

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/Biologie moléculaire des procaryotes

Département : Biologie

**Thème : Génotoxicité des denrées alimentaires transformées
cas des viandes rouges**

Présenté par :

- Boudouda Amira
- Chouini Rahma
- Laouier Zakiya Asma

Devant le jury composé de :

Président : Mme. Khallef M .	(M.C.B)	Université de Guelma
Examineur : Mlle. Merabet R .	(M.A.A)	Université de Guelma
Encadreur : Mr. Benouareth D. E.	(Pr.)	Université de Guelma
Co promoteur : Dr .Tabet M .		

Juin 2016

Remerciements

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

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

Nous tenons aussi à remercier vivement Mlle Tabet Mouna pour son soutien et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Mme khallel pour son aide et ses précieux conseils.

Nos remerciements s'adressent aussi à Dr Harridi Fatama Zohra et Mr Chouini Larbi pour l'aide qui nous ont apporté.

Nous souhaitant adresser nos remerciements à la technicienne du laboratoire de microbiologie Mme Hassiba pour son soutien moral, et son aide tout au long la période du travail.

On tient à exprimer nos considérations à Mme Khallel et Mlle Merabet d'être parmi nos membres de jury.

Nos remerciements bien sûr à nos parents, nos frères et sœurs, pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes.

Liste des abréviations

ACIA : Agence canadienne d'inspection des aliments

ADN : Acide-désoxyribonucléique

AFSCA : Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire

AHCs : Amines hétérocycliques

ARN : Acide ribonucléique

Bio : Biotine

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

CV : Cristal violet

E205 : Nitrite de sodium

E251 : Nitrate de sodium

EUFIC : Le conseil européen de l'information sur l'alimentation

FAO: Food and agriculture organization

GMA: Gélose minimal agar

GN: Gélose nutritive

HAP: Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HCL : Acide chlorhydrique

His: Histidine

MB : Master black

OMS : Organisation mondiale de la santé

pH : Potentiel d'hydrogène

UV: Ultra-violet

VB: Vogel Bonner

Liste des figures

Figure 1 :	Les différentes denrées alimentaires	3
Figure 2 :	Viande transformée	6
Figure 3 :	Découpage de la viande	8
Figure 4 :	Hachage de la viande	8
Figure 5 :	La salaison de la viande	9
Figure 6 :	Fumage de la viande	10
Figure 7 :	Cuisson de la viande	11
Figure 8 :	Les différents types de lésions primaires	12
Figure 9 :	L'activation des substances génotoxiques	13
Figure 10 :	Principe du test d'Ames	16
Figure 11 :	Mutagenèse et cancérogenèse	17
Figure 12 :	Structure de colon rectum	19
Figure 13 :	Développement du cancer colorectal	19
Figure 14 :	Processus multi-étape de développement d'un cancer	20
Figure 15 :	L'échantillon a testé	22
Figure 16 :	Protocole du test de mutagenèse	26
Figure 17 :	Réclamation de l'Histidine	27
Figure 18 :	La sensibilité aux UV	28
Figure 19 :	La résistance et la sensibilité des souches à l'ampicilline et au CV	28
Figure 20 :	Résultats du test d'Ames pour la souche TA98	29
Figure 21 :	Résultats du test d'Ames pour la souche TA100	30

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Développement chronologique des techniques de transformation des aliments	5
Tableau 2 :	Les principaux composants de la viande rouge	7
Tableau 3 :	Les effets des agents génotoxiques sur la santé	14
Tableau 4 :	Les caractères génotoxiques des souches	23
Tableau 5 :	Résultats du test d'Ames sans activation métabolique	2

Sommaire

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

Partie bibliographique

Chapitre I : Denrées alimentaires transformées

1. Généralité sur les denrées alimentaires transformées	3
1.1. Définition	3
1.2. Différents méthodes de transformation	4
1.2.1. Méthodes traditionnelles	4
1.2.2. Nouvelle technologies	4
1.3. Effets de la transformation sur la qualité nutritionnelle	5
2. La viande transformée	6
2.1. Définition	6
2.2. Composition de la viande	7
2.3. Valeur nutritionnelle de la viande	7
2.4. Les différentes techniques de la transformation de la viande	7
2.4.1. Découpage, broyage et hachage	7
2.4.2. Salaison	9
2.4.3. Maturation	9
2.4.4. Séchage et Fermentation	9
2.4.5. Fumage	10
2.4.6. Stérilisation	10
2.4.7. Cuisson	11

