأصحاء، أين كانت 50٪ منها نتائج غير محددة. في حين أظهرت تسعة وأربعون عينة من مرضى سرطان الثدي وجود مكورات موجبة الجرام في جميع العينات، 6٪ من المكورات سالبة الجرام و65٪ عصيات إيجابية الجرام. يؤكد التحديد المجهري وجود جنس *Micrococcus sp* في جميع العينات، 16٪ من *Streptococcus sp*، 33 ٪ من *Lactobacillus sp* و37٪ *Bacillus sp*. 42٪ من النساء المصابات تم إيجاد فطريات في لعابها، وكان المسبب في ذلك *Candida albicans* و *Candidat sp*. لم نتوصل لمقارنة النتائج بين المصابات بمرض سرطان الثدي والأشخاص الأصحاء، بسبب الانقطاع عن التربص في المستشفى نتيجة وباء Covid-19.

الكلمات المفتاحية: تحليل اللعاب، بصمة وراثية، سرطان الثدي، العوامل الفيزيوكيميائية والميكروبية، مكورات موجبة الجرام، عصيات إيجابية الجرام، فطريات.

Summary

The salivary analysis becomes a new method to detect the general state of the body; this biological fluid is considered as a fingerprint. The aim of the study is to perform an analysis of the physicochemical and microbial parameters of breast cancer patients' saliva. During the work realized at the oncology service and central laboratory of Médéa's hospital, from the first of February 2020 to the eighteenth of March 2020. We filled in each patient's information on a fact sheet where the data were transformed in the SPSS program and analyzed by Excel, while salivary samples have been treated on the basis of bacteriological, mycological and physicochemical criteria. From the 59 samples, 10 are negative controls, 50 % of them are undetermined results. The 49 samples from breast cancer patients show Gram-positive cocci in all samples, 6 % of Gram-negative cocci and 65 % of Gram-positive bacilli. Microscopic identification indicates the presence of *Micrococcus sp* genera in all samples, 16 % *Streptococcus sp*, 33 % *Lactobacillus sp* and 37 % *Bacillus sp*. Mycological diseases which affect 24 % of patients are caused by *Candida albicans* and *Candida sp.* Comparison of patient outcomes and healthy controls remains incomplete due to the Covid-19 pandemic.

Keywords: salivary analysis, fingerprint, physicochemical and microbial parameters, Gram-positive cocci, Gram-positive bacilli, mycological diseases.

Table des matières

Résumé

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I : Identification des composants salivaires 3

La salive 3

I. L'anatomie et l'histologie des glandes salivaires 3

1. Les portions des glandes salivaires 3

2. Les glandes salivaires majeures 4

2.1. La glande parotide 4

2.2. La glande submandibulaire (sous-maxillaire) 5

2.3. La glande sublinguale 5

3. Les glandes salivaires accessoires 6

4. Embryologie des glandes salivaires 7

5. Le rôle de la salive 7

II. La physiologie de la salive 8

1. La viscosité 8

2. Le débit salivaire (Débimétrie) 9

3. Le pH de la salive 10

4. Le pouvoir tampon 11

5. Température 11

III. La composition chimique et biochimique de la salive 11

1. Constituants inorganiques 11

1.1. Le compartiment aqueux 11

1.2. Le compartiment gazeux 11

1.3. Eléments minéraux 11
2. Constituants organiques 13
2.1. Les protéines 13
2.2. Les autres composantes organiques 15
IV. La composition immunologique de la salive 16
1. Les immunoglobulines 16
1.1. Les IgA 16
1.2. Les IgG 16
1.3. Les IgM 17
2. Les cytokines salivaires 17
V. Identification de microbiome salivaire 19
1. La flore bactérienne 20
2. La flore fongique 25
3. La flore virale 25
Chapitre II : Le cancer du sein et leur relation avec le microbiome salivaire et la salive 26
CANCER DU SEIN 26
1. Définition 26
2. Incidence, mortalité et prévalence 26
3. Développement du cancer du sein 28
1. Anatomie, embryologie et physiologie du tissu mammaire 28
2. Vascularisation et innervation du tissu mammaire 30
3. Processus de cancérogenèse et de métastase 32
4. Classification du cancer du sein 33
1. Classification selon les types de cancer du sein 33
2. Classification selon les stades du cancer du sein (classification TNM) 35
4. Les facteurs de risques 38

4.1. Hormones 38
4.2. Facteurs liés à la reproduction 40
4.3. Facteurs génétiques, environnementaux, démographiques et sanitaires 40
4.4. Facteurs liés aux habitudes de vie et nutrition 42
4.5. Aspects nutritionnels 44
Les biomarqueures salivaires dans la détection du cancer du sein 46
1. Définition de biomarqueure 46
2. Les différents biomarqueures salivaires impliqués dans le diagnostic 46
1. Transcriptome 46
2. Protéome 47
3. Métabolome 48
4. Immunologie 49
5. Physiologie 50
6. Microbiome 50
CHAPITRE III Matériels et méthodes 51
Objectif d'étude 51
Patients ciblés 51
Matériels 51
Méthodes 51
1. Prélèvement salivaire 51
2. Analyse directe de la salive 53
2.1. Examen physique de la salive 53
2.2. Examen chimique de la salive 53
2.3. Examen microscopique de la salive 53
2. Analyse bactérienne de la salive 57
3.1. Techniques d'ensemencement et d'isolement 57

3.2. Identification 60
3. Analyse mycologique de la salive 63
4.1. Techniques d'ensemencement et d'isolement 63
4.2. Identification 65
4.3. Tests complémentaires de l'identification de *Candida* 66
Résultats et discussion 74
L'étude des patientes 74
1. Réparation de la population selon l'âge 74
2. Répartition de la population selon les séances de la chimiothérapie (CT) 75
3. Répartition des échantillons salivaire selon les paramètres physico-chimique 76
4. Répartition des prélèvements selon les paramètres microbiologique .. 78
5. Répartition des cultures selon le type d'hémolyse 88
6. Répartition cytologique des échantillons salivaire 90
7. Répartition des prélèvements selon la prise des antibiotiques 92
L'étude des contrôles négatifs 95
1. La population d'étude 95
2. Les résultats principaux d'étude 95
La comparaison 96
Conclution 97

Liste des abréviations

API Candida : Appareils et procédés d'identification des candida.

ADN : Acide ribonucléique.

BGN : Bactéries à gram négatifs.

C. dubliniensis *: Candida dubliniensis.*

C. glabrata *: Candida glabrata.*

C. tropicalis *: Candida tropicalis.*

CA 15-3 : Antigène tumoral 15-3.

CCIS : Carcinome canalaire in situ.

CD4 : Cluster de différenciation 4.

CD8 : Cluster de différenciation 8.

CER : Antigène carcino-embryonnaire.

CLIS : Carcinome lobulaire in situ.

Cp : Centipoise.

CT : chimiothérapie.

EGF : Epithelial growth factor.

EGF : Facteur de croissance épidermique.

EPH : Etablissement public hospitalière.

GC : Gélose Chapman.

GH : Gélose Hektoen.

GN : Gélose nutritive.

GSC : Gélose au sang cuit.

GSF : Gélose au sang frais.

GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

HER : Human Epidermal Receptor (Récepteur épidermique humain).

HER1 (ou c-erB-2) : Human epidermal growth factor Receptor 1.

HER2 : Human epidermal growth factor Receptor 2.

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène.

HOMD : Human Oral Microbiome Database.

IgA : immunoglobulines A.

IgAs : immunoglobulines A sécrétoires.

IGF : Insulin-like growth factor.

IgG : immunoglobulines G.

IgM : immunoglobulines M.

IL : Interleukine.

IL-1F2 : Interleukine 1 bêta.

IL-1β : Interleukine 1 bêta.

INF-Gamma : L'interféron gamma humaine.

LPO : Lipoperoxydation.

LPO-SH : Lactoperoxydases d'origine salivaire humaine.

LPS : lipopolysaccharides.

LRP : lung resistance protein (La protéine de résistance du poumon).

MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight.

MALT : Mucosa associated lymphoid tissue.

mARN : MicroRNA.

MG1 : Mucine du groupe 1.

MG2 : Mucine du groupe2.

MGG : La coloration de May-Grünwald Giemsa.

MPO : Myéloperoxydases.

MUC-1 : Mucin 1.

NACRe : National Alimentation Cancer Recherche.

NGF : Nerve growth factor.

NK : Natural Killers.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

p53 : Protéine tumoral 53

PCR : Polymerase Chain Reaction.

Po : le poise ; unité de viscosité dynamique.

PRG : PRP glycosylées.

PRP : proline-rich proteins (Les protéines riches en proline).

RAT : Gélose d'extrait de riz : Riz, Agar et Tween. (Milieu Rice Cream).

SLPI : secretory leukocyte protease inhibitor.

THS : Traitement hormonal substitutif.

Th1 : Les lymphocytes T auxiliaires de type 1.

Th2 : Les lymphocytes T auxiliaires de type 2.

TNF-α : Le facteur de nécrose tumorale humaine Alpha.

TNM : La classification « Tumor, Nodes, Metastasis ».

VEGF : Facteur de croissance endothéliale vasculaire.

Liste des tableaux

Tableau 1. La variation de la viscosité et la consistance de la salive en fonction des glandes salivaires…..……9

Tableau 2. Variation des pourcentages de sécrétion salivaire des glandes majeures et accessoires au cours des différentes conditions de stimulation……10

Tableau 3. Tableau représente la composition inorganique de la salive (concentration en mmol/L)……...12

Tableau 4. Les principaux genres bactériens trouvés dans la cavité buccale.....….24

Tableau 5. Groupement par stades du cancer du sein……..37

Tableau 6. La relation entre les séances de la chimiothérapie et la présence des stomatites……..76

Tableau 7. Les résultats principaux de l'étude des contrôles négatifs……..95

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structure histologique des différents types d'acini et canaux……4

Figure 2. Anatomie des glandes salivaires…….6

Figure 3. Schéma des fonctions de la salive……..8

Figure 4. Abondance relative du phyla principal identifié dans la salive……21

Figure 5. Microbiome oral partagé. Classification moyenne au niveau du phylum et du genre des bactéries communes colonisant la cavité buccale…….22

Figure 6. Un secteur représente le nombre estimé de nouveaux cas en 2018 des femmes, tous âges (a) : dans le monde, (b) : en Algérie…….27

Figure 7. Schéma représente l'anatomie du sein normal……..29

Figure 8. Schéma représente la vascularisation du sein……30

Figure 9. Schéma représente les ganglions lymphatiques…….31

Figure 10. Schéma représente les types principaux du cancer du sein…….35

Figure 11. Schéma représente le classement TNM du cancer du sein……...36

Figure 12. Schéma représente les stades du cancer du sein……...38

Figure 13. Le matériel de prélèvement utilisé……...52

Figure 14. Mode de prélèvement……..52

Figure 15. la mesure de pH par la bandelette paramétrique……..53

Figure 16. Les étapes principales de la coloration de Gram……..56

Figure 17. La méthode de préparation de suspension salivaire…….57

Figure 18. Les milieux gélosé utilisés pour la culture bactérienne……58

Figure 19. Les étapes de l'ensemencement de la suspension bactérienne…….59

Figure 20. L'incubation des milieux de culture en aérobiose et anaérobiose….59

Figure 21. Des lames prêtes à lire sous microscope optique…….61

Figure 22. Diagramme explicatif d'analyse bactériologique de la salive……..62

Figure 23. La méthode de préparation de prélèvement salivaire……..63

Figure 24. Préparation de milieu Sabouraud au chloramphénicol……64

Figure 25. L'ensemencement de prélèvement sur milieu Sabouraud par l'écouvillon imbibé. ……..64

Figure 26. Préparation du bouillon Blastèse…….66

Figure 27. Un tube germinatif caractéristique de *Candida albicans* sous microscope optique objectif x40……...67

Figure 28. Préparation de la suspension levurienne……..67

Figure 29. Le milieu Rice Cream (RAT) pré-coulé dans les boites……68

Figure 30. Les étapes de l'ensemencement de la suspension levurienne……..69

Figure 31. Des souches de *Candida sp* conservée sur milieu Sabouraud…….70

Figure 32. Galeries API Candida, ampoules d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml), boîtes d'incubation, fiches de résultats……..72

Figure 33. Diagramme explicatif d'analyse mycologique de la salive……..73

Figure 34. Un histogramme représente la réparation de la population selon l'âge 74

Figure 35. Répartition de la population selon les nombres des séances de la chimiothérapie……..75

Figure 36. Répartition des échantillons selon la viscosité salivaire……76

Figure 37. Secteur représente la répartition des échantillons selon le pH salivaire……77

Figure 38. Répartition des prélèvements selon la détection des levures à l'état frais et par culture…….78

Figure 39. Secteur représente la distribution des échantillons selon les espèces de Candida…….79

Figure 40. Observation microscopique de levure, *Candida albicans* et *Candida sp* à partir des déférentes tests mycologique à grossissement x40…….79

Figure 41. Histogramme représente la répartition de la population selon la relation entre la présence des Candida et la prise des antibiotiques…….80

Figure 42. Répartition de la population selon la relation entre la présence des Candida et le pH salivaire…….81

Figure 43. Répartition de la population selon la relation entre la présence des Candida et la viscosité salivaire…….81

Figure 44. Distribution des cultures bactériennes selon la présence des Cocci et des Bacilles……...82

Figure 45. Observation microscopique des Cocci et Bacilles Gram positif à grossissement X 100…….82

Figure 46. Distribution des cultures bactériennes selon les espèces des cocci gram positif (*Streptococcus sp*, et *Micrococcus sp*)……..……...83

Figure 47. *Streptococcus sp* regroupées en chaînette et en diplocoque sous microscope optique à grossissement X 100……..84

Figure 48. *Micrococcus sp* regroupées en tétrades sous microscope optique à grossissement x100. ……...84

Figure 49. Répartition des cultures bactériennes selon la relation entre les microcoques et la viscosité salivaire……...85

Figure 50. Répartition des cultures bactériennes en fonction du pourcentage de la présence des *Bacillus sp*……86

Figure 51. *Bacillus sp* regroupées en diplobacille sous microscope optique à grossissement x100……...86

Figure 52. Répartition des cultures bactériennes en fonction du pourcentage de la présence des *Lactobacillus sp*……...……87

Figure 53. *Lactobacillus sp* sous microscope optique à grossissement x100…87

Figure 54. Répartition des cultures bactériennes selon le type d'hémolyse….88

Figure 55. L'apparition de l'hémolyse Beta sur la gélose au sang frais……..89

Figure 56. L'apparition de l'hémolyse Alpha où le milieu de culture prend une couleur verdâtre (1) et l'absence de l'hémolyse (2) sur la gélose au sang frais……89

Figure 57. Répartition cytologique des échantillons salivaire selon la présence des globules blancs et des cellules bourrées par les germes…….90

Figure 58. Les globules blancs sous microscope optique à grossissement x100……..90

Figure 59. Les cellules épithéliales bourrées par les germes sous microscope optique à grossissement x100. (1,2 et 3) à partir de coloration de MGG. (4, 5 et 6) à partir de coloration de Gram.…….91

Figure 60. Secteur représente la répartition de la population selon la prise des antibiotiques…….92

Figure 61. Histogramme représente l'influence des antibiotiques sur la présence des stomatites……..93

Figure 62. Histogramme représente l'influence des antibiotiques sur la présence des *Streptococcus sp*, *Lactobacillus sp*, *Bacillus sp* et *Micrococcus sp*……94

Introduction

Introduction

Le cancer est un problème de santé publique qui constitue la deuxième cause de décès dans le monde a fait 9.8 millions de morts en 2018 selon l'organisation mondial de la santé (OMS). Les organisations de la santé font des efforts pour développer des nouvelles techniques qui facilitent le dépistage de cette maladie mortelle, qui permet un diagnostic précoce, pour prescrire un traitement avancé afin de donner les plus grandes chances de guérison. Parmi ces techniques en développement, la recherche des déséquilibres dans la composition salivaire assure en plus la surveillance et la progression du cancer.

La salive est un liquide biologique diversifié et spécifique pour chaque individu ce qui représente une «empreinte biologique» personnel **(Belstrøm, 2016)**. Elle offre l'avantage d'une collection facile, non-invasive et économique, elle comprend un grand nombre de composés inorganiques et organiques qui peuvent être quantifiés et devenir des biomarqueurs de la santé générale, la plupart des composés trouvés dans la salive sont également être trouvés dans le sérum **(Lira-Junior et al., 2018)**, telle que les hormones, les protéines et les immunoglobulines **(Devoize & Dallel, 2010),** elle est utilisée en tant que fluide de diagnostic. cela permet à la technologie de dépasser son utilisation comme mesure de la santé bucco-dentaire à mesurer l'état de santé général de l'individu, elle est considérée comme un « miroir » du corps **(Streckfus & Kulasinghe, 2015**), qui encourage le diagnostic des plusieurs types de cancer **(Greabu et al., 2009)**, et même des maladies neurologique **(Trigui, 2018)** et cardiovasculaires **(Greabu et al., 2009)**.

La médecine moderne n'arrête pas ici, mais elle arrive jusqu'au niveau microbiennes où elles prouvent une relation avec les déséquilibres bactériennes au niveau de la salive et les changements physiologique corporal et c'est le cas de cancer du pancréas **(Farrell et al., 2012; Torres et al., 2015)** et des poumons **(Zhang et al., 2019)**.

Dans notre étude, on a basé sur le cancer du sein qui à la fois le plus fréquent et plus meurtrier chez la femme. Selon l'OMS, il est le deuxième cancer diagnostiqué après le cancer des poumons à l'échelle mondiale, et le premier dans l'Algérie avec 40.7% chez les femmes et un taux de mortalité de 11.4 % **(GLOBOCAN, 2018)**.

Introduction

Les techniques de diagnostic actuel tels que la mammographie et la biopsie peuvent donner des résultats faux-positif **(Hugo, 2014; Seror, 2016)**, les recherches trouvent que la méthode de diagnostic la plus sécurisé de ce cancer est la détection des biomarqueurs comme le HER2 et la protéine tumorale (p53) dans la salive des patientes **(Abrao Nemeir et al., 2019)**.

Dans ce contexte, notre travail a été entrepris dans le but de faire une comparaison de la composition salivaire des patientes qui atteint le cancer du sein et des personnes saines, qui est basée sur l'étude des paramètres physicochimique de la salive (la viscosité et le pH) et l'étude bactérienne et mycologique de la flore salivaire.

A cet égard le mémoire est divisé en deux parties :

La première partie consiste à une étude bibliographique qui comporte un couple de chapitres. Le premier chapitre est consacré pour l'étude de l'anatomie des glandes salivaire et la composition biochimique et microbienne, dont le deuxième chapitre concerne le cancer du sein et sa relation avec la salive et le microbiome.

La suivante partie expose la partie expérimentale qui représente le troisième chapitre de matériels et méthodes suivi par les résultats enregistré et la discussion. Enfin cette partie se termine par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Identification

des composants

salivaires

Chapitre I : Identification des composants salivaires

La salive

La salive est un liquide biologique essentiel au maintien de la santé bucco-dentaire et au bon déroulement de nombreuses fonctions orales (mastication, gustation, digestion, phonation, etc.) **(BENHARRATS et al., 2017)**.

Sa production est assurée, dès le huitième mois in utéro, par trois paires de glandes salivaires principales : la parotide, les glandes submandibulaires et sublinguales, ainsi de nombreuses glandes accessoires mineures dispersées dans la muqueuse buccale. Les glandes salivaires mineures sécrètent en permanence et sont en général sous contrôle local, tandis que les glandes majeures sécrètent principalement en réponse à l'activité parasympathique qui est induite par des stimuli physiques, chimiques et psychologiques (par contact avec des aliments, suite à une odeur ou à un souvenir...). La composition globale de la salive varie selon le degré d'activité de chacun des principaux types de glandes, et la production quotidienne de la salive chez l'homme est de 600 à 1500 ml **(Young et al., 2013)**.

Cependant, il existe d'autres définitions de la salive qui varient en fonction de sa composition :

La salive mixte : salive totale présente des éléments en suspension (bactéries et autres microorganismes oraux non adhérents, restes alimentaires, cellules épithéliales desquamées, cellules sanguines, traces de divers médicaments et produits chimiques).

La salive pure: mélange de salive prélevée à chaque ostium, elle correspond à l'addition de la salive parotidienne, submandibulaire et sublinguale **(BENHARRATS et al., 2017)**.

I. L'anatomie et l'histologie des glandes salivaires

1. Les portions des glandes salivaires

Les glandes salivaires sont composées de différentes portions :

1) Sécrétoire : ce sont les acini glandulaires et les canaux striés (ces derniers ayant aussi un rôle d'absorption de l'eau et des ions). Cette portion est variable d'une glande à l'autre. On peut les classifier en fonction de leur taux de polysaccharides neutres et acides :

- Acini séreux : riche en polysaccharides neutres, sécrète de la salive aqueuse (les cellules séreuses).
- Acini muqueux : riches en polysaccharides acides, sialiques ou neuraminiques, sécrètent une salive très visqueuse (les cellules muqueuses).

2) Excrétoire : ce sont les canaux intercalaires intralobulaires (en association avec les cellules myoépithéliales qui coiffent la glande) **(BIRAUD Guillaume, 2009).**

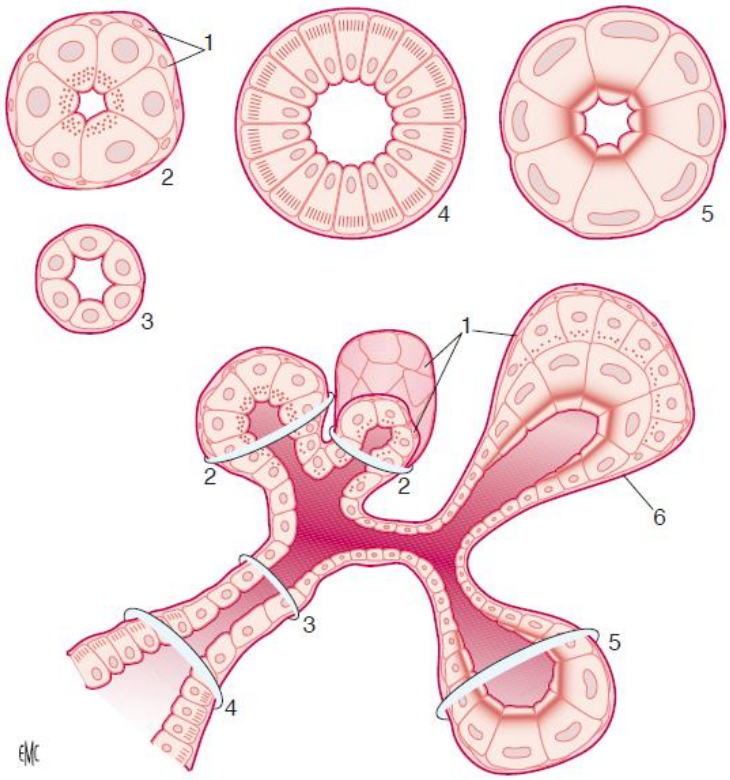


Figure 1. Structure histologique des différents types d'acini et canaux**.(Devoize & Dallel, 2010).**

1. Cellules myoépithéliales ; 2. Acinus séreux ; 3. Canal intercalaire ; 4. Canal strié ; 5. Acinus muqueux ; 6. Acinus mixte séromuqueux.

2. Les glandes salivaires majeures

Elles sont au nombre de six (deux de chaque côté). Elles sont anatomiquement bien délimitées et présentent une architecture interne complexe **(Devoize & Dallel, 2010)**.

2.1. La glande parotide

Elle est paire et symétrique. C'est La glande salivaire la plus volumineuse, elle pèse en moyenne 25 à 30g , elle est placée en dessous de l'arc zygomatique, devant l'apophyse

mastoïdienne et derrière la mandibule, elle est liée aux branches principales du nerf facial, et l'artère temporale superficielle la traverse **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

La sécrétion de la glande parotide est de type séreux (fluide) c'est une sécrétion aqueuse mince riche en enzymes et en anticorps. Le conduit parotidien (le canal de Sténon) ouvre dans la cavité buccale supérieure face à la deuxième molaire supérieure **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

2.2. La glande submandibulaire (sous-maxillaire)

Elle est paire et symétrique. Cette glande est la seconde après les parotides, ne pèsent que 6 à 8g, elle se situe dans l'angle mandibulaire. C'est-à-dire à la partie latérale de la région submandibulaire **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

La glande submandibulaire contracte des rapports étroits avec la branche cervico-faciale du VII (Le facial ou septième nerf crânien est un nerf mixte (sensitivo-moteur) et sensoriel (gustatif)), le nerf hypoglosse XII, le nerf lingual et les vaisseaux faciaux **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

Cette glande est mixte, séro-muqueuse à dominante séreuse (visqueuse), le conduit submandibulaire (canal de Wharton) passe de l'intérieur vers l'extérieur, dans le plancher de la bouche et s'ouvre latéralement à la base de la langue **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

2.3. La glande sublinguale

La glande sublinguale est paire et symétrique, elle est la plus petite des glandes salivaires principales, elle pèse 2 à 3g, elle se trouve sous la muqueuse du plancher de la bouche (la région sublingual) **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

La glande est vascularisée par l'artère sublinguale et son innervation est assurée par des rameaux du nerf lingual, cette glande est mixte muco-séreuse à dominante muqueuse. La glande sublinguale n'est pas aussi homogène que les autres glandes salivaires, elle est constituée d'un complexe glandulaire comprenant environ 50 glandes individuelles, ayant chacune son propre canal excréteur **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

Les canaux sublinguaux mineurs (dit de Walther) au nombre de 15 à 30, qui montent verticalement s'ouvrir à la muqueuse du sillon gingivo-lingual et le canal sublingual majeur (encore appelé Rivinus ou le canal de Bartholin) il s'abouche à la caroncule sublinguale, en dehors de l'ostium du canal de Wharton (le conduit submandibulaire), mais peut aussi se jeter directement dans le canal de Wharton **(BIRAUD Guillaume, 2009).**

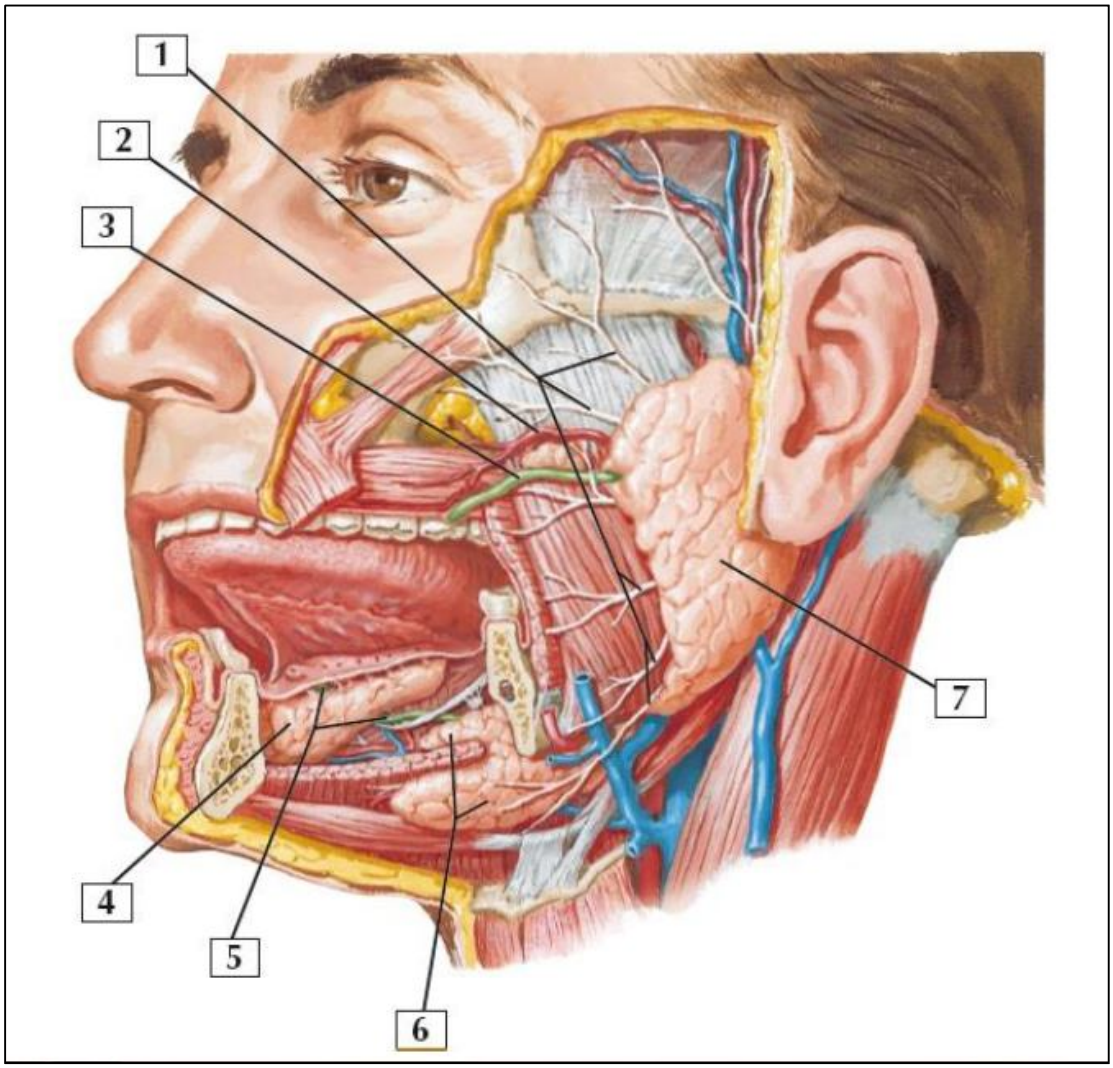


Figure 2. Anatomie des glandes salivaires.

1. Branches du nerf facial ; 2. Artère faciale transverse ; 3. Conduit parotidien ; 4. Glande sublinguale ; 5. Conduit submandibulaire ; 6. Glande submandibulaire ; 7. Glande parotide.**(Trigui, 2018).**

3. Les glandes salivaires accessoires

Ces glandes mineures sont disséminées sous les muqueuses de toute la cavité buccale, à l'exception des gencives et de la partie antérieure du palais osseux, ce sont les plus souvent de petits amas d'unités sécrétoires, non encapsulés, s'ouvrant en bouche via de courts canalicules **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

Elles sont formées de cellules muqueuses, séreuses ou mixtes **(Devoize & Dallel, 2010)**.

Les glandes salivaires accessoires se répartissent en quatre groupes principaux :

-Glandes labiales.

-Glandes jugales.

-Glandes palatines et vélaires.

-Glandes linguales **(BIRAUD Guillaume, 2009).**

4. Embryologie des glandes salivaires

Les ébauches parotidiennes et submandibulaires apparaissent dès la sixième semaine de développement et celles des glandes sublinguales et mineures, respectivement à la neuvième et à la douzième semaine. Les glandes salivaires se développent au niveau de la partie initiale de l'intestin primitif, à partir de bourgeons épithéliaux d'origine ectoblastique (pour les glandes salivaires majeures) ou mésoblastique (pour les glandes salivaires mineures) **(Devoize & Dallel, 2010)**.

5. Le rôle de la salive

Elle exerce différentes fonctions qui sont :

-L'humidification et la lubrification de la cavité buccale (eau et électrolytes) servant à la formation du bol alimentaire, à la mastication, à la déglutition, à l'élocution et au nettoyage des tissus buccaux.

-Liées à la digestion : hydrolyse buccale des carbohydrates (activité amylasique).

-Le pouvoir tampon (bicarbonates et phosphates) qui diminue le risque cariogène et protège l'œsophage lors des reflux gastro-intestinaux, reminéralisation et protection des dents (calcium et phosphates).

-Maintien de la flore microbienne : activité antibactérienne, antivirale, antimycosique.

-Rôle protecteur (les mucines salivaires).

-Croissance, différenciation et réparation tissulaire (facteurs de croissance).

-Rôle au sein du système immunitaire de la salive (immunoglobulines, mucines, cytokines, hormones, protéines et autres) **(BENHARRATS et al., 2017; BIRAUD Guillaume, 2009; Devoize & Dallel, 2010; Hazil, 2019)**.

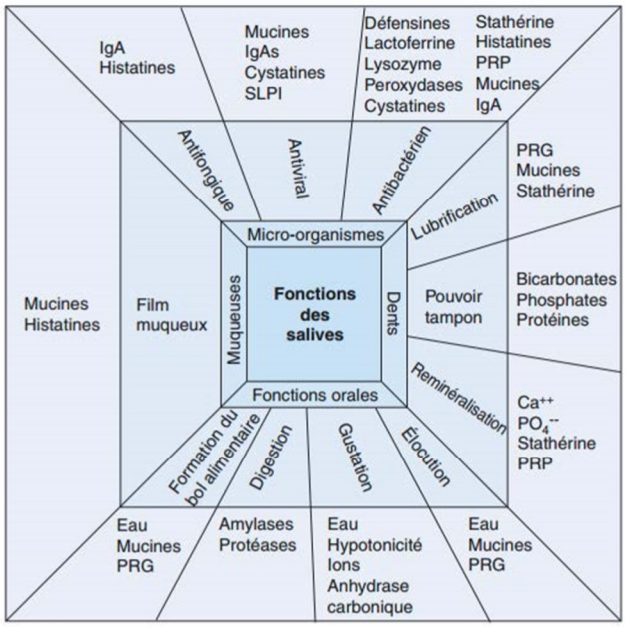


Figure 3. Schéma des fonctions de la salive.

