

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

Contribution à l'étude de l'activité génotoxique et mutagène de la viande transformée « Cas de corned-bœuf »

Présenté par :

- Bounar Choayb
- Guerroui Imane
- Lahiouel Yassamine

Devant le jury composé de :

Président : Khallef M.	M.C.B.	Université de Guelma
Examineur : Merabet R.	M.A.A.	Université de Guelma
Encadreur : Benouareth D.E.	Pr.	Université de Guelma
Invitée : Chamalal N.	Doctorante.	Université de Guelma

Remerciements

Nous remercions Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

On exprime notre profonde gratitude au professeur Benouareth Djamel Eddine, professeur à l'université de Guelma qui nous a fait l'honneur d'avoir veiller et diriger ce travail. Nous avons eu le privilège de bénéficier de son enseignement, de son savoir et de ses conseils pertinents.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Mme Khallef Messaouda pour son soutien, son aide et ses précieux conseils.

Nous tenons aussi à remercier vivement Mme Chamalal Naima pour son aide durant toute la période du travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements aux techniciennes des laboratoires pédagogiques de la faculté, Mme Himer Rattiba et Mme Hassiba pour leur aide tout au long de la période de la réalisation de la partie pratique de ce travail.

On tient à exprimer nos considérations distinguées à Mme Khallef et Mlle Merabet d'avoir accepté de juger et examiner ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire ...

A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour

Dont ils ne cessent de me combler.

Je vous remercie pour tout le soutien, l'encouragement que vous m'avez

donné pendant toute ma vie ainsi que pendant la période de réalisation

de ce modeste travail.

Que dieu vous procure bonne santé et longue vie.

A toute ma famille, et mes amis,

A Tous mes enseignants surtout Mr Benouareth Djamel Eddine et

Mme Khallef Messaouda.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet

soit possible, je vous dis :

Merci.

Bounar Choayb

Dédicace

*Avec tous mes sentiments de tendresse je dédie ce modeste travail aux
êtres les plus chers*

*A mes chers parents, pour leurs aides, leurs encouragements, leurs
prières et surtout leurs immenses sacrifices pour la réussite dans mes
études*

*Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos prières et
tous vos efforts*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et
mon profond amour*

Puisse dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur

A ma sœur Lara et mes frères Aymen et Adam

A la mémoire de mon grand-père Sultane

A mes tantes et mes oncles

A tous ceux qui portent le nom de Guerroui et Yahiaoui

En ce jour, j'espère réaliser l'un de vos rêves

*Aux étudiants de ma promotion BMC 2018 et plus spécialement à ma
chère amie Yassamine ainsi que Choayb*

A tous ceux que j'ai connus et aimés

Guerroui Imane

Dédicaces

Je Dédie ce modeste travail à :

Mes chers parents, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites

Mon cher mari pour sa patience et son soutien

Mes frères et sœurs, en reconnaissance de leur affection toujours

constante

Ma belle-famille pour son encouragement

Tous mes proches et amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé au

cours de la réalisation de ce mémoire

Mes camarades de promotion et surtout Guerroui Imane et Bounar

Choayb

Tous mes enseignants

Tous ceux qui m'ont aidés dans la réalisation de ce mémoire

Lahiouel Yassamine

Liste des abréviations

- ACIA : Agence canadienne d'inspection des aliments
- ADN : acide-désoxyribonucléique
- BER : (Base Excision Repair) Réparation par excision de base
- Bio : Biotine
- °C : degré Celsius
- CA : test des aberrations chromosomiques
- CV : cristal violet
- DSBR : (Double Strand Break Repair) Réparation des cassures doubles brin
- E. Coli : Escherichia Coli
- GMA : Gélose minimal agar
- GN : Gélose nutritive
- Glu P-1: 2-Amino-6-methyldipyrido(1,2-A:3',2'-D) imidazole
- Glu P-2 : 2-Aminodipyrido(1,2-A:3',2'-D) imidazole
- HAA : amines aromatiques hétérocycliques
- HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques
- His : Histidine
- IQ : 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline
- LPS : lipopolysaccharide
- MeIQ : 2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f] quinoline
- MeIQx : 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
- MGE : électrophorèse sur micro gel
- MMR : (Mis Match Repair) Réparation des mésappariements
- MN : test micronoyau
- Na Cl : Chlorure de sodium
- NaNO₂ : Nitrite de Sodium
- NaNO₃ : Nitrate de Sodium
- NDMA : N-nitrosodiméthylamine
- NER : (Nucleotide Excision Repair). Réparation par excision de nucléotide

NOC : composés N-nitroso

NPYR : N-nitrosopyrrolidine

OMS : organisation mondiale de la santé

pH : Potentiel d'hydrogène

PhIP : 2-Amino-1-méthyl-6-phénylimiazo[4,5-b] pyridine

SCGE : électrophorèse sur gel unicellulaire (Le test Comète).

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

S. typhimurium : Salmonella typhimurium

Système S.O.S : réparation mutagène ou tolérance des lésions

UV ; Ultra-violet

Liste des figures

Figure 1 : Viandes transformées	3
Figure 2 : Rôtissage de la viande	4
Figure 3 : Grillage de la viande	4
Figure 4 : Friture de la viande	5
Figure 5: Braisage de la viande	5
Figure 6: cuisson de viande aux microondes	6
Figure 7: Le hachage de viande	7
Figure 8: La salaison de la viande	7
Figure 9: fumage de la viande	9
Figure 10: La structure chimique de certains HAA.	12
Figure 11: Les structures de deux nitrosamines.....	14
Figure 12: Hydrocarbures polycycliques.	16
Figure 13: L'effet des agents chimique sur la molécule d'ADN.	17
Figure 14: Différents types de mutation génique	18
Figure 15: Insertion chromosomique	19
Figure 16: Quelques images obtenues à la fin du test de comète.....	21
Figure 17: Test des micronoyaux,	21
Figure 18: Les aberrations chromosomiques.	22
Figure 19: Principe du test d'Ames	25
Figure 20: Fréquence de certains tests de génotoxicité couramment utilisés.....	23
Figure 21: Echantillon à tester	26
Figure 22 : Résultats de l'extraction méthanolique.....	27
Figure 23 : Résultats de l'extraction méthanol-chloroforme	28
Figure 24 : Résultats de l'extrait acétate d'éthyle	28
Figure 25: Résultat de l'extraction d'hexane	29
Figure 26: La réclamation de l'histidine pour les deux souches (1 : TA1535 ; 2 : TA102)...	35
Figure 27: La résistance et la sensibilité des souches TA1535(a), TA102(b) à l'ampicilline, tétracycline et au CV.	35
Figure 28: Résultats du test Ames pour la souche TA1535.	37
Figure 29 : Résultats du test Ames pour la souche TA102 (nombre de révertants).....	38
Figure 30: Résultats de test d'Ames sur la souche salmonella TA1535 avec les 4 extraits....	39
Figure 31: Résultats de test d'Ames sur la souche salmonella TA102 avec les 4 extraits.....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition globale de la viande.....	2
Tableau 2 : La composition d'une solution de saumure	8
Tableau 3 : Les additifs et leurs fonctions	10
Tableau 4 : Niveaux de HCA dans les aliments transformés.....	13
Tableau 5 : Apport quotidien de nitrosodiméthylamine (NDMA) dans différents pays	15
Tableau 6 : Caractéristiques des souches utilisées dans le test d'Ames	24
Tableau 7 : Caractères génétiques des souches TA102 et TA1535	30
Tableau 8 : Les dilutions des extraits et des solutions mères	32
Tableau 9 : Le rendement de chaque extrait	34
Tableau 10 : Résultats du test d'Ames sans activation métabolique	36

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : La viande transformée

1.Généralités sur La viande	2
1.1.Composition de la viande	2
1.2.Valeur nutritionnelle de viande	2
2.La viande transformée	2
2.1.Historique de la viande transformée	2
2.2.Définition	3
2.3.Transformation de la viande	3
2.3.1.Les modes de cuisson	3
2.3.2.Les modifications physicochimiques des viandes lors de la cuisson	6
2.3.3.Interactions des protéines de viande	6
2.4.Les modes de transformations de la viande	6
2.4.1.Découpage, désossage et hachage	6
2.4.2.La salaison de viande	7
2.4.2.1.La salaison à sec	7
2.4.2.2.La mise en saumure	7
2.4.3.Maturation et attendrissage	8
2.4.4.Déshydratation	8
2.4.5.Le fumage	8
2.4.6.La pasteurisation	9
2.4.7.La stérilisation	9
2.4.8.La congélation	9
2.4.9.L'emballage	9
3.Le corned-bœuf	10
3.1. Quelques aditifs	11

Chapitre II : Viande transformée et cancer

Introduction	Erreur ! Signet non défini.
1.Amines hétérocycliques (HAAs)	12
1.1.HAA et cancer :	13
2.Composés N-nitrosés (NOC)	14
2.1.NOCs et cancer	14

3.Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	15
3.1.HAP et cancer.....	16

Chapitre III : mutagenèse et tests de génotoxicité

1 La génotoxicité	17
2. Mutagenèse de la molécule d'ADN	18
2.1. Les mutations germinales.....	18
2.2. Mutations géniques	18
2.3. Les Mutations chromosomiques.....	19
3. Les tests de génotoxicité	20
3.1. Test de comète.....	20
3.2. Test du micronoyau	21
3.3. Test d'aberration chromosomique	21
3.4. Test d'Ames.....	22

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1.Echantillonnage	26
2.L'extraction	26
3.Le test d'Ames	29
3.1.Principe.....	29
3.2.Les souches bactériennes du test.....	29
3.3.Les caractères génétiques des souches (TA102 et TA1535).....	30
4.La réalisation du test	31
4.1.Activation des souches de <i>S. typhimurium</i>	31
4.2.Vérification des caractères génétiques	31
4.2.1.Culture de deux heures	31
4.2.2.Réclamation de l'histidine.....	31
4.2.3.La sensibilité aux UV	31
4.2.4.La résistance à l'ampicilline, tétracycline et la sensibilité au cristal violet :	31
5.Procédure du test	32

Résultats et discussion

Résultats de l'extraction	34
Résultats du test d'Ames.....	34
1.Confirmation des caractères génétiques	34
1.1.Réclamation de l'histidine.....	34
1.2.La résistance à l'ampicilline et la tétracycline	35

1.3.La sensibilité au cristal violet.....	35
2.Résultat du test d'Ames	35
Conclusion et perspectives.....	39
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

La viande constitue une denrée de première nécessité dans le monde, suivant qu'elle est une source importante de nutriments et par suite de son tonus émotif, elle est l'aliment par excellence. Cet aliment constitue une importante source de protéines précieuses mais également de vitamines, en particulier de vitamine B12, ainsi que des minéraux (fer, zinc et sélénium) (**Harkati A.,2007**).

Les produits carnés transformés (ou viande transformée) font référence à la viande qui a été transformée par salaison, maturation, fermentation, fumaison ou d'autres processus mis en œuvre pour rehausser sa saveur ou améliorer sa conservation. La plupart des viandes transformées concernent les viandes rouges, la volaille, les abats ou les sous-produits carnés comme le sang (**OMS 2016**).

L'humanité a utilisé divers additifs pour préserver la viande. L'additif le plus commun est le sel, qui, à un niveau suffisamment élevé, peut réduire l'activité de l'eau de sorte que les micro-organismes ne peuvent pas croître. D'autres conservateurs chimiques, tels que la fumée, a été utilisé pendant des siècles en conjonction avec le séchage pour produire des produits stables à la conservation (**Barbut 2015**).

La viande fait partie intégrante de l'alimentation humaine dans de nombreuses cultures et, ces dernières années, la consommation de viande transformée a considérablement augmenté dans la plupart des régions du monde (**Rohrmann S., et Linseisen J.,2016**).

Des données récentes de la littérature scientifique indiquent qu'une consommation croissante de viande rouge, en particulier sous forme transformée, peut avoir des conséquences négatives sur la santé, tel que l'apparition de plusieurs types de cancers, généralement le cancer colorectal (**Battaglia et al., 2015**).

Cette étude vise à utiliser le test d'Ames comme outil pour évaluer la mutagénicité de viande transformée (le corned bœuf).

Notre étude se compose de deux parties distinctes, une partie bibliographique et une partie expérimentale :

1. La partie bibliographique comporte trois chapitres. Le premier traite les modes de transformation de viande, le second traite les effets nocifs de la viande transformée ainsi que la relation entre la consommation de viande transformée et le cancer. Quant au troisième, il récapitule la mutagénèse, les différents tests de génotoxicité ainsi que le test réalisé dans cette étude ; le test d'Ames.
2. La partie expérimentale commence par la présentation du matériel utilisé, les méthodes suivies ensuite les résultats obtenus avec les interprétations et les discussions.

Partie bibliographique

Chapitre I : La viande transformée

1 Généralités sur La viande

1.1 Composition de la viande

Afin d'apporter à notre corps l'énergie nécessaire à la vie, nous devons ingérer chaque jour, et en quantité équilibrée, des macronutriments, c'est à dire protides, glucides et lipides, et des micronutriments, à savoir vitamines et minéraux (**Tab.1**).

S'il est important d'ingérer des aliments de bonne valeur nutritive, c'est à dire contenant tous les nutriments nécessaires, il faut encore que ces nutriments soient biodisponibles, donc digestibles sous une forme absorbable, et une fois absorbés, stockés ou utilisés par l'organisme (**Valérie et al.,2002**).

Tableau 1 : Composition globale de la viande (Valérie et al., 2002)

Les composants	Le pourcentage
Eau	75%
Protéines	18.5%
Lipides	10-20%
Sels minéraux	1%
Glycogène	1%
Substance azotée non protéique	1%

1.2 Valeur nutritionnelle de viande

Par son apport nutritif, la viande a sa place dans le cadre d'une alimentation équilibrée. C'est la source la plus riche de certains nutriments précieux comme les protéines de haute qualité, les acides aminés essentiels, les acides gras polyinsaturés, les vitamines et les minéraux, le fer, le zinc et le sélénium (**Assim M. et al., 2015**).

2 La viande transformée

2.1 Historique de la viande transformée

L'origine de la transformation de la viande est perdue dans l'antiquité, mais a probablement commencé lorsque l'homme primitif a appris que le sel est un agent de conservation efficace et que la cuisson prolonge la qualité de conservation de la viande fraîche. En tout cas, le traitement de la viande avait son origine avant l'aube de la civilisation. Les anciens Egyptiens ont enregistré la conservation des produits carnés par salage et séchage au soleil. Les premiers Romains sont crédités d'être les premiers à utiliser la glace et la neige comme un moyen de préserver la nourriture, depuis les progrès technologiques ont continué à changer les méthodes de transformation. (**Pearson et Tauber, 1984**).

2.2 Définition

La transformation de la viande englobe tous les procédés utilisés pour modifier la viande fraîche pour prolonger sa conservation et améliorer sa saveur, tels que le durcissement, le fumage, le broyage, le découpage et la cuisson, la conservation, la congélation, la déshydratation, la production de produits à humidité intermédiaire et l'utilisation de certains additifs comme les produits chimiques et les enzymes (**Pearson et Tauber, 1984**).

Généralement les viandes transformées (**Fig.1**) contiennent du porc ou du bœuf, mais peuvent aussi contenir d'autres viandes rouges, la volaille, les abats ou les sous-produits carnés tels que le sang, les hot-dogs (saucisses de Francfort), le jambon, les saucisses, le corned-beef et biltong ou bœuf séché ainsi que la viande en conserve et les préparations et sauces à base de viande (**CIRC 2015**).



Figure 1 : Viandes transformées [1]

2.3 Transformation de la viande

2.3.1 Les modes de cuisson

De nos jours, de plus en plus de produits alimentaires sont traités thermiquement. Les gens préfèrent maintenant des méthodes de cuisson plus faciles et plus rapides à l'heure actuelle, ce qui signifie que l'on utilise plus de méthodes de cuisson qu'auparavant. Il ne fait aucun doute que les façons de cuisiner ont un lien étroit avec la santé humaine, en particulier la relation entre la méthode de cuisson et la formation de mutagènes (**Skog et al., 2003**).

