

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE SNV



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ biologie moléculaire des
procaryotes

Thème : Vérification des caractères génétiques des souches d'Ames
Salmonella typhimurium

Présenté par :

-Chihaoui Samia

-Dafri Zina

-Yekhlaf Rima

Devant le jury composé de :

Président : M^{me}KhallelMessaouda.

M.A. A Université de Guelma

Examineur: M^{me}MerabetRym. M.A. A Université de Guelma

Encadreur: PR. Benouareth Djamel Eddine. Professeur Université de Guelma

Juin 2014

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Nous adressons le grand remerciement a notre encadreur Pr. Benouareth qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début a la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier mes dames les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement : M^{me} khallel pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette mémoire.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à M^{me}. Merabet pour examiner et évaluer cette mémoire.

Nous remercions M^{elle} Tabet Mouna et M^{elle} Abdaoui Ahlem pour l'intérêt qu'elles avaient porté à ce travail et pour leurs conseils et remarques.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué a notre formation.

Dédicace

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier mon
Dieu*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je
ressens pour vous mes chers parents (Elayachi et
Uoissila). Je vous remercie pour tout le soutien
exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez
depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction
m'accompagnera toujours.*

*A mes frère « Khaled et Saleh » avec ma tout
reconnaissance pour votre soutien et vos encouragements.*

*A mes sœur « Fatima, Selma et Safa » pour votre
supporte et pour votre soutien et vos encouragements.*

A tout ma famille Chihaooui

*A toute mes amies et mes camarades Zina, Aicha,
wissem, Chobayla, Nawal et Naima.*

Samia

Dédicace

Au terme de ce travail nous tenons à remercier mon Dieu

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous mes chers parents (Laid et Kaltoum). Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

A mon frère « Khaled » et mes sœur « Lamia et Wissal » avec ma tout reconnaissance pour votre amour et vos encouragements.

A mes chers cousins « Kalkoul Abd Alghani et Abd Allatif » avec ma tout reconnaissance pour votre soutien et vos encouragements

A tout ma famille « Dabri et Kalkoul ».

A mon amie Amin Agoun avec tout mon remerciement à vous pour votre support moral

A toute mes amies et mes camarades Samia, Richa, Rima, Wesseem, Amina et Chobayla.

Zina

Dédicace

Merci à Dieu le tout puissant qui m'a doté de volonté et de patience pour ce travail.

A ma mère et mon père,

Mes sœurs Chahrazed et Douniazed,

Mes frères Adel et Souhil,

Zui ont toujours été présents et su dire des mots forts réconfortants quand j'en avais besoin,

ALouai, Wassim, Nour, Loudjiene, Lina et Amani

A tout ma famille Yekhlef

A toute mes amies et mes camarades Zina, Samia, Houda et Samira

A tous qui m'aime

.....Merci pour tout...

C'est grâce à vous que j'ai trouvé la force de me dépasser et d'arriver jusque là.

Rim

Listes des figures et des tableaux

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Action des radiations comme les UV	4
2	Remplacement d'une paire C-G en paire T-A	5
3	Remplacement d'une paire A-T par une paire G-C	5
4	Remplacement d'une paire de G-C par une paire T-A	6
5	Oxydation de guanine par les radicaux libres	6
6	Exemple d'un agent intercalent	7
7	Mutation somatique et germinale	9
8	Transition	10
9	Transversion	10
10	Mutation par délétion	11
11	Mutation par addition	11
12	Mutations à l'échelle chromosomique. Les différentes classes de mutations impliquent des mécanismes de recombinaison intra ou inter-chromosomique	13
13	Réparation des dimères de thymine par le mécanisme photo-dimère	14
14	Réparation des mésappariements	15
15	Réparation par excision de nucléotides	16
16	Réparation par excision de base	17
17	Réparation par recombinaison	18

Listes des figures et des tableaux

18	Réparation par le système SOS	19
19	Mutagenèse et cancérogenèse	22
20	Principe du test Ames	24
21	Préparation standard du S9	25
22	SOS chromotest	29
23	Principe de test des comètes	30
24	Principe du test micronoyaux	32
25	Réclamation d'histidine	37
26	Sensibilité au V.G et la résistance à l'AMP	38
27	Sensibilité à l'UV	38
28	Ré-isolement des souches	39
29	Réclamation d'histidine	40
30	Effet de VG et de l'AMP sur les souches d'Ames (TA100/TA98)	41
31	Effet des UV sur les souches d'Ames et la souche <i>E. Coli</i>	42

Listes des figures et des tableaux

Liste des tableaux :

Numéro	Titre	Page
1	Classification des substances chimiques présentant un risque de cancérogénicité pour l'humain par CIRC	20
2	Génotypes des souches bactériennes d'Ames	26
3	Différents mutations des souches utilisées	35

Liste des abréviations

Liste des abréviations

Abréviations	Signification
<i>ADN</i>	Acide désoxyribo-nucléotide
<i>UV</i>	Radiation Ultra Violet
<i>NH₂</i>	Fonction amine
<i>OH</i>	Fonction hydroxyle
<i>C</i>	Cytosine
<i>G</i>	Guanine
<i>U</i>	Uracile
<i>T</i>	Thymine
<i>A</i>	Adénine
<i>H</i>	Hypoxenthine
<i>CU</i>	Chlorouracile
<i>IU</i>	Iodouracile
<i>BU</i>	Bromouracile
<i>BET</i>	Bromure d'éthédium
<i>Lys</i>	Lysine
<i>Glu</i>	Glutamine
<i>Arg</i>	Arginine
<i>ARM_m</i>	Acide ribonucléotide messenger
<i>REN</i>	réparation par excision de nucléotides
<i>REB</i>	Réparation par excision de base
<i>His</i>	Histidine
<i>SCG</i>	Single Cell Gel Electrophoresis
<i>CBMN</i>	Cytokinesis Block Micronucleus assay
<i>GN</i>	Gélose Nutritive
<i>BN</i>	Bouillon Nutritive
<i>MB</i>	Master Black
<i>CIRC</i>	Centre International de Recherche sur le Cancer

Liste des abréviations

<i>V.B</i>	Vogel Bonner
<i>V.G</i>	Violet de Gentiane
<i>E.D</i>	Eau Distillé
<i>AMP</i>	Ampicilline
<i>bio</i>	biotine

Sommaire

Listes des figures et des tableaux.

Liste des abréviations.

Introduction1

Partie bibliographique

Chapitre I : Mutations et agents mutagènes

1-Définition.....	3
2- Les mutations et la mutagenèse.....	3
2-1-les agents mutagènes.....	3
2-1-1-Les agents physiques.....	3
2-1-2-Les agents chimique.....	4
2-1-3-Les analogues des bases.....	5
3-Les différents types de mutation.....	8
3-1-Mutations spontanées et induites.....	8
3-1-1-Mutations spontanées.....	8
3-1-2-Mutations induites.....	8
3-2-Mutation somatiques et germinales.....	8
3-2-1-Mutations somatiques.....	8
3-2-2-Mutations germinales.....	8
3-3- Mutation ponctuelles.....	9
3-3-1- Substitution des bases.....	10
3-3-2-Délétion des bases.....	11
3-3-2-Insertion des bases.....	11
3-4-Mutation chromosomiques.....	12

Sommaire

3-4-1-Aberrations portant sur un chromosome.....12

3-4-2- Aberrations portant sur deux chromosomes.....12

Chapitre II: Mécanismes de réparation

1-Réparation des dimères de thymine.....14

2-Réparation de mésappariement.....15

3-Réparation par excision.....16

3-1-Réparation par excision de nucléotides (REN).....16

3-2-Réparation par excision de base (REB).....17

4-Réparation par recombinaison.....18

5-Réparation par le système SOS.....19

Chapitre III: Mutagenèse et cancérogénèse

1-La cancérogénèse20

2-Lien entre Mutagenèse et cancérogénèse.....21

Chapitre V: Tests de mutagenèse

1 Les tests procaryotiques.....23

1-1-Test d'Ames ou mutatest.....23

1-1-1-Définition et principe.....23

1-1-2-Particularité du milieu de culture.....24

1-1-3-Souches bactériennes25

1-1-4-La technique 27

1-1-5-Avantages et inconvénients du test d'Ames 27

2-SOS Chromotest 28

Sommaire

2-1-Définition et principe	28
2-2-Avantage et inconvénient	29
2-Les tests eucaryotiques	30
2-1-Test de comète	30
2-1-1-Définition et principe	30
2-1-2-Avantages et inconvénients	31
2-2-Test de micronoyaux (MN)	31
2-2-1-Définition et principe	31
2-2-Avantages et inconvénients.....	33

Partie pratique

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1-Matériel biologique.....	34
1-1-Confirmation génotypique des souches d'essai.....	34
1 -2-Souches utilisées dans la vérification des caractères génétiques.....	34
2-Activation des souches tests.....	35
2-1-Refroidissement des souches.....	35
2-2-Pré-culture de nuit.....	36
2-3- Ré-isolement des souches tests.....	36
2-4-Stockage des souches.....	36
3-Vérification des caractères génétiques.....	36
3-1-Culture de nuit	36
3-2-Culture de deux heures	36

Sommaire

3-3-Réclamation d'histidine	36
3-4- La sensibilité au violet de gentiane et résistance à l'ampicilline.....	37
3-5-Sensibilité aux UV	38

Chapitre 2 : Résultats et discussion

1-Ré-isolement.....	39
2-Vérification des caractères génétiques	39
2-1-La réclamation d'histidine	39
2-2- La sensibilité au violet Gentiane et la résistance à l'ampicilline.....	40
2-2-1-Résistance à l'ampicilline.....	40
2-2-2-Sensibilité au violet de Gentiane.....	41
2-3-Sensibilité aux UV	41
Conclusion.....	43

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

L'ADN est le matériel héréditaire présent dans toutes les cellules vivantes ; animales, végétales et microbiennes. C'est ainsi que toute altération de l'ADN s'avère nocive (Meyer A et *al.*, 2004). Même dans des circonstances parfaitement normales, les mécanismes biologiques admettent toujours dans leur fonctionnement une certaine marge d'erreurs, et ceux qui assurent l'intégrité et la reproduction conforme du matériel génétique n'échappent pas à cette règle. Des mutations de toutes catégories se produisent donc spontanément chez tous les organismes. La fréquence de toute mutation spécifique reste toutefois toujours très faible.

Chez les bactéries, la chance pour qu'un gène déterminé subit une mutation pendant l'intervalle de temps séparant deux divisions successives n'est environ que de un sur cent millions.

Chez l'espèce humaine, bien que l'intervalle entre deux générations soit évidemment beaucoup plus long et correspond à de nombreuses divisions cellulaires, la même grandeur, comptée par génération, n'est guère que mille fois plus forte. Ces fréquences spontanées très faibles peuvent être augmentées dans d'énormes proportions lorsqu'on soumet le matériel biologique à l'action de certains agents qualifiés de mutagènes(1).

La mutagenèse regroupe les processus de transformations du patrimoine génétique transmissible à la descendance cellulaire. Les possibilités du potentiel mutagène sont recherchées, par des techniques *in vitro* et *in vivo*; chez des bactéries (effet de mutations génétiques); dans des cellules de mammifères cultivées *in vitro* pour apprécier les dommages chromosomiques; sur des animaux d'au moins deux espèces différentes, choisies généralement chez les rongeurs parce que leur temps de génération est court.

L'essai de génotoxicité le plus fréquemment utilisé est le test d'Ames réalisé à l'aide de mutants *salmonella typhimurium*his(-) des souches TA100 et TA98 permettant de détecter des mutations, respectivement par décalage du cadre de lecture et par substitution de paire de base (Vasseur P, février 1994). Il est recommandé avant tout essai de vérifier l'intégrité génétique et le taux de mutations spontanées lorsqu'on utilise des cultures conservées. Une vérification de la souche doit également être effectuée chaque fois qu'une expérience est réalisée (Meyer A et *al.*, 2004). L'objectif de ces vérifications et de s'assurer des caractères génétiques des souches tests.

Le présent mémoire se subdivise en deux parties. La première partie bibliographique en quatre chapitres : généralités sur la mutation ; le système de réparation ; lien entre mutagenèse et cancérogenèse et les tests de génotoxicité.

La seconde partie est pratique en deux chapitres, le premier est réservé à la présentation de la méthodologie adoptée pour la vérification des caractères génétiques des souches d'Ames. Le deuxième chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus puis une conclusion et les références bibliographiques.

Partie bibliographique

L'ADN contient l'information génétique, déterminée par l'enchaînement précis des nucléotides. Pour que la vie existe de manière stable, il est essentiel que la séquence nucléotidique des gènes ne soit pas trop altérée. Bien avant qu'il ne soit démontré qu'une mutation résulte du changement stable et héréditaire d'une séquence nucléotidique d'ADN, il existe de divers types d'altération : changement d'une paire de nucléotides, addition ou délétion d'une ou deux paires de nucléotides dans la région codante du gène. Il est clair que les mutations peuvent être caractérisées, soit par le type de changement génotypique qui s'est produit, soit par leurs conséquences phénotypiques (Lansing M et *al.*, 2003).

1-Définition

Les mutations du latin, *Mutare*, changé, sont des altérations des séquences habituelles de l'ADN d'un organisme. Elles résultent de l'action d'agents physiques, chimiques ou d'erreurs de réplication. Les mutations sont à l'origine de maladies génétiques héréditaires et du cancer, elles peuvent affecter aussi bien l'ADN génomique que l'ADN mitochondrial.

Les mutations se présentent sous deux formes. Selon l'étendue de la séquence touchée, il peut s'agir d'une mutation ponctuelle ou d'une de mutation de grande ampleur. Seules les mutations survenant dans les séquences codantes sont susceptibles d'avoir des répercussions sur le phénotype (Abdelali M, 2006).

2-Les mutations et la mutagénèse

2-1-Les agents mutagènes

2-1-1-Les agents physiques

- **Les Ultra Violets (UV)** : l'action de radiations comme les UV peut provoquer la fusion de deux thymines situées l'une à côté de l'autre sur un brin d'ADN (on parle de dimère de thymine). Les UV peuvent également provoquer la fusion d'une cytosine située l'une à côté de l'autre sur les brins d'ADN (on parle alors de dimère Thymine- cytosine). La formation de dimère provoque une incapacité de ces nucléotides de se lier avec leur base complémentaire située sur le brin complémentaire de la molécule d'ADN. Cette absence d'appariement provoque l'arrêt de l'ADN polymérase lors de la réplication (Turner P. C, 1999) (fig.1).

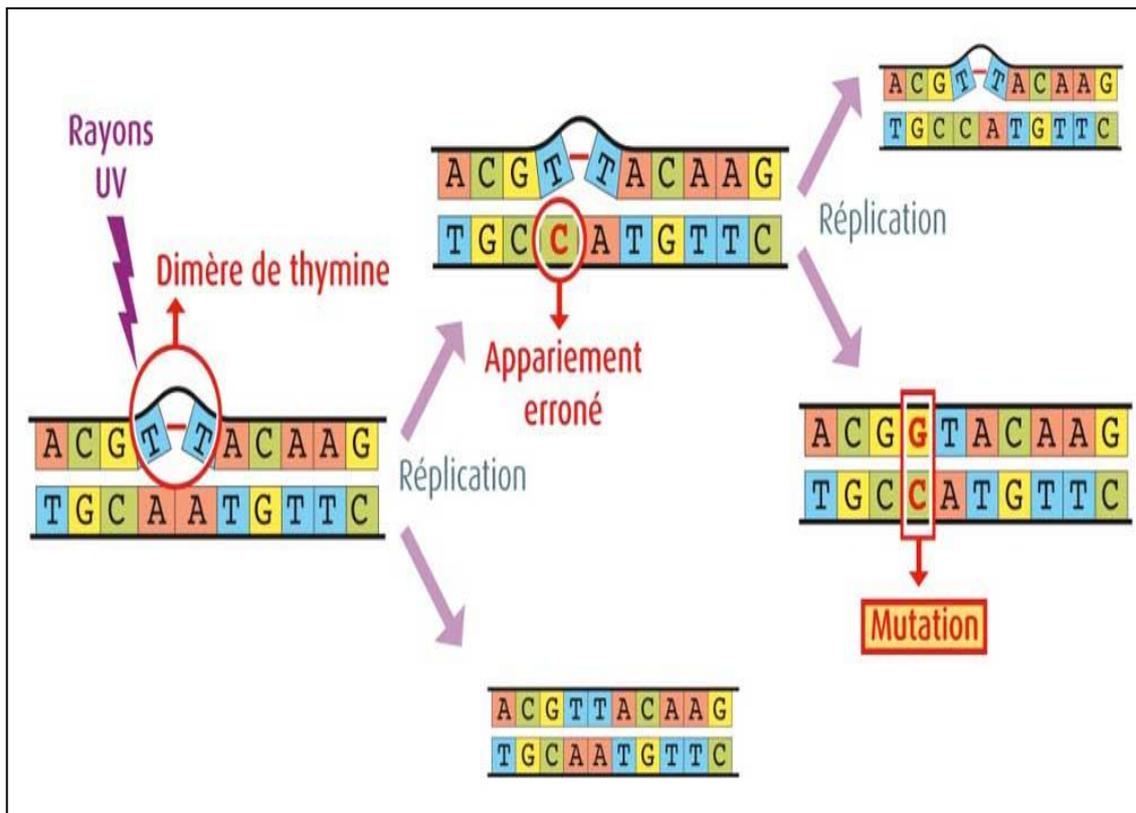


Figure 1 : Action des radiations comme les UV (2).

- **Les radiations ionisantes** : Les radiations ionisantes alpha et gamma provoquent le type de lésion les plus dangereuses pour l'ADN, c'est-à-dire la cassure des deux brins de la molécule provoquant ainsi la mort de la cellule si aucun mécanisme de réparation n'intervient. Cette propriété est utilisée pour tuer les cellules cancéreuses dans le cas d'un cancer réactif au traitement ionisant (rayons X, gamma,..)(3).

2-1-2-Les agents chimiques

- **Les agents désaminants** : La dissémination de la cytosine en uracile (la fonction amine NH_2 est remplacée par une fonction hydroxyle OH) en milieu aqueux avec libération d'ammoniaque, cette cytosine initiale devenue uracile lors de la réplication suivante, va être appariée à une adénine ; la paire initiale C-G est donc à terme remplacée par une paire U-A, puis T-A (Beaumont S, 1987) (fig. 2).