IgA : immunoglobulines A ; **IgAs** : immunoglobulines A sécrétoires ; **PRP** : *proline-rich proteins* ; **PRG** : PRP glycosylées ; **SLPI** : *secretory leukocyte protease inhibitor.* **(Trigui, 2018).**

II. La physiologie de la salive

1. La viscosité

La viscosité est une caractéristique non newtonienne commune aux fluides biologiques, difficile à reproduire in vitro, d'où les difficultés d'obtenir une salive artificielle mimant parfaitement ces propriétés **(Devoize & Dallel, 2010).**

La viscosité de la salive totale non stimulée n'est pas homogène, car le mélange des salives parotidiennes, submandibulaires et sublinguales ne l'est pas. Cette différence de viscosité est principalement attribuée au taux et au type de mucines présentes dans les différentes sécrétions (la salive sublinguale est plus élastique que la salive submandibulaire, qui est elle-même plus élastique que la salive parotidienne). Ainsi, la salive totale stimulée est beaucoup plus homogène en termes de viscoélasticité, de par la plus grande importance (en volume) de la sécrétion parotidienne plutôt fluide **(Devoize & Dallel, 2010).**

L'unité de viscosité dynamique est le poise (Po). La viscosité de l'eau à 20ºC est de 1 centipoise (cp). Ces viscosités sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 1. la variation de la viscosité et la consistance de la salive en fonction des glandes salivaires.**(BENHARRATS et al., 2017)**

Glande salivaire	La parotide	La sub-mandibulaire	La sub-linguale
Viscosité (centipoise)	1.5	3.4	13.4
Salive (consistance)	Aqueuse	Filante (visqueuse)	Très visqueuse

2. Le débit volumique salivaire

Le volume de sécrétion salivaire est éminemment variable (entre 0,5 à 1,5 litres, avec une moyenne de 0,75 litre en 24 heures). Il est sous l'influence de multiples facteurs tels que le degré d'hydratation, la position du corps, l'exposition à la lumière, les stimulations antérieures, les rythmes circadien et circannuel, la taille des glandes et les médicaments ou drogues absorbés **(Devoize & Dallel, 2010).**

La contribution de chaque glande varie aussi en fonction du type de stimulation (gustative et/ou masticatoire), de l'état de vigilance des sujets (cycle circadien) et du cycle circannuel. Durant le cycle circadien, la sécrétion est faible durant le sommeil, alors que des pics se produisent pendant les périodes de stimulation (pendant les repas et notamment durant une stimulation acide). Au niveau circannuel, la sécrétion est basse pendant l'été, alors qu'elle est maximale en hiver. Ces variations affectent également le niveau de concentration des électrolytes et des protéines présentes dans la salive **(Devoize & Dallel, 2010)**.

Les glandes salivaires dites mineures participent à environ 10 % de la sécrétion salivaire totale non stimulée et jusqu'à 45 % de la salive produite durant la nuit. Il existe une sécrétion continuelle de base plutôt que d'importantes variations au cours de la journée, à cette salive séromuqueuse se mélange le fluide gingival, qui représente environ 0,1 % du volume total **(Devoize & Dallel, 2010)**.

Le flux salivaire varie généralement entre 0,05 et 1,10 ml/min pour la salive « au repos » et entre 1,60 et 4,55 ml/ min pour la salive « stimulée », **(BENHARRATS et al., 2017)** il assure aussi un nettoyage mécanique des surfaces muqueuses et dentaires, éliminant en partie la flore polymicrobienne. Ce phénomène est amplifié par le mouvement de la langue et des lèvres. **(Devoize & Dallel, 2010)**

Les glandes salivaires ont une vascularisation extrêmement abondante, ce qui permet des échanges nombreux entre le secteur sanguin et salivaire. Cette grande vascularisation explique les variations du débit salivaire, qui peuvent être importantes et rapides. Le débit basal peut être multiplié par 10 quand les glandes sont stimulées **(BENHARRATS et al., 2017).**

La salive est inodore, normalement transparente, incolore et filante **(BIRAUD Guillaume, 2009).**

Tableau 2. Variation des pourcentages de sécrétion salivaire des glandes majeures et accessoires au cours des différentes conditions de stimulation **(Devoize & Dallel, 2010).**

	Sécrétion non stimulée (de repos)	Sécrétion stimulée acide (gustation)	Sécrétion stimulée mécanique (mastication)	Sécrétion au cours du sommeil
Débit moyen	De 0,12-0,16 à 0,3-0,4 ml/min	Jusqu'à 7 ml/min	De 3 à 5 ml/min	Environ 20 µl/min
Glandes parotides (sécrétion séreuse)	25 %	31 %	60 %	0 %
Glandes submandibulaires (sécrétion mixte à prédominance séreuse)	60 %	60 %	30 %	45 % à 80 %
Glandes sublinguales (sécrétion mixte à prédominance muqueuse)	7 %-8 %	3 %	5 %	10 %
Glandes accessoires	< 10 %	< 5 %	< 5 %	10 % à 45 %

3. Le pH de la salive

Le pH moyen de la salive non stimulée est de 6,8 à 7,1. Il varie selon la glande sécrétrice, la stimulation, le débit et les éléments tampons. La salive la plus Acide est la parotidienne, son pH est de 5,8 ; la sous-maxillaire étant la plus alcaline, son pH est de 6,47. Et ce sur le dos de la langue est de 6,5 à 7 **(Merdes.L, 2009).**

Lorsque le débit salivaire augmente après stimulation, le pH augmente jusqu'à 7,32, le pH salivaire le plus bas est de 2,5, correspond à l'état la plus défavorable ; même après un repas, le pH salivaire rarement où il descend au-dessous de 4. La présence d'une prothèse dentaire provoque une diminution du pH jusqu'à 6.25. Les auteures ont pu constater que le pH salivaire variait avec le sexe, l'âge, le mois et le moment de la mesure, la consommation des différents aliments, la grossesse et l'état bucco-dentaire **(Merdes.L, 2009).**

4. Le pouvoir tampon

Il assure la régulation du pH buccal, le pouvoir tampon de la salive augmente avec la stimulation, il est presque inefficace pendant les périodes de faible débit, Ce pouvoir repose sur la présence de bicarbonates, de phosphates, d'urée, d'amphotères et de certaines protéines et enzymes. Les bicarbonates ont un rôle prépondérant dans la neutralisation des acides de par leurs propriétés intrinsèques **(Devoize & Dallel, 2010).** Il contribue en outre à élever le pH de la plaque dentaire en neutralisant son acidité produite par les bactéries, il est plus élevé le matin au réveil, puis diminue rapidement dans la matinée. Il s'élève après les repas puis diminue le soir **(BENHARRATS et al., 2017).**

5. Température

La température orale et donc celle du milieu salivaire, présente d'importantes variations circadiennes. Ses valeurs varient entre 36,2 et 37,2 °C **(Egloff, 2009)**, avec le pic de la journée situé en fin d'après-midi aux alentours de 16h40 **(Trigui, 2018)**.

III. La composition chimique et biochimique de la salive

1. Constituants inorganiques

1.1. Le compartiment aqueux

La salive est composée à environ 99 % d'eau (Agbo-Godeau et al., 2017).

1.2. Le compartiment gazeux

-L'oxygène O_2 est présent en quantité très infime (environ 0,2%).

-L'azote N_2 ne représente que 0,9% du volume.

-Le gaz dissous le plus important est le dioxyde de carbone CO_2 puisqu'il est présent à 20 ou 30% du volume salivaire basal **(Hazil, 2019; Trigui, 2018)**, mais peut augmenter jusqu'à 40% lors de la stimulation de la salive. Il existe une partie liée aux protéines (environ un quart) et une partie libre, en équilibre constant avec le carbonate et l'acide carbonique. De cet équilibre dépend le pH salivaire et le pouvoir tampon du couple carbonate-acide carbonique. Le CO_2 va donc influencer le milieu buccal **(BENHARRATS et al., 2017)**.

1.3. Eléments minéraux

Les constituants minéraux de la salive sont les ions sodium, potassium, calcium, chlorures, phosphates inorganiques, bicarbonates, thiocyanates, des halogènures (iode et fluor) et des métaux (cuivre, fer). Parmi ces constituants, le sodium, les chlorures et les

bicarbonates ont une concentration salivaire inférieure à la concentration plasmatique, à l'inverse du potassium, du calcium, des phosphates inorganiques et des thiocyanates. Le cuivre, le fer, les fluorures, le zinc, le cobalt et les bromures sont à l'état de traces **(Folia, 2013)**.

La concentration de tous ces ions et électrolytes est toutefois sous la dépendance de nombreux facteurs comme le type de glande, le débit salivaire, la durée et la nature de la stimulation. Les ions hydrogène H^+ sont responsables du pH salivaire et sont tamponnés par différentes substances, en particulier les bicarbonates **(Hazil, 2019).**

Tableau 3. Tableau représente la composition inorganique de la salive (concentration en mmol/L)**(Hazil, 2019).**

	Salive totale				Salive Parotidienne		Salive sub-Mandibulaire	
	Non-stimulée		Stimulée		Non Stimulée	Stimulée	Non stimulée	Stimulée
	Moyenne	Marge	Moyenne	marge				
PH	6	5,7-6,2	2 ,3	2,3-8	5,5	7,4	6,4	7,4
Na^+	8	6-26	32	13-80	1,3	36	3	45
K^+	21	13-40	22	13-80	24	21	14	17
Ca^{2+}	1,35	0,5-2,8	1,7	0,2-4,7	1,05	1,6	1,6	2,4
Mg^{2+}	0,3	0,1-0,6	0,4	0,260-6	0,15	0,12	0,07	0,4
Cl^-	24	8-40	25	10-56	22	28	12	25
HCO_3^-	2,9	0,1-8	20	4-40	1	30	4	18
HPO_4^{2-}	5,5	2-22	10	2-25	9	4	6	5
I^-			$1,4\times10^{-3}$	2- 30×10^{-3}	0,5- $2,3\times10^{-3}$	0,2- $1,2\times10^{-3}$	1×10^{-3}	$0,5\times10^{-3}$
F^-	$1,5\times10^{-3}$	0,2- $2,8\times10^{-3}$	5×10^{-3}	0,8- $6,3\times10^{-3}$	$1,5\times10^{-3}$	1×10^{-3}		

Na^+ ions sodium ; k^+ ion potassium ; Ca^{++} ion calcium ; Mg^{++} ion magnésium ; Cl^- ion chlorure ; HCO_3^- ion bicarbonate ; HPO_4^{2-} ion monohydrogéno phosphate ; I^- ion iodure ; F^- ion fluorure.

2. Constituants organiques

2.1. Les protéines

L'essentiel des composants organiques de la salive est représenté par des protéines. Plus de 1300 protéines ont été identifiées à ce jour. La nature et le rôle précis de nombre d'entre elles sont encore inconnus. Il y a environ 2,5 grammes de protéines dans 1 litre de salive émise à faible débit. La concentration en protéines augmente en général avec le débit salivaire **(Hazil, 2019).**

Ces protéines sont classées, en fonction de leur origine :

· Les protéines extrinsèques : représentées par des albumines d'origine sérique, des immunoglobulines (Ig) A, G et M, des α et β globulines, des calprotectines ou d'autres protéines du système immunitaire (Folia, 2013).

· Les protéines intrinsèques : elles sont synthétisées par la glande salivaire, elles sont nombreuses **(Hazil, 2019).**

2.1.1. Les enzymes salivaires

° Alpha-amylase salivaire

Cette protéine représente 30 % du total des protéines salivaires. Elle participe à la dégradation des amidons alimentaires en maltose par l'hydrolyse des liaisons glucidiques (α 1-4). Son action est de courte durée, car inhibée par le pH acide de l'estomac après déglutition **(Hazil, 2019).**

° Lipase salivaire

Une lipase salivaire produite au niveau des glandes sublinguales. Cette enzyme peut hydrolyser les triglycérides, mais aussi les phospholipides, les esters de cholestérol, ainsi que de nombreux autres esters **(Hazil, 2019).**

° Lysozyme

Représente 10 % des protéines totales. Le lysozyme a un pouvoir antiseptique et agit comme une enzyme lytique capable de lyser des bactéries à Gram positif, indépendamment de leur pouvoir pathogène. En revanche, les bactéries à Gram négatif sont généralement résistantes à cette enzyme, grâce à leurs couche externe de lipopolysaccharides (LPS). Elle est capable également de lyser la paroi des germes fongiques **(Trebosc Rouch, 2015).**

° Lactoperoxydases

Les peroxydases présentes dans la salive ont deux origines : une origine salivaire humaine (LPO-SH), synthétisée et sécrétée par les glandes salivaires ; et la myéloperoxydases (MPO) qui représentent entre 30 et 75% du total des peroxydases, elle est synthétisée par les polynucléaires neutrophiles migrant dans la cavité buccale **(Trigui, 2018).**

Les lactoperoxydases sont des enzymes contribuent à rendre un milieu antiseptique en utilisant le thiocyanate comme substrat. Le thiocyanate est oxydé par l'enzyme en utilisant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produisant des ions qui dénaturent les protéines bactériennes **(Hazil, 2019)**.

°Autres enzymes

Il existe un très grand nombre d'autres enzymes comme les collagénases d'origine tissulaire, les gélatinases, les élastases, les protéases, les cholinestérases et les ribonucléases. Elles jouent principalement un rôle antimicrobien et de digestion des substrats **(Hazil, 2019).**

2.1.2. Les protéines riches en proline (PRP)

La famille des protéines riches en proline représente près des deux tiers du total des protéines de la salive parotidienne et sub-mandibulaire. Les PRP salivaires sont classés comme acides, basiques et basiques glycosylées. Les PRP acides contribuent au maintien de l'homéostasie du calcium dans la cavité buccale. Les PRP basiques glycosylées agissent comme lubrifiant. Le rôle des PRP basiques n'est pas encore bien compris **(Devoize & Dallel, 2010).**

2.1.3. Les Mucines

On définit La mucine sur le plan général comme une grande protéine fortement glycosylée et entrant dans la composition de nombreux mucus. Approximativement 16 % du total des protéines présentes dans la salive mixte, sont de la famille des mucines. Elles sont sécrétées par les cellules à mucus des glandes sublinguales **(Devoize & Dallel, 2010).**

On distingue deux grandes familles de mucines : MG1 (molécules à poids moléculaire élevé et fortement glycosylées) et MG2 (molécules à bas poids moléculaire), dont la proportion fait varier les caractéristiques de viscoélasticité. Ces glycoprotéines polymérisent en milieu aqueux et retiennent de grandes quantités d'eau, pour former un gel visqueux

recouvrant les tissus de la cavité buccale, conférant ainsi à la salive son pouvoir lubrifiant. La meilleure lubrification est obtenue avec les mucines sécrétées à partir de glandes salivaires mineur. Ces mucines seraient aussi la première « ligne de défense » contre les effets nuisibles des polyphénols dans l'alimentation par ce mécanisme d'agrégation **(Hazil, 2019)**

2.1.4. Les lactoferrines

La lactoferrine est une protéine fixatrice du fer, appartenant à la famille des transferrines. Elle possède des effets bactériostatiques, bactéricides, virucides et fongicides. Il a également été décrit un effet antitumoral. Elle interviendrait enfin dans la régulation de la croissance et de la différenciation cellulaire, et aurait des propriétés anti-inflammatoires par modulation de la réponse immunitaire **(Hazil, 2019).**

2.1.5. Les histatines

Les histatines sont des petites protéines riches en histidine, sécrétées par les glandes parotides, submandibulaires et sublinguales. Les histatines auraient une activité antifongique **(Hazil, 2019).**

2.1.6. Les stathérines

Les stathérines sécrétées par les glandes parotides, elles sont les seules protéines salivaires capables d'inhiber la précipitation spontanée des phosphates de calcium dans une salive sursaturée. Les stathérines ont aussi un rôle de lubrification des surfaces dentaires **(Hazil, 2019)**

2.1.7. Les cystatines

Les cystatines salivaires sont sécrétées par les glandes salivaires parotides, submandibulaires et sublinguales, elles sont des inhibiteurs naturels des protéases à cystéine **(Hazil, 2019)**, il ont un rôle antimicrobien en inhibant les protéases à cystéine d'origine bactérienne et virale **(Samuel, 2018)**.

2.2. Les autres composantes organiques

On trouve l'urée en faible concentration (environ 2 mmol/l), du glucose (0,056 mmol/l), de la créatinine, du cholestérol. On trouve aussi plus de 3 000 acides ribonucléiques (ARN) messagers. La salive contient aussi des facteurs de croissance, principalement le nerve growth factor (NGF) et l'epithelial growth factor (EGF), dont la sécrétion augmenterait au cours de certaines maladies parodontales, des insulin-like growth factor

(IGF). Les hormones apparaissent dans la salive dans des concentrations très faibles, incomparables aux taux sériques **(Hazil, 2019).**

IV. La composition immunologique de la salive

1. Les immunoglobulines

Le système immunitaire muqueux de la cavité buccale fait partie du système « mucosa associated lymphoid tissue (MALT) », qui se compose de la muqueuse buccale, de l'anneau de Waldeyer (contenant les amygdales et le tissu adénoïde palatin), des tissus lymphoïdes pharyngés et des glandes salivaires. La plupart de ces immunoglobulines sont synthétisées au niveau de ce système et, en particulier, au niveau des glandes salivaires **(Hazil, 2019).**

1.1. Les IgA

La cavité buccale est colonisée par une flore commensale abondante et extrêmement variée. La protection périphérique des muqueuses est assurée par une exclusion immune spécifique des antigènes elle-même assurée par des immunoglobulines A sécrétoires (IgAs), associée à des mécanismes non spécifiques. La production d'IgAs dépend de la stimulation de tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. Différents tissus de l'anneau de Waldeyer et les plaques de Peyer sont impliqués dans la production d'IgAs salivaires **(Chardin, 2002)**.

Les lymphocytes B et T présents dans ces tissus sont stimulés par la reconnaissance des antigènes, des interactions cellulaires directes et des cytokines **(Chardin, 2002).**

L'environnement en cytokines induit une commutation isotypique vers IgA. Les lymphoblastes B stimulés par cet anticorps dans ces organes sont adressés vers les sites sécréteurs, où ils se différencient en plasmocytes. Les plasmocytes sécrètent des IgA dimériques associées à une pièce J. Après fixation sur son récepteur, ce complexe moléculaire est transporté vers la salive par les cellules acineuses ou canalaires **(Chardin, 2002)**.

L'IgAs est constituée par le dimère d'IgA, la pièce J, et la partie extracellulaire du récepteur (composant sécrétoire). Les IgAs contribuent au contrôle de la flore buccale en limitant les capacités d'adhésion et en favorisant l'élimination salivaire des bactéries **(Chardin, 2002).**

1.2. Les IgG

Dans la salive, les IgG se diffusent le plus souvent à partir du sérum par les crevasses gingivales, mais peuvent également être produits localement **(Salimetrics, 2020b)**.

Les niveaux d'IgG dans la salive sont généralement dans les microgrammes par millilitre, tandis que dans le sang ils sont beaucoup plus élevés, dans les milligrammes par millilitre. Étant donné que les concentrations d'IgG salivaires varient par rapport au sang, cet essai est utile pour qualifier la quantité totale d'IgG dans l'échantillon comme moyen d'assurance de la qualité de l'échantillon, par exemple lors de la réalisation d'études sérologiques **(Salimetrics, 2020b)**.

Fait important, la réactivité des IgG salivaires reflète celle des IgG sériques, de sorte que le liquide buccal est une alternative intéressante au sang pour les études sérologiques où les niveaux d'anticorps indiquent l'état immunitaire d'une personne à un agent pathogène d'intérêt. De plus, un rapport récent indique que les concentrations d'IgG totaux dans les liquides oraux sont associées aux concentrations de cytokines pro-inflammatoires **(Salimetrics, 2020b)**.

Il a été proposé d'utiliser les IgG salivaires totaux comme substitut et comme marqueur peu coûteux pour indexer l'inflammation buccale **(Salimetrics, 2020b).**

1.3. Les IgM

Tout comme l'IgG, la principale source salivaire d'IgM est le plasma sanguin, la quantité totale d'IgM varie avec le temps en fonction de la quantité de composants sériques introduits dans le fluide buccal et est soumise aux influences de la dilution par le flux salivaire. Par conséquent, lors de la mesure des IgM spécifiques à un agent pathogène, les IgM totaux peuvent être utilisés pour qualifier un échantillon de salive afin d'assurer des niveaux suffisants d'IgM totaux pour donner confiance aux résultats des IgM spécifiques à un agent pathogène. À cet égard, les IgM totaux peuvent être essentiels pour prouver un résultat de test spécifique à un agent pathogène négatif **(Salimetrics, 2020c).**

2. Les cytokines salivaires

Les concentrations de cytokine salivaire pour une combinaison de 12 analytes peuvent être mesurées simultanément à l'aide d'un seul échantillon de salive et offre un prix pratique sur mesure.

L'IL-1β, l'IL-8 et le TNF-α sont trois exemples importants d'une classe de molécules de signalisation connues sous le nom de cytokines pro-inflammatoires, qui jouent un rôle important dans le déclenchement de la réponse inflammatoire aiguë de l'organisme aux infections, aux blessures ou éventuellement au stress. Les groupes de cytokines salivaires sans les suivants :

TNF-Alpha : Le facteur de nécrose tumorale humaine Alpha (TNF-α) est une cytokine pro-inflammatoire puissante qui induit les signes classiques de l'inflammation à se produire

localement et est l'une des cytokines qui composent la réaction de phase aiguë.**(Salimetrics, 2020a).**

IL-1 Beta : L'Interleukin-1 bêta humaine (IL-1β, Interleukin-1β), également connu sous le nom d'IL-1F2, est une cytokine pro-inflammatoire produite par des monocytes et des macrophages activés. L'IL-1β de la salive, en plus de l'IL-6, a également été associé au stress social cognitif **(Salimetrics, 2020a).**

IL-6 : L'Interleukine-6 humaine (IL-6) participe à de nombreux processus biologiques, dont l'inflammation, le vieillissement, la croissance cellulaire, l'apoptose et le remodelage osseux. Dans la salive, l'IL-6 a également été associé à d'autres troubles d'intérêt tels que la parodontite chronique, le stress social cognitif et l'obésité juvénile **(Salimetrics, 2020a).**

IL-8 : L'interleukine-8 humaine (IL-8) est exprimée par plusieurs types de cellules en réponse à l'inflammation. L'IL-8 est facilement mesurable dans la salive à l'état basal, ce qui indique l'importance du recrutement continu de neutrophiles dans la cavité buccale pour la surveillance immunitaire comme moyen de maintenir la santé buccale **(Salimetrics, 2020a).**

INF-Gamma : L'interféron gamma humaine (IFN-γ, IFN-Gamma) est principalement produit par les lymphocytes. En général, l'IFN-gamma est un régulateur central des réponses immunitaires innées et adaptatives montées contre l'infection virale, médiateur l'immunité à médiation cellulaire telle que les réponses immunitaires anti-tumorale et est une caractéristique des réponses immunitaires de type T (Th1) **(Salimetrics, 2020a).**

IL-2 : L'Interleukine-2 humaine (IL-2) a plusieurs rôles dans le système immunitaire, la tolérance immunitaire et l'immunité contre les pathogènes, principalement par ses effets directs sur les lymphocytes T. En général, selon le contexte, l'IL-2 peut déclencher ou atténuer les réactions immunitaires. Des taux élevés d'IL-2 ont été signalés dans la salive des patients atteints du syndrome de la bouche brûlante et associés à la gravité de la maladie **(Salimetrics, 2020a).**

IL-5 : L'Interleukin-5 humaine (IL-5), conduit principalement la maturation et le maintien des éosinophiles et des cellules B sécrétant des anticorps et principalement produit par les éosinophiles et les cellules auxiliaires de type 2 (Th2). La mesure de l'IL-5 dans le liquide buccal est intéressante, par exemple avant et après les crises d'asthme, permettre d'analyser les échantillons qui ont été prélevés à des moments difficiles à atteindre lors d'une visite au cabinet ou à la clinique d'un médecin **(Salimetrics, 2020a).**

IL-7 : L'activité humaine de l'interleukine-7 (IL-7) est importante pour chaque stade de développement et de survie des lymphocytes T naïfs et pour la génération et le maintien de la

mémoire des lymphocytes CD4 et CD8. La signalisation IL-7 est également associée à plusieurs types de leucémies lymphoïdes **(Salimetrics, 2020a).**

IL-10 : Interleukine-10 humaine (IL-10) est principalement produit par les monocytes et certains lymphocytes. C'est une cytokine anti-inflammatoire qui inhibe la synthèse de nombreuses cytokines (dont IFN-γ, IL-2, IL-3, TNF-α, TNF-β et GM-CSF) qui suppriment les réponses pro-inflammatoires Th1 impliquées dans la promotion de la phagocytose. Les taux d'IL-10 sont modérément élevés pendant le stress aigu et le cancer de la bouche **(Salimetrics, 2020a)**.

IL-12p70 : L'Interleukine-12p70 humaine (IL-12p70) active les cellules T et les cellules NK (Natural Killers) qui stimulent la production d'IFN-γ, principalement produit par les macrophages et les lymphocytes T **(Salimetrics, 2020a).**

IL-13 : L'interleukine-13 humaine (IL-13) est sécrétée par diverses cellules immunitaires, impliquée dans un certain nombre de processus biologiques. Les concentrations d'IL-13 dans la salive peuvent refléter celles observées dans les voies respiratoires de maladies comme l'asthme**(Salimetrics, 2020a).**

IL-17A : L'interleukine-17A humaine (IL-17A) est une glycoprotéine homodimère principalement par les cellules T-helper activées 17 (Th17). Plus spécifique aux fonctions associées à la cavité buccale, IL-17A est également impliqué dans le syndrome de Sjogren(c'est un processus auto-immun aboutissant à une sécheresse des muqueuses et pouvant impliquer d'autres organes**(Liapi et al., 2016)**) et la défense contre la candidose **(Salimetrics, 2020a).**

V. Identification de microbiome salivaire

La bouche humaine est colonisée par une communauté diversifiée de microorganismes, notamment des bactéries, des archées, des champignons, des protozoaires et des virus. Dont seulement 50% des bactéries peut être cultivée **(Marsh et al., 2009; Wade, 2013)**, une des raisons pour lesquelles les bactéries buccales ne sont pas cultivables est que les organismes se développent naturellement dans un biofilm multi-espèces et partagent les nutriments et communiquent avec d'autres membres de la communauté **(Wade, 2013).**

À l'intérieur de la bouche, différents habitats sont colonisés par des consortiums d'organismes caractéristiques et peuvent être divisés en trois groupes qui sont colonisés par des communautés semblables : la gencive et le palais dur ; la langue et la gorge ; et la plaque

dentaire, à la fois supra- et sous-gingivale **(Wade, 2013)**. Ces surfaces sont baignées en continu dans un fluide principalement la salive, qui agit comme véhicule pour le transport de cellules bactériennes d'un site à l'autre dans la cavité buccale et facilite probablement le transfert de personne à personne **(Socransky & Haffajee, 2005)**, donc les organismes présents dans la salive proviennent d'autres parties de la bouche de manière disproportionnée **(Sutter, 1984)**.

La nature des différents environnements change de temps en temps. L'environnement buccal est modifié par l'éruption naturelle et la perte de dents, l'hygiène buccale, le régime alimentaire, la thérapie antimicrobienne et les changements hormonaux **(Sutter, 1984)**, mais des études sont trouvées que la flore buccale peut rester stable de 5 jours jusqu'à 7 années **(Belstrøm et al., 2016).**

1. La flore bactérienne

Selon les premières études sur la salive qui se font par culture, Plus de 250 espèces bactériennes orales ont été isolées et caractérisées **(Keijser et al., 2008)**, les anaérobies suivants ont été trouvés par culture aux concentrations indiquées : *Veillonella*, 1,7-6,9 X 10^7/ml ; *Fusobacterium*, 5,6 x 10^4 - 2,5 x 10^5/ml ; et *Leptotrichia*, 3,0 x 10^3. Les autres anaérobies présents dans la salive sont les Bacteroides à pigments noirs, les autres *Bacteroides* et *Selenomonas*, les cocci et bacilles gram-positifs **(Sutter, 1984)**. Alors, *Veillonella* est la bactérie anaérobie la plus abondante dans la salive.

Le développement d'équipements et de techniques d'analyse génétique a permis de découvrir des bactéries non cultivables qui situent dans la bouche et d'élargir la liste bactérienne buccale. Jusqu'à 700 espèces de bactéries peuvent coloniser à 215 cm² du surface de la cavité buccale et environ 500 espèces peuvent être détectées dans le sous-gingival **(Socransky & Haffajee, 2005)**, la microflore salivaire est identique pour tous les emplacements et surtout les bactéries du biofilm de supra-gingival, mais ne pas pour les échantillons sous-gingivaux **(Socransky & Haffajee, 2005; Yamanaka et al., 2012)**. Le nombre total de bactéries viables dans la salive est plus que 10^8 par ml **(Socransky & Haffajee, 2005; Yamanaka et al., 2012)**, ce qui signifie qu'une personne ayant un débit salivaire normal de 750 ml excrètera plus de 5 g de bactéries solides dans la salive en 24 h **(Lynge Pedersen, 2016)**, les données des sujets de Sjogren suggèrent que la diminution du débit salivaire limite la croissance des espèces bactériennes sur les surfaces des dents et des tissus mous et modifie la composition microbienne **(Socransky & Haffajee, 2005)**.

L'étude d'Aas et al**. (2005)**, basée sur une analyse de 9 sites dans la bouche de 5 sujets cliniquement sains, ils sont trouvés que les espèces communes à tous les sites appartenaient aux genres *Gemella, Granulicatella, Streptococcus* et *Veillonella.*

Keijser et al.**(2008)** font un pyroséquençage pour 71 échantillons salivaires et de 98 échantillons à partir de la plaque supra-gingivale des adultes sains, ce qui a donné les résultats suivants : la présence des 3621 et des 6888 phylotypes au niveau de l'espèce dans la salive et la plaque respectivement. Les embranchements abondants trouvés dans tous les échantillons sont représentées 99.6% de tous les séquences. ils sont Actinobacteria, Bacteroides, Firmicutes, Fusobacteria, Proteobacteria, Spirochetes, ou division candidate TM7 qui sont les même résultats avec les travaux de Lazarevic et al.**(2010)**, tandis que Firmicutes, Bacteroides et Proteobacteria sont les plus abondantes dans la salive **(Keijser et al., 2008)**. Ça était prouvée aussi par Streckfus et Kulasinghe **(2015).** 50% de la microflore salivaire confinée à 3 genres parmi les 185 genres trouvés dans la salive et qui sont *Prevotella* (19.70%), *Streptococcus* (19.68) et *Veillonella* (12.6), et le genre le plus diversifié était le genre *Prevotella*. Au total, les estimations de la richesse des communautés bactériennes totales variaient entre 8480 et 12 650 phylotypes dans la salive **(Keijser et al., 2008)**.

