

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قلمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 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 Biologiques

Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Etude des effets Biologiques des Trihalométhanes (THM)

Présenté par :

- Bourara Besma
- Grendou Taiba
- Hamici Yousra

Devant le jury composé de :

Présidente :	Drif Fahima	MCA	Université de Guelma
Examineur :	Benouareth Djemel Eddine	Pr.	Université de Guelma
Encadrante :	Khallef Messaouda	MCA	Université de Guelma
Invitée :	Chahat Nora	MCB	Université de Guelma

Jun 2023

Remerciements

A Madame Khallef Messaouda

Nous tenons à vous remercier du fond du cœur pour votre encadrement durant la réalisation de ce travail.

Nous sommes reconnaissantes de votre disponibilité et de votre volonté de répondre à nos questions. Vos conseils précieux nous ont aidés à progresser dans nos travaux de recherche et à améliorer nos compétences en laboratoire.

Votre approche pédagogique et votre bienveillance ont créé un environnement propice à l'apprentissage. Grâce à vous, nous avons acquis une solide base de connaissances et développé notre confiance en nous.

Encore une fois, merci infiniment pour votre encadrement exceptionnel. Nous vous souhaitons tout le succès et le bonheur dans toutes vos entreprises futures.

Avec gratitude.

Remerciements

A Madame Drif Fahima

Nous sommes honorés de vous avoir parmi les membres de notre jury. Votre modestie et votre expertise sont des exemples concrets de l'importance morale de notre profession.
Veuillez trouver ici, Madame, l'expression de nos sincères remerciements.

Remerciements

A Monsieur Benouareth Djemel Eddine

On vous remercie en premier lieu d'avoir accepté de siéger à ce jury. Votre passion et votre dévouement ont créés un environnement propice à l'apprentissage. Vos cours stimulants ont renforcé nos connaissances et nos compétences dans ce domaine.

Remerciements

A Madame Chahat Nora

Un immense merci d'avoir été présente lors de notre soutenance. Votre soutien et vos précieux conseils ont été d'une grande importance pour nous. Nous vous sommes extrêmement reconnaissantes de votre contribution à notre réussite.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

À *mon père*, figure emblématique de sagesse et de dévouement, je serais toujours reconnaissante pour ton amour inconditionnel.

À *ma mère*, pilier indéfectible de ma vie, source d'amour et d'inspiration, Ta force, ta bienveillance et ta volonté infatigable de me voir réussir ont été une source inépuisable de motivation.

À *ma deuxième mère Khuila*, ma meilleure conseillère qui n'a jamais cessé de croire en moi et en mes ambitions.

À *mon oncle Khali Ismaël*, dont les conseils éclairés et le soutien inébranlable ont illuminé mon chemin vers la réussite.

À mes collègues de confiance, *Taïba et Yousra*, avec qui j'ai partagé des moments précieux d'apprentissage, de collaboration et d'encouragement mutuel,

Et à mes sœurs de cœur, *Amira, Chouchou, Sara, Nada, Soundous et Yousra*, qui ont été mes complices et confidentes tout au long de cette aventure.

Chacun de vous a contribué à ma réussite académique de manière unique et significative. Votre présence dans ma vie a été un moteur d'inspiration et de motivation. Vos paroles encourageantes, vos conseils avisés et votre soutien indéfectible ont été des piliers solides sur lesquels je me suis appuyé tout au long de ce voyage.

Dédicaces

Avec tous mes sentiments de respects, je dédie mon travail :

Ma Grande Mère **Rachida** : Tes prières font de moi aujourd'hui tout ce que je suis. Puisse Allah vous accorder une très longue vie.

A ceux qui m'a fait une femme, la source de ma joie et mon bonheur, à mon support qui étais toujours à mes côtés mes chers PARENTS je vous aime de tous mon être.

Celui à qui mon bonheur est lié au sien la personne la plus spéciale de ma vie mon frère **Seif**, Être votre sœur est certainement l'un des cadeaux les plus inestimables de ma vie aucune richesse ne peut remplacer, les meilleurs souvenirs de ma vie sont c'est qui avec toi. Merci d'être toujours gentil avec moi et ne m'a jamais jugé et a était toujours fier de moi.

Les meilleurs de tout le temps **Inès, Yousra** qui m'ont accompagné tout au long de ma carrière universitaire et nous avons partagé des rires, des larmes, des hautes et des bas ensembles nous avons affronté chaque défi que la vie nous a lancé partager ce moment important de ma vie avec des gens comme vous c'est une bénédiction j'ai tellement de chance de t'avoir dans ma vie Je ne pourrais pas être ici sans vous les gars.

A mes chère **Chahinez, Safa** et mes cousines **Nesrine et Nour**, je ne peux pas exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendre envers vous.

A mes petits FARAH, MALEK et SAMER.

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père LAZHER.

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère MOUNIA.

À ma chère sœur Imene et mon cher frère Zinou qui n'ont pas cessée de m'encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

À mon oncle et ma tante Hajer, mes cousines et mes copines Darine, Safa, Amira Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie, pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon trinôme Taïba et Ines pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet.

Yousra

Sommaire

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
ملخص	iii
Liste des figures	iv
Liste des tableaux	v
Introduction	1

PARTIE I : Revue Bibliographique

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalométhanes

1. Définition	3
1.1. Bromoforme	3
1.2. Chloroforme	3
2.Sources, expositions, pharmacocinétique et pharmacodynamique des THMs	4
2.1. Sources	4
2.1.1. Concentrations de THMs dans l'air et les produits alimentaires.....	5
2.2. Voies d'absorption	5
2.3. Pharmacocinétique et métabolisme	6
2.4. Données toxicologiques et épidémiologiques	6
2.4.1. Toxicité aiguë	6
2.4.2. Toxicité chronique	7
2.5. Effets sur la reproduction et le développement	7
2.6. Effets cancérigènes	8
2.7. Effets sur la dialyse	9
3.Mesures de contrôle disponibles	9
3.1. Mesures communautaires	9
3.2. Mesures individuelles	10

Sommaire

CHAPITRE II : Génotoxicité

Introduction	12
1. Génotoxicité des trihalométhanes	12
1.1. Preuve d'effets génotoxiques sur divers organismes.....	12
1.1.1. Systèmes cellulaires bactériens et mammaliens	12
1.1.2. Organismes aquatiques	12
1.1.3. Organismes multicellulaires	12
2. Classification végétale pour les études de génotoxicité	13
2.1. Importance des essais de génotoxicité sur les plantes.....	13
2.2. Espèces végétales utilisées en tests de génotoxicité.....	13
2.3. Facteurs influençant la sélection des espèces végétales.....	17
3. <i>Allium cepa</i>	18
3.1. Description de l' <i>Allium cepa</i>	18
3.2. Avantages d' <i>Allium cepa</i> dans l'étude des effets génotoxiques	20
4. Analyse comparative des avantages et limitations des tests de génotoxicité.....	21

PARTIE II : Expérimentation

CHAPITRE I : Matériel et Methodes

1. Matériel utilisé	33
1.1. Produits chimiques testés	33
1.2. Matériel biologique utilisé	33
2. Méthode d'étude : Test anaphase-télophase <i>Allium cepa</i>	33
2.1. Préparation des bulbes d'oignon	33
2.2. Germination des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	34
2.3. Mise en contact avec les substances à tester	34
2.4. L'élongation racinaire	34
2.5. Fixation et conservation des extrémités racinaires	34
2.6. La conservation des racines	35
2.7. Préparation des lames	35
2.8. Examen microscopiques des lames	36
3. Analyse statistique des données.....	32

Sommaire

CHAPITRE II : Resultats et Discussion

1. L'Indice mitotique	39
2. Aberrations chromosomiques	40
Conclusion	39
Références Bibliographiques	40
Annexes.....	47

Liste des figures

Figure 1 : Images de divers tissus végétaux d' <i>Arabidopsis thaliana</i>	14
Figure 2: Détails de <i>Vicia Faba</i>	15
Figure 3: <i>Tradescantia boliviana</i>	16
Figure 4: Composition de l' <i>Allium cepa</i>	19
Figure 5: Préparation des bulbes d'oignon	33
Figure 6: Germination des bulbes d' <i>Allium cepa</i>	34
Figure 7: Fixation des extrémités racinaires	35
Figure 8: Coloration au Feulgen des échantillons	36
Figure 9: Observation des lames au microscope	37
Figure 10: Histogramme représentant l'IM des racines traitées.	39
Figure 11: Phases de la mitose.....	40
Figure 12: Histogramme des aberrations chromosomiques des différents produits.....	41
Figure 13: Différentes aberrations observées sous microscope.....	42

Liste des tableaux

Tableau 1: Analyse comparative des tests <i>In vitro</i>	21
Tableau 2: Analyse comparative des tests <i>In vivo</i>	23

Liste des abréviations

% : Pourcentage

A .cepa : Allium cepa

AC : aberration chromosomique

ADN : Acide désoxyribonucléique

BDCM: le bromodichlorométhane

CHBr₃ : Le bromoforme

CHBrCl₂: le bromodichlorométhane

CHCl₃: Le chloroforme

CHClBr₂: le chlorodibromométhane

COD : le carbone organique dissout

DBCM: dibromochlorométhane

NOM: la matière organique naturelle

OMS : organisation mondiale de la santé

THMs : Les Trihalométhanes

Résumés

Résumé :

Cette étude utilise l'*Allium cepa* comme modèle d'évaluation des effets cytotoxiques et génotoxiques des trihalométhanes (THMs), des composés chimiques présents dans l'eau traitée au chlore et pouvant représenter un risque pour la santé humaine. Les bulbes d'oignon ont été exposés aux THMs (Bromoforme et Chloroforme) à différents temps, ainsi qu'à des témoins négatifs et positifs. Les résultats obtenus, notamment en termes d'élongation racinaire, d'indice mitotique et d'aberrations chromosomiques, démontrent de manière statistiquement significative à ($P < 0,05$) le potentiel cytotoxique déterminé par l'inhibition de l'élongation racinaire ainsi que par la régression de l'indice mitotique. Le potentiel génotoxique des concentrations testées du chloroforme est du bromoforme est exprimé principalement par des C-métaphases, l'apparition de cellules binucléées et la polyploïdie. Ces résultats viennent confirmer une fois de plus les risques associés à ces composés pour la santé humaine.

Mots clés :

Trihalométhanes, Chloroforme, Bromoforme, Genotoxicité, Cytotoxicité.

Abstract:

This study uses *Allium cepa* as a model to assess the cytotoxic and genotoxic effects of trihalomethanes (THMs), chemical compounds present in chlorine-treated water that may represent a risk to human health. Onion bulbs were exposed to THMs (Bromoform and Chloroform) at various times, as well as to negative and positive controls. The results obtained, notably in terms of root elongation, mitotic index, and chromosomal aberrations, demonstrate statistically significant ($P < 0.05$) cytotoxic potential as determined by inhibition of root elongation and regression of the mitotic index. The genotoxic potential of the tested concentrations of chloroform and bromoform is expressed by C-metaphases, the appearance of binucleate cells and polyploidy. These results confirm once again the risks associated with these compounds for human health.

Key-words :

Trihalomethanes, Chloroform, Bromoform, Genotoxicity, Cytotoxicity.

ملخص

تستخدم هذه الدراسة *Allium cepa* كنموذج لتقييم التأثيرات السامة للخلايا والسمية الجينية لمركبات ثلاثي الميثان (THMs)، وهي مركبات كيميائية موجودة في المياه المعالجة بالكلور والتي قد تمثل خطرًا على صحة الإنسان. تم تعريض بصيالات البصل لمركبات THM (بروموفورم وكلوروفورم) في أوقات مختلفة وكذلك الضوابط السلبية والإيجابية. النتائج التي تم الحصول عليها، لا سيما من حيث استطالة الجذر، مؤشر الانقسام والانحرافات الصبغية، تظهر بطريقة ذات دلالة إحصائية ($P < 0.05$) القدرة السامة للخلايا التي يحددها تثبيط استطالة الجذر وكذلك من خلال انحدار مؤشر الانقسام. يتم التعبير عن الإمكانيات السامة للجينات للتركيزات المختبرة من الكلوروفورم والبروموفورم بشكل رئيسي من خلال C-metaphases وظهور الخلايا ثنائية النواة وتعدد الصبغيات. تؤكد هذه النتائج مرة أخرى المخاطر المرتبطة بهذه المركبات على صحة الإنسان.

الكلمات المفتاحية:

المركبات ثلاثيات الميثان، كلوروفورم، بروموفورم، السمية الجينية، السمية الخلوية.