Chapitre II : Risques génotoxiques des viandes transformées

1. La génotoxicité	12
1.1 Définition de la génotoxicité	12
1.2. Agents génotoxiques	12
1.2.1. Nitrate de sodium	13
1.2.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les Amines hétérocycliques	14
1.2.3. Traces d'antibiotiques	14
1.3. Test de génotoxicité	15
1.3.1. Test d'Ames	15
1.4. Mutagénèse et cancérogénèse	17
2. Cancer colorectal	18
2.1. Viande transformée et le cancer	18
2.2. Définition du cancer	18
2.3. Définition du cancer colorectal	18
2.3.1. Facteurs de risque du cancer colorectal	19
2.3.2. Développement du cancer du colon	19
2.3.3. Etapes de la cancérogénèse	20
2.3.4. Réaction de nitrosation et nitrosylation des composés N-nitrosé dans le colon	20

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Test d'Ames	21
1. Matériel biologique	21
2. Souches test	23

3. Réalisation du test	24
3.1. Activation des souches de <i>S. typhimurium</i> (TA100 et TA98)	24
3.2. Vérification des caractères génétique	24
3.2.1. La culture	24
3.2.2. Réclamation de l’Histidine	24
3.2.3. La résistance aux ultras violets	24
3.2.4. La résistance à l’ampicilline et la sensibilité au Cristal violet	25
4. La procédure du test d’Ames	25

Chapitre IV : Résultats et discussion

Résultat du test d’Ames	27
1. Confirmation des caractères génétiques	27
1.1. Réclamation de l’Histidine	27
1.2. Sensibilité aux ultras violets	28
1.3. La résistance à l’ampicilline et la sensibilité au Cristal violet	28
2. Résultats du test d’Ames	29
Conclusion et perspectives	32

Références bibliographique

Annexes

Résumé

Introduction

Introduction

La viande est un aliment de valeur, elle est parmi les aliments les plus consommés. Depuis des milliers d'années, l'homme comme être omnivore n'a cessé d'augmenter sa consommation en viande. C'est un aliment caractérisé par un goût et une valeur nutritionnelle importante. C'est une source de protéines, de vitamines et de fer (Dupin, 1992). D'ailleurs, ce sont les composants essentiels pour la santé de l'homme.

Au cours de ces dernières années, l'homme a développé des techniques qui lui ont permis de transformer la viande pour lui assurer une grande longévité de conservation ainsi que le rehaussement et l'amélioration de sa saveur pour répondre aux goûts des consommateurs (OMS, 2016).

Également, la viande est un aliment qu'on trouve dans la plupart des menus. Comme variété de ces viandes, les viandes transformées occupent actuellement une place importante dans les menus.

Avec la grande consommation des viandes rouges et des viandes transformées, plusieurs études scientifiques considèrent ces viandes comme une menace avérée à long terme pour l'organisme au même titre que la cigarette et l'alcool (OMS, 2016). Ces études ont démontré qu'il existe des liens entre la consommation de ces produits transformés et l'apparition de plusieurs types de cancers.

Ainsi, l'ajout des nitrates et nitrites de sodium dans la transformation des viandes renforce le risque de contracter le cancer. Également les différentes méthodes de cuisson conduisant à la formation des hydrocarbures aromatiques polycycliques et les amines hétérocycliques qui sont des sous-produits considérés comme génotoxiques.

L'objectif de cette étude est d'évaluer le pouvoir mutagène de plusieurs types de viande transformée (merguez, cachir de bœuf, corned bœuf et la viande surgelée). Pour ce faire, le test d'Ames a servi pour cette évaluation.

Notre étude se compose de deux parties distinctes, la partie bibliographique, la partie expérimentale.

1. La partie bibliographique comporte deux chapitres. Le premier traite les techniques de transformation de la viande. Quant au second chapitre, il examine les risques génotoxiques liés à la viande transformée et les conséquences qui en résultent de cette transformation.

2. La partie expérimentale commence par la présentation du matériel utilisé et la méthode suivie durant notre étude, suivie par les résultats obtenus à travers des interprétations et des discussions.

Chapitre I :
Denrées
alimentaires
transformées

1. Généralités sur les denrées alimentaires transformées

1.1 Définition

Nous transformons tous les aliments lorsque nous préparons les repas. Pratiquement tous les aliments subissent une transformation avant d'être prêts à être consommés. Certains aliments sont du reste dangereux, s'ils ne sont pas au préalable correctement transformés.