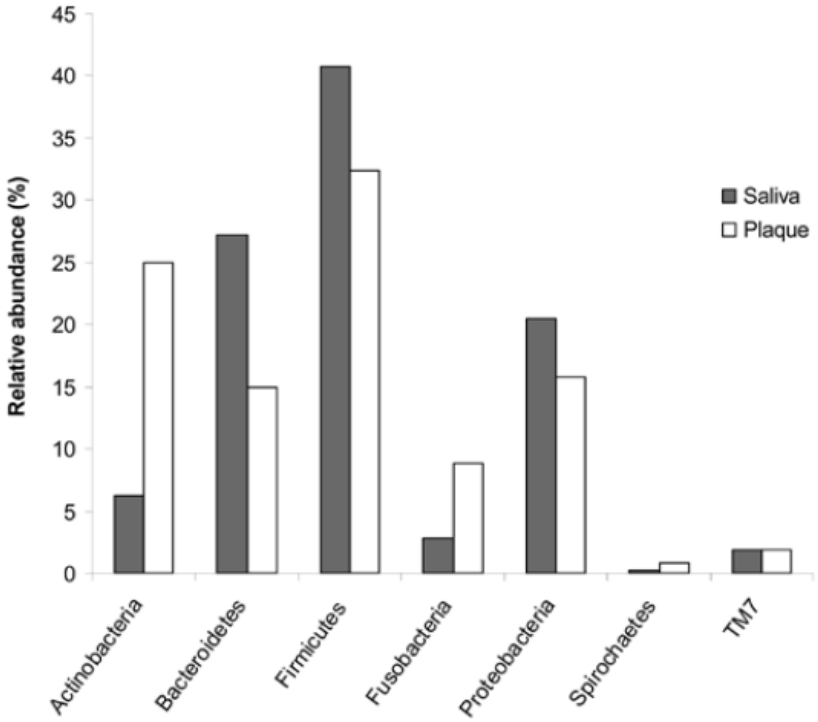


Figure 4. Abondance relative du phyla principal identifié dans la salive (barres sombres) et la plaque (barres claires). Ces 7 phylas prédominants représentent ensemble > 99 % des séquences identifiées. Le nombre total de séquences était N = 73,485 et N = 124,188 dans la salive et dans la plaque, respectivement. **(Keijser et al., 2008)**

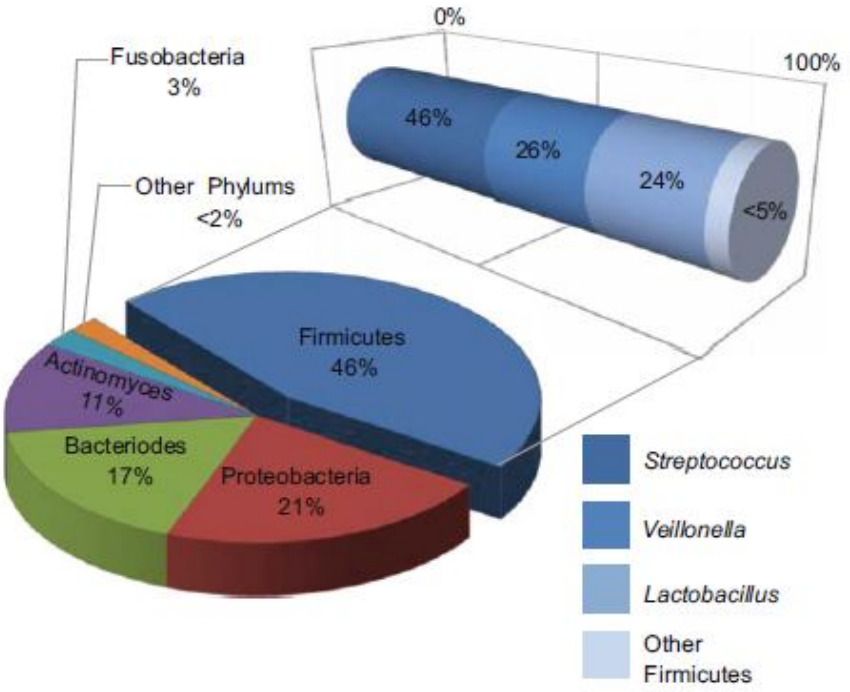


Figure 5. Microbiome oral partagé. Classification moyenne au niveau du phylum et du genre des bactéries communes colonisant la cavité buccale (Les données ont été regroupées à partir d'études précédentes).**(Streckfus & Kulasinghe, 2015)**

Il exicte plusieurs études qui confirment que le microbiome orale se different d'une région à une autre **(Nasidze et al., 2009; Wang et al., 2019)**, d'une personne à une autre **(Belstrøm et al., 2016)** et selon la stimulation salivaire **(Gomar-Vercher et al., 2018).**

Dapris Wang et al.**(2019),** les échantillons oraux humains appartenaient de 17 phyla bactériens, les plus dominants sont Firmicutes(37.81%), Proteobacteria(30.11%), Bacteroidetes(17.76%), Fusobacteria(9.07%) et Actinobacteria(4.75%).Selon Lundmark et al. **(2019)**, ils ont trouvé les mêmes phyla abandentes avec différents pourcentages au Proteobacteria (16.6%) et au Bacteroidetes(22.1%). wang et al.**(2019)** trouvent aussi qu'au moins 264 genres sont analysés, 11 genres était les plus abondents avec *Streptococcus* (23,52 %),*Neisseria* (15,30 %) et *Haemophilus* (13,21 %).

Selon Nasidze et al.**(2009)** qui prennent des échantillons de différentes régions du monde, ils trouvent que les streptocoques sont les plus abondantes chez tous les 120 personnes participants et seulement 8 genres sont communs entre ces personnes. Selon Wang et al.**(2019)** , chaque population a un groupe bactérien abondante spécifique pour elles.

Belstrøm et al.**(2016)** prouvent que la microflore salivaire est stable chez une seule personne pendant toute la journée et la semaine, mais elle se diffère d'une personne à une autre, donc ils ont conclu que chaque individu a son propre empreinte bactérienne salivaire personnalisée.

selon Gomar-Vercher et al. **(2018)** qui ont fait une comparaison entre une salive stimulée et non stimulé, les résultats montrent des différences significatives entre la microflore de ces deux types de salive. Ils ont constaté que la salive stimulée contenait un nombre estimé d'espèces plus de trois fois plus élevé que la salive non stimulée. De plus, la composition bactérienne au niveau de la classe et du genre était radicalement différente entre les deux types d'échantillons.

Des études prouvent que les bactéries à gram positif comme *Streptococcus* et *Actinomyces* peuvent distribuer dans la majorité de la cavité buccal et trouvent que les bactéries à gram négatif sont diverses et comprennent des espèces qui sont facultativement et obligatoirement anaérobies, ainsi que des espèces qui sont microaérophiles et capnophiles (Un capnophile est un micro-organisme, généralement extrêmophile, dont la croissance est optimale lorsque la concentration de CO_2 est relativement élevée. Un tel micro-organisme est souvent microaérophile en même comme *Helicobacter* (***Capnophile*, s. d.**)) **(Marsh et al., 2009).**

La composition de la microflore orale est complexe et la Human Oral Microbiome Database **(eHOMD)** élargie à inclus 770 espèces microbiennes de 230 genres dans 16 phylas bactériens et archaïques. De toutes les espèces de cette base de données, 57 % sont officiellement nommées, 13 % sont non-nommées mais cultivées et 30 % sont connues uniquement sous le nom de phylotypes non cultivés **(Wang et al., 2019),** quelques bactéries non-cultivables appartiennent du Bacteroidetes, Firmicutes et Synergistetes ou tout l'embranchement est incultivable comme TM7 et SR1**(Wade, 2013).**

Tableau 4. Les principaux genres bactériens trouvés dans la cavité buccale **(Marsh et al., 2009)**.

Gram positive		Gram negative	
Cocci	**Rods**	**Cocci**	**Rods**
Abiotrophia	*Actinobaculum*	*Anaeroglobus*	*Aggregatibacter*
Enterococcus	*Actinomyces*	*Mega sphaera*	*Campylobacter*
Finegoldia	*Alloscardovia*	*Moraxella*	*Cantonella*
Gemella	*Arcanobacterium*	*Neisseria*	
Granulicatella	*Atopobium*	*Veillonella*	*Capnocytophaga*
Peptostreptococcus	*Bifidobacterium*		*Centipeda*
Streptococcus	*Corynebacterium*		*Desulfomicrobium*
	Cryptobacterium		*Desulfovibrio*
	Eubacterium		*Dialister*
	Filifactor		*Eikenella*
	Lactobacillus		*Flavobacterium*
	Mogibacterium		*Fusobacterium*
	Olsenella		*Haemophilus*
	Parascardovia		*Johnsonii*
	Propionibacterium		*Kingella*
	Pseudoramibacter		*Leptotrichia*
	Rothia		*Methanobrevibacter*
	Scardovia		*Porphyromonas*
	Shuttleworthia		*Prevotella*
	Slackia		*Selenomonas*
	Solobacterium		*Simonsiella*
			Tannerella
			Treponema
			Wolinella

• Mycoplasma are also isolated from the mouth
• There are also unculturable bacteria that have yet to be placed in a genus; some belong to the phylum, TM7.

2. La flore fongique

Les levures du genre Candida sont des hôtes habituels de la cavité orale humaine **(Marsh et al., 2009; Ahariz et al., 2010; Streckfus & Kulasinghe, 2015),** il est également isolé, en faible nombre, des jeunes adultes en bonne santé. Les sujets dont les défenses immunitaires sont amoindris ou ceux dont la microflore orale est perturbée, peuvent développer une infection à partir de ce réservoir **(Ahariz et al., 2010).**

Diverses espèces de Candida se trouvent dans la bouche on estime que *Candida albicans* représente plus de 80 % de tous les isolats de levure orale. En termes de prévalence orale, *C.albicans* est suivi par, *Candida krusei, Candida tropicalis*, *Candida guilliermondi Candida kefyr* et *Candida parapsilose.* Il existe d'autres espèces qui sont rarement observés comme : *Paracoccidioides basiliens, Aspergillus spp, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Mucor spp, Saccharomyces spp, Geotrichum spp* et *Rhizopus spp* **(Marsh et al., 2009).**

Ces espèces se trouvent sur les muqueuses de la bouche sous forme de blastoconidies (cellules rondes bourgeonnant avec environ 4µ de diamètre), la transition vers le parasitisme provoque l'apparition de fibres. Levure il peut surinfecter des lésions de parodontite ou de la péri-implantite **(Ahariz et al., 2010).**

3. La flore virale

La présence de virus dans la bouche a fait l'objet d'études approfondies au cours des dernières années, surtout depuis l'avènement des techniques de réaction en chaîne par polymérase (PCR) **(Marsh et al., 2009).**

La plupart des virus oraux vivent en symbiose avec leurs hôtes et ils peuvent jouer un rôle important dans la formation de la diversité microbienne de la cavité buccale **(Lynge Pedersen, 2016)**

Avec excrétion virale active dans la salive. Les virus de l'herpès existent en phase lytique (active) ou latente (dormante) et persistent en tant qu'infection permanente de l'hôte. Le passage d'une période de dormance à une période de réplication active chez les adultes en bonne santé peut se produire spontanément ou plus probablement en raison de changements environnementaux (stress physique ou émotionnel) **(Streckfus & Kulasinghe, 2015).**

Chapitre II

Le cancer du sein et leur relation avec le microbiome

Chapitre II : Le cancer du sein et leur relation avec le microbiome salivaire et la salive

CANCER DU SEIN

Le cancer du sein est la forme de cancer la plus fréquente et la première cause de décès par cancer chez les femmes dans le monde.

Le cancer du sein est considéré comme l'une des principales priorités mondiales en termes de santé publique. Il est la pathologie cancéreuse la plus fréquente chez les femmes, devant le cancer du côlon -rectum et le cancer du poumon. A l'échelle mondiale, il représente 24,2 % de l'ensemble des cancers incidents féminins selon **GLOBOCAN 2018**. Cependant, le pronostic de survie diminue avec l'âge et la sévérité de la maladie, au moment du diagnostic **(Zerhari, 2019).**

1. Définition

La notion de "Cancer du sein" relève d'une nomenclature générique qui fait référence à tout un ensemble de proliférations néoplasiques de la glande mammaire qui diffèrent tant du point de vue histologique qu'en ce qui concerne leur comportement évolutif **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

Le terme de "cancer du sein" ne désigne que les tumeurs malignes, potentiellement agressives, du sein tandis que le terme de "tumeur du sein" désigne à la fois les tumeurs malignes et bénignes **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

Le terme "carcinome" ou «épithélioma» est parfois utilisé, comme synonyme de "cancer". En réalité carcinome est un terme spécifique de morphologie microscopique (histologique) qui désigne les plus fréquents des cancers du sein d'origine épithéliale c'est-à-dire dérivant des unités sécrétoires (lobules) ou des canaux lactifères **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

2. Incidence, mortalité et prévalence

En 2018, des 18078957 nouveaux cas de cancer et un total de 9555027 de décès par cancer ont été observés dans le monde. Le cancer du sein représente 11,6 % de nouveaux cas (le deuxième au monde) et de 6,6 % de décès (le cinquième au monde) La prévalence dans les derniers cinq ans est chiffrée à 43,84 millions de personnes avec

le cancer et à 6,87 millions de personnes avec le cancer du sein et qui est représenté 15,68 % du patient atteints du cancer **(GLOBOCAN, 2018a).**

En Algérie, le cancer du sein en 2018 représente 22,3 % (le premier) de nouveaux cas de cancer qui sont 53073 personnes et il représente 40,7 % (le premier) de nouveaux cas chez les femmes qui atteignent le cancer et qui sont 29112 cas et de 16,2 % de décès, la prévalence de cancer du sein dans les derniers cinq ans est de 26,64% de patients atteint le cancer en Algérie **(GLOBOCAN, 2018b).**

Le cancer est donc un enjeu de santé publique, humaine et social majeur affectant tous les pays et il est la pathologie la plus fréquente chez les femmes algériennes.

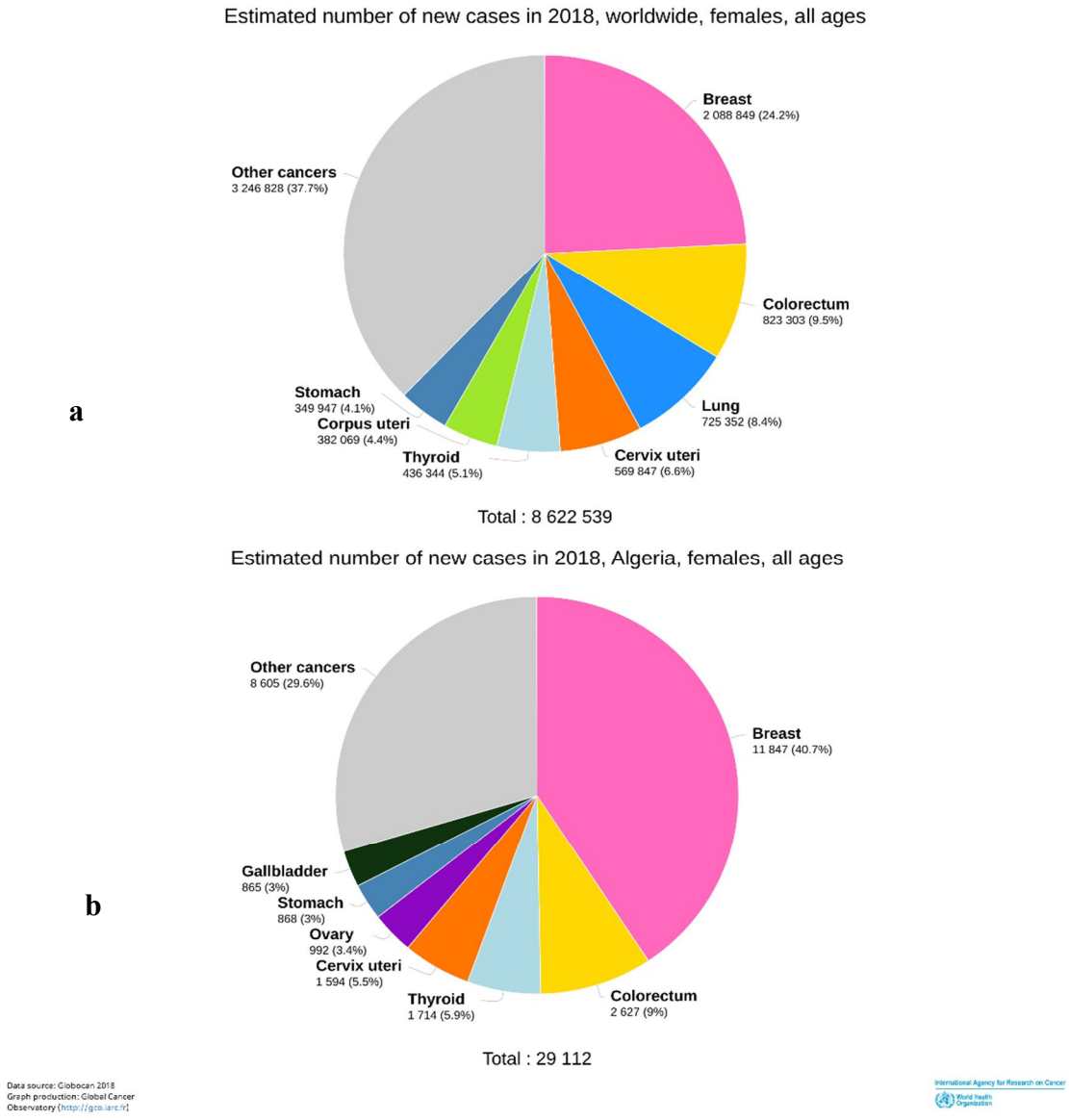


Figure 6. Un secteur représente le nombre estimé de nouveaux cas en 2018 des femmes, tous âges (a) : dans le monde, (b) : en Algérie. **(Cancer Today)**

3. Développement du cancer du sein

1. Anatomie, embryologie et physiologie du tissu mammaire

Le sein est un organe pair situé par-dessus le muscle pectoral, qui contenant des glandes mammaires exocrine, lactifère noyées dans du tissu graisseux et de fibres de soutien composés de tissu conjonctif (ligaments de Cooper). Il parcourut par des vaisseaux sanguins et des vaisseaux lymphatiques, le tout est recouvert par la peau **(Zerhari, 2019).**

les glandes mammaires sont des glandes sudoripares apocrines fortement modifiées **(Young et al., 2013)**, qui se développent embryologiquement, à la 4ème semaine de grossesse, lorsque l'embryon ne mesure que 8 mm, le long de deux lignes, les crêtes mammaires qui s'étendant des aisselles à l'aine, ces crêtes vont finir par disparaître, sauf à hauteur du 4ème espace intercostal **(Tadler, 2016).** Chez les êtres humains, une seule glande se développe de chaque côté du thorax, bien que des tissus mammaires accessoires puissent être trouvés n'importe où le long des conduites de lait. Les seins des deux sexes suivent un cours de développement similaire, la glande mammaire reste au repos jusqu'à la puberté **(Young et al., 2013).**

Après quoi les seins féminins se développent, sous l'action des œstrogènes la glande mammaire augmente en volume par augmentation du tissu glandulaire et du tissu graisseux périphérique. La formation des lobules est dépendante de la progestérone et ne peut pas avoir lieu en l'absence d'ovulation. Lors du cycle menstruel, la glande mammaire subit des fluctuations selon les variations des concentrations plasmatiques d'œstrogènes et de progestérone. Les sécrétions hormonales stimulent la croissance et la multiplication des canaux **(Tadler, 2016)**, lors de la grossesse, les actions combinées de la progestérone et de la prolactine stimulent les alvéoles, qui sécrètent du lait pendant la lactation **(Zerhari, 2019)**, lors de la péri-ménopause, les lobules régressent, ce qui peut conduire à la formation de kystes. A la ménopause, les seins, comme les autres tissus reproducteurs féminins, subissent une atrophie progressive, les lobules s'atrophient, ne laissant que les canaux et le tissu adipeux et conjonctif. Ce phénomène ne signifie pas nécessairement que le volume du sein diminue, car la perte de tissu glandulaire peut être compensée par l'augmentation de la masse graisseuse **(Tadler, 2016).**

Chaque sein se compose de 15 à 25 unités indépendantes appelées lobes du sein **(Young et al., 2013)**, chaque lobe est composé de 20 à 40 lobules et chaque lobule contient 10 à 100 alvéoles **(Tadler, 2016),** l'alvéole est une cavité arrondie qui est bordée de cellules sécrétant du lait **(Zerhari, 2019)**, chaque lobule consistant en une glande tubulo-acinaire composée. La taille des lobes est assez variable et la majeure partie du sein est composée de quelques gros lobes qui se connectent à la surface. Immédiatement avant de s'ouvrir sur la surface, le conduit lactifère forme une dilatation appelée sinus lactifère. Les lobes sont incrustés dans une masse de tissu adipeux, subdivisée par des septa collagènes. Les lobules sont séparés par un tissu interlobulaire collagène moyennement dense, tandis que le tissu de soutien intralobulaire entourant les canaux dans chaque lobule est moins collagène et plus vasculaire. La peau entourant le mamelon, l'aréole, est pigmentée d'environ 3 cm de diamètre et contient des glandes sébacées(les glandes de Montgomery) qui ne sont pas associées aux follicules pileux **(Young et al., 2013)**.

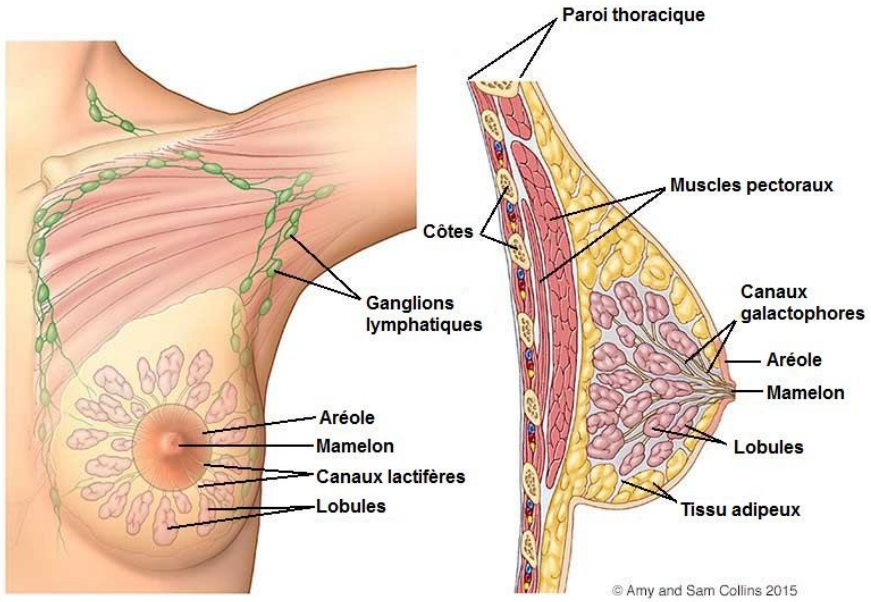


Figure 7. Schéma représente l'anatomie du sein normal **(What Is Breast Cancer ?, s. d.).**

2. Vascularisation et innervation du tissu mammaire

A- Les artères

La vascularisation artérielle du sein provient de trois pédicules principaux :

1) l'artère thoracique interne, qui vascularise un peu plus de moitié supérieure de la glande.

2) l'artère thoracique latérale, qui vascularise la partie latérale de la glande.

3) les artères intercostales vascularisent la partie superficielle et glandulaire **(Tadler, 2016).**

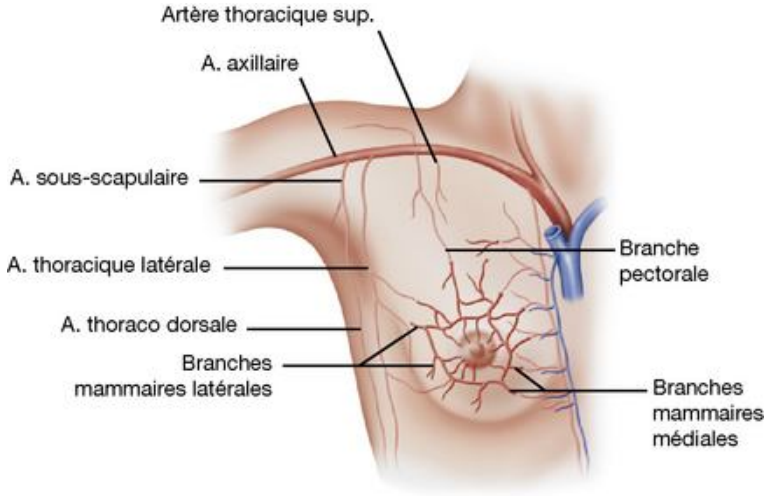


Figure 8. Schéma représente la vascularisation du sein **(Medicine Key, 2017).**

B- Les veines

Le drainage veineux du sein s'assure par :

1) les veines thoraciques internes au niveau médial.

2) la veine axillaire au niveau latéral.

3) les veines intercostales au niveau postérieur ou profond.

Le réseau superficiel péri-aréolaire s'appelle le réseau de Haller, visible pendant la grossesse, qui draine radiairement vers la périphérie dans les veines jugulaires externes, céphaliques et sous-cutanées de l'abdomen. Le réseau profond chemine entre les lobes et assure un drainage vers les veines thoraciques internes, axillaires et intercostales **(Tadler, 2016).**

C- les lymphatiques

Les ganglions et les vaisseaux lymphatiques composent le système lymphatique qui aide notamment à combattre les infections. Les ganglions lymphatiques du sein sont repartis en 3 sites principaux ; leurs importances sont capitales en matière d'extension des cancers du sein :

- Au niveau de l'aisselle (ganglions axillaires) ;
- Au-dessus de la clavicule (ganglions sus-claviculaires) ; sous la clavicule (ganglions sous-claviculaires ou infra-claviculaires) ;
- A l'intérieur du thorax, autour du sternum (ganglions mammaires internes) **(Anatomie du sein - Cancer du sein, s. d.)**.

En outre, la partie superficielle du sein (réseau sous cutané et aréole) possède son propre drainage lymphatique. Celui-ci va se jeter principalement dans les ganglions axillaires **(Tadler, 2016).**

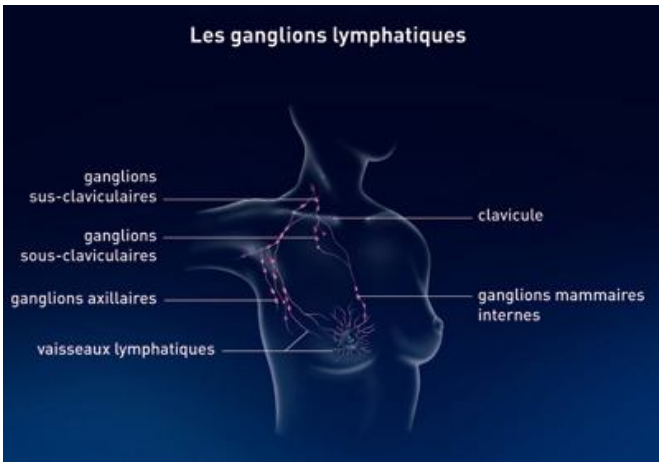


Figure 9. Schéma représente les ganglions lymphatiques. **(Tadler, 2016).**

D- les nerfs

Deux groupes de nerfs issus des plexus cervicaux et brachiaux et des nerfs intercostaux sont responsables de l'innervation du sein :

1) les nerfs superficiels, cutanés

2) les nerfs profonds, qui suivent le trajet des vaisseaux dans la glande mammaire.

L'innervation de la plaque aréolo-mamélonnaire est fournie par les nerfs intercostaux thoraciques 3 à 5 **(Tadler, 2016).**

3. Processus de cancérogenèse et de métastase

C'est l'ensemble d'événements qui conduisent à la transformation d'un tissu physiologique (normal) en un tissu cancéreux **(Bazan & Besançon, s. d.).**

Les cellules cancéreuses échappent au système de contrôle et survivent en dehors de cet équilibre, conduire à une propagation incontrôlée. Le cancer est un processus en plusieurs étapes qui commence par une anomalie dans une seule cellule en raison d'une mutation. Donc la glande mammaire qui contient de nombreuses cellules en croissance et en différenciation, peut être une cible sensible pour la transformation cancéreuse **(Zerhari, 2019).**

Les principales étapes du développement du cancer sont l'initiation, la promotion et la progression **(Zerhari, 2019).**

L'initiation est la première phase du développement du cancer. Cette phase concerne une seule cellule ou un petit nombre de cellules endommagées. Les agents initiateurs causent des dommages à l'ADN et peuvent donc activer des oncogènes et inactiver des gènes suppresseurs de tumeurs (gène capable de supprimer les effets des mutations d'autres gènes). Cela provoque une dérégulation des voies de signalisation biochimiques liées à la prolifération, la survie et la différenciation cellulaire **(Zerhari, 2019).**

La promotion est la deuxième étape qui se produit dans les cellules qui ont été mutées un initiateur. L'effet des actions qui se produisent pendant la promotion, induit une propagation clonale des cellules initiées, par l'exposition continue à un agent promoteur **(Zerhari, 2019)**.

La progression est la phase finale de la transformation cancéreuse. Dans cette phase, les cellules sont complètement échappées au mécanisme de régulation mis en place par le corps humain, où il y a l'apparition et la croissance de tumeur maligne, qui se traduit par l'envahissement et le développement des cellules cancéreuses dans les tissus avoisinants. Ces cellules peuvent se disséminer vers des sites secondaires et former des métastases **(Zerhari, 2019).**

La métastase est la capacité des cellules tumorales à quitter la tumeur primitive, à migrer et à s'implanter dans un organe à distance, puis elles se prolifèrent et alors formant des nouveaux foyers tumoraux. La propagation métastatique est liée à une

infiltration tissulaire locale des cellules tumorales, caractérisée par la pénétration et la migration de ces cellules dans les tissus normaux voisins du foyer tumoral. La métastase caractérise les tumeurs malignes **(Pointillard et al., 2010).**

Les organes les plus touchés par des métastases lors d'un cancer du sein sont le foie, les os et les poumons **(Les stades du cancer - Cancer du sein, s. d.).**

4. Classification du cancer du sein

1. Classification selon les types de cancer du sein

1.1 Carcinome canalaire in situ (CCIS) : Renvoie aux cellules anormales repérées dans les canaux galactophores. Ces cellules sont considérées comme non envahissantes puisqu'elles ne se sont pas propagées aux tissus mammaires voisins. Il est considéré comme une forme précoce de cancer qui peut devenir infiltrant et toucher d'autres tissus du corps **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.2. Carcinome lobulaire in situ (CLIS) : Renvoie aux cellules anormales trouvées dans les lobules, les glandes qui produisent le lait dans le sein. Bien que ce type est rare de se transforme en un cancer invasif, mais il est lié à un risque de développer un cancer du sein infiltrant plus tard dans la vie **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.3. Carcinome canalaire infiltrant : Un cancer apparu dans les canaux (ceux qui transportent le lait des glandes au mamelon) et qui s'est propagé aux tissus mammaires environnants **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

✓ Le carcinome mammaire sécrétoire :

Il est considéré comme un sous-type de carcinome canalaire infiltrant, causé par une grande sécrétion de mucine dans la tumeur. Il a affinité à faire des métastases et des récidives locales. Il prolifère lentement, mais il est préférable de le soigner vigoureusement. Il représente moins de 0,1 % de tous les cas de cancer du sein envahissant et les traitements possibles comprennent la chimiothérapie, la radiothérapie et la mastectomie (La mastectomie est l'enlèvement chirurgical, partiel ou total, d'un sein ou des deux) **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.4. Carcinome lobulaire infiltrant : un cancer qui apparut dans les lobules (les groupes de glandes mammaires) et qui a envahi les tissus mammaires voisins **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.5. Le carcinome métaplasique : Un type de cancer qui se caractérise par le changement d'un type de cellule cancéreuse en un autre. Moins d'1% des cancers du sein sont métaplasiques et ils peuvent être traités par la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.6. Le cancer inflammatoire du sein : C'est une forme rare de cancer qui rend le sein rouge, enflé et sensible comme s'il était infecté. Il s'agit d'un type de cancer agressif, localement avancé (c'est-à-dire un cancer qui se propage aux tissus ou aux ganglions avoisinants, mais non aux autres organes) qui bloque les vaisseaux lymphatiques dans la peau du sein **(Types & sous-types de cancer du sein, s. d.).**

1.7. Le cancer du sein métastatique : Connu aussi sous le nom de cancer du sein avancé ou de stade IV. Il consiste en la propagation des cellules cancéreuses de leur lieu d'origine vers d'autres parties du corps. Ils dépendent de diverses propriétés cliniques et pathologiques de la tumeur initiale **(Le cancer du sein, 2013).**

1.8. Le cancer triple négatif : La particularité du cancer du sein «triple négatif» est qu'il ne possède pas de récepteurs pour les hormones féminines (œstrogène et progestérone), ni de surexpression des récepteurs Her2. En fait, ils ne peuvent pas être traités par une hormonothérapie ou une thérapie anti-Her2 ciblée. Ils sont donc plus difficiles à traiter, selon le Dr Christophe Le Tourneau, oncologue et chef du département d'essais cliniques précoces de l'Institut Curie (Paris) **(2018),** environ 15 % des cancers du sein diagnostiqués chaque année appartiennent aux catégories des cancers du sein de type « triple négatif », dans l'ensemble, ce sont des cancers plus agressifs, même si certains ont des caractéristiques spécifiques qui les rendent acceptable à une thérapie anti-androgénique, par exemple, et d'autres répondent assez bien à la chimiothérapie. De plus, l'immunothérapie est assez prometteuse pour ces cancers, mais seulement chez certains patients **(Cancer du sein, s. d.).**

Autres carcinomes : médullaires, colloïdes ou mucineux, tubulaires, papillaires. Ces types de cancer du sein sont plus rares. Les principales différences entre ces types de cancer reposent sur le type de cellules touchées **(Le cancer du sein, 2013).**

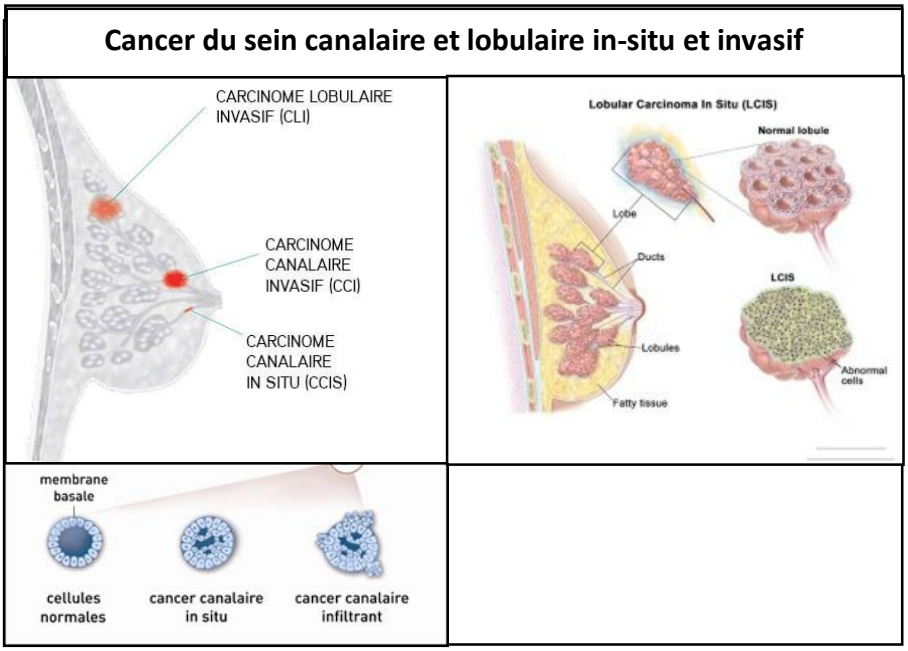


Figure 10. Schéma représente les types principaux du cancer du sein**. (« Diagnostic de Votre Cancer Du Sein » s. d.)**.