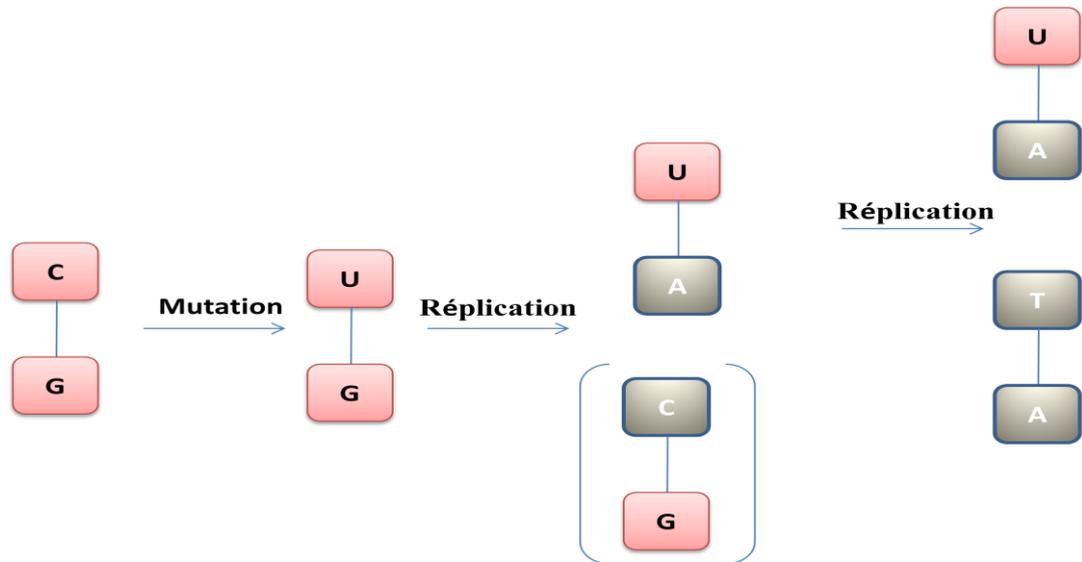


Figure 2 : Remplacement d’une paire C-Gen paire T-A. (en rose apparaissent les nucléotides de l’ADN initiale) (Beaumont S, 1987).

- **Acide nitreux :** provoque la désamination de l’adénine, ce qui forme de l’hypoxanthine. Ce dérivé de base peut alors s’apparie, à la réplication suivante avec de la cytosine. La paire initiale A-T est donc remplacée par une paire H-C, puis finalement par une paire G-C (Beaumont S, 1987) (fig.3).

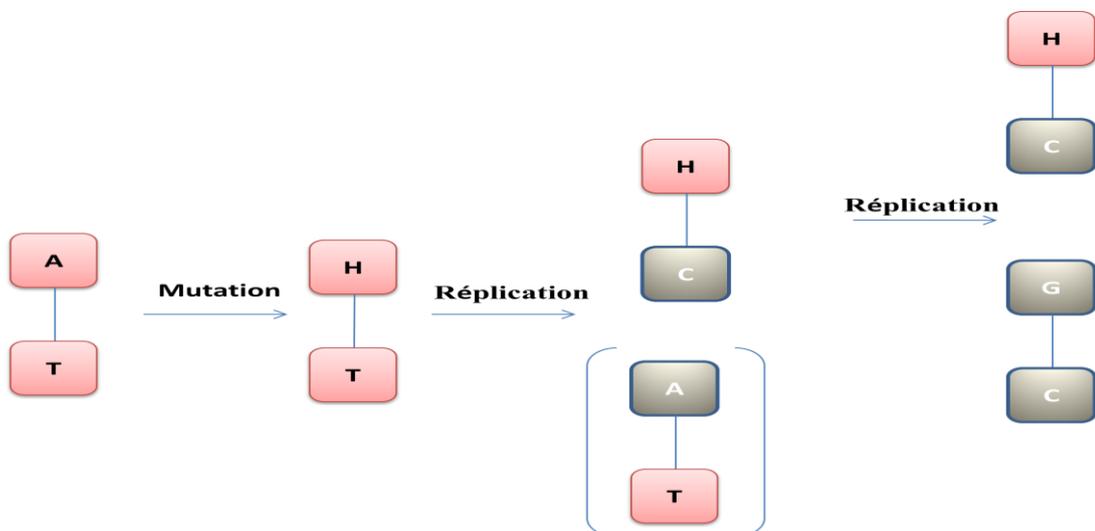


Figure 3 : Remplacement d’une paire A-T par une paire G-C (Beaumont S, 1987).

- **L'action des nitrosamines :** provoquent notamment des alkylations préférentiellement localisées sur le C6 de la guanine, donnant ainsi de la 6-O-méthylguanine capable de s'apparier lors de la réplication suivante avec de la thymine, qu'elle-même s'appariera ensuite avec de l'adénine. La paire initiale G-C est donc remplacée par une paire A-T (Beaumont S, 1987) (fig.4).

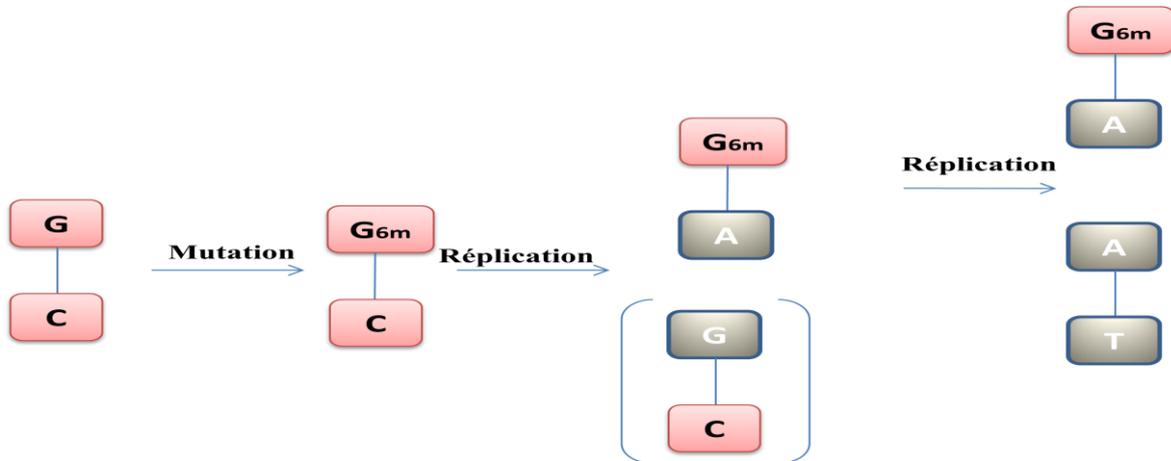


Figure 4 : Remplacement d'une paire de G-C par une paire T-A (Beaumont S, 1987).

- **Radicaux libres :** les ions super-oxydes, radicaux hydroxydes,...etc, peuvent oxyder la guanine en 7,8-dihydro8-oxo guanine (appelée oxo-guanine) qui peut s'apparier aussi bien avec de l'adénine qu'avec de la thymine. La paire initiale G-C est donc remplacée par une paire T-A (Beaumont S, 1987) (fig.5).

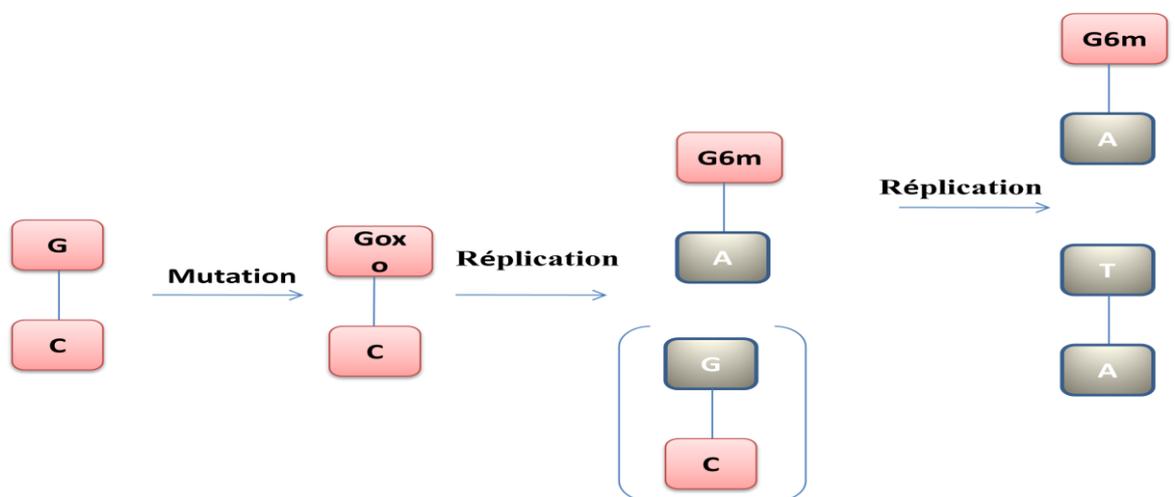


Figure 5 : Oxydation de guanine par les radicaux libres [6].

2-1-3-Les analogues des bases

Certains agents chimiques ont des structures suffisamment voisines de celles des bases azotées de l'ADN pour pouvoir être à l'occasion incorporés dans la chaîne nucléotidique en lieu et place d'une base. Ces agents sont appelés des analogues de base. Une fois en place, ils ont des propriétés d'appariement différentes de celles des bases normales ce qui causent des mutations.

- **Uracile halogéné en 5- bromouracile (5 BU), 5 chlorouracile (5 CU), 5 iodouracile (5 IU) :** ces analogues de la thymine qui portent un atome d'un halogène et non un CH₃ en position C-5 s'associent à l'adénine et plus rarement à la guanine. Leur action aboutit enfin de compte à une transition AT- GC (erreur de la réplication) ou GC - AT (erreur à l'incorporation).
- **2-Aminopurine :** cet analogue de l'adénine s'apparie avec les bases pyrimidiques induisant des transitions GC – AT ou AT- GC. La 2-Aminopurine peut également s'apparier avec la cytosine lorsqu'elle est sous forme normale ou à l'état imino.
- **Agents intercalants :** ces composés cycliques et plans peuvent se glisser entre les plans des bases d'ADN et provoquent des délétions ou des insertions de base. On connaît, par exemple, le bromure d'éthédium (BET), ou encore la proflavine et psoralène (Beaumont S, 1987) (fig.6).

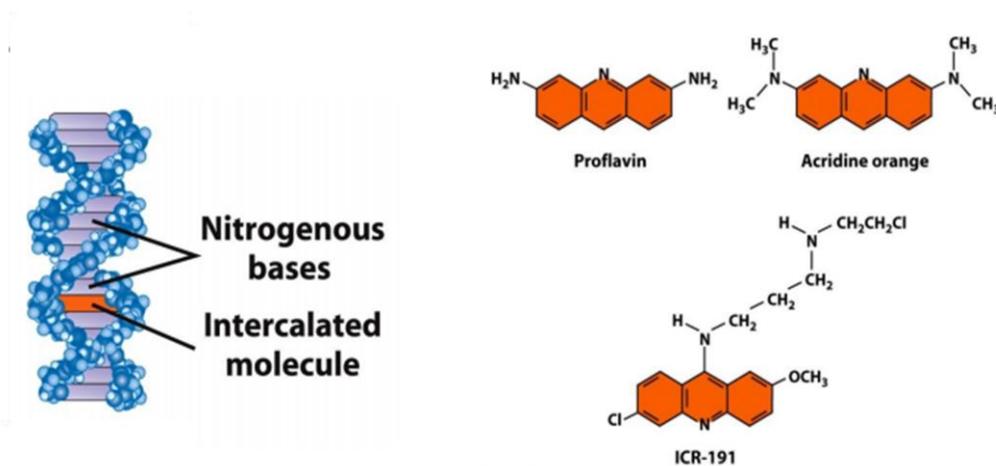


Figure 6 : Exemple d'un agent intercalant (3).

3-Les différents types de mutation**3-1-Mutations spontanées et induites**

Les mutations dans le génome peuvent apparaître spontanément ou être induites.

3-1-1-Mutations spontanées

Sont des mutations qui apparaissent naturellement et peuvent toucher n'importe quelle cellule ou ce sont des événements rares à cause de la grande précision du processus de réplication de l'ADN.

3-1-2-Mutations induites

Se produisent à la suite de l'action de certains agents appelés mutagènes qui augmentent le taux d'apparition des mutations (Abdelali M, 2006).

3-2-Mutation somatiques et germinales**3-2-1-Mutations somatiques**

C'est-à-dire celles qui ne concernent pas les cellules sexuelles, disparaîtront au plus tard avec la mort de l'individu. Elles ne sont donc pas transmises à la descendance. En revanche, si l'organisme se multiplie par voie asexuée, une mutation somatique peut être transmise au nouvel individu, si la cellule mutée participe à la construction de ce nouvel organisme (Harry M, 2008).

3-2-2-Mutations germinales

C'est-à-dire celles qui se produisent dans les cellules à l'origine des gamètes sont au contraire transmissibles à la descendance de l'individu. En effet, une mutation portée par un spermatozoïde ou un ovule se retrouvera présente dans la cellule-œuf et par conséquent dans toutes les cellules du nouvel individu. Elle devient alors héréditaire (Harry M, 2008) (fig.7).

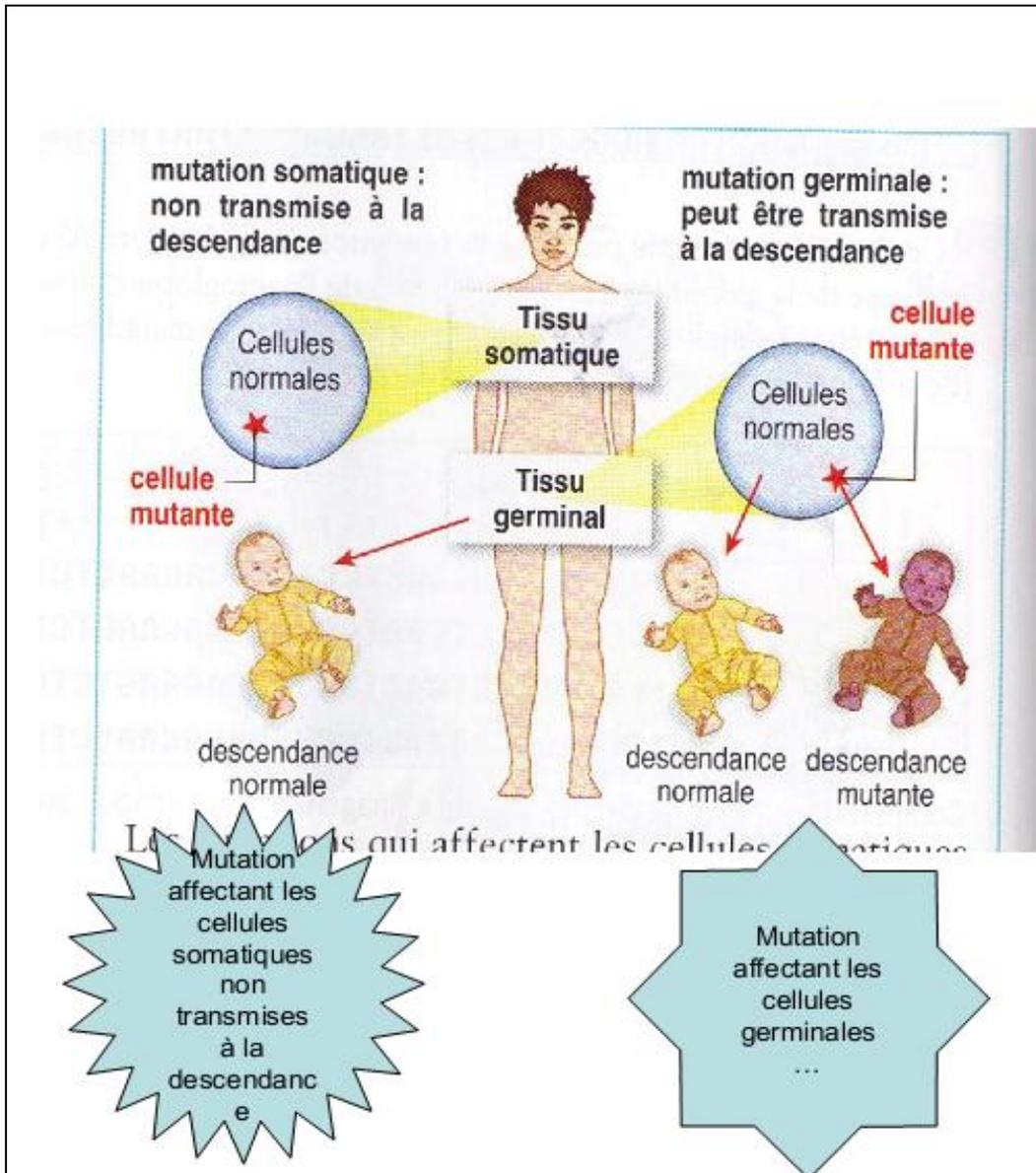


Figure 7 : Mutations somatique et germinale (4).

3-3-Mutations ponctuelles

Les mutations ponctuelles font généralement référence à des modifications concernant de paires de bases uniques de l'ADN ou un petit nombre de paires de bases adjacentes. Les mutations ponctuelles sont classées selon leur nature moléculaire (Griffiths A. J. F et *al.*, 1997), il y à trois types de mutation ponctuelle :

3-3-1-Substitutions des bases

Sont des mutations dans lesquelles une paire de bases est remplacée par une autre. Elles peuvent être divisées en deux sous-classes :

- **Transition** : est un remplacement d'une base par une autre base de la même catégorie chimique c.-à.-d une purine remplacée par une purine ou une pyrimidine remplacée par une pyrimidine (fig.8) (4).

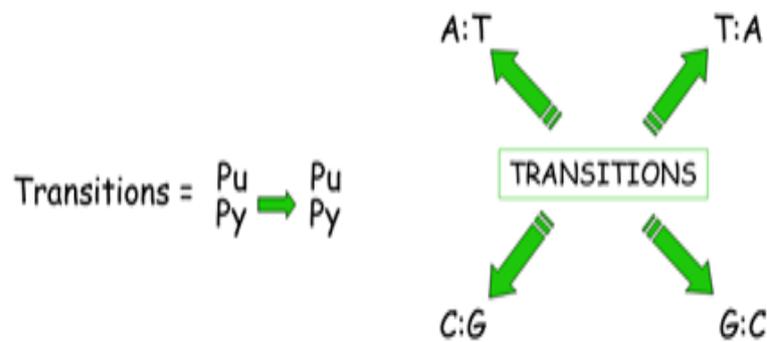


Figure 8 : Transition (5).

- **Transversion** : est le remplacement d'une base appartenant à une catégorie chimique par une base appartenant à l'autre catégorie c.-à.-d. une pyrimidine est remplacée par une purine ou une purine est remplacée par une pyrimidine (4) (fig.9).