La définition la plus élémentaire de la transformation alimentaire montre que l'alimentation, c'est « une chaîne d'opérations visant à rendre les denrées alimentaires brutes propres à la consommation par la cuisson ou le stockage » (Bricas, 1998). La transformation des aliments englobe toute action transformant ou convertissant des matières végétales ou animales brutes en produits alimentaires mangeables et savoureux (Michael et Latham, 2001).

Par ailleurs, dans la fabrication alimentaire à grande échelle, la transformation implique l'application de principes scientifiques et technologiques qui peuvent ralentir ou freiner les processus naturels de décomposition en vue de la conservation d'aliments.



Figure 1 : Les différentes denrées alimentaires (Macevilly et Peltola, 2003).

On entend ainsi, par denrée alimentaire (Fig.1) toute substance non transformée, partiellement transformée ou transformée (AFSCA, 2016). Or la transformation de ces derniers, inclue à la fois des techniques traditionnelles et des techniques industrielles modernes.

La transformation des aliments est souvent teintée d'une connotation négative, qui nous laisse penser que les aliments transformés sont inférieurs dans une certaine mesure, aux

aliments non transformés. On constate dès lors que la transformation peut améliorer mais aussi dégrader.

La valeur nutritionnelle des aliments et souvent les deux à la fois. La transformation permet d'une part de conserver les nutriments qui auraient été perdus pendant le stockage et d'autre part, elle satisfait les besoins et les goûts des consommateurs et aussi le choix d'aliments ne serait pas limité par les saisons (Henry et Chapman, 2002).

1.2. Les différentes méthodes de transformation

1.2.1. Méthodes traditionnelles

Les êtres humains transforment les aliments depuis plusieurs siècles (Tab.1) les techniques traditionnelles les plus anciennes étaient :

- Le chauffage qui consiste à amener la température de l'aliment à un niveau permettant d'inhiber le développement des bactéries.
- Le refroidissement permet la réduction de ralentir la détérioration de l'aliment, soit en retardant le développement bactérien, soit en désactivant les enzymes provoquant leur dégradation.
- Le séchage réduit le contenu en eau des aliments végétaux jusqu'à ce que les réactions biologiques soient inhibées (EUFIC, 2010).
- Les additifs alimentaires tels que l'adjonction de sucre ou de sel aux aliments sont utilisés comme méthode de conservation de la nourriture. Elle repose sur le principe que les additifs réduisent l'activité des microorganismes dans les aliments conservés, ce qui empêche le développement des organismes responsables de leur détérioration. Les additifs peuvent être naturels ou artificiels, leurs types et leurs quantités contenus dans les aliments sont strictement limités et tout additif doit figurer sur la liste des ingrédients figurant sur l'emballage (Mills *et al.*, 2009).

1.2.2. Nouvelles technologies

Ces technologies visent à produire des aliments avec une qualité nutritionnelle supérieure et de conservation élevée. Ces nouvelles technologies sont :

- Traitement aux micro-ondes qui consiste en un chauffage par radiation.
- L'irradiation, c'est le traitement par rayonnement ionisant qui permet d'agir sur les processus biologiques et de les interrompre afin d'augmenter la durée de conservation des

produits frais. Les effets biologiques bénéfiques de l'irradiation sont l'inhibition de la germination, le retardement du mûrissement et l'élimination des insectes.

- Le chauffage ohmique, méthode à haute température et de courte durée qui respecte la structure délicate de certains aliments.

- L'ultra haute pression permet l'inactivation des microorganismes et de conserver les vitamines, pigments et les composants de saveur (Paschke, 2009).

Tableau 1: développement chronologique des techniques de transformation des aliments

(EUFIC, 2010).

Transformation traditionnelle	Procédés plus récents (à partir de 1900)	Techniques modernes (après 1960)
Mise en conserve Fermentation Congélation	Cuisson-extrusion	Traitement par micro-ondes
Mise en saumure	Stérilisation	Traitement par micro-ondes
Salaison	Ultra Haute Température (UHT)	Chauffage ohmique
Fumage		Lyophilisation
Séchage au soleil		Champs électriques pulsés

1.3 Effets de la transformation sur la qualité nutritionnelle

La transformation des aliments peut entraîner une amélioration ou une détérioration de la valeur nutritionnelle de tous les aliments. Les simples procédés de préparation dans la cuisine domestique mènent inévitablement à une dissolution des vitamines et minéraux essentiels. Cependant, si nous prenons garde de la façon dont nous transformons les aliments et que nous sélectionnons une nourriture transformée diversifiée, celle-ci peut jouer un rôle important dans un régime nourrissant et équilibré.