Introduction

Introduction

L'eau potable est essentielle à notre survie et à notre bien-être, mais elle peut également contenir des substances potentiellement nocives pour la santé humaine. Parmi ces substances, les trihalométhanes (THMs) sont des composés chimiques couramment présents dans l'eau traitée par chloration. Les THMs sont utilisés comme agent désinfectant et les matières organiques présentes dans l'eau. Ces composés soulèvent des préoccupations quant à leurs effets biologiques sur la santé humaine (**Richardson et al. 2007**).

L'étude des effets biologiques des trihalométhanes constitue donc un domaine de recherche crucial dans le domaine de la santé environnementale et de la qualité de l'eau potable. Comprendre les conséquences que les THMs peuvent avoir sur notre organisme est essentiel pour évaluer les risques et développer des stratégies de gestion de l'eau qui minimisent leur présence et leurs effets néfastes.

Les effets des trihalométhanes sur la santé ont suscité une attention croissante en raison de leur potentiel cancérigène et de leur impact sur différents systèmes biologiques. Des études épidémiologiques ont associé l'exposition prolongée aux THMs à un risque accru de cancer de la vessie, du côlon et du rectum, ainsi qu'à des effets sur la reproduction, le développement fœtal, le système immunitaire et le système nerveux (**Rivera-Núñez et al. 2012**).

Les principaux types de THMs présents dans l'eau potable sont le chloroforme, le bromodichlorométhane, le dibromochlorométhane et le bromoforme. Chacun de ces composés peut avoir des effets biologiques différents, et leur concentration dans l'eau doit être soigneusement évaluée pour comprendre leur impact sur la santé humaine.

Les tests biologiques à base de plantes sont des outils sophistiqués qui évaluent les altérations génétiques et les effets mutagènes des agents chimiques ou physiques. Ils permettent de détecter précocement les lésions génomiques, quantifier les aberrations chromosomiques et mesurer les mutations, contribuant ainsi à l'évaluation rigoureuse de la génotoxicité et de la mutagénicité pour protéger l'environnement et la santé publique.

Dans ce mémoire, nous nous concentrerons sur l'étude des effets biologiques des trihalométhanes et de leurs sous-types spécifiques sur la santé humaine. Nous examinerons les mécanismes d'action potentiels des THMs, en mettant l'accent sur leur capacité à induire des dommages génétiques, des perturbations hormonales et des altérations cellulaires. De

plus, nous analyserons les méthodes de détection et d'analyse des THMs dans l'eau potable, ainsi que les réglementations et les recommandations en matière de concentration maximale admissible.

En conclusion, cette étude vise à approfondir notre compréhension des effets biologiques des trihalométhanes sur la santé humaine, en mettant l'accent sur les mécanismes d'action et les implications pour la gestion de l'eau potable. Les résultats de cette recherche contribueront à l'élaboration de mesures de prévention et de contrôle plus efficaces visant à réduire l'exposition aux THMs et à assurer une eau potable plus sûre pour tous.

PARTIE I :
Revue Bibliographique

CHAPITRE I :
Généralités sur les
trihalométhane

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

1. Définition :

L'ensemble des composés qui se forment lors du processus de désinfection de l'eau sont collectivement appelés sous-produits de désinfection (SPD). Les trihalométhanes (THMs) sont des sous-produits de désinfection qui se forment lorsque le chlore (ou un produit à base de chlore) est utilisé comme désinfectant.

Les THMs que l'on trouve couramment dans l'eau destinée à la consommation humaine sont : le chloroforme, le bromodichlorométhane (BDCM), le dibromochlorométhane (DBCM) et le bromoforme, le chloroforme étant généralement le principal composant.

De nombreux trihalométhanes sont considérés comme dangereux pour la santé et suspectés comme cancérigènes. La directive de la Communauté européenne sur l'eau potable stipule que l'eau utilisée pour la consommation humaine ne doit pas dépasser 100 µg / l de THM totaux et la réglementation américaine indique un niveau maximal de 80 µg / l de THM totaux (**MultiSensor Systems, 2016.**).

Les trihalométhanes (THMs) sont des composés constitués d'un seul atome de carbone lié à des halogènes, de formule générale CHX_3 , où X est habituellement du chlore, du brome ou une combinaison de ces deux éléments.

1.1. Bromoforme :

Le bromoforme ($CHBr_3$) est un liquide jaunâtre pâle avec une odeur sucrée semblable au chloroforme. Il est soluble dans environ 800 parties d'eau et miscible avec l'alcool, le benzène, le chloroforme, l'éther, l'éther de pétrole, l'acétone et les huiles. Il est également ininflammable et s'évapore facilement dans l'air. Le bromoforme est produit naturellement par le phytoplancton et les algues dans l'océan et on pense que c'est la source prédominante dans l'environnement (**Bingham et al 2001**).

1.2. Chloroforme :

Le chloroforme (ou trichlorométhane) est produit par l'action de l'hypochlorite de sodium, a pour formule brute $CHCl_3$. C'est un liquide incolore, très volatil, et dont l'odeur douceâtre est caractéristique. Il a été découvert à peu près simultanément par Samuel Guthrie (États-Unis), Justus von Liebig (Allemagne) et Eugène Soubeiran (France) en 1831. Sa caractérisation et sa

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

dénomination, chloroforme (radical form(y)l)e = dérivé de l'acide formique), sont dues au chimiste, académicien et ministre, Jean-Baptiste Dumas (1834) (**Produits SCF, 2011.**).

2. Sources, expositions, pharmacocinétique et pharmacodynamique des THMs :

2.1. Sources :

Les THMs sont générés lors de la désinfection de l'eau, par réaction du chlore (ou du dioxyde de chlore / hypochlorite) avec la matière organique naturelle (NOM) présente dans l'eau, comme l'acide humique et l'acide fulvique. La concentration de THMs dans l'eau dépendra de la quantité de chlore présent, du temps de contact du chlore avec la matière organique, de la quantité de matière organique, de la concentration de bromures dans l'eau, du pH et de la température.

Selon les informations disponibles, pour la population générale, la principale source d'exposition aux THMs est l'eau utilisée à des fins de consommation et à d'autres fins domestiques (lessive, douche, bain, etc.). On a rapporté que l'addition d'agent de blanchiment chloré au moment de la lessive favorise également la formation de chloroforme et constitue une autre source d'exposition significative aux sous-produits de la chloration (**Shepherd et al 1996**).

L'alimentation, notamment l'ingestion de boissons produites avec de l'eau traitée, pourrait aussi être une source d'exposition aux trihalométhanes (**Santé Canada 2003**). La pratique de la natation dans les piscines dont l'eau a été désinfectée au moyen de chlore représente enfin une source d'exposition non négligeable aux THMs (**Nieuwenhuijsen et al. 2000; B. Lévesque et al. 1994**).

Les THMs ne représentent toutefois qu'une fraction des produits qui peuvent se former lors de la chloration de l'eau. Parmi les autres sous-produits susceptibles d'être formés, on retrouve des acides acétiques halogénés, des acétonitriles halogénés, des cétones halogénées, des aldéhydes chlorés, des chlorophénols, du trichloronitrométhane (chloropicrine) (**Cumming et al. 1993**).

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

2.1.1. Concentrations de THMs dans l'air et les produits alimentaires

Les concentrations de THMs (et autres sous-produits de la chloration) peuvent être très variables d'un réseau à l'autre. En général, les concentrations les plus élevées se retrouvent dans l'eau traitée provenant de sources à fortes teneurs en matières organiques, comme les lacs et les rivières, et les concentrations les plus faibles, dans les sources souterraines (**Milot, Rodriguez, and Sérodes 2000; Santé Canada 2003**).

Les teneurs en THMs peuvent donc varier de façon importante en fonction de la matière organique (COT) mais également en fonction d'autres paramètres de la qualité de l'eau tels les bromures, le pH, l'ammoniac, l'alcalinité et la température. Les paramètres de traitement (enlèvement de la matière organique avant le point d'application du désinfectant, type de désinfectant, dose de désinfectant, temps de contact) et la saison (les concentrations sont généralement plus élevées en été et plus faibles en hiver) influencent aussi les concentrations de THM dans l'eau (**Laferrière et al. 1999; Rivera-Núñez et al. 2012**).

Les concentrations de THMs et autres sous-produits de la chloration sont soumises à des variations spatio-temporelles à l'intérieur d'un réseau (**Rodriguez et al. 2001; Chen et al. 1998**). Les variations saisonnières des teneurs de THMs dans l'eau traitée sont principalement dues aux variations de température de l'eau mais également au type de matière organique (**Rodriguez et al. 2001**). On constate également que les niveaux les plus élevés de THMs sont mesurés à l'extrémité du réseau (**Rodriguez et al. 2001; Chen et al. 1998**). Cette variation spatiale serait attribuable à la réaction du chlore résiduel libre avec la matière organique notamment le biofilm fixé sur les parois des conduites (**Rossmann et al. 2001**).

2.2. Voies d'absorption :

L'ingestion constitue une voie importante d'absorption des THM contenus dans l'eau du robinet. L'utilisation de l'eau à des fins domestiques, particulièrement lors de la prise de douches et de bains, contribue également à l'absorption des THM par inhalation et par contact cutané (**Benoît Lévesque et al. 2002; Backer et al. 2000 ; Chen et al. 1998; Weisel et al. 1990**). Pour des concentrations de chloroforme dans l'eau inférieures à 50 µg/l, l'absorption par inhalation et contact cutané lors de la prise d'une douche de 10 minutes

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

serait égale ou supérieure à l'absorption par ingestion d'un litre d'eau chlorée (**Backer et al. 2000; Chen et al. 1998; Weisel et al. 1990**).

Cependant, même si les doses absorbées sont du même ordre, elles ne sont pas nécessairement équivalentes d'un point de vue toxicologique (**Blancato et al. 1993**). En effet, les THMs absorbés par ingestion sont en bonne partie métabolisés lors du premier passage au foie alors que ceux inhalés ou absorbés par voie cutanée se retrouvent directement dans la circulation sanguine (**Chen et al. 1998**).

Par ailleurs, l'inhalation et le contact cutané ne sont pas des voies d'absorption significatives pour tous les sous-produits de la chloration. À titre d'exemple, les acides acétiques halogénés, qui sont les sous-produits les plus communs après les THMs, sont non volatils (**Xu et al. 2003; Kim et al. 1999**) et possèdent un faible coefficient de perméabilité au niveau cutané (**Trabaris et al. 2001**). Par conséquent, pour ces substances, l'ingestion d'eau demeure de loin la principale voie d'exposition.

2.3. Pharmacocinétique et métabolisme :

Les THMs ingérés sont absorbés au niveau gastro-intestinal. À cause de sa grande volatilité, le chloroforme peut également être absorbé par les poumons. Une fois absorbés, les concentrations de THM les plus importantes se retrouvent dans les tissus adipeux, le foie et les reins. Une partie des THMs absorbés est exhalée sous forme inchangée. Le reste est oxydé en composés dihalocarboxyliques très réactifs (ex. phosgènes, chlorobromocarboxyles) puis hydrolysé en dioxyde ou monoxyde de carbone avant d'être expiré. Les données suggèrent que ces composés dihalocarboxyliques seraient responsables des effets toxiques des THMs (**World Health Organization 2000; Santé Canada 2003**).

2.4. Données toxicologiques et épidémiologiques :

2.4.1. Toxicité aiguë :

La toxicité aiguë des THMs chez l'animal se caractérise par une dépression du système nerveux central et par des manifestations cardiaques. Le foie et les reins peuvent également être atteints. Les concentrations mesurées dans l'eau potable sont toutefois beaucoup trop faibles pour provoquer de tels effets chez l'humain (**World Health Organization 2000; Santé Canada 2003**).

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

Parmi tous les constituants des THMs, on ne retrouve des doses toxiques aiguës chez l'humain que pour le bromoforme, substance utilisée au siècle dernier comme sédatif pour contrôler la toux. À partir des observations faites chez les enfants, la dose létale pour le bromoforme a été estimée à 300 mg/kg de poids corporel par jour alors que la dose minimale induisant une légère sédation est de 54 mg/kg de poids corporel par jour (**World Health Organization 2000**). Cette dose est, de façon approximative, 5000 fois plus élevée que celle à laquelle la population est généralement exposée.

2.4.2. Toxicité chronique :

Une exposition prolongée à de fortes doses de THMs peut entraîner une toxicité hépatique et rénale. Chez l'animal, ces effets peuvent être observés lorsque les doses sont de l'ordre de plusieurs mg par kg de poids corporel (**World Health Organization 2000**). Compte tenu des faibles concentrations généralement mesurées dans l'eau potable, il est peu probable d'observer de tels effets chez l'humain.