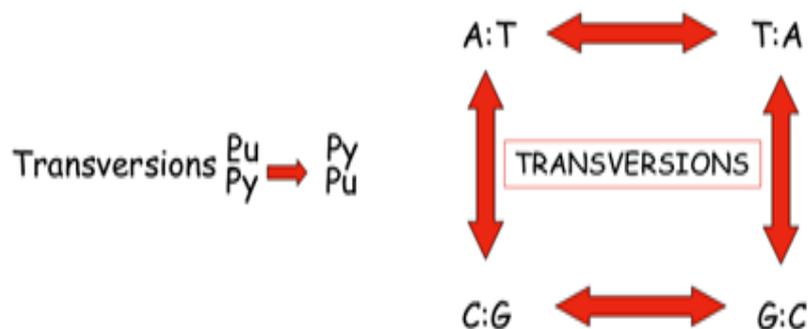


Figure 9 :Transversion (5).

3-3-2-Délétion de base

Correspond à la perte d'une paire de nucléotides(2) (fig.10).

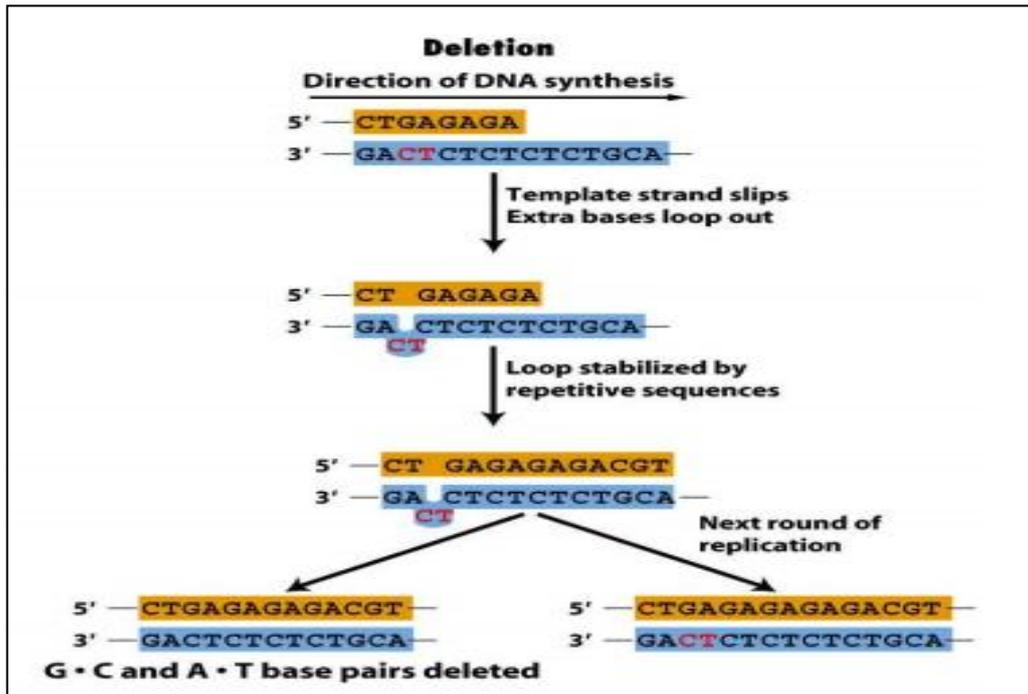


Figure 10: Mutation par délétion(4).

3-3-3-Addition de base

Lorsqu'une paire de nucléotides supplémentaire a été insérée dans la séquence d'ADN(2) (fig.11).

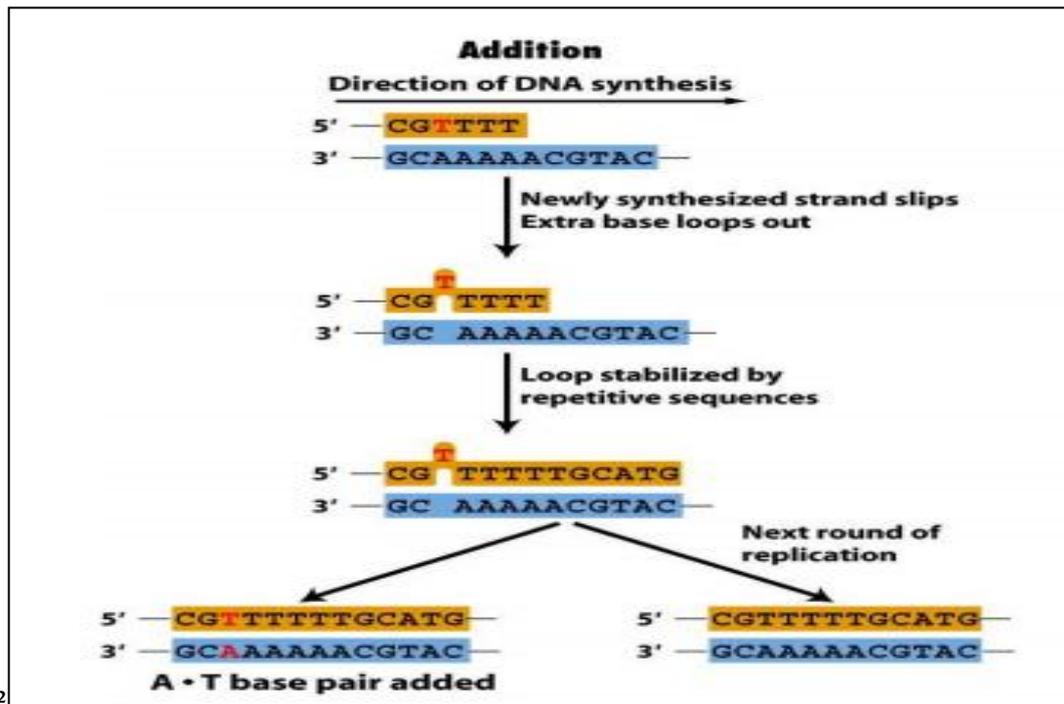


Figure 11: Mutation par addition (4).

3-4-Mutations chromosomiques

3-4-1- Aberrations portant sur un chromosome

- **Les délétions :** elles résultent de deux cassures survenues dans un même bras chromosomique et de la perte du segment intermédiaire, on distingue les délétions terminales portant sur l'extrémité du chromosome et les délétions intercalaires portant sur des segments plus proximaux des bras chromosomique.
- **Les chromosomes en anneau:** ceux-ci résultent d'une cassure aux extrémités d'un chromosome suivie par recollement avec perte des deux segments distaux. En pratique les structures en anneaux sont assimilables à une double délétion.
- **Les inversions :**elles sont dues à des cassures sur le même chromosome suivies de recollement après inversion du segment intermédiaire. Elles sont péricentriques si les deux cassures se sont produites dans le même bras ou paracentrique, si les cassures se sont produites dans les deux bras.
- **Les isochromosomes:** un isochromosome est un chromosome anormal formé de deux bras long ou deux bras courts avec de l'autre bras, l'isochromosome le plus fréquemment observé c'est celui pour le bras long du chromosome X.
- **Duplication intra chromosome :**un fragment d'un chromosome est dédoublé, il s'agit de remaniements rares aboutissant à des trisomies pures (fig.12).

3-4-2-Aberrations portant sur deux chromosomes

- **Les translocations réciproques:** ces translocations sont dues à des échanges de segments chromosomiques entre deux chromosomes, les points de cassures s'étant produits ailleurs que dans les régions juxta centromérique.
- **Les insertions:** elles se traduisent par le transfert d'un segment chromosomique intercalaire à l'intérieur d'un autre bras chromosomique. Elles résultent d'un mécanisme à trois cassures, l'une sur le chromosome receveur et deux sur le chromosome donneur, le segment inséré peut conserver la même orientation par rapport au centromère ou avoir une orientation inverse (Moulsseoul S.1998) (fig.12).

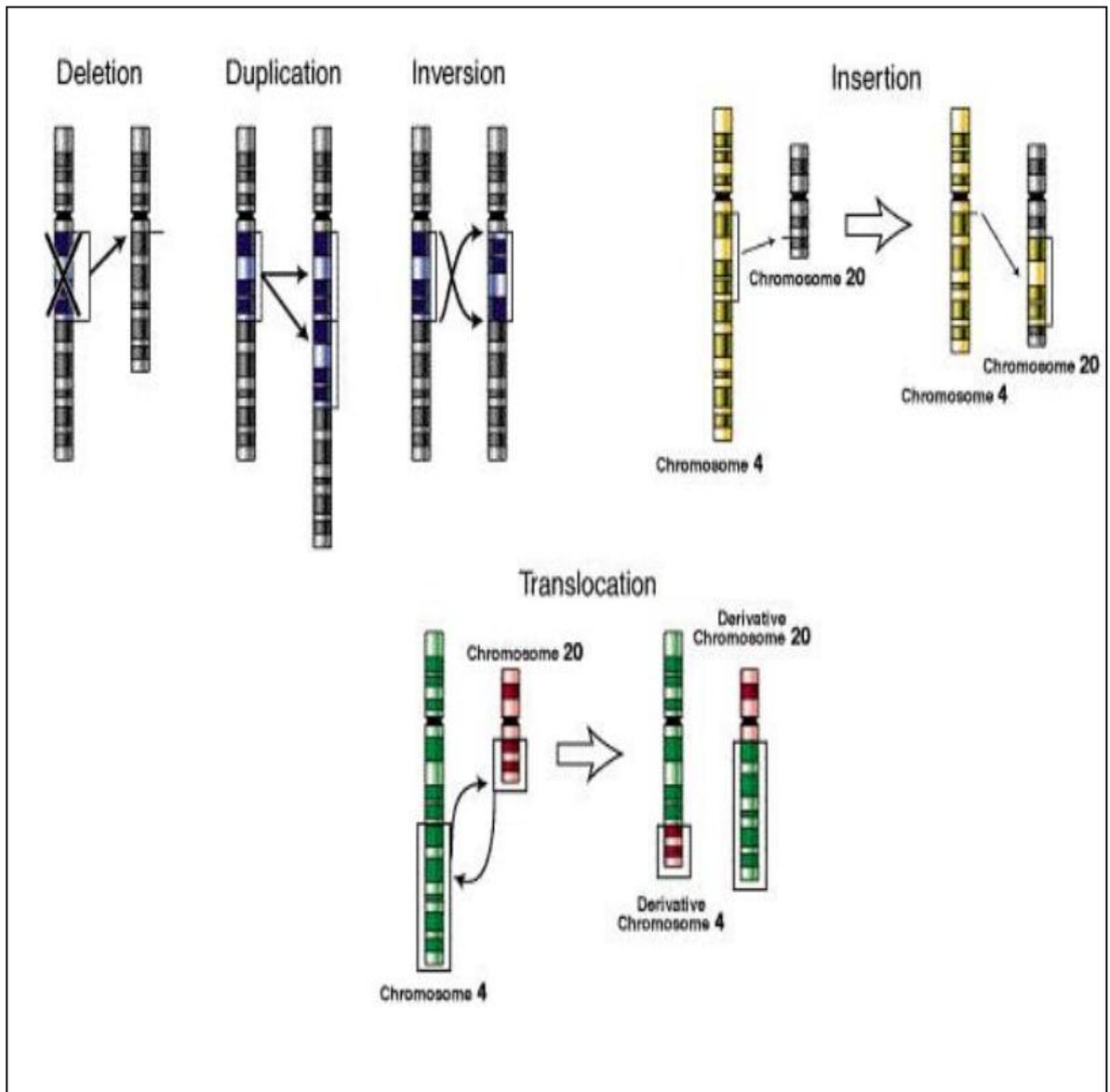


Figure 12 :Mutations à l'échelle chromosomique (5).

Chapitre II:

Mécanismes de réparation

L'ADN est en permanence soumis à des agressions physiques (comme les UV de la lumière solaire sur les cellules de la peau) ou chimiques (mutagènes). Les lésions induites par ces agents sont réparées avec une remarquable efficacité comme le montre l'augmentation spectaculaire des mutations lorsque la réparation de l'ADN est génétiquement altérée.

1-Réparation des dimères de thymine

Les dimères pyrimidine cyclobutane peuvent être encore monomérisés par des ADN photolyases en présence de la lumière visible. Ces enzymes possèdent des groupements prosthétiques qui absorbent la lumière bleue et transfèrent l'énergie vers l'anneau cyclobutane qui est ensuite clivé. La photo réactivation est spécifique pour les dimères pyrimidines (Turner P. C, 1999) (fig.13).

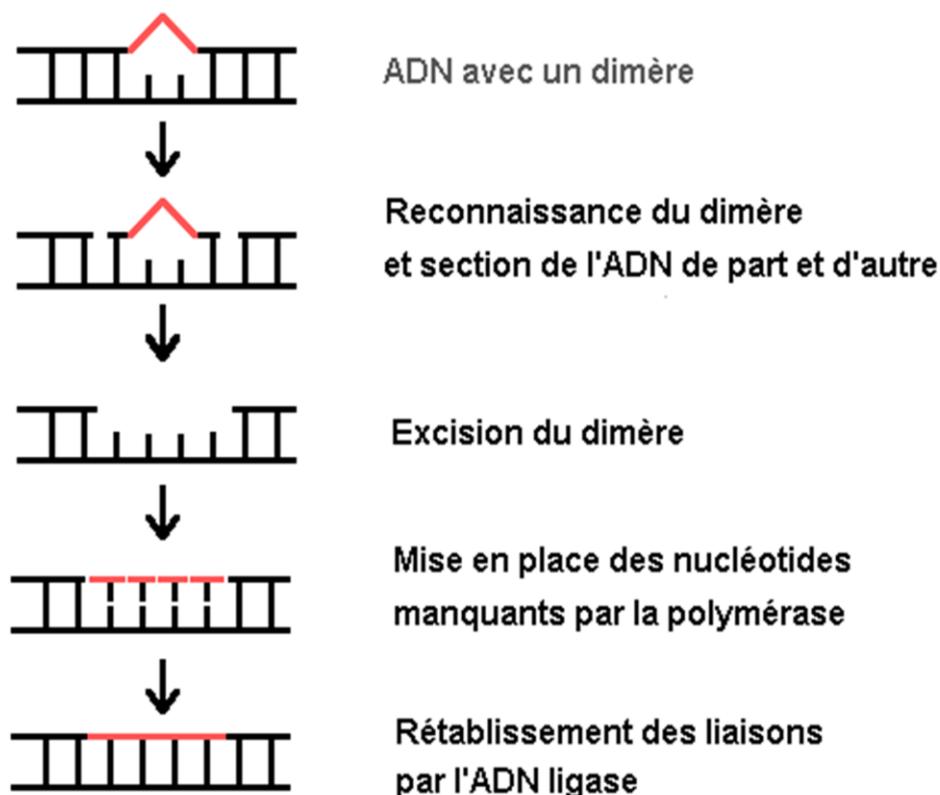


Figure 13: Réparation des dimères de thymine par le mécanisme de photo-dimères (8).

2-Réparation de mésappariement

Ce système corrige les erreurs introduites durant la réplication de l'ADN en identifiant les nucléotides mal appariés. Un ensemble d'enzyme marque le mésappariement ou peut directement le repérer. Il est évidemment nécessaire que le système puisse distinguer laquelle de deux base mal appariées est correct. Ceci se fait en distinguant le brin d'ADN parental, qui porte la séquence correcte, du brin fils, sur lequel se situe la séquence mutée. En pratique, chez *Escherichia coli* (*E. coli*), le brin parental est facilement identifié puisqu'il est marqué avec des adénines méthyles. La méthylation des brins résultants dure plusieurs minutes après la réplication. Ainsi, l'ADN nouvellement répliqué est hémi-méthyle. Les brins parent sont méthyles alors que les brins résultants ne le sont pas, donc ils peuvent être aisément distinguée (Turner P. C, 1999) (fig.14).

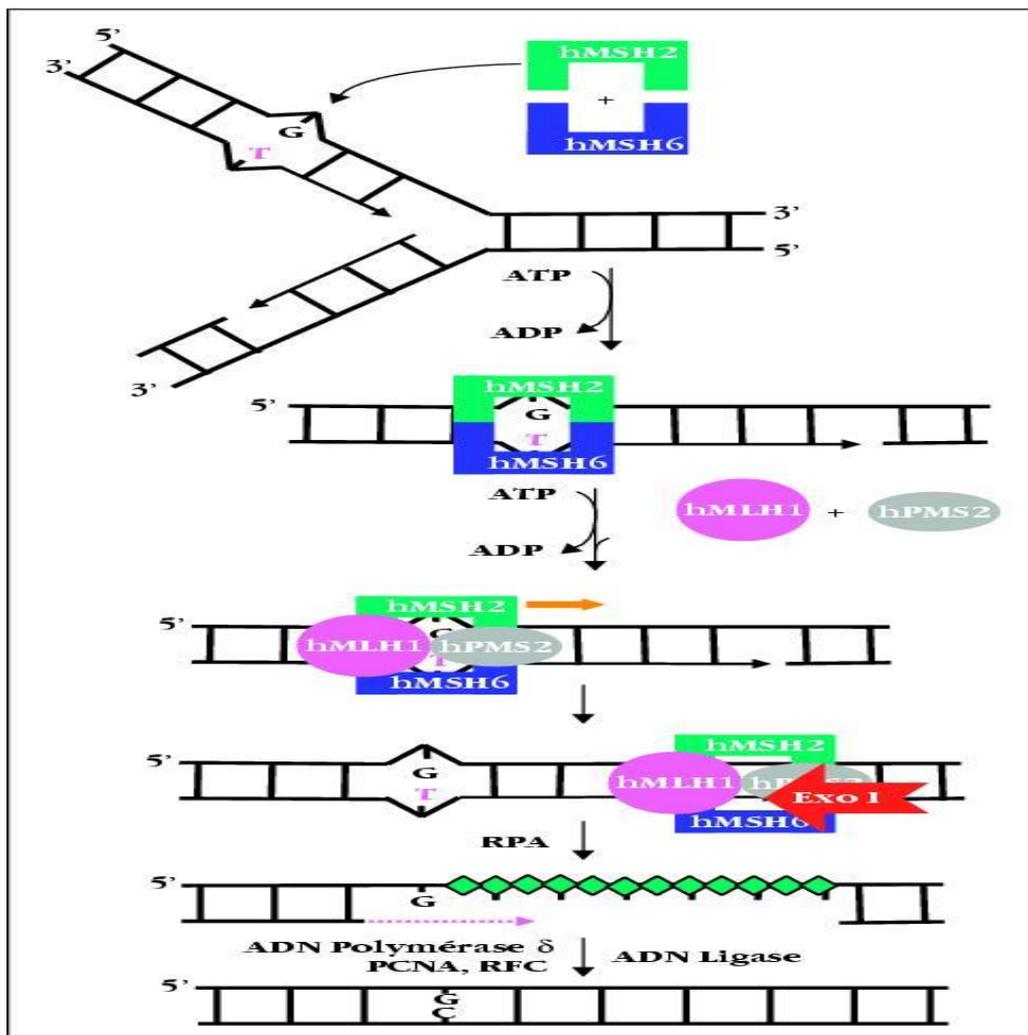


Figure14 :Réparationdes mésappariements (10).