2. Classification selon les stades du cancer du sein (classification TNM)

La stadification est le fait de classer un cancer en fonction de sa quantité présente dans le corps et de son emplacement lors du diagnostic initial. Cette opération se fait par les examens pour savoir quelle est la taille de la tumeur, quelle partie du sein est atteinte par le cancer, si le cancer s'est propagé à partir de son lieu d'origine et où il s'est propagé. Le système de stadification le plus couramment utilisé pour le cancer du sein est la classification TNM **(Stades du cancer du sein - Société canadienne du cancer, s. d.).**

La classification TNM est basée sur le principe de l'extension anatomique. TNM signifie en anglais « Tumor, Nodes, Metastasis » soit « tumeur, ganglions, métastases » **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

La classification TNM veut dire :

- **T : La taille et l'infiltration de la tumeur :** Étudier la taille et l'infiltration de la tumeur pour donner une indication sur le degré d'évolution de la maladie **(Les stades du cancer - Cancer du sein, s. d.).**

- **N : L'atteinte ou non des ganglions lymphatiques, le nombre et leur emplacement** : L'étude du nombre de ganglions envahis et leur emplacement pour savoir plus sur le degré de propagation du cancer **(Les stades du cancer - Cancer du sein, s. d.).**
- **M : La présence ou non de métastases** : Les cellules cancéreuses peuvent envahir d'autres organes que les ganglions lymphatiques et y développer des métastases **(Les stades du cancer - Cancer du sein, s. d.).**

✓ Tx à T4 pour la taille de la tumeur ;

- Tx : Non déterminé.
- T0 : Pas de signe de tumeur primitive.
- T1 : Tumeur ≤ 2 cm.
- T2 : Tumeur > 2 cm et ≤ 5 cm.
- T3 : Tumeur > 5 cm.
- T4 : Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique ou à la peau **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

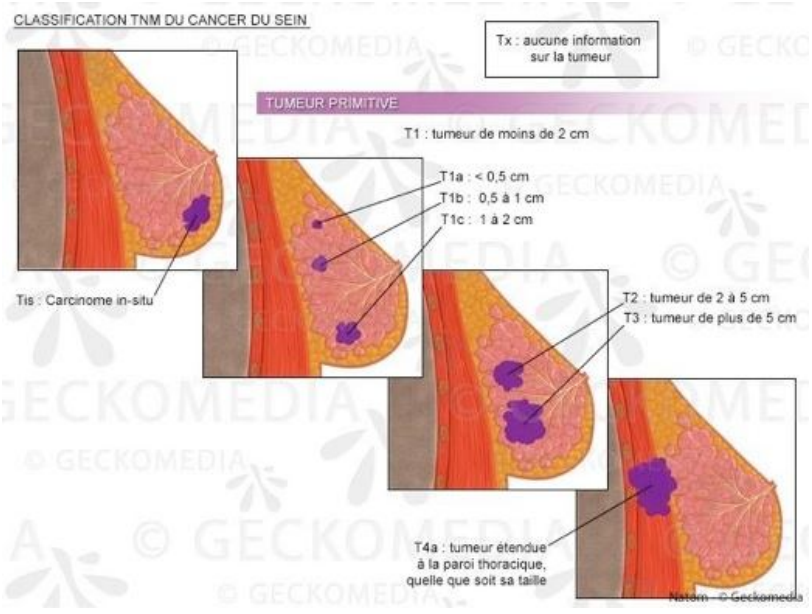


Figure11. Schéma représente le classement TNM du cancer du sein**.(Zemmouri, s. d.).**

- ✓ Nx à N3 pour le degré d'envahissement des ganglions ;
  - Nx : l'envahissement des ganglions ne peut pas être évalué.
  - N0 : Absence de signe d'envahissement ganglionnaire régional.
  - N1 : Ganglions axillaires homolatéraux mobiles.
  - N2 : Ganglions axillaires homolatéraux fixes entre eux ou à d'autres structures.
  - N3 : Ganglions mammaires internes homolatéraux **(Puddu & Tafforeau, 2005).**
- ✓ Mx à M1 pour la présence ou non de métastase à distance ;
  - Mx : Détermination impossible de l'extension métastatique.
  - M0 : Absence de métastases à distance.
  - M1 : Présence de métastases à distance **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

Le stade des cancers du sein au moment du diagnostic est exprimé par un chiffre romain allant de 0 à IV **(Les stades du cancer - Cancer du sein, s. d.).**

Tableau 5. Groupement par stades du cancer du sein**.**
(Puddu et Tafforeau 2005).

Stade	T	N	M
Stade 0	T_X	N0	M0
Stade I	T1	N0	M0
Stade IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stade IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stade IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Stade IIIB	T4	Toute N	M0
	Toute T	N3	M0
Stade IV	Toute T	Toute N	M1

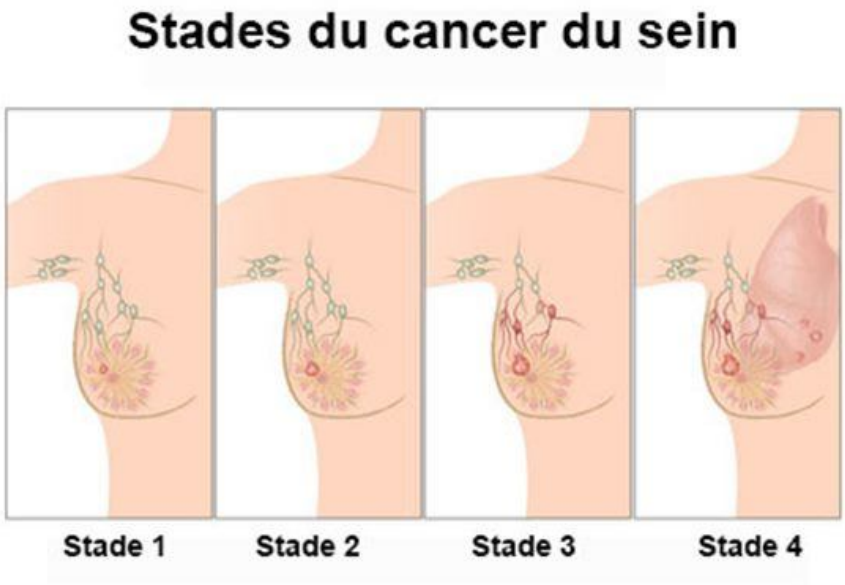


Figure12. Schéma représente les stades du cancer du sein**.**

(Ce qu'est le cancer du sein – Blog santé, s. d.).

4. Les facteurs de risques

Les chercheurs ne connaissent pas avec certitude les causes directes du cancer du sein, mais ils ont défini des facteurs de risque prouvés par des études épidémiologiques et des facteurs des risques possibles pour lesquels les preuves scientifiques sont peu consistantes **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

"Tout ce qui augmente le risque de développer une maladie est appelé facteur de risque." **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

4.1. Hormones

1. Facteurs hormonaux endogènes

Âge précoce des premières menstruations

De nombreuses études montrent que le risque de cancer du sein augmente à la survenue des premières règles avant l'âge de 11 ans **(Kumar et al., 2015)** ou de 12 ans **(Nkondjock & Ghadirian, 2005)**. Le fondement biologique de cette association correspond à l'exposition précoce et prolongée à l'imprégnation hormonale qui existe durant la période d'activité des ovaires. Cette exposition est considérable lorsque les cycles menstruels sont réguliers. Une telle hypothèse concorde avec les taux d'œstrogènes élevés après les règles, que l'on observe chez les femmes qui ont eu leurs menstruations précocement (**Nkondjock & Ghadirian, 2005)**.

Ménopause tardive

Les femmes qui ont leur ménopause après 50 ans présentent un risque accru de cancer du sein, en comparaison avec celles dont les menstruations cessent précocement. Le risque de cancer du sein augmente d'environ 3 % pour chaque année supplémentaire, à partir de l'âge présumé de la ménopause. Le mécanisme par lequel la ménopause tardive augmente le risque de cancer du sein semble le fait d'une production prolongée des hormones ovariennes **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

2. Facteurs hormonaux exogènes

Contraceptifs oraux (la pilule)

Le risque de cancer du sein est augmenté d'environ 25% chez les femmes utilisant couramment les contraceptifs oraux. Cependant, ce risque diminue progressivement à l'arrêt de la consommation **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

L'implant

Dans l'étude des registres danois la micro pilule progestative, Lévonorgestrel, était associée à un risque plus élevé que la Norethisterone et le Désogestrel. Cependant le nombre d'utilisatrices de ces deux derniers était plus élevé que pour le Lévonorgestrel. Ce qui peut mettre en doute la causalité de cet effet du levonorgestrel **(Gompel, 2019).**

Traitement hormonal substitutif (THS)

Le « collaborative group on hormonal risk factors in breast cancer » confirme que le risque de cancer du sein est augmenté chez les femmes utilisant un traitement hormonal de la ménopause et que cette augmentation serait aggravée par la durée de prise. Cependant, le sur-risque relatif de cancer du sein chez les utilisatrices récentes est plus élevé chez les femmes minces que celles de poids élevé. Et que les cancers du sein diagnostiqués chez les femmes ayant utilisé un THM le sont à un stade clinique moins avancé que chez celles qui ne l'ont jamais utilisé. Cette revue examine le cancer du sein dans son ensemble et ne l'analyse pas en fonction des sous-types moléculaires **(Weymuller et al., 2019).**

4.2. Facteurs liés à la reproduction

Multiparité et âge précoce à la première maternité

Les femmes qui ont eu au moins une grossesse avant l'âge de 30 ans ont un risque moyen de cancer du sein inférieur de 25 % par rapport aux femmes nullipares. Par rapport aux femmes qui ont accouché cinq fois, les femmes qui ont accouché huit à neuf fois ont réduit leur risque d'environ 30%. La grossesse provoque une différenciation accélérée du tissu mammaire et une prolifération rapide de l'épithélium. Le développement du cancer du sein est lié à la vitesse de prolifération des cellules épithéliales mammaires et inversement au degré de différenciation **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

Allaitement naturel

Le « collaborative group on hormonal risk factors in breast cancer » a déterminé que l'allaitement a un effet protecteur sur tous les types de cancers du sein (diminution du risque de cancer de 4,3 % pour toute année d'allaitement) **(Weymuller et al., 2019).**

Plus la durée de l'allaitement est longue, plus les femmes sont protégées contre le cancer du sein. La lactation produit des changements hormonaux endogènes, en particulier une réduction d'œstrogènes et une augmentation de la production de prolactine, qui sont censés réduire l'exposition cumulative des femmes aux œstrogènes. Par conséquent. **(Nkondjock & Ghadirian, 2005)**

4.3. Facteurs génétiques, environnementaux, démographiques et sanitaires

Histoire familiale et mutations génétiques

Dans la tranche d'âge des 25-40 ans, l'influence de l'héritage dépasse le tiers. La consultation sur la génétique cancérogène et la détection précoce du cancer permet de reconnaître le contexte de sensibilité familiale et de développer des stratégies de surveillance pour ce très jeune groupe de sujets **(Cohen-Haguenauer, 2019).** La plupart des mutations génétiques trouvées dans le cancer du sein humain comprennent deux types. Il existe d'une part des oncogènes activés, comme HER2, qui stimulent de façon incontrôlée la croissance, la division et la survie des cellules. D'autre part, les

mutations entraînent une perte ou une réduction de la fonction du gène suppresseur de tumeur, tels que Tumor Protein p53 (TP53) qui peu généralement aident à réguler le cycle cellulaire, réparer des dommages à l'ADN et favoriser l'apoptose **(Zerhari, 2019)**.

Radiations ionisantes

Une surveillance intensive de plusieurs populations montre que le sein est l'un des organes les plus sensibles aux effets des radiations. L'exposition du tissu mammaire aux rayonnements ionisants avant l'âge de 40 ans peut provoquer un cancer du sein. Le risque de cancer du sein est similaire pour une ou plusieurs expositions à la même intensité totale. Les radiations ionisantes augmentent le risque de cancer du sein dans la mesure où elles endommagent l'ADN et ses constituants **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

Âge

L'âge semble également être un risque prédicteur, mais il est difficile de prouver que l'âge lui-même est un facteur pronostique indépendant. En effet, le pronostic des femmes plus jeunes est généralement pire que celui des femmes plus âgées **(Puddu & Tafforeau, 2005)**. La maladie est rare chez les femmes de moins de 30 ans. Le risque augmente entre 50 et 75 ans **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).** Cependant, on ne peut pas dire que l'âge soit la cause directe de cette situation **(Puddu & Tafforeau, 2005)**.

Maladies bénignes du sein

Les maladies bénignes du sein constituent un facteur de risque de cancer du sein. Elles sont histologiquement divisées en deux groupes : les lésions prolifératives et les lésions non prolifératives avec ou sans atypie. Les lésions non prolifératives n'augmentent généralement pas le risque de cancer du sein, ou si elles le sont, le risque est très faible. Les lésions prolifératives sans atypie multiplient le risque par deux, le risque de maladie hyperplasique atypique combinée est au moins quatre fois plus élevé **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

Densité mammographique

Le risque de cancer du sein augmente avec le niveau de densité des tissus mammaires en mammographie. Pour les femmes aux seins denses à la mammographie, le risque augmente de deux à six fois **(Kumar et al., 2015; Nkondjock & Ghadirian,**

2005). Ce risque accru est indépendant de l'influence d'autres facteurs de risque. On estime que 30 % des cas de cancer du sein sont attribuables à une densité mammaire à la mammographie supérieure à 50 % par rapport à la moyenne **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

4.4. Facteurs liés aux habitudes de vie et nutrition

Obésité et prise de poids

L'obésité est un facteur de risque important pour le cancer du sein, non seulement en raison de ses effets physiologiques sur l'individu, mais aussi en raison de sa prévalence mondiale en constante augmentation **(Parida & Sharma, 2020).** Elle augmente le risque de cancer du sein chez les femmes ménopausées d'environ 50% **(Kumar et al., 2015)**, ce qui peut être dû à une augmentation des taux sériques d'estradiol libre **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).** L'obésité chez les femmes non ménopausées diminue l'exposition aux œstrogènes suite à une fréquente anovulation associée **(Weymuller et al., 2019)**.

Activité physique

L'activité physique modérée (au moins 4 fois par semaine, 30 à 60 minutes à chaque fois) peut réduire le risque de cancer du sein d'environ 35%, en particulier chez les femmes ménopausées **(Kumar et al., 2015; Nkondjock & Ghadirian, 2005).** L'effet protecteur de l'exercice physique sera de réduire l'obésité du tronc. Le contrôle du poids peut en effet jouer un rôle particulièrement important dans la diminution du risque puisque l'association entre l'excès de poids et l'augmentation du risque du cancer a été établie pour plusieurs localisations **(Puddu & Tafforeau, 2005)**. Une activité physique intense augmente l'âge d'apparition des premières règles, l'anovulation et le nombre de cycles menstruels irréguliers. Par conséquent, elle diminue l'exposition générale aux œstrogènes endogènes.**(Nkondjock & Ghadirian, 2005)**

Alcool

Les données de 53 études épidémiologiques sur le risque de cancer du sein et la consommation d'alcool ont été ré-analysées ; ils montrent que la consommation d'alcool augmente le risque de cancer, et ce risque dépend de la quantité d'alcool

consommée **(Puddu & Tafforeau, 2005).** L'alcool causerait une augmentation de la concentration des hormones sexuelles dans le sang **(Puddu & Tafforeau, 2005)**, et une production accrue de facteurs de croissance IGF (insulin-like growth factor). Les IGF agissent comme des mitogènes, inhibent l'apoptose et interagissent avec les œstrogènes. Une production accrue d'IGF augmente le risque de cancer du sein, surtout avant la ménopause **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).**

Déodorants et anti-transpirants

L'application de déodorants et ou anti-transpirants près des seins ainsi que l'utilisation de produits dépilatoires axillaires ont été accusés jouer un rôle dans le développement du cancer du sein **(Nkondjock & Ghadirian, 2005).** Cette hypothèse n'a pas encore été prouvée scientifiquement à ce jour **(Namer et al., 2008)**.

Les antibiotiques

Les chercheurs ont montré un lien entre l'utilisation d'antibiotiques à long terme et le cancer du sein. Plus les femmes utilisent des antibiotiques, plus leur risque de cancer du sein augmente **(Puddu & Tafforeau, 2005).** Ils montrent aussi que les femmes qui ont pris des antibiotiques pendant plus de 500 jours en 17 ans en moyenne sont deux fois plus susceptibles de développer un cancer du sein que les femmes qui n'ont pas pris d'antibiotiques **(Puddu & Tafforeau, 2005).** Donc, toutes les prescriptions d'antibiotiques soient justifiées par des épisodes infectieux réels **(Bastuji-Garin, 2005).**

Aspirine

L'utilisation cumulative d'aspirine à faible dose pendant plus de quatre ans est associée à une réduction du risque de cancer du sein. Cette analyse est toujours en cours **(Cairat et al., 2019).** Malgré les premiers résultats encourageants, il est trop tôt pour recommander l'utilisation de l'aspirine pour prévenir le cancer du sein. L'aspirine a de nombreux effets secondaires (en particulier des effets secondaires à long terme), tels que des ulcères et des saignements d'estomac **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

Prothèses mammaires

Le cancer du sein touche 1 femme sur 9, avec un ratio identique chez les femmes porteuses de prothèses mammaires **(Flipo et al., 2013).** Chez les femmes ayant des

implants mammaires, comme l'implant est radio-opaque, la sensibilité des mammographies est légèrement inférieure. Les auteurs de l'étude concluent que la pose d'implants mammaires n'augmente pas le risque de développement ultérieur d'un cancer du sein mais la vigilance et donc le dépistage reste de mise pour ces femmes-là comme pour les autres **(Puddu & Tafforeau, 2005).**

4.5. Aspects nutritionnels

Les experts du réseau « National Alimentation Cancer Recherche » (NACRe) ont publié un rapport en 2017 qui a déterminé qu'en prévention primaire et secondaire, il est impossible de conclure que l'alimentation a un effet bénéfique ou nocif sur la progression du cancer du sein **(Maumy et al., 2020).**

Graisses

L'hypothèse a été émis que la consommation des graisses, en particulier des graisses saturées, favorisera la croissance des cellules cancéreuses du sein malignes en augmentant les taux d'œstrogènes circulants, de lipoprotéines de basse densité et de cholestérol, en favorisant une réponse inflammatoire et en réduisant l'apoptose à la suite d'une expression génique modifiée. Au sujet de la consommation de produits laitiers riches en matières grasses, les auteurs observaient un risque de mortalité par cancer du sein **(Maumy et al., 2020).**

Protéines

L'impact de l'apport en protéines sur le cancer est controversé et diverses sources de protéines (viande rouge, lait, protéines végétales) peuvent augmenter le risque de cancer du sein. Il n'y a pas de corrélation entre l'apport en acides aminés et la survie sans récidive, ni sur la survie toutes causes confondues **(Maumy et al., 2020).**

Sucre et hydrates de carbone raffinés

Une consommation excessive de sucres raffinés et de glucides est une cause importante d'hyper-insulinémie et de résistance à l'insuline. Le mécanisme qui est à la base de la résistance à l'insuline explique le risque accru de cancer du sein **(Puddu & Tafforeau, 2005).** Le régime cétogène repose sur une alimentation pauvre en glucides. Ce régime cétogène reposerait sur la diminution de l'absorption des glucides compensés par des apports élevés en graisses insaturées, ce qui peut entraîner la famine et l'apoptose des cellules cancéreuses **(Maumy et al., 2020)**.

Alimentation riche en viande grillée, cuite au barbecue ou viande fumée

La viande grillée, cuisinée au barbecue ou fumée est une source d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et est liée au cancer du sein. Par conséquent, en prévention primaire, il est recommandé de limiter les apports. Chez les femmes consommant de la volaille fumée et du poisson, le risque de mortalité liée au cancer diminue **(Maumy et al., 2020).**

Vitamine C

La vitamine C, de par ses propriétés anti-oxydantes, peut affecter la progression du cancer du sein, notamment en neutralisant les radicaux libres. Un apport important en vitamine C avant le diagnostic est associé à une diminution de la mortalité par cancer du sein. Ils ont observé qu'une augmentation de 100 mg/jour de vitamine C alimentaire était associée à une réduction de la mortalité toutes causes confondues après un cancer du sein **(Maumy et al., 2020).**

Jeûne intermittent

Le jeûne ou la restriction calorique est traditionnelle dans de nombreuses religions comme ramadan chez les musulmans **(Raynard, 2015).**

Certaines études animales ont observé une diminution de la croissance tumorale et une augmentation des taux de survie associés au jeûne intermittent. Le risque de récidive était augmenté pour une durée de jeûne nocturne (jeûne entre la prise alimentaire du soir et la première prise du lendemain) inférieure à 13 h/nuit par rapport au groupe effectuant un jeûne nocturne de plus de 13 h/nuit **(Maumy et al., 2020).**

Le jeûne peut ralentir le vieillissement cellulaire, limiter les processus inflammatoires et réduire le risque de certaines maladies.**(Raynard, 2015)**

Les biomarqueures salivaires dans la détection du cancer du sein

1. Définition de biomarqueure

C'est une caractéristique mesurée qui peut indiquer la réalisation d'un processus pathogènes, normal, ou la présence d'une réponse à une exposition ou à une intervention. Les types de biomarqueurs sont des caractéristiques moléculaires, histologiques, radiographiques ou physiologiques. Le biomarqueure n'est pas une évaluation de la façon dont une personne se sent, fonctionne ou vit, mais un outil pour l'évaluation des risques, le diagnostic, la supervision, la prévision, la prédiction d'une évolution et l'observation des réactions biologiques **(U.S. Food and Drug Administration, 2020)**.

2. Les différents biomarqueures salivaires impliqués dans le diagnostic

La plupart des cancers du sein sont diagnostiqués tardivement, ce qui entraîne une mortalité élevée. La mammographie de dépistage traditionnel est considérée comme le diagnostic de référence pour le cancer du sein, mais la sensibilité de ce test varie selon le type de mammographie. D'autres biomarqueurs de ce cancer sont à l'étude **(Trigui, 2018)** :

1. Transcriptome

C'est l'étude de l'ARN messager (ARNm) dans les cellules ou les organismes.**(X. Wang et al., 2017)**

<u>mARN</u>

Les MicroRNA ou ARNm sont de courtes séquences de nucléotides d'ARN non codants (21 à 25 paires de bases de longueur). Ils fonctionnent comme régulateurs d'expression génique au niveau post-transcriptionnel. Le consensus actuel est que l'ARNm ont une fonction importante dans le développement de tumeur ; les tumeurs amplifient la production d'ARNm oncogène tout en supprimant la production d'ARNm anti-tumor, créant ainsi une signature distincte d'ARNm qui peut être utilisée pour identifier les sous-types moléculaires tumoraux tout en jouant également un rôle dans l'initiation de la tumeur, les métastases et la résistance aux médicaments **(Abrao Nemeir et al., 2019).**

Parmi les 133 mRNA qui ont été trouvés dans les tissus du cancer du sein, 8 séquences sont trouvées dans la salive (CSTA, TPT1, IGF2BP1, GRM1,GRIK1, H6PD, MDM4, S100A8) **(Abrao Nemeir et al., 2019)**.

2. Protéome

C'est l'ensemble des protéines synthétisées par une cellule**(X. Wang et al., 2017)**

Mucine

Dans les cellules saines, le CA 15-3 ou MUC-1 a un rôle de protection, lubrification et hydratation des surfaces externes des couches de tissus épithéliaux qui tapissent les conduits des différentes parties du corps. Cependant, toute altération de son expression a été directement liée à la formation de cancer et de métastases **(Abrao Nemeir et al., 2019).** Principalement utiliser dans la détermination et pour la surveillance de la métastase du cancer du sein **(Trigui, 2018)** et de la thérapie efficace**(Abrao Nemeir et al., 2019)**, cette fonction clinique est due au fait que les niveaux sériques de CA 15-3 sont proportionnels aux stades différents et à la taille de la tumeur. Il a également été démontré que le CA 15-3 dans la salive est 50 % plus élevé chez les patientes atteintes d'un cancer du sein que chez le groupe témoin **(Abrao Nemeir et al., 2019).**

Les récepteurs épidermiques humains (HER)

La famille des HER (Human Epidermal Receptor) est une famille importante de biomarqueurs protéiques qui comprend les récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGFR ou HER1 ou c-erbB-1) et HER2.

HER1 ou c-erB-2 ont également été augmentés dans la salive des malades de cancer du sein**(Trigui, 2018)**, il a été suggéré d'utiliser des concentrations salivaires de HER2 pour détecter les types de cancer du sein HER2. HER2 a été un biomarqueur utile comme indicateur pronostique de la diminution des taux de survie des patients atteints d'un cancer du sein métastatique, et souvent un indicateur de la prolifération de la tumeur dans d'autres organes. HER2 figure également parmi les biomarqueurs recommandés pour la surveillance de la réponse au traitement du cancer du sein enrichi en HER2 **(Abrao Nemeir et al., 2019).**

La protéine de résistance du poumon LRP (lung resistance protein)

L'expression de la protéine de résistance du poumon (LRP) dans la salive a montré que les niveaux de LRP sont significativement plus élevés chez les sujets atteints de cancer du sein par rapport aux femmes en bonne santé **(Abrao Nemeir et al., 2019; Wood & Streckfus, 2015).**

Lipoperoxydation (LPO)

Les valeurs de LPO chez les patients de cancer du sein ont été moins que les valeurs normales des contrôles selon Emekli-Alturfan et al.**(Emekli-Alturfan et al., 2008; X. Wang et al., 2017).**

Protéine tumoral (P53)

P53 est une protéine importante qui a été liée à causer l'apoptose cellulaire une fois qu'il détecte des dommages à l'ADN. Quelques types de cancer du sein ont été connus pour muter p53 pour le désactiver. Cliniquement, p53 est principalement utilisé pour évaluer l'efficacité de la chimiothérapie pour le cancer du sein. En raison de son augmentation lorsque des lésions tumorales se produisent. Il a été démontré que les niveaux salivaires de p53 sont 25 % inférieurs chez les patientes atteintes de cancer du sein que chez les personnes en bonne santé **(Abrao Nemeir et al., 2019)**.

Protéine total

Les valeurs mesurées dans la salive chez les patients de cancer du sein sont moins que les valeurs normales chez les contrôles **(Emekli-Alturfan et al., 2008).**

3. Métabolome

Le métabolome correspond à l'ensemble des métabolites retrouvés dans un système, et leur concentration **(X. Wang et al., 2017).**

Biomarqueurs potentiels

Cinq biomarqueurs potentiels (Choline, Isethionate, Cadavarine, N1-Acetylspermidine et Spermine) ont montré des concentrations significativement plus élevées chez les patientes atteintes de cancer du sein comparativement à des individus en bonne santé **(Jinno et al., 2015; Trigui, 2018).**

VEGR, EGF, CER

Les niveaux de facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF), de facteur de croissance épidermique (EGF) et d'antigène carcino-embryonnaire (CER) dans la salive étaient significativement augmentés chez les patientes atteintes de cancer du sein **(Brooks et al., 2008; Porto-Mascarenhas et al., 2017; Trigui, 2018)**.

ATP6AP1CA

l'ATP6AP1CA est une enzyme d'ATPase qui est corrélée avec plusieurs tumeurs dont le cancer du sein qui permet de détecter directement un risque de cancer du sein et de développer un dispositif de biocapteur destiné au dépistage et à la détection d'un risque de cancer du sein **(Arif et al., 2015; Trigui, 2018).**

Taurine, valine et acide sialique

La taurine semble intéressante en ce qui concerne l'identification des stades précoces du cancer du sein **(Trigui, 2018)**, tandis que la valine a démontré un excellent résultat au 65 test de précision diagnostique pour les stades avancés **(Cheng et al., 2015).** L'augmentation de l'acide sialique salivaire peut être un marqueur prédictif utile pour ce cancer **(Ozturk et al., 2011)**.

4. Immunologie

Auto-anticorps

Les autoanticorps peuvent jouer un rôle dans le dépistage du cancer du sein. Ils ont trouvé une plus grande expression des autoanticorps salivaires (IgG anti-MUC1, IgM anti-MUC1, IgG anti-HER2 et IgM anti-HER2) chez les femmes touchées par le cancer du sein que chez les femmes en santé. La corrélation la plus élevée pour le dépistage était la combinaison d'IgG anti-HER2 et d'IgG anti-MUC1 **(Laidi et al., 2016).**

Leucocyte

Les leucocytes sont plus élevées dans les sujets avec le cancer du sein que les sujets sains **(Emekli-Alturfan et al., 2008).**

5. Physiologie

Le pH

les valeurs du pH chez les contrôles négatifs étaient (7,4± 0,44) qu'ils sont élevés par rapport aux sujets malades qu'ils sont(6,7± 0,8) **(Emekli-Alturfan et al., 2008).**

6. Microbiome

Les bactéries

Aucune étude ne trouve un changement dans la microflore bactérienne de la salive des patients atteint le cancer du sein **(H. Wang et al., 2017).** Mais Farrell et al.**(2012)** et Torres et al.**(2015)** sont démontrés que la combinaison de *Neisseria elongata* et de *Streptococcus mitis* dans la salive peut distinguer les patients atteints de cancer du pancréas des sujets sains. Sun et al.**(2018)** trouvent que *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* et une faible diversité bactérienne ont été rapportés chez des patients présentant des lésions gastriques précancéreuses, et une diversité bactérienne salivaire accrue et à des niveaux élevés de *Aggregatibacter gingivalis* dans les cas de cancer gastro-intestinal d'origine diverse **(Belstrøm, 2020).**

Le cancer du poumon était également lié à la microflore salivaire d'après Zhang et al.**(2019)**, dont les principaux résultats étaient des taux plus élevés d'espèces de streptocoques et de veillonelles dans la salive de patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules, et des niveaux salivaires plus faibles d'espèces de streptocoques en combinaison avec une faible diversité bactérienne chez les femmes non-fumeurs atteintes d'un cancer du poumon par rapport à contrôles sains appariés **(Yang et al., 2018).**

Les *Candida*

Candida ne sont présents que chez les patients de cancer du sein et selon Davies et al.**(2002)** *Candida albicans* était les organismes les prédominantes isolés à partir des prélèvements salivaires avec une prévalence des différentes variantes de la candidose buccale *C. glabrata , C. dubliniensis ,C. tropicalis ,Saccharomyces cerevisiae* **(Davies et al., 2002, 2006).** la sécheresse buccale ou xérostomie entraîne une augmentation du nombre de levures et du risque de candidose **(Ahariz et al., 2010).**

Chapitre III

Matériels

et

méthodes

CHAPITRE III : Matériels et méthodes

Objectif d'étude

Le présent travail consiste à une étude d'analyse microbiologique et physico-chimique de la salive chez les patientes qui atteint le cancer du sein.

Cette étude a été effectuée au niveau de laboratoire central et le service d'oncologie d'Établissement Public Hospitalier Mohamed Boudiaf de Médéa.

Patients ciblés

Les prélèvements salivaires proviennent des patientes de service d'oncologie et des patientes hospitalisées au niveau de service post-opératoire femme et à partir de nos camarades qui représentent les contrôles négatifs.

Matériels

Durant notre stage de fin d'étude nous avons utilisés un matériel non-biologique qui représente des appareils (annexe 1), des milieux de culture et des solutions (annexe 2), et un matériel biologique qui il s'agit de la salive prélevée au nombre de 50 patientes et 10 contrôles négatifs.

Méthodes

1. Prélèvement salivaire

Deux écouvillons et un seul flacon de prélèvement sont utilisés pour chaque patiente pour un prélèvement salivaire.

-Un écouvillon pour la réalisation d'un examen bactériologique.

-Le deuxième écouvillon pour l'examen mycologique.

-Le flacon pour mesurer le pH salivaire.

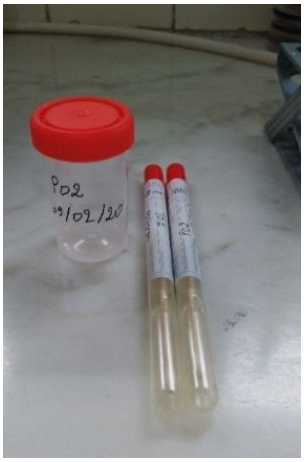


Figure 13. Le matériel de prélèvement utilisé (ORIGINALE).

- **Principe**

Les échantillons sont prélevés d'après les malades à l'aide des deux écouvillons qui sont imbibés dans la partie sublinguale soigneusement sans les toucher avec les autres zones (les dents, la langue), ces derniers ont été remis dans leurs tubes rapidement. Ainsi qu'une quantité suffisante de bave est récoltée dans le flacon.

Le transport au laboratoire doit être le plus rapidement possible pour éviter le dessèchement des écouvillons.



Figure 14. Mode de prélèvement. (ORIGINALE).

Cette étape a été accompagnée d'une fiche de renseignement (annexe 4) sur laquelle le nom, le prénom, l'âge, nombre des séances de la chimiothérapie, présence des stomatites et s'il y a des vomissements le jour de prélèvement ont été mentionnés

et codés, les écouvillons et le flacon doit comporter ce code et la date de prélèvement, toutes ces informations ont été organisées dans un registre par la suite.

2. Analyse directe de la salive

2.1. Examen physique de la salive

C'est un examen macroscopique consiste à observer si la salive est visqueuse ou bien aqueuse, cet examen est réalisé au moment de prélèvement.

2.2. Examen chimique de la salive

C'est le faire savoir du pH de la salive à l'aide des bandelettes paramétriques.

