

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie
Filière: Sciences Agronomiques
Spécialité: Production et Technologies Laitières
Département : Ecologie et Génie de l'Environnement

Thème : Effet d'un migrant d'emballage alimentaire « Di (2-ethylhexyl) phthalate » sur quelques paramètres de la croissance et l'hémogramme des souris

Présenté par :

BENMAAMAR Warda

FETNACI Imane

Devant le jury composé de :

Président: Mr. BOUSBIA A. M.C.B. Université de Guelma.

Encadreur: Mr. MEZROUA E. M.A.A. Université de Guelma.

Examineur: Mr. BOUDALIA S. M.C.B. Université de Guelma.

Juin 2016

Remerciements

*Avant tout, nous remercions **Dieu** de nous avoir donné le courage, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.*

Nous tenons à remercier tous les membres du jury, qui nous avons fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail, et d'avoir lu avec beaucoup d'intérêt, et de rigueur.

*Nous tenons à remercier notre encadreur, monsieur **MEZROUA El yamine** de nous avoir accordé sa confiance, ses encouragements, son aide et ses conseils judicieux, durant la réalisation du travail.*

Nous tenons à remercier également :

*Monsieur **BOUSBIA Aïssam** , pour avoir accepté de nous honorer par sa présence comme président du jury.*

*Monsieur **BOUDALIA Sofiane**, d'avoir accepté d'être l'examineur de ce travail, et pour ses aides précieux au moment des sacrifices, pour sa gentillesse et sympathie.*

*Nous tenons à remercier nos collègues au laboratoire **SOUMIA** et **FAYZA**, pour ses accompagnements tous le temps du travail.*

*Nous tenons à remercier Madame **GHANIA** et **RATIBA**, pour ses aides, et ses conseils au laboratoire.*

*Un grand merci, pour les enseignants, qui ont contribué de manière directe ou indirecte à l'enrichissement de ce travail surtout **M^{elle} REGGAM Assma**.*

*Merci à **M^{elle} DWAKHA Mariem**, **M^{elle} SABER Assia**, et les autres collègues.*

Mercie à tous les membres de nos familles, pour leur soutien, durant toute la période du travail.

Et enfin, merci à toutes les personnes, qui ont contribué de près, et de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail:

La reine de l'amour, A la source de la tendresse et d'espoir, mon

guide dans la vie ma mère ZOUHRA.

*A mon père, MESSAOUD qui m'a appris que la patience du
Succès.*

A mes sœurs, RANIA et RAHMA.

A mes oncles ET mes tantes.

A ma grande mère.

Mes nièces, la joie de la maison: KOSAY et YOUNESS.

A toutes mes collègues de l'université.

A tous Mes amis.

Les personnes qui m'ont encouragé et m'ont aidé.

A toute qui connaît WARDA.

Dédicace

*C'est avec toute l'ardeur de mes sentiments que
je dédie ce modeste travail qui est le fruit de ma profonde
reconnaissance à :*

*Mon cher papa et ma très chère Maman
Maman, tu es la seule qui comprends ma vie : je te demande pardon et
encore une fois Merci.*

Mes frères et mes sœurs (HASSINA et FADILA).

Mes petites nièces : ASHWAKE, SOUMIA, RAHAF et AMANI.

La famille LOUCIF, surtout tante SOURIA, AMINA et AMINE.

Mes très chères amies : MOUNA, SAFA et RADIA.

Ma collègue WARDA.

Mes enseignants et mes amies de l'étude.

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

IMANE

Unités de mesures :

- °c** : degre celsius
- fl**: femto litre
- g** : gramme
- g/dl** : gramme par decilitre

- g/kg** : gramme par kilogramme
- kg** : kilogramme
- mg/dm²** : milligramme par decimetre carre

- mg/kg** : milligramme par kilogramme
- ml** : millilitre
- nm** : nanometre
- µg** : microgramme
- µg/kg/inj** : microgramme par kilogramme par injection
- µg/kg/j** : microgramme par kilogramme par jour
- µl** : microlitre
- pg** : pictogramme
- %** : pourcentage

Acronymes

- agd** : *an genital distance (distance ano-genitale)*
- bbp** : phtalate de benzyle et de butyle
- ca** : calcium
- cd** : *compact disk*
- dbp** : phtalate de dibutyle
- ddt** : dichloro diphenyl trichloroethane
- dehp** : phtalate de di-2-ethylhexyle
- dep** : phtalate de diethyle
- dinp** : phtalate de di- isononyle
- djt** : dose journaliere tolerable
- edta** : acide ethylene-diamino-tetraacetique
- eh** : 2-ethylhexanol
- eha** : acide 2-ethylhexanoïque
- epdm** : ethylene propylene diene monomere
- fns** : formule de numeration sanguine
- hiapp** : polypeptide amyloïde d'ilots humain
- hgb** : hemoglobuline
- gr** : globule rouge
- lmg** : limite de migration globale
- lms** : limites de migration specifique
- lpde** : polyetyelene basse densite
- ly** : *lymphocyte*
- mbp** : *monobutyl phthalate*
- mehp** : *mono-2 ethylexyl phthalate*
- mep** : *monoethyl phthalate*

- opp** : polypropylène orienté
- pe** : polyéthylène
- pehd** : polyéthylène haute densité
- pet** : polyéthylène téréphtalate
- ph** : potentiel d'hydrogène
- plt** : plaquettes
- pp** : polypropylène
- ps** : polystyrène
- pvc** : chlorure de polyvinyle
- qm** : quantité maximale
- qma** : quantité maximale par unité
- r** : restriction
- sem** : erreur type de la moyenne
- wbc** : cellule blanche du sang

Liste des figures

Figure :		Page :
1	Interactions physico-chimiques entre aliment/matériau/environnement (Severin et <i>al.</i> , 2011).	9
2	Structure chimique de base des phtalates (Marques, 2015).	9
3	Structure chimique de la molécule de Bisphénol A (Vogel, 2009).	12
4	Injection des souris par une dose de DEHP.	19
5	Mesure de distance ano-génitale (DAG) des souris.	19
6	Sacrifice et prélèvement du sang des souris	20
7	Dissection et prélèvement des organes.	20
8	chromatogramme de DEHP	22
9	Effets d'une exposition au DEHP (<i>via injection</i>) sur l'évolution du poids corporel.	23
10	Effets d'une exposition au DEHP (<i>via injection</i>) sur la distance ano-génitale	24
11	poids relatifs des organes (g/100 g PC) au moment des sacrifices	25
12	Effets d'une exposition au DEHP sur les paramètres sanguins	27

Liste des tableaux

Tableau :		Page :
1	Instruments et appareillage d'analyse et d'expérimentation	18

Liste des annexes

Annexe 1	<i>le poids corporel chez les males</i>
Annexe 2	<i>Le Poids corporel des femelles avant l'injection</i>
Annexe 3	<i>Les poids des femelles le 1^{er} jour d'injection</i>
Annexe 4	<i>Les poids des femelles le 2^{ème} jour d'injection</i>
Annexe 5	<i>Les poids des femelles le 3^{ème} jours d'injection</i>
Annexe 6	<i>Les poids des femelles le 4^{ème} jours d'injection</i>
Annexe 7	<i>Analyse FNS</i>
Annexe 8	<i>Poids des organes chez les deux groupes</i>

3.3.1.1. Utilisation.....	10
3.3.1.2. Métabolisme.....	10
3.3.1.3. Voies d'exposition.....	11
3.3.2. Bisphénol A.....	12
3.3.2.1. Utilisation.....	12
3.3.2.2. Métabolisme.....	12
3.3.2.3. Voie d'exposition.....	13
4. EFFET DES MIGRANTS D'EMBALLAGE SUR LA SANTE.....	14
4.1. Bisphénol A (BPA).....	14
4.1.1. Implication du bisphénol A dans l'obésité et le diabète de type 2.....	14
4.1.2. Mécanismes impliqués.....	15
4.1.3. Transmission du BPA de la mère au fœtus.....	15
4.2. Phtalates.....	15
4.2.1. Chez l'homme.....	15
4.2.2. Chez la femme.....	16
MATERIEL ET METHODES	17
1. ANIMAUX ET HEBERGEMENT.....	17
1.1. Origine et conditions d'hébergement.....	17
1.2. Nature des cages et des biberons.....	17
2. MATERIEL D'ETUDE.....	17
2.1. Réactifs chimiques.....	17
2.2. Matériel de mesures.....	17
2.2.1. Balance technique.....	17
2.2.2. Balance de précision.....	17
3. EXPERIMENTATIONS ANIMALES.....	18
3.1. Injection continue au DEHP chez les souris.....	18
3.2. Etude de développement.....	19
3.3. Expression des résultats.....	19
3.4. Sacrifice et prélèvement du sang.....	20
3.5. Dissection et pesage des organes internes.....	20
3.6. Analyses biologiques (FNS).....	21
4. ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES.....	21
RESULTAT ET DISCUSSION	22

L'extension du secteur de distribution nécessite la conservation, et le transport à grande échelle des aliments, mais elle pose un problème de la sécurité alimentaire. En effet, une des sources de pollution des aliments peut être la qualité de leur emballage.

De plus en plus, le plastique est utilisé comme un matériau de conditionnement à la place de verre, dont la transformation ne nécessite pas de technologie complexe, et de lourds investissements, il est devenu un des matériaux les plus utilisés, pour les emballages des produits alimentaires. Depuis l'essor de l'industrie du plastique, des milliers de substances chimiques sont utilisées, pour la fabrication des plastiques alimentaires, qui sont directement en contact avec les aliments (Kouame, 2004).

Des composés chimiques, tels que le bisphénol-A (BPA), les phtalates ou encore le styrène sont utilisés, pour les diverses propriétés, qu'ils confèrent aux plastiques (résistance, élasticité, flexibilité...), ils sont largement présents dans les emballages, et peuvent contaminer les aliments. En effet, il a été montré, qu'une migration de ces composés de l'emballage vers la nourriture est possible, lors de certaines conditions (augmentation de la température, contact avec la matière grasse des aliments, temps de chauffage...). L'exposition des populations à ces produits chimiques est un phénomène très répandu puisque des études ont montré, que ces produits, ainsi que leurs métabolites, sont fréquemment détectés dans l'urine de l'ensemble de la population (Calafat, 2008).

Les effets toxiques de ces substances chimiques sur la santé humaine sont de plus en plus étudiés, et ils sont au cœur d'une préoccupation sanitaire mondiale. Des études ont montré, que certains de ces composés sont des perturbateurs endocriniens modifiant le fonctionnement naturel du système endocrinien humain.

Il semblerait donc, que les plastiques alimentaires puissent être réellement dommageables, pour la santé de l'homme. Le BPA a une activité œstrogène agoniste, et androgène antagoniste, tandis que certains phtalates ont un comportement anti-androgénique. De même, d'autres études se sont intéressées à la cancérogénicité de ces produits, il a été montré, qu'une exposition au BPA pouvait augmenter les risques de cancers, en particulier chez les individus à risques (Goodson III WH, 2011).

En ce qui concerne le styrène ou les phtalates, tels que le phtalate de di-2-éthylhexyle (DEHP), la mise en évidence des effets carcinogènes sur les animaux a amené les scientifiques à désigner ces produits comme étant cancérogènes (Boccellino, 2003).

A ce propos, notre travail a pour objectif d'étudier l'effet d'un migrant d'emballage (DEHP) sur l'hémogramme, et quelques paramètres du développement des souris, tels que le poids corporel, le poids relatif des organes internes, et la distance ano-génitale. Ce travail est organisé en trois parties : synthèse bibliographique, matériel et méthodes, et enfin résultats et discussion.

Synthèse bibliographique

1. EMBALLAGE ALIMENTAIRE

1.1. Définition

L'emballage est l'ensemble des éléments vendus avec le produit, pour assurer sa présentation, sa conservation, ou son transport. Il peut être assuré par le fabricant du produit, ou être fourni sur le lieu de vente, par le distributeur au moment de la vente, pour des produits vendus en vrac, ou à la découpe (Bathelot, 2015).

1.2. Matériaux d'emballage alimentaire

Il existe une grande variété de matériaux d'emballage, offrant des possibilités d'utilisation très diversifiées. Avant de se lancer dans le conditionnement d'un produit, le fabricant doit prendre en compte les propriétés, et caractéristiques de chaque matériau d'emballage, et connaître ses atouts, et limites par rapport à son produit (Gontard, 1999).

1.2.1. Verre

Le verre a été utilisé, pour l'emballage des aliments pendant une longue période. Un grand nombre de récipients en verre sont actuellement fabriqués, pour l'emballage scellé, puisqu'ils présentent plusieurs avantages, pour la conservation des aliments. La production de récipients en verre consiste à chauffer un mélange de silice, le carbonate de sodium et de calcaire, ou de carbonate de calcium, et d'alumine à des températures élevées, jusqu'à ce que les matières se fondent en une masse liquide épaisse, qui est ensuite transférée dans des moules. Le bris de verre recyclé est également utilisé dans la fabrication du verre, et peut représenter jusqu'à 60% des matières premières utilisées.

Par ailleurs, le verre possède de très bonnes propriétés de barrière, de sorte qu'il maintient la fraîcheur du produit pendant une longue période de temps, sans altérer le goût, ou la saveur. Les principales limites sont la ration de masse volumique, et le fait qu'il est fragile et non dégradable, elle est surtout utilisée, pour la production de bouteilles, et bocaux (Jasim et Shafuim, 2012).

1.2.2. Fer blanc

Le fer blanc a été d'abord utilisé comme un matériau d'emballage alimentaire, au début du 19^{ème} siècle. L'utilisation généralisée des conteneurs métalliques dans l'emballage de tous les types de produits est une conséquence de leur grande polyvalence, et d'excellentes propriétés: la résistance mécanique, la formabilité, le poids léger, l'herméticité, l'imperméabilité au gaz, et l'opacité, etc. Ces propriétés, ainsi que l'innovation constante, et l'évolution technologique ont étendu l'application de matériaux métalliques à tous les produits alimentaires, bien qu'ils soient les mieux adaptés, pour l'emballage des conserves, jus de fruits et les boissons gazeuses (Catala et Gavara, 2000).