Le traitement thermique produit des changements conformationnels dans la structure des protéines ainsi que la saveur, la texture et l'apparence, et les propriétés chimiques des ingrédients sont également modifiées. Des amines aromatiques hétérocycliques (AHA), mutagènes / carcinogènes puissants, se forment lors de la cuisson de la viande à haute température (**Assim M., et al., 2015**).

Il existe de nombreuses méthodes de cuisson qui utilisent différents degrés de chaleur et initier plusieurs changements dans la fibre musculaire (Valérie et al.,2002).

a. Rôtir

Il s'agit d'une méthode dans laquelle la chaleur est transmise à la viande par convection (Fig. 2), dans un four à porte fermée, où la chaleur est homogène.

Il a été montré que quand le four est préchauffé à de fortes températures, (232°C par exemple) il y a plus de pertes pendant la cuisson, d'éclaboussures ; la cuisson est moins uniforme et le rendement moins bon.



Figure 2 : Rôtissage de la viande [2]

b. Griller

C'est une méthode de cuisson en chaleur sèche, qui utilise la chaleur radiante (Fig.3) ; Les pertes durant la cuisson seraient moins importantes que pour une pièce rôtie, et cela en raison d'un temps de cuisson plus court.

La viande est placée à environ 10 cm de la source de chaleur (plus ou moins selon sa taille, et la température de la source) qui doit approcher les 200°C.



Figure 3 : Grillage de la viande [3]

c. Frire

Les pièces de viande sont placées soit dans une poêle avec juste un peu de matières grasses, soit plongées dans un bain d'huile (**Fig.4**).

Les températures de cuisson atteignent les 180°C, les excès de matières grasses devraient être épongés avant consommation.



Figure 4 : Friture de la viande [4]

d. Braiser

Il s'agit d'une méthode de cuisson durant laquelle, la viande, souvent préalablement saisie, est cuite lentement en atmosphère humide, due à l'adjonction d'eau (ou de bouillon, de sauce tomate, etc.) dans un système fermé, comme une poêle couverte ou une cocotte (**Fig.5**). La température doit atteindre les 165°C ; c'est la méthode de cuisson qui fait le plus « suer » la viande, c'est aussi le mode de cuisson qui génère le moins de pertes de graisses.



Figure 5: Braisage de la viande [5]

e. Cuisson au micro-ondes

La viande est chauffée par l'agitation moléculaire produite par les microondes (**Fig.6**). Les ondes émises par le four qui pénètrent dans les aliments et agitent les molécules d'eau qui s'y trouvent, ce qui produit de la chaleur et permet de cuire ou de réchauffer les aliments.

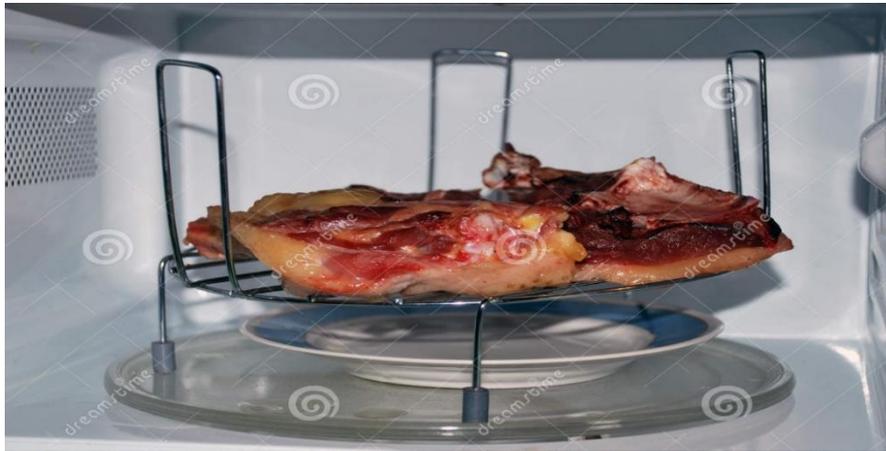


Figure 6: cuisson de viande aux microondes [6]

2.3.2 Les modifications physicochimiques des viandes lors de la cuisson

La cuisson met en jeu un ensemble complexe de réactions physico-chimiques qui touchent de nombreux constituants de la viande. L'élévation de la température à cœur peut générer des changements d'état physique des constituants (dénaturation des protéines, fusion des lipides, précipitation des minéraux) mais aussi des modifications de leur structure chimique (oxydation des lipides et des protéines, clivage de la myoglobine, dégradation thermique de la myoglobine et de certaines vitamines). (**Gandeme et Duchène, 2015**).

2.3.3 Interactions des protéines de viande

La dénaturation des protéines se produit pendant le traitement thermique, le déploiement des protéines commence à 30-32°C, l'association protéine-protéine se produit à 36-40°C, la gélification se produit à 45-50°C, et enfin le collagène est dénaturé à 53-63°C. La formation d'un gel protéique à la suite du déploiement des chaînes protéiques (**Thornberg, 2005**).

2.4 Les modes de transformations de la viande

2.4.1 Découpage, désossage et hachage

Les opérations de découpe, de désossage, de tranchage et de viande fraîche sont effectuées, selon les pratiques industrielles en vigueur, soit à la main par des employés désignés, soit par de l'équipement automatisé. Les opérations de hachage comprennent la séparation mécanique, le déchiquetage et le moulinage (**Fig.7**). Les dangers potentiels associés à ces processus automatisés comprennent la prolifération d'agents pathogènes provenant de matières transformées antérieurement ou résultant d'écarts de température durant la production (**ACIA 2014**).



Figure 7: Le hachage de viande [7]

2.4.2 La salaison de viande

La salaison (**Fig.8**) est un procédé de conservation consistant en l'incorporation de sel et divers additifs tels que les nitrates, les nitrites, les polyphosphates, les acides ascorbique et les sucres. Elle est souvent associée à d'autres traitements, comme la cuisson, le séchage ou le fumage par exemple (**Valérie et al., 2002**).



Figure 8: La salaison de la viande [8]

2.4.2.1 La salaison à sec

La viande est frottée avec du sel puis entreposée plusieurs jours en chambre froide, le temps que le sel pénètre au cœur de la viande. Cette méthode est utilisée pour les jambons crus, les lards paysans, etc. soit tous les produits destinés à être séchés [9].

2.4.2.2 La mise en saumure

Cette méthode consiste à tremper la viande dans une saumure(**tab.2**) jusqu'à son salage parfait [10].

Tableau 2 : La composition d'une solution de saumure (Barbut 2015. Chap. 10)

Composants	Pourcentages
Eau froide	75%
Sel (NaCl)	18%
Sucre/ Amidon	3%
Phosphate	4%
Ascorbate de sodium	0.5%
Nitrite de Sodium	0.16%

2.4.3 Maturation et attendrissage

La maturation du bœuf est employée depuis longtemps comme moyen d'augmenter la tendreté et la saveur de la viande et implique la conservation d'une carcasse à l'état réfrigéré jusqu'à 14 jours. Lorsque l'on procède à la maturation des carcasses de cette manière, il faut porter une attention particulière à la température et au niveau d'humidité pour empêcher le développement de la moisissure.

Ces méthodes aident à attendrir la viande et sont employés pour le contrôle de la qualité et le fini du produit plutôt qu'en fonction de la salubrité alimentaire. En ce qui concerne la maturation traditionnelle, par contre, les écarts de température et de niveau d'humidité peuvent provoquer la croissance de moisissure et de bactéries putréfiantes, qui peuvent être des indicateurs d'une prolifération potentielle de bactéries pathogènes (ACIA 2014).

2.4.4 Déshydratation

La déshydratation est obtenue par le séchage à l'air, par l'application de chaleur ou par la Cryo déshydratation (lyophilisation). Cette méthode de conservation est basée sur la réduction de l'activité de l'eau du produit qui permet d'inhiber la croissance des microorganismes. Il est aussi possible de réduire l'activité de l'eau en ajoutant du sucre ou du sel. Il faut par contre se rappeler qu'on ne peut détruire les microorganismes ni les toxines en réduisant l'activité de l'eau ; on ne peut que retarder la croissance des microorganismes (ACIA 2014). Il y aura certaines pertes de vitamines telles que la vitamine C et l'acide folique, qui sont sensibles à la chaleur.

2.4.5 Le fumage

La fumée (Fig.9) a été utilisée pendant des siècles pour sécher et fumer la viande afin de la préserver, car le bois qui brûle libère divers composés antimicrobiens. En général, il existe quatre groupes de composés qui ont un effet bactériostatique et / ou bactéricide : les phénols, les cétones, les aldéhydes et les acides organiques. De nos jours, la plupart de viande fumée n'est que légèrement fumée afin d'améliorer la couleur extérieure, de donner des notes de saveur particulières et de fournir une certaine inhibition antimicrobienne (Barbut, 2015).



Figure 9: fumage de la viande [11]

2.4.6 La pasteurisation

La pasteurisation à une température modérée d'environ 60-90 ° C est conçue pour inactiver une partie de l'altération et la plupart des micro-organismes d'empoisonnement alimentaire qui ne produisent pas de spores. La pasteurisation prolonge la durée de conservation du produit mais le produit doit être réfrigéré ou conservé par d'autres moyens, exemple : réduire l'activité de l'eau (**Barbut, 2015**).

2.4.7 La stérilisation

La stérilisation à des températures > 100 ° C atteint une stérilité "commerciale", les aliments conservés à 121 ° C peuvent être stockés à température ambiante pendant de longues périodes. Ce processus aboutit à l'inactivation de tous les microorganismes d'altération et d'empoisonnement alimentaire (**Barbut, 2015**).

2.4.8 La congélation

La congélation est une méthode de conservation de viande, actuellement, la viande destinée à la transformation industrielle est généralement congelée sous forme de carcasses, Il n'est pas rare que la viande soit congelée deux fois avant d'atteindre le consommateur. Pendant le traitement industriel, la matière première congelée est souvent décongelée ou trempée avant d'être transformés en produits à base de viande (**Maurice et al., 2010**). Lorsque la viande est soumise à une température inférieure à 0 °C, des cristaux de glace vont se former et grossir lentement, détruisant les parois cellulaires. Lors de la décongélation, la viande perdra de l'eau, ce qui diminuera son arôme et sa tendreté.

2.4.9 L'emballage

L'emballage des aliments à base de muscle est nécessaire pour garantir que ces produits atteignent le consommateur dans une condition qui satisfait ses exigences à plusieurs niveaux, à savoir : la nutrition, la qualité, la sécurité et la commodité, ainsi que la capacité de fournir une durée de conservation du produit qui supportera les contraintes de manutention, de transport, de stockage, de vente et de contact avec le consommateur (**Christian et al., 2010**).

3 Le corned-bœuf

Le corned bœuf, c'est une viande transformée industriellement, c'est littéralement « du bœuf salé ». Corned signifie assaisonner de grains de sel (corn = grains). Le corned-beef consiste en de la viande de bœuf fumée et cuite lentement pour lui donner sa couleur rose particulière et sa texture dense, tendre et molle. Le sel servait à préparer la saumure, dont les nitrates conservaient la texture et la saveur de la viande.

3.1 Quelques additifs

Le tableau (Tab.3) présente le rôle des quelques additifs non-carnés utilisés par l'industrie de la viande (Barbut 2015, chap.11) :

Tableau 3 : Les additifs et leurs fonctions

Conservateurs	Rôles
Le sel	Chlorure de sodium (Na Cl) La préservation est obtenue en abaissant l'activité de l'eau et donc en réduisant l'eau disponible pour la croissance microbienne
	Nitrite de Sodium (NaNO₂) et Nitrate de Sodium (NaNO₃) : ajoutés à des niveaux très bas. Ils ont quatre fonctions principales : <ul style="list-style-type: none"> • Prévenir la germination des spores de Clostridium botulinum ; • Contribuer au développement de la couleur typique de la viande transformée rose ; • Protège contre l'oxydation des lipides. Le nitrite a des capacités antioxydantes qui peuvent aider à prolonger la durée de conservation des produits carnés, • Ajoute un peu de saveur. L'ajout de nitrite entraîne le développement de certaines notes de saveur uniques.
	Phosphate : Les phosphates peuvent altérer le pH, causer un déséquilibre du sel à l'extérieur des cellules bactériennes et décontaminer la viande.
Ascorbate de sodium et érythroblaste de sodium	Ils sont ajoutés pour augmenter la vitesse à laquelle le nitrite est réduit en oxyde nitrique dans une solution aqueuse
Exhausteurs de saveur	Sont des composés qui agissent en synergie avec des composés aromatisés à la viande pour améliorer la saveur charnue

Chapitre II :

Viande transformée

et cancer

Selon les données de la littérature scientifique, 22 experts de 10 pays ont classé la consommation de viande rouge comme « probablement cancérigène pour l'homme » (groupe 2A), alors que la viande transformée a été classée « cancérigène pour l'homme » (groupe 1). Bien que les mécanismes responsables de la cancérigénicité de la viande rouge et transformée ne soient pas encore clairement établis c'est la présence de composés N-nitroso (NOC), d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et d'amines aromatiques hétérocycliques (HAA), produits chimiques cancérigènes bien connus sont souvent soupçonnés dans la transformation de la viande comme la cuisson et le fumage (NOC, HAP); lorsque la viande est chauffée à haute température (HAA) sont souvent soupçonnés (**José L et Martí N., 2015**).

1 Amines hétérocycliques (HAAs) :

Lorsque la viande est cuite à des températures élevées (supérieures à 200 ° C), certains composés cancérigènes appelés amines aromatiques hétérocycliques (HAA)(**fig.10**) sont produits. Les HAA sont également produites à des températures basses si la cuisson de la viande prend un temps plus long (**Sugimura et al., 2004**).

Dans le bœuf maigre, le poulet et le poisson, les HAA sont produits à des concentrations plus élevées tandis que les saucisses et le porc ont des quantités plus faibles d'HAA après la cuisson en raison du pourcentage élevé de graisse et d'eau (**Rahman et al., 2014**). Plus de 25 HCAs ont été isolés de différents aliments musculaires cuits « imidazoquinoxalines (e.g. MeIQx) et imidazopyridines (e.g. PhIP) » et le imidazo-quinolines (e.g. IQ).(Jägerstad and Skog, 2005).

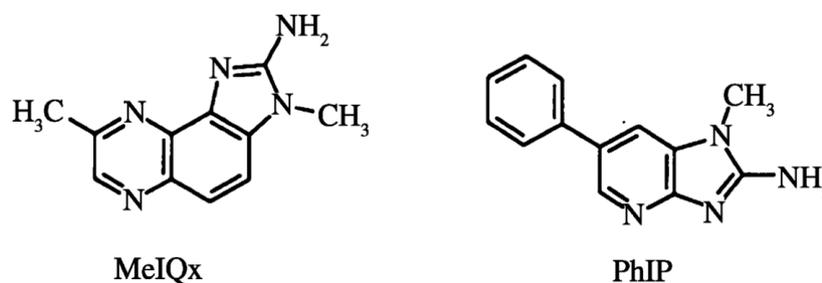


Figure 10: La structure chimique de certains HAA.