2.5. Effets sur la reproduction et le développement :

Le nombre d'études toxicologiques et épidémiologiques ayant examiné les effets potentiels des sous-produits de la chloration sur la reproduction et le développement du fœtus est relativement restreint comparativement aux recherches sur la cancérogenèse de ces produits.

Des malformations congénitales, un faible poids à la naissance et la mort d'embryons, ont toutefois été observés après l'administration de fortes doses de différents sous-produits de la chloration (principalement des acides acétiques halogénés et des acétonitriles halogénés) chez l'animal. Par ailleurs, un nombre grandissant d'études épidémiologiques soulève la possibilité d'une faible association entre l'exposition aux THMs par la consommation d'eau potable pendant la grossesse et certains effets comme des retards de la croissance fœtale, des avortements spontanés et des malformations congénitales (**Dodds et al. 2001; Nieuwenhuijsen et al. 2000; Mills et al. 1998**).

Cependant, les preuves appuyant les effets sur la reproduction et le développement chez l'humain associés à l'exposition aux sous-produits de la chloration demeurent minces et les études faites jusqu'à ce jour ne permettent pas de confirmer le lien de cause à effet (**Mills et al. 1998**).

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

2.6. Effets cancérigènes :

Compte tenu des difficultés liées à l'étude chez l'animal des effets associés à des mélanges de sous-produits générés par la chloration, l'évaluation de la cancérogénicité des sous-produits s'est faite principalement sur chaque substance individuelle, avec une emphase particulière sur le chloroforme et ce, en raison des niveaux élevés de ce produit retrouvés dans l'eau. Dans l'ensemble, les principaux types de tumeurs observés chez les rongeurs (rat et souris) exposés à des THM ou à des acides acétiques sont le cancer du foie, des reins et du colon (**Boorman 1999; Mills et al. 1998**).

De nombreuses études épidémiologiques ont été réalisées afin d'évaluer le risque de cancer chez les populations exposées à ces produits. Jusqu'à maintenant, seul un excès de cas de cancer de la vessie a été observé de façon assez constante chez les consommateurs d'eau chlorée (**King 2001; World Health Organization 2000**). Cet excès est toutefois faible ($RR \leq 1,5$) et a été principalement observé chez les populations exposées pendant de nombreuses années (20 années ou plus). Cependant, plusieurs contradictions ont été observées entre les études concernant le lien de causalité (**World Health Organization 2000; Mills et al. 1998**). Les données portant sur d'autres cancers (principalement colon et rectum) sont encore moins probantes.

Cependant, vu la grande taille des populations exposées, un faible risque relatif pourrait toutefois être responsable d'un nombre important de cas (**Mills et al. 1998; Levallois et al. 1997**). À titre d'exemple, l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (US EPA) (**United States Environmental Protection Agency, 1998**) estime, à partir des données épidémiologiques, que le nombre de cancers de vessie attribuable à la chloration de l'eau pourrait (en cas de lien causal) représenter entre 2 et 17 % des nouveaux cas chaque année.

Les sous-produits de la chloration sont également associés à des effets mutagènes. De nombreuses études ont démontré que c'est principalement la fraction acide non volatile des sous-produits de la chloration qui est responsable de ces effets (**Meier, 1988**). Aussi, une forte corrélation entre la teneur en MX de l'eau de consommation et l'activité mutagène a été mise en évidence par Wright et ses collaborateurs (**Wright et al. 2002**).

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

2.7. Effets sur la dialyse :

Pour une seule séance de dialyse, 90 à 200 litres d'eau peuvent être nécessaires. Ceci représente annuellement, pour chaque patient dialysé, un volume de près de 20 000 litres, soit 20 à 30 fois ce qui est apporté par l'alimentation.

Un des inconvénients liés à cette technique réside dans le fait que les substances circulent dans les deux sens au niveau de la membrane. Ainsi, les impuretés présentes dans l'eau utilisée pour préparer le dialysat, peuvent passer dans le sang des sujets et provoquer de graves troubles. L'illustration de ce risque nous est donnée par les cas d'encéphalopathies qui ont été décrits chez les sujets dialysés (**Salas et al. 2013**).

3. Mesures de contrôle disponibles :

3.1. Mesures communautaires :

Les mesures mises en place pour limiter la formation de sous-produits de la chloration dans l'eau de consommation ne doivent aucunement se faire au détriment de l'efficacité de la désinfection puisque cela constituerait un risque inacceptable. Aussi, on considère que la meilleure méthode pour contrôler les sous-produits de la chloration consiste à diminuer la matière organique de la source d'eau avant la désinfection, afin d'éviter qu'elles ne réagissent avec le chlore pour former des sous-produits. La réduction de la matière organique présente deux bénéfices importants. Elle permet d'accroître l'efficacité de la désinfection et réduit la formation de sous-produits organiques chlorés.

D'une manière générale, une filière de traitement qui comporte les étapes suivantes : floculation, décantation-filtration, permet de réduire la matière organique, plus précisément le carbone organique dissout (COD), et par conséquent les précurseurs des sous-produits de la chloration (**Trabaris et al. 2001**).

D'autres procédés de traitement comme la nanofiltration s'avèrent également intéressants tant dans la réduction des précurseurs que dans l'élimination des micro-organismes. Dans les petits réseaux, il est également possible de réduire les concentrations de sous-produits en optant pour une eau souterraine plutôt que pour une eau de surface. Le remplacement du chlore par d'autres désinfectants comme l'ozone ou le dioxyde de chlore à

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

certaines étapes de la désinfection peut également permettre de réduire la teneur en THMs de l'eau.

Cependant, modifier les stations de traitement de l'eau pour utiliser l'ozone peut s'avérer très coûteux. De plus, l'utilisation de l'ozone entraîne la formation d'autres sous-produits qui peuvent être néfastes pour la santé s'ils ne sont pas contrôlés (ex. formaldéhyde et bromate). Quant au dioxyde de chlore, il peut également former d'autres sous-produits de désinfection dont les effets sur la santé sont encore inconnus (**Santé Canada 2003**). Compte tenu de ces informations, il demeure que le chlore est un désinfectant de choix car facile à utiliser, peu coûteux et ayant un pouvoir désinfectant persistant. Souvent essentiel pour contrôler la recroissance bactérienne, il assure également un chlore résiduel dans le réseau de distribution.

3.2. Mesures individuelles :

Les appareils de traitement de l'eau par charbon activé permettent normalement de réduire de façon importante les concentrations de THMs dans l'eau potable (**Levallois, P. 1997; Santé Canada 2003**). Santé Canada recommande, aux consommateurs qui désirent se procurer de tels appareils, l'achat d'un dispositif de traitement de l'eau certifié conforme à une des normes de rendement en matière de santé ANSI/NSF (**Santé Canada, 2003**). Si un dispositif de filtration est utilisé, il est toutefois essentiel de l'entretenir soigneusement car ces appareils peuvent non seulement se saturer et devenir inefficaces mais peuvent également devenir une source de contamination bactérienne de l'eau (**Clerk 1999**).

Ces mesures ne peuvent cependant réduire que de façon partielle l'exposition aux sous-produits de la chloration (à moins d'installer le filtre à l'entrée d'eau de la résidence) puisque l'utilisation de l'eau à des fins domestiques (lessive, douche, bain, etc.) représente une source d'exposition significative aux THMs.

L'exposition aux THMs peut également être réduite en partie en assurant une bonne ventilation de la maison et plus particulièrement de la salle de bain. Aussi, Lévesque et ses collaborateurs (**Benoît Lévesque et al. 2002**) souligne que la charge corporelle de chloroforme générée par la prise d'un bain de 10 minutes serait moins importante que celle induite par une douche de même durée. L'utilisation d'une eau plus froide lors de la prise

CHAPITRE I : Généralités sur les trihalomethanes

d'une douche ou d'un bain (Rossman et al. 2001) représente un autre moyen simple qui peut être pris pour réduire l'absorption du chloroforme par voie cutanée.

Enfin, compte tenu que les concentrations de THMs et autres sous-produits de la chloration sont maximales en été (mai à octobre), on peut présumer que les bénéfices associés à l'application de mesures visant à réduire son exposition aux THMs et aux autres sous-produits de la chloration seront maximaux pendant la période estivale. Pendant les périodes chaudes, il est généralement facile d'assurer une bonne ventilation en ouvrant les fenêtres et en prenant des douches avec de l'eau plus froide.

Bien que certaines études aient démontré que le fait de faire bouillir l'eau pouvait entraîner une diminution des concentrations de THMs et d'autres sous-produits dans l'eau (**Chen et al. 1998; Kuo et al. 1997**), cette méthode ne constitue pas une mesure permettant d'éliminer adéquatement les sous-produits de la chloration. De plus, la préparation de breuvages chauds (thé, café) peut entraîner la formation de certains sous-produits comme des acides acétiques halogénés (**Balko et al. 2001**).

Les THMs peuvent également être partiellement éliminés en aérant simplement l'eau dans un mélangeur (Santé Canada 2003). Cependant, le principe de volatilisation ne contribuera qu'à faire passer les THMs d'un milieu à un autre, soit de l'eau à l'air, sans toutefois les éliminer complètement. On doit également prendre en considération le fait que la fraction acide non volatile des sous-produits de la chloration a souvent été associée au pouvoir mutagène et que cette fraction n'est pas réduite par l'ébullition ou l'aération (**Meier, 1988**).

CHAPITRE II :

Génotoxicité

Introduction :

La génotoxicité est une branche de la recherche en toxicologie qui étudie les agents susceptibles de causer des dommages génétiques. Elle englobe plusieurs disciplines telles que la biologie moléculaire, la génétique, la toxicologie et l'épidémiologie.

1. Génotoxicité des trihalométhanes :

1.1. Preuve d'effets génotoxiques sur divers organismes

Plusieurs études ont étudié les effets génotoxiques des THM sur divers organismes. Les points suivants mettent en évidence les preuves à l'appui de la génotoxicité des THM :

1.1.1. Systèmes cellulaires bactériens et mammaliens :

La recherche a mis en évidence la génotoxicité des systèmes cellulaires bactériens et mammaliens exposés aux THM. Des études menées *in vitro* ont démontré les effets génotoxiques des THM sur ces systèmes cellulaires, indiquant leur capacité à causer des dommages à l'ADN (Stocker et al. 1997). Ces résultats soulignent les dangers des THM et la nécessité de poursuivre les recherches.

1.1.2. Organismes aquatiques :

Les effets génotoxiques des THM sur les organismes aquatiques ont également été étudiés. Bien que l'effet génotoxique des THM sur les organismes aquatiques dans les environnements naturels reste controversé, une méta-analyse de 44 études individuelles a révélé des preuves suggérant des effets génotoxiques des microplastiques, qui peuvent agir comme des porteurs de THM, sur les organismes aquatiques (Sun et al. 2021). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre pleinement la génotoxicité des THM dans les écosystèmes aquatiques.

1.1.3. Organismes multicellulaires :

Des études ont également porté sur les effets génotoxiques des THM sur les organismes multicellulaires. Par exemple, une étude analysant la génotoxicité de l'arsenic, qui est souvent associé aux THM, a montré qu'il induisait des modifications de la méthylation de l'ADN et une génotoxicité dans les globules blancs (Nava-Rivera et al. 2021). Cela indique que

l'exposition aux THM peut entraîner des conséquences génotoxiques sur les organismes multicellulaires, y compris des effets potentiels sur les paramètres de reproduction.

2. Classification végétale pour les études de génotoxicité :

Les études de génotoxicité jouent un rôle important dans l'évaluation des effets nocifs potentiels de divers composés sur les organismes vivants, y compris les plantes. Lors de la réalisation de ces études, la sélection appropriée des espèces végétales est essentielle pour obtenir des résultats significatifs et pertinents. Cette section se concentre sur la classification végétale utilisée dans les études de génotoxicité, en mettant l'accent sur les espèces végétales utilisées et les facteurs influençant leur sélection.

2.1. Importance des essais de génotoxicité sur les plantes

Les essais de génotoxicité sur les plantes ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur simplicité, de leur rentabilité et de leur pertinence dans l'évaluation du potentiel génotoxique de différentes substances (**Maluszynska et al. 2005**). Ces essais fournissent des informations précieuses sur l'impact des substances sur le matériel génétique des plantes, notamment les lésions de l'ADN, les aberrations chromosomiques et les effets cytogénétiques. En outre, les essais sur les plantes peuvent servir de bioindicateurs efficaces pour les études de génotoxicité environnementale (**Ahmad et al. 2021**). Il est donc essentiel de sélectionner les espèces végétales appropriées pour les études de génotoxicité des THM afin d'obtenir des résultats précis et significatifs.