1.2.3. Bois

Le bois est utilisé dans l'industrie de l'emballage principalement en papier, et en produits connexes. Certains bois sont utilisés, pour la fabrication des caisses et des palettes, ainsi que la fabrication de conteneurs d'expédition en vrac réutilisable. En raison de, l'augmentation des coûts financiers, de l'impact environnemental de la récolte, et de la transformation du bois, le marché des fibres de papier recyclé est devenu assez lucratif, que les usines de papier (Scott et Morris, 2011).

1.2.4. Plastique

1.2.4.1. Origine du plastique

Historiquement, le premier plastique crée, en 1873 le « celluloid » avait un objectif écologique, dans le sens où il se substituait à l'ivoire et limitait ainsi la chasse aux éléphants. La rareté de la nacre devenue très coûteuse a incité les artisans de la région d'Oyonnax, en France, à la remplacer dans la plasturgie. C'est l'origine de la spécialisation dans la plasturgie, dans ce qu'on a appelé depuis le plastic Valley. À partir de cette époque, de nouveaux matériaux polymères ont été créés: le PVC, les polypropylènes (PP), les polyéthylènes (PE), etc. Il s'agit bien des matières nouvelles, en les comparant aux matériaux traditionnels (le bois, le verre,...) (Silguy, 2009).

1.2.4.2. Caractéristiques de l'emballage en plastique

Les plastiques de contact alimentaire sont fabriqués, pour protéger l'aliment empaqueté contre la corruption chimique, et microbiologique. Ils ne devraient pas contaminer la nourriture, ou affecter défavorablement sa propriété organoleptique. Les plastiques de l'emballage alimentaire sont des polymères avec des additifs, pour améliorer les propriétés techniques des plastiques finis. Des adjuvants de traitement sont souvent utilisés, pour faciliter la fabrication des polymères. La sécurité de monomères, et des additifs est évaluée et basée sur leur mesure de migration du plastique fini dans la nourriture, et leurs propriétés toxicologiques (Knight et Creighton, 2004).

Des propriétés souhaitables de matières plastiques, telles que la ténacité, la légèreté et la liberté de conception, qu'elles offrent, font un choix naturel, pour les matériaux d'emballage rigides et flexibles. La flexibilité peut être l'un des grands avantages de matières plastiques dans de nombreux conteneurs (Francis, 2002).

Le plastique fait partie de l'industrie de la chimie organique. Ses éléments chimiques de base, sont issus de diverses sources comme le pétrole, le charbon, le bois, le coton, les corps gras, et le sable. Ils se retrouvent, aussi bien dans la confection de produits

pharmaceutiques, peintures, vernis, adhésifs, textiles, que dans les matières plastiques (Marais, 2005).

1.2.4.3. Familles des polymères du plastique

➤ **Polymères thermodurcissables**

Ils sont amorphes et formés par un réseau tridimensionnel de macromolécules. Le taux de réticulation est de 10 à 100 fois plus élevé, que dans les élastomères. Ils sont rigides grâce à leur taux de réticulation élevé. La mise en œuvre de ces polymères est souvent lente à cause du temps nécessaire à la réaction de polymérisation (Combette et Ernoult, 2005).

➤ **Polymères thermoplastiques**

Un thermoplastique comporte une structure linéaire de monomères liés par des liaisons du type Van der Waal, dipôle-dipôle, ou encore hydrogène. Lorsque, la température augmente, la force des liaisons cause une baisse de la rigidité, pour atteindre un comportement proche, de celui d'un fluide au-dessus d'une certaine température. Cette caractéristique est d'une importance capitale dans la phase de mise en œuvre, puisque la réversibilité de la polymérisation des thermoplastiques permet de chauffer, et refroidir plusieurs fois, lors du moulage des pièces.

➤ **Elastomères**

Ils sont constitués de longues chaînes repliées sur elles-mêmes au repos, ces chaînes glissent les unes par rapport aux autres, sous l'effet d'une contrainte. Généralement, ces chaînes sont vulcanisées, le silicone, le caoutchouc, ou encore l'EPDM (éthylène-propylène-diène monomère) fait partie des élastomères les plus connus (Paris, 2011).

1.2.4.4. Additifs du plastique

Les additifs sont des matières ajoutées à un polymère, pour modifier ses propriétés ou ses caractéristiques. Il existe une grande variété d'additifs, pour une multitude de fonctions: développer, ou étendre les propriétés des thermoplastiques, améliorer leur transformation, modifier, leur aspect, ou augmenter leur résistance à l'environnement extérieur. Deux principales classes d'additifs sont à prendre en compte: les stabilisants, et les adjuvants technologiques (Zaki, 2008).

➤ **Stabilisants**

Ces additifs permettent de conserver les propriétés physico-chimiques des polymères, au cours du temps en réagissant à la place du polymère. Ils s'opposent au vieillissement, c'est à-dire inhibent, ou retardent le processus responsable des altérations de la structure pendant la mise en œuvre, ou l'utilisation des matériaux. On distingue deux principaux types de stabilisants :

- ✓ **Les antioxydants:** qui permettent de protéger les polymères contre l'oxydation.
- ✓ **Les anti-lumières:** qui absorbent la lumière à la place du polymère, en empêchant la création des radicaux libres, sur les chaînes macromoléculaires.

➤ **Adjuvants technologiques**

Les adjuvants technologiques permettent de modifier les propriétés physiques et/ou chimiques des polymères. Il en existe une grande diversité, que l'on peut classer par leur mode d'action :

- **Les modificateurs des propriétés mécaniques:** qui rendent le polymère plus résistant aux sollicitations mécaniques (charges, renforts, antichoc,.. etc.).
- **Les additifs de mise en œuvre:** (plastifiants, stabilisants, agents de réticulation... etc).
- **Les modificateurs des propriétés de la surface du polymère:** (antistatique, lubrifiants,.. etc.) (Zaki, 2008).

2. INTERACTIONS ENTRE L'EMBALLAGE ET L'ALIMENT

Les monomères du matériau de base, où les additifs incorporés au plastique peuvent se transférer dans l'aliment, avec des conséquences sur les plans organoleptique, ou toxicologique. Ce phénomène de migration dépend de la composition de l'emballage (nature, volatilité, concentration des molécules), mais également de celle de l'aliment, puisque la migration est fonction des affinités entre le migrant, et le produit emballé. La plupart des monomères, et des adjuvants étant lipophiles, la migration est généralement plus importante dans un milieu gras, que dans un milieu aqueux. Certains constituants de l'aliment, susceptibles de passer dans l'emballage, et d'en modifier la structure, peuvent aussi activer la migration de composés du plastique. En général, la migration augmente avec la durée, et la température de stockage (Feigenbaum, 1998).

3. MIGRATION DES MOLECULES D'EMBALLAGE

3.1. Définition

La migration peut se définir, comme le transfert de matières d'une source externe vers l'aliment. En général, ce transfert de matières peut se produire pendant la production, le transport, le stockage, la cuisson, ou même pendant la consommation de l'aliment (Bach, 2012). La migration de substances issues des matériaux d'emballage, dans les denrées alimentaires est caractérisée par la diffusion, qui est le transfert de masse, en raison du mouvement aléatoire des molécules, de la région de forte concentration, vers la région de faible concentration (Cai, 2013).

La législation sur les matériaux plastiques prévoit deux types de restriction, pour les substances autorisées:

(i) **La migration globale:** qui donne des informations sur la masse de l'ensemble des substances, qui migrent, quelle que soit leur nature. Cette mesure représente un critère d'inertie, et elle est indépendante de la toxicité du migrant.

(ii) **La migration spécifique:** qui est la quantité acceptable d'un constituant connu et bien identifié, qui migre de l'emballage vers l'aliment (Chagnon, 2010).

3.2. Facteurs influençant la migration

Il existe des facteurs internes, et des facteurs externes, qui ont un effet direct sur la diffusivité des molécules présentes dans l'emballage. Les facteurs internes font référence à des propriétés inhérentes des molécules diffusantes, et aux matériaux, tels que la nature chimique des substances (monomères, additifs) présentes dans les matières plastiques, ainsi que l'état structural, et la morphologie du polymère.

Le contact avec l'aliment (composition et propriétés chimiques), et les conditions d'exposition, ou d'usage du matériau sont des facteurs externes influençant la diffusivité.

3.2.1. Nature des constituants du polymère

Toutes les substances entrant dans la composition (monomères, catalyseurs, additifs, etc.) des matières plastiques sont susceptibles de migrer. Les additifs (stabilisants et adjuvants technologiques) utilisés, pour donner des propriétés spécifiques au produit final, ne sont pas liés à la chaîne polymérique, par des liaisons fortes, et leur risque de migration est plus élevé. De plus, des substances ajoutées involontairement dans les matières plastiques, non listées dans le règlement N°10/2011, telles que des impuretés des monomères, des produits de dégradation des additifs, et des polluants du PET recyclé, peuvent être aussi présentes, dans le polymère. Ces composés sont aussi des éventuels migrants, et beaucoup d'entre eux restent encore à identifier (Severin *et al.*, 2011). La nature des migrants potentiels est un des paramètres à prendre en compte, pour prédire la diffusion de ces molécules. Feigenbaum *et al.* (1993) ont rapporté, que le poids moléculaire, et la structure chimique des migrants sont deux paramètres, qui ont une influence directe sur le coefficient de diffusion. Naturellement, le coefficient de diffusion diminue si la masse moléculaire augmente.

3.2.2. Conditions du contact et de conservation

La migration augmente avec la durée, et la température de stockage. Elle est aussi fonction de la surface, et de l'épaisseur du matériau au contact de l'aliment.

3.2.3. Nature de l'aliment emballé

Il existe des phénomènes d'affinité entre le migrant, et le produit emballé, comme la plupart des monomères, et des adjuvants sont lipophiles, le migrant migrera mieux dans un milieu gras, que dans un milieu aqueux.

3.2.4. Nature du matériau d'emballage

Certains additifs ont plus ou moins d'affinité, pour le milieu de contact. Prenons l'exemple du polystyrène: pour améliorer sa souplesse, les fabricants lui ajoutent généralement des huiles minérales (hydrocarbures d'origine minérale). Plus la concentration d'huile augmente, plus la migration est importante.

3.2.5. Limites de migration globale (LMG)

La migration globale est le premier critère, pour évaluer l'inertie de l'emballage alimentaire. Elle est définie comme la masse totale cédée, par l'emballage à l'aliment à son contact. La LMG est fixée à 60 mg/kg d'aliments, ou 10 mg/dm² de matériau, pour des contenants de taille moyenne, et elle est indépendante de la toxicité des migrants.

3.2.6. Limites de migration spécifique (LMS)

La migration spécifique est la masse totale d'un constituant connu, et bien identifié, qui migre de l'emballage vers l'aliment. La LMS est basée, sur des critères toxicologiques, et peut s'exprimer en mg de migrant / kg d'aliments, ou bien en mg de migrant /dm² de matériau.

3.2.7. Concentration maximale dans le matériau d'emballage (QM)

C'est la quantité maximale autorisée de substance (dose maximale d'emploi) dans le matériau, pour laquelle on ne tolère aucune migration détectable dans l'aliment. Cette restriction est employée, pour des substances avec des doses tolérables très basses. C'est le résultat d'une combinaison entre des impératifs sanitaires, des critères toxicologiques, et des limites analytiques.

3.2.8. Concentration maximale par unité d'emballage (QMA)

Cette restriction est la quantité maximale par unité d'aire d'emballage, employée lorsque la migration est inférieure à 0,05 mg/kg. C'est le cas des substances employées en très faibles quantités, dont la migration est faible, et lorsque la migration totale reste acceptable. (Benslimane, 2014).

3.2.9. Restriction (R)

C'est une restriction de la migration, pour les substances, dont la migration est très faible, et dont le dossier est acceptable sur la base d'un dossier toxicologique restreint, sans connaissance de la dose journalière tolérable (DJT) (Figure 1).

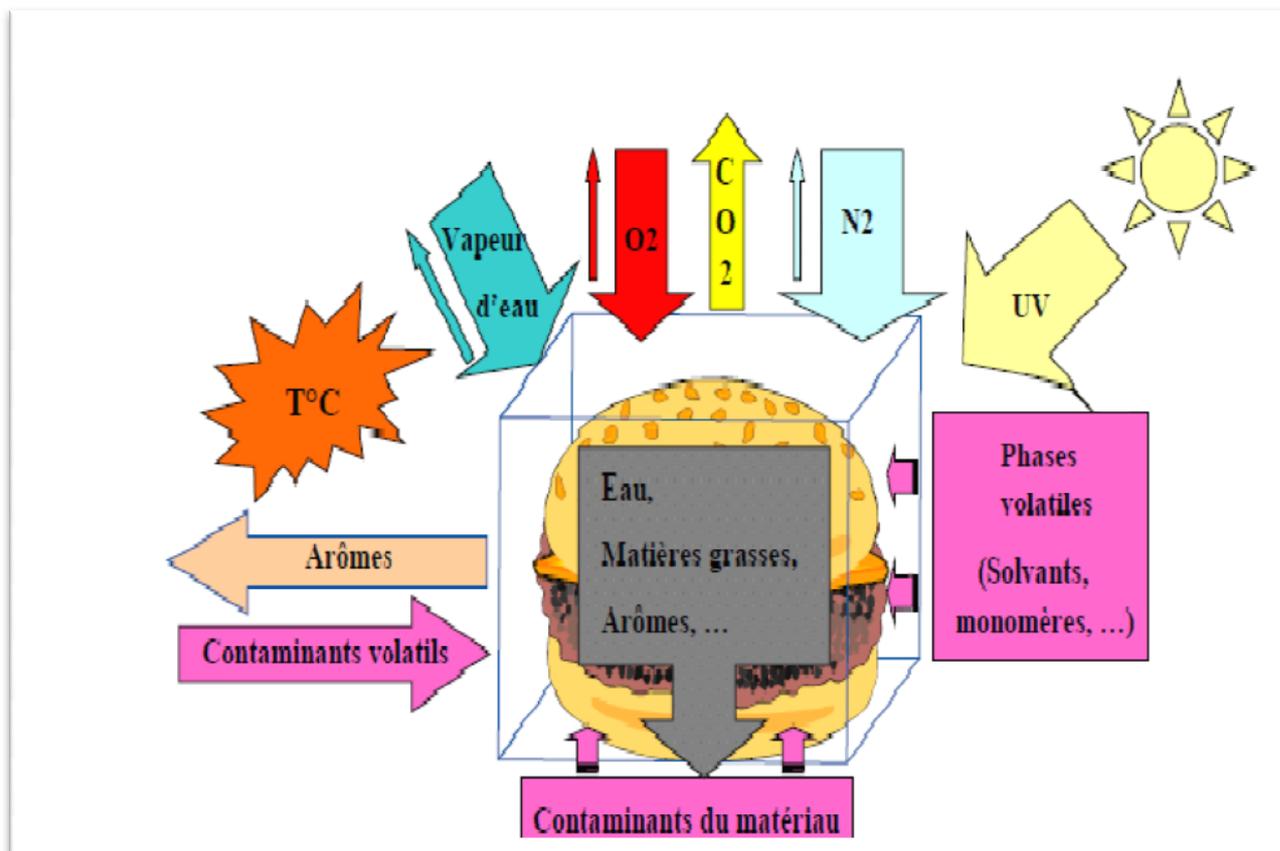


Figure 1: Interactions physico-chimiques entre aliment/matériau/environnement (Severin et al, 2011).