Les imidazo-quinoléines, les imidazoquinoxalines et les imidazopyridines peuvent être formés à partir de créatine ou de créatinine, de certains acides aminés libres et de sucres via la réaction de Maillard. Un rendement extrêmement élevé en HAA a été signalé dans les résidus de bacs (jusqu'à 82,4 ng / g provenant du bœuf minute) de la friture, de la torréfaction ou de la cuisson, alors que la plupart des cubes de bouillon commerciaux contiennent des quantités modestes. Certaines quantités typiques de HAA formées dans les aliments cuits sont présentées dans le tableau 4 (Rohrmann *et al.*, 2007)

Tableau 4 : Niveaux de HCA dans les aliments transformés

Aliments	MeIQx (ng/g)	PhIP (ng/g)
Burger de boeuf, frit	0-7	0-32
Boulettes de viande, frites	0-0.8	0-0.6
Poulet frit	0-3	0-70
Saumon, frit	0-5	0-23
Burger de boeuf, résidu de casserole	0-6	0-13
Extrait de viande	0-80	0-4
Saveur de boeuf	0-20	0-4
Cube de bouillon de boeuf	0-0.6	0-0.3

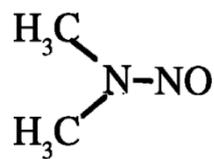
1.1 HAA et cancer :

Les HAAs se sont avérés être des cancérigènes puissants, qui induisent une variété de types histologiques de tumeurs dans plusieurs organes après une administration orale à long terme. Il est à noter que certains HAA induisent des tumeurs du côlon (PhIP, IQ, MeIQ, Glu-P-1, Glu-P-2), de la glande mammaire (PhIP, MeIQ, Trp-P-2) et de la prostate (PhIP), qui sont des cancers courants dans les pays occidentaux et qui ont été associés au mode de vie occidental, c'est-à-dire à une consommation élevée de graisse et de viande (Zsivkovits *et al.*, 2003).

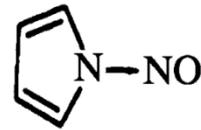
2 Composés N-nitrosés (NOC) :

Les êtres humains sont exposés à des composés N-nitrosés (NOCs) provenant d'une variété de viandes salées et de produits à base de poisson. De plus, les NOC peuvent être formés *in vivo* lors de l'ingestion simultanée d'oxydes de nitrite ou d'azote et d'un substrat nitrosable tel qu'une amine secondaire (Wogan and Tannenbaum, 1975) (**Fig. 11**).

Nitrosamines, NOCs



NDMA



NPYR

Figure 11: Les structures de deux nitrosamines.

Les composés N-nitroso non volatils n'ont pas été rapportés comme étant mutagènes ou cancérigènes, mais ils pourraient agir comme précurseurs de nitrosamines cancérigènes volatiles. Un autre groupe de composés N-nitroso, les nitrosamides, contient des substances telles que les N-nitrosurées, les N-nitrosocarbamates et les N nitrosoguanidines. (**Walker, 1990**)

2.1 NOCs et cancer

Il existe des preuves accablantes que certains composés Nitroso sont cancérigènes chez la plupart des animaux. Les modèles animaux expérimentaux soutiennent fortement les propriétés cancérigènes des nitrosamines alimentaires. Les organes cibles chez l'homme sont le poumon, le foie, le rein, la glande mammaire, l'estomac, le pancréas, la vessie ou l'œsophage (**Jägerstad and Skog, 2005**) (**Tab.5**).

Tableau 5: Apport quotidien de nitrosodiméthylamine (NDMA) dans différents pays (S.D. Gangolli et al., 1994)

Pays	Apport de NDMA (μg / jour)	Source majeure de NDMA
UK	0.53	Viandes séchées (81%)
UK	0.6	Bière, Viandes séchées
Les Pays-Bas	0.38	Bière (71%)
Les Pays-Bas	0.10	Non évalué
Allemagne de l'Ouest (1979/1980)	1.10(male)	Bière (65%)
Allemagne de l'Ouest (1979/1980)	0.57 (femelle)	Viandes séchées (10%)
Allemagne de l'Ouest (1981)	0.53 (male)	Bière (40%)
Allemagne de l'Ouest (1981)	0.35 (femelle)	Viandes séchées (18%)
Allemagne de l'Ouest (1989/1990)	0.28 (male)	Bière (31%)
Allemagne de l'Ouest (1989/1990)	0.17 (femelle)	Viandes séchées (36%)
Japon	1.8	Poisson séché (91%)

3 Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Le fait de griller de la viande, du poisson ou d'autres aliments avec une chaleur intense sur une flamme directe entraîne l'écoulement de la graisse sur le feu et la production de flammes contenant un certain nombre d'hydrocarbures polycycliques (HAP). Ces produits chimiques adhèrent à la surface de la nourriture. Plus la chaleur est intense, plus les HAP sont présents.

Les HAP sont produits à partir de composés organiques par condensation de plus petites unités à des températures élevées formant des composés aromatiques polynucléaires stables. Le mécanisme de formation des HAP n'est pas entièrement compris, mais deux voies principales sont considérées comme impliquées, la pyrolyse et la pyrosynthèse. (Fig.12)

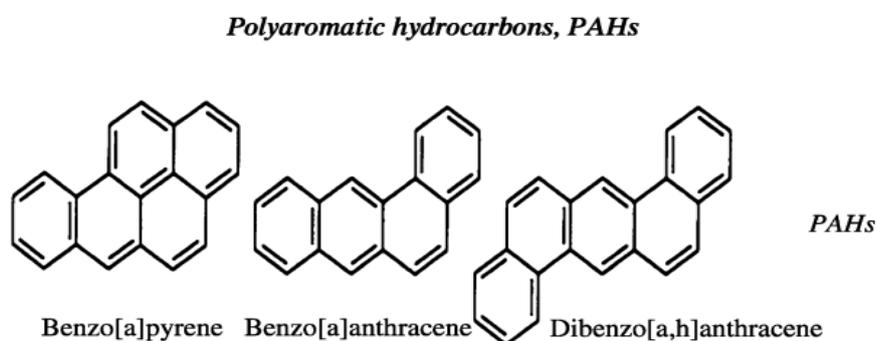


Figure 12: Hydrocarbures polycycliques.

3.1 HAP et cancer

L'administration orale d'HAP dans une base huileuse induit un carcinome épidermoïde de l'estomac chez la souris et, dans une moindre mesure, chez le rat. Aussi le cancer du poumon peut être induit. Onze composés de HAPs ont été classés comme cancérigènes pour les animaux de laboratoire. Toutefois, le Comité sur l'alimentation, la nutrition et le cancer, nommé par le Conseil national de recherche des États-Unis, a déclaré dans son rapport que les HAP présents dans le régime américain moyen ne sont que trois : B [a] P, benz [a] anthracène, et dibenz [a, h] anthracène, trouvés cancérigènes chez les animaux après administration orale.

Ces trois HAPs alimentaires sont probablement considérés comme cancérigènes (groupe 2A) pour l'homme sur la base des données obtenues à partir d'expériences sur des animaux et de systèmes de test in vitro. En outre, des données expérimentales indiquent que d'autres composés de ce type pourraient éventuellement être (Groupe 2B) cancérigènes pour l'homme. Les données indiquent que les organes cibles pour les composés HAP sont les poumons, l'oropharynx, le sein et les voies génito-urinaires et gastro-intestinales.

Chapitre III : mutagénèse et tests de génotoxicité

1 La génotoxicité

Définition

L'information génétique, codée chimiquement dans l'ADN, est maintenue, reproduite et transmise aux générations successives avec une grande fidélité. Des dommages à l'ADN peuvent se produire à travers le processus biologique normal ou à la suite de l'interaction de l'ADN, que ce soit directement ou indirectement, avec des produits chimiques, agents physiques ou biologiques (Young, 2002).

La toxicologie génétique ou génotoxicité est l'étude de la toxicité de substances sur l'acide désoxyribonucléique (ADN), causant directement des lésions ou mutations (Fig.13).

La génotoxicité comme science vise à :

- L'identification des agents génotoxiques.
- La détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les phases de bio activation (Fig.13).
- Interaction avec l'ADN, la réparation des lésions primaires, et l'évaluation des conséquences initiales.
- La génotoxicité a aussi développé un certain nombre de tests de génotoxicité permettant de détecter les lésions primaires de l'ADN (tests des comètes, détection des adduits...), les mutations géniques (test d'Ames), chromosomiques et génomiques (test des micronoyaux).
- La surveillance biologique des expositions professionnelles à des environnements potentiellement cancérogènes.

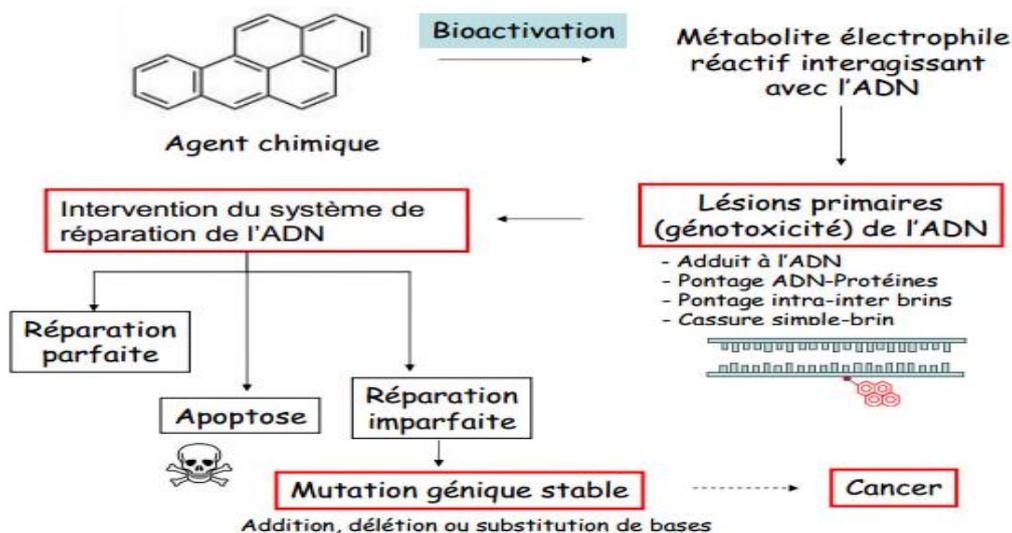


Figure 13: L'effet des agents chimique sur la molécule d'ADN.

2. Mutagenèse de la molécule d'ADN

L'ADN d'une cellule humaine moyenne subit plusieurs dizaines de milliers de lésions, dans des conditions habituelles d'activité métabolique et d'exposition aux facteurs environnementaux, physiques ou chimiques.

Ces lésions sont globalement néfastes causant entre autres le cancer et le vieillissement mais la mutagenèse est également un moteur de l'évolution et source de la diversité entre individus.

On distingue différents types de mutations :

2.1. Les mutations germinales

Ce sont des changements héréditaires car elles atteignent les cellules reproductrices.

Elles peuvent être perpétuées tant par la multiplication végétative que sexuée et correspondent à l'apparition d'individus nouveaux ou mutants.

2.2. Mutations géniques

La mutation génique correspond à une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN de manière à soit arrêter complètement la synthèse d'une protéine, ou la modifier produisant ainsi une protéine inactive. La mutation génique la plus fréquente est la substitution, qui consiste à remplacer un nucléotide par un autre (**Khan, 2010**). L'addition d'une base unique (Insertion) ou la perte d'une base (délétion) unique font aussi partie de ce type de mutations illustrées dans la figure 14 (**Ehrenberg, 1960**)

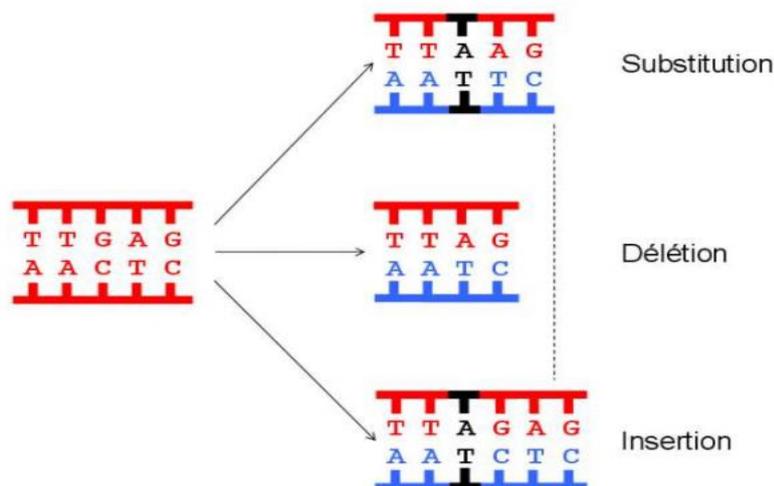


Figure 14: Différents types de mutation génique (**Hanna, 2015**)

2.3. Les Mutations chromosomiques

Correspondent à la perte (délétion) ou à l'addition (insertion) (**Fig.15**) de fragments chromosomiques, à l'échange des fragments entre chromosomes non homologues et à la duplication ou à l'inversion d'un segment chromosomique.

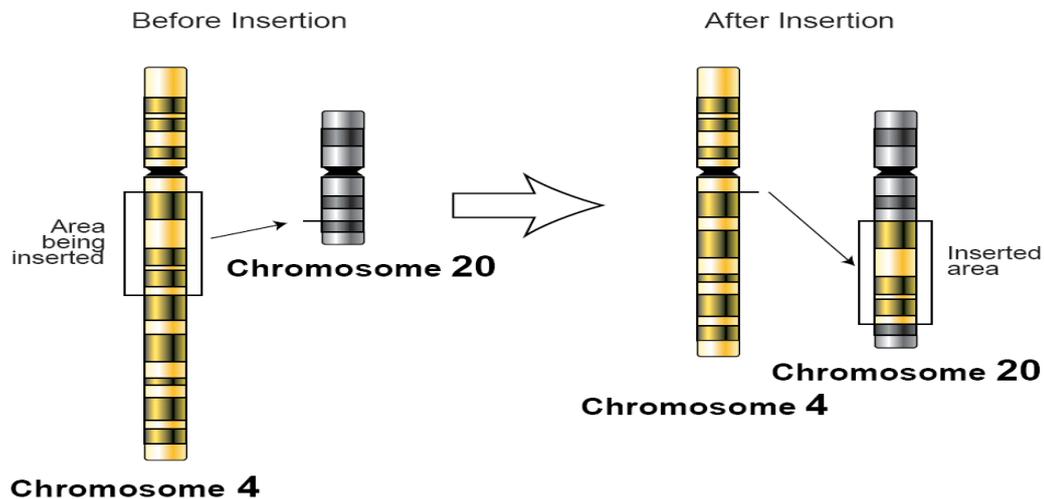


Figure 15: Insertion chromosomique (**Iengar, 2012**).

Plusieurs types de mutagènes sont la cause de ces mutations, ils sont classés en trois types :

❖ Agents physiques

Les radiations ionisantes : rayons X, alpha, bêta, gamma, produits par des substances radioactives, protons, neutrons qui induisent des mutations variables. Ces mutations peuvent être de simples mutations géniques généralement récessives mais peuvent également être des mutations de structure chromosomique généralement létales.

❖ Agents chimiques

Ce sont des mutagènes électrophiles qui établissent une liaison covalente avec un site nucléophile d'une base d'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles de bases constitutives d'ADN qui constituent les cibles privilégiées des agents chimiques génotoxiques (**Goff et al., 2006**).

On distingue : Les analogues de base, Les agents intercalaires, et les modificateurs de bases

❖ Mutagènes biologiques

Comme : les Rétroviridae qui incluent le Virus de l'immunodéficience (SIDA), les Paramyxoviridae (virus de la rougeole) et les Filoviridae (Virus d'Ebola). Leur mutagénicité peut aboutir au développement du cancer.

Il existe un ensemble très efficace de processus biochimiques identifiés, signale et corrige les dommages de l'ADN et contribue ainsi à maintenir l'intégrité du génome cellulaire. Ce processus est le système de réparation.

Plusieurs mécanismes rectifient les erreurs survenues sur l'ADN parmi ces mécanismes :

- **Réparation pendant la réplication** : fait intervenir certaines polymérases.
- **Réparation directe des bases** : ce type de réparation met en jeu des enzymes spécifiques (la photo réactivation et l'action de l'alkyl transférase).
- **Réparation par excision de nucléotide** : NER (Nucleotide Excision Repair).
- **Réparation par excision de base** : BER (Base Excision Repair).
- **Réparation des mésappariements** : MMR (Mis Match Repair).
- **Réparation des cassures doubles brin** : DSBR (Double Strand Break Repair).
- **Le système S.O.S** : (réparation mutagène ou tolérance des lésions), c'est un système mis en jeu quand tous les systèmes de réparation sont dépassés.