3-Réparation par excision

Fonctionne grâce à un mécanisme de coupure et réparation qui élimine différentes lésion volumineuse, comme les dimères de pyrimidine et les nucléotides auxquels sont attaché divers groupement chimique. On peut distinguer deux modes:

3-1- Réparation par excision de nucléotides (REN)

Une endonuclease clive l'ADN en un nombre précise de base sur chaque cote de la lésion et un oligonucléotide contenant la lésion est supprimé formant une brèche à la place. Par exemple, dans l'*E.coli*, l'endonuclease enlève les dimeres pyrimidines et d'autre lésion importantes par la reconnaissance de la distorsion que celle-ci produisent dans la double hélice (Wagner J, 2001) (fig.15).

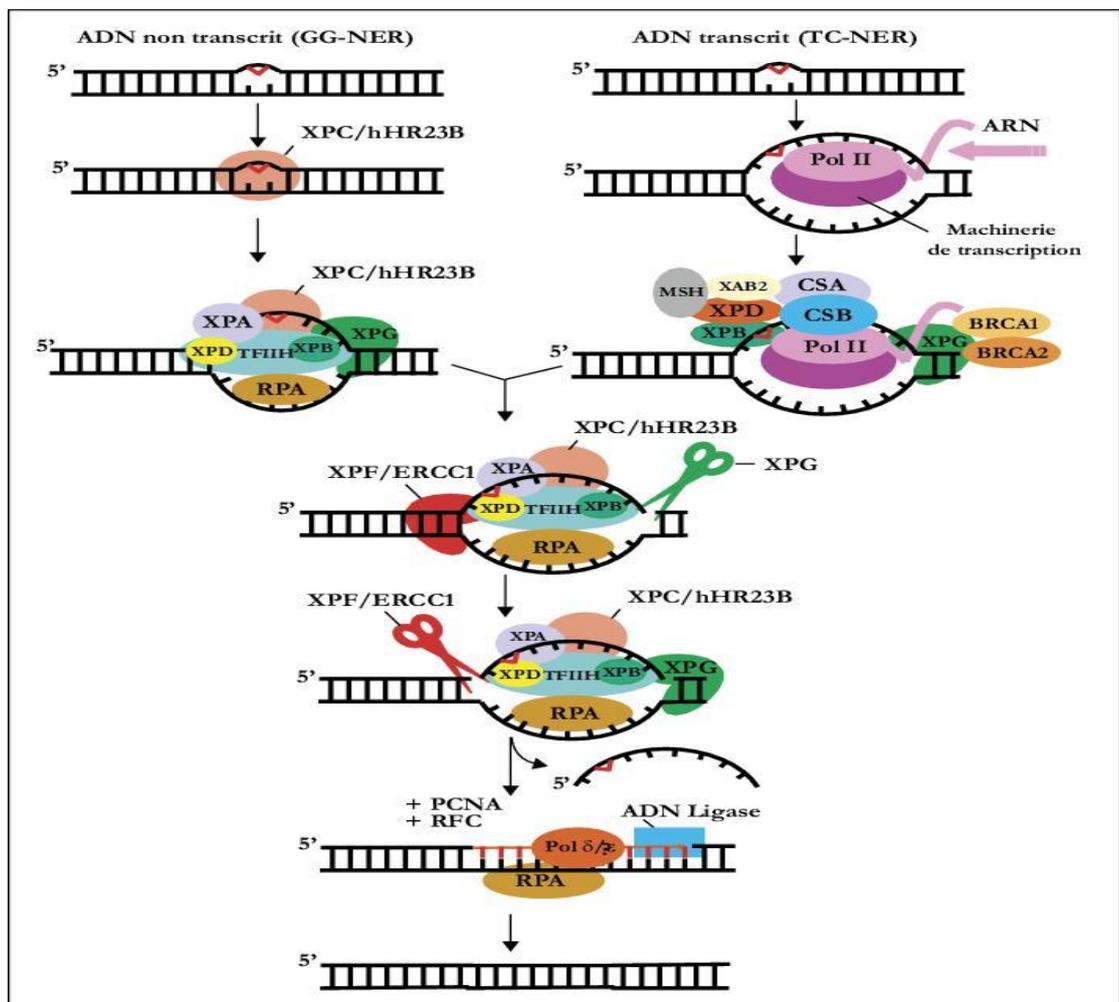


Figure 15 : Réparation par excision de nucléotides (9).

3-2-Réparation par excision de base (REB)

Les bases modifiées sont relativement reconnues par des ADN glycosylases relativement spécifiques qui clivent la liaison N-glycosylique entre la base altérée et le sucre en produisant un site apurinique ou apyrimidique (AP). Les sites AP sont également produits par une perte de bases spontanée. Une endonucléase AP clive ensuite l'ADN à ce site et peut être créée par l'activité de l'exonucléase. La brèche est généralement plus considérable dans la REN est peut être aussi petite l'un seule nucléotide dans la REB. Dans *E.coli*, la brèche est remplie d'ADN polymérase et la liaison phosphodiester finale formée par l'ADN ligase, aussi considérablement que pendant les phases finales de traitement des fragments du brin secondaire durant la replication de l'ADN (Turner P. C, 1999) (fig.16).

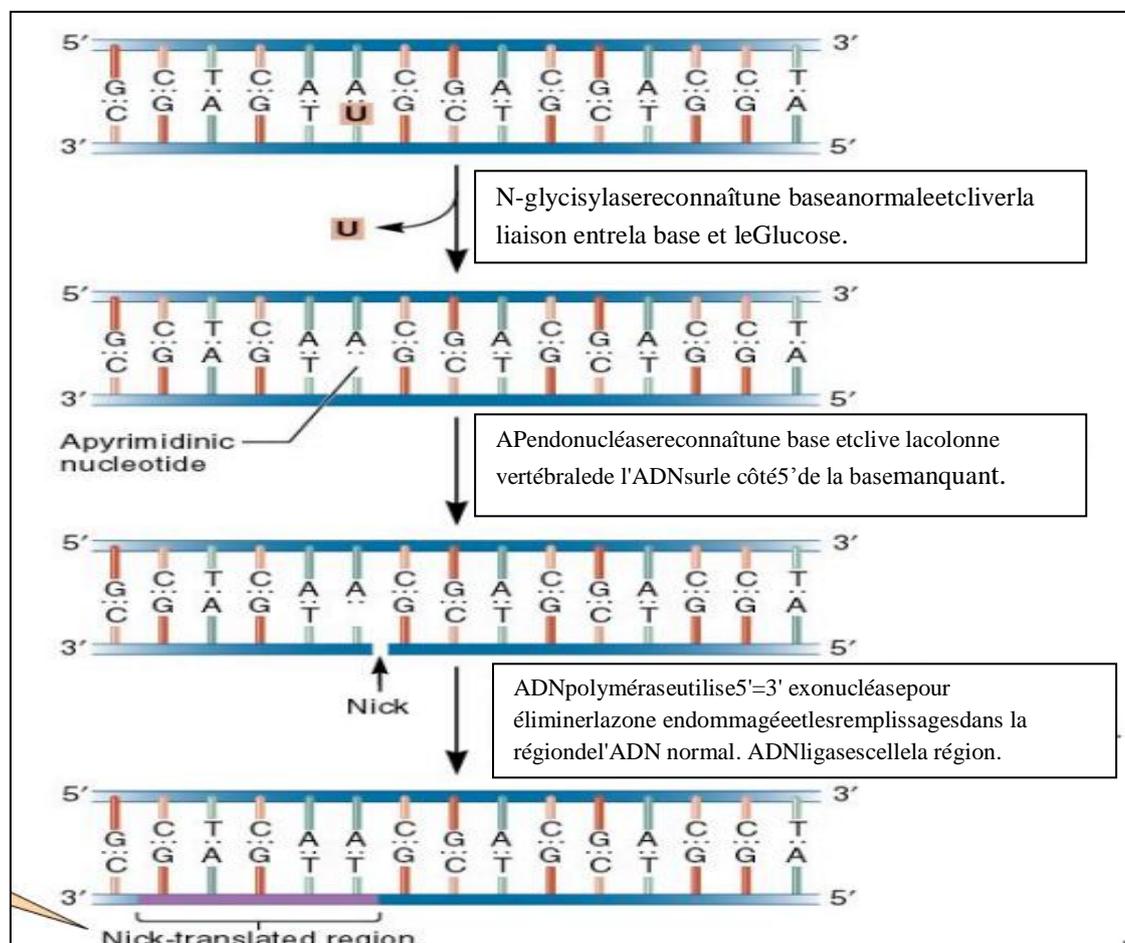


Figure 16: Réparation par excision de base (10).

4-Réparation par recombinaison

La réparation par recombinaison intervient au niveau des lésions ; pour lesquelles il ne reste pas de matrice. C'est le cas lorsque les deux bases d'une paire nucléotidiques manquent ou sont altérées ; ou lorsqu'il y a une brèche en face d'une lésion. Dans ce type de réparation la protéine RecA coupe une séquence d'ADN matrice dans une molécule sœur et l'amène dans la brèche ou l'utilise pour remplacer une des chaînes lésées. Malgré la nature haploïde des bactéries ; une autre copie d'ADN est souvent disponible ; soit parce que la réplication vient d'avoir lieu ; soit parce que la cellule en croissance rapide possède plus d'une copie de son chromosome. Dès que la matrice est en place ; la lésion restante peut être corrigée par un des autres systèmes de réparation (Turner P. C, 1999, Nicklin J et *al.*, 1999) (fig.17).

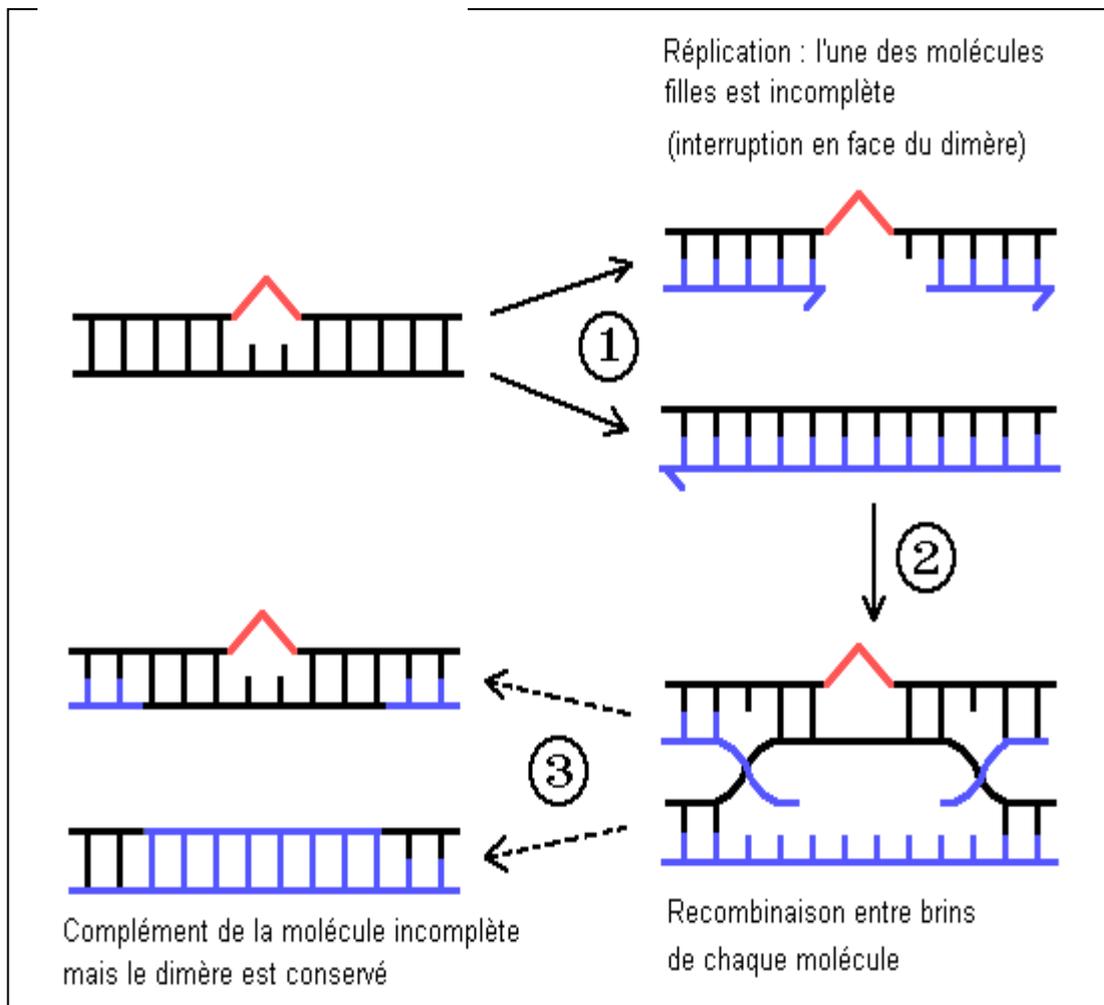


Figure17: Réparation par recombinaison(10).

5-Réparation par le système SOS

La protéine RecA participe également à une réparation inductible appelée réparation SOS. Dans ce cas ; la lésion de l'ADN est si grave que la synthèse s'arrête complètement ; laissant de nombreuses brèches importantes. RecA va se lier aux brèches ; initier l'échange des brins et en même temps acquérir une fonction protéolytique qui détruit le répresseur LexA. Celui-ci réprime la fonction de nombreux gènes impliqués dans la réparation et la synthèse d'ADN.

Du fait de la destruction de LexA ; plusieurs de ces molécules enzymatiques sont produites ; accélérant les processus de réplication et de réparation. Ce système peut réparer rapidement des lésions de grande étendue ; provoquées par des agents tels que les radiations UV ; mais il entraîne des erreurs et produit des mutations. Il est néanmoins plus avantageux d'avoir un nombre limité de mutations plutôt que de voir la réplication de l'ADN s'arrêter (Griffiths A. J. Fet *al.*, 1997., Nicklin J,1999., Turner P. C, 1999 .,Frezal J, 1993) (fig.18).

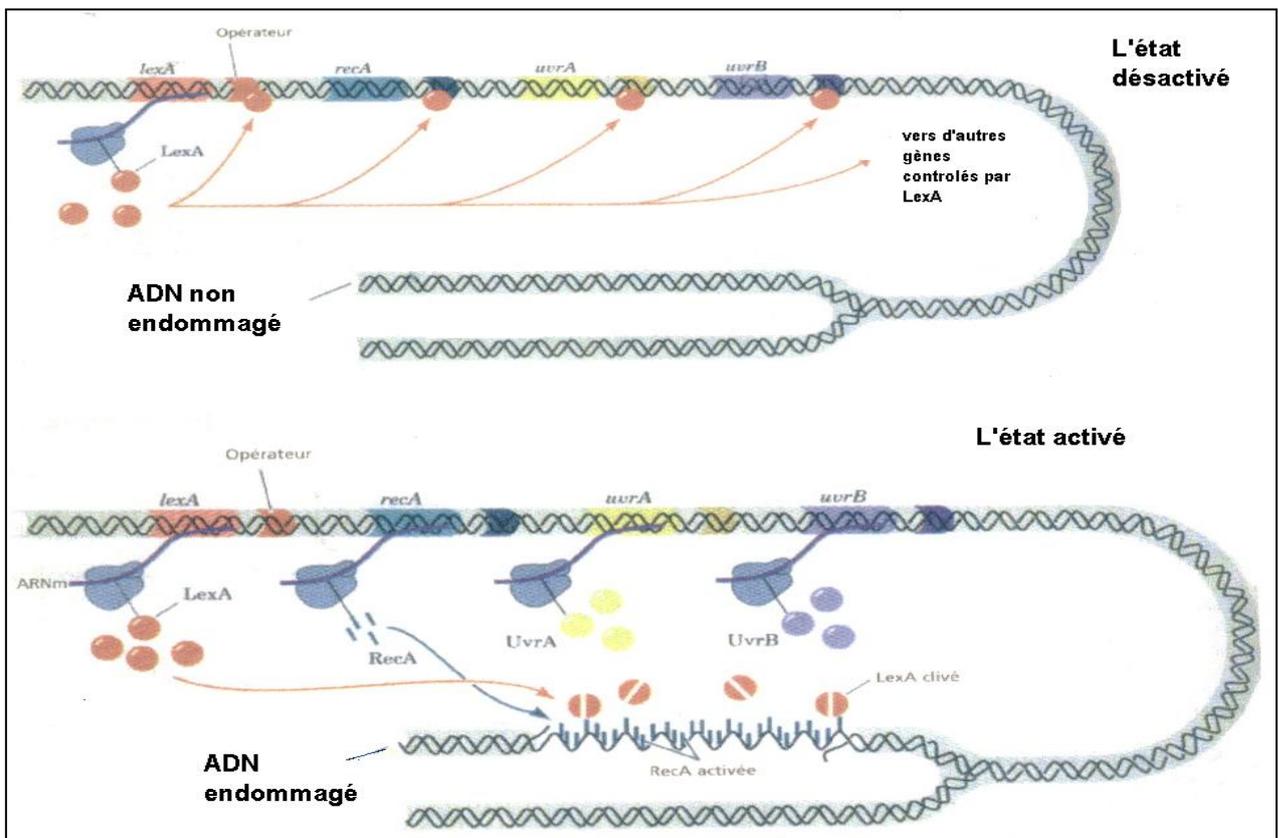


Figure 18 : Réparation par le système SOS (Frezal J, 1993).

Chapitre III:

Mutagénèse et cancérogénèse

Le terme mutagène désigne les agents qui augmentent la fréquence des mutations dans la population des cellules et/ou d'organismes.

Les termes génotoxique et génotoxicité se réfèrent aux agents ou processus qui altèrent la structure, le contenu informationnel ou séparation de l'ADN, notamment ceux qui endommagent l'ADN en interférant avec le processus normal de réplication de façon non physiologique (temporaire). Les résultats des essais de génotoxicité servent généralement d'indicateurs pour les effets mutagènes (Anonyme, 2009).

1-La cancérogénèse

Un cancérogène est un facteur provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer. Un agent physique ou chimique est cancérogène pour l'homme quand il provoque des lésions de l'ADN cellulaire qui déclenchent un processus complexe de transformation cancéreuse (Meyer A et *al.*, 2004). Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), un agent cancérogène est défini comme un agent qui peut augmenter le risque de cancer. Le CIRC classe une substance chimique comme agent cancérogène lorsqu'il existe suffisamment de données scientifiques provenant d'études réalisées auprès d'humains, d'animaux et/ou d'autres sources pertinentes pour montrer qu'elle peut entraîner l'apparition de cancer. Le CIRC classe les substances chimiques en différentes catégories selon le risque qu'elles présentent pour l'humain (tab. 1) (12).

Tableau 1 : Classification des substances chimiques présentant un risque de cancérogénicité pour l'humain selon CIRC (12).

