

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 قالمة

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

Evaluation de l'activité génotoxique des édulcorants

« Cas de l'Aspartame »

Présenté par :

- DJENDEL Aya
- HADDAD Nour El Imane

Devant le jury composé de :

Présidente:	KHALLEF M.	M.C A.	Université 8 mai 1945
Examinatrice:	TABET M.	M.C B.	Université 8 mai 1945
Encadreur:	BENOUARETH D.E.	Pr.	Université 8 mai 1945

Juin 2024

Remerciements

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté
d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Nous adressons particulièrement nos sincères et chaleureux remerciements à notre
encadreur **Pr. BENOUAÏTH Djamel Eddine** pour sa confiance, ces
encouragements ces conseils et pour être toujours présent tout ou long de la
réalisation de ce travail,*

*Nous Le remercions pour sa patience, son soutien et sa gentillesse, c'est vraiment un
honneur de travailler avec vous,
Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.*

*Nous exprimons nos sincères remerciements à **Mme KHALLEF Messaouda**
Pour son soutien, son aide, ses précieux conseils et enfin pour avoir accepté de
présider le jury. Vos critiques et vos orientations nous seront très utiles.*

*Nos chaleureux remerciements s'adressent également à **Mme TABET Mouna** pour son
aide et ces conseils durant notre pratique et aussi pour avoir accepté d'évaluer et
d'examiner ce travail. Votre présence va certainement valoriser la présente étude.*

*Nos sincères remerciements vont également à l'ingénieure du laboratoire 9 de
l'université **Hassiba** pour sa gentillesse et sa disponibilité tout au long de la période
du travail.*

*Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés de près
ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.*

Dédicace

Louange à dieu seul,

Je dédie ce travail spécialement

A la plus belle femme du monde, ma chère maman, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.

A mon cher papa, pour ces encouragements, son soutien et pour son amour.

« A vous mes parents, je dis Merci d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui. Aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour ».

*A l'âme de mon Ange, ma petite sœur « **Takwa** » qui j'ai souhaité toujours d'être avec moi dans mes beaux moments. Que dieu la garde dans son paradis.*

*A mon seul frère **Haythem**, A ma sœur **Sidra***

Que dieu vous garde pour moi mes amoureux,

*A mes petites tantes **Ranya et Hassna**.*

*A mes cousines, **Nessrine, Lina, Amira.**, A ma petite cousine, **Bébé Takwa Eline**.*

A toute ma famille, je vous aime.

*A mes copines, **Nouha, Riham, Manel**. A ma belle binôme **Aya***

Votre présence dans ma vie est comme un trésor vraiment

A mes enseignants, et pour ceux qui m'ont donné de l'aide un jour

Pour finie, a tous ceux que j'aime et qui m'aiment je dédie ce mémoire.



Haddad Nour El Imane

Dédicace

Chère maman,

Ton amour inconditionnel et ton soutien indéfectible m'ont permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Tu as toujours été là pour moi, me guidant avec sagesse et bienveillance. Merci d'être la meilleure mère que l'on puisse rêver. Cette réussite est aussi la tienne. Je t'aime infiniment.

Cher papa,

Tu es mon héros, Ton intégrité. Tu as toujours cru en moi et m'as encouragé à poursuivre mes rêves, même quand ils semblaient hors d'atteinte. Merci d'être un père si exceptionnel. Je suis fier d'être ta fille et j'espère pouvoir te rendre ne serait-ce qu'une infime partie de ce que tu m'as donné. Je t'aime.

À mon frère Aymen, Ta présence est un soutien inestimable. Et à ma petite princesse Jana, Ton sourire illumine mes jours. Vous êtes mes trésors. Merci pour tout ce que vous apportez dans ma vie. Je vous aime énormément.

À ma grand-mère, Ta force et ta positivité sont une source d'inspiration pour moi. Merci pour tout ce que tu es. Je t'aime Mami.

À mon meilleur binôme, ta présence et ton amitié sont précieuses. C'est génial de partager ces moments avec toi. Merci d'être une amie aussi formidable.

À tous mes amis, vous êtes les épaules sur lesquelles je peux m'appuyer, et les éclats de rire qui enchantent ma vie. Merci d'être vous, je vous apprécie énormément.



Djendel Aya

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABBREVIATIONS

RESUME

INTRODUCTION.....1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :GENERALITE SUR LES EDULCORANTS

I.1. DEFINITION.....3

I.2. CLASSIFICATION DES EDULCORANTS.....3

I.2.1. Les édulcorants nutritifs.....3

I.2.2. Les édulcorants intenses4

I.3. ASPARTAME (E951)5

I.3.1. Définition5

I.3.2. La découverte et mise sur le marché6

I.3.3.Utilisation.....6

I.3.4. Effets indésirables de l'aspartame.....7

I.4. LES AVANTAGES ET INCONVENIENTS DES EDULCORANTS10

I.4.1. Avantages10

I.4.2. Inconvénients10

CHAPITRE II LA GENOTOXICITE

II.1. GENERALITES11

II.2. TESTS DE GENOTOXICITE11

II.2.1. Test d'Ames12

II.2.2. Test de comète (SCGE)13

II.2.3. Test d'aberration chromosomique (AC)14

II.2.4. Test du micronoyau (MN).....15

II.2.5. Échange de chromatides sœurs (SCE).....15

II.2.6. Test Allium cepa16

PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL ET METHODES	18
I.1.MATERIEL UTILISE	18
<i>I.1.1.Produits testés</i>	18
<i>I.1.2. Matériel biologique utilisé</i>	18
I.2. EVALUATION DE LA GENOTOXICITE PAR LE TEST <i>ALLIUM CEPA</i>	18
<i>I.2.1. Préparation des oignons</i>	18
<i>I.2.2. Fixation et conservation des racines</i>	19
<i>I.2.3. Préparation des lames</i>	20
<i>I.2.4. Examen microscopique</i>	22
II. RESULTATS ET DISCUSSION	23
II.1. OBSERVATION MACROSCOPIQUE	23
II.2. LA LONGUEUR DES RACINES	24
II.3. INDICE MITOTIQUE	25
II.4. ABERRATIONS CHROMOSOMIQUES AC	29

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
01	Taxonomie de l'espèce <i>Allium cepa</i>	18
02	Résultats de l'élongation racinaires après 24 h. de traitement.	24
03	L'effet de l'aspartame sur les phases mitotique (PM) et IM.	26
04	Pourcentage des types d'AC détectées dans les racines d' <i>Allium cepa</i> .	29

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
01	Classification des édulcorants	4
02	Structure chimique de l'aspartame	5
03	Historique de l'aspartame	6
04	Effets neurodégénératifs de l'aspartame et ses métabolites	9
05	Principaux types de tests de génotoxicité	12
06	Principe d'application du test d'Ames	13
07	Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN	14
08	Principe du test des micronoyaux	15
09	Culture des bulbes d'oignons avec les échantillons	19
10	Obtention des racines des bulbes	19
11	Hydrolyse des bulbes dans le bain marie	20
12	Coloration des racines par la solution <i>Feulgen</i>	20
13	Fixation des morceaux de racine sur la lame	21
14	Lame prête pour l'observation microscopique	21
15	L'observation des lames sur microscope	22
16	L'état morphologique des racines après l'incubation	23
17	Evolution de la longueur des racines et de l'inhibition de leur croissance	24
18	Histogramme des moyennes de l'Indice mitotique	26
19	Histogramme des phases des divisions cellulaires après 24h	27
20	Cellules méristématiques normales d' <i>Allium Cepa</i> en division	28
21	Histogramme du pourcentage d'anomalies totales	30
22	Histogramme des différents types d'AC après 24 h	30
23	Des photos montrent types d'AC	32

Liste des abréviations

AC	Aberration Chromosomique
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments.
AMM	Agrément de mise sur le marché
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, l'environnement et du travail
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
CSAH	Comité scientifique de l'alimentation humaine de la commission européenne
DJA	La dose journalière admissible
DSENO	Dose sans effet observable
EFSA	European Food and Safety Authority
ET	Ecart type
FAO	Food and Agriculture Organisation
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramme
HCl	Acide chlorohydrique
HIS	Histidine
IM	Indice mitotique
K₂S₂O₅	Potassium Meta bisulfate
L	Litre
Mg	Milligramme
MMS	Methyle Methane Sulfonate
MN	Micronoyau
OMS	Organisation mondiale de santé
RNS	Espèce réactive de l'azote
ROS	Espèce reactive de l'oxygène
SCE	Échange de chromatides sœurs
SCGE	Électrophorèse sur gel monocellulaire

Résumé

L'aspartame est un édulcorant intense artificiel largement utilisé comme substitut du sucre dans les aliments et les boissons. Il appartient à la catégorie chimique des dipeptides et possède un fort pouvoir sucrant 200 fois supérieur à celui du sucre.

Des études de recherche ont mis en évidence divers effets négatifs de l'aspartame sur la santé, notamment le potentiel cancérigène de l'aspartame, une influence négative sur le cerveau et l'immunité. Cependant, malgré ces résultats, le statut de l'aspartame reste sujet à débat.

La présente étude a pour but d'évaluer la génotoxicité de l'aspartame par trois doses (100 mg, 200mg, 400mg) en utilisant le test *d'Allium cepa*.

Les résultats obtenus ont montré que le traitement des bulbes avec des échantillons pendant 24 heures entraînait une réduction de la croissance de la longueur des racines par rapport au contrôle négatif, le pourcentage de l'indice mitotique diminue avec l'augmentation de la dose d'aspartame testé et apparition de diverses aberrations chromosomiques.

Ces tests ont montré un effet cytotoxique en réduisant l'indice mitotique (IM) et un effet génotoxique en augmentant les aberrations chromosomiques (AC) par rapport au contrôle négatif.

Mots clés : l'aspartame, la génotoxicité, *Allium cepa*, Indice mitotique, aberrations chromosomiques.

Abstract

Aspartame is an artificial sweetener widely used as a sugar substitute in food and drinks. It belongs to the chemical category of dipeptides and has a strong sweetening power 200 times higher than that of sugar.

Research studies have highlighted various negative effects of aspartame on health, including the carcinogenic potential of aspartame, a negative influence on the brain and immunity. However, despite these results, the status of aspartame remains subject to debate.

The purpose of the present study is to evaluate the genotoxicity of aspartame by three doses (100 mg, 200 mg, 400 mg) using the *Allium cepa* test.

The results obtained showed that the treatment of bulbs with samples for 24 hours resulted in a reduction in the growth of the root length compared to the negative control, the percentage of the mitotic index decreases with the increase in the dose of aspartame tested and the appearance of various chromosomal aberrations. These tests showed a cytotoxic effect by reducing mitotic index (MI) and a genotoxic effect by increasing chromosomal aberrations (CA) compared to negative control.

Keywords : aspartame, genotoxicity, *Allium cepa*, mitotic index, chromosomal aberrations.

ملخص

الأسبار تام هو محلي اصطناعي مكثف يستخدم على نطاق واسع كبديل للسكر في الأطعمة والمشروبات. ينتمي إلى الفئة الكيميائية من ثنائي البيبتيدات ولديه قوة تحليلية قوية أعلى 200 مرة من قدرة السكر. سلطت الدراسات البحثية الضوء على مختلف الآثار الصحية السلبية للأسبار تام، بما في ذلك الإمكانات المسرطنة للأسبار تام، والتأثير السلبي على الدماغ والمناعة. ومع ذلك، على الرغم من هذه النتائج، لا يزال وضع الأسبار تام موضع نقاش.

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم السمية الجينية للأسبار تام بثلاث جرعات (100 مجم، 200 مجم، 400 مجم) باستخدام *Allium cepa* اختبار.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن معالجة البصيلات بالعينات لمدة 24 ساعة أدت إلى انخفاض في نمو طول الجذر مقارنة بالتحكم السلبي، وتقل النسبة المئوية للمؤشر الانقسامي مع زيادة جرعة الأسبار تام المختبرة وظهور انحرافات صبغية مختلفة. أظهرت هذه الاختبارات تأثيرا ساما للخلايا عن طريق تقليل المؤشر الانقسامي وتأثير سام للجينات عن طريق زيادة الانحرافات الصبغية مقارنة بالشاهد السلبي.

الكلمات المفتاحية: الأسبار تام، السمية الجينية، الأليوم سيبا، مؤشر الانقسام، الانحرافات الصبغية.

Introduction

Les sucres sont indissociables à notre vie car ils ajoutent du sucré à nos aliments, mais ils ne doivent pas être consommés en grande quantité car ils peuvent être l'une des causes puissantes de nombreuses maladies dégénératives. Ainsi, les édulcorants nous permettent de réduire notre apport calorique quotidien et d'offrir un goût sucré bien meilleur que le saccharose (**Wagner, 2012**).

L'aspartame est un édulcorant synthétique non nutritif, qui est l'ester méthylique d'un dipeptide, une poudre cristalline blanche, inodore mais extrêmement sucrée (**Magnuson et al., 2007**). Depuis les années 1980, il a été utilisé dans une variété de produits alimentaires et de boissons, notamment les boissons faibles en calories (ou « light »), les chewing-gums et les médicaments tels que les pastilles contre la toux ou les comprimés de vitamines à croquer.

Aujourd'hui, les aliments sans édulcorants sont quasiment rares. IL est considéré comme nocif pour notre santé et est associé à diverses pathologies (**Bruno, 2018**). À cet égard, l'aspartame suscite des inquiétudes chez les consommateurs d'aujourd'hui. Les experts estiment qu'en respectant des doses quotidiennes acceptables, cela ne présente aucun risque. Cependant, le risque zéro ou nul n'existe pas, puisque le problème vient d'une exposition régulière et continue à ce produit.