3. Les tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité des produits utilisés dans notre vie courante ont pour objectif, d'identifier les dommages de l'ADN, du gène et du chromosome pour la détermination des cancérogènes et mutagènes humains possibles. Ils sont appliqués depuis environ un demi-siècle dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques. Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, par l'exposition à des agents génotoxiques.

Les tests de génotoxicité sont nombreux avec des spécificités variées.

3.1. Test de comète

Le test Comète, également appelé électrophorèse sur gel unicellulaire (SCGE) ou électrophorèse sur microgel (MGE), a été décrite par Ostling et Johanson. Ce test est l'un des techniques les plus utilisées dans les tests de génotoxicité pour détecter les Dommages à l'ADN (**Fig.16**). Dans ce test, les cellules sont couvertes d'agarose sur une lame de verre et lysées en haute teneur en sel et en détergent pour éliminer les composants cellulaires solubles (les membranes et les histones). L'ADN est laissé comme nucléoïdes. Il est bien connu que l'analyse de la comète peut être appliquée à presque toutes les espèces. En outre, il peut être effectué avec n'importe quelle cellule eucaryote *in vitro*, *in vivo* (**Hasan et al.,2017**).

Ce test peut détecter les cassures simples et double brin, les sites labiles alcalins et les sites incomplets de réparation. Suite à une migration électrophorétique (**Fig.16**), les noyaux dont l'ADN a subi des cassures prennent une forme de comète alors que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé restent ronds.

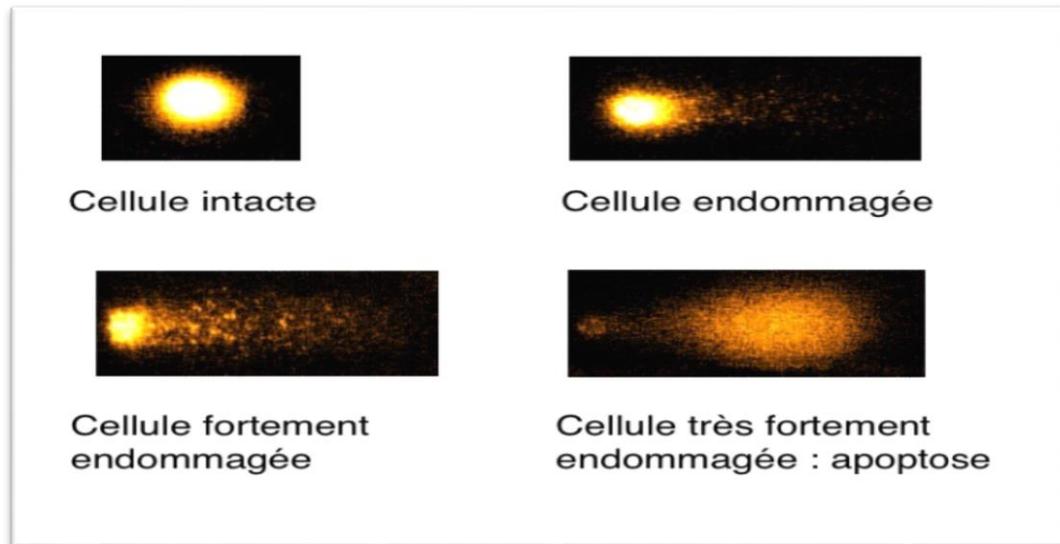


Figure 16: Quelques images obtenues à la fin du test de comète.

3.1. Test du micronoyau

Les micronoyaux sont constitués de chromosomes entiers perdus au cours de la mitose (phénomène aneugène) ou de fragments chromosomiques acentriques exclus du noyau de la cellule fille pendant la division cellulaire (phénomène clastogène) (**Fig.17**). Le test évalue l'exposition à des agents clastogènes et/ou aneugènes. C'est à la fois un test de mutations chromosomiques et de mutations géniques.

Ces chromosomes disloqués fragments ou chromosomes sont finalement couverts d'une membrane nucléaire et sont morphologiquement similaires au noyau après coloration nucléaire standard, sauf pour les petites tailles. La notation des résultats d'analyse MN est une technique beaucoup plus facile et rapide que la notation des résultats des tests d'aberration chromosomique. Les dosages MN *in vitro* et *in vivo* sont rapides, très fiables et il est possible d'identifier une large gamme de dommages à l'ADN au niveau chromosomique, en particulier pour l'évaluation du risque de dommages génotoxiques (**Hasan et al.,2017**).

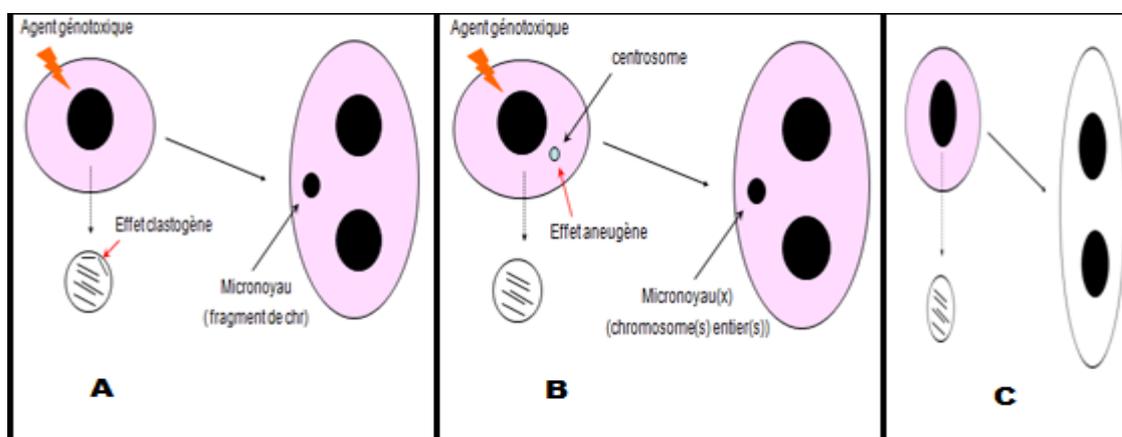


Figure 17: Test des micronoyaux, **A** : le test en cas d'atteinte génotoxique (effet clastogène) ; **B** : le test en cas d'atteinte génotoxique (effet aneugène) ; **C** : le test sur des cellules normales.

3.3. Test d'aberration chromosomique

L'induction des cassures de chromosomes (CA) détecte les substances toxiques induisant des chromosomes anormaux, des cassures de chromosomes ou de chromatides et des translocations (Fig.18) qui joue un rôle dans l'étiologie des cancers et de diverses maladies. Les effets des agents peuvent être étudiés soit animaux entiers (in vivo) ou en culture (in vitro).

Dans les deux cas, la cellule ou l'animal est traité avec substance d'essai et incubé avec un inhibiteur qui va bloquer la division cellulaire. La présence d'aberration est analysée à l'aide d'un microscope après coloration appropriée.

Le test de CA est l'un des approches pour prédire les cancérigènes environnementaux ou mutagènes, et est considéré par certains travailleurs comme une méthode complémentaire au test d'Ames (Hasan et al., 2017).

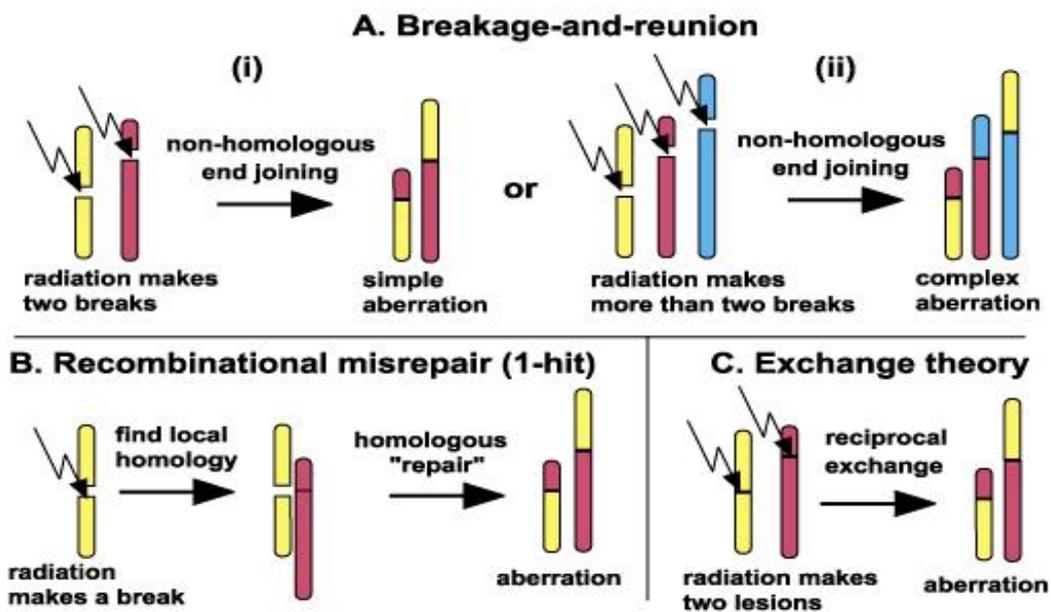


Figure 18: Les aberrations chromosomiques.

3.4. Test d'Ames

Le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différents types de *Salmonella typhimurium* auxotrophe pour l'histidine (his-). D'autres bactéries comme *E. coli* pKM 101 ont été conçues pour réaliser ce test. Ces dernières sont auxotrophes pour le tryptophane. Les souches de *S. typhimurium* utilisées sont porteuses d'une mutation sur l'un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation his- rend les souches incapables de se développer sur un milieu de culture dépourvu d'histidine. Avec une fréquence propre à chaque souche, cette mutation peut subir une mutation inverse 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. Le test d'Ames est utilisé dans le monde entier comme écran initial pour déterminer le potentiel mutagène de nouveaux produits chimiques et médicaments (Fig.20) (Mortelmans et Zeiger, 2000).

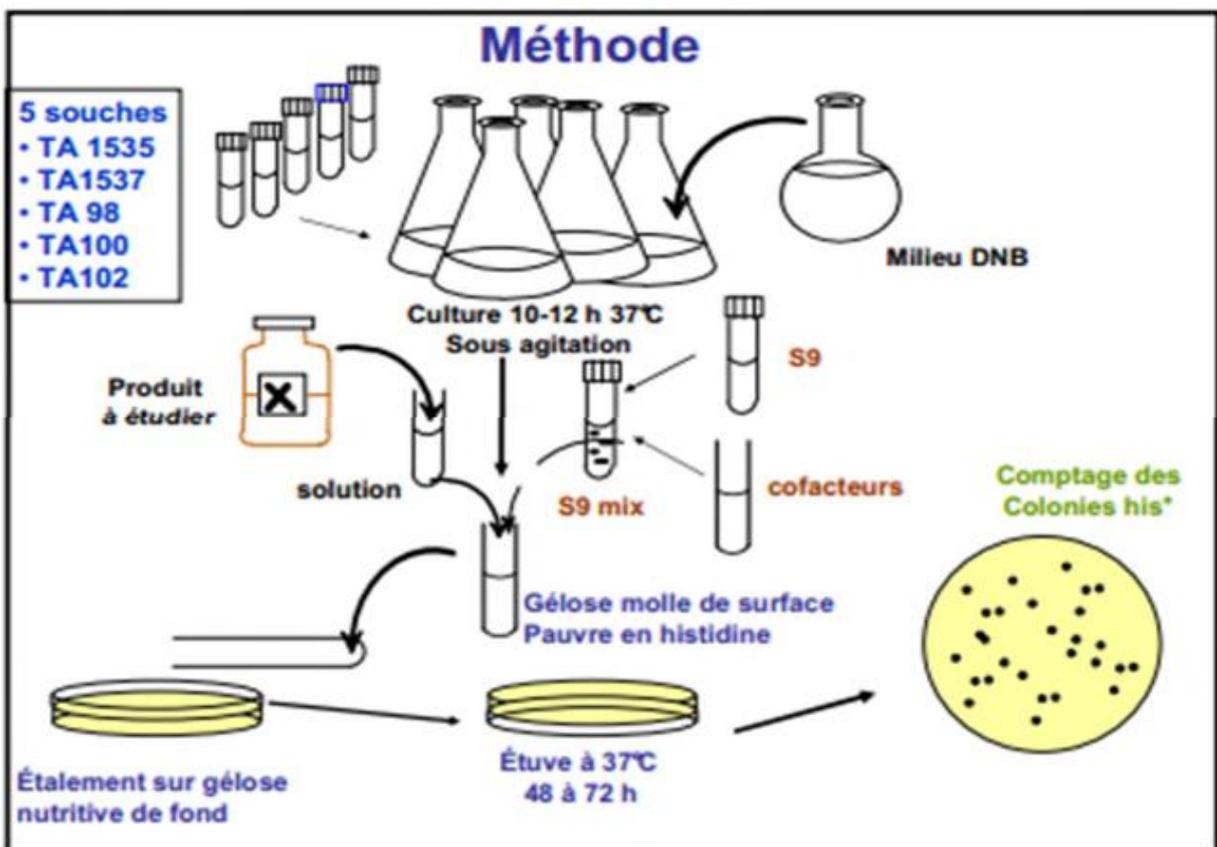


Figure 19 : Principe du test d'Ames (Nesslany, 2013)

❖ **Les souches bactériennes utilisées**

Les souches de *S. typhimurium* ont chacune un caractère différent (**Tab.6**).

Tableau 6 : Caractéristiques des souches utilisées dans le test d'Ames (**Mortelmans et Zeiger, 2000**).

Souches	Gènes affectés	Mutations additionnelles			Type de mutation
		Réparation	LPS	Plasmide	
TA1535	HisG46	uvrB-	rfa	-	Substitution
TA1537	HisC3076	uvrB-	rfa	-	frameshift
TA1538	HisD3052	uvrB-	rfa	-	frameshift
TA97	HisO1242 HisD6610	uvrB-	rfa	pKM 101	frameshift
TA98	His 3052	uvrB-	rfa	pKM 101	frameshift
TA100	HisG46	uvrB-	rfa	pKM 101	Substitution
TA102	HisG428	+	rfa	pKM 101 (PAQ 1)	Substitution

Mutation HisG46 : grâce à cette mutation les bactéries sont déficientes à la première enzyme qui entre dans la synthèse de l'histidine. Elle est déterminée par la séquence (-GGG-CCC-).

frameshift (-GCGCGCGC-) mutagènes tel que 2-nitrosofluorène et le daunomycine ce qui conduit à la restauration du cadre de lecture correcte pour la synthèse de l'histidine.

Mutation hisC3076 : c'est une mutation frameshift, elle n'est pas séquencée mais il est connu qu'elle contient une cytosine de plus dans une série d'au moins 4 cytosine.

Mutation rfa : augmentation de la perméabilité membranaire de la bactérie.

Mutation uvrB : c'est une délétion du gène qui détecte les mutagènes qui nécessitent un système de réparation (excision).

Mutation pKM 101 : le plasmide qui porte le gène de résistance à l'ampicilline.

Mutation hisG 428 : Insertion de la mutation de hisG428 sur le plasmide pAQ1 dans le but d'amplifier le nombre de sites cible. Pour améliorer la capacité de la souche à détecter L'Agents de réticulation d'AD

Le test d'Ames (le test de mutation bactérienne inverse) parfois appelé test à salmonella ou muta test, développé dans les années 1970 par Bruce Ames, est largement utilisé in vitro comme test de mutagenèse.