2.2. Espèces végétales utilisées en tests de génotoxicité

Dans les tests de génotoxicité, différentes espèces végétales peuvent être utilisées pour évaluer les effets nocifs des composés testés sur l'ADN et les processus cellulaires. La sélection des espèces appropriées dépend de plusieurs facteurs, notamment la disponibilité, la facilité de manipulation, la sensibilité aux substances génotoxiques et la représentativité écologique. Certaines espèces végétales couramment utilisées dans les tests de génotoxicité comprennent :

CHAPITRE II : Genotoxicité

1. *Arabidopsis thaliana* : L'*Arabidopsis thaliana*, également connue sous le nom de moutarde des jardins, est une espèce modèle largement utilisée en recherche végétale. Elle présente de nombreux avantages, tels qu'une petite taille, un cycle de vie court et un génome bien caractérisé, ce qui en fait un organisme modèle idéal pour les études de génotoxicité (Sponchiado et al. 2016).

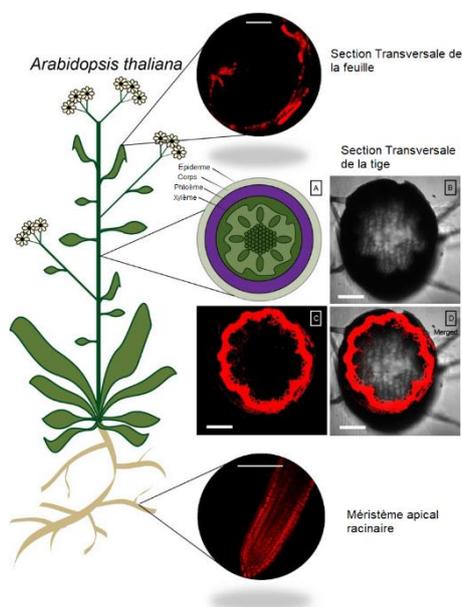


Figure 1 : Images de divers tissus végétaux d'*Arabidopsis thaliana*, notamment la feuille, la tige et la racine, colorés avec 0,5 $\mu\text{g/mL}$ de saponine@DPI-In pendant 10 min. Le xylème primaire de la section transversale de la tige est vivement coloré en raison de la forte concentration de lignine hydrophobe. (A) Diagramme d'une section transversale de tige d'*Arabidopsis*, (B) champ clair, (C) fluorescence, et (D) champ clair et fluorescence fusionnés. Toutes les barres d'échelle sont de 200 μm . (Alexander et al. 2017)

CHAPITRE II : Genotoxicité

2. *Vicia faba*: La fève, *Vicia faba*, est une plante légumineuse souvent utilisée dans les études de génotoxicité. Elle est appréciée pour sa sensibilité aux agents génotoxiques et sa facilité de culture en laboratoire. Les méristèmes racinaires de *Vicia faba* sont couramment utilisés dans les tests de génotoxicité pour évaluer les dommages à



Figure 2: Détails de *Vicia Faba*

l'ADN et les effets cytogénétiques (Committee et al. 2017).

CHAPITRE II : Genotoxicité

3. *Tradescantia* : Les espèces du genre *Tradescantia*, telles que ou *Tradescantia*

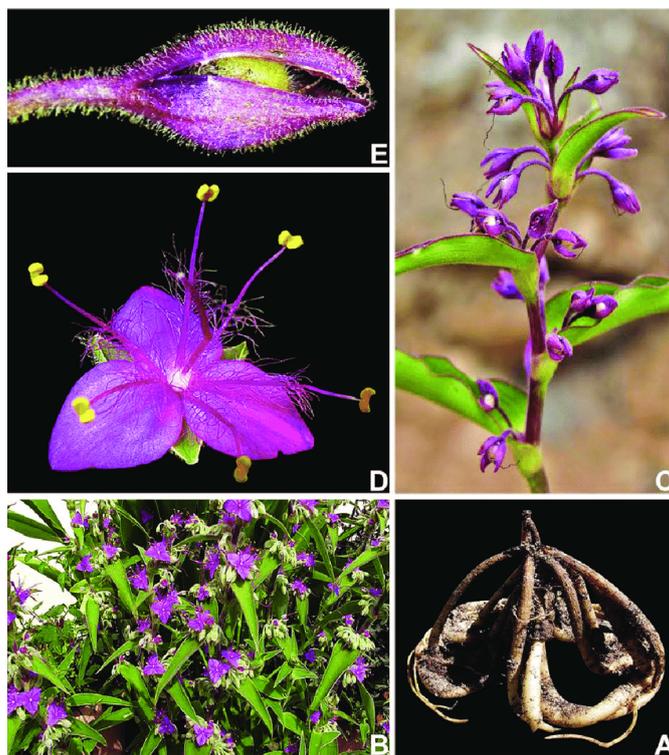


Figure 3: *Tradescantia boliviana*.

A - détail des racines tubéreuses. B – port. C - détail d'une branche fertile, montrant les limbes condupliqués et les inflorescences axillaires. D - vue de face d'une fleur à l'anthèse

micronucleus, sont largement utilisées pour les tests de génotoxicité. Ces plantes présentent la particularité d'avoir des poils violet foncé (trichomes) qui sont sensibles aux dommages à l'ADN et qui peuvent être facilement évalués par des méthodes telles que le test des micronoyaux (Marmioli et al. 2022).

4. *Allium cepa* : L'oignon commun, *Allium cepa*, est souvent utilisé dans les tests de génotoxicité en raison de la disponibilité des cellules de l'oignon et de leur sensibilité aux agents génotoxiques. Les racines de l'oignon sont utilisées pour évaluer les effets génotoxiques et cytogénétiques, en mesurant par exemple les aberrations chromosomiques et les cassures d'ADN (Committee et al. 2017).

5. ***Lactuca sativa*** : La laitue, *Lactuca sativa*, est une plante largement cultivée et utilisée dans les études de génotoxicité. Les tests de génotoxicité utilisant les tissus de laitue peuvent évaluer les dommages à l'ADN, les cassures chromosomiques et les effets cytogénétiques (Bardoloi et al. 2022).

Il convient de noter que la sélection des espèces végétales peut varier en fonction des objectifs spécifiques de l'étude et des exigences réglementaires ou scientifiques en vigueur.

2.3. Facteurs influençant la sélection des espèces végétales

Plusieurs facteurs influencent la sélection des espèces végétales pour les études de génotoxicité. Ces facteurs doivent être pris en compte pour garantir que les résultats obtenus sont représentatifs et pertinents. Les principaux facteurs influençant la sélection des espèces végétales sont les suivants :

1. **Sensibilité aux agents génotoxiques** : Les espèces végétales doivent être sensibles aux agents génotoxiques afin de pouvoir détecter les effets génotoxiques potentiels des composés testés. Certaines espèces présentent une sensibilité accrue aux substances génotoxiques, ce qui en fait des candidats appropriés pour les tests de génotoxicité (Agence internationale de l'énergie atomique 2018).
2. **Représentativité écologique** : Idéalement, les espèces végétales sélectionnées devraient être représentatives des plantes présentes dans l'environnement étudié. Cela permet de mieux évaluer les effets potentiels des agents génotoxiques sur les plantes dans leur habitat naturel et de mieux comprendre les conséquences écologiques (Lizeem et al. 2011).
3. **Facilité de manipulation et de culture** : La sélection d'espèces végétales qui sont faciles à manipuler en laboratoire et à cultiver est importante pour la réalisation des tests de génotoxicité. Une culture facile permet de produire des échantillons de

CHAPITRE II : Genotoxicité

plantes standardisés et de réaliser des réplifications expérimentales plus facilement (Cotelle 1999).

4. **Disponibilité** : La disponibilité des espèces végétales est un autre facteur important à considérer. Les espèces couramment cultivées ou facilement accessibles sont préférables, car elles permettent une mise en œuvre pratique des tests de génotoxicité et une comparaison des résultats entre différentes études (Onzo et al. 2015).
5. **Connaissance de la biologie** : Une connaissance préalable de la biologie des espèces végétales sélectionnées est importante pour interpréter correctement les résultats des tests de génotoxicité. Comprendre les mécanismes de réparation de l'ADN, la physiologie végétale et d'autres aspects biologiques des espèces sélectionnées est essentiel pour interpréter les résultats des tests de manière appropriée (Agence internationale de l'énergie atomique 2018).

En tenant compte de ces facteurs, les chercheurs peuvent sélectionner les espèces végétales les plus appropriées pour les études de génotoxicité, assurant ainsi la pertinence et la validité des résultats obtenus.

3. *Allium cepa* :

3.1. Description de *Allium cepa* :

Allium cepa, communément appelé oignon, est une plante herbacée bisannuelle appartenant à la famille des amaryllis (*Amaryllidaceae*) (Britannica 2023). Bien que ses origines sauvages exactes soient inconnues, les premières représentations d'oignons remontent à l'Égypte ancienne, vers 2700 avant J.-C. (NParks 2022). Aujourd'hui, l'*Allium cepa* est cultivé dans le monde entier, principalement dans les zones tempérées, et est très apprécié pour ses qualités culinaires et sa saveur particulière (Britannica 2023).

D'un point de vue taxonomique, *Allium cepa* était traditionnellement classé dans la famille des *Liliaceae*. Toutefois, selon des schémas taxonomiques plus récents, il est désormais reconnu comme un membre de la famille des *Amaryllidaceae*, plus précisément de la sous-famille des *Allioideae* (Marrelli et al. 2018). Cette classification reflète les relations évolutives et les caractéristiques génétiques d'*Allium cepa* dans le cadre plus large de la taxonomie végétale.

La description botanique de l'*Allium cepa* donne un aperçu de ses caractéristiques physiques. Il s'agit d'une plante vivace dont le bulbe souterrain est le principal organe de stockage

CHAPITRE II : Genotoxicité

(Brain Kart, 2020). Le bulbe de l'*Allium cepa* est la principale partie comestible de la plante et sa taille, sa forme et sa couleur varient en fonction du cultivar (Britannica 2023). Le bulbe est constitué de couches concentriques de feuilles modifiées, appelées écailles, qui protègent les tissus internes (Brain Kart 2020). Le système racinaire de l'*Allium cepa* est constitué de racines adventives fibreuses qui ancrent la plante et facilitent l'absorption de l'eau et des nutriments du sol (Brain Kart 2020).

Allium cepa présente un port de croissance particulier. La plante a un cycle de vie pérenne, le bulbe servant de source de nourriture et d'énergie pour la repousse après les périodes de dormance (Britannica 2023). Pendant la saison de croissance, *Allium cepa* produit une tige haute et érigée avec des feuilles allongées et creuses naissant de la plaque basale du bulbe (Brain Kart 2020). Ces feuilles se caractérisent par leur forme linéaire et leur texture succulente, permettant la photosynthèse et l'assimilation des nutriments (Britannica 2023).

En termes de culture, l'*Allium cepa* préfère les sols fertiles humides mais bien drainés et prospère en plein soleil (NParks 2022). La profondeur de plantation varie généralement entre un demi-pouce et un pouce, avec un espacement de 6 pouces entre les bulbes [6]. Le développement des bulbes d'*Allium cepa* est influencé par les conditions environnementales et le stade de croissance. La récolte est généralement effectuée lorsqu'au moins 2/3 des fanes sont mortes, ce qui indique que la maturation des bulbes est terminée (NParks 2022).