Bien que l'aspartame soit désormais classé comme "peut-être cancérigène" par mesure de précaution, selon une évaluation de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a conclu qu'il présente un "indicateur limité". La dose habituelle de « 40 mg/kg de poids corporel par jour » ne semble pas poser de problèmes majeurs de sécurité sanitaire. Il est toutefois recommandé de se méfier particulièrement des enfants qui en consomment de grandes quantités. Des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les effets potentiels de l'aspartame à long terme, notamment sur l'obésité, le diabète et les maladies cardiovasculaires.

A cet effet, ce travail se concentrera sur l'évaluation des effets cytotoxiques et génotoxiques de cette substance à travers le test *Allium cepa*, qui considère trois paramètres, effet inhibiteur de l'élongation racinaire, effet sur l'indice mitotique de la division cellulaire des cellules méristématiques racinaires et les d'aberrations chromosomiques. 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.

Ce mémoire est constitué de deux parties : la première est une étude bibliographique qui comporte deux chapitres :

- Le premier est consacré aux édulcorants particulièrement l'aspartame.
- Le deuxième chapitre traite les tests de la génotoxicité.

La deuxième partie est consacrée aux matériel et méthodes, description des résultats obtenus ainsi que leur discussion et la conclusion.

Partie Bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les édulcorants

I. Généralités sur les édulcorants

I.1 Définition

Le mot « édulcorant » vient du latin « édulcorare » donner du doux, **(Coutin et Mignon, 2009)**. Les édulcorants sont des substances d'origine naturelle comme stevia ou synthétiques comme l'aspartame, ils sont utilisés pour donner une saveur sucrée aux aliments ou aux médicaments sans ajouter de calories.

Cependant, les édulcorants ne répondent à aucun besoin de notre organisme. Ils sont surtout utilisés par les diabétiques pour qui la consommation de sucre pur doit être la plus faible possible, **(Clarisse et al., 2009 ; Wagner, 2012)**.

I.2 Classification des édulcorants

Les édulcorants sont classés en deux grandes catégories en fonction de leur pouvoir sucrant.

I.2.1 Les édulcorants nutritifs

Les édulcorants nutritifs peuvent être nommés aussi les édulcorants de masse, de charge ou polyols, ces derniers sont des édulcorants sans sucre **(Clarisse et al., 2009 ; Wagner, 2012)**.

Ces édulcorants ont un pouvoir sucrant similaire ou légèrement inférieur à celui du sucre, mais avec un contenu calorique moindre **(Massin et Belliste, 2007)**. Ils font partie du groupe des sucres-alcools : sorbitol, xylitol, mannitol, maltitol, lactitol **(Rapaille et al., 1993)** obtenus par hydrogénation des glucides.

Les polyols sont tous autorisés dans l'UE et bénéficient d'une DJA (Dose Journalière Admissible) non spécifiée, leur utilisation ne fait pas courir de risque aux consommateurs, ils ne présentent donc pas de risques toxicologique **(Massin et Belliste, 2007)**.

I.2.2 Les édulcorants intenses

Les édulcorants intenses peuvent aussi être appelés les édulcorants de synthèse, artificiels ou non nutritifs **(Clarisse et al., 2009)**.

Les édulcorants intenses possèdent un pouvoir sucrant très élevé, qui est de 30 à 500 fois supérieur à celui du saccharose, et qui ne sont donc nécessaires qu'à très faible dose pour obtenir un pouvoir sucrant intense. Leur apport calorique est très faible presque nul **(Carocho et al., 2017)**.

Ils sont regroupés en deux sous-groupes :

➤ **Les édulcorants intenses d'origine naturelles**

Ces édulcorants n'apportent pas de calories. Parmi eux, le sucralose (connu sous le nom de Splenda) et le rébaudioside A (issu de la stévia). La stévia est vendue aux États-Unis depuis environ 12 ans et a reçu son autorisation de mise sur le marché en France en 2009 (**Coutin et Mignon, 2009**).

Le stéviolside est un édulcorant issu de la plante *Stevia Rebaudiana*. Son pouvoir sucrant est de 300 fois élevé que les sucre de table. Son utilisation comme additif alimentaire est toutefois Interdite au Canada, aux Etats-Unis et dans les pays de l'union européenne, car certaines études laissent penser qu'il pourrait être cancérigène (**Beauregard, 2009**).

➤ **Les édulcorants artificiels**

Les édulcorants artificiels à haute intensité représentent une catégorie significative d'additifs alimentaires fréquemment utilisés dans les secteurs de l'alimentation, des boissons, des confiseries et de la pharmacie. Ils offrent une saveur sucrée tout en ayant un apport énergétique très faible ou nul, ce qui permet de réduire la teneur calorique de nombreux produits (**Zygler et al., 2009**).

Ces édulcorants peuvent développer un arrière-goût légèrement amer (**Coutin et al., 2009**). Les édulcorants artificiels les plus utilisés sont l'aspartame, l'acésulfame-K, le cyclamate de sodium et la saccharine de sodium (**Ali et al., 2021**). **Fig. 1**

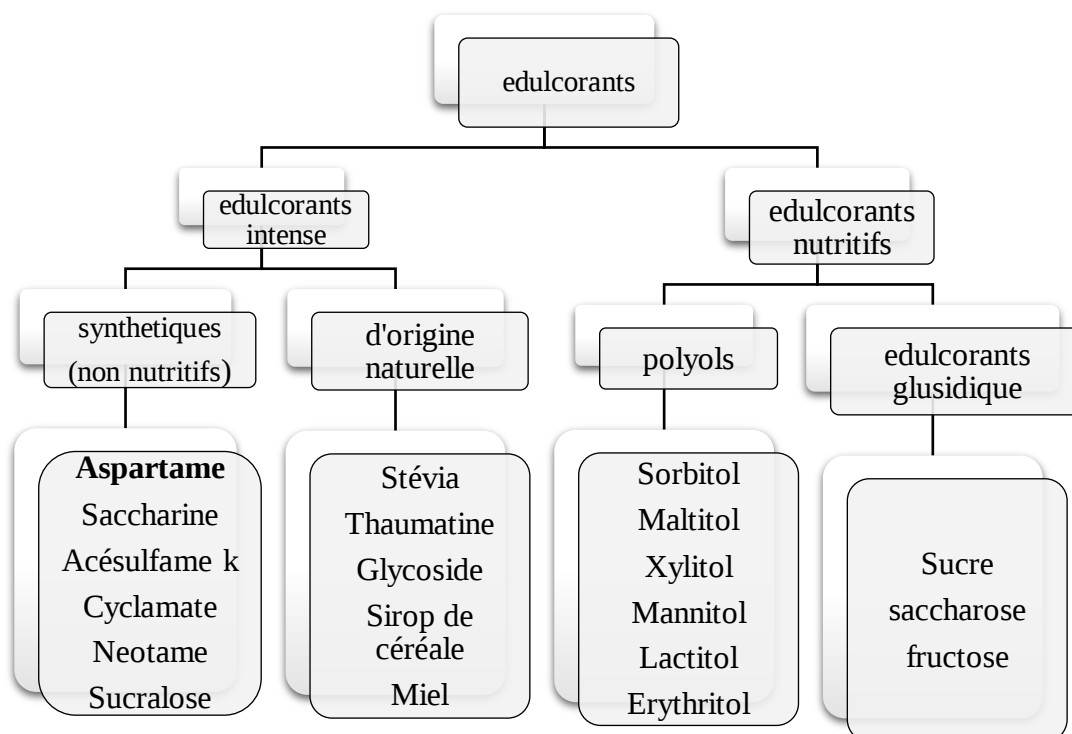


Figure 1 : Classification des édulcorants (Jain et Grover, 2015)

Les édulcorants intenses sont couramment employés depuis six décennies, que ce soit sous forme de sucrettes, de sucre en poudre, ou en tant qu'additif dans divers produits tels que les produits laitiers, les boissons, et les confiseries. Ils sont privilégiés par les individus cherchant à restreindre leur consommation de sucre et/ou de calories, notamment les personnes en surpoids ou obèses, ainsi que les diabétiques (Coutin et al., 2009).

I.3 Aspartame (E951)

I.3.1 Définition

L'aspartame ($C_{14}H_{18}N_2O_5$) est un édulcorant de synthèse faiblement calorique considéré comme virtuellement non calorique, se présentant sous la forme d'une poudre blanche cristallisée, inodore, dont le pouvoir sucrant est d'environ 200 fois supérieur à celui du saccharose (Fredot, 2012 ; Ngassa Ndeukou, 2014).

L'aspartame est un dipeptide synthétique formé par la réaction de l'acide L-aspartique avec l'ester méthylique de la L-phénylalanine Ester (Rangan et Barceloux, 2009) Fig 2. Il est probablement l'édulcorant intense le plus connu du grand public (Grembecka et Szefer, 2012).

L'aspartame est fréquemment utilisé comme substitut du sucre ou de la graisse. Il est couramment choisi par les personnes souffrant de diabète en raison de son pouvoir sucrant élevé sans augmenter significativement la glycémie. On le trouve dans une variété de produits tels que les eaux minérales aromatisées, les yaourts, les boissons isotoniques et les sodas sucrés. Son utilisation généralisée dans ces produits en fait l'un des édulcorants les plus répandus dans l'industrie alimentaire (Sikorska, 2023).

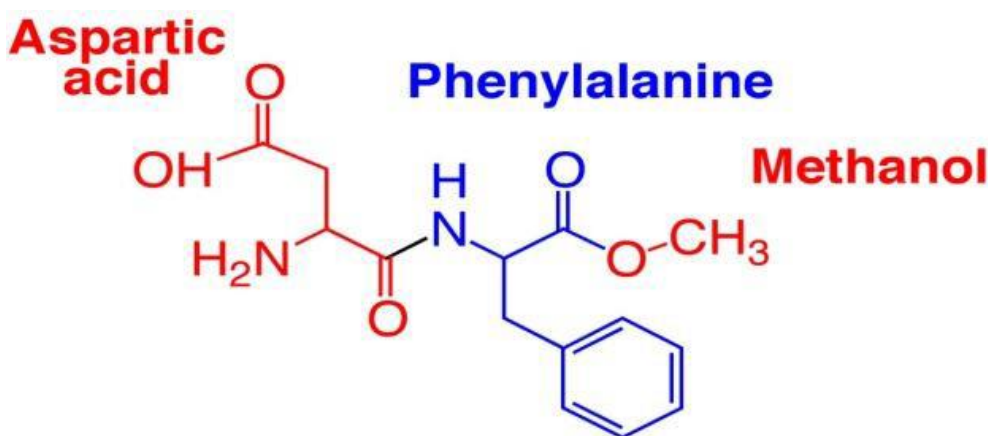


Figure 2 : Structure chimique de l'aspartame (Risk et al., 2016)

I.3.2 La découverte et mise sur le marché

L'aspartame a été découverte en 1965 par James M. Schlatter, un chimiste travaillant pour la société pharmaceutique américaine G.D. Searle & Company (Wagner, 2012 ; Ngassa Ndeukou, 2014)

Il a obtenu son premier agrément de mise sur le marché (AMM) aux États-Unis en 1974. Cependant, cette autorisation a été suspendue quelques mois plus tard en raison de préoccupations concernant des doutes sur un éventuel effet cancérigène. Suite à une réévaluation des études animales, une nouvelle autorisation de mise sur le marché (AMM) a été accordée en 1981. En France, l'utilisation de l'aspartame a été autorisée à partir de 1988. (Ngassa Ndeukou, 2014). Fig. 3

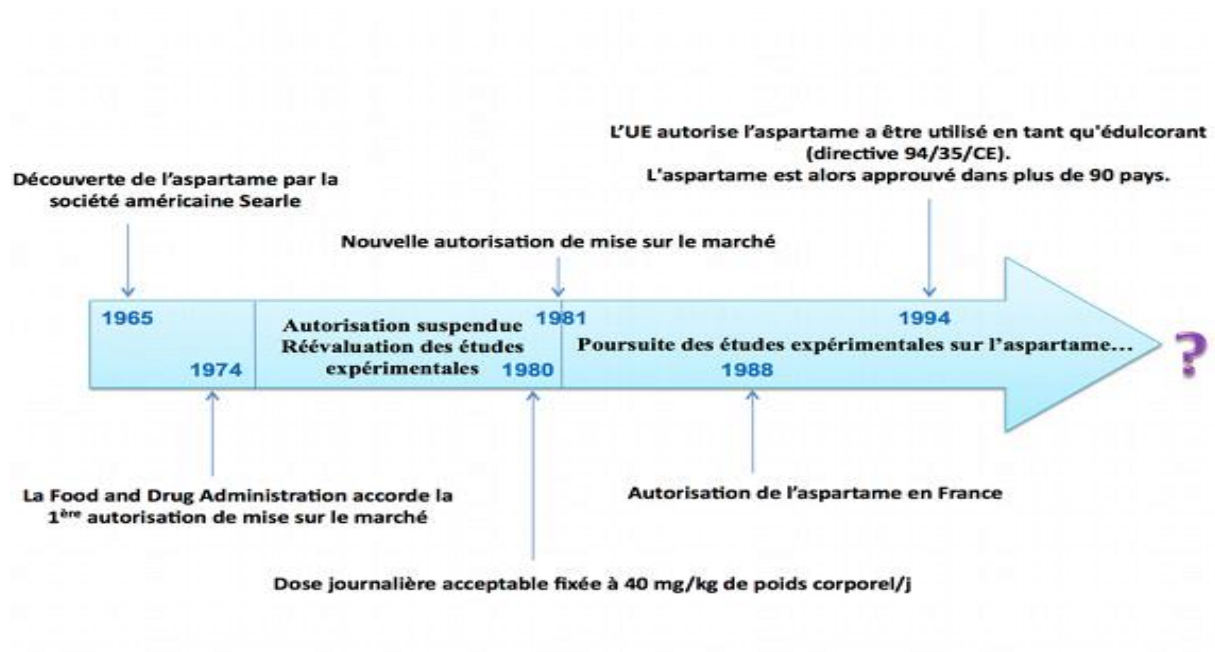


Figure 3 : Historique de l'aspartame (Esteouille et al., 2014)

I.3.3 Utilisation

L'aspartame est incorporé dans plus de 6000 produits, pour sucrer les boissons et les aliments à faible teneur en calories comme des chewing-gums, des crèmes dessert, des produits laitiers, des confitures et des confiseries, ainsi que les médicaments. En France, il s'agit actuellement de l'édulcorant le plus largement utilisé. (Multon, 1992 ; Rencüzoğulları et al., 2004). Il est également utilisé comme édulcorant de table.