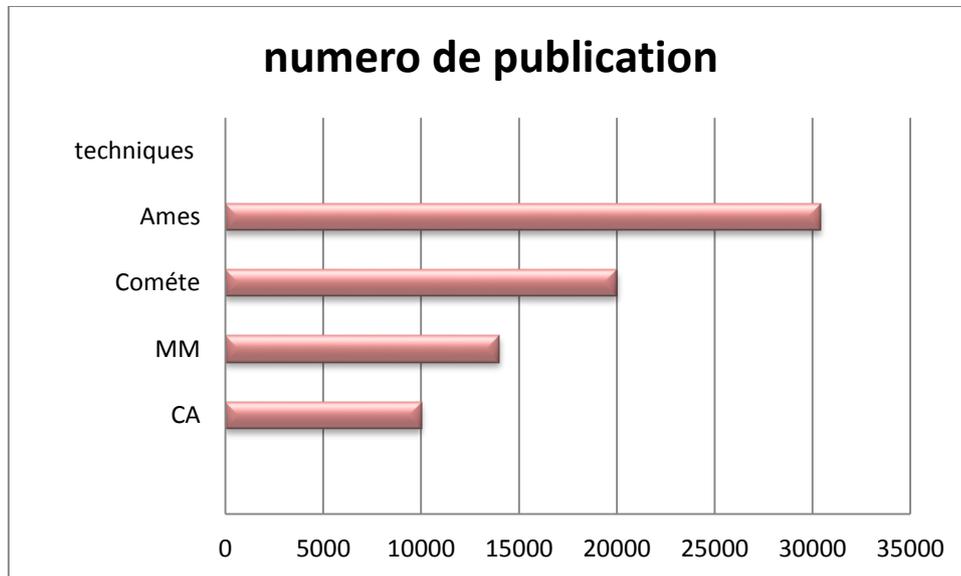


Figure 19: Fréquence de certains tests de génotoxicité couramment utilisés au cours de la dernière décennie (MM : test micronoyau, CA : test des aberrations chromosomiques) (Hasan et al., 2017).

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

Matériel et méthode

1 Echantillonnage

Le matériel biologique utilisé dans le présent travail est le corned-bœuf : Boite de 200g(**Fig.21**).

Selon la composition qui figure sur l'emballage, le corned-bœuf testé est composé de viande de bœuf congelée hachée, sel nitrité (0,6% de nitrite de sodium), Additifs alimentaires : Gélifiant (carraghénane-BPF), Stabilisant : (Di, Tri et polyphosphate de sodium) 2000mg/kg.



Figure 20: Echantillon à tester (corned-bœuf).

2 L'extraction

Pour ce test, l'extraction par la technique de macération est l'idéale, c'est l'action de laisser séjourner, à température ambiante dans un solvant organique une substance pour en extraire les constituants solubles afin d'avoir quatre extraits bruts ; on a choisi 4 solvants (méthanol, méthanol/chloroforme, acétate d'éthyle et hexane).

❖ Extrait méthanolique

Une extraction sélective a été entreprise selon le protocole de (**Takahashi et al., 1979**). 20g de corned-bœuf ont été repris avec 80ml de méthanol (solvant très polaire 0.95) dans un erlenmeyer de 500ml, le mélange a été laissé macérer dans un incubateur à agitation orbital de model **Edmund Buhler GmbH** pendant 24h à température ambiante. Après décantation de la solution, une centrifugation de 10000g/10min à 4°C a été effectuée. Le surnageant 1 a été conservé à l'abri de la lumière à la température du laboratoire. 40ml de méthanol a été ajouté au culot 1. L'opération a été répétée trois fois successivement jusqu'à l'obtention du culot 3, Pour la précipitation les trois surnageants ont été mis au réfrigérateur pendant une nuit à 4°C. Une centrifugation de 10000g/10min à 4°C a été effectuée, des protéines obtenues sous forme de culots. Le surnageant obtenu est concentré au rota vapeur (**Fig.22, e**) de type **BUTCHI switzerland** et de référence **R-215** Sous vide à la température 40°C. On obtient donc l'extrait brut, qui a été conservé dans un pilulier étiqueté à l'abri de la lumière (**Fig.22, f**).

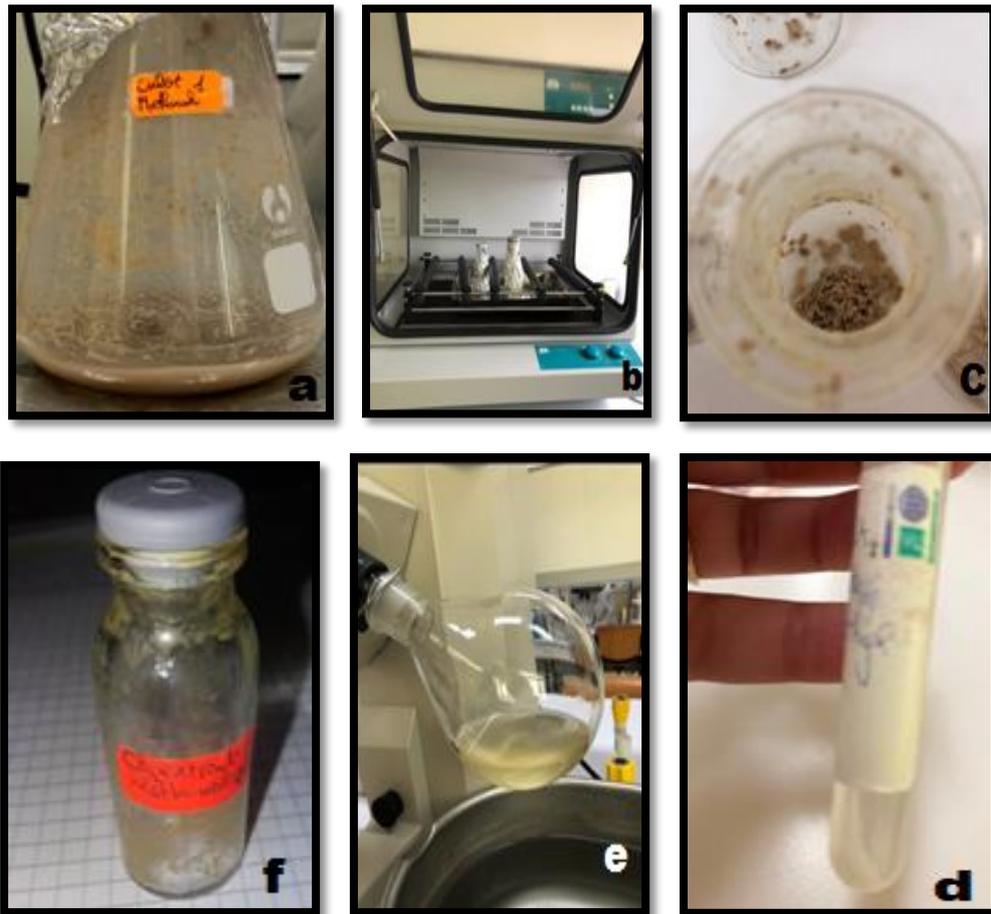


Figure 21 : Résultats de l'extraction méthanolique, **a** : macéré, **b** : agitation du macéré dans l'incubateur à agitation, **c** : culot 3, **d** : surnagent 4 dans le rota vapeur, **e** : culot protéique, **f** : l'extrait brut

❖ Extrait méthanol-chloroforme

Pour le méthanol-chloroforme (solvant polaire 0.675), le même procédé expérimental suivi avec l'extrait méthanolique, sauf que c'est la méthode de (**Overvik et al.1984**) qui préconise un volume égal de méthanol et de chloroforme (40ml méthanol/40ml chloroforme dans la première étape. Centrifugation, le culot est repris dans (20ml méthanol/20ml chloroforme) dans la deuxième et troisième étape d'extraction (**Fig 23**).

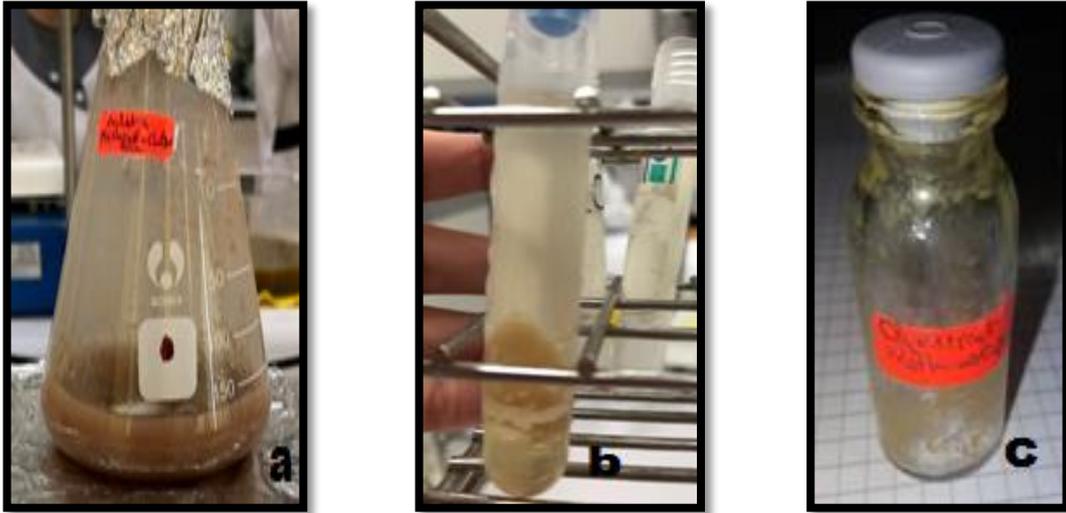


Figure 22 : Résultats de l'extraction méthanol-chloroforme, **a** : macéré, **b** : résultat de la centrifugation (culot/surnageant), **c** : l'extrait brut

❖ Extrait acétate d'éthyle

Pour l'acétate d'éthyle (solvant moyennement polaire 0.58), le même procédé expérimental suivi avec l'extrait méthanolique, sauf que c'est la méthode de (Pourazrang et al., 2002) qui préconise une filtration au lieu d'une centrifugation. (Fig.24)

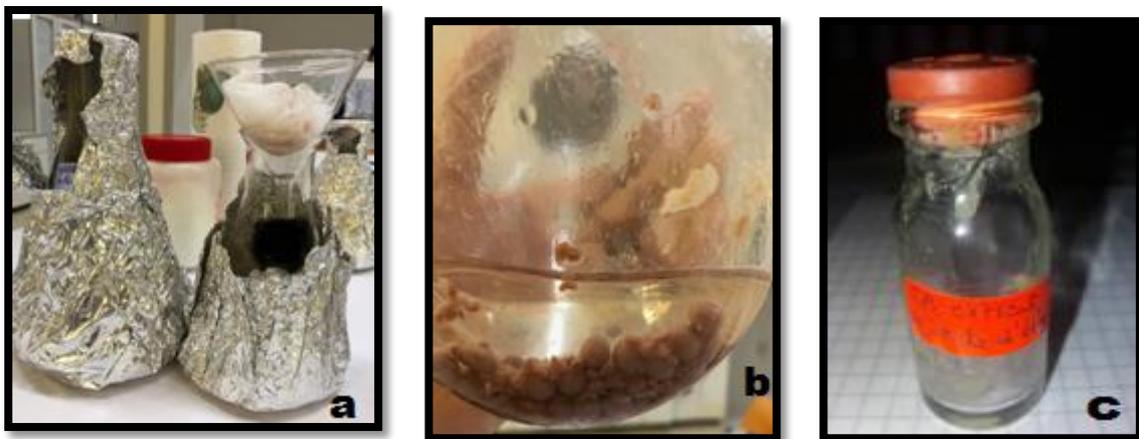


Figure 23 : Résultats de l'extrait acétate d'éthyle, **a** : la filtration du macéré, **b** : macéré, **c** : l'extrait brut

❖ Extraction d'hexane

Pour l'hexane (solvant apolaire 0), c'est Les mêmes étapes que l'extraction d'acétate d'éthyle. (**Fig.25**).



Figure 24: Résultat de l'extraction d'hexane, **r-1** : macéré, **r-2** : extrait brut.

3 Le test d'Ames

3.1 Principe

Le test d'Ames, parfois appelé test à Salmonella/microsome ou à Salmonella ou encore mutatest, consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *S. typhimurium*. 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- réversent 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. Ainsi, le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses His+ (Mortelmans et Zeiger, 2000). Cette étude visait à identifier la mutagénicité de la viande transformée, notamment le corned bœuf.

3.2 Les souches bactériennes du test

Au cours de cette étude, les essais ont été réalisés sur six souches *S. Typhimurium*, TA 100, TA98, TA102, TA1535, TA1537, TA1538, finalement deux souches ont été prises en considération TA102 et TA1535. La souche (TA1535) utilisée pour détecter des mutagènes provoquant des substitutions de paires de bases (**Ames et al., 1975b**) et la souche TA 102 sensible aux agents génotoxiques procédant par substitution (Pélissier et al 1996). La souche TA 102 contient le plasmide pKM101 qui confère une résistance à l'ampicilline et augmente la sensibilité aux mutagènes (Föllmann et al., 2013).

3.3 Les caractères génétiques des souches (TA102 et TA1535)

Ces deux souches (**Tab.7**) 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. De plus, l'introduction du plasmide pKM101 dans la souche TA102 augmente leur sensibilité aux mutations induites par une exposition aux UV et aux produits chimiques tout en la conférant une résistance à l'ampicilline (**Cheriot S., 2007**).

La souche TA102 porte la mutation HisG428 sur le plasmide pAQ1 introduit en multicopie pour augmenter le nombre de sites de mutation. Cette souche contient par ailleurs un gène *uvrB* fonctionnel qui autorise la détection de produits hautement toxiques provoquant des réticulations de l'ADN. Elle est plus spécifiquement utilisée pour donner des informations sur le stress oxydatif provoqué par les composés chimiques testés (**Cheriot S., 2007**).

La souche TA1535 porte une mutation ponctuelle de A à G par rapport à la bactérie de type sauvage. Cette mutation ponctuelle provoque un échange d'acides aminés (leucine contre proline) dans l'opéron histidine (*hisG46*) (**Föllmann et al., 2013**).

En conséquence, TA 1535 n'est pas capable d'effectuer la biosynthèse de l'histidine. Une mutation ponctuelle de G à A restaurera le gène de type sauvage et produira une bactérie capable de former une colonie également sur de l'agar minimal contenant seulement de très petites concentrations d'histidine (**Föllmann et al., 2013**).

Tableau 7: Caractères génétiques des souches TA102 et TA1535 (**Maron et Ames 1983 ; Cheriot S. 2007.Föllmann et al., 2013**)

Souches	Génotypes	Type de mutation	Plasmide	Réparation	Paroi LPS	Résistance	
						Ampicilline	Tétracycline
TA102	HisG428	Substitution de base	pKM101 ; pAQ1	+	rfa	R	R
TA1535	HisG46	Substitution de base	–	<i>uvrB</i> -	rfa	S	S

- 3.3.1. Mutation HisG46 :** mutation du gène HisG codant pour la première étape de la biosynthèse de l'histidine.
- 3.3.2. Mutation HisG428 :** TA102 contient des paires de bases A-T sur le site de la mutation dans HisG contrairement à TA 1535 qui contient des paires de bases G-C au site de mutation.
- 3.3.3. Mutation rfa :** La mutation (*rfa*) dans les souches conduit à une couche de lipopolysaccharide (LPS) défectueuse qui recouvre la surface bactérienne, rendant les bactéries plus perméables aux produits chimiques (**Mortelmans et Zeiger 2000**). Mutation qui provoque une forte réduction de la couche de lipopolysaccharide (**Föllmann et al., 2013**).
- 3.3.4. Mutation uvrB :** délétion d'un gène impliqué dans la réparation de l'excision de l'ADN.

- 3.3.5. Plasmide pKM101, pAQ1** : plasmides qui augmentent la mutagenèse spontanée et induite chimiquement par l'amélioration de la réparation de l'ADN.
- 3.3.6. R** : résistante ; **S** : sensible. (Föllmann et al., 2013).