3.3. Migrants d'emballag

3.3.1. Phtalates

Les phtalates, ou esters phtaliques constituent une large famille de produits chimiques obtenus, par estérification d'un acide phtalique, avec un, ou plusieurs alcools. Ils sont caractérisés, par une structure chimique incluant un cycle benzénique substitué en ortho par deux groupements carboxylates, dont la taille des chaînes alkyles est variable (Figure 2). (Marques, 2015).

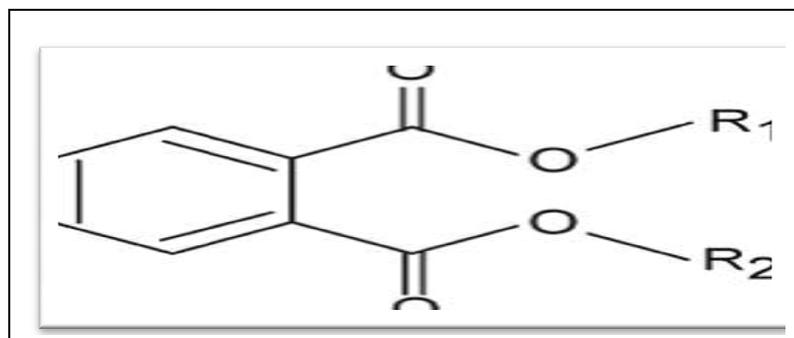


Figure 2: Structure chimique de base des phtalates (Marques, 2015).

3.3.1.1. Utilisation

Les phtalates, les plus couramment utilisées, sont le BBP (phtalate de benzylbutyle), le DBP (phtalate de dibutyle), le DEP (phtalate de diéthyle), le DEHP (phtalate de di-2-éthylhexyle), et le DINP (phtalate de di-isononyl). On retrouve des phtalates dans plusieurs produits de consommation courante, tels les adhésifs, les revêtements de sol en vinyle, les huiles, lubrifiantes, les condensateurs électriques, les détergents, les solvants, les produits pharmaceutiques, les fils, les câbles électriques, et les produits cosmétiques (parfums, déodorants, lotion après rasages, shampooings, aérosols, pour cheveux, vernis à ongles). L'usage des phtalates, comme plastifiant représente une autre des applications très courantes de ces produits. La majorité des articles rigides, semi-rigides, ou souples à base de chlorure, de polyvinyle, communément appelé PVC, contiennent des phtalates.

La proportion de phtalates peut atteindre jusqu'à 50 % dans certains produits, notamment dans les sacs de plastique, les cadres, pour fenêtres, les emballages alimentaires, les imperméables en plastique, les rideaux de douche, les bottes, les boyaux d'arrosage, les jouets, pour le bain, et les enfants, les dispositifs médicaux, et les contenants, pour le stockage du sang.

Les phtalates de haut poids moléculaire (phtalate de bis (2 éthylhexyles) par exemple) sont principalement utilisés dans la fabrication du plastique, et notamment du PVC. On les retrouve, donc dans de nombreux objets du quotidien: revêtements de sols, jouets, emballages alimentaires, etc.

Les phtalates de faible poids moléculaire (phtalate de diéthyle, phtalate de dibutyle) sont utilisés, comme solvants, et plastifiants dans des produits de soins (parfums, lotions, déodorants, cosmétiques, etc.), ou dans certains médicaments à libération prolongée (Manet, 2012).

Actuellement, les phtalates sont largement utilisés, dans le domaine industriel 95% dans l'industrie des polymères, et dans la fabrication de produits intermédiaires, ou finis en PVC souple). Leur importance est illustrée par la production mondiale, estimée à environ 3 millions de tonnes par an (Tatianne, 2011).

3.3.1.2. Métabolisme

Dans l'organisme, la distribution des phtalates est rapide vers les poumons, la rate, les tissus adipeux, et plus particulièrement vers le foie. Il n'y a pas d'accumulation de la molécule dans l'organisme du fait de sa demi-vie d'élimination courte, et variable selon les espèces animales. Sa pharmacocinétique se présente sous la forme d'un modèle bi-compartmental, avec une deuxième phase d'élimination assez longue, qui s'explique par l'existence d'un

cycle entéro-hépatique. Les études chez l'animal montrent, que le DEHP subit une hydrolyse enzymatique en mono (ethylhexyl) phtalate (MEHP), son métabolite principal, avec libération d'un alcool primaire le 2-ethylhexanol (2-EH), qui s'oxyde secondairement en acide 2-ethylhexanoïque (2-EHA). L'activité hydrolytique est assurée par des enzymes pancréatiques (lipases), et plasmatiques (estérases). Le 2-EHA est aussi un métabolite actif toxique (Causse et Thierry, 2009).

3.3.1.3. Voies d'exposition

- **Voie digestive**

Beaucoup d'études s'accordent, sur le fait que la principale voie d'exposition des phtalates semble être la voie digestive suite à l'ingestion de phtalates contenus dans les emballages alimentaires (Anderson *et al.*, 2001). Les gants jetables portés par le personnel, pour leurs fabrications sont aussi considérés, comme source potentiel de contamination. Cela est surtout vrai, pour la population vulnérable, qu'est chez les jeunes enfants. Leur exposition moyenne est estimée de 3 à 5 fois supérieure à celle d'un adulte. Ainsi, ils ingèrent une plus grande quantité de nourriture rapportée au poids qu'un adulte, et d'autre part ils sont exposés aux réflexe mains-bouche via les jouets, ou tout autre objet à leur portée, qu'ils sucent, mâche voire mange.

- **Voie respiratoire**

L'air et les poussières sont eux aussi contaminés par les phtalates contenus dans les meubles, revêtement de sol, rideau, les cosmétiques, peintures, colles (Afshari *et al.* 2004).

- **Voie cutanée**

La voie cutanée est globalement moins explorée, et ce d'autant plus, qu'une partie des produits cosmétiques contiennent des phtalates de manière informelle, sous prétexte de secret de fabrication, dissimulés sous les termes de fragrance ou parfum (Koo et Lee, 2004).

Ainsi chez l'homme, quelques heures seulement après l'application d'une crème sur le corps entier de 26 volontaires sains, les métabolites de phtalates (MEP et MBP en l'occurrence) sont retrouvés dans leur plasma (Janjua *et al.*, 2007).

- **Voie intraveineuse**

Elle se produit via le contact avec les dispositifs médicaux, pour des populations particulièrement vulnérables. Les patients sont surtout soumis au DEHP entrant dans la composition des sacs de perfusion, des drains, des voies d'abord veineuses ou artérielles, des cathéters.

En 2008, l'exposition au DEHP pouvait atteindre 3000 µg/kg/j chez les adultes hémodialysés et 1700 µg/kg/j chez des nouveau-nés transfusés soit, près de 20 à 80 fois la dose de référence (Chenzee, 2012).

3.3.2. Bisphénol A

La première synthèse chimique du bisphénol A (BPA) fut réalisée par le professeur Dianin en 1891. Issue de la réaction entre deux équivalents de phénol, et un équivalent d'acétone, la molécule de BPA contient deux groupements fonctionnels phénols, et fait partie des composés organiques aromatiques (Figure 3). Ses autres noms sont également le 4,4'-(propan-2-ylidène) diphénol ou le p, p'-isopropylidènebisphénol (Vogel, 2009).

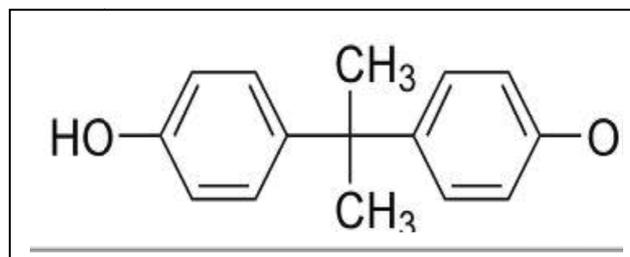


Figure 3: Structure chimique de la molécule de Bisphénol A (Vogel, 2009).

3.3.2.1. Utilisation

Le bisphénol A entre dans la fabrication industrielle de plastique de type polycarbonate, et de résines époxy. De ce fait, on le retrouve dans le revêtement intérieur de boîtes de conserve, les canettes de boissons, et plusieurs emballages alimentaires en plastique, avec parfois un logo de recyclage (Polycarbonate). De plus, il entre dans la composition des CD, DVD, de certains produits électroniques, et de l'industrie automobile, des téléphones portables, des lunettes et lentilles de contact, ainsi que les tickets de caisse à encre thermique. Les résines époxy contenant du BPA sont également utilisées dans des systèmes de stockage, et de transport de l'eau, et dans certains ciments dentaires (Vandenberg *et al.*, 2007). Les dérivés halogénés du BPA présents dans les retardateurs de flamme peuvent également contaminer l'atmosphère des logements (Rudel *et al.*, 2011).

3.3.2.2. Métabolisme

Afin d'évaluer la toxicité du BPA, il est indispensable de connaître les capacités de biotransformation de ce contaminant par les organismes. Chez l'homme, le temps de demi-vie plasmatique du BPA total est court (environ 4-6 heures) (Völkel *et al.*, 2002).

Il est donc rapidement pris en charge par les enzymes de détoxification de l'organisme. Des études réalisées chez différentes espèces incluant l'homme ont montré, que suite à une absorption orale, le BPA est métabolisé rapidement principalement au niveau

hépatique, et au niveau des entérocytes. Les données obtenues indiquent une métabolisation du BPA plus lente chez le rongeur, et plus rapide chez l'humain, en raison de l'absence de circulation entéro-hépatique chez ce dernier (Inoue *et al.*, 2003). Mais, une étude récente, réalisée sur le singe, et la souris, apporte des nombreux détails sur le métabolisme du BPA et ajoute une controverse à la détoxification rapide du BPA dans l'espèce humaine (Julia *et al.*, 2011).

Chez toutes les espèces étudiées, la voie métabolique majoritaire est la conjugaison du BPA par l'acide glucuronique, pour former le BPA-glucuronide, qui est ensuite éliminé sous cette forme par voie urinaire (Hanioka *et al.*, 2011).

3.3.2.3. Voies d'exposition

- **Exposition alimentaire**

Les populations sont majoritairement exposées au BPA par la voie orale, principalement par le biais de l'alimentation. Le BPA peut migrer dans les denrées alimentaires, et les boissons conditionnées dans des emballages fabriqués à partir de BPA polymérisé, contaminant ainsi le consommateur (Jenny *et al.*, 2009).

Les taux de migration dépendent directement des conditions de stockage, et d'utilisation, du temps, et de la température de chauffage, de la durée de conservation et du pH des aliments (Wade *et al.*, 2006). Par exemple, un chauffage à des températures élevées, lors de la stérilisation ou de l'appertisation (procédé d'autoclavage après la mise en conserve) accroît considérablement la migration du monomère vers l'aliment. Cette migration est également importante dans le cas de produits alimentaires acides, aboutissant à augmenter les concentrations de BPA libre dans le produit consommé (Jeong *et al.*, 2006).

- **Exposition cutanée au BPA**

De récentes études ont également mis en évidence une exposition cutanée au BPA (Biedermann *et al.*, 2010). Cette voie d'exposition pourrait concerner des milieux professionnels particuliers, autres que le secteur de la fabrication du bisphénol. La quantité moyenne du BPA présenté dans les tickets de caisse est estimée à environ 13,3 g/kg de papier (Liao et Kannan, 2011).

La manipulation fréquente de ces tickets provoquerait une absorption quotidienne de 71µg de BPA par le seul passage transcutané, favorisé par des mains humides, et même après lavage des quantités résiduelles de BPA peut être détectées sur l'épiderme (Biedermann *et al.*, 2010).

- **Exposition orales et environnementales minoritaires**

Une exposition orale au BPA a été observée, lors de soins dentaires par l'utilisation de résines, de ciments, et de scellements dentaires contenant en partie ce composé. Le BPA peut migrer dans la salive provoquant une augmentation significative, mais temporaire de la concentration salivaire de bisphénol A chez l'enfant et l'adulte. Par exemple, il est détectable dans la salive jusqu'à 3 heures, après la pose de résine (Zimmerman *et al.*, 2010).

Toutefois, l'exposition au BPA dans le cadre d'un traitement dentaire reste marginale, par rapport aux autres sources d'exposition orale, en tant que substance soluble dans l'eau, et modérément hydrophobe (Charles *et al.*, 1998). La demi-vie du BPA dans les sols est inférieure à 3 jours (Fent *et al.*, 2003). Néanmoins, dans les zones à forte densité de population humaine, la contamination des sols par le BPA est entretenue par les déchets domestiques, et industriels. Le potentiel de transport de BPA dans l'air est beaucoup plus faible, que dans l'eau (environ 30%), ou dans le sol (environ 68%) (Kawahata *et al.*, 2004). En règle générale, la possibilité d'inhaler des niveaux élevés de BPA dans l'air est très faible (Rudel *et al.*, 2001). Toutefois, les travailleurs dans les entreprises, qui produisent des produits à base de BPA représentent une exception (Poole *et al.*, 2004).