- **Principe**

Les bandelettes paramétriques sont trempées dans le flacon qui contient la salive fraîchement émises et dans des conditions aseptiques. La lecture doit se faire une minute après le trempage et l'interprétation du résultat est faite en comparaison avec une réglette d'échelles colorimétriques d'analyse comparative des bandelettes.

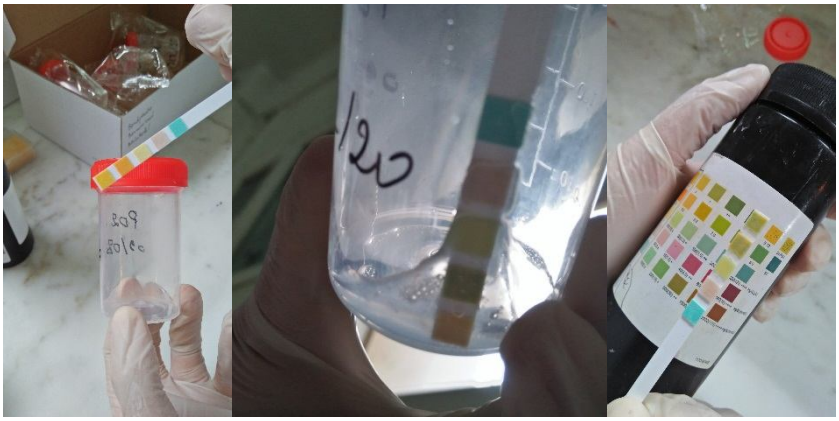


Figure 15. La mesure de pH par la bandelette paramétrique (ORIGINALE).

2.3. Examen microscopique de la salive

✓ **<u>Examen à l'état frais</u>**

C'est un examen sous microscope optique consiste à une étude des bactéries et des levures dans leur état vivant, cela veut dire l'indication de la présence ou non des

germes bactériens et des levures avec l'observation de leur morphologie et leur mobilité, ainsi l'indication de la présence ou l'absence des cellules épithéliales.

Technique et lecture

Cette opération se fait à l'aide de l'écouvillon de prélèvement (qui contient la salive et une petite quantité d'eau physiologique), qui est appuyé sur une lame stérile et recouvrir délicatement par une lamelle.

Ensuite, la lecture se fait sous microscope optique au grossissement de x40.

✓ **Coloration de gram pour la salive direct**

- **Principe**

La coloration de gram est une technique de coloration la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries, elle permet de les classer en deux groupes selon la structure de leur paroi en : Bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif.

- **Technique**

Sur notre étude, une goutte de la salive directe est mise sur une lame et étalé par une lamelle stérile, Cette lame doit être séchée jusqu'à ce que le frottis représente un aspect mat à la température de laboratoire ou en chaleur douce (dans l'étuve ou au-dessus de la flamme de la veilleuse du bec Bunsen).

La procédure suivante est la fixation qui consiste à tue les bactéries et à les coller sur la lame, sans altérer leur structure. La lame étant tenue par une pince, est passée dans une flamme chauffante 3 à 4 fois.

Puis une coloration par une solution de violet de gentiane (ou le cristal violet) pendant une minute, le colorant va traverser les parois et membranes des bactéries pour se fixer dans le cytoplasme ; à cette étape, toutes les cellules sont colorées en violet. Un rinçage est suivi.

Par suite la lame est recouverte au Lugol (45 secondes) qui va renforcer le violet de gentiane contenue dans le cytoplasme bactérien. La préparation est ensuite traitée par une solution d'alcool à 96° pendant 30 secondes, cette étape est cruciale car elle détermine les deux groupes des bactéries. Chaque étape est suivie par un rinçage.

Les bactéries à Gram positif résistent à la décoloration, car elles possèdent une couche épaisse de peptidoglycane qui empêche la pénétration de l'alcool et donc elles ne décolorent jamais et reste violet.

Les bactéries à Gram négatif sont rapidement décolorées, car elles possèdent une couche mince de peptidoglycane.

La lame après avoir été rincée, elle va subir une contre-coloration avec la Fuchsine (une minute), ce colorant va traverser les parois et va colorer en rose les bactéries qui ont été décolorées pendant l'étape précédente. Donc, les bactéries à Gram positif prennent la couleur violet et les bactéries à Gram négatif se colorent en rose.

Après la récupération, le rinçage et le séchage de la lame, une lecture est réalisée par microscope optique généralement à l'objectif x40 puis x100 avec une goutte de l'huile à immersion.

Remarque : Toutes les lames sont numérotées par un effaceur avant le processus.



Figure 16. Les étapes principales de la coloration de Gram. (ORIGINALE).

1. Des lames préparées et numérotées 2. Coloration par le cristal violet 3.Rincage 4. Fixation par le Lugol 5.Décoloration par l'alcool 6. Contre-coloration par la Fuchsine.

✓ **Coloration de MGG**

- **Principe**

La coloration de May-Grünwald Giemsa (MGG) est une méthode de coloration utilisée en hématologie pour différencier les cellules du sang. Elle nous a permis de voir les globules blancs.

Dans notre étude, cette coloration est utilisée pour différencier les cellules présentes dans la salive, y compris les cellules épithéliales et les globules blancs.

- **Technique**

Un frottis d'une goutte de la salive est réalisé sur une lame stérile à l'aide d'une lamelle afin de recouvrir toute la lame par la goutte qu'elle va par suite se fixer à l'aire libre.

Une étape de coloration successive est suivie de deux colorants. Le premier colorant est le May-Grünwald, en versant directement sur la lame d'une façon de la recouvrir, pendant 4 minutes, puis la rincer par l'eau de robinet. La deuxième coloration

se fait par une dilution du colorant Giemsa (9ml d'eau de robinet + 1 ml de colorant Giemsa) ; la lame est recouverte par cette suspension pendant 10 minutes, suivie d'un rinçage.

Après récupération et séchage à l'aire libre de la lame, une lecture par microscope optique se fait par objectif x40 puis x100 avec une goutte de l'huile à immersion.

3. Analyse bactérienne de la salive

3.1. Techniques d'ensemencement et d'isolement

Préparation de la suspension

Après avoir effectué les prélèvements, 1 ml d'eau physiologique est ajoutée au tube de l'écouvillon à l'aide d'une seringue et il est agité à l'aide d'un vortex.



Figure 17. La méthode de préparation de suspension salivaire. (ORIGINALE).

Mise en culture ou ensemencement

A partir de cette suspension, on a ensemencé plusieurs milieux de culture gélosés coulés préalablement dans des boites de pétri (annexe 3), afin d'isoler le maximum des microorganismes présents dans nos échantillons.

Les milieux gélosés utilisés sont les suivants :

Gélose nutritive (GN) : Utilisée pour la culture d'une grande variété des microorganismes. L'utilisation de ce milieu doit conduire à l'obtention de colonies bien isolées.

Gélose Hektoen (GH) : Milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes et les BGN.

Gélose Chapman (GC) : Milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celle qui ne le fermentent pas.

Gélose au sang frais (GSF) : La gélose Muller Hinton au sang est un milieu d'enrichissement très nutritif permettant la culture et l'isolement d'une grande variété de microorganismes et plus particulièrement des germes très exigeants (tels que streptocoques et pneumocoques) ainsi l'étude de type d'hémolyse.

Gélose au sang cuit (GSC) : La gélose Muller Hinton au sang cuit est un milieu d'isolement enrichi (pour les germes qui présentent d'exigence notamment pour la culture d' *Haemophilus influenza*).

Les géloses sont séchées avant l'utilisation.

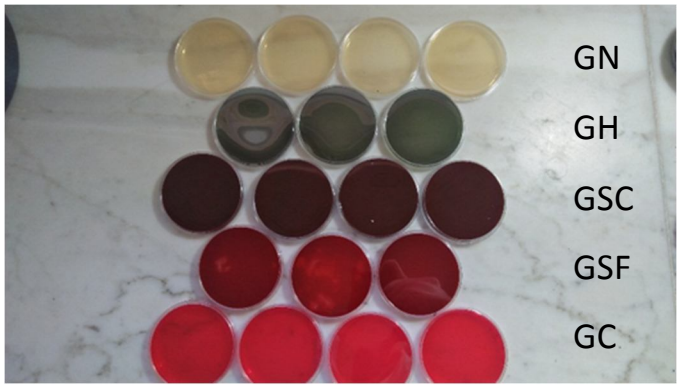


Figure 18. Les milieux gélosé utilisés pour la culture bactérienne. (ORIGINALE).

- **Technique d'ensemencement**

On utilise la méthode des quadrants pour l'ensemencement des milieux gélosés et on divise la boite en trois cadrans et met la date d'ensemencement et le code de l'échantillon.

-La suspension salivaire est prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans des conditions d'asepsie rigoureuses à partir de tube d'écouvillon et elle est déposée près du bord de la boite.

-Des stries dans un mouvement de zigzag serré ont été réalisées par une anse de platine stérile dans des conditions d'asepsie rigoureuses et refroidie, sur l'environs la moitié de la boite.

-La boite a été tournée environ 90°, et l'ensemencement est réalisé à partir des stries précédentes sans stérilisation de l'anse encore une fois.

- Un Z final a été fait dans le troisième cadrant.

-Tous le travail a été réalisé sur une paillasse soigneusement nettoyée et dans la zone stérile du bec Bunsen.

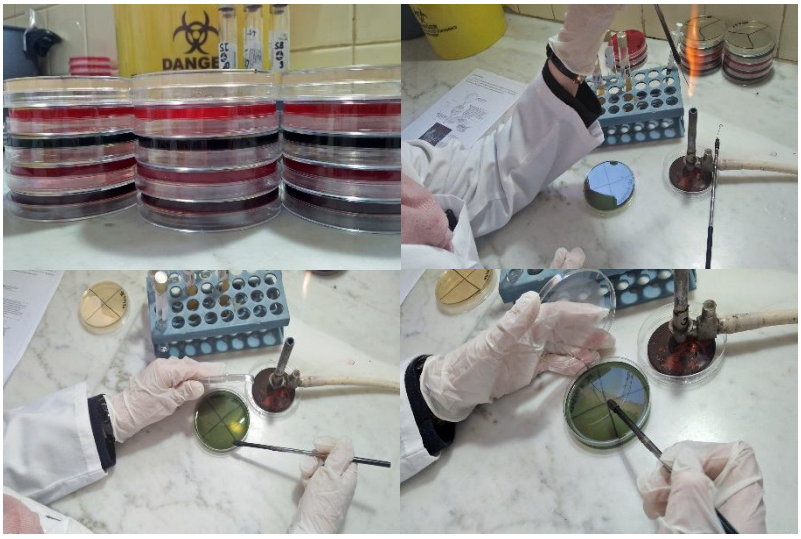


Figure 19. Les étapes de l'ensemencement de la suspension bactérienne. (ORIGINALE)

Incubation

-L'incubation des milieux de culture a été fait en aérobiose dans l'incubateur pour la gélose Chapman, Gélose nutritif et la gélose Hektoen et en anaérobiose dans l'étuve pour la gélose au sang et au sang cuit, où les boites sont couvercle vers le bas, pendant 24h à 48h et à température de 37°C.



Figure 20. L'incubation des milieux de culture en aérobiose et anaérobiose. (ORIGINALE)

3.2. Identification

L'identification bactérienne comporte une série d'étapes, les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

1 Identification macroscopique

L'apparition des modifications sur les milieux de culture après la période d'incubation représentent des colonies observées à l'œil nue.

Cette description doit mentionner la taille des colonies, la forme (plates, bombées) l'aspect de la surface (lisse, rugueuse, brillante), la couleur (blanchâtres, jaunâtres...), l'hémolyse et finalement l'abondance des colonies a été signalée par (rares, nombreuse, très nombreuse). (Annexe 5)

2 Identification microscopique

Elle a été réalisée par la coloration de gram sur des frottis.

- **Principe**
  - ✓ **Préparation des frottis**

Sur une lame parfaitement propre une goutte d'eau physiologique a été étalée avec une trace d'une colonie bien isolée prélevée à l'aide d'une pipette pasteur ou anse de platine stérile en mouvement circulaire régulier.

La lame est séchée et fixée selon le protocole précédent.

✓ **Coloration de gram**

Il faut attendre le refroidissement des lames avant de commencer la coloration. La coloration de gram permet de différencier les bactéries d'après leur forme et leur affinité pour les colorants. Les étapes de la coloration sont déjà mentionner précédemment.

✓ **Lecture microscopique**

Repérer les bactéries à l'objectif x40 sous le microscope optique, puis mettre une goutte d'huile à immersion sur le frottis et faire la mise au point à objectif x100. Le champ se placer dans un endroit où la répartition des bactéries homogène et la coloration nette, cela permet d'observer le mode de regroupement (en chaînette, diplocoque/ diplobacille, en amas ou isolé), la forme (Cocci, bacille ou coccobacille) et l'abondance.

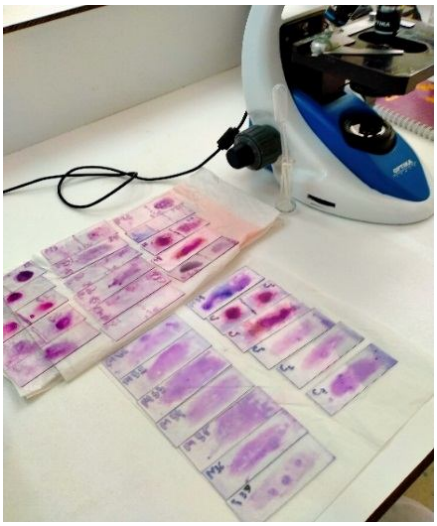


Figure 21. Des lames prêtes à lire sous microscope optique.
(ORIGINALE)

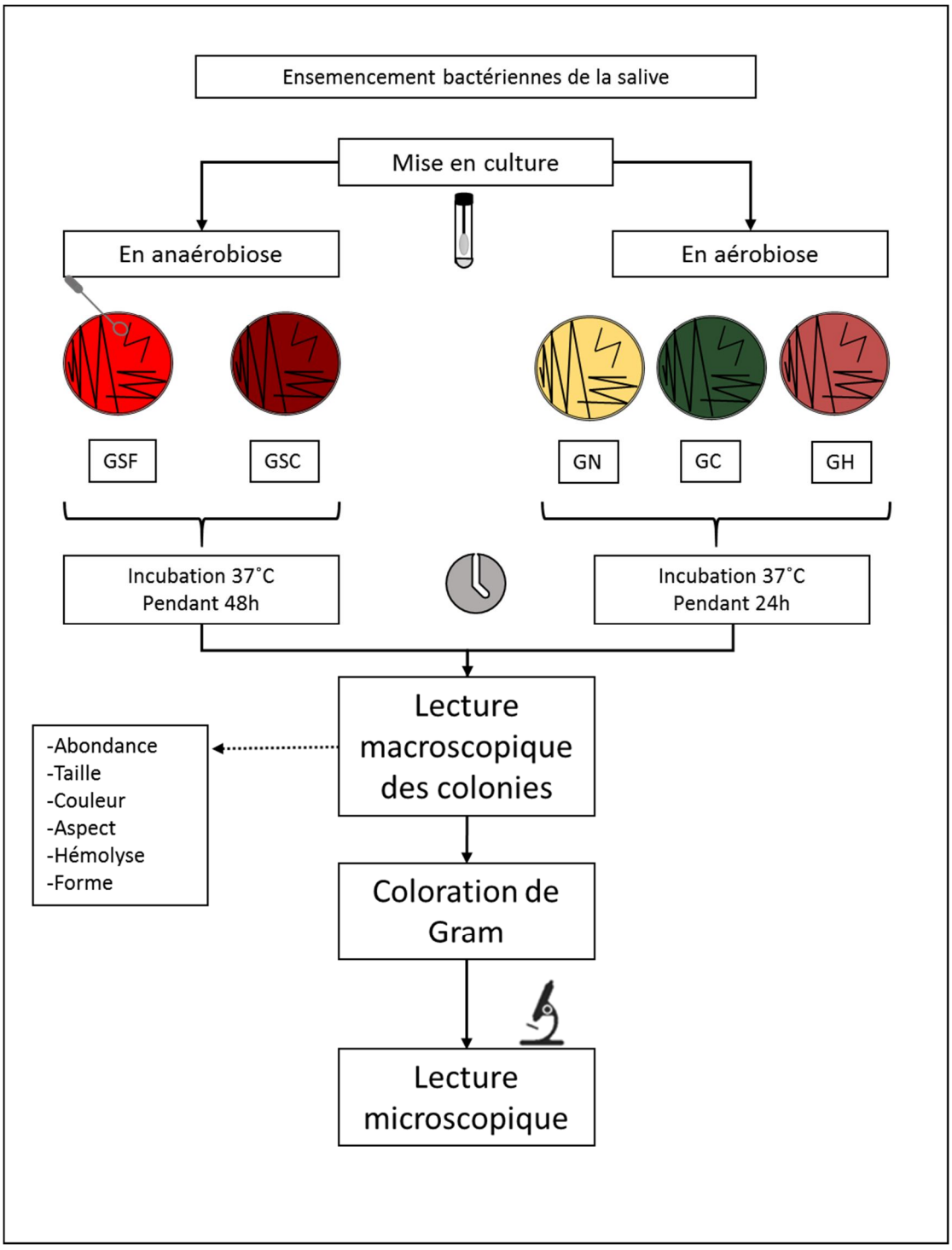


Figure 22. Diagramme explicatif d'analyse bactériologique de la salive. (ORIGINALE)

4. Analyse mycologique de la salive

4.1. Techniques d'ensemencement et d'isolement

-Tout le travail a été réalisé sur une paillasse soigneusement nettoyée et dans la zone stérile du bec Bunsen.

Préparation de prélèvement

Après avoir effectué les prélèvements, quelques gouttes d'eau physiologique sont ajoutées au tube de l'écouvillon pour l'imbiber à l'aide d'une seringue stérile et il est agité à l'aide d'un vortex.



Figure 23. La méthode de préparation de prélèvement salivaire. (ORIGINALE)

Mise en culture ou l'ensemencement

A partir de ce prélèvement, on a ensemencé le milieu de Sabouraud chloramphénicol coulé préalablement dans des tubes inclinés, afin d'isoler les *Candida* présents dans nos échantillons.

La gélose Sabouraud : est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. L'addition d'antibiotique chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif.



Figure 14. Préparation de milieu Sabouraud au chloramphénicol. (ORIGINALE)

- **Technique d'ensemencement :**

Sur chaque tube, on indique le code de l'échantillon et la date d'ensemencement.

- L'ensemencement est réalisé à l'aide de l'écouvillon imbibé qui est étalé bien sur toute la surface de la gélose.

-Le tube est fermé, mais il est laissé non vissé.



Figure 25. L'ensemencement de prélèvement sur milieu Sabouraud par l'écouvillon imbibé. (ORIGINALE)

Incubation

- L'incubation des tubes de Sabouraud a été faite en aérobiose dans l'incubateur pendant 24h à 48h et à température de 28 ±2°C.

4.2. Identification

L'identification mycologique comporte une série d'étapes, les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

1 Identification macroscopique

L'incubation permet l'isolement rapide de colonies levuriformes blanches et crémeuse observées à l'œil nue, leur absence signifie que la culture est négative et l'échantillon est pauvre des *Candida*. Mais leur présence ne signifie jamais que sont des levures sauf après une lecture microscopique.

L'abondance des colonies a été vérifiée au cours de la lecture macroscopique.

2 Identification microscopique

Permettre de voire les levures avec sa taille et sa forme qui différent de celles des bactéries.

- **Principe**
  - ✓ **Montage d'état frais.**

-Une gouttelette d'eau physiologique est met sur une lame stérile.

-Une partie de la colonie est prenne à l'aide d'une pipette pasteur stérile et l'est bien dispersé dans cette goutte.

- Elle est couverte par une lamelle stérile sans formation des bulles d'air.

  - ✓ **Lecture microscopique**

Repérer la lamelle à l'objectif x40 sous le microscope optique, et faire la mise au point, le champ se placer dans un endroit où la vision des levures est nette.

Les colonies sont parfois des bactéries résistent au antibiotique additif au milieu Sabouraud et ça va orienter à une culture négative et à l'absence des levures dans l'échantillon.

Les levures présentes au cours de l'examen direct sont identifiées par des tests complémentaires qui sont les tests d'identification des *Candida* (le test de Blastèse et le repiquage sur milieu Rice Cream).

4.3. Tests complémentaires de l'identification de *Candida*

1. **Test Blastèse (test de filamentation sur sérum)**

- **But**

La rechercher des tubes germinatifs caractéristiques de *Candida albicans*.

- **Principe**

✓ **Préparation de bouillon Blastèse**

-Dans un tube à essai stérile, une colonie blanche isolée sur le milieu de Sabouraud Chloramphénicol d'incubation de 48 h est émulsionnée dans 1 ml de sérum (patient du jour) à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

-L'incubation est faite à 37°C pendant 3 heures.

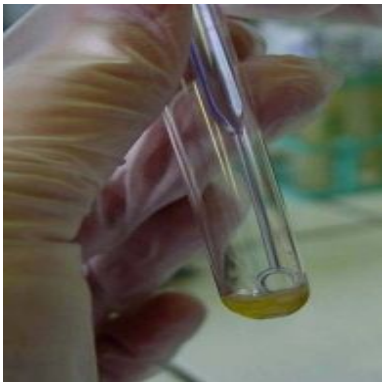


Figure 26. Préparation du bouillon Blastèse.
(ORIGINAL)

✓ **La lecture**

-La lecture se fait à partir d'une goutte de cette émulsion entre lame et lamelle stériles sous microscope optique avec l'objectif x40, le champ se placer dans un endroit où la vision des levures est nette.

-La présence de filamentation ou bien la formation de tubes germinatifs du *Candida albicans* est recherchée :

- Filamentation positive : *Candida albicans*.
- Filamentation négative : autre espèce de Candida ou de levure.



Figure 27. Un tube germinatif caractéristique de *Candida albicans* sous microscope optique objectif x40. (ORIGINALE)

2. Le test de chlamydosporulation sur le milieu Rice Cream (RAT)

- **But**

La recherche de présence de psudomycélium + blastopore + chlamidospore caractéristiques de *Candida albicans* et la différenciation de *Candida albicans* d'autres *Candida sp.*

- **Principe**

✓ **Préparation de la suspension levurienne**

-Dans un tube à essai stérile, une colonie blanche isolée sur le milieu de Sabouraud Chloramphénicol d'incubation de 48 h est émulsionnée dans une petite quantité d'eau physiologique à l'aide d'une pipette pasteur stérile.



Figure 28 . Préparation de la suspension levurienne. (ORIGINALE)

✓ **Mise en culture ou l'ensemencement**

A partir de cette suspension levurienne, on a ensemencé le milieu de Rice Cream coulé préalablement dans des boites, afin de rechercher la présence de *Candida albicans.*

Milieu Rice Cream (RAT) : Ou le Rice Extract Agar (gélose d'extrait de riz : Riz, Agar et Tween) est utilisée pour la différenciation de *Candida albicans* à d'autres *Candida spp*, sur la base de la formation de chlamidospore.



Figure 29. Le milieu Rice Cream (RAT) pré-coulé dans les boites. (ORIGINALE)

✓ **Technique d'ensemencement**

-Quelques gouttes de suspension levurienne sont versées à la surface de milieu Rice Cream et sont étalées sur la surface à l'aide d'un râteau stérile.

-3 à 4 lamelles sont placées et sont appuyées un peu sur la surface.

-La boites est inversée et est incubée à 28 ±2°C pendant 24h à 48h dans l'incubateur.

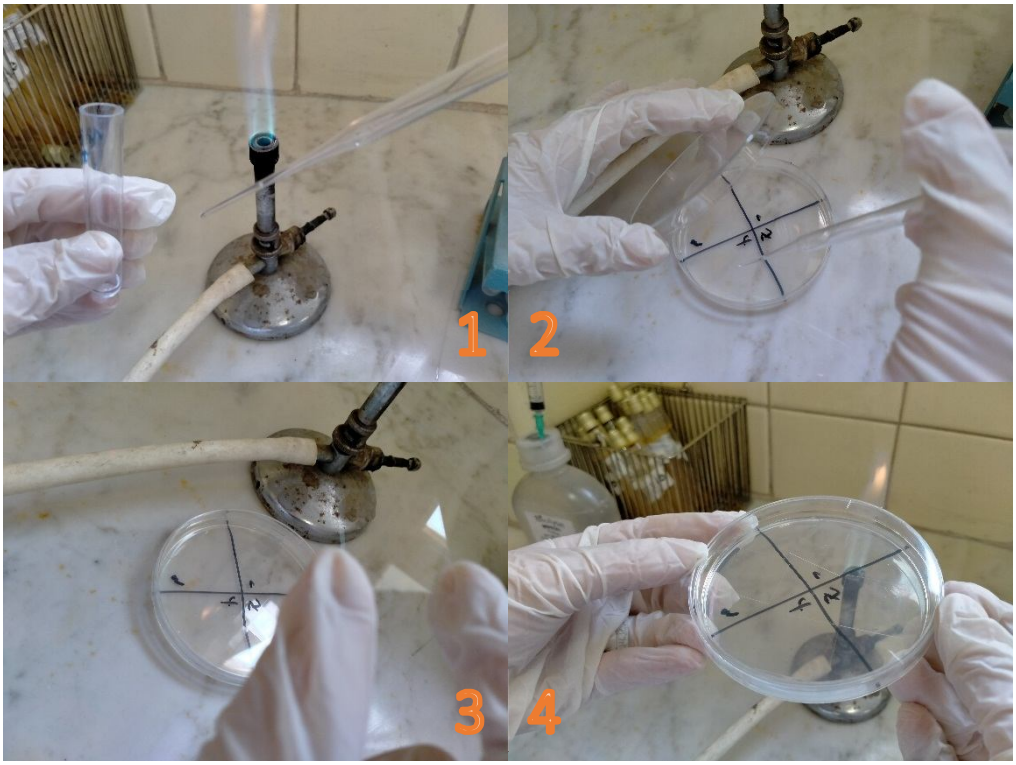


Figure 30. Les étapes de l'ensemencement de la suspension levurienne. (ORIGINALE)

✓ **Lecture**

-La boite est observée directement sous microscope à l'objectif x40 au niveau des lamelles.

-S'il y a une formation de mycélium, pseudomycélium ou chlamydospores, c'est la confirmation de présence d'espèce *C.albicans*.

- S'il y a seulement des levures, c'est un cas d'espèce inidentifiables et on passe à l'identification par la galerie Api Auxacolore.

✓ **Conservation des souches**

Sur milieu Sabouraud, la colonie suspectée est repiquée et conservée dans un réfrigérateur à température 5 ±2°C pour leur identification par la galerie Api par la suite.

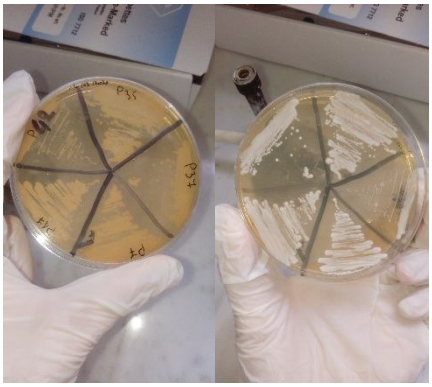


Figure 31. Des souches de *candida spp* conservée sur milieu Sabouraud. (ORIGINALE)

3. L'identification par galerie API Candida

- **Objectif**

API Candida est un système standardisé pour l'identification en 18-24 heures des levures, notamment les plus fréquemment rencontrées en microbiologie clinique. Les espèces identifiables par le système sont indiquées dans le Tableau d'Identification en fin de la notice.

- **PRINCIPE**

La galerie API Candida comporte 10 tubes contenant des substrats déshydratés, pour réaliser 12 tests d'identification (acidification de sucres ou réactions enzymatiques).

Les réactions produites durant l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés.

La lecture des réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue en consultant la liste des profils de la notice ou à l'aide d'un logiciel d'identification.

✓ **Préparation de la galerie**

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau physiologique dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.

Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.

Sortir la galerie de son emballage individuel et placer la galerie dans la boîte d'incubation.

✓ **Préparation de l'inoculum**

Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) comme indiqué dans la notice, à l'aide d'une pipette ou d'un écouvillon, prélever une ou plusieurs colonies identiques bien isolées et réaliser une suspension d'opacité égale à celle de l'étalon 3 de McFarland : évaluer par comparaison à un témoin d'opacité ou avec un densitomètre. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Bien homogénéiser la suspension de levures.

✓ **Inoculation de la galerie**

-Répartir la suspension de levures précédente uniquement dans les tubes en évitant de faire des bulles.

- Recouvrir les 5 premiers tests (GLU à RAF) et le dernier test (URE) d'huile de paraffine (tests soulignés) aussitôt après l'inoculation de la galerie.

- Refermer la boîte d'incubation et Incuber 18-24 heures à 36°C ± 2°C en atmosphère aérobie.

✓ **Lecture de la galerie**

Après 18-24 heures d'incubation :

-Lire les réactions en se reportant au tableau de lecture de la notice technique et les noter sous forme de + ou −sur la fiche de résultats.

-les tubes 8 et 9 sont bifonctionnels et permettent la réalisation de 2 réactions dans le même tube :

- tube 8 : ßXYL (test n° 8) / ßNAG (test n° 11).

- tube 9 : ßGUR (test n° 9) / ßGAL (test n° 12).

- Coder les réactions obtenues en un profil numérique : sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour

chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, un profil numérique à 4 chiffres est obtenu.

✓ **Identification**

Elle est réalisée à partir de la base de données à l'aide du profil numérique.



Figure 32. Galeries API Candida, ampoules d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml), boîtes d'incubation, fiches de résultats. (ORIGINALE)

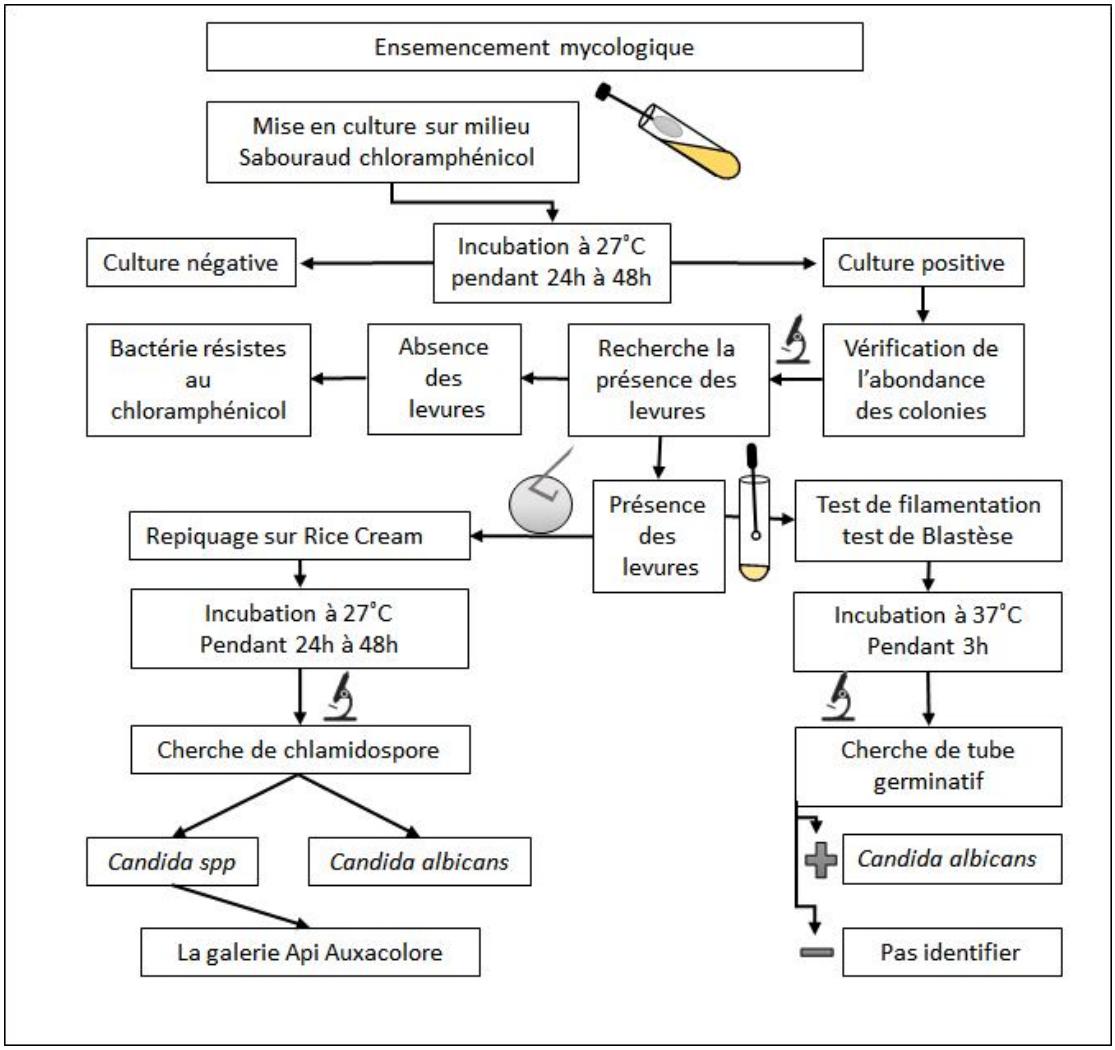


Figure 33. Diagramme explicatif d'analyse mycologique de la salive. (ORIGINALE)

Résultats et discussion

Résultats et discussion

L'étude des patientes

1. Répartition de la population selon l'âge

Dans la population étudiée, la plus jeune femme avec le cancer du sein avait 28 ans et la plus âgée avait 78 ans avec une moyenne de 48 ans, un nombre très élevé dans un intervalle d'âge de 38-57 qui représente 57,2%.