4. La réalisation du test

4.1. Activation des souches de *S. typhimurium*

La pré -culture de nuit

Dans un bouillon nutritif, les souches TA102 et TA1535 ont été cultivées et incubées à 37°C dans un bain marie de model **DSX-20827B** avec agitation pendant 16h.

4.2. Vérification des caractères génétiques

4.2.1. Culture de deux heures

1 ml de la culture de nuit est ajouté à 4 ml de bouillon nutritif suivi d'une incubation dans un bain marie à 37°C pendant deux heures, le but de cette pré-culture est d'obtenir des bactéries à la phase exponentielle de croissance.

4.2.2. Réclamation de l'histidine

La mutation du gène qui code pour la synthèse de l'histidine rend les bactéries auxotrophes à cet acide aminé sur un milieu sélectif de Gélose Minimale Agar (GMA) contenant obligatoirement la biotine.

Avec un écouvillon ou une anse de platine une seule strie de chaque souche (TA 102, TA 1535) a été réalisé sur :

- a. Des boîtes de pétries de contrôles contenant uniquement une solution de biotine stérile appliquée à la surface de la GMA, avec un râteau.
- b. Des boîtes de pétries de contrôles contenant la solution biotine / histidine stérile appliquée à la surface de la GMA, avec un râteau.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24H (**Maron et Ames 1983**).

4.2.3. La sensibilité aux UV

La mutation *uvrB* peut être confirmée en démontrant la sensibilité aux UV dans les souches qui contiennent cette mutation (**Ames et al., 1973a**).

Avec des écouvillons stériles, les souches à tester et la souche sauvage de *E. Coli* ont été déposées en stries parallèles sur des boîtes de pétries contenant la Gélose Nutritive.

La moitié de la boîte a été couverte par une plaque en verre et l'autre moitié a été irradiée par une lampe à UV pendant 20 secondes. L'incubation se fait 37°C pendant 24H (**Maron et Ames 1983**).

4.2.4. La résistance à l'ampicilline (AMP), tétracycline (Tetra) et la sensibilité au cristal violet :

Deux caractéristiques ont été testées simultanément : la présence du plasmide pKM101 et pAQ1 chez la souche TA102 et la mutation *rfa* chez les deux souches TA102 et TA1535 qui est assuré par la résistance à l'AMP et Tétra et la sensibilité au CV.

Quatre disques stériles de papier Wattman ont été préparée, chaque disque a été déposé sur une boîte de gélose nutritive imbibé de 10 µl d'une des solutions suivantes :

- Solution à 1mg/ml de CV ;
- Solution à 10mg/ml d'AMP ;
- Solution à 10mg/ml de Tétracycline ;
- D'eau distillée stérile a été utilisée comme témoin.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24H (Maron et Ames,1983).

5 Réalisation du test

Les extraits méthanolique, méthanol chloroforme et hexane, Acétate d'éthyle ont été respectivement dissous dans DMSO et Acétone (**Tab.8**).

Après plusieurs essais, nous avons conclu qu'un volume élevé de solvants est toxique, donc on a dilué les solvants mères comme suite :

- Dilution de solvant mère (DMSO + extraits méthanolique/extrait méthanol chloroforme) dans 1% de DMSO : 10 µl de DMSO pure dans 990 µl de tampon phosphate ;
- Dilution de solvant mère (Extraits hexane/extraits Acétate d'éthyle + Acétone) dans 1% d'Acétone : 10 µl d'Acétone dans 990 µl de tampon phosphate

Tableau 8 : Les dilutions des extraits et des solutions mères

Extraits	Poids	Volume du solvant	Concentration du solvant mère	Volume tampon	Concentration finale
Extrait méthanolique	0.200 g	260 µl	0.77g/ml	1.485 ml	0.0078g/ml
Extrait méth/chloro	0.0514 g	300 µl	0.171g/ml	1.485 ml	0.0017g/ml
Hexane	0.0512 g	200 µl	0.256g/ml	1.485 ml	0.0053g/ml
Acétate d'Ethyle	0.0515 g	170 µl	0.30g/ml	1.485 ml	0.0030g/ml

Les extraits dilués de l'échantillon testé ont été filtré avec un filtre de 0.22 µm afin d'éliminer les germes qui peuvent perturber les résultats (**jolibois et al., 2009**). Le test a été réalisé sans activation métabolique.

Dans un tube stérile de 20 ml, 100 µl de l'échantillon à tester (corned bœuf) a été mise en contact avec 500 µl de tampon phosphate et 100 µl de la culture de nuit (TA102 ou TA1535) ; les tubes ont été incubées à 37° C pendant 20min, ensuite 2ml de Top Agar (l'agar molle) a été additionnée à 200 µl de la solution histidine biotine qui ont été ensuite ajoutés aux tubes,

Ce mélange a été étalé sur la surface des boîtes GMA, les boîtes de pétrie sont ensuite incubées à 37° C pendant 48H (**Maron et Ames 1983, Mortelmans et Zeiger,2000**).

Dans le but de vérifier la reproductibilité des résultats obtenus, chaque test est réalisé trois fois.

Résultats et discussion

Résultats de l'extraction

On a obtenu un résultat intéressant de l'extraction avec un bon rendement (le rendement c'est le poids de la matière sèche obtenue) de l'extrait méthanol chloroforme par rapport à l'extrait acétate d'éthyle. Les deux extraits méthanol et hexane ont donné presque la même rendement (**Tab.9**).

Tableau 9 : Le rendement de chaque extrait

Extrait	Rendement	
	Poids	Pourcentage (%)
Extrait méthanolique	0.4863	2,4315%
Extrait méthanol-chloroforme	0.801	4,005%
Extrait acétate d'éthyle	0.376	1,88%
Extrait hexane	0.415	2,075%

Résultats du test d'Ames

1 Confirmation des caractères génétiques

Les résultats des caractères génétiques des souches *S. typhimurium* (TA102, TA1535) sont présentés dans (**Fig.26 et 27**).

1.1. Réclamation de l'histidine

Les boîtes qui contiennent le mélange His/Bio permettent la croissance des souches contrairement aux boîtes content uniquement la biotine.

Ces résultats confirment que les souches sont auxotrophes à l'histidine donc elles possèdent la mutation hisG46 pour la souche TA1535 et la mutation hisG428 pour la souche TA102.

La réclamation de l'histidine est une étape primordiale pour la réalisation du test d'Ames car la réversion de la mutation permet aux souches auxotrophes à l'histidine de devenir des souches prototrophes qui peuvent pousser dans un milieu dépourvu de l'histidine (**Maron et Ames, 1973**).

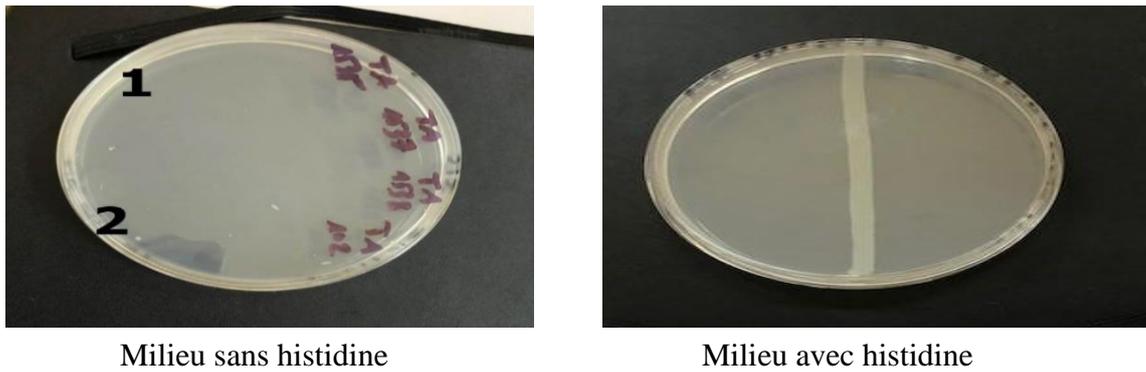


Figure 25: La réclamation de l'histidine pour les deux souches (1 : TA1535 ; 2 : TA102)

1.2. La résistance à l'ampicilline et la tétracycline

Après incubation, nous avons constaté une poussée de la souche TA102 autour les disques imbibés par l'ampicilline, tétracycline et l'eau distillée ; Aucune poussée de la souche TA1535 autour les disques imbibés par l'ampicilline, tétracycline et elle poussée autour les disques de l'eau distillée uniquement. Ces résultats démontrent que :

- La souche TA102 possède deux plasmides pKM101 et pAQ1 qui rend les souches résistantes à l'ampicilline et la tétracycline respectivement et l'absence de ces plasmides dans la souches TA1535.

1.3. La sensibilité au cristal violet

Après incubation, nous avons constaté des zones claires autour les disques de cristal violet pour les deux souches TA102 et TA1535, en démontrent que :

- La présence du mutation rfa dans les deux souches qui rende les bactéries plus perméables aux macromolécules le cristal violet comme exemple.

Ces résultats (**Fig.27**) se concordent avec les travaux de **Maron et Ames,1983** ; **Mortelmans et Zeiger,2000**.

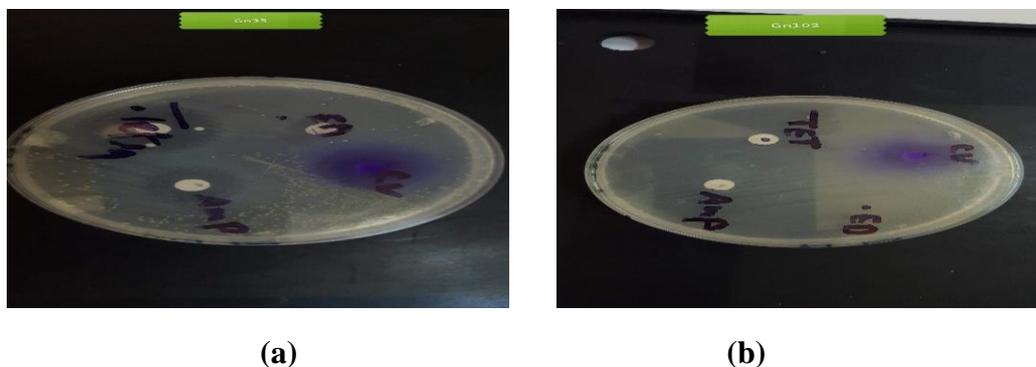


Figure 26: La résistance et la sensibilité des souches TA1535(a), TA102(b) à l'ampicilline, tétracycline et au CV.

2 Résultat du test d'Ames

Afin d'augmenter la sensibilité du test d'Ames, nous avons utilisé la méthode de pré incubation. Selon **Mortelmens et Zeiger (2000)** un potentiel mutagène est probable si le nombre des révertants obtenus est le double du nombre des révertants du contrôle négatif.

Ainsi, le nombre de révertants du contrôle négatif (DMSO et acétone a donné les valeur moyennes suivantes : 2600 et 5100 de DMSO et acétone respectivement pour TA1535 et 40900 de l'acétone pour TA102

Les résultats obtenus du test d'Ames durant notre étude sont présentés dans le **tableau 10** et les histogrammes (**Fig.28 et 29**).

Tableau 10 : Résultats du test d'Ames sans activation métabolique

Extraits	TA 1535 (M±E)	TA102 (M±E)
Extrait méthanolique	1966±235	90400±1177
Extrait hexane	20100±535	16533±1144
Extrait méthanol-chloroforme	1500±294	109333±6798
Extrait acétate d'éthyle	5133±1312	15100±2141
Acétone (témoin -)	1766±205	20450±285
DMSO (témoin -)	1300±854	
Révertants spontanés	20±4.08	247±19

M : moyenne du nombre des révertants E : écart type.

Les résultats des tests ont montré que tous les extraits de l'échantillon testé ont un potentiel mutagène avec la souche TA1535 dont les valeur moyennes et l'écarte type sont : Extrait methanolique 1966±235 ; Extrait hexane 20100±535 ; Extrait méthanol-chloroforme 1500±294 ; Extrait acétate d'éthyle 5133±1312.

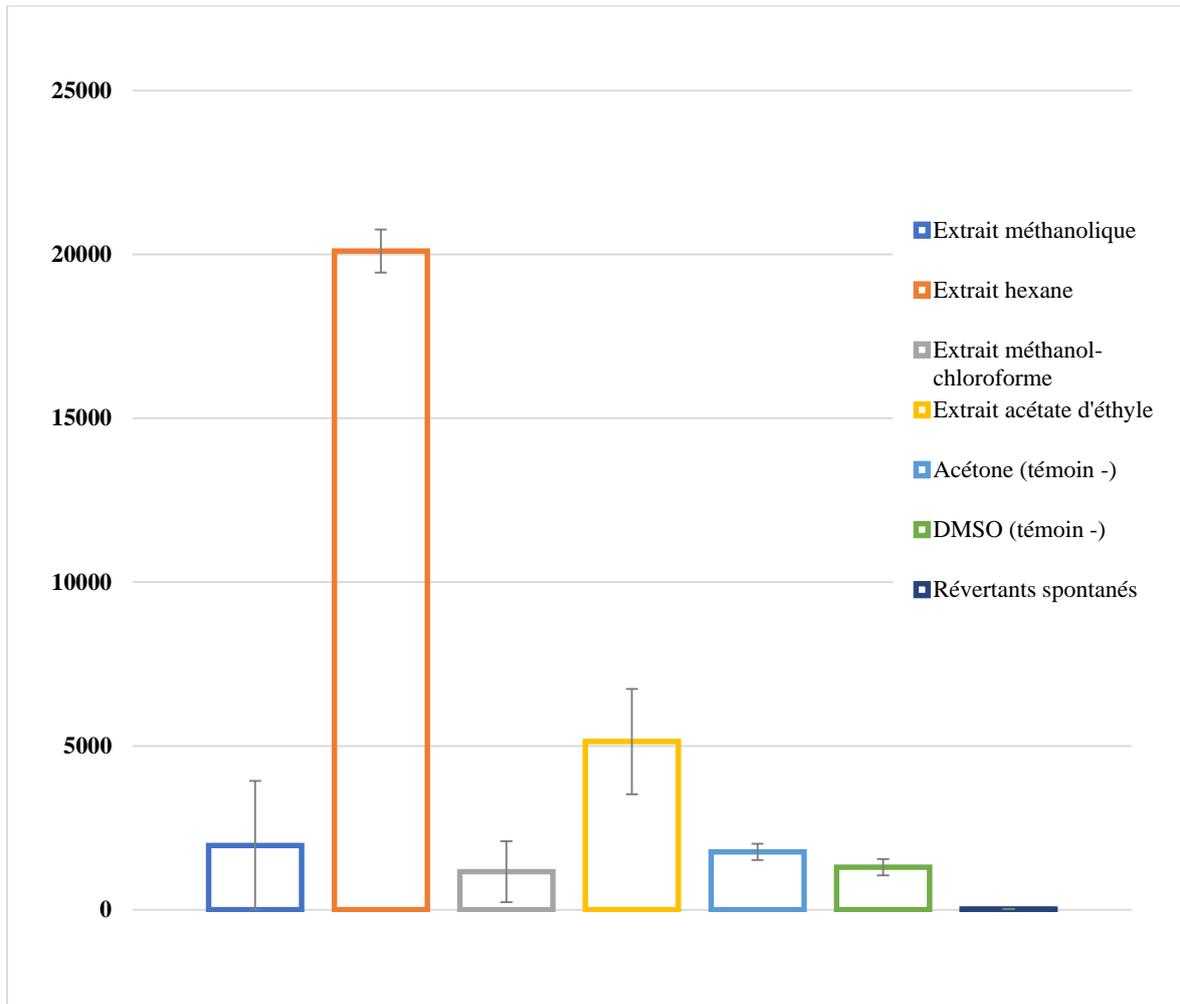


Figure 27: Résultats du test Ames pour la souche TA1535.