Catégorie	Définition
Groupe 1	La substance chimique est cancérogène pour l'homme.
Groupe 2A	La substance chimique est probablement cancérogène pour l'homme.
Groupe 2B	La substance chimique est peut-être cancérogène pour l'homme.
Groupe 3	La substance chimique est inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'homme.
Groupe 4	La substance chimique n'est probablement pas cancérogène pour l'homme.

La cancérogenèse est un processus de mutagenèse auquel s'ajoute un pouvoir de malignité.

Une cellule maligne possède les caractéristiques suivantes :

- Elle est devenue immortelle
- Elle n'obéit plus aux facteurs de régulation tissulaire
- Elle est capable d'aller coloniser d'autres tissus (métastases) (Meyer A et *al.*, 2004).

Les études de cancérogenèse ont pour but de mettre en évidence le processus par lequel les cellules se divisent à une fréquence accrue. Cette prolifération cellulaire excessive ou hyperplasie constitue un des stades précoces de la cancérisation. Ce processus peut conduire à l'apparition de tumeurs malignes qui envahissent les tissus voisins et qui peuvent migrer donnant des métastases (Abdelali M, 2006). Une substance cancérogène peut induire, seule ou en association avec un autre produit:

- Des tumeurs;
- L'augmentation de la fréquence de certains types de tumeurs;
- La diminution du temps de latence de tumeurs spontanées.

Une tumeur provient d'une seule cellule dont la division échappe à tout contrôle. La division cellulaire étant sous le contrôle de gènes, c'est la modification du code génétique (mutation) de ces gènes qui est responsable de l'initiation du processus tumoral (13).

2-Lien entre mutagenèse et cancérogenèse

La molécule d'ADN est une structure dynamique sujette à de constants changements. Ces variations sont consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques (UV, radiations ionisantes, produits chimiques) qualifiés de génotoxiques. La plupart de ces dommages génétiques sont réparés et sans conséquence. Ces mécanismes de réparation deviennent moins efficaces avec l'âge.

Quelquefois, si le dommage est trop important, les capacités de réparation de la cellule sont dépassées et la cellule peut mourir (par exemple par apoptose). Cependant, des agressions répétées sur le génome augmentent la probabilité de survenue de lésions irréversibles (mutations) et peuvent être à l'origine de l'initiation d'un processus cancérogène (fig.19) (Iamarcovai G, 2008).

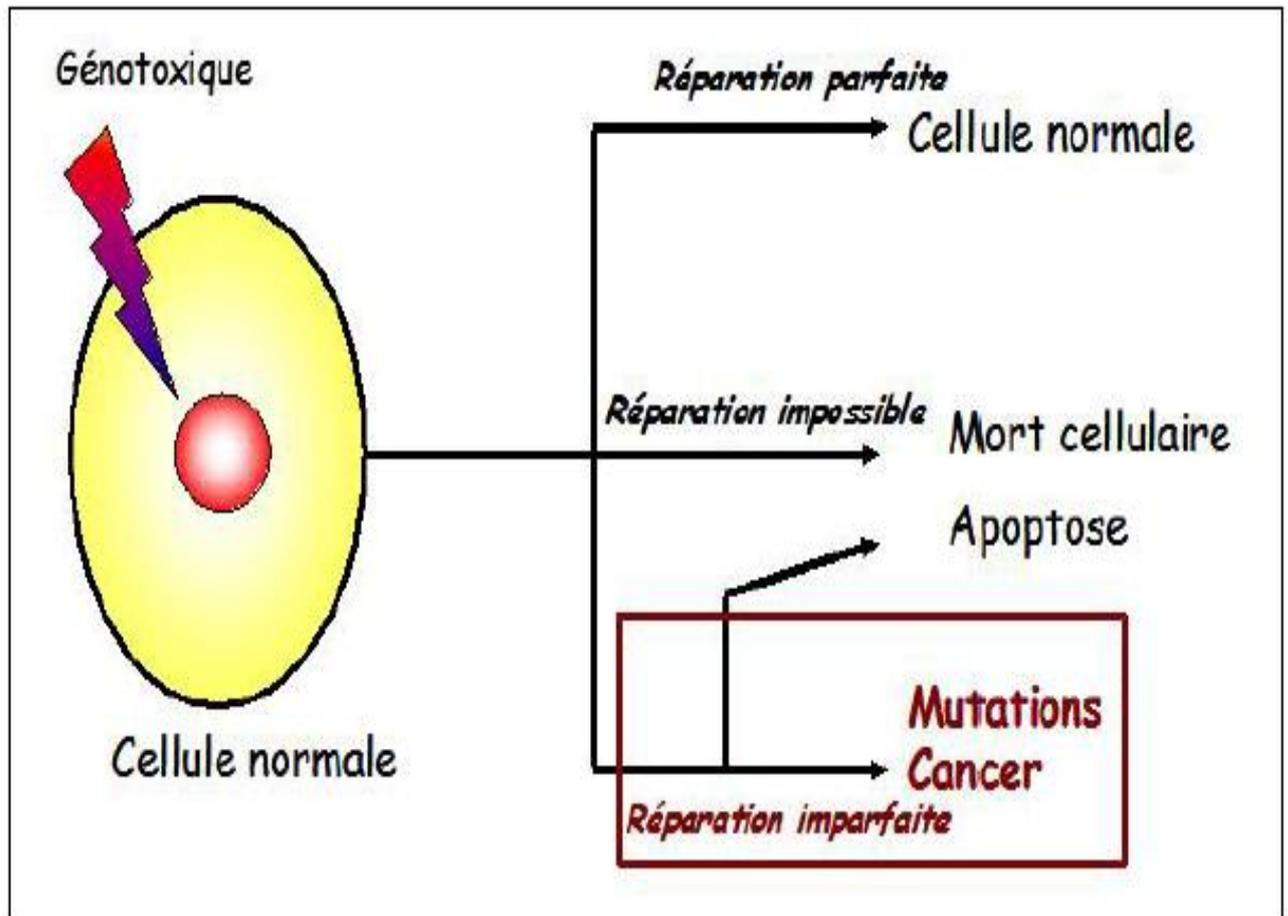


Figure 19 :Mutagenèse et cancérogénèse (Iamarcovai G, 2008).

On sait qu'il existe une forte corrélation entre les mutations génétiques et le cancer puisque dans les deux cas, il s'agit souvent d'une atteinte génotoxique de l'ADN. Les cancers résulteraient pour beaucoup de mutation induites. Il a été d'ailleurs démontré qu'au moins 90% des produits cancérogènes possèdent également des propriétés mutagènes (Vaubourdolle M, 2007).

Chapitre IV:

Tests de mutagénèse

Les Tests de mutagénicité sont des tests sur des substances chimiques ou bien des agents physiques, afin d'en évaluer le potentiel mutagénique (14) ; Depuis, plus de 200 tests ont été mis au point pour détecter les mutations sur l'ADN, mais on en utilise aujourd'hui moins d'une dizaine de façon courante.

Les procédés choisis doivent tenir compte du fait que l'organisation du matériel génétique est très différente entre les eucaryotes et les procaryotes (Vaubourdolle M, 2007).

But d'essais de mutagenèse : les essais de mutagenèse ont trois objectifs :

- Détecter et évaluer le pouvoir mutagène ;
- Détecter les risques génétiques (mutation de gène, mutation chromosomique et lorsque c'est possible, mutation du génome) ;
- Recherche un éventuel potentiel cancérigène (Vaubourdolle M, 2007).

1-Les tests procaryotiques

1-1-Test d'Ames ou mutatest

1-1-1-Définition et principe

Le test d'Ames, parfois appelé mutatest, consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (Vasseur P, 1994). Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His(-) rend les souches incapables de se développer sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His(-) reversent spontanément vers His(+), les cellules retrouvent leur capacité à croître sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His(-) à des agents mutagènes (14).

Le test évalue alors la capacité de la substance toxique à induire une nouvelle mutation dans cette même région de l'ADN qui se traduira par la réversion de l'autotrophie de la souche bactérienne vis-à-vis de l'histidine. Le nombre de clones bactériens His(+), dits révertants, ayant poussé au bout de 48h sur le milieu de culture dépourvu d'histidine, est proportionnel au pouvoir mutagène de la substance testée (Dégremont C et al.,2009) (fig.20).

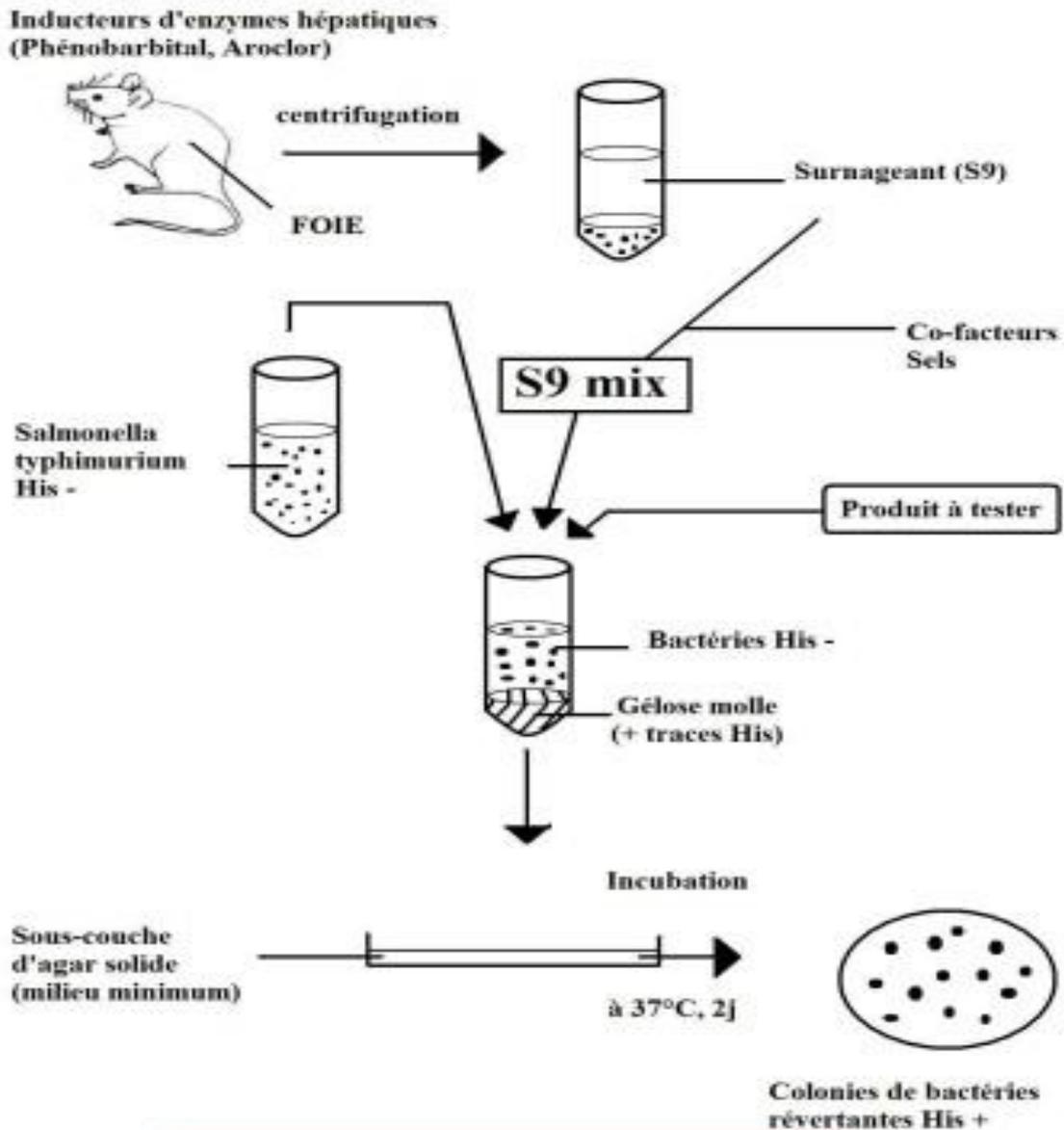


Figure (20): Principe du test Ames (15).

1-1-2-Particularité du milieu de culture

Certaines substances nécessitent un inducteur pour être mutagène. Un extrait de foie de rat appelé S9 Mix obtenu par ultracentrifugation est souvent ajouté à l'agar mou avant étalement. Cet extrait enzymatique convertirait les substances cancérigènes en dérivés électrophiles, plus susceptibles de réagir directement avec l'ADN, système absent chez les bactéries mais présent chez les mammifères. Ainsi de nombreux agents cancérigènes comme les aflatoxines ne deviennent actifs dans ce test qu'en présence de cet extrait de foie (15) (fig.21).

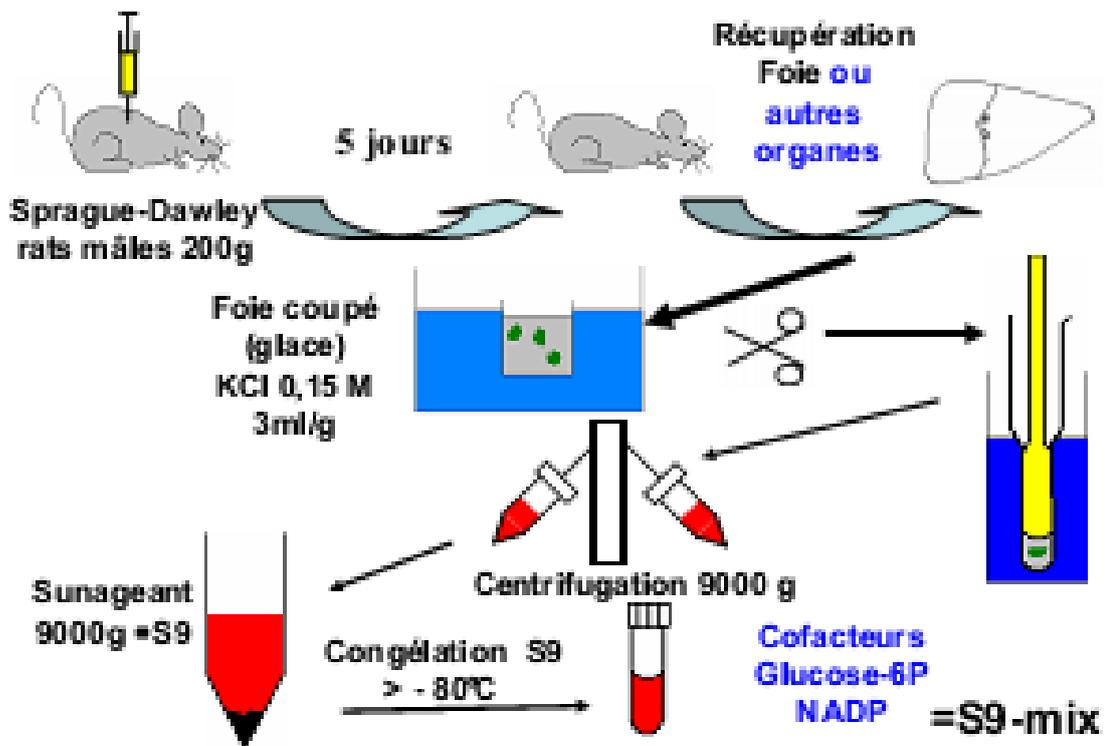


Figure 21 : Préparation standard du S9 (15).

1-1-3-Souches bactériennes

Les souches bactériennes de nature génétique différente utilisées sont porteuses de mutations His(-) différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés. En plus de ces mutations spécifiques sur l'opéron His, ces souches possèdent des caractères génétiques qui permettent d'augmenter leur sensibilité à l'agression génotoxique

- **Mutation *hisD* 3052** : mutation dans TA1538 et TA98, ces bactéries sont déficientes à l'enzyme histidinol déshydrogénase. La TA1538 et sa dérivée r-factor TA98, détectent des mutagènes de type « frameshift ». Cette mutation à la séquence(CGCGCGCG), est révertée par le frame shift (GCGCGCGC.) mutagènes tel que 2-nitrosofluorène et le daunomycin ce qui conduit à la restauration du cadre de lecture correct pour la synthèse de l'histidine.
- **Mutation *hisG* 46** :mutation présente dans TA100 et TA1535, ces bactéries sont déficientes à la première enzyme qui entre dans la synthèse de l'histidine. Elle est déterminée par la séquence -GGG- CCC-La TA1535 et sa dérivée r-factor TA100, détectent les mutagènes qui causent des substituant des paires de base.

- **Mutation *hisC 3076*** : C'est une mutation frame shift dans TA1537, elle n'est pas séquencée mais il est connu qu'elle contient une cytosine de plus dans une série d'au moins 4 cytosines.
- **Mutation *rfa*** : cette mutation cause la perte partielle des polysaccharides à la surface de la barrière cellulaire de la bactérie ce qui augmente sa perméabilité aux grandes molécules qui sont incapables de pénétrer dans la cellule normale.
- **Mutation *uvrB*** : c'est une délétion du gène codant pour le système de réparation « excision resynthèse », conférant une augmentation de la sensibilité à la détection des mutagènes. Pour des raisons techniques la délétion du gène *uvrB* s'étend jusqu'au gène *bio* et par conséquent, la bactérie est aussi auxotrophe à la biotine pour croître.
- **Plasmide pKM 101** : Ce plasmide porte le gène de résistance à l'ampicilline (R – Factor), il est présent dans les souches TA98 et TA100. ces souches portant le facteur de résistance se révertent par des mutagènes qui sont faiblement détectés par les autres souches. *pKM101* qui contient deux gènes amplifiant le processus SOS de réparation responsable de la mutagenèse induite (Khallef M, 2004). (tab.2).

Tableau (2) : Les souches bactériennes du test d'Ames (16).

souches	Gènes affectés	Mutations additionnelles			Type de mutation
		réparation	LPS	plasmide	
TA 1535	His G46	uvrB-	rfa	-	substitution
TA 1537	His C3076	uvrB-	rfa	-	frameshift
TA 1538	His D3052	uvrB-	rfa	-	frameshift
TA 97	His O1242 His D6610	uvrB-	rfa	pKM 101	frameshift
TA 98	His D3052	uvrB-	rfa	pKM 101	frameshift
TA 100	His G46	uvrB-	rfa	pKM 101	substitution
TA 102	His G428	+	rfa	pKM 101 (pAQ 1)	substitution

1-1-4-La technique

Le test d'Ames consiste à préparer une série de mélanges d'une quantité constante d'une des souches et des quantités croissantes du produit à tester et à les étaler sur des boîtes de Pétri contenant un milieu minimal. Ce milieu autorise la croissance des mutants His(+) uniquement. Afin d'augmenter la sensibilité du test, une trace d'histidine est ajoutée qui permet la croissance de 2 à 3 générations de His(-) et amplifie l'apparition des mutants. Après incubation pendant 48h, le dénombrement des mutants His(-) est effectué. Ceux-ci apparaissent sous la forme de colonies sur un tapis cellulaire translucide.