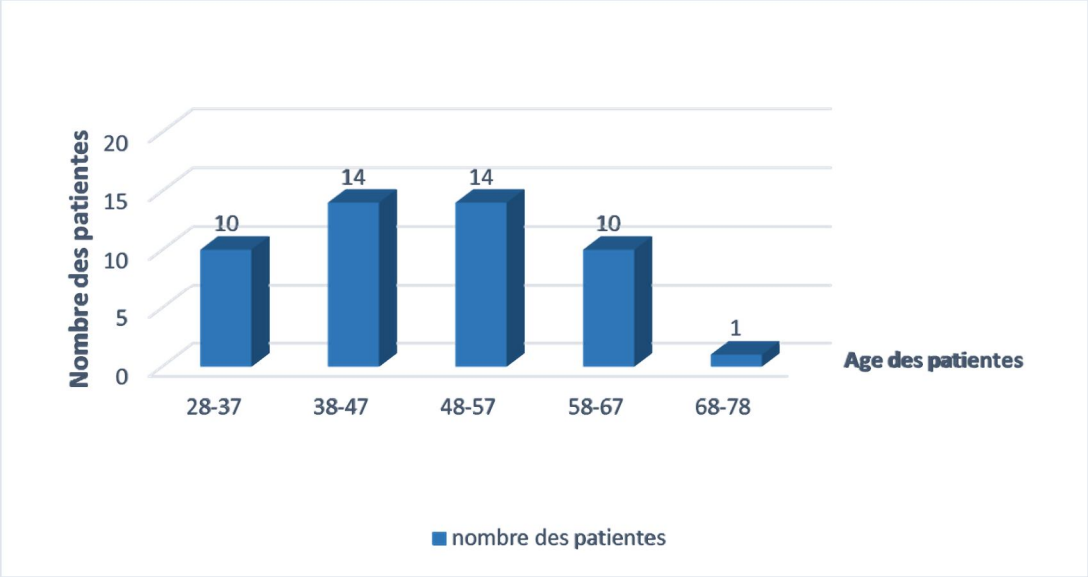


Figure 34. La répartition de la population selon l'âge.

Ce qui ne concorde pas avec l'étude de Nkondjock et GhadirianLe **(2005)** qui dit que le risque augmente entre 50 et 75 ans et le travail de Puddu et Tafforeau qui trouve que 77% des cancers du sein surviennent après l'âge de 50 ans et 47% des cancers du sein sont diagnostiqués dans la tranche d'âge 50-69 ans.

2. Répartition de la population selon les séances de la chimiothérapie (CT)

La majorité des échantillons sont prélevés à partir des patientes qui sont déjà terminées deux à trois séances de la chimiothérapie, et la minorité appartient à celles qui sont déjà dépassées les cinq séances, six pourcent des malades ont été dans l'étape de l'immunothérapie (vaccination) et 18 % n'ont pas encore commencées la chimiothérapie.

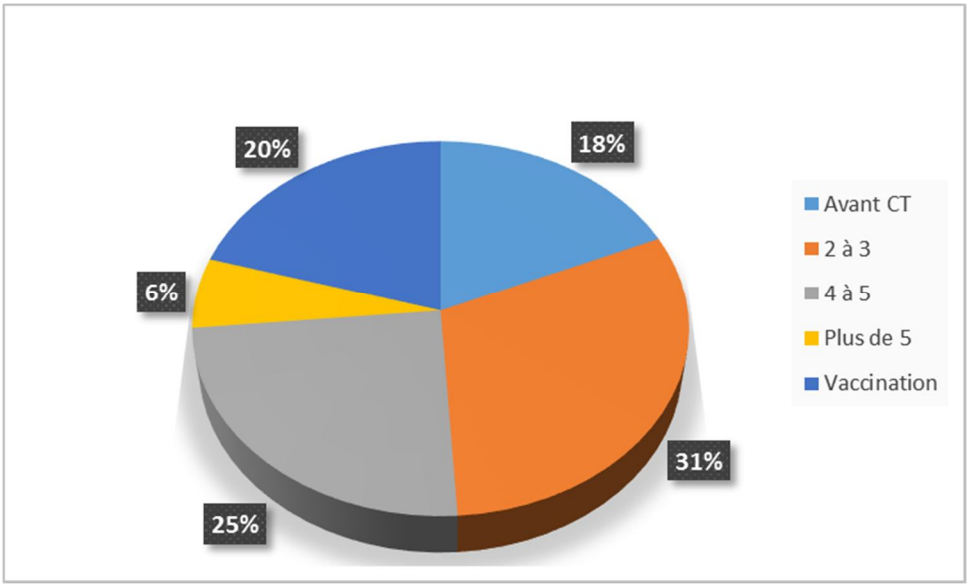


Figure 35. Répartition de la population selon les nombres des séances de la chimiothérapie.

On observe que les séances de la chimiothérapie influent sur certains paramètres et n'a aucune relation avec autres.

Il y a une relation entre la chimiothérapie et la présence des stomatites (**Tableau06)**, la plupart des patientes qui ont des stomatites appartiennent à celles qui ont déjà terminé deux à trois séances de la chimiothérapie et représente 57,14 %.

Selon le médecin mycologue, dans la plupart des cas, la chimiothérapie entraînera une immunodépression, qui provoque un déséquilibre immunitaire ce qui conduit à la prédominance de certaines bactéries et induit des lésions buccales.

Tableau 6. La relation entre les séances de la chimiothérapie et la présence des stomatites.

		Stomatite	
		Oui	Non
Séance de la chimiothérapie (CT)	Avant CT	01	08
	02-03	11	04
	04-25	01	11
	Plus de 5	0	3
	Vaccin	1	9
Total		7	42

3. Répartition des échantillons salivaire selon les paramètres physicochimique

La viscosité salivaire

Plus que la moitié des échantillons salivaire ont été visqueuses et seulement six pourcent ont été aqueuses et le restes des échantillons ont été très visqueuses.

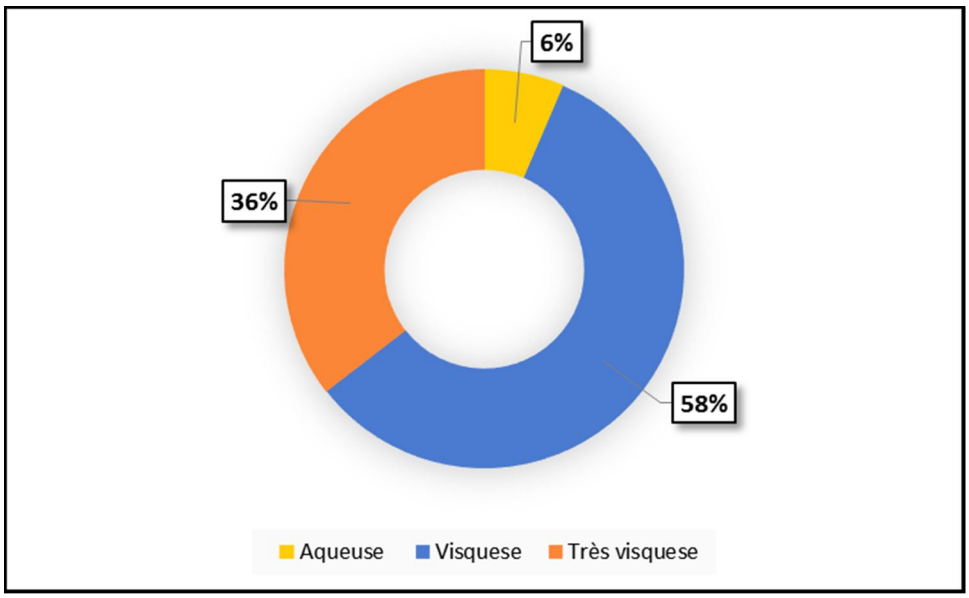


Figure 36. Répartition des échantillons selon la viscosité salivaire.

On remarque que la viscosité salivaire influence avec certain paramètre et n'a aucune relation avec autre.

Le pH salivaire

Le pH salivaire est varié entre 6 et 7.9 chez 86% des patientes et il était basique et acide chez 12% et 2% successivement.

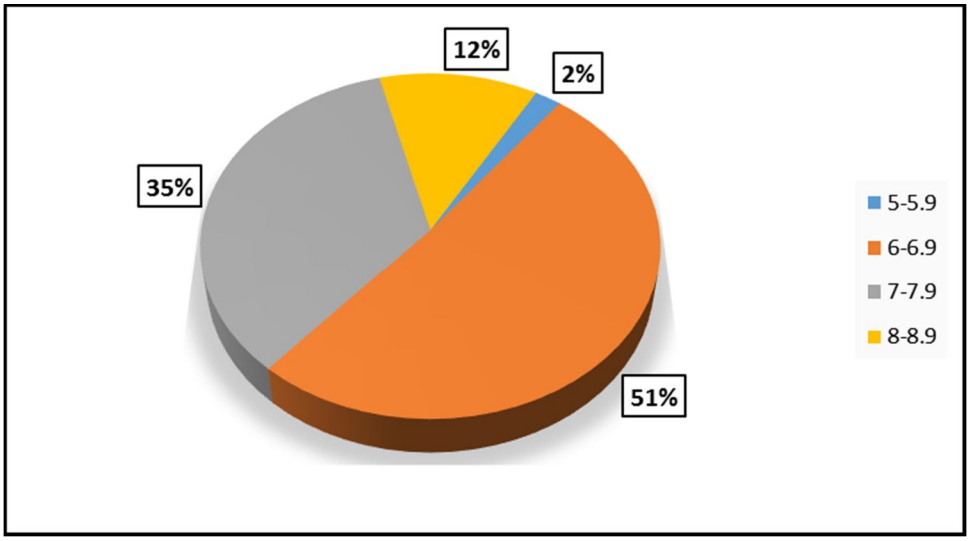


Figure 37. Secteur représente la répartition des échantillons selon le pH salivaire.

Le pH moyen de la salive non stimulée est de 6,8 à 7,1. Il varie en fonction de la glande sécrétoire, de la stimulation, du débit et des éléments tampons **(Merdes.L, 2009)**.

On n'a pas pu déterminer pourquoi cette différence de pH entre les patientes vu que la majorité des femmes ne sont pas à jeûne notant que ce test nécessite le jeûne.

On note que le pH salivaire influence avec certains paramètres et n'a aucune relation avec autres.

4. Répartition des prélèvements selon les paramètres microbiologique

Paramètres mycologiques

Après la réalisation de la culture mycologique, 12 patientes ont été positives dont cinq parmi eux ont été déjà positives à l'état frais, par contre 37 patientes ont présenté des cultures négatives, bien que trois ont été positives à l'état frais.

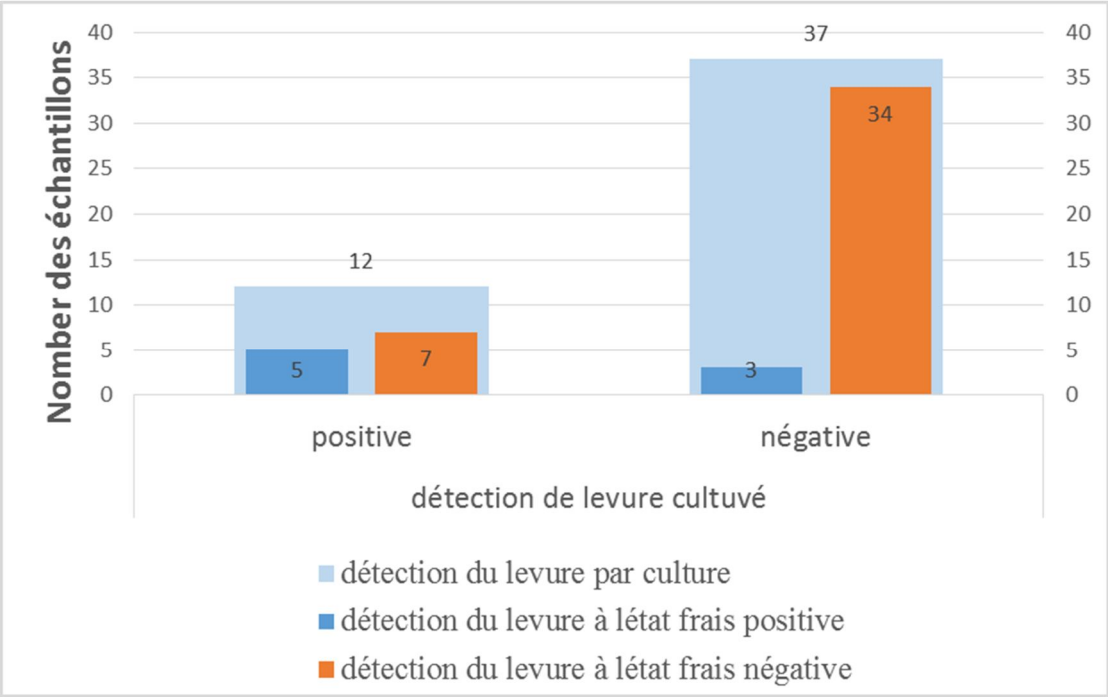


Figure 38. Répartition des prélèvements selon la détection des levures à l'état frais et par culture.

On ne peut pas considérer l'examen à l'état frais comme test de précision d'où la nécessité de la réalisation de la culture comme étape de confirmation.

A partir des 12 cultures positives, la moitié a été identifiée comme *Candida albicans* et l'autre comme *Candida sp.* 76% des échantillons prélevés ont été des cultures négatives.

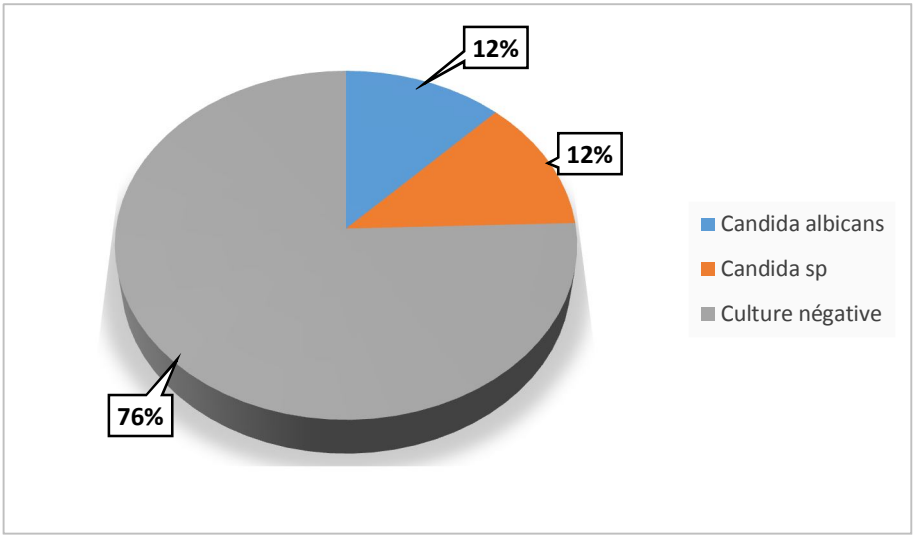
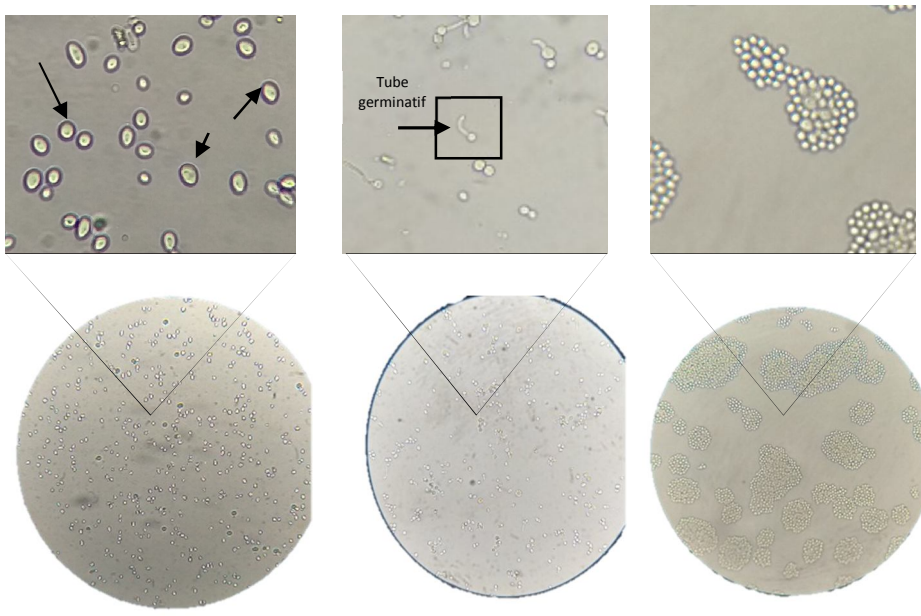


Figure 39. La distribution des échantillons selon les espèces de *candida*.



L'état frais des Levures à partir de colonie sur Sabouraud

C.albicans à partir du test Blastèse

Candida sp à partir du milieu Rice Cream

Figure 40. Observation microscopique de levure, *Candida albicans* et *Candida sp* à partir des déférentes tests mycologique à grossissement x40.

Selon le médecin mycologue, la présence des *Candida* doit être en général chez la plupart des patientes immunodéprimées, mais dans notre population on a trouvé que 24% des cultures sont positives alors que 76% ne présente aucune affection par levures ce qui est anormale dans notre cas donc on peut mener ce résultat à une mauvaise lecture, soit causé par une erreur lors du prélèvement ou bien un milieu de culture périmé.

On observe selon la **Figure 41** que la majorité des patientes affectées par *Candida* ne prennent aucun traitement d'antibiotique, à l'exception des deux patientes qui sont *Candida* positifs, donc on suggère que l'antibiotique consommé par ces deux malades n'était pas d'un large spectre.

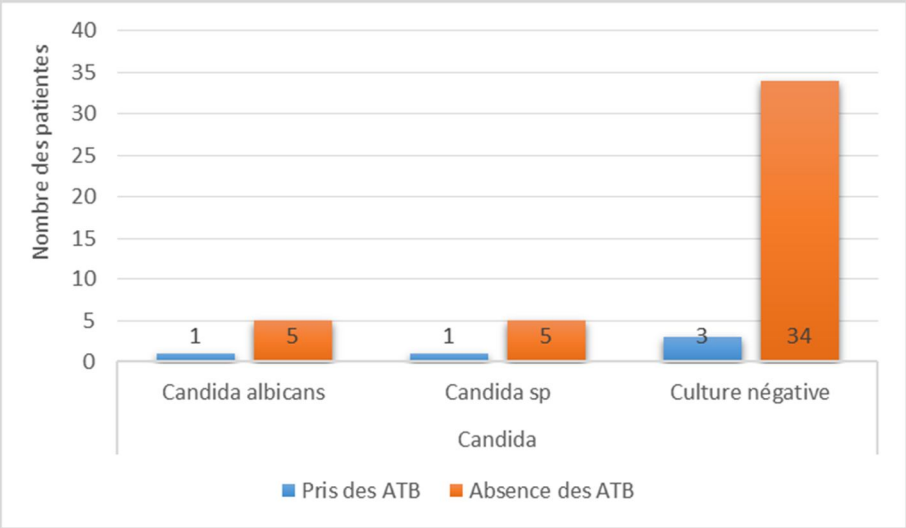


Figure 41. Histogramme représente la répartition de la population selon la relation entre la présence des *Candida* et la prise des antibiotiques.

On remarque selon la **Figure 42** que la présence des *Candida* est seulement au pH neutre, par contre on note une absence totale des Candida dans la salive à pH acide et basique. Ce mode de vie du *Candida* peut être spécifique vue l'originalité de notre population d'étude.

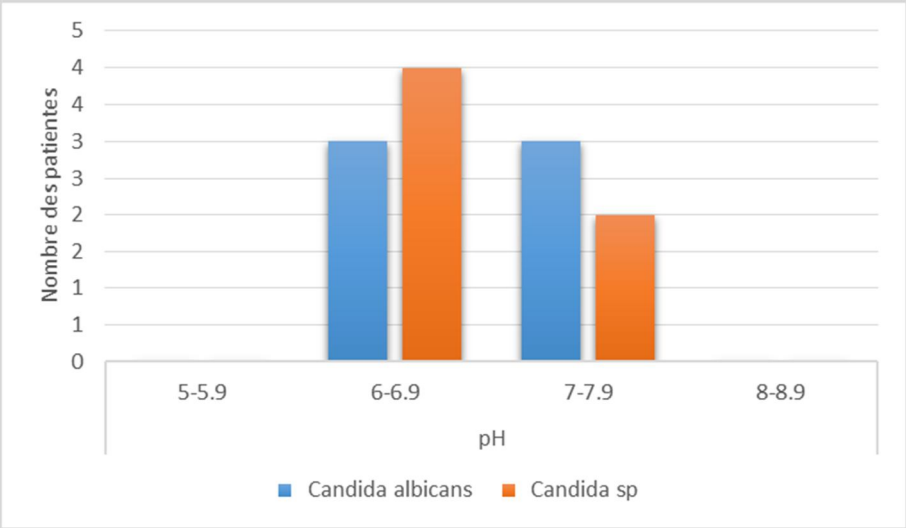


Figure 42. Répartition de la population selon la relation entre la présence des *Candida* et le pH salivaire.

Mais on observe que la viscosité salivaire n'influe pas sur la présence ou l'absence des candidas dans notre population selon la **Figure 43**.

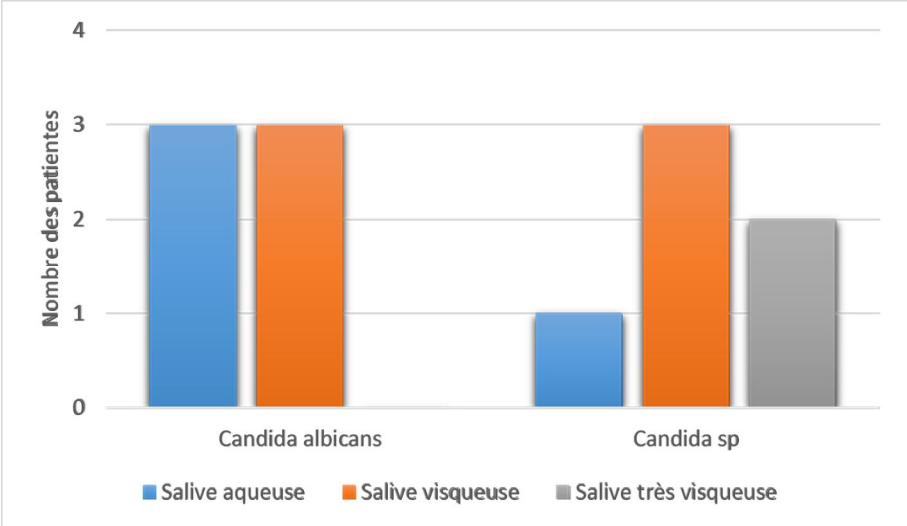


Figure 43. Répartition de la population selon la relation entre la présence des *Candida* et la viscosité salivaire.

Paramètres bactériologiques

Cocci et bacille

Chaque pourcentage dans l'histogramme (**Figure 44)** des cocci et bacilles appartient aux 49 patientes.

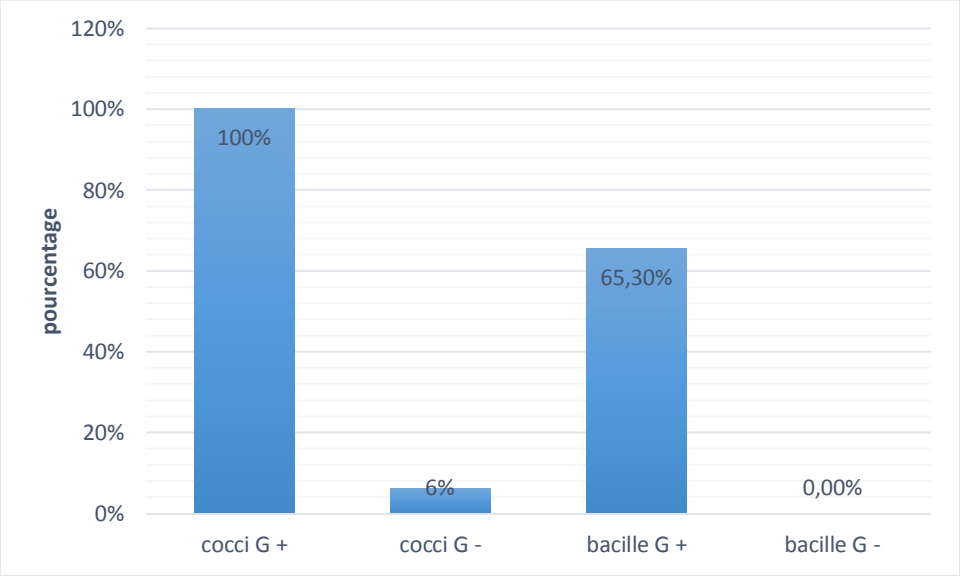
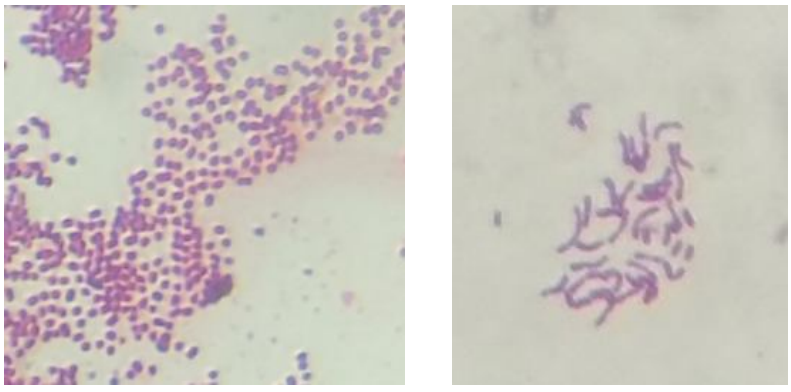


Figure 44. Distribution des cultures bactériennes selon la présence des cocci et des bacilles.

Tous les échantillons contiennent les cocci gram positif et seulement 65.3 % des échantillons ont des bacilles gram positif et 6% des cocci Gram négatif avec l'absence total des bacilles Gram négatif.



Cocci Gram + Bacille Gram +

Figure 45. Observation microscopique des cocci et bacilles Gram positif à grossissement X 100.

Il existe des cocci et bacilles à Gram négatif, mais toujours les cocci et les bacilles à Gram positif restent les plus abondants, on peut dire que les cocci Gram négatif sont *Veillonella* selon Sutter **(Sutter, 1984)**.

On a fait la culture seulement pour 48 heures, et ça limite l'apparence des bactéries qui ont un développement lent sur la gélose au sang frais (anaérobiose).

Cocci

Toutes les cultures bactériennes observées sous microscope optique ont contenu des cocci Gram positif, parmi les 49 cultures 16 % ont été identifié comme *Streptococcus sp* et dans le reste des cultures l'identification des streptocoques a été indéterminée.

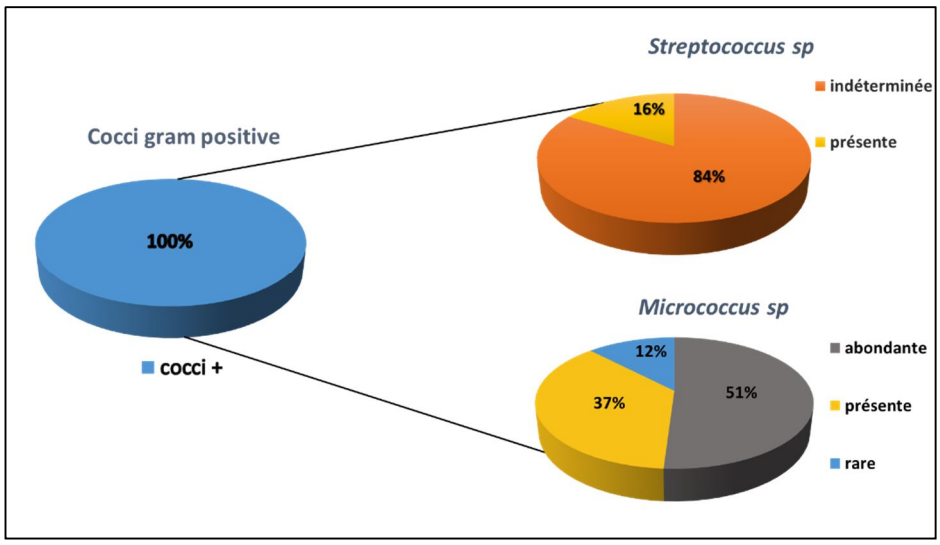


Figure 46. Distribution des cultures bactériennes selon les espèces des cocci Gram positif (*Streptococcus sp,* et *Micrococcus sp*).

Les microcoques ont été observés sous microscope optique et présentes dans toutes les cultures, dont 51% ont été abondante, 37% ont été présente et 12% ont été rare selon leurs distributions sur la surface de la boite pétrie.

Concernant les *streptococcus sp,* elles sont des cocci à Gram positif, disposés typiquement en diplocoques (deux coques) ou en chaînettes de longueur variable, qui sont exigeantes en nombreux facteurs de croissance. Le sang ajouté aux géloses permet leur multiplication in vitro, qui peut être favorisée par l'apport de CO_2 ou par une atmosphère anaérobie. Ce genre appartient à l'embranchement des Firmicutes.

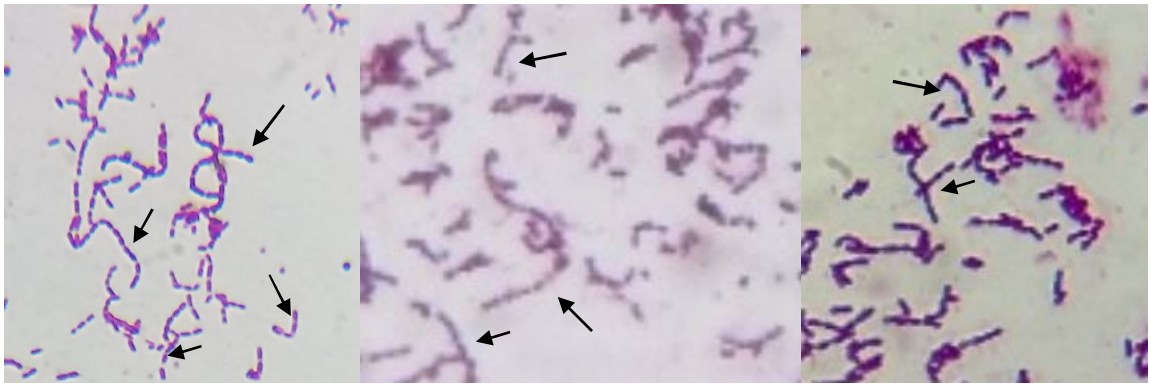


Figure 47. *Streptococcus sp* regroupées en chaînette et en diplocoque sous microscope optique à grossissement X 100.

Selon l'étude d'Aas et al. **(2005)** ils sont trouvés que les *Streptococcus* est un genre commun à tous les sites buccaux.

Keijser et al. **(2008)** trouvent que 50% de la microflore salivaire confinée à 3 genres parmi les 185 genres trouvés dans la salive l'un est *streptococcus.*

A propos des *Micrococcus sp*, elles sont des cocci a Gram positive de diamètre souvent supérieur à 1µm groupés en amas irréguliers ou réguliers en tétrade elles sont des aérobies stricts. Elles appartiennent à l'embranchement Actinobacteria (au paravant actinomycètes).

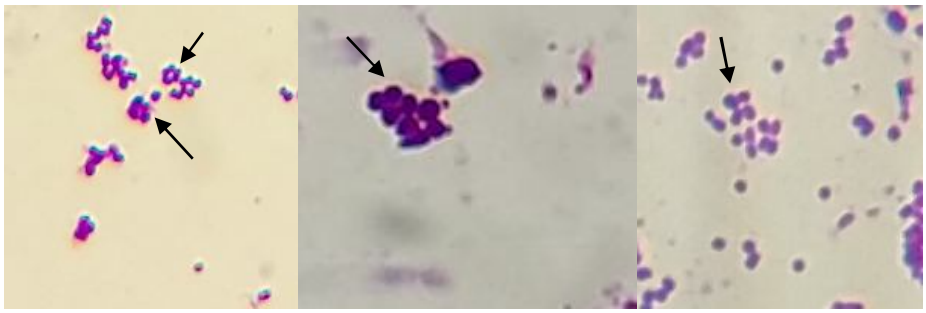


Figure 48. *Micrococcus sp* regroupées en tétrades sous microscope optique à grossissement x100.

Streckfus et Kulasinghe **(2015)** montrent que l'embranchement Actinobacteria est l'un des embranchements abondants dans la salive.

On observe dans la **Figure 49** que notre population présente une abondance des microcoques à l'état aqueux et visqueux, par contre ils sont rares à l'état très visqueux.