L'aspartame, largement utilisé par l'industrie agroalimentaire dans de nombreux produits allégés, peut perdre son pouvoir sucrant lorsqu'il est exposé à la chaleur pendant la cuisson (**Amouyal et al., 2012**)

Il est souvent utilisé en mélange avec d'autre édulcorants (**Wagner, 2012**), comme le cas avec le sel d'aspartame, qui est un mélange de deux édulcorants, l'aspartame (E 951) et l'acésulfame K (E 950) (**EFSA, 2023**). Le Codex Alimentarius reconnaît l'utilisation de l'aspartame comme édulcorant et exhausteur de goût (**Wagner, 2012**).

La dose journalière admissible (DJA) représente la quantité maximale d'additif considérée comme sûre pour la consommation humaine avec un niveau élevé de garanties. En 1981, un comité mixte de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et de l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) a établi l'innocuité de l'aspartame et a fixé une DJA à 40 mg/kg de poids corporel par jour. En termes de perception de la saveur sucrée, cette quantité équivaut à environ cinq fois la consommation quotidienne moyenne de saccharose pour une personne pesant 60 kg (**Multon, 1992 ; AFSSA, 2002**). La FDA américaine a déterminé une dose sans effet observable (DSENO) de 2000 mg/kg/jour pour les études précliniques portant sur l'aspartame (**Butchko et al., 2002**).

Des réévaluations supplémentaires de la sécurité de l'aspartame ont été menées en Europe, d'abord en 1988, 1997 et 2002 par le SCF, puis en 2005, 2006, 2009 et 2013 par l'EFSA. Toutes ces réévaluations ont confirmé la dose journalière admissible (DJA) établie précédemment (**Marinovich et al., 2013**).

L'aspartame suscite un vif intérêt en raison de son pouvoir sucrant élevé et de sa faible teneur calorique. Il est donc considéré comme un outil potentiel dans la gestion des facteurs de risque cardiovasculaire tels que le diabète et l'obésité (**Ngassa Ndeukou, 2014**).

I.3.4 Effets indésirables de l'aspartame

Il y a vraiment des avis contradictoires concernant les effets indésirables de cet édulcorant. Depuis sa mise sur le marché, l'aspartame a été accusé d'être nocif pour la santé, malgré les avis contraires de nombreuses agences de régulation alimentaire telles que l'EFSA, le CSAH, l'ANSES, la FDA.

- Toxicité et Cancérogenèse

Une étude de recherche a conclu que la consommation à court terme d'aspartame peut entraîner des symptômes bénins tels que des maux de tête, une bouche sèche, des vertiges, des changements d'humeur, des nausées, des vomissements, une réduction du seuil de convulsions et une thrombocytopénie (**Whitehouse et al., 2008**).

Les études menées sur le pouvoir cancérogène de l'aspartame sont toutes aussi nombreuses que contradictoires (**Dr Moffa et al., 2007**).

Dans une étude en 2007 sur la toxicité chez les rats, l'aspartame a été administré dans l'alimentation à des groupes de mâles et de femelles, apportant des preuves du potentiel cancérigène de ce composé. Leurs recherches, utilisant des rats fœtaux, ont révélé une augmentation significative des tumeurs malignes chez les mâles, une augmentation de l'incidence de lymphomes et de leucémie chez les mâles et les femelles, ainsi qu'une augmentation de l'incidence de cancer du sein, des carcinomes du rein, du pelvis et de l'urètre chez les femelles (**Soffritti et al., 2007**).

Il est noté que la dose testée dans cette recherche est proche à la DJA humaines. Donc les résultats de cette étude renforcent et confirment les études anciennes qui ont également montré le potentiel cancérigène de l'aspartame.

En 2012, une étude épidémiologique prospective menée par Harvard a révélé une augmentation significative du risque de lymphome non hodgkinien et de myélome chez les hommes consommant des sodas de régime contenant de l'aspartame (**Schernhammer et al., 2012**).

En effet, une étude épidémiologique de type cohorte a été menée par un groupe de chercheurs, connue sous le nom de "NutriNet-Santé cohort". Cette étude à grande échelle a suggéré l'existence d'une association entre la consommation d'édulcorants artificiels tel que l'aspartame et l'acesulfame-K et le risque d'apparition des cancers, plus précisément le cancer du sein et les cancers liés à l'obésité (**Debras et al., 2022**).

Plus récemment, (**Tibaldi et al., 2020**) avaient conclu dans un travail original que l'aspartame avait un potentiel lymphomatogénique et leucémogénique.

- Neurodégénérescence

De nombreuses études suggèrent que l'aspartame et ses métabolites augmentent le risque de maladies neurodégénératives (Villareal et al., 2016 ; Choudhary et Lee, 2018).

De plus, des recherches indiquent que l'aspartame active divers canaux calciques dans les neurones, ce qui peut conduire à la mort cellulaire. De plus, la consommation d'aspartame entraîne des niveaux élevés de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), ce qui augmente le stress oxydatif mitochondrial sur les cellules, entraînant ainsi l'apoptose des cellules surrénales et cérébrales (Ashok et al., 2015).

L'administration à long terme d'aspartame a entraîné des changements dégénératifs dans les nerfs sciatiques. L'aspartame semble également avoir une influence négative sur le cortex cérébral et cérébelleux (Okasha, 2016). Fig. 4

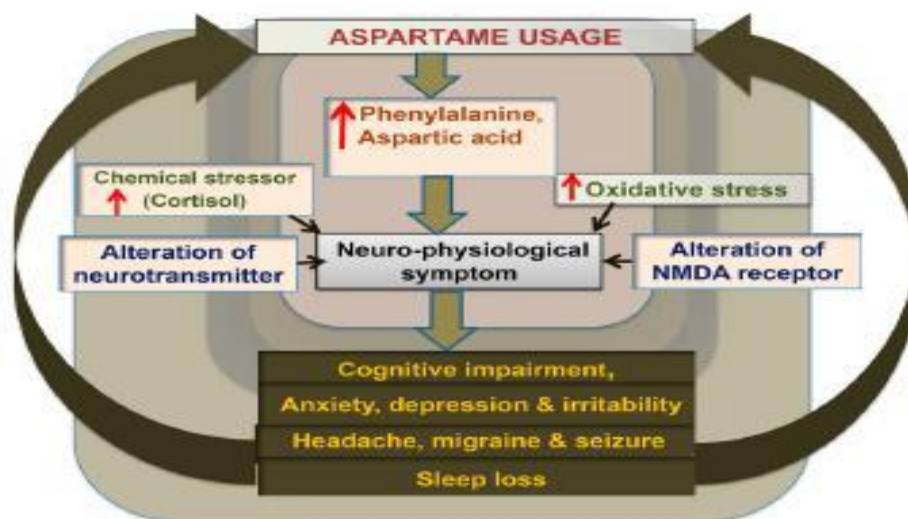


Figure 4 : Effets neurodégénératifs de l'aspartame et ses métabolites (Okasha, 2016).

- Aspartame et inflammation

La consommation d'aspartame peut conduire à une production excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et d'espèces réactives de l'azote (RNS), induisant un stress oxydatif dans différentes cellules et tissus. Cela peut entraîner une dérégulation des marqueurs pro-inflammatoires, ce qui conduit finalement à une inflammation systémique. Cette inflammation peut à son tour provoquer une dérégulation de la flore bactérienne intestinale (Choudhary et Pretorius, 2017).

I.4 Les avantages et inconvénients des édulcorants

I.4.1 Avantages

Les édulcorants sont largement utilisés dans l'industrie agroalimentaire pour réduire la teneur calorique des denrées alimentaires et des boissons pour remplacer le sucre **(Fredot, 2012)**.

Il est utilisé par des gens qui contrôlent leur poids et réduire leur apport en sucres de leur régime alimentaire **(Goudable, 2011)**.

Les édulcorants artificiels sont souvent plus stables que le sucre, ce qui les rend adaptés à une utilisation dans les produits qui nécessitent une longue durée de conservation **(Sikorska, 2023)**.

I.4.2 Inconvénients

Les polyols peuvent entraîner des douleurs abdominales, des ballonnements et des diarrhées s'ils sont consommés en trop grande quantité **(Fredot, 2012)**. Il est important de respecter les recommandations de consommation recommandées pour éviter ces effets indésirables.

Des études épidémiologiques robustes suggèrent que l'utilisation régulière d'édulcorants est associée de manière indépendante à un risque accru de plusieurs maladies telles que l'obésité et le diabète de type 2 **(Anne-Claire, 2019)**.

Chapitre II

La génotoxicité

II.1 Généralités

La génétique est une discipline scientifique axée sur l'étude de la structure et de la fonction du matériel génétique. La génotoxicologie, quant à elle, s'intéresse spécifiquement à l'impact et à la capacité de certains produits chimiques ou facteurs environnementaux à endommager l'ADN, notamment les radiations **(Sharmistha et al., 2021)**. Les agents génotoxiques agissent de diverses manières, en produisant des cassures et des ponts d'ADN, des erreurs de réplication et des substitutions de bases. Ces dommages peuvent entraîner la mort cellulaire et des problèmes de santé tels que l'infertilité et le cancer **(Kanad et al., 2023)**.

Mais ces dommages peuvent aussi être réparés par des systèmes de réparation cellulaire. Cependant, si cette réparation est défectueuse, incomplète ou absente, des mutations permanentes peuvent survenir. Lésions ou mutations qui provoquent directement l'interaction du composé parent ou de ses métabolites avec le matériel génétique, ou provoquent indirectement l'activation métabolique des enzymes hépatiques **(Pham, 2011)**.

II.2 Tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité sont une évaluation importante conçue pour identifier les substances génotoxiques en fonction de leur capacité à provoquer des dommages génétiques, notamment la mutagénicité, la clastogénicité et leur aneugénicité. Ces tests comprennent une variété de tests in vitro (réalisés à l'aide de cellules cultivées en laboratoire) et de tests in vivo (réalisés sur des animaux de laboratoire) **(Balderik, 2021)**. Ils constituent un outil et actuellement le seul capable d'évaluer les effets précoces de l'exposition à des substances génotoxiques et de prédire le risque de cancer **(Eslava, 2004)**. Fig. 5

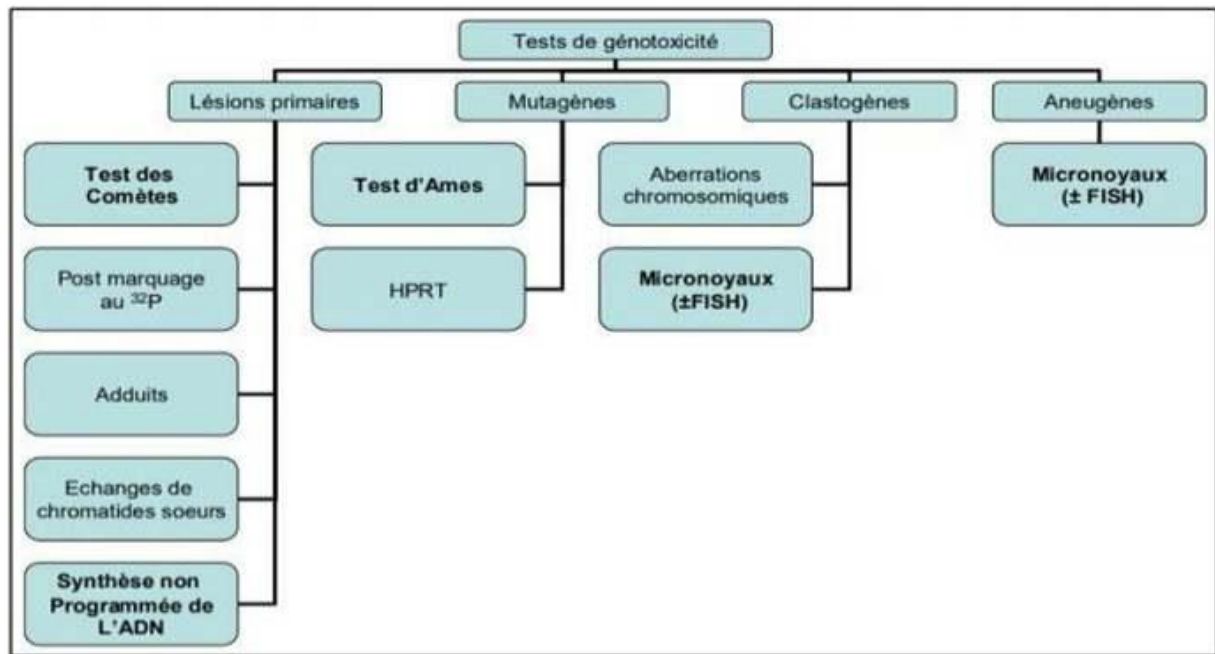


Figure 5 : Principaux types de tests de génotoxicité (Orsière et al., 2005).

Les critères pour qu'un test soit valable, il doit respecter certaines conditions importantes :

- Facilité et sécurité : Le test doit être pratique à réaliser et ne présenter aucun risque pour les sujets qui y sont soumis.
- Précision et reproductibilité : Les résultats du test doivent être précis, reproductibles et minimiser les erreurs analytiques possibles.
- Signification quantitative : Les informations obtenues grâce au test doivent être quantitativement significatives en termes de risque pour la santé individuelle ou d'un groupe de personnes. (Pillière et Falcy, 1991).