Allium cepa n'a pas seulement une importance culinaire, mais aussi une importance pharmacologique. La recherche a mis en évidence les diverses activités pharmacologiques de la plante, notamment ses effets anticancéreux, antidiabétiques, antimicrobiens,

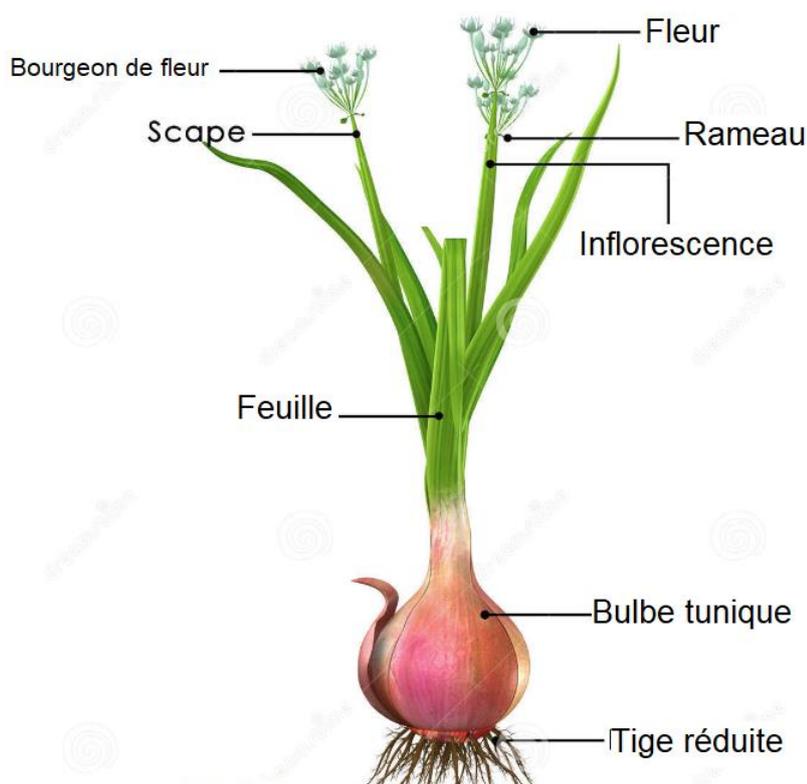


Figure 4: Composition de l'*Allium cepa* (Rong Q. and all, 2010).

cardiovasculaires et antioxydants (Kuete, 2017).

Ces propriétés font de l'*Allium cepa* un candidat potentiel pour le développement de nouvelles interventions thérapeutiques pour diverses affections humaines (Kuete 2017).

3.2. Avantages d'*Allium cepa* dans l'étude des effets génotoxiques :

L'*Allium cepa* a été reconnu comme un organisme modèle inestimable pour l'étude de la génotoxicité en raison de ses caractéristiques et réponses distinctes : (Leme et al. 2009)

Sensibilité aux agents génotoxiques : *Allium cepa* présente une grande sensibilité à divers agents génotoxiques, ce qui en fait un organisme modèle idéal pour les études de génotoxicité. Le matériel génétique de la plante, y compris ses chromosomes, est facilement accessible pour l'analyse, ce qui permet de détecter les effets génotoxiques induits par différents agents.

Réponse visible et rapide : *Allium cepa* présente une réponse visible et rapide aux agents génotoxiques, ce qui facilite une évaluation et une analyse rapides (Beigoli et al. 2021). Des changements dans la croissance des racines, l'indice mitotique et les aberrations chromosomiques peuvent être observés dans un laps de temps relativement court, ce qui permet un dépistage efficace des substances génotoxiques potentielles.

Manipulation et culture aisées : *Allium cepa* est facile à manipuler et à cultiver, ce qui en fait un modèle pratique pour les études de génotoxicité (Kianian et al. 2021). La plante a un cycle de vie court, ce qui permet de mener plusieurs expériences dans un délai raisonnable. En outre, elle peut être cultivée dans des conditions contrôlées, ce qui garantit la cohérence des dispositifs expérimentaux.

Structure chromosomique distincte : *Allium cepa* possède des chromosomes de grande taille et facilement observables, ce qui simplifie l'identification et l'analyse des aberrations chromosomiques induites par des agents génotoxiques (Leme et al. 2009a). Les centromères bien définis et les bandes distinctes facilitent l'identification des altérations structurelles, telles que les cassures, les délétions et les réarrangements.

Disponibilité d'essais biochimiques et moléculaires : *Allium cepa* offre l'avantage de permettre la réalisation d'essais biochimiques et moléculaires pour étudier les effets génotoxiques (Kianian et al. 2021). La plante contient des composés bioactifs, tels que la

CHAPITRE II : Genotoxicité

quercétine, les thiosulfonates et les acides phénoliques, qui ont été associés à diverses propriétés thérapeutiques (Kianian et al. 2021). Ces composés peuvent être analysés pour déterminer leurs effets génotoxiques ou protecteurs potentiels.

Économique et facile à cultiver : *Allium cepa* est une plante économiquement importante, qui se classe parmi les végétaux les plus cultivés dans le monde (Pranjali, 2023). Sa culture est relativement simple, ce qui en fait un organisme modèle rentable pour les études de génotoxicité.

4. Analyse comparative des avantages et limitations des tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité jouent un rôle crucial dans l'évaluation des effets nocifs potentiels de diverses substances sur le matériel génétique. Ces tests permettent d'identifier les composés qui ont la capacité d'induire des lésions de l'ADN, des mutations, des aberrations chromosomiques ou d'autres altérations génétiques.

Dans cette dernière partie, nous présentons un tableau comparatif des tests de génotoxicité couramment utilisés, tant *in vitro* qu'*in vivo*, afin d'évaluer leurs avantages et leurs limites.

Tableau 1: Analyse comparative des tests *In vitro* (Luan et al. 2022; Organisation de coopération et de développements économiques 2011; Marilyn Registre 2015; Kilcoyne et al. 2013)

Nom du test	Description	Application	Avantages	Inconvénients
Test d'Ames	Essai de mutation inverse bactérienne utilisé pour détecter les mutations génétiques chez les bactéries.	Évaluation du potentiel mutagène des produits chimiques.	Test largement accepté et validé.	Limité à la détection de mutations ponctuelles.
Test du micronoyau	Test <i>in vitro</i> qui mesure la présence de micronoyaux, c'est-à-dire de petits noyaux	Évaluation des lésions chromosomiques et	Sensible aux clastogènes et	Prend du temps et nécessite du personnel qualifié pour

CHAPITRE II : Genotoxicité

	supplémentaires formés lors de la division cellulaire.	de l'aneuploïdie.	aux aneugènes.	l'analyse.
Test de la comète	Essai d'électrophorèse sur gel d'une seule cellule utilisé pour détecter les dommages et la réparation de l'ADN.	Évaluation des dommages causés à l'ADN et de la capacité de réparation.	Sensible à différents types de lésions de l'ADN.	Notation subjective et nécessite un équipement spécialisé.
Test du micronoyau bloqué par la cytokinèse (CBMN)	Extension du test du micronoyau où les cellules sont bloquées dans la cytokinèse, ce qui permet d'identifier à la fois les micronoyaux et les ponts nucléoplasmiques.	Évaluation des lésions chromosomiques et de l'aneuploïdie.	Permet de détecter les effets clastogènes et aneugéniques.	Prend du temps et nécessite du personnel qualifié pour l'analyse.
Tests de réparation de l'ADN	Les tests qui mesurent la capacité de réparation de l'ADN des cellules, tels que le test de synthèse d'ADN non programmée (UDS) ou le test de déroulement alcalin.	Évaluation de la capacité de réparation de l'ADN.	Fournit des informations sur la capacité des cellules à réparer les dommages causés à l'ADN.	Techniques complexes nécessitant une expertise spécifique.

CHAPITRE II : Genotoxicité

Tableau 2: Analyse comparative des tests *In vivo* (Kirkland et al. 2011 ; Jain et al. 2018 ; Charles River 2019 ; Frötschl, 2015)

Nom du test	Description	Application	Avantages	Inconvénients
<i>Allium cepa</i> test	Un test à base de plantes qui utilise les extrémités des racines d'oignon pour évaluer la génotoxicité.	Évaluation des effets génotoxiques chez les plantes.	Facilité d'exécution, faible coût et résultats rapides.	Limité à l'évaluation des effets sur les plantes, non applicable aux systèmes mammifères.
Test du micronoyau	Test in vivo qui mesure la présence de micronoyaux dans les cellules, généralement dans la moelle osseuse ou le sang périphérique.	Évaluation des dommages chromosomiques et de l'aneuploïdie dans les systèmes mammifères.	Reflète les effets génotoxiques sur les cellules en division in vivo.	Nécessite le sacrifice d'animaux pour la collecte d'échantillons.
Test <i>Tradescantia</i> -micronoyau	Un test à base de plantes qui utilise les poils d'étamine des plantes <i>Tradescantia</i> pour détecter la formation de micronoyaux.	Évaluation des effets génotoxiques chez les plantes.	Test simple et rapide avec des critères d'évaluation clairs.	Limité à l'évaluation des effets sur les plantes, non applicable aux systèmes mammifères.

CHAPITRE II : Genotoxicité

<p>Modèles animaux transgéniques</p>	<p>Animaux génétiquement modifiés porteurs de gènes rapporteurs pour détecter les événements mutagènes.</p>	<p>Évaluation de la mutagénicité et de la cancérogénicité.</p>	<p>Fournit des informations sur le potentiel mutagène et les effets à long terme.</p>	<p>Le développement et l'entretien d'animaux transgéniques sont coûteux et prennent beaucoup de temps.</p>
<p>Test des comètes hépatiques combiné au test des micronoyaux de la moelle osseuse et du sang</p>	<p>Combinaison du test des comètes et du test du micronoyau utilisant des cellules hépatiques et des cellules de la moelle osseuse/du sang pour évaluer les lésions de l'ADN et les lésions chromosomiques, respectivement.</p>	<p>Évaluation des dommages causés à l'ADN et aux chromosomes dans plusieurs tissus.</p>	<p>Fournit des informations complémentaires sur la génotoxicité.</p>	<p>Nécessite la collecte et l'analyse de plusieurs échantillons.</p>
<p>Échange de chromatides sœurs (SCE)</p>	<p>Test in vivo qui mesure l'échange de matériel génétique entre les chromatides sœurs lors de la réplication de</p>	<p>Évaluation des dommages causés à l'ADN et de la capacité de réparation.</p>	<p>Reflète les effets génotoxiques et les processus de réparation de l'ADN.</p>	<p>Nécessite des techniques de coloration et de microscopie spécialisées.</p>

CHAPITRE II : Genotoxicité

	l'ADN.			
Test d'aberration chromosomique	Test in vivo qui examine les changements structurels et numériques des chromosomes.	Évaluation des lésions chromosomiques et de l'aneuploïdie.	Fournit des informations sur les aberrations structurelles et numériques des chromosomes.	Nécessite du personnel qualifié pour la préparation et l'analyse des échantillons.
Test de la tache alaire chez la drosophile (SMART)	Un test qui utilise la mouche drosophile <i>Drosophila melanogaster</i> pour évaluer les mutations somatiques dans les cellules de l'aile.	Évaluation de la mutagénicité et des effets clastogènes.	Test rapide et rentable.	Limité à la détection de types spécifiques de mutations et d'effets clastogènes.

A red decorative border with a wavy bottom edge, enclosing the text.

PARTIE II :

Experimentation

CHAPITRE I :
Matériel et méthodes

1. Matériel utilisé

1.1. Produits chimiques testés :

Deux trihalométhanes (le chloroforme et le bromoforme) ont été utilisés à concentration 200ppm ($\mu\text{g}/\text{ml}$) et 100ppm respectivement.

1.2. Matériel biologique utilisé :

Des bulbes d'oignon de variété commerciale *Allium cepa*, de taille proches et exemptes de défauts, sont sélectionnés pour l'expérience, et ont été collectés auprès d'un marché local de la wilaya du Guelma.

2. Méthode d'étude : Test anaphase-télophase *Allium cepa*

L'analyse génotoxique est faite dans cette expérimentation avec le test des aberrations chromosomiques anaphase-télophase sur *Allium cepa*.

Ce test constitue une méthode fiable et bien établie pour évaluer les effets génotoxiques potentiels des différents trihalométhanes, puisqu'il se concentre sur la région apicale des racines d'oignon *Allium cepa*, qui est particulièrement sensible aux effets des substances génératrices de mutations, s'ajoutant à cela la possibilité de visualisation du a la taille des chromosomes et leurs nombre réduit ($2n=16$).

2.1. Préparation des bulbes d'oignon :

Les écailles extérieures des bulbes sont soigneusement retirées, et les plaques brunes situées à la base des bulbes sont grattées sans endommager les primordia racinaires. Cette



Figure 5: Préparation des bulbes d'oignon

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

préparation permet d'assurer des conditions optimales pour la croissance des racines.

2.2. Germination des bulbes d'*Allium cepa* :

35 bulbes d'oignons épluchés ont été placés dans des gobelets remplis d'eau potable du



Figure 6: Germination des bulbes d'*Allium cepa*

robinet, et laissés pendant 48h dans un endroit aéré, obscure, et à température ambiante.

2.3. Mise en contact avec les substances à tester :

Après la période de germination, cinq meilleurs bulbes en termes de croissance racinaire sont sélectionnés pour l'expérience. Ces bulbes ont été exposés pendant 3 jours de suite au Contrôle négative (Eau de robinet), au contrôle positif (Azide de sodium à 100mg/l, au Bromoforme à 100 µg/L et au Chloroforme à 200 µg/L.