À la différence de l'environnement domestique, les fabricants ont à leur disposition des méthodes de transformation rapides qui entraînent un minimum de pertes de nutriments. De plus les procédés auxquels, ils ont recours leur permettent de libérer des nutriments positifs ou d'éliminer les composants inquiétants (Paschke, 2009).

2. La viande transformée

2.1 Définition

La viande rouge fait référence à tous les types de viande issus des tissus musculaires de mammifères comme le bœuf, le veau, le porc, l'agneau, le mouton, le cheval et la chèvre, etc...) (OMS, 2016). Elle est dite transformée lorsqu'elle subit des transformations pour étendre sa durée de conservation et rehausser sa saveur. La plupart des viandes transformées (Fig.2) contiennent du porc ou du bœuf. Mais elles peuvent également contenir d'autres viandes rouges, de la volaille, des abats ou des sous-produits carnés comme le sang.



Figure 2 : viande transformée (CIRC, 2015).

Transformer la viande bovine, c'est la passer simplement dans un hachoir ; mais cela ne signifie pas que la viande est transformée à moins qu'elle soit modifiée par la suite. La viande transformée comprend le bacon, les saucisses, hot-dogs, salami, corned bœuf, viande de bœuf séchée, le jambon ainsi que des conserves de viande et les sauces à base de viande. Les principales méthodes utilisées sont la salaison, la maturation, la fermentation, la fumaison ou tous autres processus mis en œuvre pour altérer son goût ou sa conservation (OMS,2016).

2.2 Composition de la viande

La viande est riche en nutriments importants comme les protéines, le fer et les vitamines (Tab.2), consommée avec modération elle a donc son rôle à jouer dans un régime alimentaire équilibré.

Tableau 2 : Les principaux composants de la viande rouge (Jacotot *et al.*, 1983).

Les composants	Le pourcentage
Eau	75 %
Protéine	18.5 %
Lipides	3%
Substances azotées non protéiques	1.5%
Glucides et catabolites	1%
Composés minéraux	1%

2.3 Valeur nutritionnelle de la viande

Les viandes ont pour principal intérêt nutritionnel l'apport en protéines et en fer, elle apporte également des acides aminés essentiels. La viande rouge est également une source importante de vitamines du groupe B, notamment la vitamine B12 antianémique. La viande apporte également des quantités notables en lipides et en cholestérol (Dupin, 1992).

2.4 Les différentes techniques de transformation de la viande

La technologie de transformation de la viande consiste en techniques et procédures conduisant à la fabrication de produits traités à base de celle-ci.

2.4.1. Découpage, broyage et hachage

Les opérations de découpage (Fig. 3), désossage, tranchage des produits 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. Le hachage (Fig.4) et le broyage de la viande est la séparation mécanique, le déchiquetage et le moulinage (ACIA, 2014).



© Can Stock Photo - csp17581471

Figure 3 : Découpage de la viande (ACIA, 2014).



Figure 4 : Hachage de la viande (ACIA, 2014).

2.4.2. Salaison

La salaison (Fig.5) est l'une des méthodes anciennement utilisées. Elle consiste à l'incorporation du sel qui joue des rôles multiples. Il est associé à divers ingrédients ou additifs tel que les nitrates, les nitrites et les polyphosphates, il est généralement accompagné d'un ou plusieurs autres traitements comme la fermentation, séchage, cuisson et fumage (Girard, 1988).



Figure 5 : la salaison de la viande [1].

2.4.3. Maturation

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 nous procédons à la maturation des carcasses de cette manière, il faut porter une attention particulière à la température et au niveau de l'humidité pour empêcher le développement de la moisissure (ACIA, 2014).

2.4.4. Séchage et fermentation

La mise au sel, que ce soit à sec ou en saumure liquide, assèche les viandes. C'est un premier facteur de conservation. Le sel est aussi un antiseptique mais, en plus de réprimer les germes d'altération, il a pour effet d'extraire les nutriments favorables à la croissance des ferments lactiques naturellement présents dans la viande. Or, ces ferments qui résistent bien aux milieux salés, détruisent les bactéries pathogènes en produisant de l'acide lactique.

2.4.5. Fumage

L'opération de fumage (Fig.6) sert à sécher et fumer les viandes pour une conservation durable grâce à l'action combinée de la déshydratation et des antiseptiques contenus dans la fumée. Mais aujourd'hui, le fumage est pratiqué pour ses saveurs, la coloration ambrée et les modifications de texture qu'il apporte au produit. On cherche donc à acquérir des fumages équilibrés (Nout, 2003).



Figure 6 : Fumage de la viande [2].