II.2.1 Test d'Ames

Le test d'Ames est un test de mutation inverse bactérienne qui utilise les souches de *S. typhimurium* auxotrophes en acides aminés, été signalées pour la première fois dans des publications dans les années 1970. Il est largement considéré comme la référence dans les tests de mutagenicité (Dimitrios et al., 2024). La souche utilisée est porteuse d'une mutation dans l'un des gènes qui contrôlent la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation de l'histidine rend la souche incapable de se développer sur un milieu sans histidine. Ces mutations His- reviennent spontanément à His+ à une fréquence très basse, de sorte que les cellules retrouvent la capacité de se développer sur un milieu sans histidine. **Fig. 6**

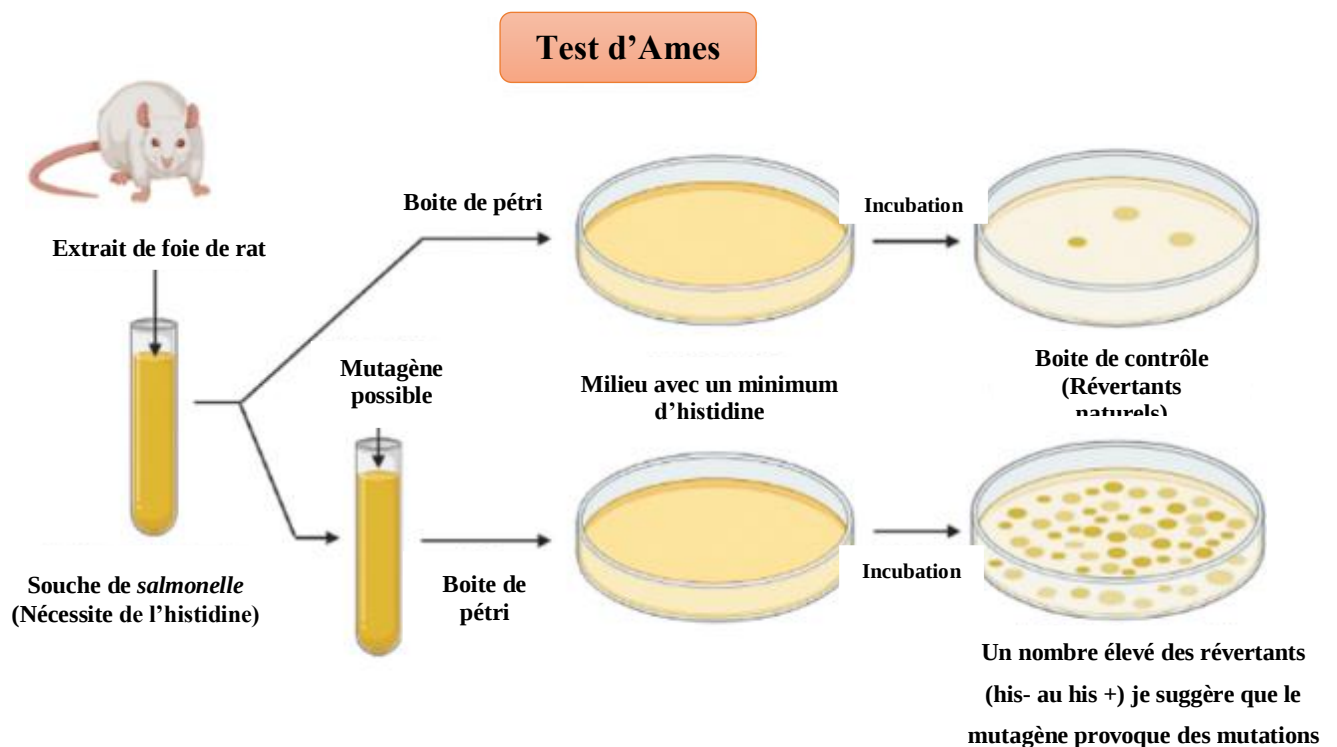


Figure 6 : Principe d'application du test d'Ames (Keshav et al., 2021).

II.2.2 Test de comète (SCGE)

Le test des comètes, également connu sous le nom « d'électrophorèse sur gel monocellulaire » ou SCGE. Le test des comètes est largement utilisé depuis 30 ans pour mesurer les dommages et la réparation de l'ADN dans les cellules et les tissus (Møller, 2018). Le test est simple, sensible et peu coûteux à réaliser (Gajski et al., 2020).

Le principe de cette technique consiste à mettre en suspension des cellules dans un gel d'agarose sur une lame de microscope, qui migreront ensuite dans un champ électrophorétique après une étape de lyse cellulaire et libération des noyaux (Collins, 2004), (Soughir, 2009). Fig. 7.

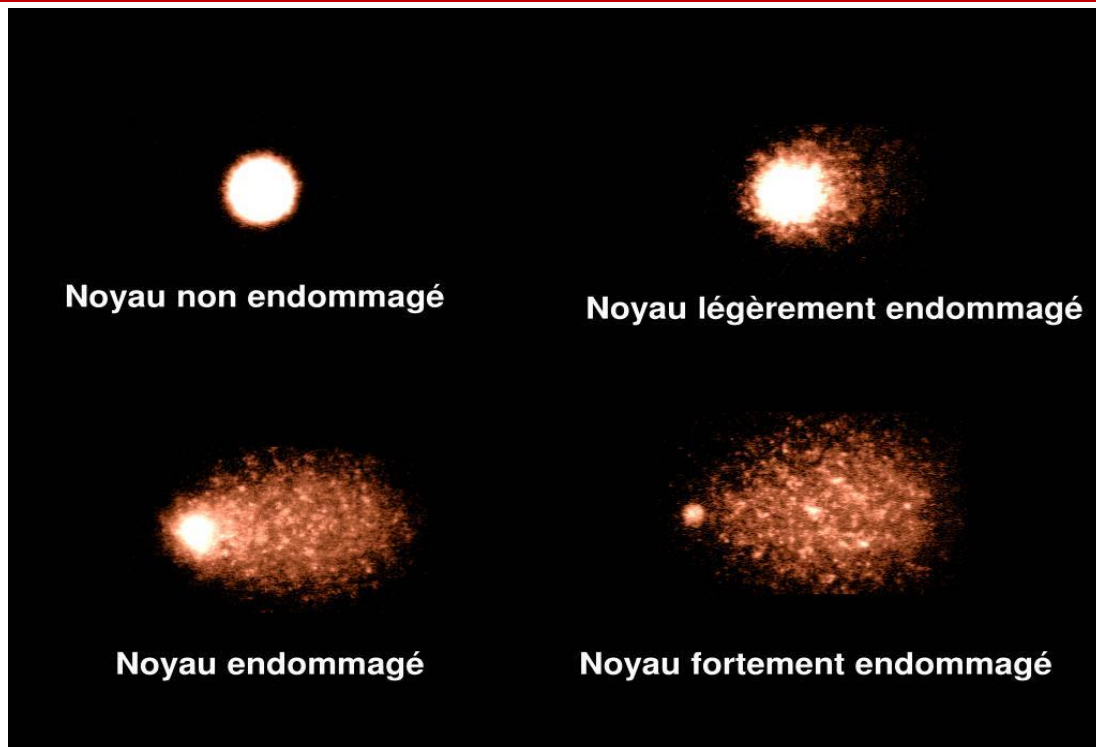


Figure 7 : Aspects des comètes en fonction de l'importance de la fragmentation de l'ADN (Moche, 2014).

II.2.3 Test d'aberration chromosomique (AC)

L'AC est caractérisée par des modifications du nombre total de chromosomes. Le but de test est d'évaluer la fréquence des AC stables et instables il joue aussi un rôle dans l'étiologie du cancer et de diverses maladies génétiques humaines, leur grand avantage est actuellement le seul test ayant une valeur prédictive du risque de cancer lié à la fréquence AC (Udroiu et Sgura, 2017 ; Ortega, 2004).

Il existe plusieurs façons de détecter les anomalies chromosomiques, mais la plus courante est la méthode du caryotypage. Le caryotypage a été réalisé en bloquant les cellules en métaphase avec la colchicine. (Fardel et al., 2009).

II.2.4 Test du micronoyau (MN)

Les micronoyaux sont des structures chromatinienne rondes et membraneuses formées au cours de la division cellulaire tardive lorsque des segments chromosomiques acentriques ou des chromosomes entiers ne sont pas incorporés dans l'un des noyaux des cellules filles.

Le but du test des micronoyaux est de détecter et de dénombrer ces micronoyaux (in vitro et in vivo). Ce test peut détecter les agents génotoxiques qui peuvent provoquer « aneuploïdie » par l'utilisation d'une technique d'hybridation in-situ, il s'agit de la technique « fish ». Utilisant des sondes marquées à l'aide d'un marqueur fluorescent « centromères ». Où la présence d'un centromère dans le micronoyau permet d'identifier l'effet aneugène de génotoxique (**Laura et al., 2016**).

Le test du micronoyau est un outil fiable et sensible largement utilisé dans la recherche sur le cancer, la toxicologie environnementale, la radioprotection, la médecine légale et d'autres domaines. (**Leonard et al., 2020**).

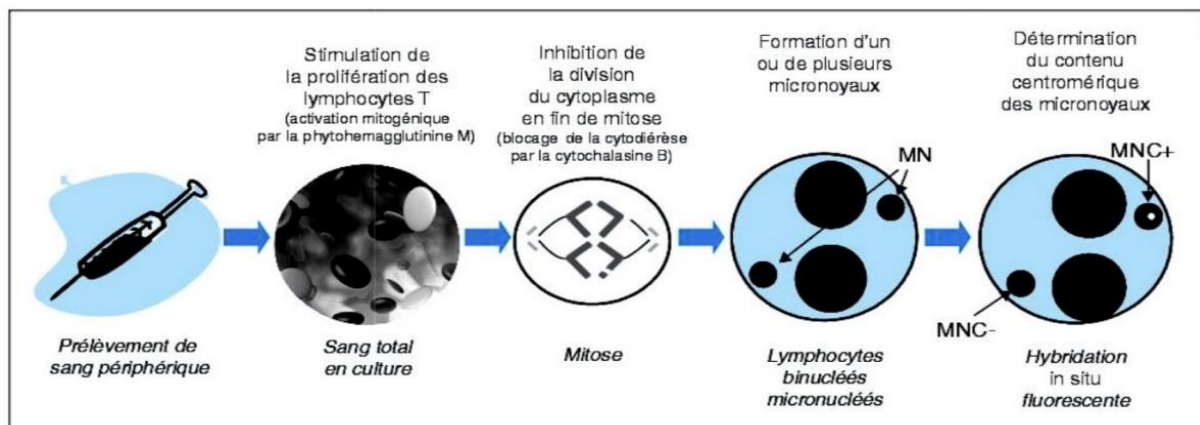


Figure 8 : Principe du test des micronoyaux (**Iarmarcovai et al., 2007**)

II.2.5 Échange de chromatides sœurs (SCE)

L'échange de chromatides sœurs entre chromosomes est provoqué par des cassures de l'ADN et la restauration des fragments brisés à presque la même position après échange entre deux chromatides sœurs du même chromosome, leur formation dépend donc du cycle cellulaire ou de la réplication en phase S de l'ADN. Le test (SCE) est un test à court terme qui détecte ces échanges. Il convient pour tester les effets d'un composé sur les cellules in vitro et peut

Également évaluer les effets in vivo. Il est donc utilisable pour la mesure du potentiel génotoxique d'un composé donné, mais aussi pour la surveillance de personnels exposés (Maki-Paakkanen, 1987 ; Cavallo et al., 2006).

La détection des SCE nécessite des méthodes permettant de marquer différemment les chromatides sœurs. Ceci peut être réalisé en incorporant de la bromodésoxyuridine (BrdU), un analogue de la thymine en phase S (González-Torres et al., 2014). Les cellules ont ensuite été traitées à la colchicine pour stopper la division cellulaire en métaphase, et après récolte des chromosomes.

II.2.6 Test *Allium cepa*

Les effets néfastes des polluants chimiques et des agents biochimiques sur l'écosystème peuvent être déterminés grâce à divers systèmes modèles végétaux tels que *Lactuca sativa* L., *Pisum sativum* et *Allium cepa*. Parmi tous ces modèles, *A. cepa* est le modèle le plus utilisé comme bioindicateur en raison de sa facilité de disponibilité, de son faible coût et de ses chromosomes de grande taille (Ria et Sanjib, 2024)

Présentation générale d'*Allium cepa*

Allium cepa (2n=16), l'oignon, est une plante herbacée bisannuelle de la famille des *amaryllis* (*Amaryllidaceae*), C'est une plante vivace dont le bulbe souterrain est le principal organe de Stockage (Brain, 2020). Le bulbe d'oignon est la principale partie comestible de la plante et sa taille, sa forme et sa couleur varient en fonction du cultivar (Britannica 2024). Le caryotype montre cinq paires de chromosomes (de 8 à 16 m) avec deux paires de centromères médiales par rapport à la ligne médiane et une paire de chromosomes satellites (Cotelle, 1999).

L'importance des tests sur les oignons contribue à améliorer les connaissances sur la prévention de la toxicité environnementale. L'oignon (*Allium cepa* L.) est un biomarqueur potentiel pour les études de génotoxicité (Firbas et Amon, 2013), et ce test permet d'évaluer les effets des agents qui ont la capacité de provoquer des changements sur les chromosomes.

Les critères de génotoxicité déterminés sur *Allium cepa*

Forme des racines

Les racines présentaient une sensibilité plus élevée, donc le paramètre est le changement de la couleur des extrémités des racines (Fiskesjö, 1985).