4. EFFET DES MIGRANTS D'EMBALLAGE SUR LA SANTE

De nombreuses substances, à la fois naturelles et artificielles, sont suspectées perturber le système endocrinien, y compris les produits pharmaceutiques, les dioxines, les polychlorobiphényles, DDT, autres pesticides, et des composants de matières plastiques, tel que le bisphénol A (BPA) et les phtalates.

4.1. Bisphénol A (BPA)

Le bisphénol A présente un effet perturbateur endocrinien. Il peut ainsi imiter les hormones sexuelles féminines, les œstrogènes, et modifier le fonctionnement hormonal du corps humain.

Chez les hommes, le BPA est essentiellement absorbé par voie alimentaire et est retrouvé sous forme libre, et active dans le sang et sous forme conjuguée, dans les urines chez la majorité des individus, afin d'être éliminé (Aurélie, 2014).

4.1.1. Implication du bisphénol A dans l'obésité et le diabète de type 2

Des études animales avaient déjà suggéré, que l'exposition au BPA pouvait contribuer, ou aggraver le développement du diabète du type 2 (Aurélie, 2014). Plusieurs études humaines suggèrent, que le BPA pourrait être associé positivement à l'obésité. Les participants ayant des concentrations de BPA urinaires élevées, présentaient une forte prévalence de l'obésité, et de résistance à l'insuline.

Cependant, une étude récente d'Aurélie (2011) a montré, que chez les personnes consommant des aliments emballés dans des contenants plastiques, le BPA est absorbé, et rapidement éliminé de l'organisme dans l'urine, ou la bile de l'homme. Ceci suggère, qu'il n'aurait pas d'effet toxique vu dans les études réalisées chez les animaux.

4.1.2. Mécanismes impliqués

Une étude récente réalisée sur les cellules β des îlots de Langerhans de donneurs humains a révélé, qu'à une concentration relativement faible (1nM), le BPA induit la fermeture des canaux potassiques voltage-dépendant, induisant l'augmentation de calcium intracellulaire (Ca^{2+}), et entraîne une libération de l'insuline par exocytose dans des cellules β .

De plus, sous l'effet du BPA, il jouerait un rôle inhibiteur dans la libération d'adiponectine par les adipocytes chez la souris et chez l'homme (Mamillan, 2014). En résumé, le bisphénol A accélère la formation d'amyloïdes toxiques en favorisant via le stress oxydatif, l'agrégation des polypeptides amyloïdes des îlots humains (hIAPP), ce qui peut contribuer à augmenter le risque de diabète du type 2 (Aurélie, 2014).

4.1.3. Transmission du BPA de la mère au fœtus

Une étude plus récente réalisée par Aris (2013) a confirmé l'existence d'un continuum dans la distribution du BPA entre la mère et le fœtus. En effet, des recherches menées pour la première fois à partir de cellules placentaires ont démontré, que le BPA pouvait être transmis au placenta en traversant aisément sa membrane pour se retrouver dans l'organisme du fœtus. En outre, des études ont démontré, que le BPA provoquerait des effets délétères à des périodes critiques du développement fœtal et postnatal provoquant à l'âge adulte des troubles métaboliques prédisposant au syndrome métabolique au surpoids et au diabète (Aurélie, 2014).

4.2. Phtalates

4.2.1. Chez l'homme

Les effets les plus connus et les plus étudiés des phtalates sont ceux au niveau du système reproducteur. En effet, suite à une exposition *in utero* de rats mâles à certains phtalates notamment le dibutylbenzyl phtalates (DBP), le DEHP, le DINP et le butylbenzyl phtalate (BBP), il a été observé des anomalies caractéristiques d'une perturbation des androgènes au cours du développement du tractus génital mâle. Ces anomalies sont caractérisées par des malformations de l'épididyme du canal déférent, des vésicules séminales, de la prostate, des organes génitaux externes (hypospadias, cryptorchidie, réduction de la distance anogénitale (AGD) (Gray *et al*, 2000).

Ils ont également observé, que l'exposition *in utero* de rats mâles à certains phtalates individuellement notamment au DEHP ou au DBP, ou à un mélange de phtalates entraîne des effets délétères au niveau de la fonction testiculaire. Ces anomalies sont caractérisées par la diminution de la production de la testostérone, l'augmentation de la taille des agrégats des cellules de Leydig, et la formation de cellules germinales multinucléées (assimilables à un début du cancer testiculaire des cellules germinales) (Martinez *et al.*, 2009).

L'une des cibles cellulaires des phtalates expliquant une diminution de la testostérone, suite à une exposition aux phtalates est les cellules de Leydig. En effet, il a été mis en évidence, que les phtalates affectent négativement plusieurs protéines impliquées dans la production de la testostérone par les cellules de Leydig du testicule fœtal (Lehmann *et al* 2004).

Effectivement, chez l'humain il y a très peu d'évidences, qui montrent les effets délétères des phtalates, comme le cas chez le rat. Néanmoins, certaines études ont pu mettre en évidence quelques effets similaires à ceux observés chez le rat. En effet, la diminution de la distance ano-génitale a été observée chez les jeunes garçons ayant eu une exposition prénatale importante aux phtalates (Swan *et al.*, 2005). Dans une autre étude, il a été mis en évidence, pour la première fois une diminution de la testostérone dans un explant de testicule, suite à une exposition *in vitro* au DEHP et au MEHP (Lourenco *et al* 2013).

4.2.2. Chez la femme

Certaines études épidémiologiques récentes effectuées chez des femmes ont montré une corrélation positive entre des niveaux urinaires élevés aux phtalates, et l'augmentation de risque de l'endométriose (Buck *et al*, 2013). D'autres corrélations ont établi un lien entre le taux de phtalates dans les urines des femmes enceintes, et l'augmentation des cas de complication pendant la grossesse, tels que l'anémie ou la prééclampsie, ainsi qu'une réduction de la durée de la grossesse (Cobellis *et al*, 2003). Des études de corrélation ont mis en relation les taux de phtalates retrouvés dans les urines de jeunes filles, avec l'apparition d'une puberté précoce (Colon *et al*, 2000).

Matériel et méthodes

1. ANIMAUX ET HEBERGEMENT

1.1. Origine et conditions d'hébergement

Les souris utilisées dans cette étude ont été des souris de recherche. Elles ont été reçues à l'âge de 4 semaines, et hébergées à l'animalerie de l'université de Guelma, en conditions contrôlées (22°).

1.2. Nature des cages et des biberons

Toute utilisation de plastiques et consommables en polycarbonate a été écartée pour éviter des contaminations en bisphénol A ou phtalates. Les animaux ont été hébergés en cages de polypropylène (8 animaux/cage), et les biberons ont été en polypropylènes équipés par des tétines métalliques.

2. MATERIEL D'ETUDE

2.1. Réactifs chimiques

- Molécule étudiée di (2-ethylhexyl) phtalate (DEHP) de chez Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France).
- Solution de la lyse et d'hémoglobine + diluant pour le comptage de la mesure dimensionnelle des cellules sanguine + détergent protéolytique enzymatique pour la formule de numération sanguine (FNS).
- Chloroforme.

2.2. Matériel de mesures

2.2.1 Balance technique

Une balance de laboratoire a été utilisée pour la pesée de petits animaux, elle est de construction particulièrement plate et facile à nettoyer, max porté est 8 kg, sa mesure est de précision de 0,01 g.

2.2.2 Balance de précision

Une balance d'analyse de précision de 0,0001 g a été utilisée pour la pesée exacte des produits chimiques, et également des organes internes des souris sacrifiées.

L'ensemble des outils et des appareils utilisés dans cette étude sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : instruments et appareillages d'analyse et d'expérimentation

Verrerie	Appareillage	Autre matériel	Matériel de sacrifice
Tube à essai. Bêchers. Pipettes graduées. Flacons.	Réfrigérateur. Automate d'analyse médicale « Coulter ». Centrifugeuse.	Portoirs. Balance. Mortier. Agitateur et barreau magnétique. Enceinte.	Trousse des instruments complets Planches Epingles de fixation

3. EXPERIMENTATIONS ANIMALES

Toutes nos expérimentations animales ont été soumises à l'Université de Guelma. Les animaux ont été traités avec soin et respect.

3.1. Injection continue au DEHP chez les souris

Cette étude est basée sur un modèle d'injection d'une substance chimique DEHP, qui est un migrant d'emballage précédemment préparé, pour contrôler le développement de la masse corporelle, et des organes internes des animaux, ainsi que la réalisation des analyses biologiques (FNS), sur des prélèvements du sang des animaux.

- Un total de 16 femelles âgées de 12 semaines séparées comme suite (8 souris/cages), pour former deux groupes: un groupe de contrôle (1), et un autre groupe des souris, qui ont été injecté par le DEHP (2).
- Le premier groupe a été injecté par une dose de l'eau distillée par apport à leur poids corporel, à l'aide d'une seringue médicale de volume de 1 ml.
- Le deuxième groupe a été injecté par une dose de DEHP par apport à leur poids corporel (50/μg/kg/injection), à l'aide d'une seringue médicale du même volume, que le premier groupe.

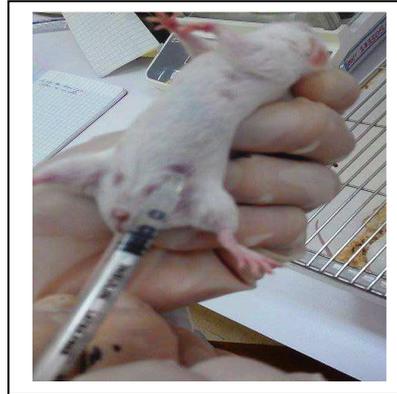


Figure 4 : Injection des souris par une dose de DEHP.

3.2. Etude de développement

Tous les animaux ont été quotidiennement observés pour déceler toute malformation. Durant toute l'expérimentation, le poids corporel a été mesuré chaque jour sauf les weekends pour suivre la croissance des animaux, la consommation de nourriture et celle d'eau ont été mesurées chaque jour. Le contrôle journalier des animaux a permis de détecter toute anomalie du comportement, et tout signe de toxicité ou de pathologies.

NB : après une période d'injection de DEHP: on a remarqué, qu'il existe une diarrhée pour trois souris, aussi un manque d'appétit pour certaines souris.

3.3. Expression des résultats

C'est la distance entre l'anus et la base de la papille génitale (pénis ou vagin). Elle est considérée comme une méthode non invasive, pour déterminer l'effet d'un migrant d'emballage (Boudalia *et al.* 2014). Elle a été mesurée avec un pied à coulisse avant l'injection de DEHP, et après la dernière injection de cette substance chimique. Les souris femelles ont été maintenues immobiles, et bien pris de leurs têtes et queues (Figure 5). Les mêmes mesures ont été faites, pour les souris du groupe contrôle.



Figure 5: Mesure de distance ano-génitale (DAG) des souris.

3.4. Sacrifice et prélèvement du sang

Les souris ont été anesthésiées par le chloroforme dans une enceinte. Puis, elles ont été saignées à l'aide de ciseaux à dissection (Figure 6), et le sang du cou a été recueilli dans des tubes EDTA, pour réaliser des analyses biologiques (FNS) pour dix souris (5 souris contrôle et 5 souris injectées par DEHP).



Figure 6: Sacrifice et prélèvement du sang des souris

3.5. Dissection et pesage des organes internes

Après la saignée, la dissection des souris a été faite sur des planches propres en utilisant de ciseaux à dissection et les épingles de fixation (Figure7). Le tissu adipeux blanc (péri-gonadique, péri-rénal, viscéral), le foie, les poumons, les reins et les ovaires des souris (8 souris contrôles / 8 souris injectées par DEHP) ont été également prélevés et pesés, pour le but de connaître l'effet de DEHP sur le développement de ces organes.

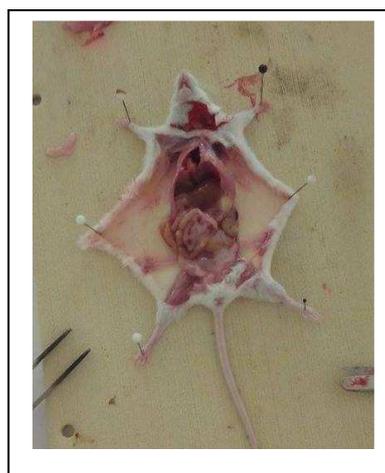


Figure 7 : Dissection et prélèvement des organes

3.6. Analyses biologiques (FNS)

La formule de numération sanguine (FNS) est l'examen biologique, qui permet de comptabiliser les différents éléments figurés du sang (WBC, LY, GR, HGB, PLT,...). Cette analyse est indispensable, pour évaluer une maladie inflammatoire ou infectieuse, ou une anémie.

Le but de ce dosage a été de rechercher l'effet de DEHP sur les cellules sanguines, cette analyse a été faite automatiquement à l'aide d'un appareil spécifique appelé, « Coulter ».

4. ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES

Les données de croissance et de développement relevées avant et après la période de l'injection du DEHP, de même que toutes les données relatives aux analyses d'échantillons biologiques sont exprimées en valeur moyenne \pm SD pour chaque groupe (groupe contrôle et groupe DEHP).

L'indice de la distance ano-génitale (AGD) a été analysé séparément pour les deux groupes, sur la base d'une analyse de variance (Anova), quand les conditions de normalité et d'homogénéité des variances seront respectées.

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Minitab [version 16] avec $p < 0.05$.

Résultats et discussion

1. PURETE DE LA MOLECULE ETUDIEE « PHTALATE (DEHP) »

La figure 8 illustre le chromatogramme d'analyse de DEHP obtenu préalablement, et relatif à la pureté du DEHP utilisé dans notre expérimentation. Ces résultats sont en concordance avec ceux mentionnés sur l'étiquette du produit (pureté > 99%).