- **Les techniques disponibles pour effectuer le test d'Ames**

* **Le spot-test** : Qui est un pré-test. Le produit en solution est déposé sous forme de goutte sur le milieu minimal préalablementensemencé avec la souche. Cette technique permet d'évaluer rapidement les doses à tester par les autres techniques.

* **La méthode standard** : Le mélange produit-bactéries est étalé directement sur boîte de Pétri. C'est la méthode de référence.

* **La méthode avec pré-incubation en milieu liquide** : Les bactéries sont placées en contact avec le produit en milieu liquide. Cette méthode permet de détecter certains produits qui sont négatifs par la méthode standard (30-90min) (17).

1-1-5-Avantages et inconvénients

Le succès du test d'Ames vient de sa simplicité d'exécution et de son coût modique. De plus, ce test est rapide (48h) et sensible. Il donne une réponse quantitative permettant des études comparatives. Sa souplesse dans les différents protocoles lui permet de s'adapter à des échantillons variés. Son pouvoir prédictif (mutagènes qui sont cancérogènes) est de 70-90% selon les études. De part sa simplicité et son faible coût de revient, le test d'Ames est le plus utilisé des tests de Toxicologie Génétique. Parmi tous les tests disponibles, sa banque de données est certainement la plus importante. Enfin, il a été validé dans de nombreux pays.

Cependant, le test d'Ames est un test bactérien. Il représente une simulation approximative de ce qui peut se passer chez l'homme (métabolisme, système de réparation de l'ADN,

systèmes de toxification, conditions d'exposition et de diffusion des produits dans l'organisme cible). La présence d'histidine dans des échantillons biologiques peut induire de fausses réponses positives et certains produits bactéricides (antibiotiques) peuvent induire des fausses réponses négatives. La sensibilité (cancérogènes qui sont mutagènes) est de 40-50%. Les souches bactériennes sont génétiquement instables. Ce test exige un équipement de laboratoire qui est propre à un laboratoire de bactériologie. Ceci peut être un investissement initial important pour un laboratoire non équipé (18).

2-SOS Chromotest

2-1-Définition et principe

Le SOS Chromotest est un test *in vitro* qui permet d'évaluer l'activité génotoxique d'une substance pure ou d'un échantillon biologique ou environnemental. Ce test est effectué sur une souche bactérienne, *E. coli* PQ37(19).

Il consiste à déterminer *in vitro* la capacité d'une substance chimique à induire des dommages à l'ADN qui seront quantifiés indirectement par la mesure de l'expression d'un des composants du système de réparation SOS, le gène *sfiA*. Dans cette souche bactérienne, le gène *lacZ*, responsable de la synthèse de la β -galactosidase a été placé sous le contrôle du Promoteur *sfiA*. Ainsi, lorsque l'ADN bactérien est endommagé par un génotoxique, le système de réparation SOS est activé, ce qui conduit à l'induction du gène *lacZ* et à la synthèse de l'enzyme β -gal dont l'activité est quantifiée par dosage colorimétrique (apparition d'une couleur jaune) à 405 nm.

L'activité de la β -gal est comparée à l'activité de la phosphatase alcaline (PAL) mesurée en parallèle, qui constitue à ce titre un standard interne puisque non inductible par des agents génotoxiques(20) (fig.22).

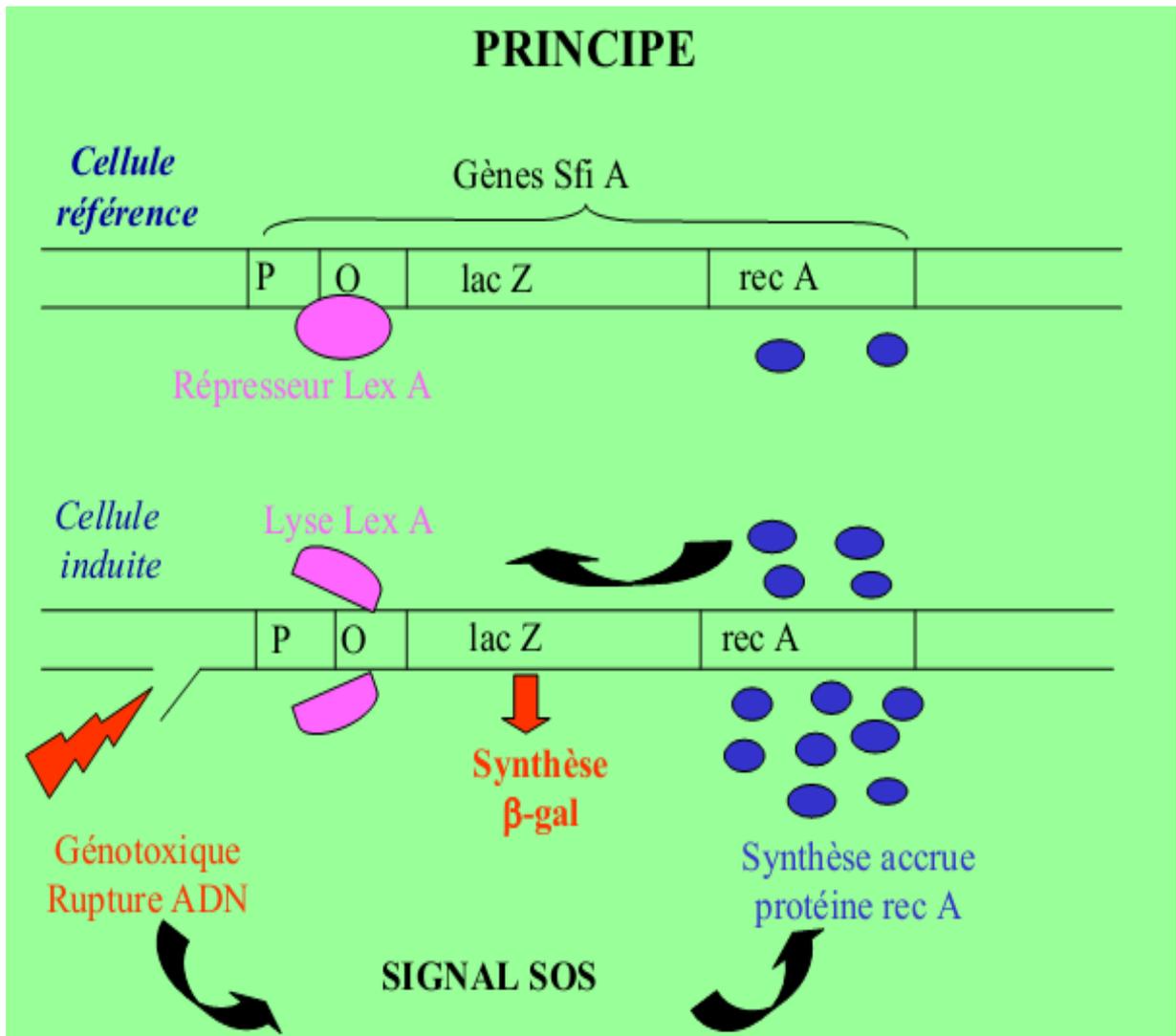


Figure 22 :SOS chromotest (Quillardet P et *al.*, 1985).

2-3-Avantage et inconvénient

- Test des produits pharmaceutique pour l'activité génotoxique.
- Dépistage des eaux souterraines et de surface pour les résidus génotoxique.
- Dépistage de l'eau potable des produits chimiques ayant un potentiel génotoxique.
- Dépistage des polluants atmosphériques solubles dans l'eau pour les agents génotoxique.
- Facile à utiliser, faible, rapide, peu couteux.

Cependant, ce test est moins sensible que le test d'Ames et test des micronoyaux (20).

2-Les tests eucaryotiques

2-1-Test des comètes

2-1-1-Définition et principe

Le test des comètes ou *Single Cell Gel Electrophoresis*(SCGE) est une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose. Il permet de mesurer les cassures induites directement par un agent génotoxique et indirectement lors des processus enzymatiques de réparation des dommages ou lors de processus secondaires de fragmentation de l'ADN tel que l'apoptose (21).

Après traitement *ex vivo*, *in vitro* et *in vivo*, les cellules isolées sont mélangées à de l'agarose à faible point de fusion et déposées sur des lames précédemment recouvertes d'un gel d'agarose. Les cellules, emprisonnées dans le gel, sont lysées par un tampon contenant des détergents et une forte concentration en sels. Les lames sont ensuite déposées dans une cuve d'électrophorèse. Après dénaturation ou non de l'ADN, une électrophorèse est réalisée. Ce test est basé sur la capacité de l'ADN, chargé négativement, de migrer vers l'anode dans le gel d'agarose soumis à un champ électrique. Après la migration, les lames sont neutralisées et fixées. Après coloration, l'ADN d'une cellule intacte apparaît comme une sphère de 25 à 35 μm de diamètre et l'ADN d'une cellule lésée s'étire proportionnellement au nombre de cassures (fig.23) (Kerninon E, 2003).

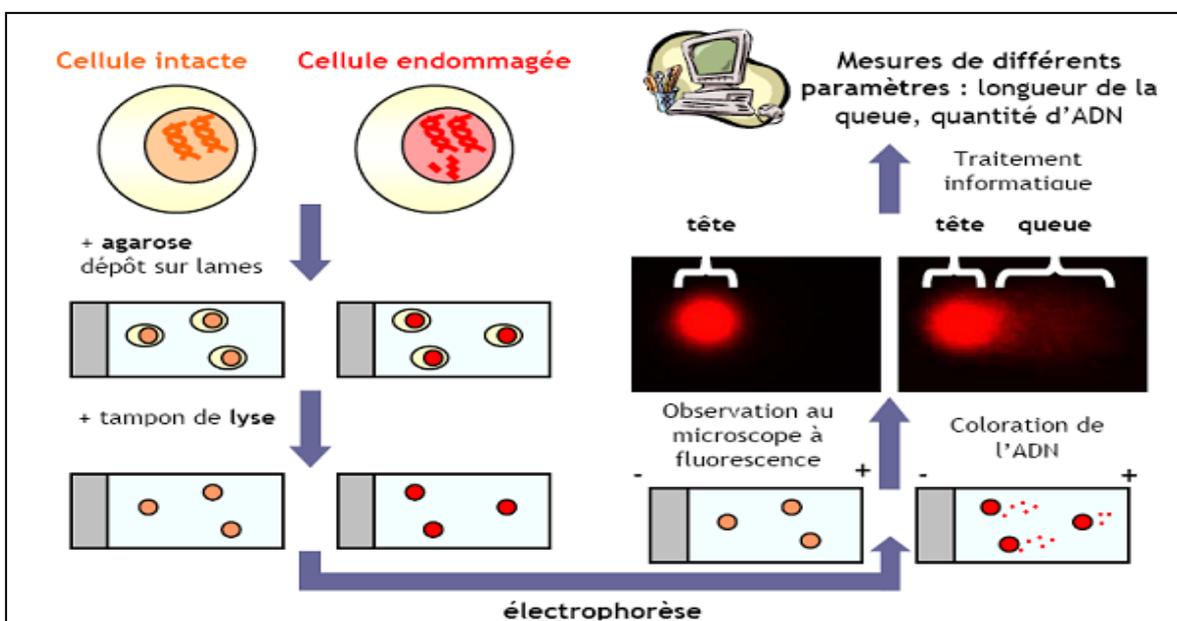


Figure 23 : Principe de test des comètes (Kerninon E, 2003).

2-1-2-Avantages et inconvénients

Compare à d'autre test de génotoxicité le test de comète présente un certain nombre d'avantage :

- Une grande sensibilité permettant de détecter de faibles niveaux de dommages sur l'ADN.
- Il ne nécessite qu'un faible nombre de cellule.
- Une bonne adaptabilité.
- Un faible cout.
- Facile à mettre en œuvre.
- Il permet de conduire une étude en n'utilisant qu'une faible quantité de produit d'étude.
- Quelques jours suffisent à réaliser une expérimentation.

Cependant, Le test de comète présente les inconvénients suivants:

- Il est parfois difficile à interpréter.
- L'interprétation des résultats est souvent délicate et aucune méthode statistique n'est universellement acceptée.
- Généralement, une analyse, portant sur 50 cellules par lame et 2 lames par dose pour un total de 100 cellules, est considérée comme acceptable (Kerninon E, 2003).

2-2-Test de micronoyaux (MN)**2-2-1-Définition et principe**

Le test de MN est pratiqué *in vivo* chez des mammifères en vue de détecter des lésions des chromosomes ou de l'appareil mitotique d'érythroblastes résultant de l'action d'une substance d'essai. Il est basé sur l'analyse d'érythrocytes prélevés dans la moelle osseuse et/ou dans les cellules du sang périphérique d'animaux, généralement des rongeurs. Le test de micronoyaux a pour but de détecter des substances qui engendrent des lésions cytogénétiques et des micronoyaux dans lesquels il reste des fragments de chromosomes ou des chromosomes entiers. Lorsqu'un érythroblaste de moelle osseuse se transforme en érythrocyte polychromatique, le noyau principal est expulsé et chaque micronoyau qui s'est formé peut subsister dans le cytoplasme par ailleurs anucléé. La visualisation des

micronoyaux est facilitée par l'absence du noyau principal. Un accroissement de la fréquence des micronoyaux dans les érythrocytes polychromatiques des animaux traités est le signe d'une lésion chromosomique (Schmid W, 1997) (fig.24).

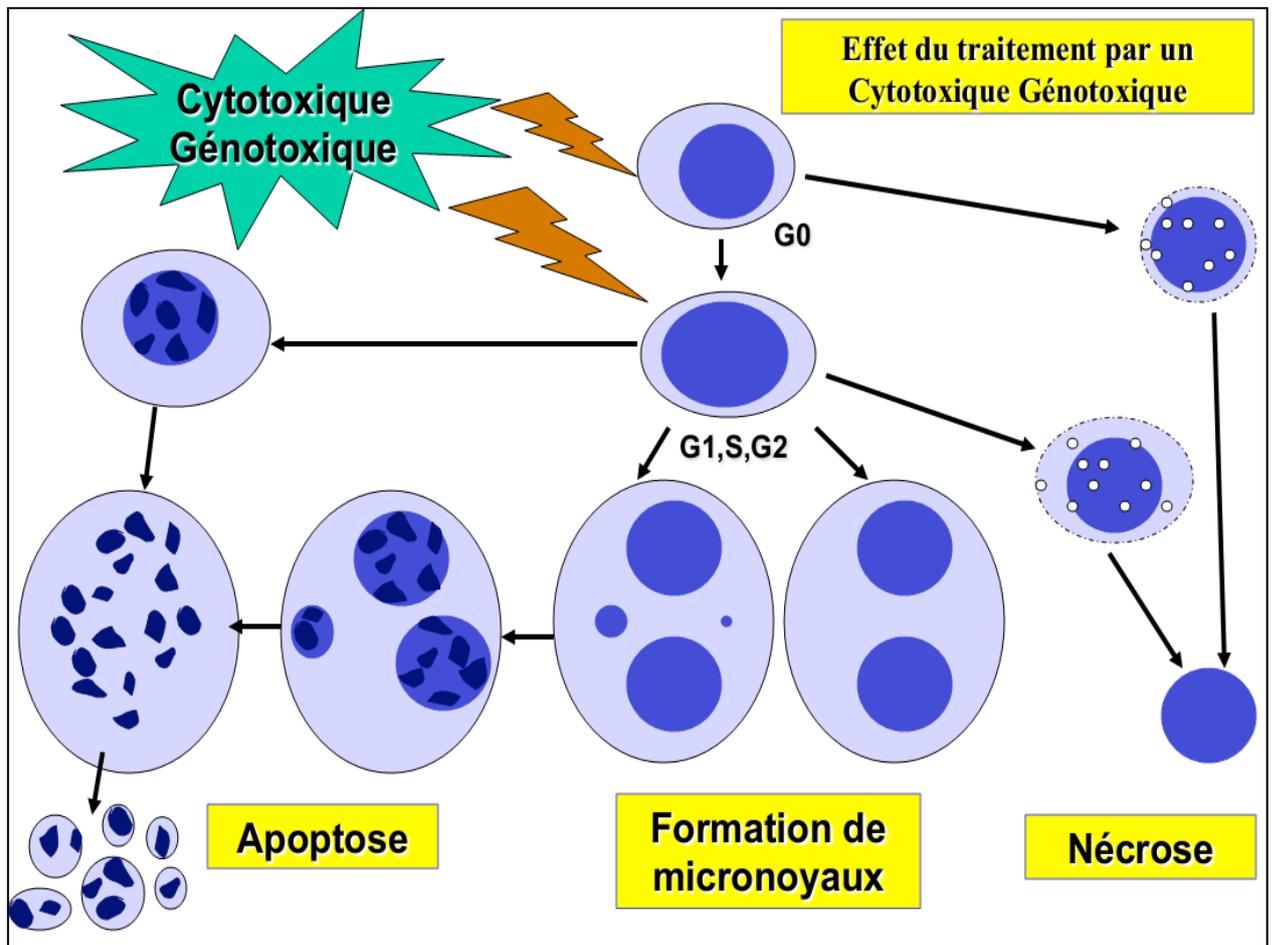


Figure 24 : Principe du test micronoyaux (16).

Ce test appliqué dans des études *in vitro* a pour but de détecter la génotoxicité d'un agent physique ou chimique ; dans ce cadre, l'agent à tester est incorporé au cours de la division cellulaire générant un micronoyau. Appliqué dans des études *in vivo*, Il est employé dans de nombreuses études de biosurveillance, notamment auprès de populations exposées aux rayonnements ionisants au niveau environnemental ou professionnel. Ce test est susceptible d'être mis en œuvre sur toutes les cellules eucaryotes capable d'effectuer une division cellulaire en culture. Il est surtout actuellement appliqué aux lymphocytes en

culture utilisés comme cellules modèles, il consiste alors à dénombrer les MN présents dans les lymphocytes binucléés obtenus par blocage de la division cytoplasmique par de la cytochalasine B (inhibiteur de la polymérisation des filaments d'actine) après une division nucléaire complète. Cette méthode permet de distinguer les cellules mononucléées, qui ne se sont pas divisées, et les cellules binucléées, qui ont réalisées une division nucléaire complète (Bach-Campa C, 2011).

2-2-Avantages et Inconvénients

Ce test présente un certain nombre d'avantages :

- mise en évidence des mutations chromosomiques et/ou génomiques
- Détection à la fois des substances clastogènes et aneugènes et ne met en évidence que les mutations non létales pour la cellule.
- associable à une étude de la qualité du matériel génétique contenu dans le micronoyau (présence ou non de centromères, type de chromosome altéré, nature exacte de l'altération) par hybridation " in situ " fluorescente ce qui apporte des éléments mécanistiques fondamentaux à l'interprétation des résultats.

Comme il présente certains inconvénients :

Des résultats variables en raison de facteurs de confusion, tels le tabac qui augmente le nombre de micronoyaux, ou les médicaments comme les rétinoïdes qui les diminuent, mais aussi des différences de qualité dans les protocoles de préparations (Darolles C, 6 Mai 2010).