L'indice mitotique

L'indice mitotique (IM), caractérisé par le nombre total de divisions cellulaires au cours du cycle cellulaire, a été utilisé comme paramètre pour évaluer la cytotoxicité de plusieurs substances. Le niveau cytotoxique d'une substance peut être déterminé par une augmentation ou une diminution de l'IM. **(Leme et Marin-Morales, 2009).**

Les Aberrations Chromosomiques (AC)

Pour évaluer différentes anomalies chromosomiques, plusieurs types d'AC doivent être pris en compte à différentes étapes du cycle cellulaire (prophase, métaphase, anaphase et télophase).

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériel utilisé

I.1.1 Produits testés

Trois différentes doses d'aspartame ont été utilisés (dose 01 = 100 mg/l, dose 02 = 200 mg/l et dose 03=400 mg/l).

I.1.2 Matériel biologique utilisé

Des bulbes d'oignons (2n=16) de variété commerciale *Allium cepa*, ont été obtenus de Turquie d'un poids moyen de 6.5 g. **Tab.1**

Tableau 1 : Taxonomie de l'espèce *Allium cepa* (Bedouh, 2014).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Spermatophyta
Classe	Liliopodia
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	<i>Allium L</i>
Espèce	<i>Allium cepa L</i>

I.2 Evaluation de la génotoxicité par le test *Allium cepa*

I.2.1 Préparation des oignons

Nous avons commencé par nettoyer les oignons des vieilles racines, ensuite les placer dans une série des gobelets en plastiques remplis avec de l'eau distillée, puis les garder dans un lieu obscur et aéré pendant 24 h.

Les produits testés sont :

L'échantillon 1 : MMS (Méthyle Méthane Sulfonate) comme contrôle positif.

L'échantillon 2 : Les 3 concentrations d'aspartame.

L'échantillon 3 : L'eau distillée comme contrôle négatif.

La mise en contact des bulbes d'oignons avec les différents échantillons est réalisée comme cité dans la préparation des oignons. **Fig. 9**



Figure 9 : Culture des bulbes d'oignons avec les échantillons (photo personnelle).

I.2.2 Fixation et conservation des racines

Avec des ciseaux, on coupe les 2 derniers centimètres des extrémités des racines, après on place les racines dans un produit fixateur (Carnoy). **Fig. 10**



Figure 10 : Obtention des racines des bulbes (photo personnelle).

Après 24 h, on place les racines dans un flacon qui contient l'éthanol à 70% pour la conservation jusqu'à l'observation microscopique.

I.2.3 Préparation des lames

Pour l'observation microscopique on commence par l'hydrolyse des racines par l'HCl 1N dans le bain marie à 60°C pendant 8 min, ensuite on rince les racines par l'eau distillée (3 fois 5 min). **Fig. 11**



Figure 11 : Hydrolyse des bulbes dans le bain marie (**photo personnelle**).

L'étape suivante est la coloration des racines par la solution Feulgen pendant 25 à 30 min en obscurité. Ensuite on place les racines dans l'eau distillée pendant 2 min pour le rinçage. **Fig. 12** puis séchées sur du papier Wattman.

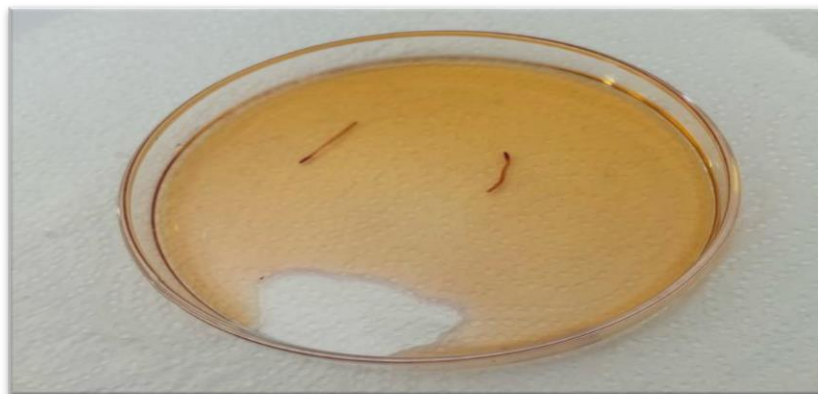


Figure 12 : Coloration des racines par la solution Feulgen (**photo personnelle**).

Pour la préparation des lames, on place une racine sur la lame, à l'aide d'un bistouri, la découpe en petits morceaux. **Fig. 13**

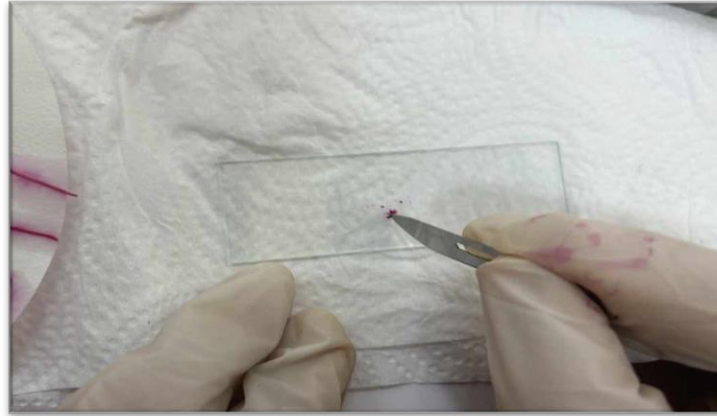


Figure 13 : Fixation des morceaux de racine sur la lame (**photo personnelle**)

Mettre une goutte d'acide acétique glaciale 45% sur la lame et couvrir avec une lamelle en appuyez soigneusement par du papier absorbant pour exclure les bulles d'aires. **Fig. 14**

Nous avons préparé 3 lames/échantillon.



Figure 14 : Lame prête pour l'observation microscopique (**photo personnelle**).

I.2.4 Examen microscopique

Le microscope optique utilisé pour l'observation est de la marque *Optika* à oculaire x16. On commence l'observation par l'objectif X40 pour la détermination de l'indice mitotique (IM).

Le pourcentage de l'IM est obtenu selon la formule suivante :

$$\text{IM \%} = (\text{P} + \text{M} + \text{A} + \text{T}) / \text{Nombre totale des cellules}$$

Également, on compte 100 cellules en phase de division/ lame pour déterminer les aberrations chromosomiques AC. **Fig. 15**



Figure 15 : L'observation des lames sur microscope (photo personnelle).

Résultats et discussion

II Résultats et discussion du test *Allium cepa*

II.1 Observation macroscopique

Après l'incubation des bulbes d'*Allium cepa* dans l'eau distillée pendant 24 h, l'observation morphologique à l'œil nu a montré une croissance normale des racines sans aucune anomalie de croissance. **Fig. 16**



Figure 16 : L'état morphologique des racines après l'incubation (**photo personnelle**).

La seule différence observée entre les contrôles positives, négative et les 03 concentrations d'aspartames est la longueur des racines dans chaque échantillon.

II.2 La longueur des racines

La longueur des racines et l'inhibition de la croissance sont mesurés après traitement par les différentes doses d'aspartame, ce critère macroscopique peut être un des paramètres à effet cytogénétique. **Tab. 2 et Fig. 17**

Tableau 2 : Résultats de l'élargissement racinaires après 24 h. de traitement.

	Moyenne de la longueur (après) $\pm$ ET	Inhibition de la longueur
Contrôle (-)	3.3 $\pm$ 0.67	0%
100(mg/l)	2.93 $\pm$ 0.52	11.21%
200(mg/l)	2.89 $\pm$ 0.24	12.42%
400(mg/l)	1.68 $\pm$ 1.02	49.09%
Contrôle (+)	1.1 $\pm$ 0.22	66.66%

ET : écart type

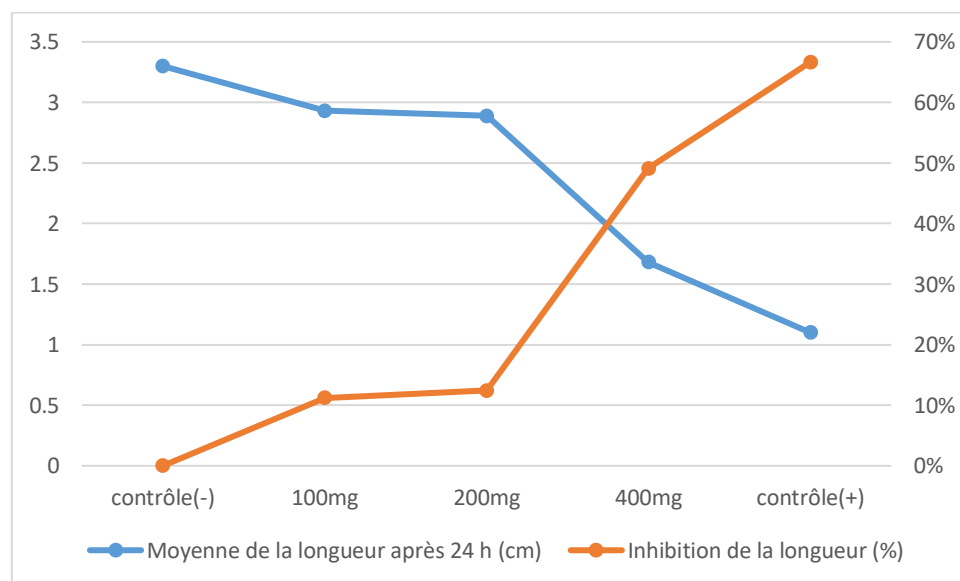


Figure 17 : Evolution de la longueur des racines et de l'inhibition de leur croissance.

Après 24 h, les racines du contrôle négatif sont les plus long avec une moyenne de longueur : 3.3 ± 0.67 (**Tabet, 2015**) suivie par la faible dose 100mg : 2.93 ± 0.52 ensuite la 2^{-ème} dose 200mg : 2.89 ± 0.24 après la forte dose 400mg : 1.68 ± 1.02 . Le MMS comme contrôle positif a donné une moyenne de longueur : 1.1 ± 0.22 (**Tabet, 2015**).

On constate que l'inhibition de la longueur des racines augmente lorsque la dose d'aspartame augmente cela signifie que plus la dose est élevée plus la réduction de la longueur des racines est importante.

Pour la première dose l'inhibition est de 11.21%, pour la deuxième dose l'inhibition est de 12.42 % et pour la troisième dose l'inhibition atteint 49.09%, ces résultats indiquent donc une corrélation entre l'augmentation de la dose d'aspartame, l'augmentation de l'inhibition de la longueur des racines et la diminution de la longueur des racines, il existe une relation **Dose-Effet**.

Ces résultats suggèrent une influence possible de l'aspartame sur la croissance des racines.

Selon (**Tabet, 2015**), L'inhibition de la croissance des racines observées est associée à l'activité méristématique apicale et à l'allongement de la cellule au cours de la différenciation.

II.3 Indice mitotique

L'IM, caractérisé par le nombre total des divisions des cellules dans le cycle cellulaire est utilisé comme paramètre pour évaluer la cytotoxicité d'une substance. (**Fernandes et al., 2007 ; Leme et Marin-Morale, 2009**).

L'IM mesure la proportion des cellules dans la phase M du cycle de division et sa suppression pourrait être interprétée comme une mort ou un retard de la cinétique de prolifération cellulaire (**ROJA et al., 1993**).

Les résultats de l'IM des racines d'*Allium cepa* et du pourcentage des phases mitotiques sont présentés dans le tableau **Tab. 3, Fig. 18, 19**

Tableau 3 : L'effet de l'aspartame sur les phases mitotique (PM) et IM.

Concentration (Mg/ml)	NCC	IM (moyenne $\pm$ ET) (%)	Moyenne des phases mitotique PM (%) $\pm$ ET			
			ET			
			Prophase	Métaphase	Anaphase	Télophase
Contrôle (-)	5183	20.82 $\pm$ 1.07	74.64 $\pm$ 5.02	7.51 $\pm$ 3.51	7.31 $\pm$ 2.21	10.53 $\pm$ 3.65
100	3129	20.81 $\pm$ 3.89	55.65 $\pm$ 7.99	5 $\pm$ 1.41	4.14 $\pm$ 1.47	35.17 $\pm$ 7.94
200	3071	14.02 $\pm$ 1.94	53.46 $\pm$ 2.04	8.21 $\pm$ 2.62	6.29 $\pm$ 0.68	32 $\pm$ 8.79
400	3088	11.17 $\pm$ 3.46	54.96 $\pm$ 4.13	9.37 $\pm$ 3.41	8.10 $\pm$ 3.08	27.53 $\pm$ 3.06
Contrôle (+)	5194	6.81 $\pm$ 0.89	57.6 $\pm$ 5.65	13.84 $\pm$ 3.8	8.63 $\pm$ 3.56	19.9 $\pm$ 4.85

NCC : nombre de cellules comptées, IM : l'indice mitotique, ET : écart type.