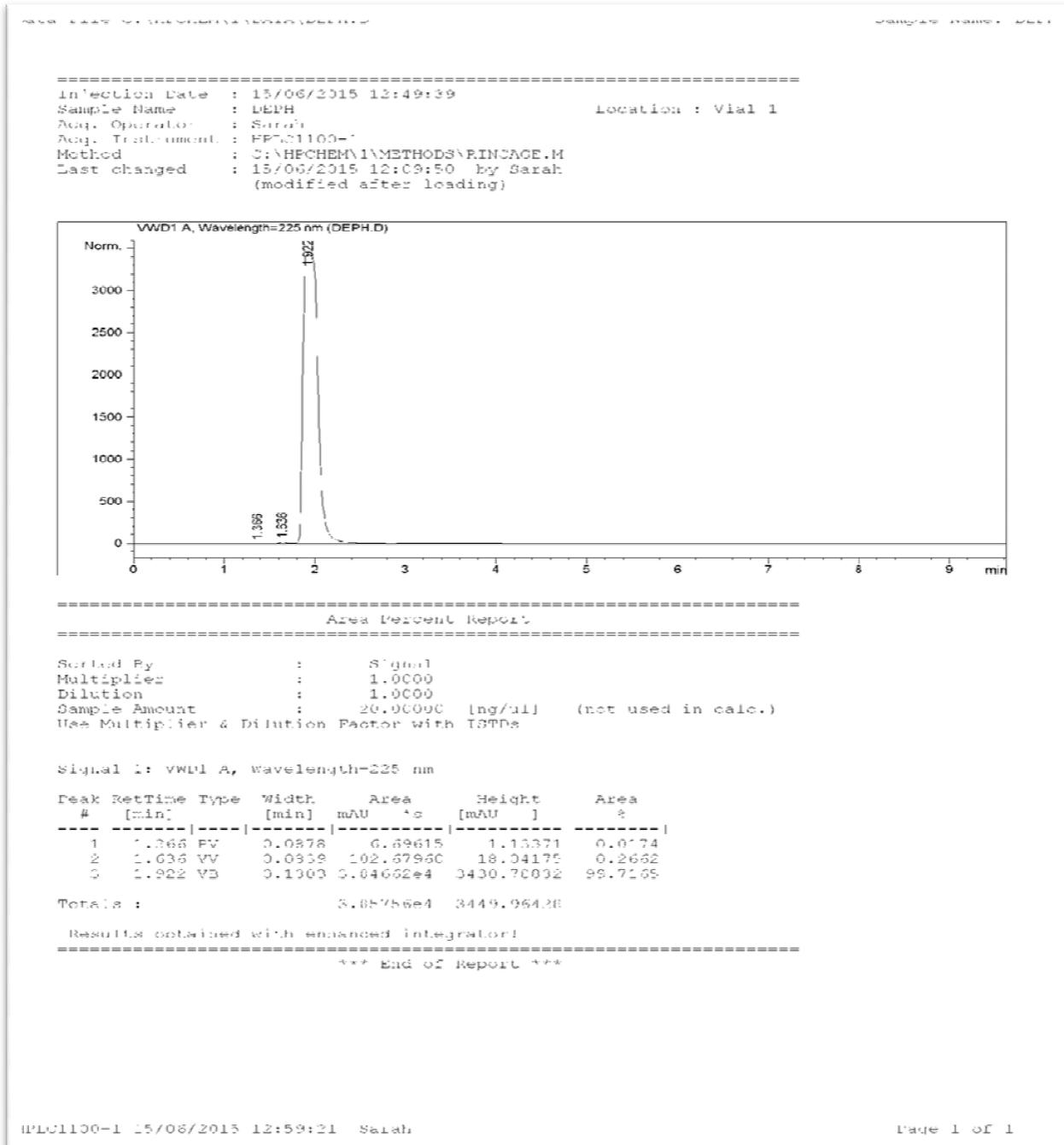


Figure 8 : chromatogramme d'analyse de la pureté DEHP

2. EFFET DE DEHP SUR LES PARAMETRES DE LA CROISSANCE DES SOURIS

2.1. Poids corporel

Les résultats d'étude de l'effet de DEHP sur la masse corporelle des souris sont illustrés dans la figure 9. Le poids corporel des souris est exprimé par la moyenne \pm SD (n=8 souris/groupe). Le traitement statistique des résultats par l'analyse de variance (ANOVA, $p < 0,05$) montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les deux groupes, mais une augmentation de poids chez les souris injectées. Cela nous permet de dire, que le phtalate (DEHP) n'a pas d'effet sur le développement de la masse corporelle.

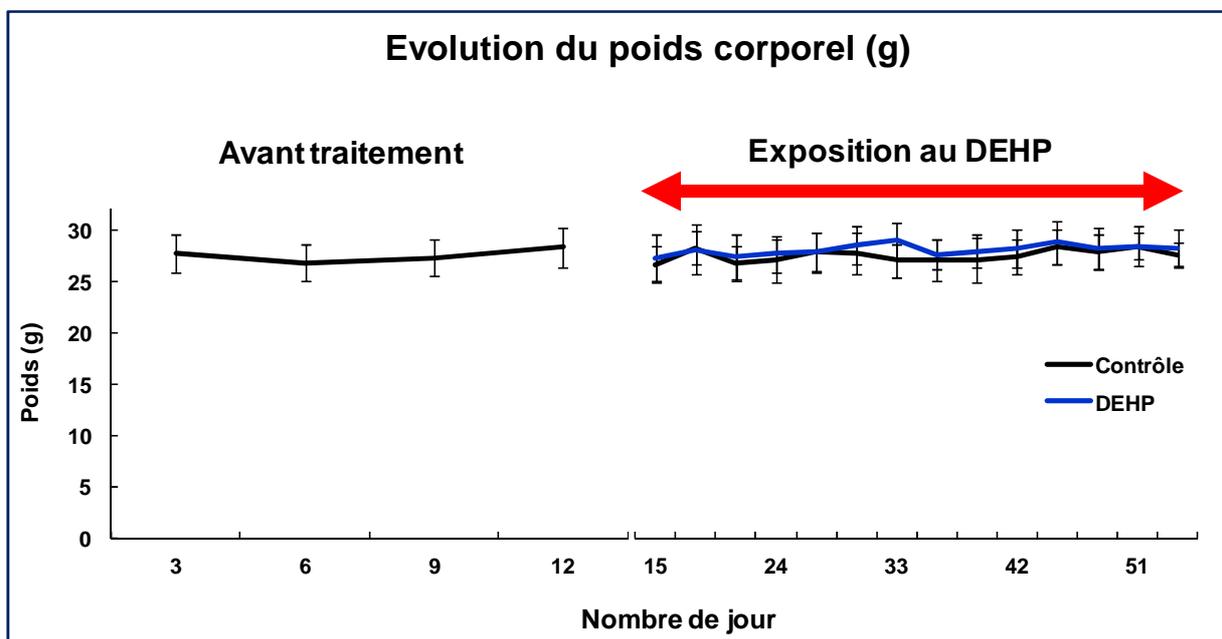


Figure 9 : Effet d'une exposition au DEHP (*via injection*) sur l'évolution du poids corporel des souris.

Cependant, dans des études récentes, les souris ont été exposées au DEHP (0.05 ; 5 ou 500 mg/kg/j) par l'intermédiaire de leur régime alimentaire pendant 8 semaines. Les femelles ont eu une augmentation significative du poids corporel, la consommation alimentaire et le tissu adipeux par apport aux témoins (Susanne *et al.*, 2012).

2.2. Distance ano-génitale (DAG) cubique

L'analyse statistique des résultats de la figure 10, qui sont exprimés par la moyenne \pm SD (n = 5 souris/groupe), à l'aide du test de Student ($p < 0,05$) ne montre aucune différence significative dans la distance ano-génitale des souris injectées par DEHP, et celle des souris du groupe témoin, mais une diminution chez le groupe traité, ce qui signifie l'absence d'effet de ce migrant.

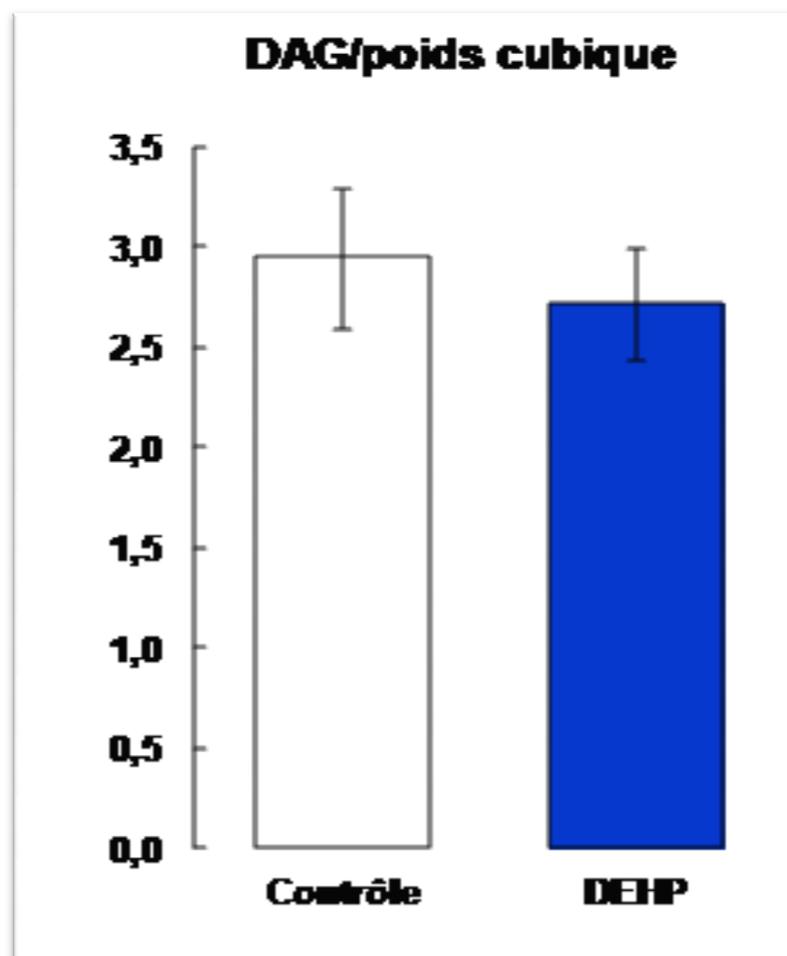


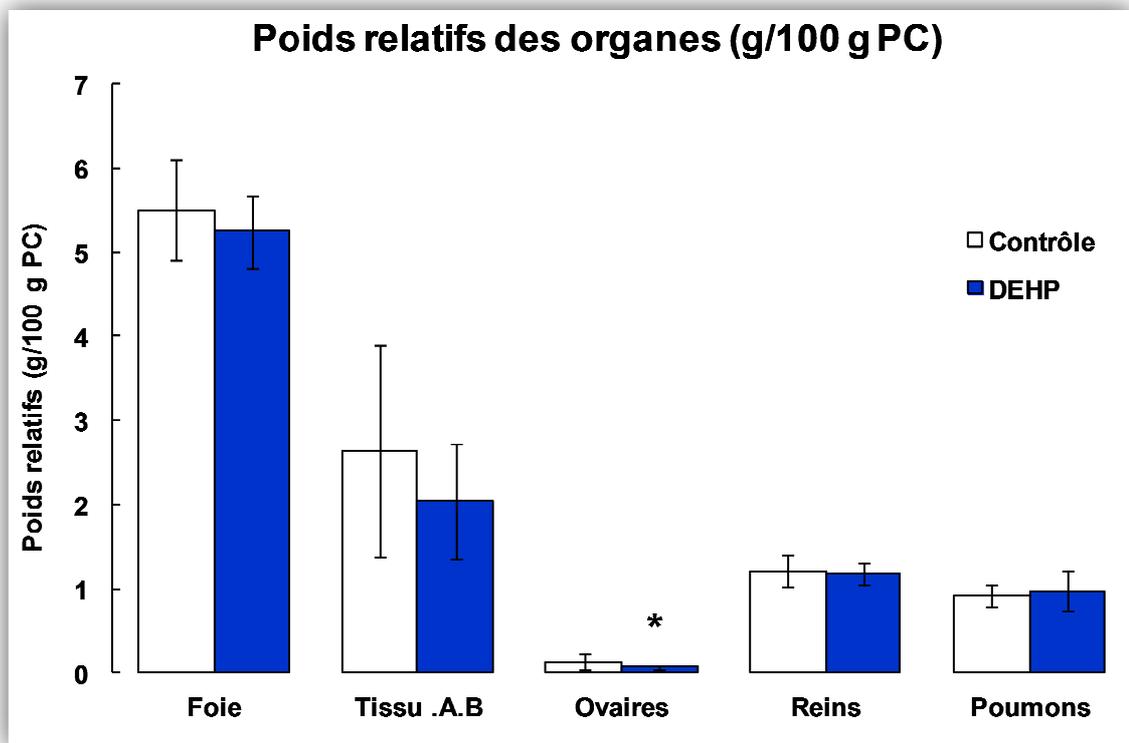
Figure 10 : Effet d'une exposition au DEHP (*via injection*) sur la distance ano-génitale (DAG) des souris.

Par ailleurs, Martino-Andrade *et al.* (2009) ont adressé une question similaire en utilisant cette fois des doses plus faibles de DBP (0.1 ml/kg/j), et de DEHP (0.15ml/kg/j) chez le rat wistar. Les auteurs rapportent, que seuls ces phtalates n'ont pas d'effet sur la sécrétion de testostérone ou la distance ano-génitale, mais qu'en combinaison, ils ont des effets

similaires à une dose de 50 µg/kg/injection de DBP sur ces deux paramètres. Cependant, aucun effet persistant chez l'adulte n'est décrit dans cette expérience.