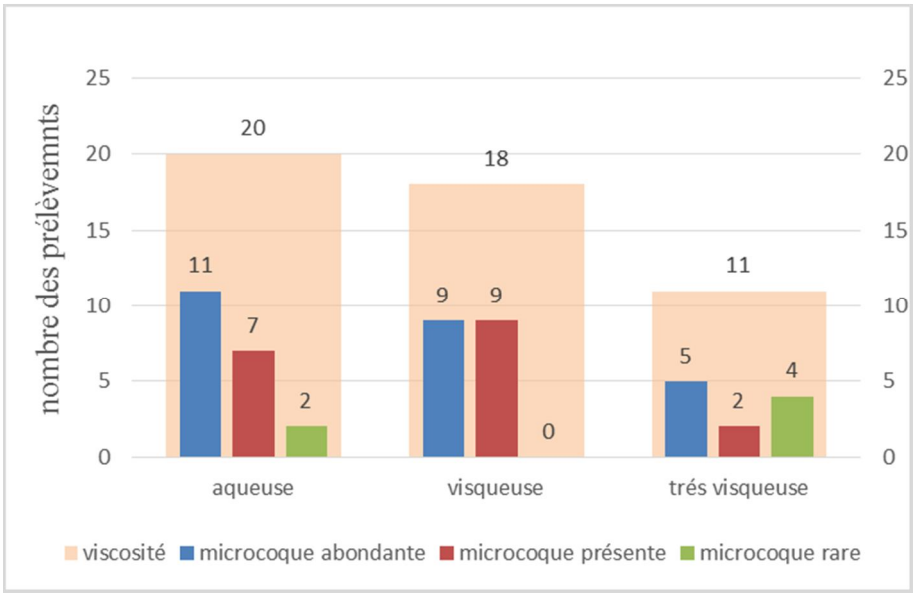


Figure 49. Répartition des cultures bactériennes selon la relation entre les microcoques et la viscosité salivaire.

Bacille

L'abondance et la présence des bacilles ont été signalées par rapport aux cocci au cours de la lecture microscopique à l'état frais et après la coloration du Gram.

Les bacilles Gram positif ont été observés dans 65.3% des échantillons, seulement les lactobacilles et les *Bacillus* ont été identifiés sous le microscope.

Les bacilles Gram négatif n'ont pas été observés sous le microscope après la coloration de Gram dans tous les échantillons.

À partir des 49 patientes, microscopiquement *Bacillus sp* ont été présentes en 37% et indéterminé pour 63 % des cultures. Dans les échantillons où les bacillus ont été présentes, on note la présence des bacilles dans 72 % et leur abondance en 28 %. Par rapport aux échantillons où les *bacillus* ont été indéterminé, la présence des bacilles était 87 %.

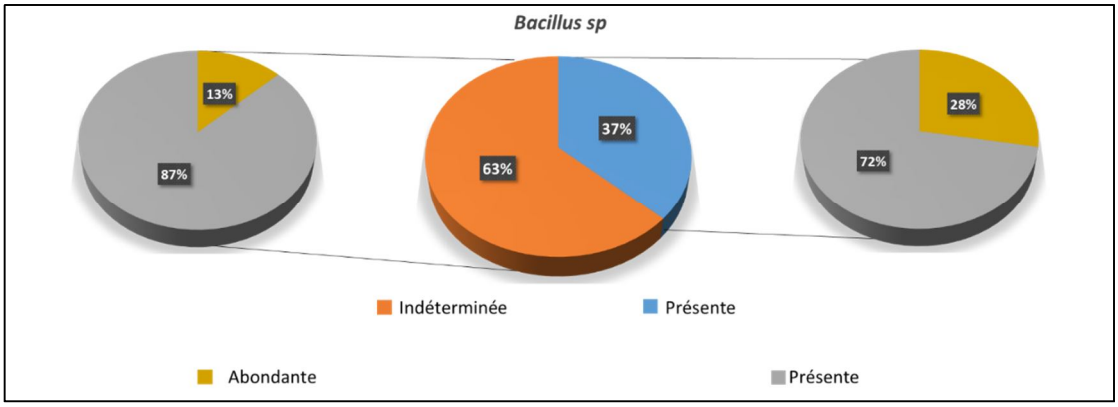


Figure 50. Répartition des cultures bactériennes en fonction du pourcentage de la présence des *Bacillus sp*.

Les *bacillus* forment un genre de bactéries à Gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (*Bacillaceae*) et l'embranchement des Firmicutes. Les dimensions de ces bactéries sont variables ; elles peuvent aller de (0.5 × 1.2 µm) à (2.5 × 10 µm). Elles sont aérobies ou aéro-anaérobies facultatives, et tirent leur énergie par respiration ou fermentation.

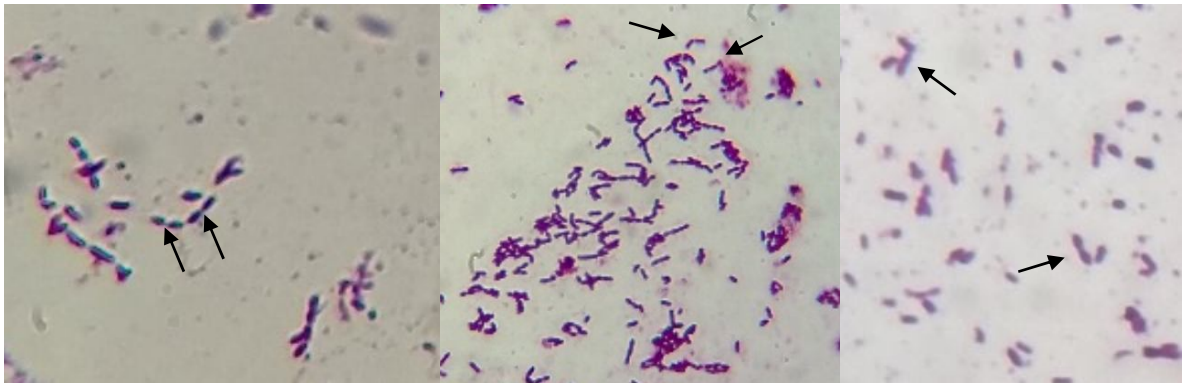


Figure 51. *Bacillus sp* regroupées en diplobacille sous microscope optique à grossissement x100.

Pour *Lactobacillus sp*, elles ont été présentes en 33% et indéterminée en 67%. Dans les échantillons où les lactobacilles ont été présentes, on note la présence des bacilles dans 83% et une abondance de 17%. Relativement aux échantillons où les *Lactobacillus* ont été indéterminée, la présence des bacilles était 81%.

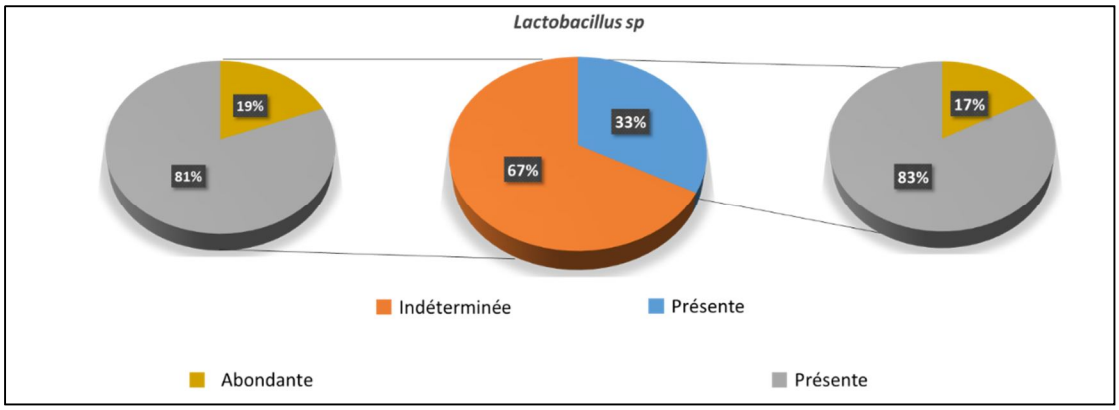


Figure 52. Répartition des cultures bactériennes en fonction du pourcentage de la présence des *Lactobacillus sp.*

Les lactobacilles sont des bactéries lactiques à Gram positif anaérobies facultatives ou microaérophiles en forme de tige ou dit bâtonnets. Elles appartiennent à l'embranchement des Firmicutes.

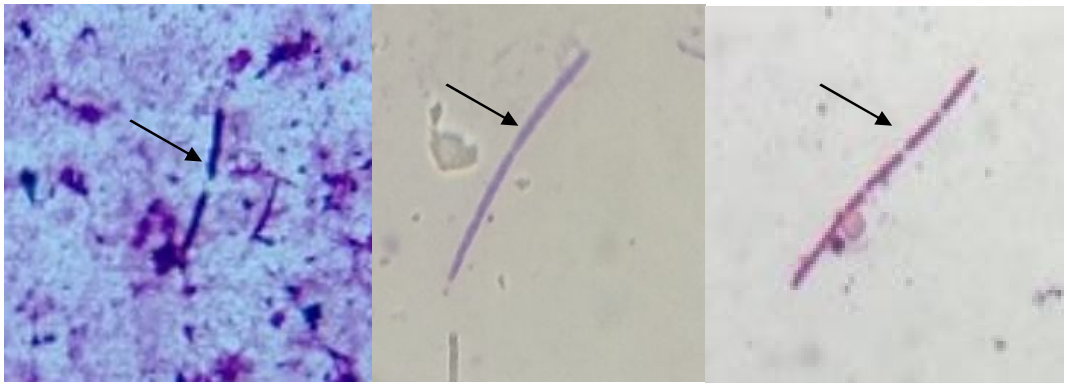


Figure 53. *Lactobacillus sp* sous microscope optique à grossissement x100.

D'apris Wang et al. **(2019)** et Lundmark et al. **(2019)**, les échantillons oraux humains appartenaient de 17 phyla bactériens, l'une la plus dominante est Firmicutes avec 37% de tous la microflore salivaire analysée.

Malgré on note la présence des bacilles dans tous les échantillons, mais un pourcentage de 32% restent indéterminé, cela est dû soit à une mal détection des *Bacillus* et *Lactobacillus*, soit ce pourcentage représente des autres genres sous forme des bacilles.

5. Répartition des cultures selon le type d'hémolyse

L'hémolyse alpha était présente dans toutes les 49 cultures qui ont été ensemencées sur le milieu gélose au sang frais où elle était bien détectable quand le milieu de culture prend une couleur verdâtre (destruction partielle des hématies) autour des colonies, avec une présence de 57,1% de l'hémolyse béta qui était déterminée par la décoloration du milieu (la destruction total des hématies) autour des colonies bactériennes.

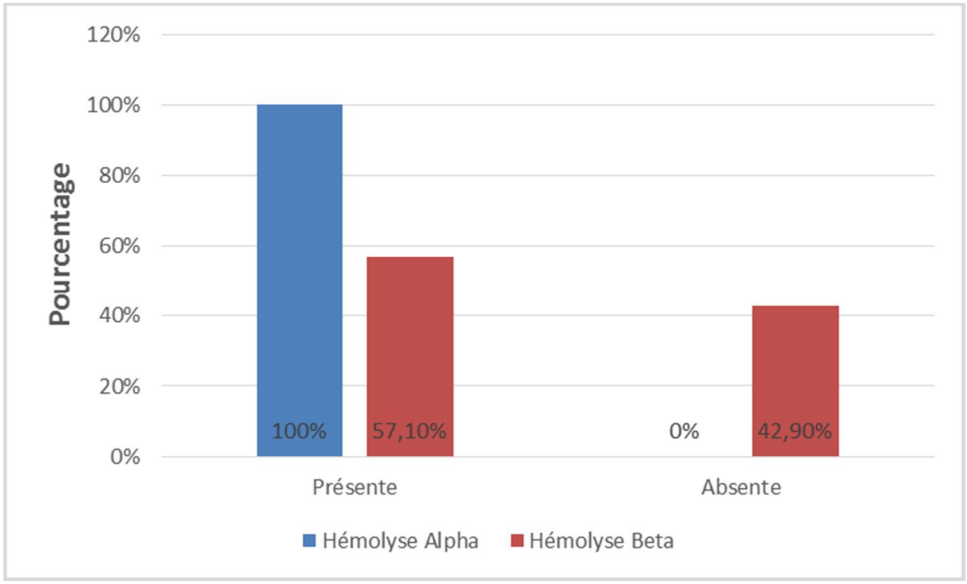


Figure 54. Répartition des cultures bactériennes selon le type d'hémolyse.

L'identification microscopique des bactéries qui ont fait l'hémolyse béta montre qu'elles sont des streptocoques, micrococques et parfois des bacilles, mais on n'a pas pu déterminer le responsable de cette hémolyse dans certaines cultures, toutefois, on les trouve qu'elles sont sous forme des cocci Gram positif regroupées en chaînette,

diplocoque ou isolée, et il reste des échantillons non lu à cause de l'interruption de stage.

Pour l'hémolyse alpha, on n'a pas pu déterminer exactement les bactéries responsables parce qu'on a trouvé plusieurs formes au court de la lecture microscopique. On trouve aussi dans notre étude bactérienne l'existence des bactéries non-hémolytiques.

Selon le médecin microbiologiste le responsable majeur de l'hémolyse Alpha sont les streptocoques oraux.



Figure 55. L'apparition de l'hémolyse Béta sur la gélose au sang frais.

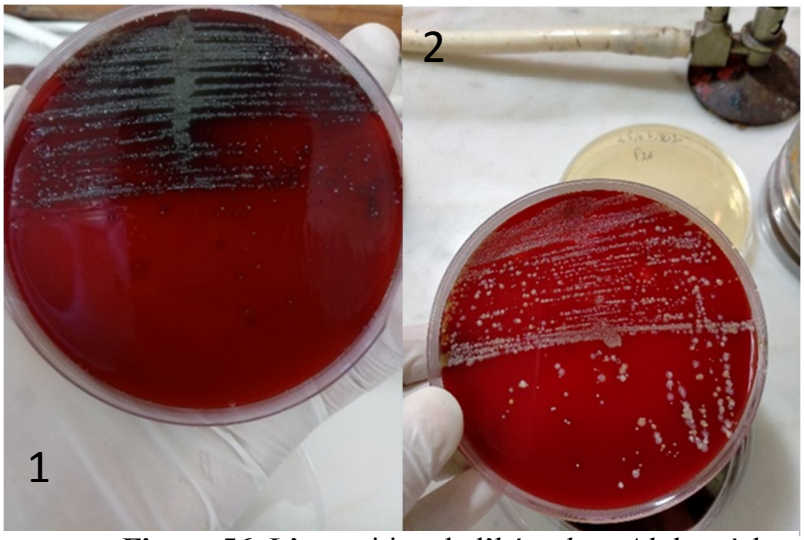


Figure 56. L'apparition de l'hémolyse Alpha où le milieu de culture prend une couleur verdâtre (1) et l'absence de l'hémolyse (2) sur la gélose au sang frais.

6. Répartition cytologique des échantillons salivaire

Lors de l'analyse salivaire à l'état frais et par la coloration de MGG, on a trouvé une présence des globules blancs dans 31 % des échantillons et une présence de cellules bourrées par les germes dans la salive des 82% des patientes, il reste des échantillons non lu à cause de l'interruption de stage.

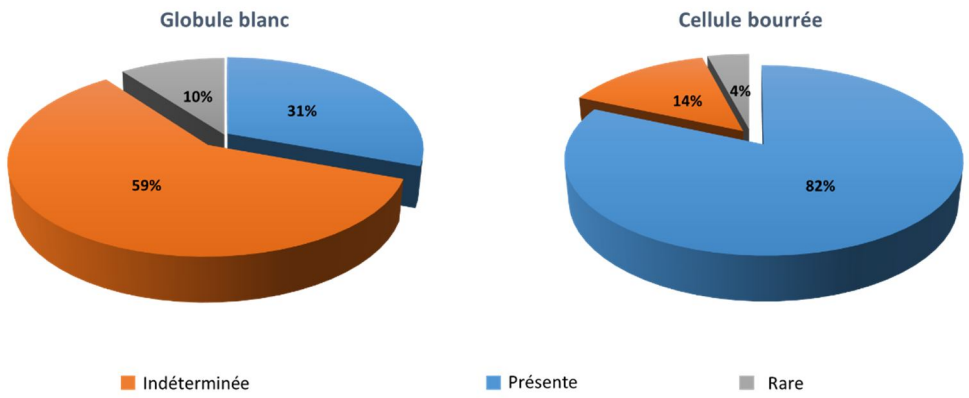


Figure 57. Répartition cytologique des échantillons salivaire selon la présence des globules blancs et des cellules bourrées par les germes.

Selon le médecin cytologiste, la présence des globules blancs et des cellules bourrés par les germes dans la salive est un état normal.

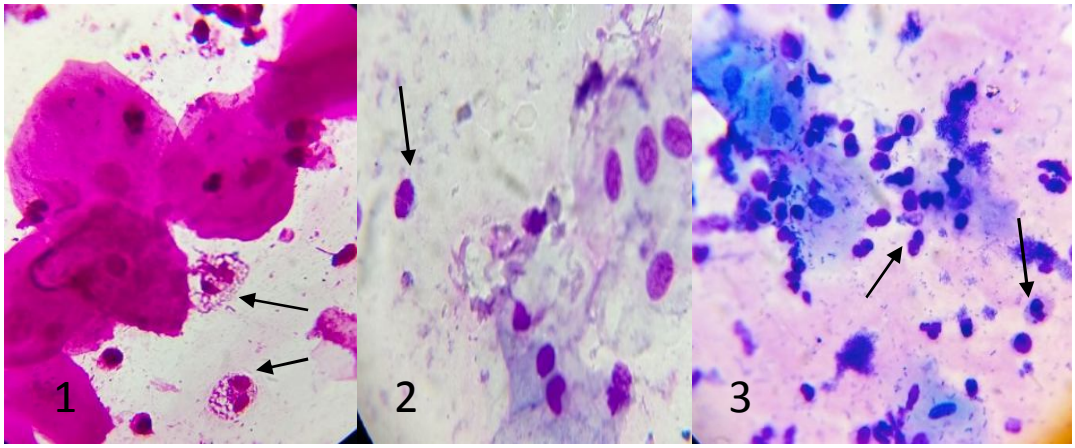


Figure 58. Les globules blancs sous microscope optique à grossissement x100.

1 à partir de la coloration de Gram et (2,3) à partir de la coloration de MGG.

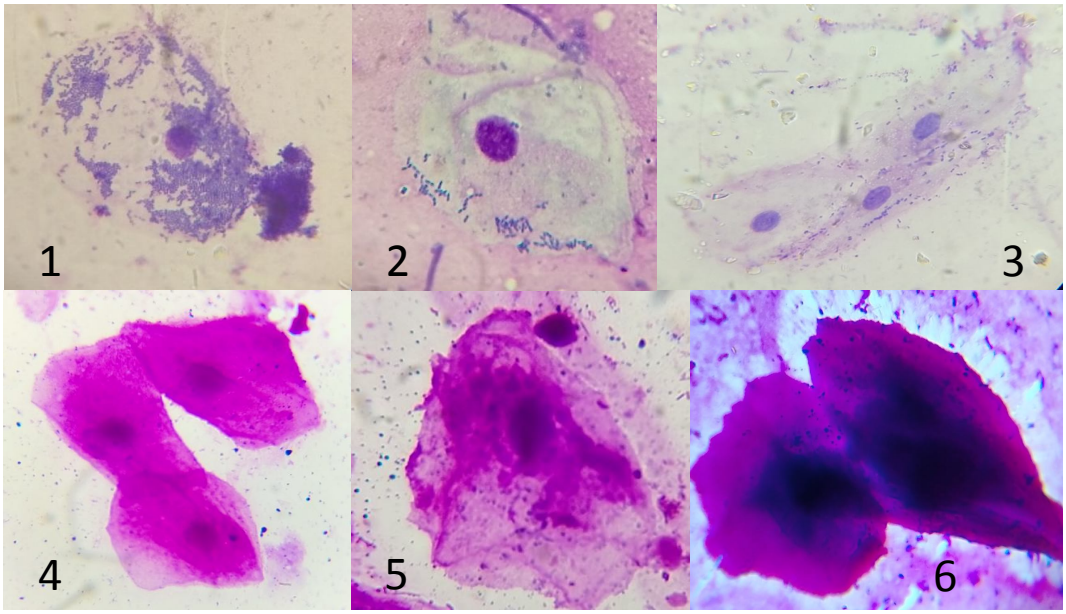


Figure 59. Les cellules épithéliales bourrées par les germes sous microscope optique à grossissement x100. (1,2 et 3) à partir de coloration de MGG. (4, 5 et 6) à partir de coloration de Gram.

La salive dite mixte (c'est-à-dire provenant de toutes les glandes salivaires une fois celles-ci mélangées) et contient des cellules épithéliales, des bactéries, des leucocytes et des débris alimentaires **(BIRAUD Guillaume, 2009)**.

Les Actinomyces sont connues pour être potentiellement pathogènes pour les gencives, mais sont normalement contrôlées par les globules blancs **(Coghlan, 2016)**.

Des chercheurs de l'université de Suède et de Danemark sont conclus que les globules blancs présents dans la salive aideraient non seulement à nous défendre contre les bactéries, elles produiraient des genres de "filets" capables de capturer et tuer les bactéries **(Hauguel, 2016).**

À la surface de la peau les cellules cornées sont en desquamation permanente de même dans la cavité bucco-pharyngien les cellules épithéliales se renouvellent constamment. Cette desquamation s'accentue surtout pendant la mastication des quantités énormes de cellules sont alors rejetées et l'on peut dire qu'après chaque repas la surface de revêtement de la cavité buccale a été renouvelée. Les cellules épithéliales qui tapissent la surface cutanée ou les muqueuses ne possèdent pas de propriétés phagocytaires et les microbes souvent agglutinés à leur surface peuvent pénétrer dans

leur intérieur, mais ne sont pas englobés par elle, comme par les leucocytes, ils seront délogés et entraînées en même temps qu'elles avec la salive dans le canal alimentaire où l'estomac les détruira bientôt **(Hugenschmidt, 1896)**.

7. Répartition des prélèvements selon la prise des antibiotiques

Dans notre population, un petit nombre des patientes ont été sous traitement antibiotique qui représente 10 %.

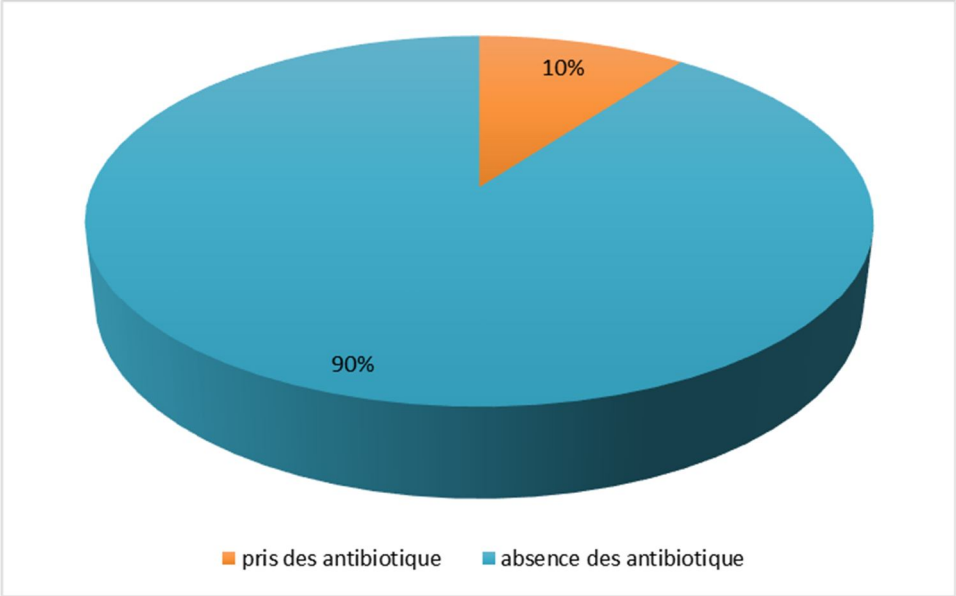


Figure 60. Secteur représente la répartition de la population selon la prise des antibiotiques.

Il a été observé que la prise d'antibiotiques affecte certains paramètres et n'a rien à voir avec d'autres.

Leur influence sur la présence des stomatites

Les patientes qui ont atteint des inflammations buccales (stomatite) sont sept, trois parmi eux ont été sous traitement antibiotique.

42 patientes n'ont pas présenté des stomatites et 40 parmi eux n'ont pas été sous traitement antibiotique.

On suggère que les prix des antibiotiques n'a aucun effet sur la présence ou l'absence des stomatites.

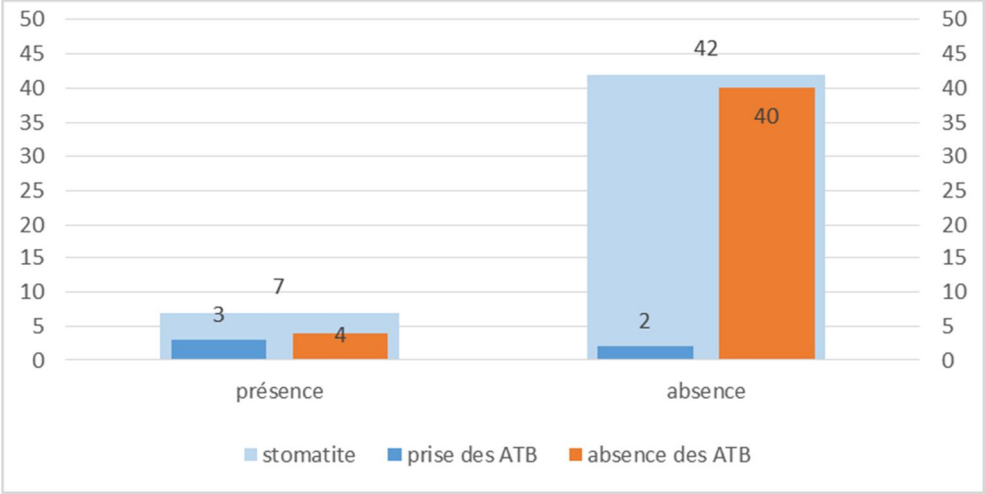


Figure 61. Histogramme représente l'influence des antibiotiques sur la présence des stomatites.

L'influence avec la présence des bactéries cultivées

La plupart de notre patientes présente de *Streptococcus sp*, *Lactobacillus sp*, *Bacillus sp* et une abondance aux *Micrococcus sp* au niveau de la muqueuse buccale sauf les patientes sous traitement d'antibiotique, et ce dû au antibiotique à large spectre qui provoque un déséquilibre du microbiome buccal.

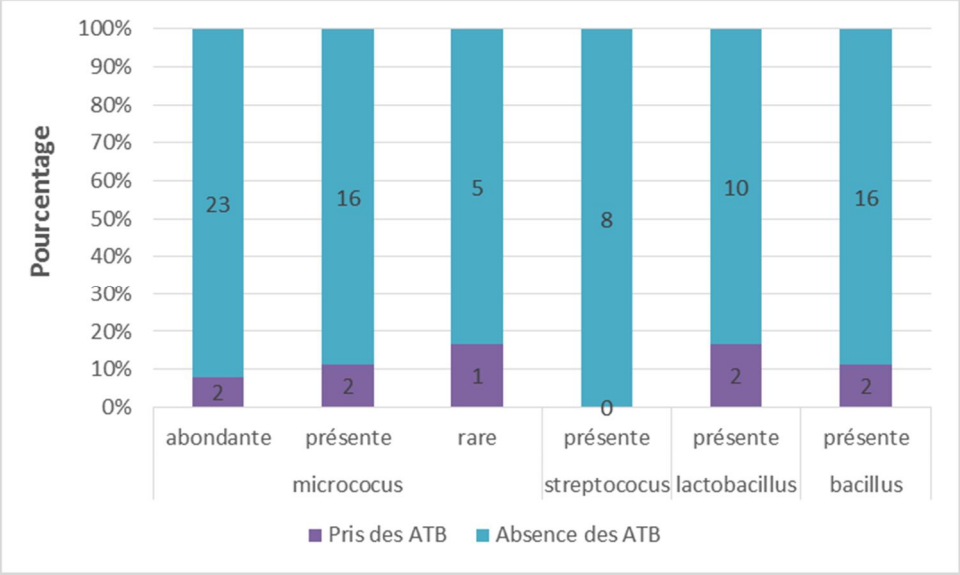


Figure 62 L'influence des antibiotiques sur la présence des *Streptococcus sp, Lactobacillus sp, Bacillus sp* et *Micrococcus sp.*

L'étude des contrôles négatifs

1. La population d'étude

On a fait les prélèvements pour dix personnes saines seulement pour les prendre comme témoin, mais la lecture des résultats se fait uniquement pour cinq personnes, notant que ces résultats restent non significatifs parce que le nombre n'est pas suffisant pour faire comparaissent et ce dû à l'interruption du stage à cause de la pandémie Covid-19 qui touche tout le monde.

2. Les résultats principaux d'étude

Tableau 7. Les résultats principaux de l'étude des contrôles négatifs.

Les paramètres	Les résultats		
Age	22,8		
pH	7,11		
La viscosité	30% visqueuse	70% aqueuse	
Détection des levures à l'état frais	100% négatif		
La culture mycologique	10% positif (C.albicans)		
Micrococcus sp	20% présente	80% abondante	
Streptococcus sp	10% présente	90% indéterminé	
Lactobacillus sp	40% présente	60% indéterminé	
Bacillus sp	40% présente	60% indéterminé	
Alpha hémolyse	100% présente		
Béta hémolyse	60% présente	40% indéterminé	
Les globules blancs	40% présente	10% absente	50% indéterminé
Les cellules bourrées	60% présente	10% absente	30% indéterminé

La moyenne d'âge de notre population saine est de 23 ans, avec un pH dans les normes (7.1).

La majorité des échantillons ont eu une salive visqueuse. Pour les levures, leur détection microscopique était totalement absente avec une seule identification du *Candida albicans* dans un seul prélèvement, la présence des *Micrococcus sp, Streptococcus sp, Lactobacillus sp* et *Bacillus sp* a été identifié dans la plupart des échantillons mais on n'a pas pu lire tous les échantillons prélevés.

Quant à l'hémolyse alpha, il a été présent dans toutes les cultures, avec un pourcentage de 60% pour l'hémolyse béta.

Concernant les leucocytes et les cellules bourrées, il est difficile de déterminer et de préciser leur état en raison de l'interruption du stade pour la cause mentionnée précédemment.

La comparaison

L'un des nôtres objectifs dans cette étude est de comparer les résultats de la composition salivaire entre les malades de cancers du sein et les personnes saines, mais la comparaison est inutile parce que le pourcentage des personnes saines n'est pas significatif.

Cependant, le médecin microbiologiste a observé que la salive très visqueuse est absente chez les contrôles négatifs et elle est montrée qu'il était expectative que le caractère très visqueux de la bave est dû à la faible consommation d'eau vu que ce dernier provoque des nausées liées aux effets secondaires de la chimiothérapie.

Pour les contrôles négatifs, la bave aqueuse était abondante due à la consommation normale de l'eau.

Conclusion

Conclusion générale

Conclusion

Dans le domaine de la recherche biomédicale, beaucoup d'efforts ont été réalisés ces dernières années pour améliorer les méthodes du dépistage de cancer du sein. Aux cours de notre travail réalisé pour cette étude, on a étudié les paramètres physicochimiques et microbiologiques de la salive chez les malades du cancer du sein.

Le présent travail a été réalisé en collaboration avec le service d'oncologie et le laboratoire central de l'EPH de Médéa. Cette recherche a été conclue par les résultats suivants :

Notre Population est de moyens âges de 48 ans, où les affections mycologiques sont causées par 50 % de *Candida albicans* et 50 % de *Candida sp* et leur apparition est dans un pH neutre.

Dans l'étude bactérienne, on a trouvé des cocci gram positif dans toutes les cultures qui sont représentées par *Micrococcus sp* et *Streptococcus sp*, 6 % des cocci gram négatif non identifié et 65 % des bacilles gram positif identifié comme *Bacillus sp* et *Lactobacillus sp*.

On a pu détecter la présence de *Micrococcus sp* dans tous les prélèvements, cependant les *Streptococcus sp* ont été identifié dans 16 % seulement, mais cela ne veut pas dire qu'elles ne sont présent que dans ce pourcentage, au contraire, elles sont naturellement présent de façon abondante dans la salive, mais au regard des capacités disponibles et du temps, on n'a pu identifier que ce pourcentage.

Pour les bacilles gram positifs, 33 % ont été *Lactobacillus sp* et 37 % ont été identifiés comme *Bacillus sp*, nous ne pouvons identifier que ces deux genres, mais en raison du manque des matériels et d'interruption du stage, certains genres restent non identifiés.

Pour les globules blancs et les cellules épithéliales bourrées par les germes, on note une présence presque totale dans tous les prélèvements des patientes et des contrôles négatifs, et cela est expliqué comme un phonème normal et naturel.

À cause de la pandémie Covid-19, on n'été pas capable de terminer notre étude qui a été basée sur la comparaison des compositions salivaires entre les patientes et les contrôles négatifs sains.

Conclusion générale

En perspective, ce travail peut être complété par des autres études approfondies afin de déterminer la composition du microbiome buccale par l'utilisation de la fameuse méthode d'analyse MALDI TOF pour faire un diagnostic de futur du cancer du sein et d'éviter la réalisation de la biopsie pour minimiser la souffrance des patientes.