2.4. L'élongation racinaire :

Des mesures d'élongation des racines ont été prises à différents intervalles de temps pour chaque produit testé : 24h, 48h et 72h.

2.5. Fixation et conservation des extrémités racinaires :

Les deux derniers centimètres des racines des bulbes sont prélevés et trois racines sont découpées à partir de chaque, ce qui donne un total de 15 racines par échantillon. Ces

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

racines sont ensuite placées immédiatement dans un fixateur de Carnoy à 96% pendant uniquement 24h à 4°C.

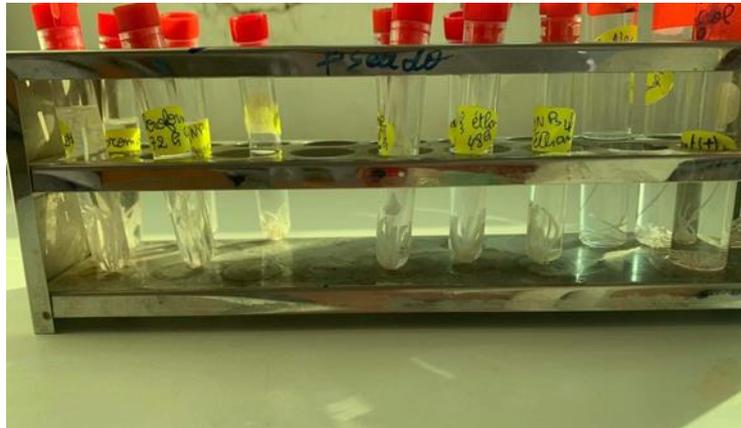


Figure 7: Fixation des extrémités racinaires.

2.6. La conservation des racines :

Après l'étape de fixation pendant 24h, les racines doivent être lavés 3 fois à l'éthanol 70% puis conservés dans cette préparation à 4° jusqu'à utilisation.

2.7. Préparation des lames :

- Les extrémités racinaires sont déposées dans un tube contenant de l'acide chlorhydrique (HCl) et ce tube est ensuite placé dans un bain-marie maintenu à une température de 60°C pendant une durée de 8 minutes.
- Après avoir retiré les racines des tubes, elles sont ensuite immergées dans de l'eau distillée pendant 5 minutes, le rinçage est répété 3 fois.
- Par la suite, les racines sont colorées à l'aide du réactif de Feulgen, qui est appliqué sur les échantillons racinaires pendant une période de 23 à 25 minutes à l'abri de la lumière.
- Les racines sont délicatement lavées une dernière fois à l'eau distillée pendant 2 minutes.

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

- Les racines colorées ont été séparé soigneusement en partie claire à jeter et en partie foncée (le méristème) sur des lames de microscope.
- La partie terminale foncée est ensuite coupée et écrasés en petits morceaux à l'aide d'un Bistouri.
- Une goutte d'acide acétique glacial à 45% est ensuite ajoutée sur chaque racine préparée, couverte ensuite d'une lamelle et fixée par du vernis à ongle transparent (00) appliqué aux rebords de la lamelle afin d'éviter l'évaporation de la solution et permettre une observation microscopique adéquate



Figure 8: Coloration au Feulgen des échantillons

2.8. Examen microscopiques des lames :

Nous avons utilisé un microscope Leica® à oculaire $\times 16$ pour noter :

- a- L'indice Mitotique (IM) est à mesuré en utilisant un objectif $\times 40$ pour examiner 1000 cellules/lame/concentration, cet indice est exprimé en pourcentage. L'indice mitotique a été calculé en utilisant les formules suivantes.

$$\text{L'indice mitotique (\%)} = \frac{\text{Le nombre des cellules en division}}{\text{Le nombre total des cellules}} \times 100$$

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

- b- Les aberrations chromosomiques sont examinées avec un objectif x60, où 100 cellules en phase de division (en métaphase, anaphase et télophase) / lame / concentration sont suffisantes pour noter la présence de la panoplie d'aberrations présentes.



Figure 9: Observation des lames au microscope

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

La cytotoxicité et la génotoxicité des trihalométhanes sont évaluées en mesurant plusieurs paramètres, notamment l'élongation racinaire, l'indice mitotique et les aberrations chromosomiques. Ces mesures permettent d'estimer le nombre de cellules en division et de déterminer les effets de ces composés sur la santé des cellules. En analysant l'élongation racinaire, il est possible de comprendre comment les trihalométhanes affectent la croissance et le développement des racines. L'indice mitotique fournit des informations sur la fréquence des divisions cellulaires et peut indiquer des altérations potentielles de la prolifération cellulaire due à l'exposition aux trihalométhanes. Enfin, l'étude des aberrations chromosomiques permet de détecter d'éventuels dommages au niveau de la structure et de la stabilité des chromosomes, révélant ainsi le potentiel génotoxique de ces composés. En combinant ces trois paramètres, il est possible d'obtenir une évaluation plus complète des effets des trihalométhanes sur les cellules et de mieux comprendre les risques pour la santé associés à leur exposition.

1. L'Indice Mitotique :

C'est un paramètre utilisé pour évaluer la cytotoxicité en mesurant le nombre total de cellules en division dans le cycle cellulaire. Des IM inférieurs au témoin négatif peuvent indiquer des effets néfastes des composés testés sur la croissance et le développement des organismes exposés (Rank et al. 1997). À l'inverse, une augmentation de l'IM peut résulter de l'induction de la division cellulaire, ce qui peut être préjudiciable en entraînant une prolifération incontrôlée (Rank et al. 1997).

Dans le cadre de cette étude, les cellules méristématiques racinaires d'*Allium* ont été examinées, en comptant 1000 cellules par lame et en prenant en compte tous les stades de la mitose, de la prophase à la télophase. Les résultats sont affichés dans la Figure 10.

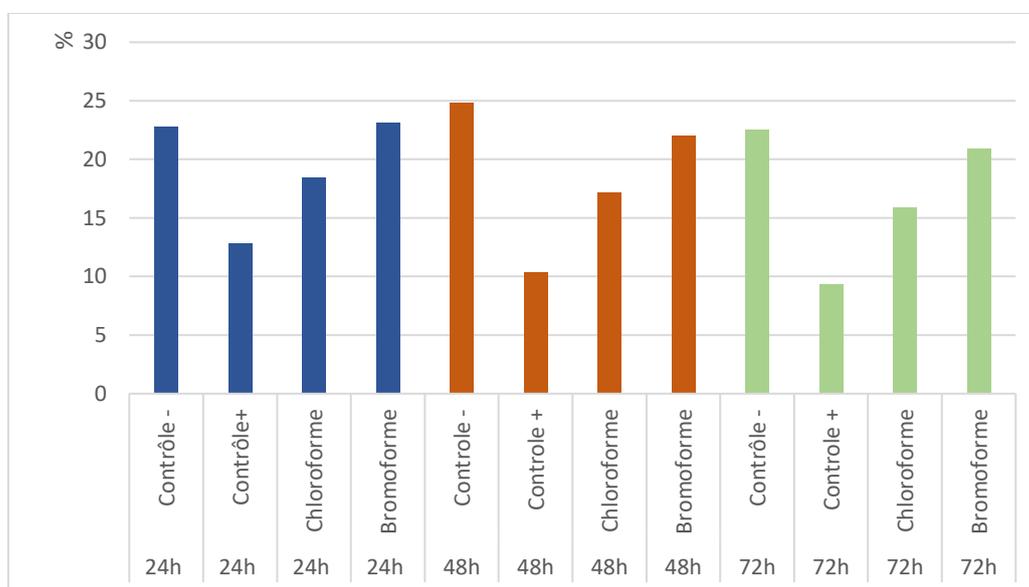


Figure 10: Histogramme représentant l'IM des racines traitées.

Les résultats de l'IM des racines traitées présentés dans la figure N° montrent de manière claire l'effet inhibiteur des trihalométhanes comparés au contrôle négatif qui avait toujours un indice mitotique compris entre 20 et 25%.

L'indice mitotique des racines qui poussaient en présence du chloroforme ont donné naissance à une courbe décroissante dans le temps qui commençait de 18% à 24h qui descendait à 17% à 48h puis à 15% à 72h de traitement.

L'indice mitotique des racines poussant en présence du bromoforme avait la même cinétique que celle adopter par les cellules dans le chloroforme mais l'indice mitotique de ces bulbes

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

était moins affecté par la concentration de bromoforme que ceux présents dans le chloroforme en présentant un pourcentage allant de 23% à 24h passant par 21% à 48h et enfin à 20% à 72h.

Le contrôle positif montre le plus bas IM qui chutait de 12 % à 24h et terminait aux alentours de 9% à la fin du traitement à 72h, suggérant une inhibition potentielle de la division cellulaire.

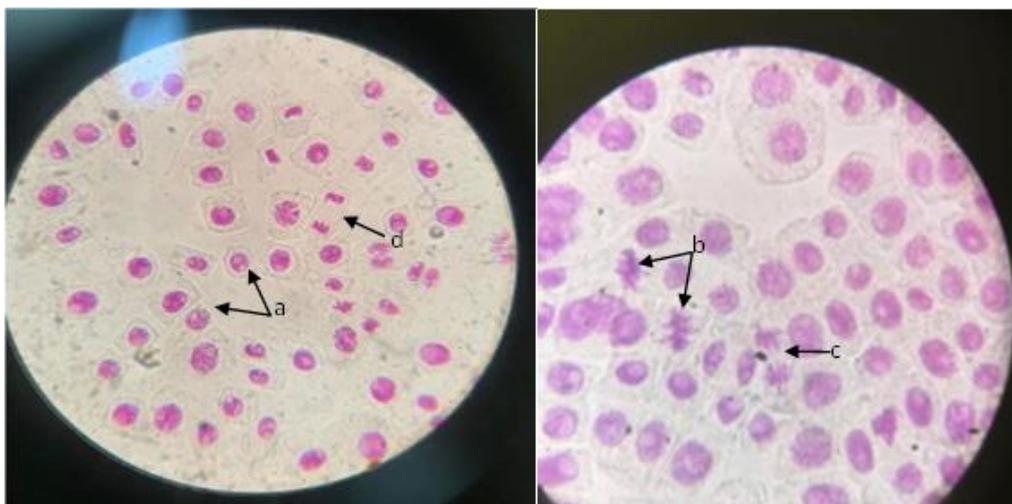


Figure 11: Phases de la mitose
a- Prophase, b- Métaphase, c- Anaphase, d- Télophase

La réduction significative de l'indice mitotique par rapport au contrôle négatif des cellules racinaires présentes en contact des 2 trihalométhanes testés pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN ou au blocage de la phase G2, empêchant la cellule d'entrer dans la mitose ou à une inhibition mitotique par ces composants halogènes. Cela peut être dû aussi au blocage des protéines du cycle cellulaire spécifiques qui demeurent comme un éventuel site cible qui empêche davantage l'ADN polymérase et d'autres enzymes en conduisant à un effet antimitotique (Liman et al., 2019).

2. Aberrations chromosomiques :

Le test des aberrations chromosomiques est une méthode couramment utilisée pour évaluer les effets génotoxiques potentiels d'une substance sur les cellules et les organismes.