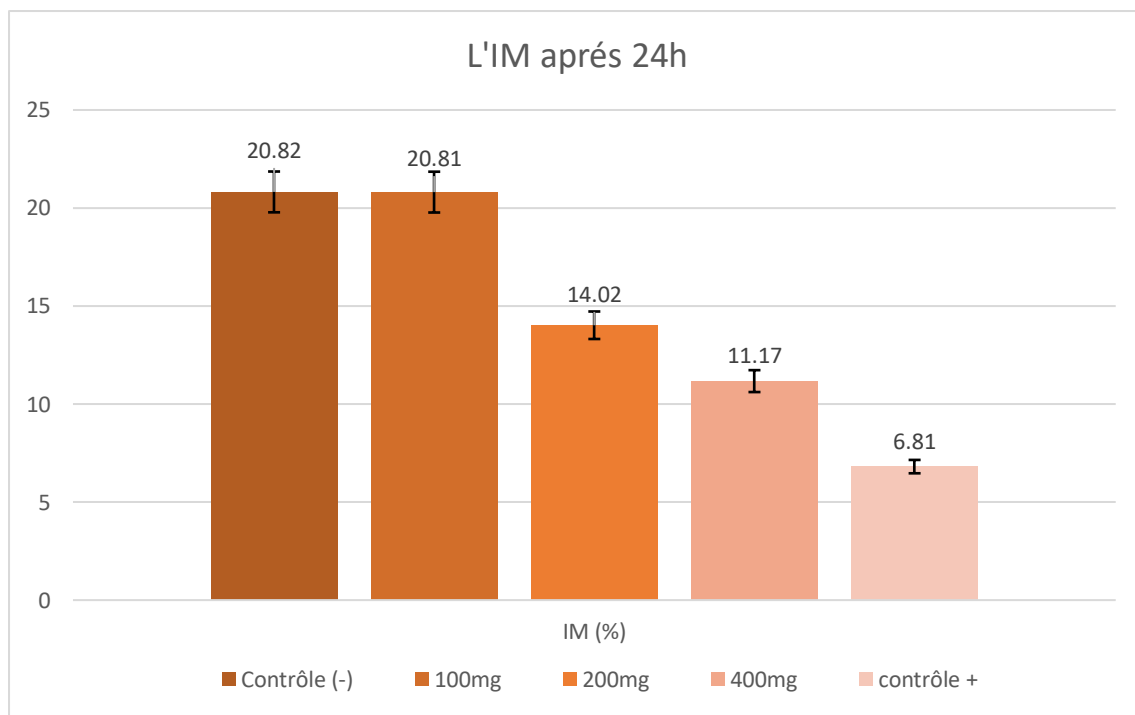


Figure 18 : Histogramme des moyennes de l'Indice mitotique

Les résultats de l'indice mitotique après traitement par l'aspartame montrent des valeurs intéressantes. Où l'on remarque qu'il y'a une diminution progressive des valeurs de l'IM.

La diminution de l'activité mitotique peut être dû à une progression plus lente des cellules de la phase S (synthèse de l'ADN) vers la phase M (mitose) (Wu et al., 2010).

Plusieurs travaux sont signalés que la diminution de ce paramètre est considérée comme un signe de toxicité (Saxena et al., 2005).

Ces résultats montrent que l'aspartame peut avoir un impact sur la division cellulaire où la valeur de l'IM la plus élevée est celle obtenue avec la 1^{ère} dose (20.81%) et la valeur la plus faible est celle obtenue avec la 3^{ème} dose (11.17%) et ceci par comparaison avec les contrôles (-) et (+).

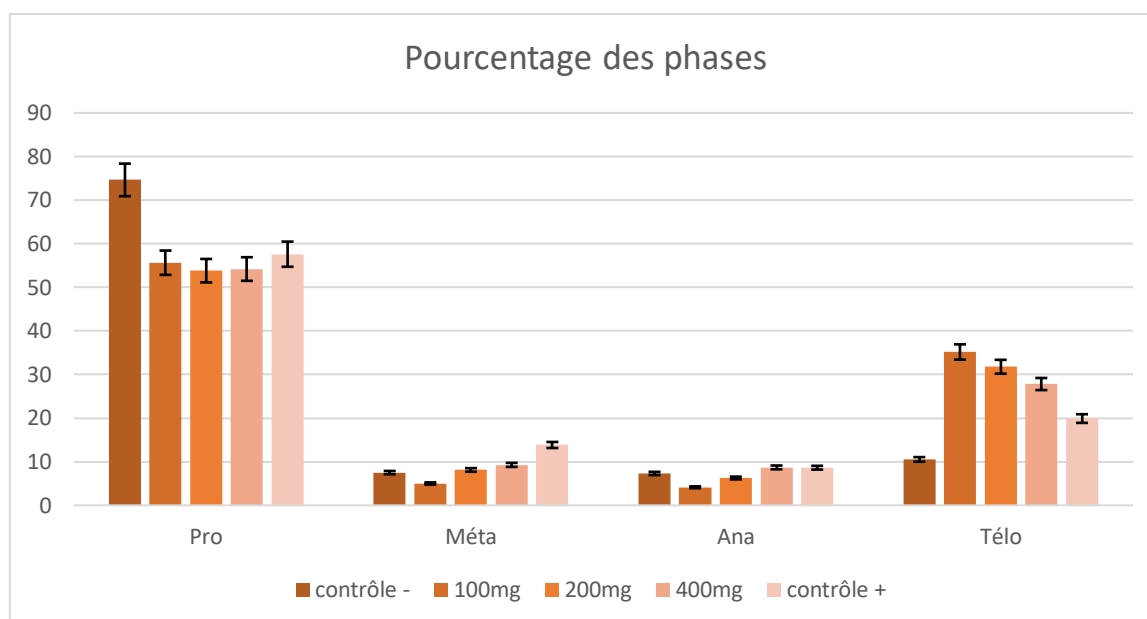


Figure 19 : Histogramme des phases des divisions cellulaires après 24h.

L'inhibition mitotique a été attribuée un certain nombre de facteurs parmi lesquels le blocage du cycle mitotique pendant l'interphase (Soliman et Ghoneam, 2004).

Concernant le pourcentage des phases, le pourcentage le plus élevé de Prophase (55.65%) est obtenu avec la dose d'aspartame à 100mg et le pourcentage le plus bas (53.46%) est obtenu avec la dose de 200 mg d'aspartame. Avec contrôle négatif (74.64%) et (57.6 %) avec le contrôle positif.

Pour la métaphase, (5%) avec 100 mg tandis que le taux élevé (9.37%) est obtenu avec 400mg d'aspartame. Avec le contrôle négatif (7.51 %) et (13.84%) avec le contrôle positif.

Le pourcentage d'anaphase atteint la valeur maximale après traitement des racines d'*Allium cepa* avec la dose 400mg (8.10%) et la valeur la plus basse avec 100 mg (4.14 %). Les contrôles négatif et positif ont donné (7.31 % et 8.63 %) respectivement.

Pour la télophase la valeur faible (27.53%) est obtenue avec la dose de 400mg et la forte valeur (35.17%) avec 100 mg d'aspartame. Les contrôles négatif et positif ont donné (19.9% et 10.53%) respectivement.

On a observé qu'il y a des perturbations entre diminution et augmentation des pourcentages de prophase, métaphase, anaphase et télophase. Cela peut indiquer que les traitements avec les l'aspartame ont affecter la durée relative de chaque phase de la mitose comme suggéré par **(Barakat et Hassan, 1997)**

Au cours de notre observation microscopique par objectif x40, nous avons pris des photos des cellules en différentes phases de division **(Fig.20)**.

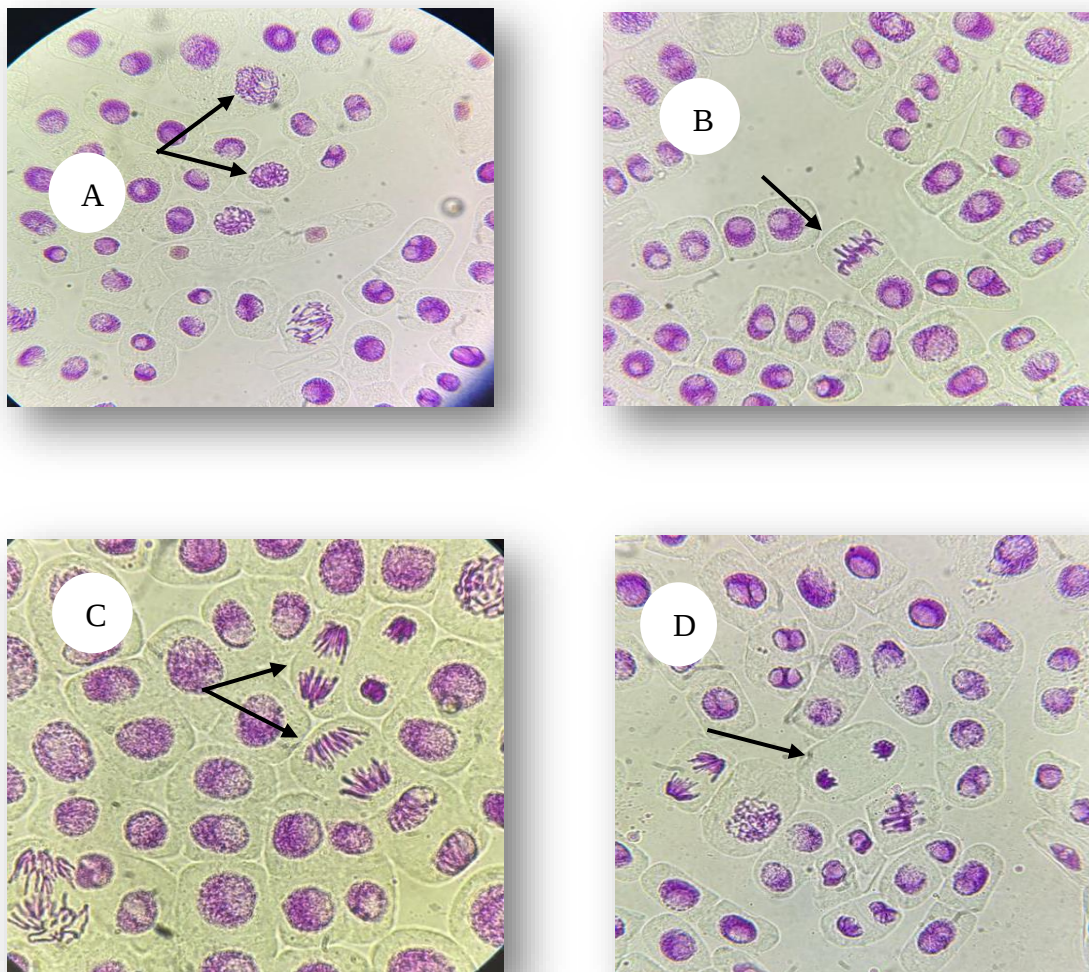


Figure 20 : Cellules méristématiques normales d'*Allium Cepa* en division (photos personnelle)

(A)Prophase, **(B)** métaphase, **(C)** anaphase, **(D)** télophase.

II.4 Aberration chromosomique AC

Les AC sont caractérisés par le changement soit dans le nombre total de chromosomes ou de la structure chromosomique. (Tabet, 2015).

Les aberrations chromosomiques sont dues à des lésions de l'ADN et de la protéine du fuseau chromosomique causant des dommages génétiques (Amin, 2001)

Concernant le pourcentage des AC de notre travail, différents types d'anomalies ont été misent en evidence. Le pourcentage des AC est obtenu selon la formule suivante :

Les résultats des AC détectées dans les racines d'*Allium cepa* sont présentés dans le tableau **Tab. 4. Fig. 21, 22**

Tableau 4 : Pourcentage des types d'AC détectées dans les racines d'*Allium cepa*.

	NCC	AT%±ET	V	PAT	C	PC
Contrôle (-)	546	3.66±0.65	0.73	1.47	0.92	0.54
100(mg/l)	321	19.89±7.04	4.76	5.42	5.94	3.74
200(mg/l)	316	21.10±2.59	4.10	6.30	7.52	3.17
400(mg/l)	310	37.44±10.88	5.82	9.29	14.84	7.41
Contrôle (+)	586	7.38±0.61	0.7	4.21	0.84	1.63

(B) NCC : nombre de cellules comptées, AT : anomalies totales, ET : écart type, V : Vagabond, PAT : Perturbation Anaphase-Télophase, C : Condensation des chromosomes, PC : Pont chromosomiques.