2.3. Poids relatif de certains organes

Les résultats de la pesée du poids relatif des ovaires, du foie, des tissus adipeux, des poumons et des reins des souris injectées par DEHP, et celles du groupe témoin sont exprimés en g/100 g du poids corporel, et présentés dans la figure 11. Il y'a une diminution dans le poids du foie et de tissu adipeux chez le groupe traité. L'analyse statistique de ces résultats ne révèle aucune différence significative dans le poids relatif des organes internes des souris



injectés par DEHP, et celles du groupe témoin sauf dans le poids relatif des ovaires, qui a montré une variation significative à $p < 0,05$.

Figure 11: Poids relatif des organes (g/100 g PC) des souris au moment des sacrifices.

Ces résultats nous permettent de conclure, que le DEHP n'a pas d'effet sur le poids relatif des organes internes à l'exception des ovaires, qui peuvent subir une diminution de leur poids. Cette abaissement serait peut être la cause dans l'observation d'atrophie, et lésion ovarienne. En 2009, une équipe japonaise a utilisé des rats Sprague. Dawley ayant reçu oralement 300, 1000, 3000 mg/kg/j de DEHP deux semaines avant l'accouplement jusqu'au

jour 7 de gestation, pour évaluer l'histologie des ovaires et l'effet sur la fertilité, et le début du développement. Ils ont montré, qu'une seule forte dose de 3 ml/kg/j induisant un retard à concevoir. Les doses inférieures n'entraînent aucun effet sur la fertilité au développement embryonnaire. Les ovaires présentant une augmentation du nombre des gros follicules atreptique à partir des doses de 1ml/kg/j (Takai *et al.*, 2009).

En outre, une étude a été publiée en 2007 sur l'effet de faibles (0.015; 0.045; 0.135; 0.405 et 1.215mg/kg/j), et fortes (5; 15; 45; 135; 405 mg/kg/j) doses de DEHP chez les rates wistar exposées par gavage du jour 6 de gestation au jour 21 posts natal. Quelle que soit la dose, aucun effet n'est observable sur le poids des différents organes analysés (foie, rein, poumon), la seule différence avec les témoins, concerne le nombre de follicules tertiaires atreptiques présents dans les ovaires des descendantes exposées à la plus forte dose (405ml/kg/j) (Grand *et al.*, 2007). De même, des études toxicologiques ont montré, que les souris femelles traitées par le DEHP (3000 ; 6000 et 12000 mg/kg/j) ont subi une dégénérescence tubulaire séminifère et une hypertrophie des cellules dans l'hypophyse antérieure, et l'inflammation chronique du rein. Le traitement avec le DEHP a provoqué des tumeurs du foie, donc la diminution de poids du foie.

3. NUMERATION DE LA FORMULE SANGUINE (FNS)

La figure 12, présente les résultats de numération de la formule sanguine (FNS) des souris injectées par le phtalate (DEHP), avec une dose de 50 µg /kg p.c/ injection, et des souris non injectées, qui forment le groupe contrôle. L'analyse statistique de ces résultats ne montre aucune différence significative entre les souris injectées par ce migrant d'emballage, et celles du groupe contrôle, mais il y'a une diminution du taux d'hémoglobine et augmentation du taux des globules blancs chez le groupe injecté. D'après ces résultats, nous pouvons conclure, que le DEHP n'a pas d'effet sur l'hémogramme des souris. Toutefois, la littérature scientifique a montré des effets toxiques de DEHP sur l'hémogramme, dans une l'étude réalisée sur les souris adultes traitées avec (1.227 ; 1,408 mg/kg/j) de DEHP, les modifications hématologiques (diminution de RBC, HB, HCT) ont démontré la réversibilité, qui reflète probablement le remplacement continu de circulation des globules rouges par la moelle osseuse (Raymond *et al.*, 2001).

Il ya aussi d'autre étude, qui a montré une diminution significative du nombre de cellules viables ($p < 0,05$), et le gain de masse des souris traitées par 10, 20,40 mg/kg/j. L'altération des profils hématologiques, tels que RBC, l'hémoglobine, WBC et comptage différentiel ont été

rétablis à des niveaux normaux chez les souris traitées (Muhammad, 2013). En raison d'une association avec hépatomégalie, le DEHP a également été liée à hépato cancérogénicité potentiel. Il a été démontré une hépatomégalie causée par la prolifération de l'organelle cellulaire, appelée peroxyosomes. Les peroxyosomes sont impliqués dans le B-oxydation des acides gras, en produisant du peroxyde d'hydrogène, qui a été suggérée comme étant l'agent causal de la carcinogénicité du DEHP. Cependant, aucun lien direct de causalité n'a été établi entre le DEHP et le cancer chez les humains (sally et al., 2007).

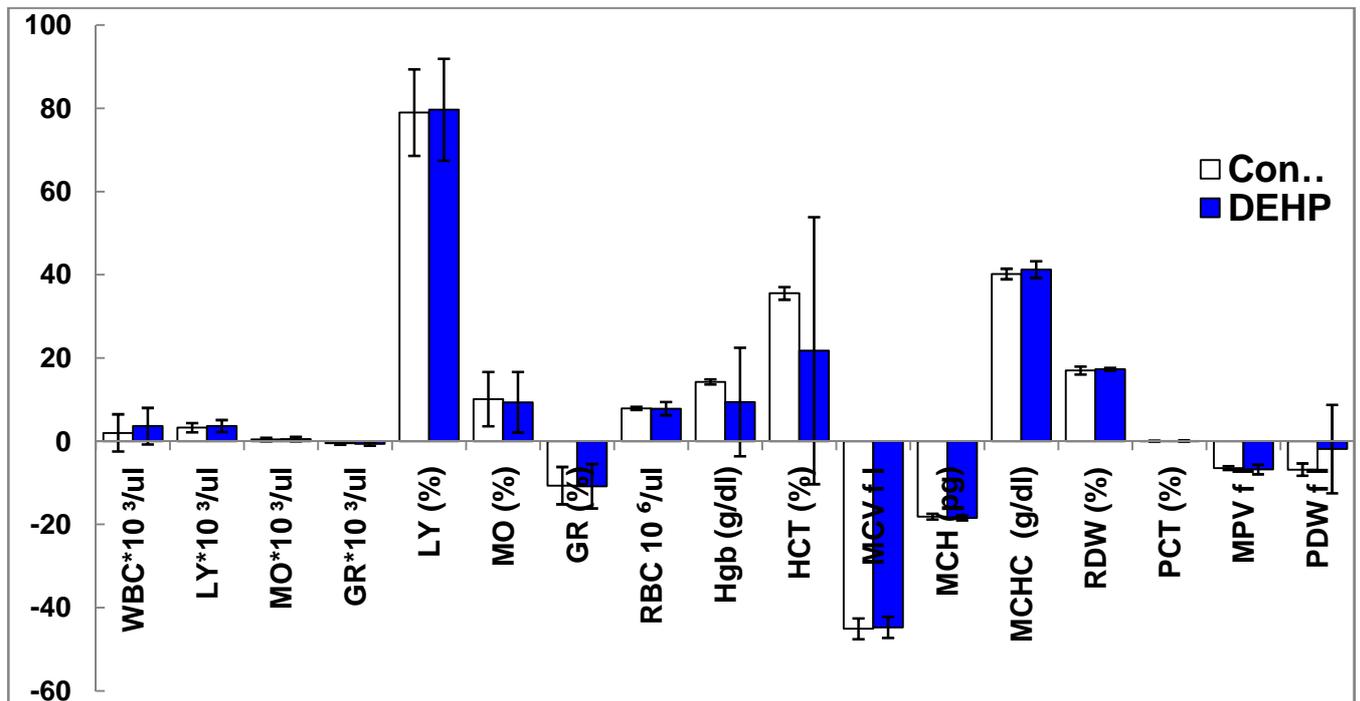


Figure 12: Numération de la formule sanguine (FNS) des souris.

Par ailleurs, l'accumulation de DEHP dans le plasma semble liée à une affinité particulière de ce produit pour les plaquettes. En effet, un plasma pauvre en plaquettes contient environ deux fois moins de DEHP (en concentration), qu'un plasma riche en plaquettes (Demore *et* Béatrice, 1995). Cette augmentation entraîne un risque de thrombose (c'est la formation anormale d'un caillot sanguin dans une veine) par formation d'agrégats plaquettaires.

Conclusion

Conclusion

Ce travail a étudié l'effet d'un migrant d'emballage (DEHP) sur l'hémogramme, et quelques paramètres du développement des souris, tels que le poids corporel, le poids relatif du foie, des reins, du tissu adipeux, des poumons, des ovaires, et la distance ano-génitale.

Les résultats de cette étude n'ont montré aucun effet de l'injection du DEHP, à une dose de 50µg/kg/injection, pendant la durée d'expérimentation chez les femelles souris adultes sur l'hémogramme, la distance ano-génitale cubique, le poids corporel et le poids relatif des organes internes des souris à l'exception des ovaires, qui ont subi une diminution de leur poids relatif.

Ces résultats exigent d'autres études expérimentales pour leur confirmation ou infirmation.

Pour compléter cette étude, il sera intéressant de :

- Eclaircir l'effet de ce migrant d'emballage chez les deux sexes, en particulièrement au cours de l'activité sexuelles, mâles et femelles et de la gestation, en utilisant des techniques cellulaires pour comprendre ces effets à l'échelle moléculaire.
- Contrôler l'effet d'autre migrant, qui peut être accompagnant de DEHP lors de sa migration.
- Approfondir les études pour aboutir à la bonne compréhension du mécanisme d'action de ces migrants sur le fonctionnement de l'organisme animal.
- Déterminer les doses toxiques et perturbatrices du corps humain.

Références bibliographiques

A

1. **Afshari, A., Gunnarsen, L., Clausen, PA., Hansen, V.** (2004). Emission of phthalates from PV and other material. *Indoor Air*. 14(2) : 120-128.
2. **Alexandre, M.** (2015). Phtalates et parabènes dans les médicaments : impact pour l'industri Pharmaceutique d'une évolution de la réglementation visant à les interdire. *Thèse de doctorat*. Bordeaux, Université de Bordeaux U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES. 26.
3. **Anderson, WA., Castle, L., Scotter, MJ., Massey, RC., Springall, C.** (2001). A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. *Food Addit Contam.*18(12) : 1068-1074.
4. **Aurélie, M.** (2014). Rôle potentiel du bisphénol A dans l'apparition de pathologies humaines telles que l'obésité et le diabète de type 2. *Mémoire de master*. Renne Université de Rennes 1, UFR science de la vie L'environnement. 10-24.

B

5. **Bach, C.** (2012). Evaluation de la migration des constituants de l'emballage en poly(éthylène téréphtalate) (PET) vers l'eau, des facteurs d'influence et du potentiel toxique des migrants. *Thèse de doctorat*. Lorraine, Institut national polytechnique de Lorraine. 4-5.
6. **Benslimane, N.** (2014). Contribution à l'élaboration d'un Plan de Contrôle des emballages plastiques en contact avec les denrées alimentaires. *Mémoire de master*. Tlemcen à Algérie. 34-37.
7. **Biedermann, S., Tschudin, P., Grob, K.** (2010). Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal Chem*. 398(1) : 566-571.
8. **Boccellino, M., Cuccovillo, F., Napolitano, M., Sannolo, N., Balestrieri, C., Acampora, A., Giovane, A., Quagliuolo, L.** (2003). Styrene-7,8-oxide activates a complex apoptotic response in neuronal PC12 cell line. *Carcinogenesis*. 24(3) : 535–540.
9. **Boudalia, S., Berges, R., Chabanet, C., Folia, M., Decocq, L., et al.**(2014). A multi-generational study on low-dose BPA exposure in Wistar rats: effects on maternal behavior, flavor intake and development. *Neurotoxicol Teratol.*41: 16-26.

10. **Buck Louis, GM., Peterson, CM., Chen, Z., Croughan, M., Sundaram, R., Stanford, J., Varner, MW., Kennedy, A., Giudice, L., Fujimoto, VY., Sun, L., Wang, L., Guo, Y.; Kannan, K.** (2013). Bisphenol A and phthalates and endometriosis the Endometriosis. Natural History, Diagnosis and Outcomes. *Study Fertil Steril*. 100 : 162-169.

C

11. **Cai, R.** (2013). Effect of Microwave Heating on The Migration of Additives From PS, PP and PET Container Into Food Simulants. Thesis Rochester, New York. *Rochester Institute of Technology*. 10.
12. **Calafat, AM., Ye, X., Wong, LY., Reidy, JA., Needham, LL.** (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary- octylphenol. *Environ Health Perspect*. 116:39–44.
13. **Catala, R., Gavara, R.** (2000). Food packaging. In *Encyclopedia of life support systems*.
14. **CAUSSE, R., Thierry, S.** (2009). Recommandations portant sur les phtalates dans les dispositifs médicaux. *Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé*.
15. **CHAGNON, MC.** (2010). Evaluation et gestion des risques Exemple des matériaux d'emballage à contact alimentaire. *Institut Français pour la Nutrition, Lettre scientifique IFN*. 145: 2.
16. **Charles, A., Staples, Philip, B., Dome, Gary, M., Klecka, Sondra, T., Oblock, Lynne, R., Harris.** (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*. 36(10): 2149-2173.
17. **CHENZEE, E.** (2012). Les perturbateurs endocriniens de notre environnement quotidien et leurs conséquences sur les principaux marqueurs de la périnatalité, revue de la littérature sur l'état actuel des connaissances. *Thèse de doctorat*, Paris, université Pierre et Marie curie, Paris, VI: 43-44.
18. **Cobellis, L., Latini, G., De Felice, Razzi, C., Paris, S., Ruggieri, I., Mazzeo, FP., Petraglia.** (2003). High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 18: 1512-1515.
19. **Colon, I., Caro, Bourdony, D., C., J. and Rosario, O.** (2000). Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect*. 108: 895-900.

- 20. COMBETTE, P., ERNOULT, I.** (2005). Assemblage des macromolécules et emploi de polymères. *In physique des polymères*, 1^{er}éd, sous la dir Combette Patrick. Montréal (Québec). Press internationales polytechnique. 60-62.