Les résultats obtenus sont démontrés dans la Figure 12 qui est un histogramme qui présente les résultats des aberrations chromosomiques exprimés en pourcentages pour les différents groupes de traitement à trois intervalles de temps distincts : 24 heures, 48 heures et 72

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

heures.:

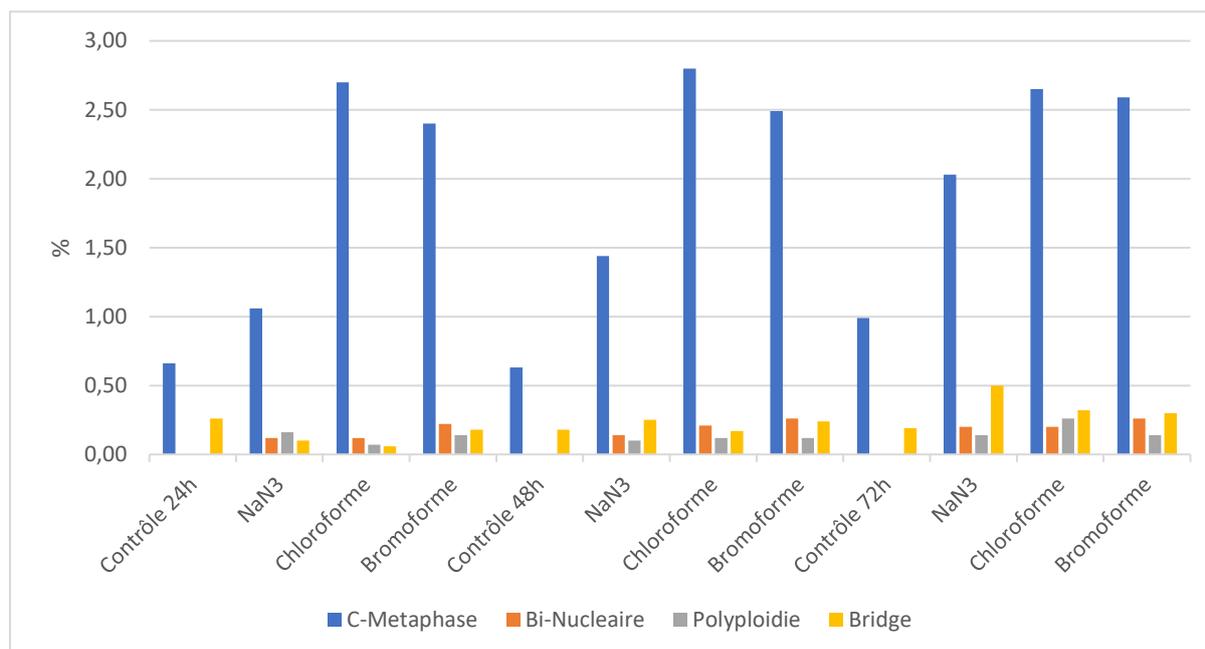


Figure 12: Histogramme des aberrations chromosomiques des différents produits.

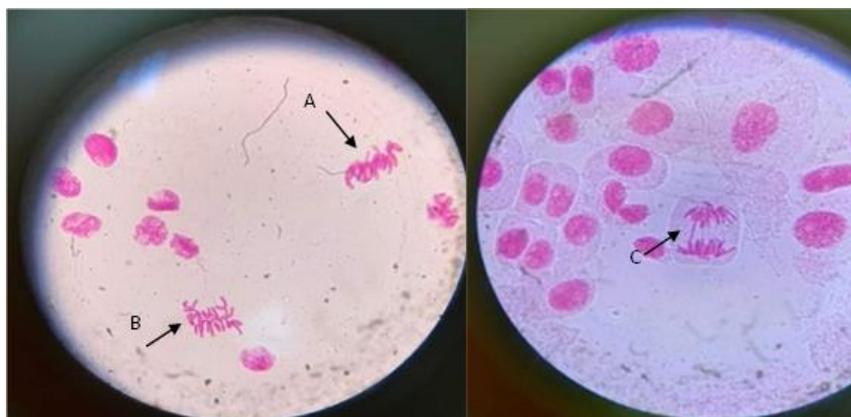
D'après les résultats obtenus et présentés dans la Figure 12, on parvient à distinguer que l'anomalie correspondant à la C-métaphase est celle qui est la plus dominante dans les cellules en contact avec les deux trihalométhanes testés et corrélée positivement avec le temps d'où on observe l'augmentation de son pourcentage à travers le temps comparé au contrôle négatif et positif.

Tandis que les cellules binucléées n'ont pas été isolées dans le groupe du témoin négatif à travers le temps, le pourcentage de cette anomalie a été le plus observé dans le groupe du témoin positif à 24h suivi du bromoforme qui avait un pourcentage doublé par rapport à celui du chloroforme. Le nombre des cellules binucléées a continué à augmenter à 48h et à 72h dans les cellules en contact avec les deux trihalométhanes étudiés en atteignant même un pourcentage supérieur à celui de contrôle positif utilisé surtout dans le cas du bromoforme.

La polypléidie était aussi une aberration absente dans les cellules du témoin négatif étudié mais caractéristique des autres groupes d'études, le contrôle positif qui avait un pourcentage fixe à travers le temps, tandis que le pourcentage de cette anomalie augmentait dans le taux pour les cellules en contact avec les trihalométhanes et atteindrait son maximum dans les cellules en contact avec le chloroforme à 72h de traitement.

CHAPITRE II : Résultats et Discussion

Les ponts chromosomiques ont été les anomalies omniprésentes dans tous les groupes étudiés sans exception bien que le pourcentage le plus élevé était observé chez le groupe du témoin



positif mais ce pourcentage n'accédait pas le 0,5% du total des anomalies distinguées.

Figure 13: Différentes aberrations observées sous microscope.
a- C-Metaphase, b- Polyplôidie, c- Pont chromosomique

Conclusion

Conclusion

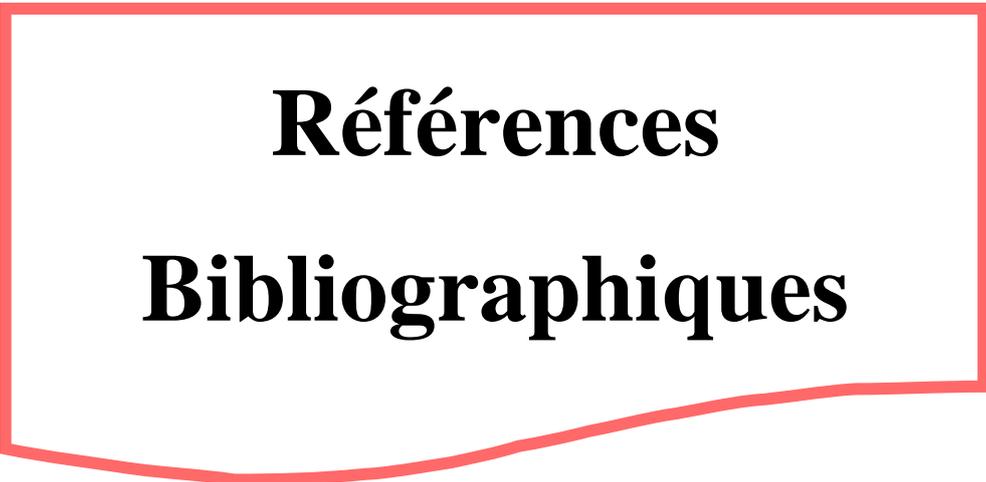
Notre étude met en évidence l'effet cytotoxique du chloroforme et du bromoforme sur la croissance des racines d'*A. cepa*. Les résultats montrent une répression de la poussée des racines dans le temps, suggérant que ces concentrations de trihalométhanes sont toxiques pour la plante. Cette inhibition de la croissance des racines est souvent associée à des altérations de l'activité méristématique apicale et de la prolongation cellulaire lors de la différenciation.

De plus, notre recherche révèle une réduction significative de l'indice mitotique des cellules racinaires exposées aux deux trihalométhanes testés. Cette diminution peut être due à une inhibition de la synthèse de l'ADN, à un blocage de la phase G2 du cycle cellulaire, ou à une inhibition mitotique causée par ces composés halogénés. Ces effets peuvent être liés à un blocage des protéines spécifiques du cycle cellulaire, empêchant l'ADN polymérase et d'autres enzymes de fonctionner correctement.

Les aberrations chromosomiques observées, telles que les c-métaphases et les ponts chromosomiques, indiquent des perturbations dans la formation du fuseau mitotique et des lésions au niveau des chromosomes. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études portant sur les effets des trihalométhanes sur les cellules et les organismes vivants.

Dans l'ensemble, nos travaux renforcent les recherches antérieures qui ont mis en évidence les effets cytotoxiques et génotoxiques des trihalométhanes, en particulier du chloroforme et du bromoforme. Ces substances présentes dans les eaux de distribution peuvent provoquer des altérations au niveau cellulaire et chromosomique, ce qui souligne la nécessité de surveiller et de limiter leur présence dans l'eau potable.

Il est essentiel de poursuivre les recherches dans ce domaine afin de mieux comprendre les mécanismes d'action des trihalométhanes, d'évaluer leur toxicité à différentes concentrations et à différentes durées d'exposition, et de développer des stratégies de prévention et de traitement pour minimiser les risques pour la santé humaine et l'environnement.



Références
Bibliographiques

References Bibliographiques

1. **Agence internationale de l'énergie atomique. 2018.** "Biodiversité végétale et ressources génétiques." Text. IAEA. April 3, 2018.
2. **Ahmad, Tabassum, Anand Singh Jeena, and Deepankar Pandey. 2021.** "Metal Induced Genotoxicity and Oxidative Stress in Plants, Assessment Methods, and Role of Various Factors in Genotoxicity Regulation." In , 133–49.
3. **Backer, L. C., D. L. Ashley, M. A. Bonin, F. L. Cardinali, S. M. Kieszak, and J. V. Wooten. 2000.** "Household Exposures to Drinking Water Disinfection By-Products: Whole Blood Trihalomethane Levels." *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 10 (4): 321–26.
4. **Balko, J., and Froese, S. 2001.** "Is Drinking Coffee Worse than We Think ? Production of HAAS during Beverage Preparation In Microbial/Disinfection by-Products Health Effects Symposium."
5. **Bardoloi, Arpita, and Amar Deep Soren. 2022.** "Genotoxicity Induced by Medicinal Plants." *Bulletin of the National Research Centre* 46 (1): 119.
6. **Beigoli, Sima, Sepideh Behrouz, Arghavan Memar Zia, Seyyedeh Zahra Ghasemi, Marzie Boskabady, Narges Marefati, Farzaneh Kianian, Mohammad Reza Khazdair, Hesham El-Seedi, and Mohammad Hosein Boskabady. 2021.** "Effects of Allium Cepa and Its Constituents on Respiratory and Allergic Disorders: A Comprehensive Review of Experimental and Clinical Evidence." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM* 2021: 5554259.
7. **Bingham, Eula, Barbara Cohrsen, and Charles H. Powell. 2001.** *Patty's Toxicology*. 5th ed. New York: Wiley.
8. **Blancato, J. N., and N Chiu. n.d.** "Predictive Modeling for Uptake and Tissue Distribution from Human Exposures, In Safety of Water Disinfection : Balancing Chemical & Microbial Risks."
9. **Boorman, G A. 1999.** "Drinking Water Disinfection Byproducts: Review and Approach to Toxicity Evaluation." *Environmental Health Perspectives* 107 (Suppl 1): 207–17.
10. **BrainKart. 2020.** "Botanical Description of Allium Cepa." BrainKart. 2020.
11. **Britannica. 2023.** "Onion | Description, History, Uses, Products, Types, & Facts | Britannica." May 1, 2023.
12. **Charles River. 2019.** "Mammalian Cell In Vitro Micronucleus Assay | Charles River." 2019.

References Bibliographiques

13. **Chen, Wei Jie, and Clifford P. Weisel. 1998.** “Halogenated DBP Concentrations in a Distribution System.” *Journal AWWA* 90 (4): 151–63.
14. “**Chloroforme - Produits SCF.**” n.d. Société Chimique de France (SCF). Accessed June 14, 2023.
15. **Clerk, D. 1999.** “De l’eau Vraiment Propre ? Test Pichets Filtrants, Protégez-Vous.”
16. **Committee, EFSA Scientific, Anthony Hardy, Diane Benford, Thorhallur Halldorsson, Michael Jeger, Helle Katrine Knutsen, Simon More, et al. 2017.** “Clarification of Some Aspects Related to Genotoxicity Assessment.” *EFSA Journal* 15 (12): e05113.
17. **Cotelle, Sylvie. 1999.** “Etude de La Génotoxicité de Matrices Complexes à l’aide de Plantes Supérieures.”
18. **Cumming, R. B., and R. L. Jolley.** n.d. “Occurrence and Exposures to Disinfectants and Disinfection By-Products, In Safety of Water Disinfection : Balancing Chemical & Microbial Risks.”
19. **Dodds, L., and W. D. King. 2001.** “Relation between Trihalomethane Compounds and Birth Defects.” *Occupational and Environmental Medicine* 58 (7): 443–46.
20. **Dr. Pranjali. 2023.** “Allium Cepa 30, 200, Q - Uses, Benefits & Side Effects.” 2023. <https://drpranjali.com/allium-cepa/>.
21. **Frötschl, Roland. 2015.** “Experiences with the in Vivo and in Vitro Comet Assay in Regulatory Testing.” *Mutagenesis* 30 (1): 51–57.
22. **Jain, Abhishek K., Divya Singh, Kavita Dubey, Renuka Maurya, Sandeep Mittal, and Alok K. Pandey. 2018.** “Chapter 3 - Models and Methods for In Vitro Toxicity.” In *In Vitro Toxicology*, edited by Alok Dhawan and Seok Kwon, 45–65. Academic Press.
23. **Jo, W. K., C. P. Weisel, and P. J. Liroy. 1990.** “Routes of Chloroform Exposure and Body Burden from Showering with Chlorinated Tap Water.” *Risk Analysis: An Official Publication of the Society for Risk Analysis* 10 (4): 575–80.
24. **Kianian, Farzaneh, Narges Marefati, Marzie Boskabady, Seyyedeh Zahra Ghasemi, and Mohammad Hosein Boskabady. 2021.** “Pharmacological Properties of Allium Cepa, Preclinical and Clinical Evidences; A Review.” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR* 20 (2): 107–34.
25. **Kilcoyne, Adrian, Daniel O’Connor, Phil Ambery, Adrian Kilcoyne, Phil Ambery, and Daniel O’Connor, eds. 2013.** “In Vitro and in Vivo Testing of New Compounds.” In *Pharmaceutical Medicine*, 0. Oxford University Press.