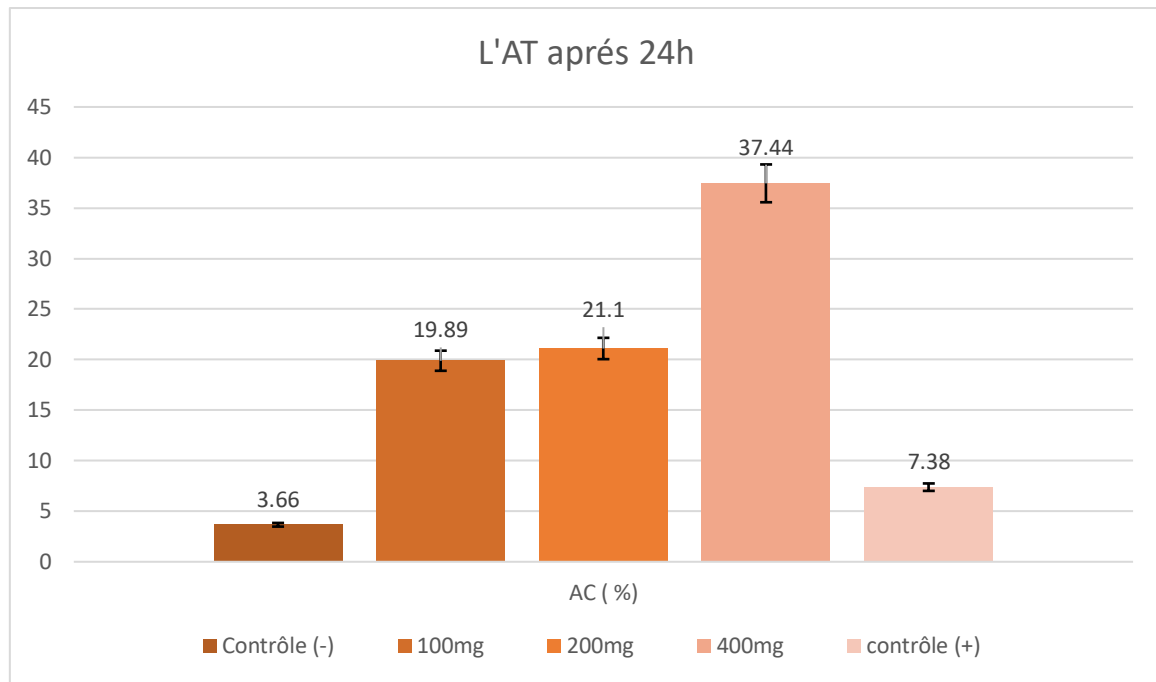


Figure 21 : Histogramme du pourcentage d'anomalies totales

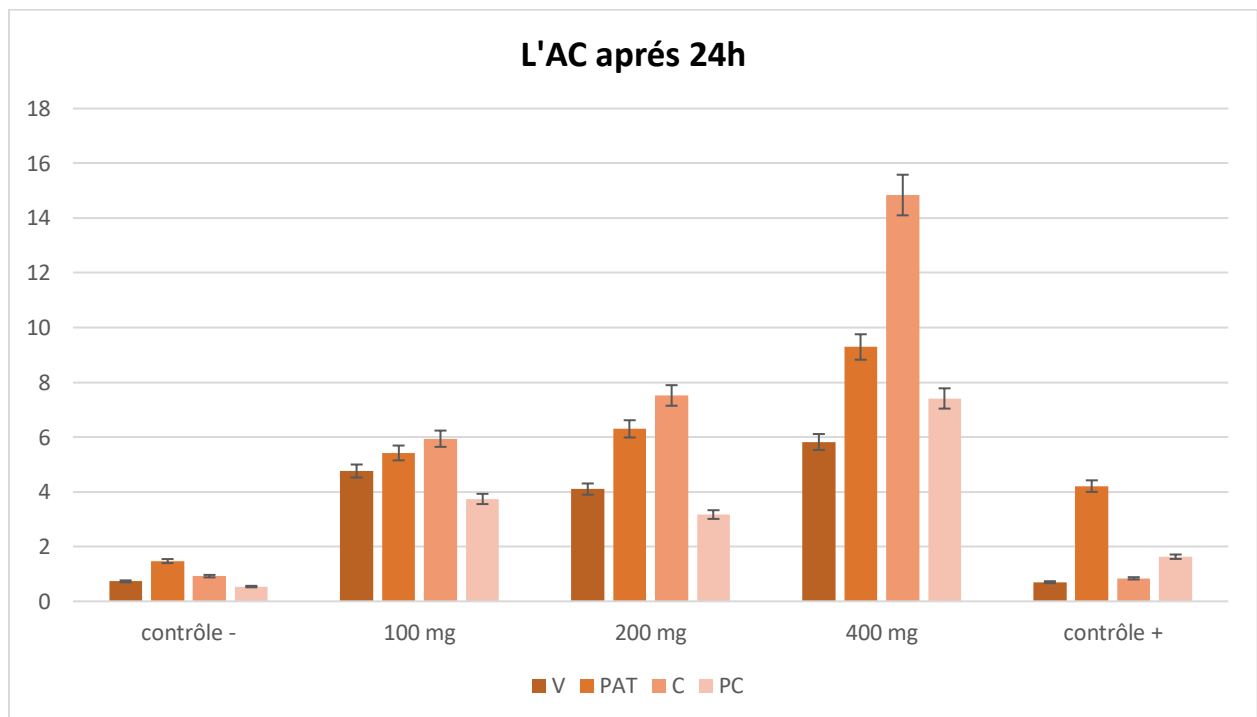


Figure 22 : Histogramme des différents types d'AC après 24 h.

V : Vagabond, **PAT** : Perturbation Anaphase-Télophase, **C** : Condensation des chromosomes,
PC : Pont chromosomiques.

Le pourcentage des aberrations chromosomiques pour les différentes doses d'aspartame est remarquable. Pour la dose qui provoque le nombre le plus élevé d'aberration est la forte dose (400 mg/l / $37,44 \pm 10.88$), suivi par la 2^{ème} dose (200mg/l / 21.1 ± 2.59) ensuite le pourcentage du premier dose (100 mg/l / 19.89 ± 7.04). Comparé au contrôle négatif ($3,66\% \pm 0.65$) et au contrôle positif ($7,38\% \pm 0.61$). Les valeurs des doses testées sont considérablement plus élevées, ce qui suggère que l'aspartame peut avoir un effet génotoxique à des doses plus élevées.

Durant notre étude, l'anomalie la plus rencontrée est la condensation des chromosomes qui peut résulter de pliage incorrect des fibres chromosomiques qui font les chromatides liés au moyen de sous-chromatide ponts (**McGill et al., 1974 et Klasterska et al., 1976**). Cette anomalie peut être interprétée comme le résultat d'une dépolymérisation de l'ADN, d'une dissolution partielle des nucléoprotéines ou encore de cassures et d'échanges des unités de base des fibres repliées des chromatides et du décapage de la protéine associée à l'ADN dans les chromosomes (**Mercykutty et Stephen, 1980**). La condensation peut indiquer une irréversibilité avec effet hautement toxique, pouvant probablement conduire à la mort cellulaire (**Fiskesjo, 1985**).

Les autres anomalies sont relativement moins rencontrées. Les ponts chromosomiques ont été couramment observés pendant l'anaphase et la télophase, indiquant un effet clastogène provoqué par la rupture et la fusion des chromatides ou des sous-chromatides (**Badr, 1983 ; Grant, 1999**). Les anomalies perturbation anaphase-télophase (PAT) et chromosome Vagabond (V) pourraient se produire par la formation des microtubules, en raison de l'inhibition de la polymérisation de la tubuline (**Liman et al., 2010**).

Nous avons pris quelques photos montrant les aberrations les plus rencontrés (**Fig. 23**)

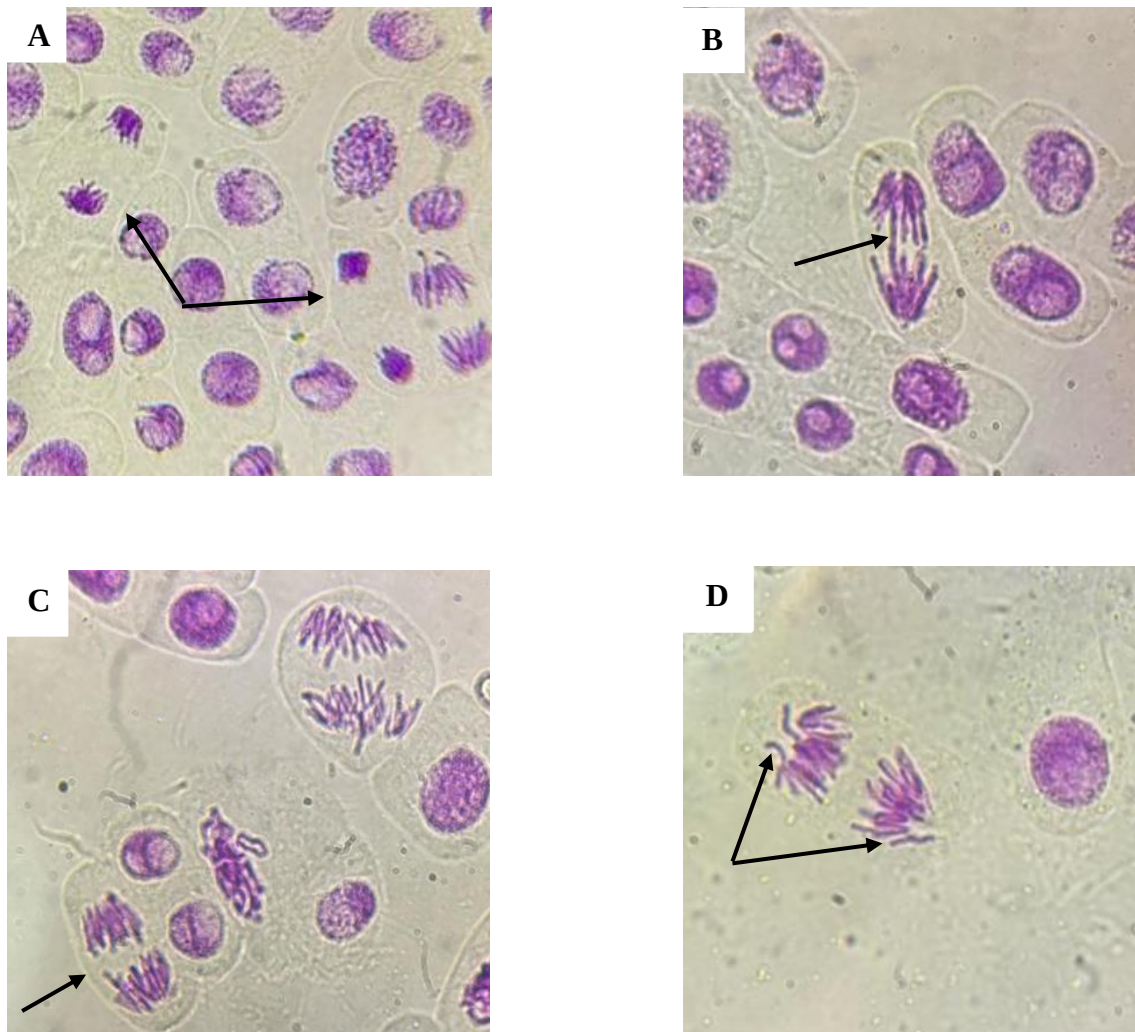


Figure 23 : Des photos montrent types d'AC (**photos personnelle**)

A : condensation chromosomique, **B :** pont chromosomique, **C :** PAT,

D : chromosome vagabond

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les édulcorants ou substituts de sucre peuvent aujourd'hui remplacer les sucres traditionnels dans notre alimentation. C'est le cas de l'aspartame, utilisé comme un sucre de table, à cause de son fort pouvoir sucrant (200 fois supérieur que le saccharose) et pour son faible apport calorique.

Les effets de l'aspartame sur la santé humaine sont le sujet de plusieurs travaux de recherche, surtout lorsqu'il est utilisé à des concentrations élevées dans les aliments et les boissons. Il devrait être utilisé dans des limites étroites et à des concentrations très faibles pour éviter des effets néfastes sur santé humaine.

Notre étude a démontré que le traitement avec l'aspartame par 3 doses différentes induit un effet cytotoxique, effet sur la croissance des racines de l'oignon. Concernant l'effet génotoxique, il a provoqué des changements mitotiques sur les cellules d'*Allium cepa*, changement dans la valeur de l'indice mitotique ainsi que la production d'un grand nombre d'aberrations chromosomiques. Ces changements sont apparus à des degrés différents selon la dose testée.

En perspectives, pour mieux connaître l'effet de l'aspartame et des édulcorants en générale sur la santé humaine et pour donner plus de détails concernant la génotoxicité et leur mécanisme précis, il faut passer à d'autres tests de génotoxicité utilisant d'autres modèles expérimentaux

Références bibliographiques

-A-

- **AFSSA (2002).** Rapport de l'agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments sur la question d'un éventuel lien entre exposition à l'aspartame et tumeurs du cerveau.
- **Ali A., More T. A., Shaikh Z. (2021).** Artificial sweeteners and their health Implications. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 18(2), 227-237.
- **Amin A. W. (2001).** Heavy metals content in maize affected by sewage sludge application. Cytological effects, *Egypt. J. Genet. Cytol.*, 29, 131–140.
- **Amouyal C., Andreelli F. (2012).** Effets métaboliques des édulcorants. Réalités en nutrition et en diabétologie, 41, 25-28.
- **Anne-Claire N. (2019).** Les édulcorants sont-ils dangereux ? <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/les-edulcorants-sont-ils-dangereux> . (Consulté le 12/05/2024).
- **Ashok I., Sheeladevi R. (2015).** Oxydant stress evoked damage in rat hepatocyte leading to triggered nitric oxide synthase (NOS) Levels on long term consumption of aspartame. *Journal of Food and Drug analysis*, 23(4), 679-691.

-B -

- **Badr A. (1983).** Mitodepressive and chromotoxic activities of two herbicides in *Allium cepa*, *Cytologia*, 48, 451-457.
- **Baldrick P. (2021).** Genotoxicity test battery –An assessment of its utility in early Drug development. *Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v :503388, 868-869.
- **Barakat H. M., Hassan H. Z. (1997).** Mutagenic effects of pendimethalin herbicide on *Vicia faba* and *Allium cepa* plants, *Egypt. J. Bot.*, 37, 13 – 29.
- **Beauregard J. (2009).** Encyclopédie visuelle des aliments, édition Québec Amérique, guide pratique de l'alimentation.
- **Bedouh Y. (2014).** Évaluation de la toxicité des eaux usées traitées par la station d'épuration de Guelma et son impact sur l'oignon « *Allium cepa* ». Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 158p.
- **Beigoli S., Sepideh B., Arghavan M. Z., Seyyedeh Z. G., Marzie B., Narges M., Farzaneh K., Khazdair M. R., El-Seedi H., Boskabady M. H. (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.22p.

- **Brain Kart (2020).** “Botanical Description of Allium Cepa.” Brain Kart, 11th Botany : Chapter 5 : Taxonomy and Systematic Botany
- **Britannica (2024).** The Editors of Encyclopaedia. "onion". Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/plant/onion-plant>. (Consulté le 16/05/2024).
- **Bruno Vergès (2018)** Les édulcorants sont-ils dangereux ?. Pratiques en Nutrition : santé et alimentation, 14, pp.25 - 28.
- **Butchko H. H., Stargel W. W., Comer C. P., Mayhew D. A., Benninger C., Blackburn G. L., Trefz F. K. (2002).** Aspartame : examen de la sécurité. *Toxicologie et pharmacologie réglementaires*, 35(2), S1-S93.