Partie pratique

Chapitre 1:

Matériel et méthodes

La partie pratique de notre travail a été effectuée au laboratoire de microbiologie à l'université 08 Mai 1945.

Sachant que le test d'Ames est très utile dans l'évaluation de la génotoxicité des produits chimiques, la vérification des caractères génétiques des souches utilisées *Salmonella thyphimurium* His(-) est très importante et doit être effectuée chaque fois qu'une expérience est réalisée.

Dans ce travail, nous avons essayé de vérifier les caractères génétiques des deux souches de *Salmonella thyphimurium* TA 98 et TA100.

1-Matériel biologique

1-1-Confirmation génotypique des souches d'essai

Les génotypes des deux souches doivent être confirmés

1-immédiatement après avoir reçu les cultures.

2-quand une nouvelle série de permanents congelés ou cultures lyophilisées est préparé.

3-lorsque le nombre de révertants spontanés par boîte tombe à la limite de la normale.

4-quand il y'a une perte de la sensibilité aux agents mutagènes classique (Maron D et *al.*, 1983).

1 -2-Souches utilisées dans la vérification des caractères génétiques

Deux souches bactériennes de nature génétique différente sont utilisées pour cette étude (TA98 et TA100).

-Ces deux souches sont porteuses de mutations His(-) différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés. En plus des mutations spécifiques sur l'opéron His.

-Elles portent la mutation *rfa*(-) qui affecte la structure de la membrane externe lipopolysaccharidique et augmente la perméabilité des souches aux molécules de masses moléculaires élevées.

-L'introduction du plasmide pKM101 dans ces souches augmente leur sensibilité aux mutations induites par une exposition aux UV et aux produits chimiques tout en leur conférant une résistance à l'ampicilline, ce qui permet de sélectionner facilement ces souches.

-Une mutation par délétion du gène de la biotine rend la souche TA98 biotine-dépendante, et la mutation dans le gène *uvrB*-bio dans cette même souche bloque le processus de réparation par excision-synthèse des lésions de l'ADN (Darolles C, 2010).

-Dans TA100 La mutation *hisG46* est dans le *hisG* gène codant pour la première enzyme de la biosynthèse de l'histidine (Maron D et al., 1983).

Les caractéristiques génotypiques de ces deux souches sont résumées dans le tableau 3 :

Tableau 3: Différentes mutations des souches utilisées (Cheriot S, 2007).

Souches	Gènes affectés	Mutations additionnelles		Plasmide	Type de mutation détectée
		Réparation	LPS		
TA98	<i>hisD3052</i>	<i>uvrB</i> -	<i>rfa</i> -	<i>pkm101</i> +	Frameshift
TA100	<i>HisG46</i>	<i>uvrB</i> -	<i>rfa</i> -	<i>pkm101</i> +	Substitution

2-Activation des souches tests

2-1-Refroidissement des souches

Les souches utilisées TA98 et TA100 sont conservées à -80⁰c. On les place à température de + 4⁰c pour que les souches s'adaptent avec le milieu.

2-2-Pré-culture de nuit

A partir des souches décongelées on incube 20 μ l de chaque souche dans un tube contenant 5ml de BN (Bouillon Nutritif) et on l'incube dans un bain Marie avec une agitation à 37⁰c pendant 18 à 24 heures.

2-3- Ré-isolement des souches tests

À partir de la culture de nuit et avec une anse de platine on fait des stries dans des boîtes de Pétri contenant le Master Black (MB) puis on les incube dans une étuve à 37⁰c pendant 48 heures.

2-4-Stockage des souches

On sélectionne des colonies bien isolées qu'on ensemence dans 5ml de mélanges BN/glycérol (V/V). La conservation se fait à -20°C. Le mélange est à renouveler tout les 6mois.

3-Vérification des caractères génétiques**3-1-Culture de nuit**

A partir du ré-isolement, on ensemence quelques colonies dans 5ml de BN, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures avec agitation dans un bain Marie.

3-2-Culture de deux heures

À partir de la culture de nuit, on ensemence 20 μ l des souches tests dans 5ml de BN puis en les recouvrées par un papier Aluminium pour les protéger de la lumière qu'on incube dans un bain Marie avec agitation pendant 2 heures à une température de 37°C. Le but de cette étape est d'obtenir des souches dans la phase exponentielle de croissance, ce qui correspond à une D.O=0.4 à une longueur d'onde λ =650nm.

3-2-Réclamation d'histidine

Le test est réalisée par ensemencement des souches tests sur des boîtes de Pétrie contenant la gélose minimale agar (GMA) et enrichie obligatoirement par 20 μ l d'une solution de biotine à 0.0013% sans histidine et sur des boîtes contenant le milieu histidine/biotine (0.5% / 0.0013%).

L'incubation se fait dans une étuve pendant 24 heures à 37°C (fig. 25).

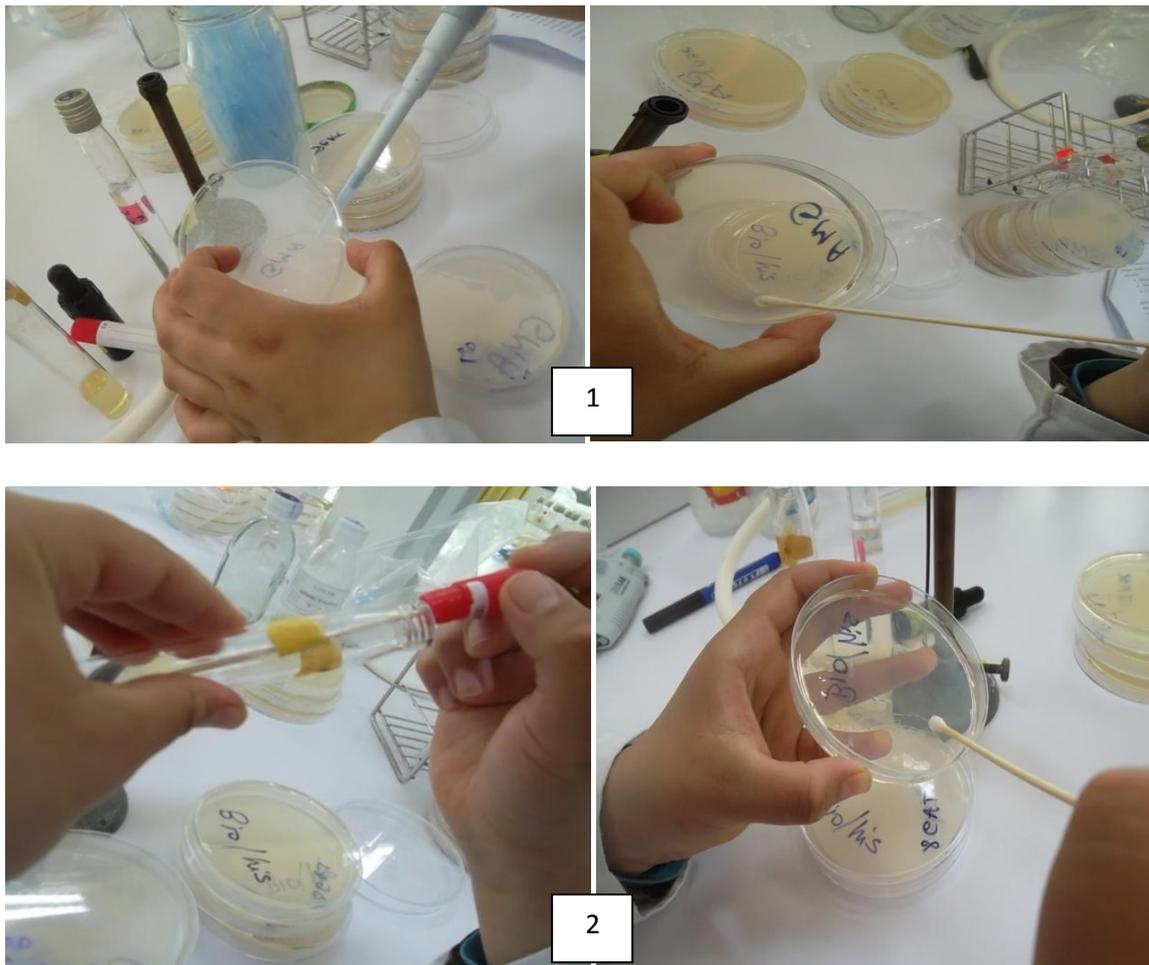


Figure 25 : Réclamation d'histidine (1-sans histidine/2-avec histidine).

3-3- La sensibilité au violet de gentiane et résistance à l'ampicilline

On prépare des disques de papier wattman 3 et des boîtes contenant le GN. Chaque disque est imbibé de 10µl des solutions suivant :

- Solution de violet de gentiane de 0.001g/ml.
- Solution d'ampicilline de 0.1g/ml.
- L'eau distillée stérile utilisée comme témoin négatif.

Puis déposés sur les boîtes de GNensemencées au préalable par les souches test. L'incubation se fait dans une étuve pendant 24 heures à 37°C (fig.26).

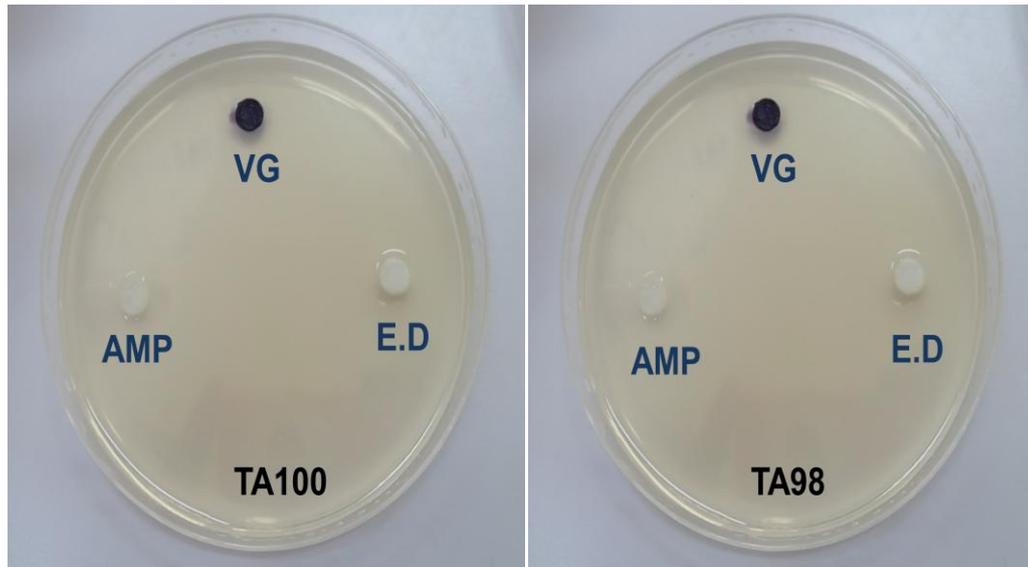


Figure 26 : Sensibilité au V.G et la résistance à l'AMP.

3-4-Sensibilité aux U.V

Ce test est effectué pour vérifier l'existence de la mutation *uvrB*. On ensemence en strie sur des boîtes de G.N les souches tests de *Salmonella thyphimirium*(TA100/TA98) avec la souche *E. coli* sauvage comme témoin. Le moitié de la boîte est couverte par une plaque en verre, puis on irradie la partie non cachée par une lampe à UV à une distance de 30 cm, pendant 8 secondes. L'incubation se fait dans une étuve pendant 24 heures à 37°C (fig.27).

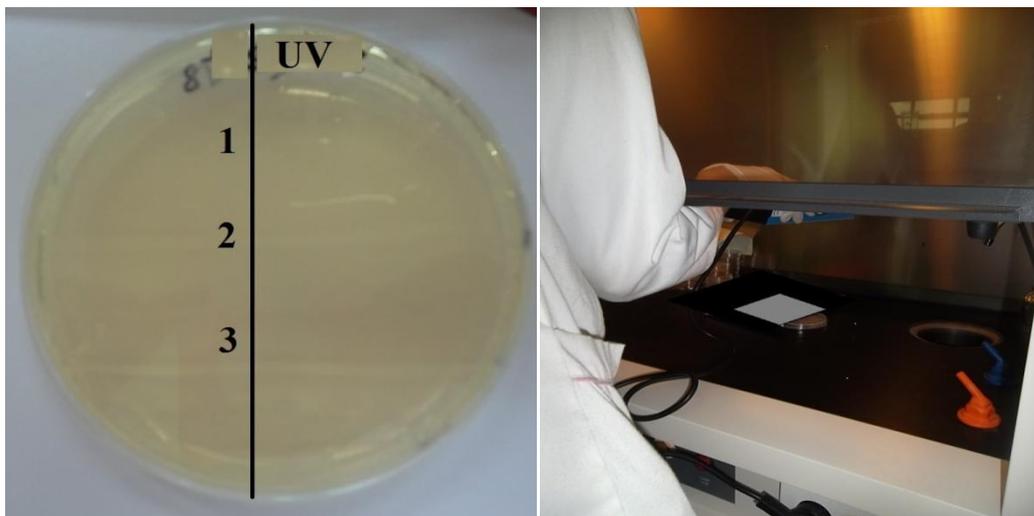


Figure 27 : Sensibilité aux U.V(1-TA98 / 2-TA100 / 3- *E. coli*).

Chapitre 2:

Résultats et discussion

1-Ré-isolement

Après l'incubation nous avons obtenu :

- La souche TA98 sous forme des petites colonies.
- La souche TA100 croître sur toute la surface de la boîte. Les deux souches ont une odeur spécifique (fig. 28).



Figure 28: Ré-isolement des souches.

2-Vérification des caractères génétiques

Les résultats de la vérification des caractères génétiques des souches d'*Ames salmonellatiphyrium* de type TA98 et TA100 sont comme suite :

2-1-La réclamation d'histidine

Après l'incubation, on observe que les deux souches poussent seulement sur les boîtes contenant le mélange histidine/biotine et non pas sur les boîtes contenant uniquement la biotine.

Ce résultat confirme que les souches sont auxotrophes à l'histidine donc elles possèdent la Mutation hisG 46 chez la souche TA100 et la mutation his D3052 chez la souche TA98. La réversion de cette mutation, est d'ailleurs à la base des tests utilisés pour l'évaluation du

Résultats et discussion

pouvoir mutagénèses des substances chimiques et ceci a été montré par les travaux d'Ames (1983) (fig.29).

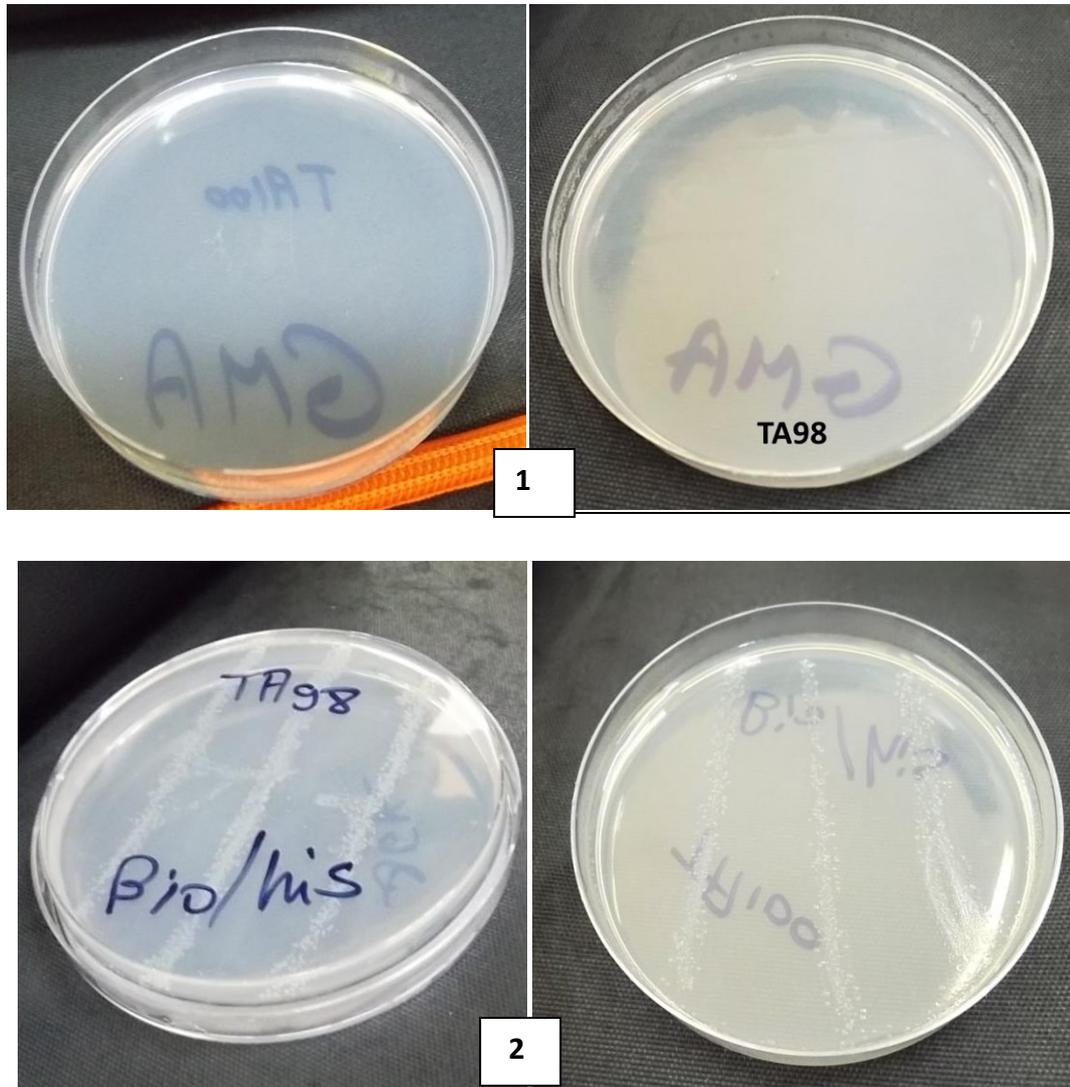


Figure 29: Réclamation d'histidine (1-sans histidine/2-avec histidine).

2-2- La sensibilité au violet Gentiane et la résistance à l'ampicilline

2-2-1-Sensibilité au violet de Gentiane

Après l'incubation, on observe des zones claires autour des disques du VG dans les deux souches TA100 et TA98. Par contre, on observe une poussée des deux souches TA98 et TA100 autour des disques imbibés par l'eau distillée (fig.30).

2-2-2-Résistance à l'ampicilline

Après l'incubation, on observe une croissance bactérienne autour des disques imbibés par l'ampicilline dans les deux souches TA100 et TA98 (fig.30).