Références

Les références

Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(11), 5721‑5732. Https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005

Abrao Nemeir, I., Saab, J., Hleihel, W., Errachid, A., Jafferzic-Renault, N., & Zine, N. (2019). The Advent of Salivary Breast Cancer Biomarker Detection Using Affinity Sensors. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *19*(10). Https://doi.org/10.3390/s19102373

Agbo-Godeau, S., Guedj, A., Marès, S., & Goudot, P. (2017). Sécheresse buccale (xérostomie). *La Presse Médicale*, *46*(3), 296‑302. Https://doi.org/10.1016/j.lpm.2017.02.004

Anatomie du sein—Cancer du sein. (S. D.). Consulté 7 août 2020, à l'adresse https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Anatomie-du-sein

Arif, S., Qudsia, S., Urooj, S., Chaudry, N., Arshad, A., & Andleeb, S. (2015). Blueprint of quartz crystal microbalance biosensor for early detection of breast cancer through salivary autoantibodies against ATP6AP1. *Biosensors and Bioelectronics*, *65*, 62‑70. Https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.09.088

Bastuji-Garin, S. (2005). Antibiotiques et risque de cancer du sein. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*, *132*(1), 9‑10. Https://doi.org/10.1016/S0151-9638(05)79187-0

Bazan, D. F., & Besançon, C. (s. D.). *CANCEROGENESE ET NOTION D'EPIDEMIOLOGIE*. 43.

Belstrøm, D. (2020). The salivary microbiota in health and disease. *Journal of Oral Microbiology*, *12*(1), 1723975. Https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1723975

Belstrøm, D., Holmstrup, P., Bardow, A., Kokaras, A., Fiehn, N.-E., & Paster, B. J. (2016). Temporal Stability of the Salivary Microbiota in Oral Health. *Plos ONE*, *11*(1). Https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147472

BENHARRATS, K., KADDOUR AHMED, I., & KADRI, I. (2017). *Etude des modifications de certains paramètres cliniques et salivaires chez les patients obèses au C.H.U Tlemcen*.

BIRAUD Guillaume. (2009). *LES_PATHOLOGIES_SALIVAIRES_DONNEES_ACTUELLE*.

Brooks, M., Wang, J., Li, Y., Zhang, R., Elashoff, D., & Wong, D. (2008). Salivary protein factors are elevated in breast cancer patients. *Molecular Medicine Reports*. Https://doi.org/10.3892/mmr.1.3.375

Cairat, M., Al Rhamoun, M., Gunter, M., Severi, G., Dossus, L., & Fournier, A. (2019). Utilisation d'aspirine faible dose et risque de cancer du sein dans une cohorte prospective de femmes

ménopausées. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, *67*, S195. Https://doi.org/10.1016/j.respe.2019.04.018

Cancer du sein : l'essentiel sur ce fléau féminin. (S. D.). Fondation pour la Recherche Médicale. Consulté 19 août 2020, à l'adresse https://www.frm.org/recherches-cancers/cancer-du-sein

Capnophile : Définition et explications. (S. D.). Aquaportail. Consulté 19 août 2020, à l'adresse https://www.aquaportail.com/definition-3980-capnophile.html

Ce qu'est le cancer du sein – Blog santé. (S. D.). Consulté 20 août 2020, à l'adresse http://www.medias-sante.com/2019/08/24/ce-quest-le-cancer-du-sein/

Chardin, H. (2002). *Immunité de la cavité buccale*. EM-Consulte. Https://www.em-consulte.com/article/20221/immunite-de-la-cavite-buccale

Cheng, F., Wang, Z., Huang, Y., Duan, Y., & Wang, X. (2015). Investigation of salivary free amino acid profile for early diagnosis of breast cancer with ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Clinica Chimica Acta*, *447*, 23‑31. Https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.05.008

Coghlan, A. (2016). *New life form discovered in saliva is linked to human disease*. New Scientist. Https://www.newscientist.com/article/2094902-new-life-form-discovered-in-saliva-is-linked-to-human-disease/

Cohen-Haguenauer, O. (2019). Prédisposition héréditaire au cancer du sein—Génétique. *Médecine/sciences*, *35*(2), 138‑151. Https://doi.org/10.1051/medsci/2019003

Davies, A. N., Brailsford, S. R., & Beighton, D. (2006). Oral candidosis in patients with advanced cancer. *Oral Oncology*, *42*(7), 698‑702. Https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2005.11.010

Davies, A. N., Brailsford, S., Broadley, K., & Beighton, D. (2002). Oral yeast carriage in patients with advanced cancer. *Oral Microbiology and Immunology*, *17*(2), 79‑84. Https://doi.org/10.1046/j.0902-0055.2001.00095.x

Devoize, L., & Dallel, R. (2010). Salivation. *EMC - Médecine Buccale*.

Egloff, B. (2009). *ÉTUDE DES SALIVES ARTIFICIELLES UTILISEES POUR LES TESTS DE CORROSION DES ALLIAGES ORTHODONTIQUES*. 121.

Emekli-Alturfan, E., Demir, G., Kasikci, E., Tunali-Akbay, T., Pisiriciler, R., Caliskan, E., & Yarat, A. (2008). Altered Biochemical Parameters in the Saliva of Patients with Breast Cancer. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, *214*(2), 89‑96. Https://doi.org/10.1620/tjem.214.89

Les références

Farrell, J. J., Zhang, L., Zhou, H., Chia, D., Elashoff, D., Akin, D., Paster, B. J., Joshipura, K., & Wong, D. T. W. (2012). Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. *Gut*, *61*(4), 582‑588. Https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300784

Flipo, B., Cegarra-Escolano, M., Raoust, I., & Fouche, Y. (2013). *Prise en charge locorégionale du cancer du sein chez les femmes porteuses de prothèses mammaires*. 3.

Folia, M. (2013). *Xéno-hormones et homéostasie buccale : Impact sur les perceptions gustatives et les glandes salivaires*. 211.

GLOBOCAN. (2018a). *Cancer today-CANCER FACT SHEETS*. CANCER FACT SHEETS. Http://gco.iarc.fr/today/home

GLOBOCAN. (2018b). *Cancer today-POPULATION FACT SHEETS*. POPULATION FACT SHEETS. Http://gco.iarc.fr/today/home

Gomar-Vercher, S., Simón-Soro, A., Montiel-Company, J. M., Almerich-Silla, J. M., & Mira, A. (2018). Stimulated and unstimulated saliva samples have significantly different bacterial profiles. *Plos One*, *13*(6), e0198021. Https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198021

Gompel, A. (2019). Hormones et cancers du sein. *La Presse Médicale*, *48*(10), 1085‑1091. Https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.09.021

Greabu, M., Battino, M., Mohora, M., Totan, A., Didilescu, A., Spinu, T., Totan, C., Miricescu, D., & Radulescu, R. (2009). Saliva – a diagnostic window to the body, both in health and in disease. *Journal of Medicine and Life*, *2*(2), 124‑132.

Hauguel, V. (2016). *La salive contient un puissant antibactérien*. Sympatico. Https://www.sympatico.ca/actualites/decouvertes/curiosites/salive-remede-puissant-1.1630326?Fbclid=iwar0c6l7z7xugj3ivzuqjkjn2otw792s49h92pno4jiay-tomptzh8gomvxw

Hazil, Z. (2019). *La Xérostomie chez l'enfant : Principal étiologie et complications*. Faculté de médecine et de pharmacie, université Mohamed V de Rabat, Maroc.

Hugenschmidt, A. (1896). *Étude expérimentale des divers procédés de défense de la cavité buccale contre l'invasion des bactéries pathogènes* (G. Steinheil). G. Steinheil.

Hugo, J. (2014). *Mammographie : Plus de risques que d'avantages ?* Sciences et Avenir. Https://www.sciencesetavenir.fr/sante/mammographie-plus-de-risques-que-d-avantages_19584

Les références

Jinno, H., Murata, T., Sunamura, M., & Sugimoto, M. (2015). Investigation of potential salivary biomarkers for the diagnosis of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*, *33*(28_suppl), 145‑145. Https://doi.org/10.1200/jco.2015.33.28_suppl.145

Keijser, B. J. F., Zaura, E., Huse, S. M., van der Vossen, J. M. B. M., Schuren, F. H. J., Montijn, R. C., ten Cate, J. M., & Crielaard, W. (2008). Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research*, *87*(11), 1016‑1020. Https://doi.org/10.1177/154405910808701104

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2015). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease* (9e éd.). Elsevier. Https://www.us.elsevierhealth.com/robbins-cotran-pathologic-basis-of-disease-9781455726134.html

Laidi, F., Bouziane, A., Errachid, A., & Zaoui, F. (2016). Usefulness of Salivary and Serum Auto-antibodies Against Tumor Biomarkers HER2 and MUC1 in Breast Cancer Screening. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *17*(1), 335‑339. Https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.1.335

Lazarevic, V., Whiteson, K., Hernandez, D., François, P., & Schrenzel, J. (2010). Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genomics*, *11*(1), 523. Https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-523

Le cancer du sein. (2013, janvier 1). Https://www.passeportsante.net/. Https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?Doc=cancer_sein_pm

Les stades du cancer—Cancer du sein. (S. D.). Canadian Breast Cancer Network. Consulté 10 août 2020, à l'adresse https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-sein/Les-stades-du-cancer

Liapi, A., HORISBERGER, A., SPERTINI, F., & RIBI, C. (2016). Syndrome de Sjögren : Quand le suspecter et comment le confirmer ? *Revue Médicale Suisse*. Https://www.revmed.ch/RMS/2016/RMS-N-513/Syndrome-de-Sjoegren-quand-le-suspecter-et-comment-le-confirmer

Lira-Junior, R., Åkerman, S., Klinge, B., Boström, E. A., & Gustafsson, A. (2018). Salivary microbial profiles in relation to age, periodontal, and systemic diseases. *Plos One*, *13*(3), e0189374. Https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189374

Lundmark, A., Hu, Y. O. O., Huss, M., Johannsen, G., Andersson, A. F., & Yucel-Lindberg, T. (2019). Identification of Salivary Microbiota and Its Association With Host Inflammatory Mediators in

Periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *9*, 216. Https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00216

Lynge Pedersen, A. M. (Éd.). (2016). *Oral Infections and General Health*. Springer International Publishing. Https://doi.org/10.1007/978-3-319-25091-5

Marijon, H., Lee, D. H., Ding, L., Sun, H., Gery, S., de Gramont, A., & Koeffler, H. P. (2018). Co-targeting poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) and histone deacetylase (HDAC) in triple-negative breast cancer : Higher synergism in BRCA mutated cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, *99*, 543‑551. Https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.045

Marsh, P. D., Martin, M. V., Williams, D. W., & Lewis, M. A. O. (2009). *Oral microbiology. 5th ed.* Churchill Livingstone. Http://orca.cf.ac.uk/31907/

Maumy, L., Harrissart, G., Dewaele, P., Aljaber, A., Bonneau, C., Rouzier, R., & Eliès, A. (2020). Impact des régimes alimentaires sur la mortalité et le risque de récidive de cancer du sein : Revue de la littérature. *Bulletin du Cancer*, *107*(1), 61‑71. Https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2019.08.009

Medicine Key. (2017). *Mammographie : Le sein normal et ses variantes du normal*. Https://clemedicine.com/4-mammographie-le-sein-normal-et-ses-variantes-du-normal/

Merdes.L. (2009). *PH salivaire en P.A.C : le rationnelle*. Faculté de médecine, département de chirurgie dentaire, Université Badji Mokhtar Annaba.

Namer, M., Luporsi, E., Gligorov, J., Lokiec, F., & Spielmann, M. (2008). The use of deodorants/antiperspirants does not constitute a risk factor for breast cancer. *Bulletin du cancer*, *95*, 871‑880. Https://doi.org/10.1684/bdc.2008.0679

Nasidze, I., Li, J., Quinque, D., Tang, K., & Stoneking, M. (2009). Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Research*, *19*(4), 636‑643. Https://doi.org/10.1101/gr.084616.108

Nkondjock, A., & Ghadirian, P. (2005). Facteurs de risque du cancer du sein. *Médecine/sciences*, *21*(2), 175‑180. Https://doi.org/10.1051/medsci/2005212175

Ozturk, L. K., Emekli-Alturfan, E., Kasikci, E., & Yarat, G. D. And A. (2011). Salivary Total Sialic Acid Levels Increase in Breast Cancer Patients : A Preliminary Study. *Medicinal Chemistry*, *7*(5), 443‑447.

Parida, S., & Sharma, D. (2020). Microbial Alterations and Risk Factors of Breast Cancer : Connections and Mechanistic Insights. *Cells*, *9*(5), 1091. Https://doi.org/10.3390/cells9051091

Les références

Pointillard, V., Ravaud, A., & Palussiere, J. (2010). *Métastases vertébrales. : 2nd Edition* (2ieme ed). Springer Editions.

Porto-Mascarenhas, E. C., Assad, D. X., Chardin, H., Gozal, D., De Luca Canto, G., Acevedo, A. C., & Guerra, E. N. S. (2017). Salivary biomarkers in the diagnosis of breast cancer : A review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *110*, 62‑73. Https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.12.009

Puddu, M., & Tafforeau, J. (2005). *Opportunité de dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49 ans*. 282.

Raynard, B. (2015). Le jeûne thérapeutique en cancérologie : Mode ou réalité ? *Nutrition Clinique et Métabolisme*, *29*(2), 132‑135. Https://doi.org/10.1016/j.nupar.2015.02.004

Salimetrics. (2020a). *Salivary Cytokine Panel for IL-6, IL-1 Beta, TNF-Alpha, & IL-8*. Salimetrics. Https://salimetrics.com/salivary-panel/cytokine-panel/

Salimetrics. (2020b). *Salivary igg*. Salimetrics. Https://salimetrics.com/analyte/salivary-total-igg/

Salimetrics. (2020c). *Salivary igm*. Salimetrics. Https://salimetrics.com/analyte/salivary-igm-total/

Samuel, G. (2018). *LA SALIVE ET SES BIOMARQUEURS IMPLICATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES ET MEDICALES*. 99.

Seror, J.-Y. (2016). *Que faut-il « craindre » de la mammographie ? D'après un entretien avec le Dr Jean-Yves Seror, radiologue*. Http://www.cngof.fr/actualites/529-que-faut-il-craindre-de-la-mammographie-d-apres-un-entretien-avec-le-dr-jean-yves-seror-radiologue

Socransky, S. S., & Haffajee, A. D. (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*, *38*, 135‑187. Https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2005.00107.x

Stades du cancer du sein—Société canadienne du cancer. (S. D.). Www.cancer.ca. Consulté 10 août 2020, à l'adresse https://www.cancer.ca:443/fr-ca/cancer-information/cancer-type/breast/staging/?Region=on

Streckfus, C., & Kulasinghe, A. (2015). *Advances in Salivary Diagnostics*. Https://doi.org/10.1007/978-3-662-45399-5

Sutter, V. L. (1984). Anaerobes as normal oral flora. *Reviews of Infectious Diseases*, *6 Suppl 1*, S62-66. Https://doi.org/10.1093/clinids/6.supplement_1.s62

Tadler, M. (2016). *Lésions du sein de découverte fortuite lors de mammoplasties de réduction : Un échantillon histopathologique de 534 patientes*. Https://doi.org/10.13097/ARCHIVE-OUVERTE/UNIGE:88748

Les références

Torres, P. J., Fletcher, E. M., Gibbons, S. M., Bouvet, M., Doran, K. S., & Kelley, S. T. (2015). Characterization of the salivary microbiome in patients with pancreatic cancer. *Peerj*, *3*, e1373. Https://doi.org/10.7717/peerj.1373

Trebosc Rouch, E. (2015). *Amélioration de l'hygiène buccodentaire par le conseil en officine* [Exercice, Université Toulouse lll - Paul Sabatier]. Http://thesesante.ups-tlse.fr/1070/

Trigui Yahya. (2018, novembre). *Biomarqueurs de la salive et santé générale*. UL - Université de Lorraine. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932178.

Types & sous-types de cancer du sein. (S. D.). Canadian Breast Cancer Network. Consulté 8 août 2020, à l'adresse https://www.cbcn.ca/fr/types-and-subtypes

U.S. Food and Drug Administration. (2020, juillet 13). *U.S. Food and Drug Administration*. FDA ; FDA. Https://www.fda.gov/home

Wade, W. G. (2013). Characterisation of the human oral microbiome. *Journal of Oral Biosciences*, *55*(3), 143‑148. Https://doi.org/10.1016/j.job.2013.06.001

Wang, H., Altemus, J., Niazi, F., Green, H., Calhoun, B. C., Sturgis, C., Grobmyer, S. R., & Eng, C. (2017). Breast tissue, oral and urinary microbiomes in breast cancer. *Oncotarget*, *8*(50), 88122‑88138. Https://doi.org/10.18632/oncotarget.21490

Wang, J., Li, D., Wang, J., & Zhang, Z. (2019). Human oral microbiome characterization and its association with environmental microbiome revealed by the Earth Microbiome Project. *Biorxiv*, 732123. Https://doi.org/10.1101/732123

Wang, X., Kaczor-Urbanowicz, K. E., & Wong, D. T. W. (2017). Salivary biomarkers in cancer detection. *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, *34*(1), 7. Https://doi.org/10.1007/s12032-016-0863-4

Weymuller, V., Caille, A., Diguisto, C., Chas, M., Jourdan, M., Arbion, F., Body, G., & Ouldamer, L. (2019). Influence des facteurs hormonaux sur le pronostic des cancers du sein triple négatifs. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, *47*. Https://doi.org/10.1016/j.gofs.2019.03.006

What is breast cancer ? | *Biron*. (s. D.). Consulté 19 août 2020, à l'adresse https://www.biron.com/en/education-center/neat-little-guide/breast-cancer/

Wood, N., & Streckfus, C. F. (2015). The Expression of Lung Resistance Protein in Saliva : A Novel Prognostic Indicator Protein for Carcinoma of the Breast. *Cancer Investigation*, *33*(10), 510‑515. Https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1081920

Les références

Yamanaka, W., Takeshita, T., Shibata, Y., Matsuo, K., Eshima, N., Yokoyama, T., & Yamashita, Y. (2012). Compositional Stability of a Salivary Bacterial Population against Supragingival Microbiota Shift following Periodontal Therapy. *PLOS ONE*, *7*(8), e42806. Https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042806

Yang, J., Mu, X., Wang, Y., Zhu, D., Zhang, J., Liang, C., Chen, B., Wang, J., Zhao, C., Zuo, Z., Heng, X., Zhang, C., & Zhang, L. (2018). Dysbiosis of the Salivary Microbiome Is Associated With Non-smoking Female Lung Cancer and Correlated With Immunocytochemistry Markers. *Frontiers in Oncology*, *8*. Https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00520

Young, B., O'Dowd, G., & Woodford, P. (2013). *HISTOLOGY -Wheater's Functional Histology_ A Text and Colour Atlas-Churchill Livingstone (2013)* (6e éd.). Churchill Livingstone.

Zemmouri, najib. (S. D.). *Cancer du sein*. Consulté 20 août 2020, à l'adresse http://www.docteurzemmourinajib.ma/Mon_site/Cancer_du_sein.html

Zerhari, Y. (2019). *MICRIOBIOTE INTESTINAL ET CANCER DU SEIN*. Http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/17710

Zhang, W., Luo, J., Dong, X., Zhao, S., Hao, Y., Peng, C., Shi, H., Zhou, Y., Shan, L., Sun, Q., Li, Y., & Zhao, X. (2019). Salivary Microbial Dysbiosis is Associated with Systemic Inflammatory Markers and Predicted Oral Metabolites in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Journal of Cancer*, *10*(7), 1651‑1662. Https://doi.org/10.7150/jca.28077

Annexes

Annexe01 : Appareillages et verreries

Appareillage	**Verreries**	**Autre matériel**
● Incubateur ($28^{\pm 1}$ et 37 °C) ● Etuve ● Bain marie ● Agitateur vortex ● Microscope optique ● Réfrigérateur	● Flacon de prélèvement en plastique ● Ecouvillon ● Boite de pétrie stérile ● Lame et lamelle ● Pipette pasteur stérile ● Tube à essai	● Bandelettes urinaire (paramètre de pH) ● Anse de platine ● Bec bunsen ● Pince en bois ● Portoirs ● Seringue ● Masque chirurgical ● Gants jetable ● Papier film ● Marquer ● Effaceur ● Registre ● Papier filtre

Annexe02 : Réactifs et solutions

Réactifs	Solutions
● Cristal violet/ violet de gentiane ● Lugol ● Fushine ● Le plasma humaine ● Sang humain	● Alcool 90° ● Eau physiologique ● L'huile à immersion

Annexe03 : Préparation des milieux des cultures dans les boites pétrie

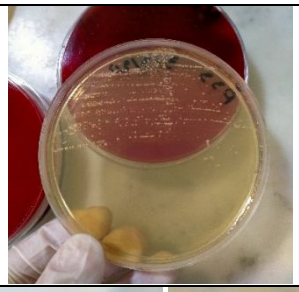
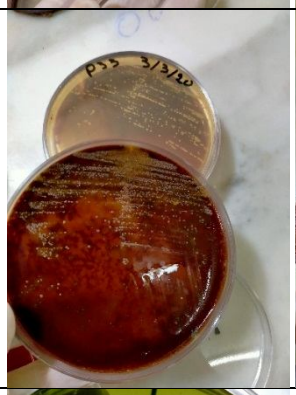


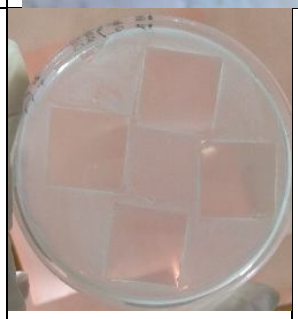
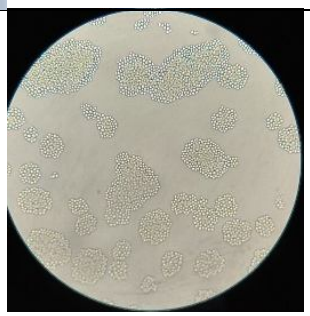
1. Les milieux des cultures utilisés ; 2. La fusion dans un bain marie ; 3 et 4. Remplissage des boites au 2/3 seulement ; 5. Les milieux prêts pour l'ensemencement ; 6. Conservation dans le réfrigérateur.

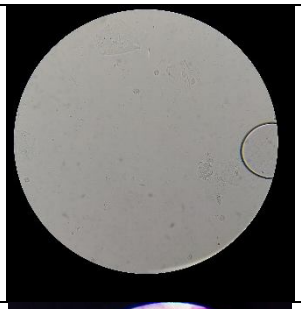
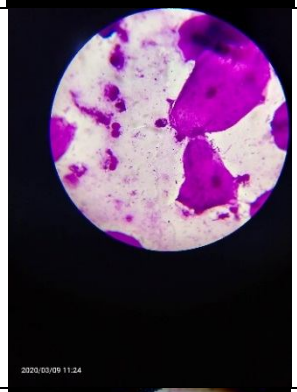
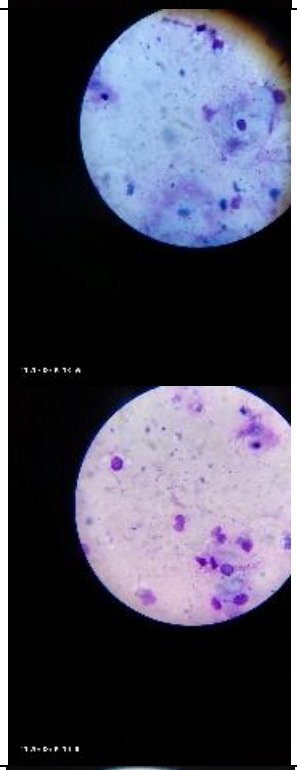
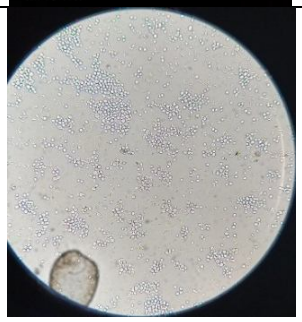
Annexe04 : Exemple d'une fiche de renseignement

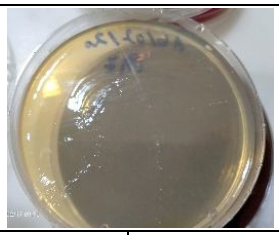
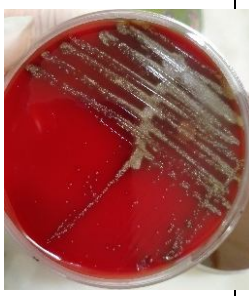
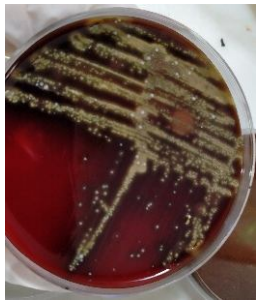
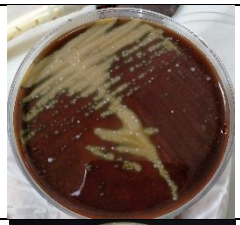
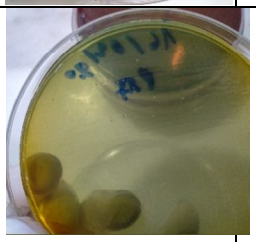
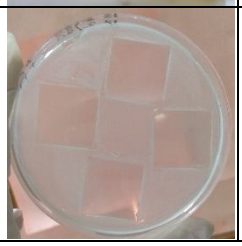
Code	Nom Prénom	Age	pH	№ des séances de chimiothérapie	Stomatite	Antibiotique	Viscosité
P01	≠	44	6	5	non	non	visqueuse
P02	≠	52	6,8	3	non	non	très visqueuse
P03	≠	55	6	4	non	non	visqueuse
P04	≠	40	6,5	4	non	non	très visqueuse
P05	≠	47	6	5	non	non	visqueuse
P06	≠	50	7	2	oui	oui	aqueuse
P07	≠	51	6	2	non	oui	aqueuse
P08	≠	37	6,8	2	non	non	aqueuse
P09	≠	47	7	3	non	non	visqueuse
P10	≠	51	6,5	4	non	non	très visqueuse
P11	≠	52	6	vaccin	non	non	aqueuse
P12	≠	62	8	vaccin	non	non	visqueuse
P13	≠	43	7	vaccin	non	non	visqueuse

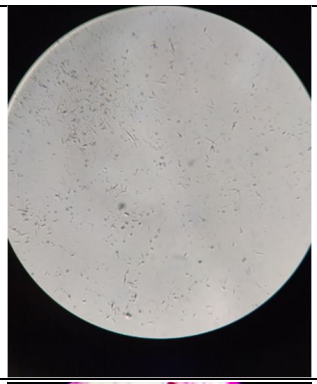
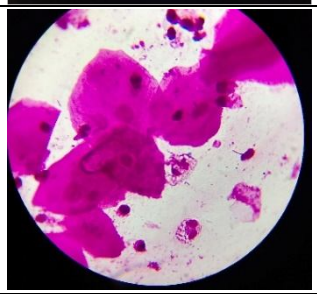
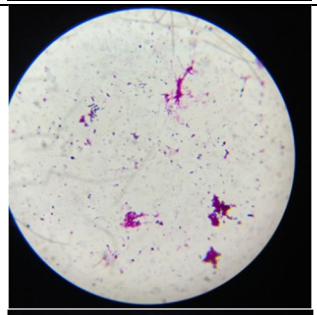
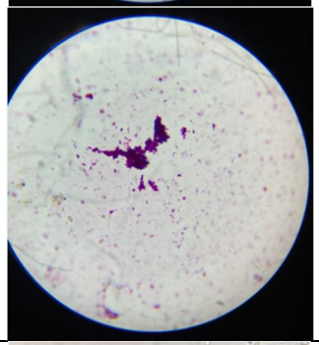
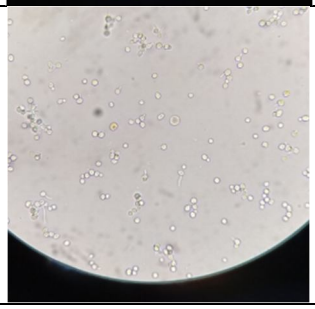
Annexe05 : Identification macro et microscopique des boites pétri des patientes et contrôles.

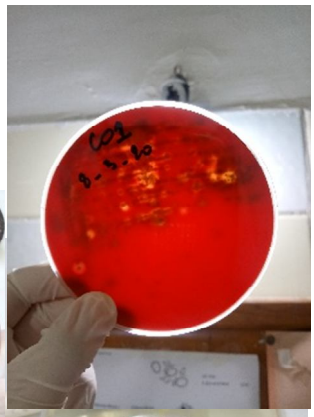
Milieu	Jour 01	Jour 02	Observation macroscopique
Patient № 33	état : aqueuse		pH=07
Gélose Nutritif			-colonies moyennes blanchâtres abondantes -colonies fines blanchâtres
Gélose au Sang Frais			-des béta-hémolytiques. -microcoques « ils sont superposé »
Gélose au Sang Cuite			-riche en microcoques. -des colonies difficiles à déterminées.
Gélose Hektoene			Culture négative

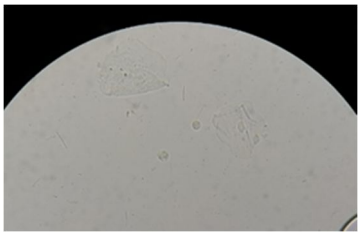
Gélose Chapman			Culture négative
Gélose Sabouraud Chloramphénicol			Culture positive apparition des colonies blanc crémeuses
Rice Cream			*Candida sp*

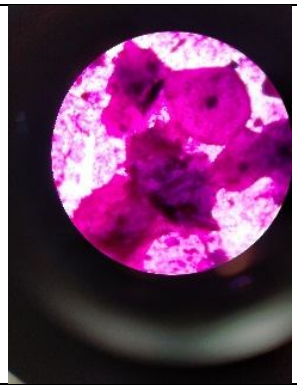
Examen		Observation microscopique	Remarque
Etat frais	Bactériologie		-présence des germes. - quelque cellule épithéliale.
	Mycologie		-quelque levure.
Coloration de gram	De la salive		- Bacillus abondantes. -cocci. -cellules épithéliales bourrée par des streptocoques. -cellules rond =noyaux nu.
Coloration de MGG			-Mal colorée. -Noyaux nu. -lymphocyte/polynucléaires. -cellules épithéliales. binucléaires=inflammation. -PNN altérées sans membrane abondante.
Blastèse Test			Absence de tube germinative, *Candida sp*

Milieux	Jour 01	Jour 02	Observation macroscopique
Patient № 17		état : très visqueuse	pH= 5
Gélose Nutritif			-Clonies moyennes blanchâtres. -Colonies très fines.
Gélose au Sang Frais			-Colonies fines β-hémolytiques. - Colonies moyennes blanchâtres alpha hémolytiques. - Colonies très fines beiges abondantes alpha hémolytiques. - Colonies blanchâtres bombées, moyennement hémolytique (alpha). -Levure
Gélose au Sang Cuite			-Colonies moyennes blanchâtres. -Colonies très fines beiges.
Gélose Hektoene			-Levure
Gélose Chapman	Négatif	Négatif	
Gélose Sabouraud Chloramph énicol			-Presque 25 colonies.
Milieu Rice Cream			

Examen		Observation microscopique	Remarque
Etat frais	Bactériologie		-Cocci.
	Mycologie		-Examen négative.
Coloration de gram	De la salive		- Quelque cellule épithéliale bourrée. -Levures. -globules blanc. -Germes rares. -Cocci * On trouve des globules blancs car la salive contient du crachat.
	Des colonies	 	1-à partir des colonies blanchâtres bombées, moyennement hémolytique (alpha) : -*Bacillus*. 2- à partir des colonies très fines beiges abondantes alpha hémolytiques : -Cocci gram + très fines
Blastèse Test			La présence des tubes germinative, *Candida albicans*

MILIEUS	JOUR 01	JOUR 02	OBSERVATION MACROSCOPIQUE
CONTROL NEGATIF N° 01 état : aqueuse			pH= 7
GELOSE Nutritif			-Colonies très fines. -Colonies moyennes jaunâtres abondantes
Gélose au Sang Frais		 	1-Micocoques rugueuses jaunâtres. 2-Colonies béta hémolytiques. 3-Colonies blanchâtres très fines, laiteuses, sans hémolyse. 4-Colonies fines, fortement alpha hémolytiques. 5-Colonies petites grisâtres moyennement alpha hémolytiques : on fait un réisolement. 6-Colonies fines grisâtres sans hémolyse : on fait un réisolement.
Gélose Au sang cuite			-Microcoques. -Colonies très fines. -Colonies moyennes crémeuses.
GELOSE SABOURAUD CHLORAM-PHENICOL	Négatif	Négatif	

<table>
<tr><th colspan="2">EXAMEN</th><th>OBSERVATION MICROSCOPIQUE</th><th>REMARQUES</th></tr>
<tr><td rowspan="2">Etat frais</td><td>bactériologie</td><td rowspan="2"></td><td>- Quelque cellule épithéliale.

- Des Rares germes.</td></tr>
<tr><td>Mycologie</td><td>Rien à signalée.</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Coloration de gram</td><td>De la salive</td><td></td><td>-Cellules épithéliales bourrée par des germes.

-Globules blancs.

-Cocci G+ dominant.

-Lactobacilles très rares.</td></tr>
<tr><td>Des colonies</td><td>On n’a pas pu pris des photos à cause de l’arrêt de stage</td><td>1-Cocci G+ de différents diamètres en diplocoque et en tétrades : elles sont des microcoques.

2-Petites diplocoques, petites chainettes de G+.

3-Bacillus des différentes formes.

4-Cocci G+, petites, isolées, diplocoques.

5-Elles prennent de mal la coloration, donc on fait un réisolement.

6-Cocci G+, diplocoques. On fait un réisolement.</td></tr>
<tr><td colspan="2">Coloration MGG</td><td></td><td>-Débris alimentaires.

-Noyaux nu.

-Cellules épithéliales bourrées.

-Cocci G+ dominant.

-Lactobacilles très rares</td></tr>
</table>

Annexe06 : Cellule épithéliale non bourrée par les germes à partir la coloration de MGG sous microscope optique x100.