-C-

- **Carocho M., Morales P., Ferreira I. C. (2017).** Sweeteners as Food additives in the XXI century : A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*. 107, 302-317.
- **Cavallo D., Ursini C. L., Bavazzano P., Cassinelli C., Frattini A., Perniconi B., Di Francesco A., Ciervo A., Rondinone B., Iavicoli S. (2006).** Sister chromatid exchange and oxidative DNA damage in paving workers exposed to PAHs. *Ann Occup Hyg* 50 :211-218.
- **Choudhary A. K., Pretorius E. (2017).** Revisiting the safety of aspartame. *Nutrition reviews*, 75(9), 718-730.
- **Choudhary A. K., Lee Y. Y. (2018).** Neurophysiological symptoms and aspartame : What is the connection ? *Nutritional neuroscience*, 21(5), 306-316.
- **Clarisse M., Di Vetta V., Giusti V. (2009).** Edulcorants : entre mythe et realite. *Revue médicale suisse*. 5, 682-686.
- **Collins A. R. (2004).** The Comet Assay for DNA Damage and Repair : Principles, Applications, and Limitations. *MB* 26, 249–261.
- **Cotelle S. (1999).** Etude de la génotoxicité de matrices complexes à l'aide de plantes supérieures. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine – Metz. 258p.
- **Coutin F., Mignon L. (2009).** Edulcorants, aliments light ou allégés : attention aux excès, AFDN association française des diététiciens nutritionnistes, contact presse bioconseil santé.

-D-

- **Debras C., Chazelas E., Srouf B., Druesne-Pecollo N., Esseddik Y., de Edelenyi F. S., Touvier M. (2022).** Artificial sweeteners and cancer risk : Results from the NutriNet-Santé population-based cohort study. *PLoS medicine*, 19(3), e1003950.
- **Dimitrios S., Cécile K., Marc A., Ilona B., Deborah B., Mathilde C., Andreas C., Francis F., Véronique G., Laure K., Christian K., Sachiko K., Audrey Le T., Laure M., Ryoko M., Elisa M., Isabelle M., Birgit P., Lukas P., Bernhard R., Kerstin W. (2024).** Assessment of the performance of the Ames MPF™ assay : A multicenter collaborative study with six coded chemicals. Elsevier, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 893. 11-23.

-E-

- **EFSA. (2023).** Aspartame. <https://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/aspartame> (consulté le 15/05/2024).
- **Eslava Ortega M. I. (2004).** Genotoxicity tests : Usefulness in occupational health difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Archives of Public Health*, 62. 71-81.
- **Estouelle L., Grosjean B., Nguyen O., Perrin E. (2014).** L'aspartame un édulcorant controversé. <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-du-vivant/l-aspartame-un-edulcorant-controverse> (consulté le 15/04/2024).

-F-

- **Fardel O., Vernhet L., Nouvel V., JUNG A., LEGRAND-LORANS A. (2009).** Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets, Rapport final, 164p. <https://record-net.org> (consulté le 17/04/2024)
- **Fernandes T. C. C., Mazzeo D. E. C., Marin-Morales M. A. (2007).** Mechanism of micronucleus formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide, *Pestic Biochem Physiol*, 88, 252–259.
- **Firbas P., Amon T. (2013).** Allium Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia *Journal Bioremed Biodegradation*, 4 : 189.

- **Fiskesjo G. (1985).** The Allium test as a standard in environmental monitoring, *Hereditas*. 102 (1). 14p.
- **Fredot E. (2012).** Connaissance des aliments bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Editeur : Tec & Doc Lavoisier ; Édition : 3e édition Collection : BTS diététique. 614 p.

-G-

- **Gajski G., Gerić M., Živković Semren T., Tariba Lovaković B., Oreščanin V., Pizent A. (2020).** Application of the comet assay for the evaluation of DNA damage from frozen human whole blood samples : Implications for human biomonitoring. *Toxicology Letters* 319, 58–65.
- **Grant W. F. (1999).** Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and gene mutations- a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals, *Mutat. Res.*, 426 (2), 107- 112.
- **Grembecka M., Szefer P. (2012).** Simultaneous determination of caffeine and aspartame in diet supplements and non-alcoholic beverages using liquid-chromatography coupled to Corona CAD and UV-DAD detectors. *Food Analytical Methods*, 5(5), 1010-1017.
- **González-Torres M. C., Gavia-García G., Nájera-Medina O. (2014).** ‘Infant Malnutrition’, in *Pathobiology of Human Disease*. Elsevier, 527–541
- **Goudable J. (2011) :** Les édulcorants intenses : utiles pour lutter contre L’obésité. Obésité Springer-Verlag. France vol 6 :212-217.

-I-

- **Iarmarcovai G., Botta A., Orsière T. 2007.** Micronoyaux et polymorphismes génétiques : de l’exposition à la susceptibilité. Laboratoire de biogénotoxicologie et mutagenèse environnementale (EA 1784 ; IFR PMSE 112). Faculté de médecine, Université de la Méditerranée, Marseille, 65(4) :357-363.

-J-

- **Jain T., Grover K. (2015).** Sweeteners in Human Nutrition, *International Journal of Health Sciences and Research*. 5(5), 439-451.

-K-

- **Khanna N., Sharma S. (2013).** *Allium cepa* root chromosomal aberration, *Indian. Pharm. Biol. Res*, Vol.1 (3), 105-119.
- **Kanad N., Sabina S., Ankita S., Sakshi M., Gaurav K., Kapil N. (2023).** The role of genotoxicity in infertility and cancer development. *Fertility Science and Research*. 10(1). 9p.
- **Keshav G., Harsh G., Pritika B., Aman D., Fahad K., Niraj K., Kavindra K., Pratibha P., Avanish K., Mercclena B., Anklt M., Vandana Y., Suryaudaysinh R., Pranay T., Tarun K., Sandeep M. (2021).** Unravelling the molecular mechanism of mutagenic factors impacting human health. *Environmental Science and Pollution Research*. 29 (2), 61993–62013.
- **Kianian F., Narges M., Marzie B., Seyyede Z. G., and Boskabady M. H. (2021).** “Pharmacological Properties of *Allium Cepa*, Preclinical and Clinical Evidences ; A Review.” *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR* 20 (2) : 107–34.
- **Klasterska I., Natarajan A. T., Ramel C. (1976).** An interpretation of the origin of subchromatid aberrations and chromosome stickiness as category of chromatid aberrations, *Hereditas*, 83(2), 153-169.

-L-

- **Leme D. M., Maria Aparecida M. M. (2009).** “*Allium Cepa* Test in Environnemental Monitoring : A Review on Its Application.” *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 682 (1) : 71–81.
- **Leonard S., Poma A., Colafarina S., D’Aloisio F., Scatigna M., Zarivi O., Mastrantonio R., Tobia L., Fabiani L. (2020).** Early genotoxic damage through micronucleus test in exfoliated buccal cells and occupational dust exposure in construction workers : à cross-sectional study in L’Aquila, *Italy. Ecotoxicology and Environnemental Safety*, v : 203, p1-6.
- **Liman R., Akyıl D., Eren Y., Konuk M. (2010).** Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. *Chemosphere*, 80, 1056–1061.

-M-

- **Magnuson B.A., Burdock G., Doull, J., Kroes R. M., Marsh G. M., Pariza M. W., Williams G. M. (2007).** Aspartame : à safety evaluation based on current use levels,

regulations, and toxicological and epidemiological studies. Critical reviews in toxicology, 37(8), 629-727.

- **Maki-Paakkanen J. (1987).** Chromosome aberrations, micronucleus and sister-chromatid exchanges in blood lymphocytes after occupational exposure to low Levels of styrene. *Mutat Res*, 189 :399-406.
- **Marinovich M., Galli CL., Bosetti C. (2013).** Aspartame, low-calorie sweeteners and disease : regulatory safety and epidemiological issues. *Food Chem Toxicol.* 60 :109–115.
- **Massin D. P., Belliste F. (2007).** Les édulcorants intenses, considérations toxicologiques et pondérales, Lettre scientifique de l'IFN, conférence, institut français pour la nutrition.
- **McGill M., Pathak S., Hsu T. C. (1974).** Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes : A possible material basis for chromosome stickiness, *Chromosoma*, 47 (2), 157-167.
- **Mercykutty V. C., Stephen J. (1980).** Adriamycin induced genetic toxicity as demonstrated by the *Allium* test, *Cytologia*. 45, 769–777.
- **Moche H. (2014).** Utilisation du carbure de tungstène-cobalt (WC-Co) comme témoin positif génotoxique nanoparticulaire et étude de la génotoxicité de candidats nanovecteurs de médicaments. Thèse. Université du Droit et de la Santé - Lille II. 221p.
- **Moffa M. A., Morez J. B. (2007).** L'aspartame en nutrition humaine – Mémoire pour le D.I.U. d'alimentation santé et micronutrition – Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dijon, 110p.
- **Møller P. (2018).** The comet assay : ready for 30 mores years. *Mutagenesis* 33, 1–7.
- **MULTON J. L. (1992).** *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires.* Sciences et Techniques alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier p 45-54-

-N-

- **Ngassa Ndeukou M. L.** L'aspartame, un édulcorant sans danger ? Revue de la littérature sur les risques liés à son utilisation. Thèse. Université du droit et de la santé – Lille 2.

-O-

- **Okasha E. F. (2016).** Effect of long term-administration of aspartame on the ultrastructure of sciatic nerve. *Journal of microscopy and ultrastructure*, 4(4), 175-183.

- **Orsière T., Sari-Minodier I., Decome L., Botta C., Iarmarcovai G., Botta A. (2005).** De la génotoxicologie à la biosurveillance, Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. 28. 25p.
- **Ortega E. M. I. (2004).** Tests de génotoxicités : Utilité en médecine du travail Difficultés lors de son application à la surveillance médicale des travailleurs, politique scientifique journée d'étude. ITUH-Bruxelles.

-P-

- **Pilliére F., Falcy M. (1991).** Exposition aux produits chimiques génotoxiques. Fiche medico- technique. Institut National de recherche et de sécurité, Paris, 330- 336.
- **Pham T. C. V. (2011).** Évaluation de la fréquence des micronoyaux et du potentiel clastogène et/ou aneugène du benzo-a-pyrène suite à une exposition in vitro des lymphocytes humains. Maîtrise en Sciences Biomédicales. Université de Montréal.269p.

-R-

- **Rangan C., Barceloux D. G. (2009).** Food additives and sensitivities. *Dis Mon.* 55 :292 311.
- **Rencüzoğulları E., Tüylü B. A., Topaktaş M., İla H. B., Kayraldız A., Arslan M., Diler S. B. (2004).** Genotoxicity of aspartame. *Drug and chemical toxicology*, 27(3), 257-268.
- **Rapaille A. (1993)** Sugar alcohols. In : Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition. R. Macrae R, RK Robinson RK, MJ Sadler MJ, editors. London : Academic Press Limited.p.4460-4.
- **Ria D., Sanjib R. (2024).** Allium cepa tests : Exploring bleomycin induced cytogenotoxicity and altered cell cycle kinetics in root tips meristematic cells. Elsevier, *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 828. 111851p.
- **Rojas M. R., Gilbertson R. L., Russell D. R., Maxwell D. P. (1993).** Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly transmitted Gemini viruses, *Plant Disease*, 77, 340-347.

-S-

- **Saxena P.N, Chauhan, L.K.S, Gupta, S.K, (2005).** Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum* : Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology* 216, 244-252.
- **Schernhammer E. S., Bertrand K. A., Birman B. M., Sampson L., Willette W. W., Willette D. (2012).** Consumption of artificial sweetener- and sugar-continent soda and risk of lymphome and leucémie in men and Wumen. *Am J Clinquer.* 96 :1419–1428.
- **Soliman M. I., Ghoneam G. T. (2004).** The mutagenic potentialités of somme herbicides using *Vicia faba* as à biologico system, *J. Bioéthanol.*, 3 (2), 140 – 154.
- **Sharmistha Ch., Treunet K., Sapan J., Chanvres S., Shailendra A. (2021).** Genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chanvres Interactions*, 345.
- **Sikorska J. (2023).** Le sucre et les édulcorants dans l’industrie alimentaire. <https://foodcom.pl/fr/le-sucre-et-les-edulcorants-dans-lindustrie-alimentaire/> (consulté le 17/05/2024).
- **Soffritti M., Chanvres E., Tibaldi E., Esposito D. D., Labriola M. (2007).** Life Span exposure to low doses of aspartame bégine dring prénatal life incérasses cancer effects in rats. *Environnemental Health Perspectives*, 115(9), 1293-1297
- **Soughir D. (2009).** Modification métaboliques, moléculaires et génotoxicité par le cadmium chez vicia f. Thèse de doctorat. Université de Carthage, Tunisie, 238p.

-T-

- **Tabet M. (2015).** Etude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d’épuration. Thèse doctorat. Université 8 mai 1945, Guelma. 161p.
- **Tesco S., Tesco H. IV (2012).** Bioindicateur of Genotoxicity : The *Allium cepa* Test. *Environmental Contamination*, Dr. Srivastava J (Ed.). FinTech. 137-156.
- **Tibaldi E., Gaudi F., Panachai S., Mandrill D., Vor noli A., Vor noli M., Chanvres F. (2020).** Identification of aspartame-induced hématopoïétique and lymphoïde tumeurs in rats after life time treatment. *Acta Histochemique*, 122(5), 151548.

-U-

- **Udroiu I., Sgura A. (2017).** Cytogénétique tests for animal production : state of the art and perspectives. *Animal Génétiques*, 48 (5) : 505-515.

-V-

- **Villareal L. M. A., Cruz R.A.M., Plles M.B., Vitro R. J. S. (2016).** Neurotrophique effects of aspartame, stevia and sucralose on memory rétention and on the histologie of the hippocampes of the ICR miche (miche). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomédecine*, 6(2), 114-118.

-W-

- **Wu L., Yi H., Yi M. (2010).** Assessment of arsenic toxicity using *Allium cepa* / *Vicia* root tip micronucleus assays, *Journal of Hazard us Materials*, 176, 952-956.
- **Whitehouse C R., Bouillat J., Macaulay L A. (2008).** The potential toxicity of artificial sweeteners. *AAOHN Journal* ; 56(6) :251-9.
- **Wagner V. (2012).** De *Macaulay* la Stévia : Parcours chaotique de « l’herbe sucrée » parmi les édulcorants. Thèse de doctorat, université de Lorraine. 142p.

-Z-

- **Zygler A., Wassim A., Wassim J. (2009).** Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in Food staffs. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(9), 1082-110.