D

- 21. DEMORE, BEATRICE.** (1995). Extraction du DEHP conditionnes en contenant de polychlorure de vinyle comparaison de poches disponibles sur le marché francais. *Thèse*. Université Henri Poincaré, Nancy. Facultés des sciences pharmaceutiques et biologiques. 17-19.

F

- 22. Feigenbaum, A.** (1998). Evaluation de la migration des matériaux plastiques au contact des aliments, par des méthodes alternatives, dans l'emballage des denrées alimentaires de grande consommation. *In Multon J. L B. Bureau G. (eds); L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation*. Paris: Lavoisier.
- 23. Feigenbaum, A., Riquet, A., M., Ducruet, V., Scholler, D.** (1993). Safety and quality of food stuffs in contact with plastic materials: A structural approach. *Journal of Chemical Education*, 170(11): 883-886.
- 24. Fent, G, Hein, WJ., Moendel, MJ., Kubiak, R.** (2003). Fate of 14C-bisphenol A in soils. *Chemosphere*. 51(8): 735.
- 25. Francis, H.** (2002). Rigid plastics packaging materials, processes and applications. United Kingdom. *Rapra Technology*. 140.

G

- 26. Geensa, T., Goeyens, L., B., Covacia, A.** (2011). Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked. *Int J Hyg Environ Health*. 214(5): 339-347.
- 27. Gontard N.**1999. LES DIFFÉRENTS TYPES D'EMBALLAGE..En ligne genie-alimentaire.com.consulté le 13 mars 2016.
- 28. Goodson, III, WH., Luciani, MG., Sayeed, SA., Jaffee, IM., Moore, II, DH., Dairkee, SH.** (2011). Activation of the mTOR pathway by low levels of xenoestrogens in breast epithelial cells from high-risk women. *Carcinogenesis*. 1-10.
- 29. GRAND, SW., ANDRADE, AJ., TALSNESS, CE., GROTEK, GOLOM, BW., COOL.** (2007). A dose response study following in utero and lactational exposure to DEHP : reproductvive effects on adult female off spring rats. *Toxicology*. 229 :14-22.

30. Gray, LE., Jr., Ostby, J., Furr, J., Price, M., Veeramachaneni, DN., Parks, L. (2000). Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci.* 58: 350-365.

H

31. Hanioka, N., Oka, H., Nagaoka, K., Ikushiro S, Narimatsu, S. (2011). Effect of UDP glucurono syltransferase 2B15 polymorphism on bisphenol A glucuronidation. *Arch Toxicol* 85(11): 1373-1381.

J

32. Janjua, NR., Mortensen, GK., Andersson, A-M., Kongshoj, B., Skakkebaek, NE., Wulf, HC. 2007. Systemic uptake of diethyl phthalate, dibutyl phthalate, and butyl paraben following whole-body topical application and reproductive and thyroid hormone levels in humans. *Environ Sci Technol.* 41(15): 5564-5570.
33. JASIMA, SHAFUIM, R. (2012). An overview of food packaging material selection and the future of packaging» in Handbook of food process design, 2eme éd. Sous la dir: John Wiley and Sons, p. .Etat-unis: Wiley- Blackwell. 1245-1248.
34. Jenny, L., Carwile, Henry, T., Luu, Laura, S., Bassett, Daniel, A., Driscoll, Caterina, Y., Jennifer, Y., Chang, Xiaoyun, Ye., Antonia, M., Calafat and Karin, B., Michels . (2009). Polycarbonate bottle use and urinary bisphenol A concentrations. *Environ Health Perspect.* 117(9): 1368-1372.
35. Jeong, H., K., Fusao, K., Yoshiki, K. (2006). Human exposure to bisphenol A. *Toxicology.* 226(2-3): 79-89.
36. Julia, A., Taylor, Frederick, S., vom, S., Wade, V., Welshons, Bertram, D., Rottinghaus, G., Patricia, A., Hunt, Toutain, PL., Céline, M., Laffont, and Catherine, A., VandeVoort. (2011). Similarity of bisphenol A pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure. *Environ Health Perspect.* 119(4): 422-430.

K

37. Kawahata, H., Ohta, H., Inoue, M., Suzuki, A. (2004). Endocrine disrupter nonylphenol and bisphenol A contamination in Okinawa and Ishigaki Islands, Japan-- within coral reefs and adjacent river mouths. *Chemosphere.* 55(11): 1519-1527.

38. Knight, D., J and Creighton, L., A. (2004). Plastics for use in packaging. *In regulation of food packaging in Europe and the US*. 5^{ème}éd. Sous la dire: Sally Humpreys. USA :Rapra technology limited. 2-3.
39. Koo, HJ., Lee, BM. (2004). Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *Toxicol. Environ. Health Part A*. 67(23-24): 1901-1914.
40. Kouame, A., E., F. (2004). Etude de la migration des antioxydants phnoliques dans les boissons en sachet (Abidjan-Cote D'Ivoire). *Thèse de doctorat*, Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 40.

L

41. Lehmann, KP., Phillips, S., Sar, M., Foster, PM., Gaido, KW. (2004). Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di (n-butyl) phthalate. *Toxicol Sci*. 81: 60-68.
42. Liao, C, and, Kannan, K. (2011). Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products implications for human exposure. *Environ Sci Technol*. 45(21): 9372-9379.
43. Lourenco, A., Gomes, C., Boareto, A., Mueller, R., Nihi, F., Andrade, L., Trindade, E., Coelho, I., Naliwaiko, K., Morais, R., Martino-Andrade, A. (2013). Influence of oily vehicles on fetal testis and lipid profile of rats exposed to di-butyl phthalate. *Hum Exp Toxicol*.

M

44. MANET, C., E. (2012). Le chat sentinelle du risque d'origine environnementale pour la santé de l'homme. Exemples de contaminants de l'environnement intérieur et de l'alimentation. *Thèse de doctorat*, Créteil, La faculté de médecine de Créteil. 84-85.
45. Marais. (2005). L'age du plastique découvertes et utilisation. France: L'Harmattan. 234 .
46. Martinez, A., DB., Culty, M., Zirkin, BR., Papadopoulos, V. (2009). In utero exposure to di-(2- ethylhexyl) phthalate decreases mineralocorticoid receptor expression in the adult testis. *Endocrinology*. 150: 5575-5585.
47. MARTINO, A., MORAIS, B., MULLER, G., GRANDE, SW., COLL. (2009) Coadministration of active phthalate results in disruption of foetal testicular function in rats. *InRJ Androl*. 32 : 704-712.
48. MUHAMMAD, RH., MUHAMMAD, RK. (2013). Antitumour evaluation of DEHP isolated from calotropis gigantea L flower. *Acta pharmaceutica*. 62(4) : 607-615.

P

49. **PARIS, C.** (2011). Etude et modélisation de la polymérisation dynamique de composites à matrice thermodurcissable. **Thèse de doctorat**. France, Université de Toulouse à France. 161.
50. **Poole, A., van, Herwijnen, P., Weideli, H., Thomas, MC., Ransbotyn, G., Vance, C.** (2004). Review of the toxicology, human exposure and safety assessment for bisphenol A diglycidylether (BADGE). *Food Addit Contam.* 21(9) 905.

R

51. **RAYMOND, M., DAVID, MICHAAL, R., MOORE, DEAN, C., FINNEY, DEREK, G.** (2001). Reversibility of the chronic effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicologic pathology.* 29(4) : 430-439.
52. **Rudel, RA., Brody, JG., Spengler, JD., Vallarino, J., Geno, PW., Sun, G., Yau, A.** (2001). Identification of selected hormonally active agents and animal mammary carcinogens in commercial and residential air and dust samples. *J Air Waste Manag Assoc.* 51(4) 499-513.
53. **Rudel, Ruthann, A., Gray, Janet, M., Engel, Connie, L.; Rawsthorne, Teresa, W., Dodson, Robin, E.** (2011). Food packaging and bisphenol A and bis(2-ethylhexyl) phthalate exposure: findings from a dietary intervention. *Environ Health Perspect.* 119(7) : 914-20.

S

54. **SALLY, A., CAMPBELL, L., PAUL, M., NESS.** (2007). Spicific blood components in blood banking and transfusion medicine : basic principles and practice. 2^{ème}éd. Sous la dir : CHRISTOPHER, D., HILLYER. Philadelphia (USA). Churchill Livings Tone ELSEVIER.
55. **Scott, A., Morris.** (2011). Raw materials. In Food and package Engineering. 1^{er}éd. John Wiley and Sons. 97.
56. **Severin, I., Riquet, A., M., Chagnon, M., C.** (2011). Evaluation et gestion des risques-Matériaux d'emballage à contact alimentaire. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* USA :Wiley- Blackwell. 46(2) : 59-66.
57. **SILGUY, C.** (2009). Histoire des hommes et de leurs ordures. Du moyen âge à nos jours. *Ed. Le recherche midi. Paris.* 244.

58. SUSANNE, S., JUHANE, KRISTINA, SC., NADIA, F., PAOLA, P., BERNED, F. (2012). Effects of DEHP on female fertility and adipogenesis in C₃H/W mice. *Environnemental Health perspectives*. 120(8).

59. Swan, SH., Main, KM., Liu, F., Stewart, SL., Kruse, RL., Calafat, AM., Mao, CS., Redmon, JB., Ternand, CL., Sullivan, S., Teague, JL. (2005). Study for Future Families Research T. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect*. 113 : 1056-1061.

T

60. TAKAI, R., HAYASHI, S., KIYOKAWA, J., WATA, Y., MATSUO, S., COOL. (2009). Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity 10 two or four-week repeated dose studies and fertility study of di-(2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in female rats. *J toxicol Sci*. 34(1) : 111-119.

61. Tatianne, F., O. (2011). Étude d'un procédé de dépollution basé sur le couplage ozone / charbon actif pour l'élimination des phtalates en phase aqueuse. *Thèse de doctorat*. Orleans, Université d'Orléans. 23-24.

V

62. Vandenberg, L., N., R., Hauser, Laura, N, Michele, M., Olea, N and Wade, V., Welshons. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol*. 24(2) : 139-177.

63. Vogel, S., A. (2009). The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a "safety. *Am J Public Health*. 99(3) : 559-566.

64. Völkel, W., Bittner, N., Dekant, W. (2005). Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos*. 33(11) : 1748-1757.

65. Völkel, W., Colnot, T., Csanády, GA., Filser, JG., Dekant, W. (2002). Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol*. 15(10) : 1281-1287.

W

66. Wade, V., Welshons, Susan, C., Nagel, and Frederick, S., vom, Saal. (2006). Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*. 147(1) : 56-69.

Z

- 67. ZAKI, O.** (2008). Contribution à l'étude et à la modélisation de l'influence des phénomènes de transferts de masse sur le comportement mécanique de flacons polypropylène. *Thèse de doctorat*. Paris, Université Paris-Est. 21-23.
- 68. Zimmerman-D JM, Shuman D, Stull SC, Ratzlaff RE .** (2010). Bisphenol A blood and saliva levels prior to and after dental sealant placement in adults. *J Dent Hyg.* 84(3). 145-150.

Annexes

Annexe 1 : le poids corporel chez les males

Le 04/04/2016		Le 05/04/2016			Le 06/04/2016		Le 07/04/2016	
Les males		Les males			Les males		Les males	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	AG(mm)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	40	1	40	17	1	39	1	39
2	39	2	39	13	2	39	2	39
3	39	3	39	18	3	40	3	40
4	33	4	37	13	4	36	4	37
5	37	5	32	14	5	33	5	33
6	41	6	40	17	6	39	6	41
7	40	7	39	16	7	40	7	41

Le 10/04/2016		Le 11/04/2016		Le 12/04/2016		Le 13/04/2016	
Les males		Les males		Les males		Les males	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	41	1	40	1	41	1	39
2	39	2	39	2	40	2	39
3	41	3	42	3	42	3	42
4	37	4	37	4	36	4	36
5	32	5	33	5	33	5	33
6	41	6	41	6	40	6	40
7	41	7	40	7	41	7	42

Le 14/04/2016		Le 17/04/2016		Le 18/04/2016		Le 19/04/2016	
Les males		Les males		Les males		Les males	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	40	1	40	1	39	1	38
2	40	2	39	2	39	2	39
3	42	3	42	3	42	3	41
4	38	4	33	4	33	4	32
5	33	5	39	5	36	5	37
6	42	6	42	6	43	6	41
7	42	7	43	7	41	7	40
		Moyenne	39,71	Moyenne	39	Moyenne	38,28

Le 20/04/2016		Le 21/04/2016		Le 24/04/2016		Le 25/04/2016	
Les males		Les males		Les males		Les males	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(s)	Numéro(s)	Poids(s)	Numéro(s)	Poids(g)
1	37	1	36	1	36	1	38
2	39	2	38	2	35	2	37
3	39	3	39	3	38	3	40
4	33	4	33	4	32	4	41
5	36	5	41	5	39	5	32

Annexes

6	40	6	39	6	41	6	40
7	40	7	39	7	39	7	41
Moyenne	37,71	Moyenne	37,85	Moyenne	37,14	Moyenne	38,42

Le 26/04/2016		Le 27/04/2016	
Les males		Les males	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	32	1	36
2	38	2	32
3	38	3	39
4	39	4	40
5	41	5	35
6	41	6	40
7	41	7	41
Moyenne	38,57	Moyenne	37,57

Annexe 2 : Le Poids corporel des femelles avant l'injection

Le 04/04/2016		Le 05/04/2016			Le 06/04/2016		Le 07/04/2016	
Les femelles		Les femelles			Les femelles		Les femelles	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	DAG(mm)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	29	1	26	4	1	26	1	26
2	28	2	26	3	2	25	2	28
3	27	3	29	4	3	28	3	30
4	29	4	25	5	4	29	4	25
5	25	5	28	4	5	25	5	28
6	26	6	27	5	6	28	6	27
7	27	7	24	5	7	27	7	29
8	29	8	24	3	8	25	8	30
9	26	9	28	4	9	26	9	31
10	24	10	28	5	10	28	10	30
11	29	11	30	5	11	29	11	27
12	27	12	27	4	12	31	12	30
13	28	13	27	5	13	28	13	27
14	26	14	30	4	14	30	14	31
15	31	15	25	4	15	26	15	27
16	31	16	26	4	16	27	16	27
17	30	17	26	5	17	26	17	31
18	28	18	26	5	18	27	18	26
19	27							