Un potentiel mutagène obtenu également avec TA102 dont les valeur moyennes suivantes : Extrait methanolique 90400 ± 1177 ; Extrait méthanol-chloroforme 109333 ± 1144 ; Extrait acétate d'éthyle 15100 ± 2141 ; cependant l'extrait hexane a montré un potentiel mutagène inférieur au témoin négatif.

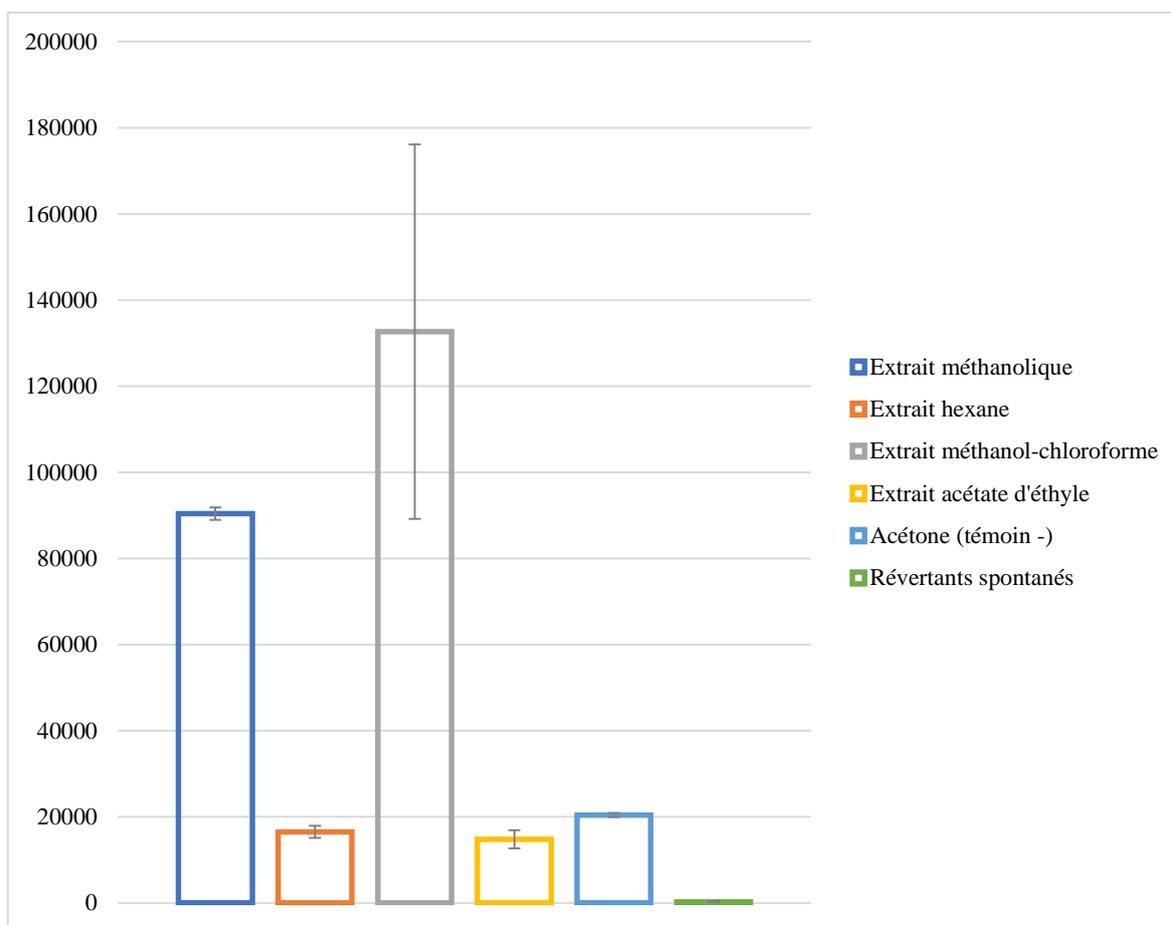


Figure 28 : Résultats du test Ames pour la souche TA102 (nombre de révertants).

A partir de ces résultats, il est permis d'affirmer que l'ensemble des extraits obtenus à partir du cornet de bœuf à l'exception de l'extrait hexane avec la souche TA102, et l'extrait méthanol chloroforme avec la souche TA1535, ont montré un potentiel mutagène avec les 2 souches

Les résultats obtenus dans notre étude sont en concordance avec les travaux de **Krone et Iwaoka. (1984)** qui ont constaté que le saumon rose en conserve présente la plus forte mutagénicité de tous les aliments en conserve testés (le bouillon de boeuf en conserve le saumon rouge en conserve). **Spingarn et al. (1981)**, ont constaté que l'augmentation de la teneur en matières grasses des galettes de bœuf hachées de 6,9% à 16,4% a augmenté d'environ 5 fois leur activité mutagène, après friture. **Barnes et al. (1985)**, a révélé que le IQ est l'un des nouveaux mutagènes importants trouvés dans la viande et le poisson frit, était considéré comme un puissant inducteur de la synthèse d'ADN non programmée dans les cellules du foie.

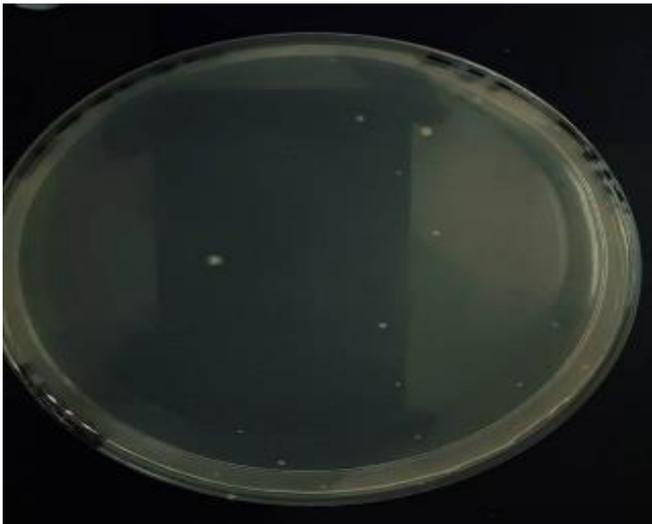
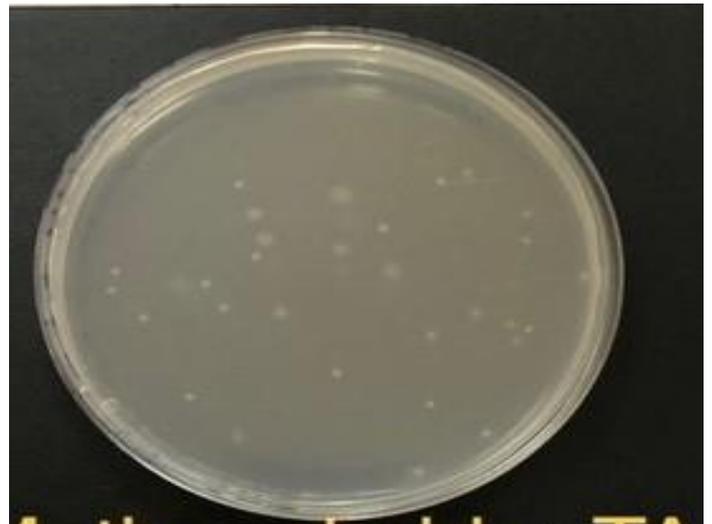
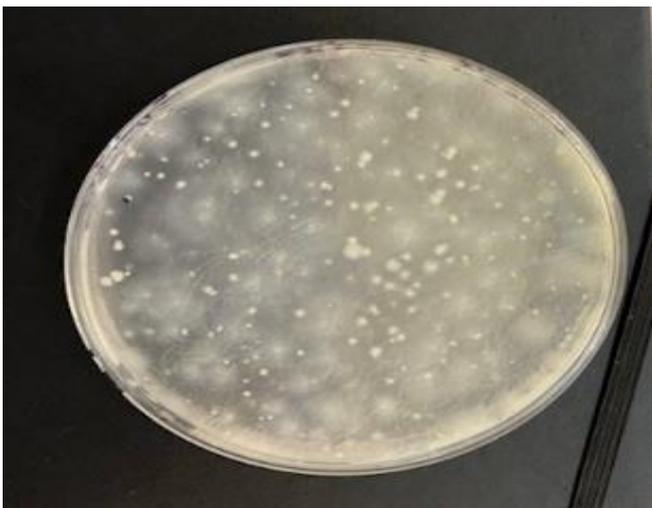
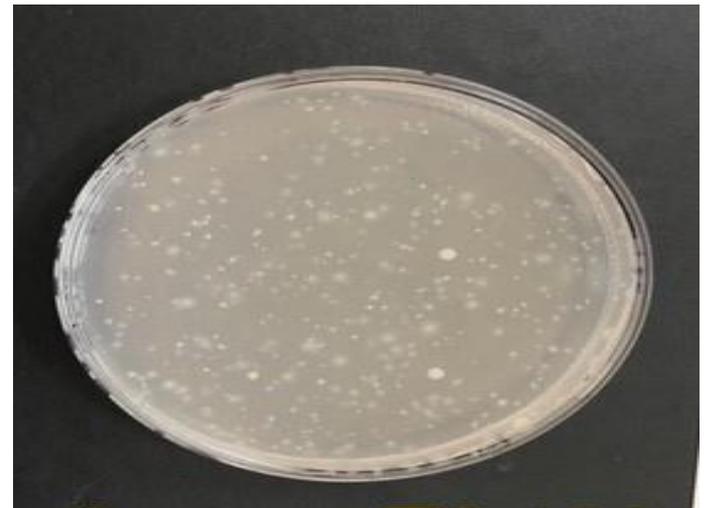
**A****B****C****D**

Figure 29: Les résultats de test d'Ames sur la souche salmonella TA1535 avec les 4 extraits (**A** : extrait méthanolique, **B** : extrait méthanol chloroforme, **C** : extrait hexane, **D** : extrait acétate d'éthyle).

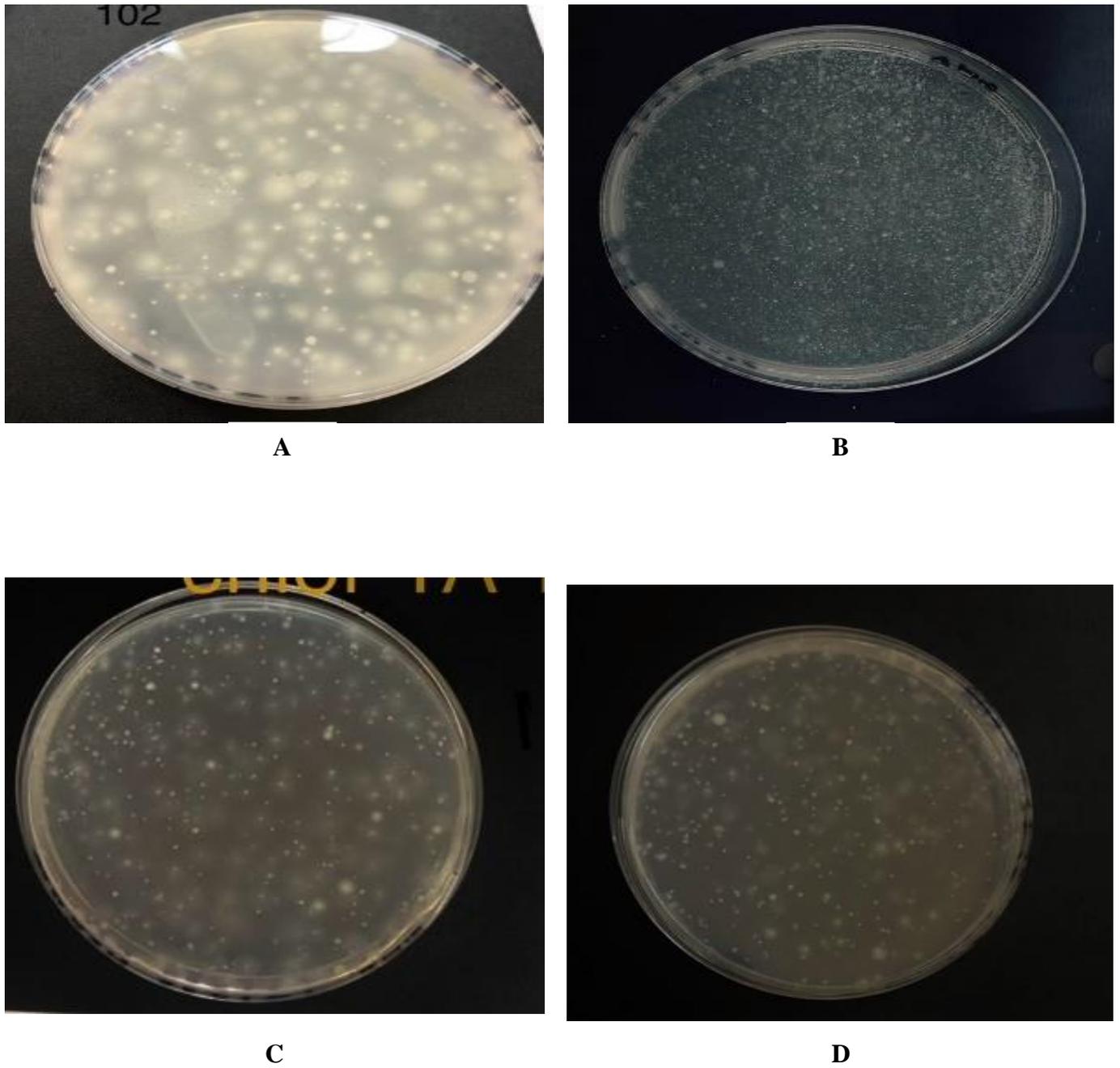


Figure 30: Les résultats de test d'Ames sur la souche salmonella TA102 avec les 4 extraits (A : extrait hexane, B : extrait acétate d'éthyle, C : extrait méthanol chloroforme, D : extrait méthanolique)

Conclusion

Conclusion

Selon les données de la littérature scientifique, 22 experts de 10 pays ont classé la consommation de viande rouge comme « probablement cancérigène pour l'homme », tandis que la viande transformée a été classée « cancérigène pour l'homme ». Bien que les mécanismes responsables de la cancérogénicité de la viande rouge et transformée ne soient pas encore clairement établis. La présence de composés N-nitroso (NOC), d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et d'amines aromatiques hétérocycliques (AHA), produits chimiques cancérigènes bien connus (ou soupçonnés) dans la transformation de la viande comme la cuisson et le fumage (NOC, HAP); lorsque la viande est chauffée à haute température (AHA).

Ce travail a pour but l'évaluation du pouvoir génotoxique et mutagène du corned-bœuf, comme modèle de la viande transformée. La confirmation de cette hypothèse nécessite un test qui permet d'estimer le potentiel cancérigène d'une substance génotoxique.

Dans cette étude nous avons opté pour le test d'Ames en raison de sa simplicité et aussi en raison de sa large utilisation dans ce genre d'étude.

Les résultats obtenus par l'utilisation de ce test d'Ames ont démontré que les extraits du corned-bœuf sont mutagène pour les deux souches TA102 et TA 1535.

Ces résultats obtenus constituent un aperçu sur le risque engendré par la consommation de la viande transformée, cependant, il est recommandé de compléter cette étude par :

- L'identification et le dosage des nitrites présents dans le corned-bœuf ;
- L'identification et le dosage des autres additifs utilisés ;
- Réalisation du test d'Ames avec activation métabolique ;
- Réalisation des tests sur des cellules et/ou des organes eucaryote.

Ainsi, le risque d'apparition de cancer provoqué par la forte consommation de la viande rouge et la viande transformée tel que le cancer colorectal, nous interpelle pour prendre les mesures adéquates, comme la diminution dans la consommation de ces viandes et se diriger vers d'autres aliments (viande blanches, poisson, végétaux), qui sont de même valeur nutritionnelle.

Références bibliographiques

[A]

Agence Canadienne d'inspection des aliments (ACIA), (2014). Manuel méthodes de l'hygiène des viandes. Chap.4, Transformation de la viande, contrôle et procédure, Canada.