References Bibliographiques

26. **Kim, H., P. Haltmeier, J. B. Klotz, and C. P. Weisel. 1999.** “Evaluation of Biomarkers of Environmental Exposures: Urinary Haloacetic Acids Associated with Ingestion of Chlorinated Drinking Water.” *Environmental Research* 80 (2 Pt 1): 187–95.
27. **King, W. D. 2001.** “Epidemiological Studies of Disinfection By-Products and Cancer Risk, In Microbial Pathogens and Disinfection by-Products in Drinking Water : Health Effects and Management of Risks.”
28. **Kirkland, David, Lesley Reeve, David Gatehouse, and Philippe Vanparys. 2011.** “A Core in Vitro Genotoxicity Battery Comprising the Ames Test plus the in Vitro Micronucleus Test Is Sufficient to Detect Rodent Carcinogens and in Vivo Genotoxins.” *Mutation Research* 721 (1): 27–73.
29. **Kuete, V. 2017.** “Chapter 14 - Allium Cepa.” In *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, edited by Victor Kuete, 353–61. Academic Press.
30. **Kuo, H. -W., T. -F. Chiang, I. -I. Lo, J. -S. Lai, C. -C. Chan, and J. -D. Wang. 1997.** “VOC Concentration in Taiwan’s Household Drinking Water.” *Science of The Total Environment* 208 (1): 41–47.
31. **Lafferrière, M, and Levallois, P. 1999.** “La Problématique Des Trihalométhanes Dans Les Réseaux d’eau Potable s’alimentant En Eau de Surface Dans Le Bas St-Laurent,.”
32. **Leme, Daniela Morais, and Maria Aparecida Marin-Morales. 2009a.** “Allium Cepa Test in Environmental Monitoring: A Review on Its Application.” *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682 (1): 71–81.
33. **Levallois, P. 1997.** “Qualité de l’eau Potable et Trihalométhanes, Bulletin d’information En Santé Environnementale.”
34. **Lévesque, B., P. Ayotte, A. LeBlanc, E. Dewailly, D. Prud’Homme, R. Lavoie, S. Allaire, and P. Levallois. 1994.** “Evaluation of Dermal and Respiratory Chloroform Exposure in Humans.” *Environmental Health Perspectives* 102 (12): 1082–87.
35. **Lévesque, Benoît, Pierre Ayotte, Robert Tardif, Liliane Ferron, Suzanne Gingras, Emmanuelle Schlouch, Guy Gingras, Patrick Levallois, and Eric Dewailly. 2002.** “Cancer Risk Associated with Household Exposure to Chloroform.” *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 65 (7): 489–502.
36. **Lizeem et al. 2011.** “La Classification Des Espèces Végétales - Cours de Licence 3.” 2011.

References Bibliographiques

37. **Luan, Yang, and Masamitsu Honma. 2022.** “Genotoxicity Testing and Recent Advances.” *Genome Instability & Disease* 3 (1): 1–21.
38. **Maluszynska, Jolanta, and Jolanta Juchimiuk. 2005.** “Plant Genotoxicity: A Molecular Cytogenetic Approach in Plant Bioassays.” *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju* 56 (July): 177–84.
39. **Marilyn Registre. 2015.** “The in Vitro Chromosome Aberration Test.”
40. **Marmioli, Marta, Nelson Marmioli, and Luca Pagano. 2022.** “Nanomaterials Induced Genotoxicity in Plant: Methods and Strategies.” *Nanomaterials* 12 (10): 1658.
41. **Marrelli, Mariangela, Valentina Amodeo, Giancarlo Statti, and Filomena Conforti. 2018.** “Biological Properties and Bioactive Components of *Allium Cepa* L.: Focus on Potential Benefits in the Treatment of Obesity and Related Comorbidities.” *Molecules* 24 (1): 119.
42. **Meier, J. R. 1988.** “Genotoxic Activity of Organic Chemicals in Drinking Water.” *Mutation Research* 196 (3): 211–45.
43. **Mills, C. J., R. J. Bull, K. P. Cantor, J. Reif, S. E. Hrudey, and P. Huston. 1998.** “Workshop Report. Health Risks of Drinking Water Chlorination by-Products: Report of an Expert Working Group.” *Chronic Diseases in Canada* 19 (3): 91–102.
44. **Milot, J, M. J Rodriguez, and J. B Sérodes. 2000.** “Modeling the Susceptibility of Drinking Water Utilities to Form High Concentrations of Trihalomethanes.” *Journal of Environmental Management* 60 (2): 155–71.
45. **MultiSensor Systems. 2016.** “Surveillance THM Dans l’eau Potable.” 2016.
46. **Nava-Rivera, Lydia Enith, Nadia Denys Betancourt-Martínez, Rodrigo Lozoya-Martínez, Pilar Carranza-Rosales, Nancy Elena Guzmán-Delgado, Irma Edith Carranza-Torres, Hector Delgado-Aguirre, José Omar Zambrano-Ortíz, and Javier Morán-Martínez. 2021.** “Transgenerational Effects in DNA Methylation, Genotoxicity and Reproductive Phenotype by Chronic Arsenic Exposure.” *Scientific Reports* 11 (1): 8276.
47. **Nieuwenhuijsen, M. J., M. B. Toledano, and P. Elliott. 2000.** “Uptake of Chlorination Disinfection By-Products; a Review and a Discussion of Its Implications for Exposure Assessment in Epidemiological Studies.” *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 10 (6 Pt 1): 586–99.
48. **NParks. 2022.** “Allium Cepa.” 2022.
49. **Onzo, CF, Paulin Azokpota, P Agbani, Fernand Gbaguidi, Djidjoho Hounhougan, and D. Kossou. 2015.** “Caractéristiques Physico-Chimiques,

References Bibliographiques

- Phytochimiques et Toxicité Des Espèces Végétales Utilisées Comme Emballages Alimentaires En Afrique de l'Ouest." *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 8 (January): 1504.
50. **Organisation de coopération et de développment économiques. 2011.** "Draft Intro Genotoxicity."
- Paiva, T.S., G.L. Garcias, and M.G. Martino-Roth. 2009.** "Increasing Mutagenicity of São Gonçalo Channel Waters Based on the Allium Cepa Test." *Genetics and Molecular Research* 8 (1): 299–309.
51. **Rank, J., and M. H. Nielsen. 1997.** "Allium Cepa Anaphase-Telophase Root Tip Chromosome Aberration Assay on N-Methyl-N-Nitrosourea, Maleic Hydrazide, Sodium Azide, and Ethyl Methanesulfonate." *Mutation Research* 390 (1–2): 121–27.
52. **Richardson, Susan D., Michael J. Plewa, Elizabeth D. Wagner, Rita Schoeny, and David M. DeMarini. 2007.** "Occurrence, Genotoxicity, and Carcinogenicity of Regulated and Emerging Disinfection by-Products in Drinking Water: A Review and Roadmap for Research." *Mutation Research/Reviews in Mutation Research, The Sources and Potential Hazards of Mutagens in Complex Environmental Matrices - Part II*, 636 (1): 178–242.
53. **Rivera-Núñez, Zorimar, J. Michael Wright, Benjamin C. Blount, Lalith K. Silva, Elizabeth Jones, Ronna L. Chan, Rex A. Pegram, Philip C. Singer, and David A. Savitz. 2012.** "Comparison of Trihalomethanes in Tap Water and Blood: A Case Study in the United States." *Environmental Health Perspectives* 120 (5): 661–67.
54. **Rodriguez, Manuel J, and Jean-B Sérodes. 2001.** "Spatial and Temporal Evolution of Trihalomethanes in Three Water Distribution Systems." *Water Research* 35 (6): 1572–86.
55. **Rossman, L. A., R. A. Brown, P. C. Singer, and J. R. Nuckols. 2001.** "DBP Formation Kinetics in a Simulated Distribution System." *Water Research* 35 (14): 3483–89.
56. **Salas, Lucas A., Kenneth P. Cantor, Adonina Tardon, Consol Serra, Alfredo Carrato, Reina Garcia-Closas, Nathaniel Rothman, et al. 2013.** "Biological and Statistical Approaches for Modeling Exposure to Specific Trihalomethanes and Bladder Cancer Risk." *American Journal of Epidemiology* 178 (4): 652–60.
57. **Santé Canada. 2003.** "Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Les trihalométhanes." Recherche;lignes directrices. 2003.
58. **Shepherd, Jennifer L., Richard L. Corsi, and Jeff Kemp. 1996.** "Chloroform in Indoor Air and Wastewater: The Role of Residential Washing Machines." *Journal of the Air & Waste Management Association (1995)* 46 (7): 631–42.

References Bibliographiques

59. **Sponchiado, Graziela, Mônica Lucia Adam, Caroline Dadalt Silva, Bruna Silva Soley, Cristina de Mello-Sampayo, Daniela Almeida Cabrini, Cassyano Januário Correr, and Michel Fleith Otuki. 2016.** “Quantitative Genotoxicity Assays for Analysis of Medicinal Plants: A Systematic Review.” *Journal of Ethnopharmacology* 178 (February): 289–96.
60. **Stocker, Karen J., Joanne Statham, Wayne R. Howard, and Raymond J. Proudlock. 1997.** “Assessment of the Potential in Vivo Genotoxicity of Three Trihalomethanes: Chlorodibromomethane, Bromodichloromethane and Bromoform.” *Mutagenesis* 12 (3): 169–73.
61. **Sun, Tao, Junfei Zhan, Fei Li, Chenglong Ji, and Huifeng Wu. 2021.** “Evidence-Based Meta-Analysis of the Genotoxicity Induced by Microplastics in Aquatic Organisms at Environmentally Relevant Concentrations.” *The Science of the Total Environment* 783 (August): 147076.
62. **Trabaris, M, Xu, X, and Laskin, J. D. 2001.** “In Vitro Dermal Exposure Assessment of Drinking Water Disinfection By-Products In Micobial/Disinfection by-Products Health Effects Symposium.”
63. **World Health Organization. 2000.** “Environmental Health Criteria 216. Disinfectants and Disinfectant by-Products.”
64. **Wright, J Michael, Joel Schwartz, Terttu Vartiainen, Jorma Mäki-Paakkanen, Larisa Altshul, Joseph J Harrington, and Douglas W Dockery. 2002.** “3-Chloro-4-(Dichloromethyl)-5-Hydroxy-2(5H)-Furanone (MX) and Mutagenic Activity in Massachusetts Drinking Water.” *Environmental Health Perspectives* 110 (2): 157–64.
65. **Xu, Xu, and Clifford P. Weisel. 2003.** “Inhalation Exposure to Haloacetic Acids and Haloketones during Showering.” *Environmental Science & Technology* 37 (3): 569–76.

Annexes

Annexes

Annexe 01 :

La solution d'Acide Acétique Glacial à 45% :

Préparation de : 100ml

Acide acétique glacial.....	45 ml
Eau distillé.....	55 ml

Annexe 02 :

La solution de Carnoy

Préparation de : 10 ml

Acide acétique glacial.....	2,5 ml
Éthanol pure (96%).....	7,5 ml

Le Carnoy est composé d'éthanol 96% et d'acide acétique glacial, dans les proportions respectives : (3V /1V).

Annexe 03 :

Réactif de Feulgen

Préparation de : 50ml

Fushine basique.....	0,25 g
Eau distillé.....	50 ml
HCl (1N).....	5 ml
K ₂ S ₂ O ₅	0,5 g

Ajouter à 0,25 g de Fushine basique 50 ml d'eau distillée bouillante (100°), attendre 10 minutes jusqu'à ce que le mélange atteint une température de 50°C puis ajouter 5 ml d'une solution 1N d'HCl et mixer puis ajouter 0,5 g de métrasulfite de Potassium K₂S₂O₅, couvrir la solution par papier aluminium et la conservée à 4°C. Après 24h la solution est filtrée et peut être utilisé.