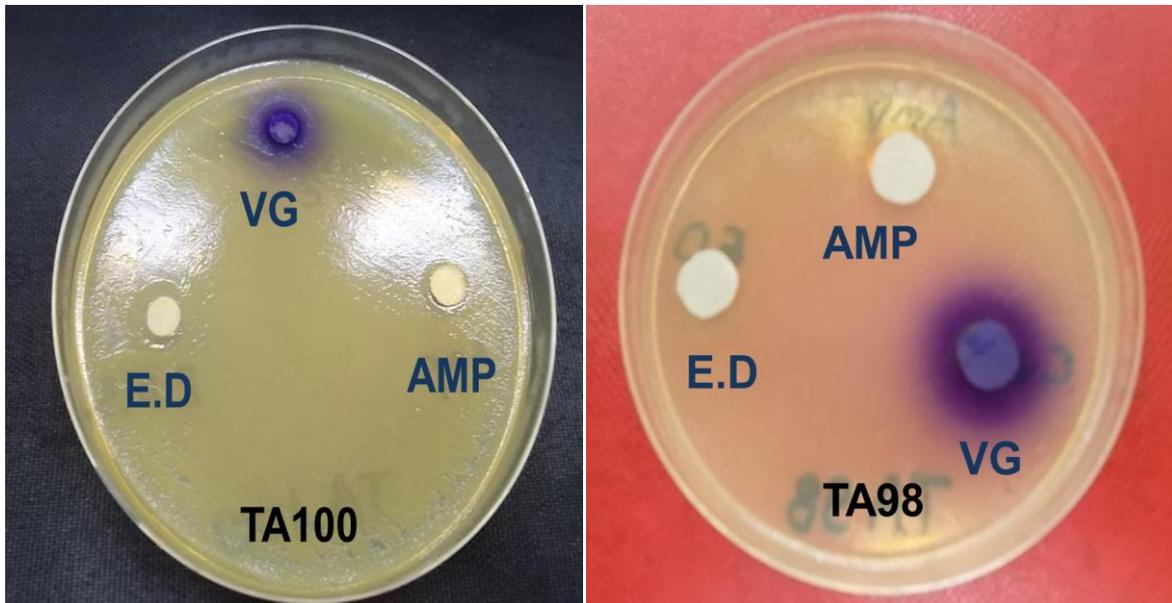


Figure 30 : Effet de VG et du l'AMP sur les souches d'Ames (TA100/TA98).

Ces résultats confirment que les deux souches sont porteuses à la fois du plasmide pKM101 qui confère à la souche le pouvoir de résistance à l'ampicilline et de la mutation Rfa, mutation qui permet d'augmenter la perméabilité des deux souches TA98 et TA100 aux grandes molécules qui sont incapables de pénétrer dans la cellule normale. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par les travaux de Kristian et Zeiger (2002).

2-3-Sensibilité aux UV

Après l'incubation, les souches mutées poussent uniquement sur le côté caché par la plaque de verre, par contre la souche témoin (*E. coli*) pousse tout au long de la boîte (partie cachée et non cachée) (fig.31).



Figure 31: Effet des UV sur les souches d'Ames et la souche *E. coli*
(1-TA98 / 2-TA100 / 3- *E. coli*).

Ces résultats confirment que les deux souches TA98 et TA100 sont porteuses de la mutation *uvrB* ce qui confère une augmentation de la sensibilité des souches à la détection des mutagènes. Ces résultats ont été montrés par les travaux de Kristian et Zeiger (2002).

Conclusion

La stabilisation de l'information génétique est menacées par des lésions spontanées ainsi que par des mutagènes de l'environnement pouvant endommager l'ADN et augmenter fortement le taux de mutation. Les cellules vivantes ont élaboré un système enzymatique qui répare les lésions de différentes façons, la déficience de l'un de ces systèmes peut conduire à un taux de mutation plus élevé. Si les systèmes de réparation ne corrigent pas ces erreurs, cela peut conduire soit à la mort de la cellule ou à la formation d'une cellule transformée.

Plusieurs tests de génotoxicité et de mutagénèse impliquant divers système biologique ont été misent en œuvre. La mise au point du test de mutation reverse, ou test d'Ames est considéré comme le test plus fréquemment utilisé dans le domaine de la mutagénéité des produit cancérigènes.

Dans ce travail nous avons vérifié des caractères génétiques des souches d'Ames (TA100/TA98) à savoir le caractère His(-) (his D 3052/his G 46), la mutation rfa, la mutation uvrB et la présence du plasmide pKM 101. Caractères qu'il conseillé de vérifier avant toute utilisation de ces souches dans les tests de mutagénèse.

A la lumière de l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que ces deux souches présentent et conservent les caractères essentiels pour des tests de mutagenèse. Pour cela, et afin de pouvoir utiliser ces souches dans le futur, nous avons procéder à des conservations de ces dernière dans 5ml de mélange BN/glycérol (v/v) à -20°C. Le mélange renouvelé chaque 6 mois.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]-Abdelali M. 2006. Génétique humaine. Ed. Office de publication universitaires, 201p.
- [2]-Beaumont S. 1987 .Biologie moléculaire cour, exercice, annales et QCM corrigés. Ed. Dunod, paris ,318 p.
- [3]- Bach-Campa C. 14 Novembre 2011. Evaluation de lamigration des constituants del'emballage en poly vers l'eau, Th.Doc,Des facteurs d'influence et dupotentieltoxique des migrâtinstitut national polytechnique de lorraine. 198 p.
- [4]-Camps J. 2009-2010. Notions de biocompatibilité. Ed. Société Francophone de Biomatériaux Dentaires, 14 p.
- [5]-Cheriot S. 11 décembre 2007.Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides. Th. Doct, de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech),Spécialité : Sciences de l'aliment, 239 p.
- [6]-Curieux F., Giller S., Marzin D ., Brice A., EBRF. 1996. Utilisation de trois tests de genotoxicité pour l'étude de l'activité genotoxique de composés organohalogénés , d'acides fulviques chlorés et d'échantillons d'eau (non Concentrés) en cours de traitement de potabilisation. Revue des sciences de l'eau, 9(1) ,75-95p.
- [7]-Darolles C. 6 Mai 2010. Discrimination des effets chimiotoxiques et radiotoxiques de l'uranium: définition de marqueurs biologiques pour l'évaluation des risques professionnels dans l'industrie du nucléaire. Th. Doct, Université de la méditerranée Aix-Marseille Facultés de médecine et de pharmacie, Spécialité : environnement et sante, 459p.
- [8]-Dégrement C., Cachot J. juin 2009.La Génotoxicité Quel risque pour les espèces aquatiques, 36 p.
- [9]-Frezal J. 1993.L'hérédité humaine. Ed. QUE SAIS- JE, 126 p.
- [10]-Griffiths A. J. F., Miller J. M., Suzuki d T., Lewontin R. C., Gelbert W. M. 1997. Introduction à l'analyse génétique. Ed. DE BOECK université, 915 p.
- [11]-Harry M. 2008. Génétique moléculaire et évolutive. Ed. 2^{ème}, 465 p.
- [12]- Iamarcovai G.2008.Mutagenèse et cancérogenèse. Ed. Sens Public. Article. 516: 9 p.

Références bibliographiques

- [13]- Kerninon E. 8avril 2003. Utilisation du test des comètes dans l'étude des dommages sur l'ADN et de leur réparation après traitement par photochimiothérapie. Th .doct. : En pharmacie, 151 p.
- [14]-Khallef M. 2004. Évaluation de l'activité mutagène et génotoxique des eaux traitées par le chlore (station Chaiba ville d'Annaba). MEMOIRE de Magister en Microbiologie appliquée. Université Badji Mokhtar- Annaba ,86 p.
- [15]-Lansing M., Prescott J.P., Harley., Donald A., Klein. avril 2003. Microbiologie. Ed 2^{ème}, 1137 p.
- [16]-Meyer A., Deiana D., Benard A. 2004. Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Ed. DOIN France, 423 p.
- [17]-Maron D., Ames B .N.1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat .Res.113: 173-215 p.
- [18]-Moulssehou S.1998. Biologie et génétique. Ed. Office des publications universitaires, 84 p.
- [19]-Nicklin J., Graeme-Cook K., PAGET T., Killington R. 1999. L'essentiel en microbiologie. Ed. BERTI, 362 p.
- [20]-Quillardet P., Hofnung M. (1985).SOS chromotest test global / E. coli PQ37. Mutat. Res, 147: 65-78p.
- [21]- Schmid W. 21 juillet 1997. Le test de micronoyaux sur les érythrocytes de mammifère. Ligne directrice de l'ocde pour les essais de produits chimiques. 474: 10 p.
- [22]- Turner P. C. 1999. L'essentiel en biologie moléculaire. Ed. BERTI, 345 p.
- [23]-Vasseur P. février 1994. Evaluation de la génotoxicite de l'effluente étude comparative des tests d'Ames et micronoyaux triton, document réalisé sous la direction des agences de l'eau et du ministère de l'environnement. Ed. France, 184 p.
- [24]-Vaubourdolle M. 2007. Toxicologie science mathématique physique et chimiques ; tom 01. Ed. 3^{ème} édition Le Moniteur internat, Paris, 999 p.

Références bibliographiques

[25]-Wagner J.2001. Dommages à L'ADN, Réparation par Réversion Directe et Mutagènes. Ed.1ere et 2eme, 85p.

[26]-Anonyme. 2009. Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques. Ed. 3ème Nations Unies Publication Amazon, Paris, 599 p.

Site d'internet :

(1)-Leblon G., Héritier P. Mutations . Disponibles sur : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/mutations/3-mutagenese-et-agents-mutagenes/> (consulté le 3/15/2014).

(2)-Variabilité génétique et mutation de l'ADN. Disponible sur : <http://www.ac-noumea.nc/lgn/svt/1S-2012/Autre-cours-genetique-mutation.pdf> (consulté le 16/2/2014).

(3)- Chapitre 16 : Mutation, réparation et recombinaison. Disponible sur : http://www.frontiers-in-genetics.org/documents/all documents/genomique_descombes_2005.pdf (consulté le (17/2/2014).

(4)- Chapitre 2: variabilité génétique et mutation de l'ADN. Disponible sur : http://www.somveillesvt.sitew.com/fs/Root/7vhya Chapitre_2_cours_genet_internet.pdf (consulté le 17/02/2014).

(5)-Quéméneur E., Marcoule C. 12 juillet 2007.Mécanismes de réparation des dommages de l'ADN. Disponible sur:

http://www.visiatome.fr/Local/visiatome/files/418/EQuemeneur_Reparation.ADN_Visiatome120707.pdf (consulté le 9/4/2014).

(6)-Chapitre 2 : variabilité génétique et mutation de l'ADN.Disponible sur :http://www.somveillesvt.sitew.com/fs/Root/7vhyaChapitre_2_cours_genet_internet.pdf17.

(Consulte le 17/03/2014).

(7)-Mutation, réparation et recombinaison. Disponible sur : http://www.frontiers-in-genetics.org/documents/all documents/genomique_descombes_2005.pdf.

(Consulte le 17/02/2014).

(8)-La transmission des caractères génétiques et leurs modifications. Disponible sur :<http://www.fl.fr/~touzet/M1/coursCorinneAbbadieM1bioinfopartie7.pdf>

Références bibliographiques

(Consulte le 27/04/2014).

(9)-Nucleotide Excision Repair ou NER. Disponible sur: http://ccr.coriell.org/sections/collections/nigms/ner_pathway.aspx?PgId=256 (consulté le 09/04/2014).

(10)- DNA Repair. Disponible sur : <http://www.csun.edu/~cmalone/pdf360/Ch15-2repairtanspose.pdf> (consulté le 9/04/2014).

(11)- Bourgerie S. Réparation de l'ADN. Disponible sur : <http://aurelien.chateigner.free.fr/-%20Biologie%20moleculaire%20-%20Semestre%203/Chapitre%207%20-%20Reparation.pdf>. (Consulté le 29/04/2014).

(12)- Agents cancérogènes dans la fumée du tabac. Disponible sur : <http://www.hc-sc.gc.ca/hc-ps/pubs/tobac-tabac/carcinogens-cancerogenes/index-fra.php> (consulté le 11/04/2014).

(13)-Rohaut J. L. Les méthodes d'études en toxicologie alimentaire biotechnologies de Créteil. Disponible sur : http://www.ac-creteil.fr/biotechnologies/fichiers%20pdf/Methodes_Etude.pdf (consulté le 11/03/2014).

(14)- Test de mutagenèse. Disponible sur : <http://www.toxem.com/articles/listing.php>(consultée le 1/03/2014).

(15)-Le test d'Ames pour évaluer le pouvoir cancérigène d'une substance . Disponible sur : <http://www.technobio.fr/article-le-test-d-ames-43438456.html> (consulté le 27/04/ 2014).

(16)-Bases conceptuelles de tests de mutagenèse ou de génotoxicité. Disponible sur: http://www.biomedicale.univparis5.fr/enseignement/toxico/M2THERV_2013_2014/documents/C5/PR%20SALLES%20-%20ESSAIS%20GENOTOX.pdf (consulté le 30/03/2014).

(17)- Demeo M. 1997. Le test d'Ames ou Mutatest. Disponibles sur : <http://www.gazettelabo.fr/2002archives/pratic/1997/20mutatest.htm> (consulté le 23/02/2014).

Références bibliographiques

(18)- Test d'Ames. Disponibles sur : <http://www.gazettelabo.fr/2002archives/pratic/1997/20mutatest.htm> (consulté le 23/02/2014).

(19)-La toxicité chimique et son évaluation. Disponible sur : http://www4.ac-nancy-metz.fr/ia54circos/ienstmax/sites/ienstmax/IMG/pdf/pdf_La_toxicite_et_son_evaluation.pdf (Consulté le 3/4/2014).

(20)- SOS chromotest. Disponible sur : http://www.ebpi-kits.com/sos-chromo_Test.html (consulte le 14/4/1014).

(21)-Magniez. Le test des cometes. Disponible sur : <http://www.technobio.fr/article-le-test-des-cometes-44649012.html> (consulté le 14/4/2014)

Annexe

Annexe

1-Milieus de vérification des caractères génétiques

1-1-Pour la résistance

- **Solution violet de gentiane (1g/ml)**

C.V.....	0.1 g
L'eau distillé stériles	10 ml

- **Solution d'ampicilline (10mg/ml)**

Amp.....	1g
H ₂ O distillé	100 ml

1-2-Pour la réclamation d'histidine

- **Gélose minimale agar**

Agar.....	15g
H ₂ O distillé.....	930ml
VOGEL-BONNERE(V.B).....	20 ml
Glucose 40%.....	50 ml

Préparation :Mélanger les composants, agiter à l'aide d'un agitateur magnétique et stériliser le milieu à 120 pendant 20min. Après le refroidissement on ajoute le V.B et le glucose.

- **Milieu histidine/ biotine**

Agar	15g
H ₂ O distillé.....	9.4ml
50×V.B.....	20ml
40% glucose	50ml
Histidine.....	100mg (2g/400ml H ₂ O)

Annexe

Biotine.....6g

Préparation : Mélanger les composants, agiter à l'aide d'un agitateur magnétique et stériliser le milieu à 120 pendant 20min.

- **Solution biotine**

Biotine.....0.0013g

H₂O distillé.....100g

Préparation : Mélanger les composants, agiter à l'aide d'un agitateur magnétique et stériliser le milieu à 120 pendant 20min.

2- Milieux utilisés dans la conservation des souches

2-1-Master Black (HBA)

Agar15g

Glucose.....20%

B.V×50.....20ml

Histidine.....10ml

Biotine (0.5Mm).....6ml

H₂O distillé.....860ml

(0.8/0.02 NaoH) Amp.....3150ml (3.15ml)

Préparation : Mélanger les composants, agiter à l'aide d'un agitateur magnétique et stériliser le milieu à 120°C pendant 20min (les composée sont autoclaves séparément).

2-2-Solution de Glucose

Glucose (C₆H₁₂O₆)20g

H₂O distillé.....100ml

Annexe

2-3-Milieu VOGEL- BONNERE (50×)

Magnesium sulfate ($\text{MgSO}_4\text{H}_2\text{O}$).....	10 g
Citric acid monohydrate.....	100 g
Potassium phosphate, dibasic, anhydrous (K_2HPO_4)	500 g
Sodium ammonium phosphate ($\text{Na}_2\text{NH}_2\text{PO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$).....	175 g
H_2O distillé	670ml

2-4-Solution d'histidine

Histidine.....	0.5g
H_2O distillé	100ml

2-5-Solution biotine

Biotine	0.0013g
H_2O distillé	100ml

2-6-Solution NaOH/Amp

NaOH	0.002g
Amp.....	0.8g
H_2O distillé.....	100ml

Préparation : tous ces milieux doivent être stérilisés à une température de 120 pendant 20min.

Résumé

Les mutations sont des modifications de l'ADN aléatoires ou induites. La plupart de ces dommages génétiques sont réparés. Cependant, des agressions répétées sur le génome et/ou une déficience dans un système de réparation augmentent la probabilité de l'initiation d'un processus cancérogène. Le potentiel mutagène des produits est recherché, par des techniques *in vitro* et *in vivo*. Le test d'Ames réalisé à l'aide des souches mutantes de *salmonella typhimurium* his(-) comme TA98 et TA100 permet d'évaluer l'effet génotoxique d'un produit. Il est recommandé, avant tout test de vérifier l'intégrité génétique de ces souches.

Mots clés : mutation, systèmes de réparation, mutagenèse, cancérogenèse, test d'Ames.

Summary

Mutations are random changes in the DNA or induced. Most of the genetic damages are repaired. However, repeated attacks on the genome and/or a deficiency in the repair system increase the likelihood of initiating a carcinogenic process. The potential mutagenic products are desired, by techniques *in vitro* and *in vivo*. The Ames test performed using mutant strains of *Salmonella typhimurium* his (-) as TA98 and TA100 allows to evaluate the genotoxic effect of a product. It is recommended, before any test to check the genetic integrity of these strains.

Keywords: change, systems repair, mutagenesis, carcinogenesis, Ames test.

المخلص

الطفرات هي التغييرات في الحمض النووي و بدرجات متفاوتة و التي تحدث بشكل عشوائي. حيث يتم إصلاح معظم هذه الأضرار الجينية. لكن كثرة الهجمات المتكررة على الجينوم تزيد من احتمال حدوث السرطان. و قد ساعدت التقنيات المخبرية من إمكانية معرفة احتمال حدوث الطفرات. إن إجراء الاختبار Ames باستخدام سلالات متحولة من *السالمونيلا التيفية* طافرة الهيستيدين (-) his مثل TA98 و TA100 يسمح بتقييم تأثير السمية الوراثية للمنتج. و من المستحسن قبل أي اختبار التحقق من سلامة المورثة لهذه السلالات.

كلمات المفتاح: الطفرات، إصلاح النظم، إحداء الطفرات، التسرطن، اختبار Ames.