Ames Bruce N., Lee F.D. and Durston W.E. (1973a) An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (U.S.A.), 70, 782-786.

Ames Bruce N., Mccann J. And Yamasaki E. (1975b) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res.* 113: 173–215.

Assim M., Raza A., Faqir Anjum M., Rafiq Khan M. and Suleria H. A. (2015) Effect of Thermal Treatment on Meat Proteins with Special Reference to Heterocyclic Aromatic Amines (HAAs), *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55:1, 82-93,

[B]

Barbut S., (2015) Chap. 10: Further Processing – Equipment. in the science of poultry and meat processing. Canada, pp.764. ISBN 978-0-88955-626-3.

Barbut S., (2015) Chap.11: Heat processing, cooling and Preservation methods. In The science of poultry and meat processing. Canada 2015, pp.764. ISBN 978-0-88955-626-3.

Barbut S., (2015) Chap.:13 principles of meat processing. In The science of poultry and meat processing. Canada 2015, pp764. ISBN 978-0-88955-626-3.

Battaglia E., Baumer B., Conrad B., Darioli R., and Schmid A. (2015), “Aspects sanitaires de la consommation de viande,” vol. 15, no. 24, pp. 566–572.

[C]

Centre International de Recherche sur le cancer (CIRC), (2015). Viande rouge et charcuterie : le risque de cancer se confirme.

Cheriot S., (2007). Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides. Thèse de doctorat soutenue à l'école doctorale des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement de paris (*Agro Paris Tech*). pp 239.

Christian J. and Stephen J. J. (2010) Chapter 5: Freezing/Thawing. In Handbook of Meat Processing. Blackwell.U.S.A: Fidel Toldrá, 105-124.

[D]

Dyremark, A., Westerholm, R., Övervik, E., Gustavsson, J.Å., (1995) ‘Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) emissions from charcoal grilling’, *Atmospheric Environment*, 29(13), pp. 1553–1558.

[E]

Ehrenberg L., (1960). chemical mutagenesis: Biochemical and chernical point of view on mechanisms of action, *chemische Mutagènes*, pp 124- 136.

[F]

Föllmann W., Degen G., Oesch F., and Hengstler J., (2013). Ames Test. *Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors (IfADo)*, Dortmund, Germany, volume 1, pp 51–54, Elsevier Inc.

[G]

Gandeme G., Duchène C. (2015). Valeurs nutritionnelles des viandes cuites. Effets de la cuisson sur la composition des viandes. Centre d'information des viandes (CIV), *science et nutrition.*, 93(12).

Goff R., Walburger D.K. and Fairbairn J. (2006). Key morphologic changes and DNA strand breaks in human lymphoid cells Discriminating apoptosis from necrosis. *Scanning* 20:407–455.

[H]

Hanna K. (2005), Chromosome breakage at high dose rates, *Mutat Res* ,182:270 -271.

Harkati A., (2007), Etude des paramètres biologiques intervenant dans l'attendrissage naturel de la viande ovine et leurs relations au facteur type de muscle. Mémoire de Magistère, Université Montouri Constantine, p.77.

[I]

Iengar V., (2012), characterization of complex chromosomal rearrangement. *Mutat Res.* 92: 3 – 7.

[J]

Jägerstad M. and Skog K. (2005) ‘Genotoxicity of heat-processed foods’, *Mutat Res.* Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 574(1–2 SPEC. ISS.), pp. 156–172.

Jolibois B. and Guerbet M., (2005). Evaluation of industrial, hospital and domestic wastewater genotoxicity with the Salmonella fluctuation test and the SOS Chromotest. *Mutat Res*, 565, p.151-162.

[K]

Khan K., Ansari L. and Honey A. (2012). Induction of mutations in *Cichorium intybus* L. by base analogue 6-aminopurine (6-AP) and their detection with random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *African Journal of Biotechnology*, 11(56): 11901-11906.

Krone C. A. and Iwaoka W. T. (1984) 'Occurrence of mutagens in canned foods', *Mutation Research Letters*, 141(3-4), pp. 131-134.

[M]

Maron Dorothy M., Ames Bruce N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* Elsevier Biomedical Press.; 113: 173-215.

Maron Dorothy M. and Ames Bruce N. (1973). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* Elsevier Biomedical Press.; 113:133-213.

Maron Dorothy M., Ames Bruce N. and Katzenellenboge J. (1981). Compatibility of organic solvent with the Salmonella /microsome test. *Mutat Res*, 88:343-350.

Maurice G. O' Sullivan and Joseph P. Kerry (2010). Meat Packaging. In Handbook of Meat Processing. Blackwell. USA: Fidel Toldrá, 247-261.

Mortelman K. and Zeiger E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and molecular Mechanism of Mutagenesis*, Volume 455 (1-2) 29-60.

[O]

Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2016). Cancérogénicité de la consommation de viande rouge et de la viande transformée. Genève.

[P]

Pearson A.M., Tauber F.W. (1984), Processed meats, 2nd edition illustrated. Springer Science & Business Media, 6 déc. 2012, 427 pages. (consulté de 20/04/2018)

Pélissier AL., Duffaud F., De Méo MP., Botta A. (1996) Le test d'Ames : application aux urines de fumeurs. *Rev Méd Interne*; 17 :635-639.

[R]

Rahman U., Sahar A., Khan M. and Nadeem M. (2014) 'Production of heterocyclic aromatic amines in meat: Chemistry, health risks and inhibition. A review', *LWT - Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 59(1), pp. 229-233. doi: 10.1016/j.lwt.2014.06.005.

Rohrman S., and Linseisen J. (2016), "Processed meat: The real villain?" *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 75, no. 3, pp. 233-241,

Rohrman S., Zoller D., Hermann S. and Linseisen J. (2007) 'Intake of heterocyclic aromatic amines from meat in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Heidelberg cohort', *British Journal of Nutrition*, 98(6), pp. 1112-1115.

[S]

Samuolienė G., Urbonavičiūtė A., Brazaitytė A. (2009) 'The benefits of red LEDs: improved nutritional quality due to accelerated senescence in lettuce', *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture*, 28(2), pp. 111-120.

Skog K., Eneroth Å. and Svanberg M. (2003), Effects of different cooking methods on the formation of food mutagens in meat[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 38(3): 313-323.

Sugimura T., Wakabayashi K., Nakagama H. and Nagao, M. (2004) 'Heterocyclic amines: Mutagens / carcinogens produced during cooking of meat and fish', *Cancer Science*, 95(4), pp. 290–299

[T]

Thor H., Smith M. T., Hartzell P., Bellomo G., Jewell S. A. and Orrenius, S. (1982) 'The metabolism of menadione (2-methyl-1,4-naphthoquinone) by isolated hepatocytes. A study of the implications of oxidative stress in intact cells', *Journal of Biological Chemistry*, 257(20), pp. 12419–12425.

Thornberg, E. (2005). Effect of heat on meat proteins – Implication on structure and quality of meat products. *Meat Sci.* 70(3) :493–508.

Tricker A. R. and Preussmann R. (1991) 'Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential', *Mutat Res/Genetic Toxicology*, 259(3–4), pp. 277–289.

[V]

Valérie C. et Hallé H. (2002) "Consommation De Viande Et Cancer Colorectal Chez L ' Homme : Une Revue De L'Epidémiologie. Thèse doctorale: Université Paul-Sabatier de Toulouse (consulté le 05/04/2018).

Vanhaecke L., Vanhaecke L., Van H., Brabandt V., Soenen B.,Heyerick A., Kimpe N., De Keukeleire D.,Verstraete W. and Wiele T. (2006) 'Metabolism of the food-associated carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine by human intestinal microbiota', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9), pp. 3454–3461.

[W]

Wogan G. N., Tannenbaum S. R. (1975) 'Environmental Implications for Public Compounds': 383, pp. 375–383.

World Health Organization, (2002) 'IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene.', *IARC Press*, 82, pp. 1–556. doi: 10.1002/food.19940380335.

[Y]

Young R. (2002), Genetic toxicology: Web resources. *Toxicology*, 173 :103– 121

Webographie

[1] **Alyssa Fontaine Dt.P.,** Nutr.Superviseure des opérations en nutrition. Les viandes transformées : cancérogènes pour l'homme [En ligne].2015 Disponible sur : <https://www.nautilusplus.com/fr/les-viandes-transformees-cancerogenes-pour-lhomme/> (consulté le 24/04/2018 à 17.00).

- [2] <https://www.daily-magazine.net/bien-faire-cuire-viande>. Consulté le 24/04/2018 à 18.08.
- [3] <https://pixabay.com/en/grill-party-grilling-meat-barbecue-2405464>. Consulté le 24/04/2018 à 18.17.
- [4] <https://pt.dreamstime.com/foto-de-stock-fritando-carne-vermelha-panada-image66914880>. Consulté le 24/04/2018 à 18.31.
- [5] <https://www.walmart.ca/fr/kc/comment-braiser/KC1410963467000>. Consulté le 24/04/2018 à 18.39.
- [6] <https://fr.dreamstime.com/photos-stock-viande-dans-la-micro-onde-image18062883> . Consulté le 24/04/2018 à 18.48.
- [7] http://www.liberation.fr/societe/2011/06/18/la-viande-hachee-sur-le-gril_743564. Consulté le 25/04/2018 à 11.01.
- [8] <https://www.meat-me.fr/bon-a-savoir/le-fumage-de-la-viande-2/>. Consulté le 25/04/2018 a 11.16.
- [9] <http://www.boucherie-hertzog.com/Les-etapes-de-la-fabrication-fid50.aspx> . Consulté le 25/04/2015 a 17.29.
- [10] <https://www.globalmeatnews.com/Article/2017/03/22/Smoked-meat-traders-find-export-joy-in-Japan>. Consulté le 25/04/2018 à 23.46.

Annexe

1. Bouillant nutritif

Pour la culture d'une nuit pH= 07

Yeast extract.....	13g
Eau distillée.....	1000ml

2. Solution de l'ampicilline (0.8/0.2%NaOH)

La présence du plasmide pKM et GM de la souche TA102

Ampicilline.....	0,8g
0.02 N NaOH.....	100ml

La filtration a été effectuée avec un filtre stérile de 0,22 μ m

3. Solution du cristal violet 0.1%

Pour le test de sensibilité au cristal violet

Cristal violet.....	0.1g
Eau distillée.....	100ml

4. Solution de tétracycline (0.8/0.02% Hcl)

La présence du plasmide pAQ1et GM de la souche TA102

Hcl pure.....	0.2ml
Eau distillée.....	99,8ml
Tétracycline.....	0.8mg

La filtration a été effectuée avec un filtre stérile de 0,22 μ l

5. Milieu minimal agar (GM)

Pour le test de mutagenèse

Agar.....	15g
Eau distillée.....	900ml
50X VB sels.....	20ml
20% Glucose.....	50ml

L'agar dans l'eau distillée est autoclavée à 120° pendant 20 min, une fois refroidie, les sels 50X VB et le glucose autoclavés séparément ont été ajoutée.

6. Solution glucose 10%

Utiliser pour GM comme source de carbone

Glucose.....	100g
Eau distillée.....	700ml

7. Solution Histidine / Biotine (0.5Mm).

Utilisée dans le test de mutagenèse

D-biotine.....	0,124g
L-Histidine.....	0,096g
Eau distillée.....	1000ml

8. Solution 0.02N NaOH

Utilisée dans la solution d'ampicilline.

NaOH.....	0, 2g
Eau distillée.....	250ml

9. Milieu Vogel-Bonner E (50x)

Utilisée comme sel dans GM

Sulfate de magnésium (MgSO ₄ , H ₂ O).....	10g
Acide citrique.....	100g
Phosphate de potassium dibasique (K ₂ HPO ₄).....	500g
Sodium ammonium phosphate (NaH ₂ NH ₄ PO ₄ , 4H ₂ O).....	175g
Eau distillée.....	670ml

10. Top agar

Utilisée dans le test de mutagenèse

Agar.....	6g
Chloride de sodium (NaCl).....	6g
Histidine/Biotine (0,5mM).....	100ml
Eau distillée.....	900ml

Autoclavé à 120°C pendant 30 minutes.

11. Solution biotine (0.01%)

Enrichir le master plate GM pour le contrôle des contraintes.

D-biotine.....	0, 01g
Eau distillée.....	100ml

La filtration a été effectuée avec un filtre stérile de 0,45 μ m .

12. Solution Histidine (0.5%)

Enrichir le master plate GM pour vérifier la contrainte.

L-histidine.....	500mg
Eau distillée.....	100ml

Autoclavé à 120°C pendant 30 minutes.

13. Milieu Histidine/biotine/ampicilline/tétracycline

Utilisée dans le test de réclamation de l'Histidine

Agar	15g
Eau distillée.....	900ml
50x VB sels.....	20ml
20% Glucose.....	50ml
Histidine (0,5%).....	8ml
Biotine (0,01%).....	8ml
Ampicilline (0,8/0,2% NaOH).....	3ml
Tétracycline (0,8/0,02% Hcl).....	0.25ml

14. Milieu de culture GN

Pour l'identification des caractères génétiques

Eau distillée.....	1000ml
Agar.....	15g

15. Tampon phosphate de sodium 0.1Mm, pH 7,4

Pour tester les produits chimiques en absence d'activation métabolique

0.1M phosphate de sodium, monobasique (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O).....	60ml
(13.8g/500ml)	
0.1M phosphate de sodium, dibasiques (Na ₂ HPO ₄ .H ₂ O)	440ml
(14.2g/500ml).	

Résumé

Dans ce travail nous avons évalué les pouvoirs génotoxique et mutagène du corned-bœuf, comme exemple de la viande transformée et ceci en utilisant le test d'Ames sans activation métabolique (les souches de *Salmonella typhimurium* TA102 et TA1535).

Pour l'extraction, nous avons utilisé quatre solvant de polarité différente (méthanol, le mélange méthanol-chloroforme, hexane, acétate d'éthyle).

Les résultats du test ont montré que les quatre extraits de corned-bœuf révèlent une activité mutagène vis-à-vis des souches test. Cette activité est due vraisemblablement de sous-produits issus de la transformation qui contiennent des dérivés de nitrites et nitrates qui selon la littérature ont une activité génotoxique.

Mots clés : Corned-bœuf, test Ames, effet mutagène, effet génotoxique, extrait, cancérigène.

Abstract

In this work we evaluated the genotoxic and mutagenic powers of corned beef, as an example of the processed meat, using the Ames test without metabolic activation (strains of *Salmonella typhimurium* TA102 and TA1535).

For extraction, we used four different polarity solvents (methanol, methanol-chloroform, hexane, ethyl acetate).

The results of the test showed that the four corned beef extracts revealed mutagenic activity with respect to the test strains. This activity is probably due to processing byproducts that contain nitrite and nitrate derivatives which, according to the literature, have a genotoxic activity.

Keywords: Corned beef, Ames test, mutagenic effect, genotoxic effect, extract, carcinogenic

ملخص

في هذا العمل قمنا بتقييم القوى السمية الوراثية والمطفرة للحم البقري المحفوظ، كمثال على اللحم المعالج وذلك، باستخدام اختبار Ames بدون تنشيط الأيض (سلالات *Salmonella typhimurium* TA102 وTA1535).

عملية الاستخلاص تمت باستخدام أربعة مذيبيات قطبية مختلفة (ميثانول، ميثانول كلوروفورم، هكسان، أسيتات إيثيل).

أظهرت نتائج الاختبار أن مستخلصات اللحم البقري المحفوظ الأربعة كشفت عن نشاط مطفر. حيث يفترض أن يكون هذا النشاط ناتجًا عن منتجات المعالجة الثانوية التي تحتوي على مشتقات النتريت والنترات والتي، وفقًا للأبحاث في هذا المجال، لها نشاط جيني سمي.

الكلمات المفتاحية: لحم بقري محفوظ، اختبار Ames، تأثير طافر، تأثير سمي جيني، مستخلص، مادة مسرطنة.