Annexe 3 : Les poids des femelles le 1^{er} jour d'injection

Le 10/04/2016				Le 11/04/2016			
Les femelles controle		Les femelles (DEHP)		Les femelles controle		Les femelles(DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	25	1	29	1	26	1	29
2	28	2	25	2	28	2	25
3	27	3	30	3	29	3	31
4	25	4	26	4	28	4	27
5	30	5	26	5	27	5	27
6	25	6	30	6	27	6	31
7	27	7	29	7	30	7	30
8	26	8	23	8	31	8	24
		9	27			9	28
		10	28			10	29

Le 12/04/2016			
Les femelles contrôles		Les femelles (DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	25	1	29
2	28	2	25
3	27	3	30
4	25	4	26
5	27	5	26
6	30	6	30
7	25	7	29
8	27	8	24
		9	27
		10	28

Annexe 4 : Les poids des femelles le 2^{ème} jour d'injection

Le 13/04/2016				Le 14/04/2016			
Les femelles controle		Les femelles (DEHP)		Les femelles controle		Les femelles(DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	25	1	29	1	26	1	29
2	27	2	25	2	27	2	26
3	25	3	30	3	26	3	30
4	25	4	26	4	27	12	27
5	30	5	26	5	28	14	26
6	31	6	31	6	31	15	31
7	29	7	29	7	30	16	29
8	27	8	23	8	28	17	26
		9	27			18	26
		10	28			19	28

Annexe 5 : Les poids des femelles le 3^{ème} jours d'injection

Le 17/04/2016				Le 18/04/2016			
Les femelles contrôle		Les femelles (DEHP)		Les femelles contrôle		Les femelles(DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	26	1	29	1	26	1	29
2	26	2	25	2	27	2	26
3	29	3	30	3	26	3	30
4	29	4	26	4	27	12	27
5	27	5	26	5	28	14	26
6	29	6	31	6	31	15	31
7	25	7	29	7	30	16	29
8	31	8	23	8	28	17	26
Moyenne	27,75	9	27	Moyenne	27	18	26
		10	28			19	28
		Moyenne	28,5			Moyenne	29

Le 19/04/2016				Le 20/04/2016			
Les femelles controle		Les femelles (DEHP)		Les femelles controle		Les femelles(DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	28	1	28	1	25	1	28
2	28	2	28	2	26	2	28
3	26	3	29	3	26	3	29
4	28	4	27	4	32	4	27
5	25	5	27	5	27	5	27
6	31	6	31	6	27	6	31
7	26	7	29	7	26	7	29
8	25	8	25	8	28	8	25
Moyenne	27,12	9	27	Moyenne	27,12	9	27
		10	28			10	28
		Moyenne	27,9			Moyenne	27,9

Le 21/04/2016			
Les femelles contrôles		Les femelles (DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	26	1	27
2	27	2	28
3	28	3	32
4	31	4	25
5	26	5	28
6	26	6	29
7	27	7	27
8	28	8	28
Moyenne	27,37	9	30
		10	
		Moyenne	

Annexe 6 : Les poids des femelles le 4^{ème} jours d'injection

Le 24/04/2016				Le 25/04/2016			
Les femelles contrôles		Les femelles (DEHP)		Les femelles contrôles		Les femelles(DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	28	1	32	1	27	1	27
2	26	2	27	2	29	2	28
3	28	3	30	3	26	3	26

Annexes

4	32	4	31	4	28	4	29
5	28	5	27	5	28	5	27
6	29	6	27	6	26	6	25
7	28	7	31	7	31	7	30
8	28	8	29	8	28	8	29
Moyenne	28,37	9	26	Moyenne	27,87	9	29
		10	28			10	32
		Moyenne	28,8			Moyenne	28,2

Le 26/04/2016				Le 27/04/2016			
Les femelles contrôles		Les femelles (DEHP)		Les femelles contrôles		Les femelles (DEHP)	
Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)	Numéro(s)	Poids(g)
1	30	1	30	1	28	1	27
2	29	2	27	2	28	2	30
3	27	3	29	3	29	3	30
4	30	4	30	4	26	4	31
5	29	5	25	5	26	5	28
6	28	6	31	6	29	6	27
7	27	7	30	7	28	7	28
8	27	8	27	8	27	8	25
Moyenne	28,37	9	27	Moyenne	27,62	9	27
		10	28			10	29
		Moyenne	28,4			Moyenne	28,2

Annexe 7 : Analyse FNS

7.1. Groupe contrôle

Le 18 /05/16 Analyse FNS Groupe contrôle									
Numéro souris	Poids (g)	WBC * 10 ³ / _{ul}	LY * 10 ³ / _{ul}	MO * 10 ³ / _{ul}	GR * 10 ³ / _{ul}	LY %	MO %	GR %	RBC 10 ⁶ / _{ul}
1	22	6,800	4,500	1,100	-1,100	66,600	16,700	-16,7	8,02
2	29	-2,500	2,000	0,200	-0,200	81,600	9,700	-8,7	7,81
3	28	4,400	4,200	0,000	-0,200	94,900	-0,600	-4,5	7,83
4	32	-3,000	2,300	0,400	-0,300	75,500	13,200	-11,3	7,38
5	30	4,400	3,400	0,500	-0,500	76,300	11,700	-12	8,41
Moyenne (g)	27,500	2,020	3,280	0,440	-0,460	78,980	10,140	-10,64	7,89
SD	3,768	4,467	1,112	0,416	0,378	10,403	6,526	4,4853	0,3732

Hgb g/d l	HCT%	MCV f l	MCH pg	MCHCg/d l	RDW %	PLT*10 ³ /ul	PCT%	MPVf l	PDWf l
14,2	35,6	-44,3	-17,7	39,8	17,2	331	0,191	-5 ,8	-6,1
13,6	34,5	-44,1	-17,4	39,4	16,7	-64	-0,041	-6,5	-8
14,2	33,7	-43	-18,1	42,1	16,3	246	0,157	-6,4	-8,6
14,2	36,5	-49,4	-19,2	38,9	18,6	-51	-0,035	-7	-6,3
15 ,3	37,5	-44,5	-18,1	40,8	16,2	-51	-0,032	-6,4	-5
14,3	35,56	-45,06	-18,1	40,2	17	82,8	0,048	-6,42	-6,8
0,6164	1,519 2	2,4945	0,6819	1,2708	0,9772	190,7818	0,1156	0,426 6	1,471 3

7.2. Groupe DEHP

Le 18 /05/16 Analyse FNS Groupe DEHP									
Numéro souris	Poids (g)	WBC * 10 ³ / ul	LY * 10 ³ / ul	MO * 10 ³ / ul	GR * 10 ³ / ul	LY %	MO %	GR %	RBC 10 ⁶ / ul
1	27	coagulé							
2	29	-2,400	2,300	0,000	-0,100	96,40	-0,300	-3,3	5,47
3	29	4,200	3,400	0,300	-0,500	81,20	7,900	-10,9	8,82
4	30	4,700	3,300	0,700	-0,600	69,90	15,200	-13,6	8,63
5	30	8,100	5,700	1,200	-1,200	79,97	14,700	-15,4	8,49
Moyenne (g)	29,00	3,675	3,675	0,550	-0,600	78,98	9,375	-10,8	7,8525
SD	1,059	1,438	1,438	0,520	0,455	12,24	7,259	5,331	1,5940

Hgb g/dl	HCT %	MCV fl	MCH pg	MCHCg/dl	RDW %	PLT *10 ³ /dl	PCT%	MPVfl	PDWfl
-10,1	-26,3	-48	-18,4	38,4	17,3	-88	-0,073	-8,4	13,3
16,7	38,7	-43,8	-18,9	43,1	17,2	-49	-0,029	-6,1	-3,6
16,2	39	-45,1	-19,7	41,5	17	214	0,145	-6,8	-11,3
15	35,7	-42	-17,6	42	17,8	517	-0,299	-5,8	-5,9
9,45	21,775	-44,725	-18,4	41,25	17,325	148,5	0,0855	-6,775	-1,875
13,0528	32,0846	2,5263	0,5715	2,01411	0,3403	279,8934	0,1706	1,1615	10,6189

Annexe 8 : Poids des organes chez les deux groupes

Le 18/05/16 Mani DEHP/		Groupe DEHP					
Numéro souris	Poids (g)	Foie (g)	Tissu .A (g)	Ovaires	Reins (g)	Poumons (g)	DAG (mm)
1	27	1,561	0,411	0,026	0,307	0,248	7
2	29	1,637	0,433	0,018	0,336	0,248	9
3	29	1,453	0,601	0,018	0,338	0,27	9
4	30	1,436	0,669	0,016	0,425	0,435	9
5	30	1,52	0,272	0,032	0,398	0,237	7
6*	28	1,559	0,679	0,02	0,31	0,221	8
7*	30	1,632	0,82	0,018	0,322	0,363	9
8*	32	1,487	0,931	0,021	0,342	0,266	9
Moyenne (g)	29,375	1,536	0,602	0,021	0,347	0,286	8,375
SD	1,506	0,076	0,220	0,005	0,042	0,074	0,916

Numéro souris	Poids (g)	Foie (g)	Tissu .A,B (g)	Ovaires	Reins (g)	Poumons (g)	DAG (mm)
1	27	5,781	1,522	0,096	1,137	0,919	25,926
2	29	5,645	1,493	0,062	1,159	0,855	31,034
3	29	5,010	2,072	0,062	1,166	0,931	31,034
4	30	4,787	2,230	0,053	1,417	1,450	30,000
5	30	5,067	0,907	0,107	1,327	0,790	23,333
6*	28	5,568	2,425	0,071	1,107	0,789	28,571
7*	30	5,440	2,733	0,060	1,073	1,210	30,000
8*	32	4,647	2,909	0,066	1,069	0,831	28,125
Moyenne (g)	29,375	5,243	2,037	0,072	1,182	0,972	28,503
SD	1,506	0,422	0,684	0,019	0,125	0,236	2,694

le 18/05/16

Groupe Contrôle

Mani DEHP/

Numéro souris	Poids (g)	Foie (g)	Tissu .A (g)	Ovaires	Reins (g)	Poumons (g)	DAG (mm)
1	22	1,460	0,234	0,072	0,350	0,217	9,000
2	29	1,383	0,700	0,064	0,405	0,216	11,000
3	28	1,606	1,487	0,029	0,335	0,325	9,000
4	32	1,711	0,546	0,034	0,346	0,304	10,000
5	30	1,557	0,735	0,027	0,336	0,228	8,800
6*	27	1,614	0,601	0,016	0,315	0,252	8,000
7*	25	1,271	0,729	0,036	0,284	0,237	7,700
8*	27	1,414	0,848	0,012	0,270	0,256	7,600
Moyenne (g)	27,500	1,502	0,735	0,036	0,330	0,254	8,888
SD	3,071	0,145	0,355	0,021	0,042	0,040	1,170

Numéro souris	Poids (g)	Foie (g)	Tissu .A,B (g)	Ovaires	Reins (g)	Poumons (g)	DAG (mm)
1	22	6,636	1,064	0,327	1,591	0,986	40,909
2	29	4,769	2,414	0,221	1,397	0,745	37,931
3	28	5,736	5,311	0,104	1,196	1,161	32,143
4	32	5,347	1,706	0,106	1,081	0,950	31,250
5	30	5,190	2,450	0,090	1,120	0,760	29,333
6*	27	5,978	2,226	0,058	1,167	0,933	29,630
7*	25	5,084	2,916	0,144	1,136	0,948	30,800
8*	27	5,237	3,141	0,044	1,000	0,948	28,148
Moyenne (g)	27,500	5,497	2,653	0,137	1,211	0,929	32,518
SD	3,071	0,594	1,258	0,094	0,191	0,131	4,504

Résumé

Cette étude a pour objectif d'étudier l'effet d'un migrant d'emballage (DEHP) sur l'hémogramme, et quelques paramètres du développement des souris tels que : le poids corporel, le poids relatif du foie, des reins, du tissu adipeux, des poumons, des ovaires et la distance ano-génitale. Les résultats de cette étude n'ont montré aucun effet de l'injection du DEHP, à une dose de 50 μ g/kg/injection, pendant 5 jours expérimentaux chez les souris adultes, sur l'hémogramme, la distance ano-génitale, le poids corporel et le poids relatif des organes internes des souris à l'exception des ovaires, qui ont subi une diminution de leur poids relatif.

Mots clés : DEHP, hémogramme, effet, distance ano-génitale, poids.

Abstract

This study aims to investigate the effect of a package of migrant (DEHP), on mouse blood counts and some developmental parameters such as: body weight, the relative weight of the liver, kidney, fat, lung, ovarian and ano-genital distance. The results of this study showed no effect of the injection of DEHP, at a dose of 50µg / kg / injection for 5 days in adults experimental mice, the CBC, the anogenital distance, body weight and the relative weight of the internal organs of mice, except ovaries who suffered a reduction in their relative weight.

Keywords: DEHP, blood count, indeed, anogenital distance, weight

تهدف هذه الدراسة الى معرفة مدى تأثير DEHP (الفثالات) على كريات الدم؛ معايير التطور عند الفئران البالغين من بينهم : الوزن الجسمي؛ الوزن النسبي للكبد؛ الكلى؛ النسيج الدهني؛ الرئة؛ المبيضين و المسافة الشرجية التناسلية. و أظهرت نتائج هذه الدراسة؛ عدم وجود أي تأثير ل DEHP عند الحقن بجرعة 50/ميكروغرام/كلغ للفئران البالغين على كريات الدم؛ المسافة الشرجية التناسلية؛ وزن الجسم؛ الوزن النسبي للأعضاء الداخلية للفئران؛ باستثناء المبيض الذي عانى من انخفاض في الوزن النسبي.

الكلمات المفتاحية : DEHP؛ فحص الدم؛ تأثير؛ المسافة الشرجية التناسلية؛ الوزن.