2.4.6. Stérilisation

La stérilisation est un excellent moyen de conservation des viandes. Pour se faire, on procède par deux techniques, cuire puis stériliser ou cuire et stériliser directement dans la conserve. Pour braiser les viandes, on cherche surtout à obtenir la teneur en eau convenable, la cuisson dans la conserve est souvent supérieure aux cuissons à l'air libre puisque on constate que le fumet et le jus se concentrent. La viande naturelle se garde longtemps sans perte de saveur (Nout, 2003).

2.4.7. Cuisson

La cuisson (Fig.7) est le traitement le plus souvent appliqué aux viandes et produits carnés dans une phase ultime de préparation avant la consommation. Ce traitement thermique ménager ou industriel est considéré comme une opération de transformation à part entière. Cette technique fait intervenir des transferts de chaleur, des transferts de matière et des réactions physiques, chimiques, biochimiques et microbiologiques qui ont des conséquences énormes sur les propriétés et la qualité de produit (Girard, 1988).



Figure 7 : Cuisson de la viande (Simmonds, 2015).

Chapitre II :
Risques
généotoxiques des
viandes
transformées

1. La génotoxicité

1.1 Définition de la génotoxicité

La génotoxicité se définit comme la capacité de certains agents génotoxiques à induire des dommages à l'ADN pouvant conduire à des mutations géniques ou chromosomiques ces agents sont qualifiés de mutagènes. Ces dommages, une fois installés dans le génome, peuvent avoir des conséquences délétères sur la santé des organismes exposés et/ou de leur descendance : mortalité embryonnaire, malformations congénitales, infertilité, cancers, si ces lésions ne sont pas réparées. En raison de la grande variété de structures et de modes d'action des substances génotoxiques, il existe un grand nombre de dommages à l'ADN possibles. Ces altérations structurales de l'ADN appelées lésions primaires (Fig.8) concernent : les modifications des bases constitutives de l'ADN, des cassures affectant un seul ou les deux brins de l'ADN, adduits, les pertes, les insertions ou les modifications d'une ou de plusieurs bases de l'ADN et pontages intra ou inter-brins. (Cachot et Cailleaud, 2009).

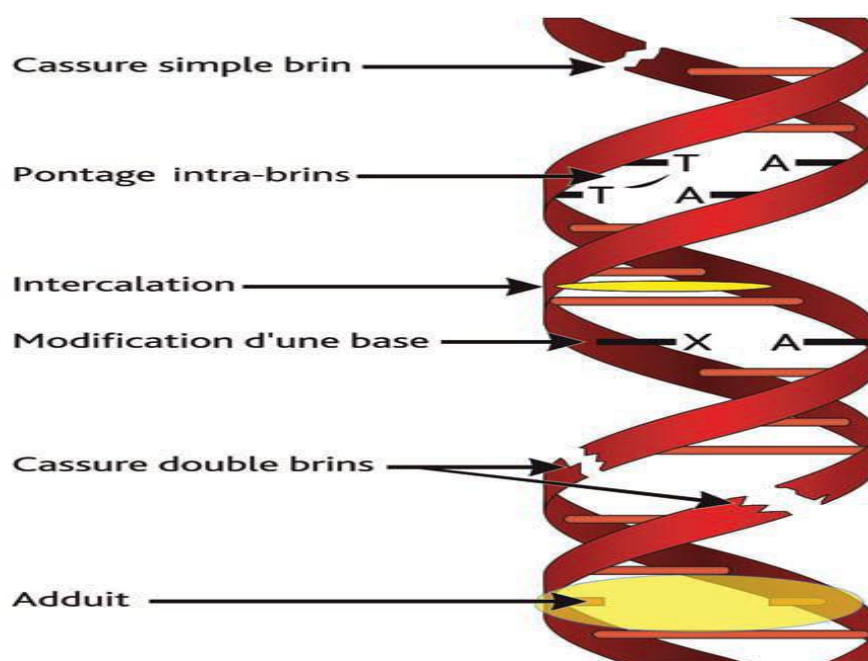


Figure 8 : Les différents types de lésions primaires (Cachot et Cailleaud, 2009).

1.2 Agents génotoxiques

Les agents génotoxiques peuvent être de nature physique, chimique ou biologique, il existe deux sortes d'agents génotoxiques, les génotoxiques directs qui sont capables de modifier directement la structure de l'ADN, et ceux que l'on appelle des progénotoxiques qui

nécessitent une activation métabolique préalable avant de pouvoir exercer leurs effets génotoxiques. On parle dans ce cas de processus de bio activation.

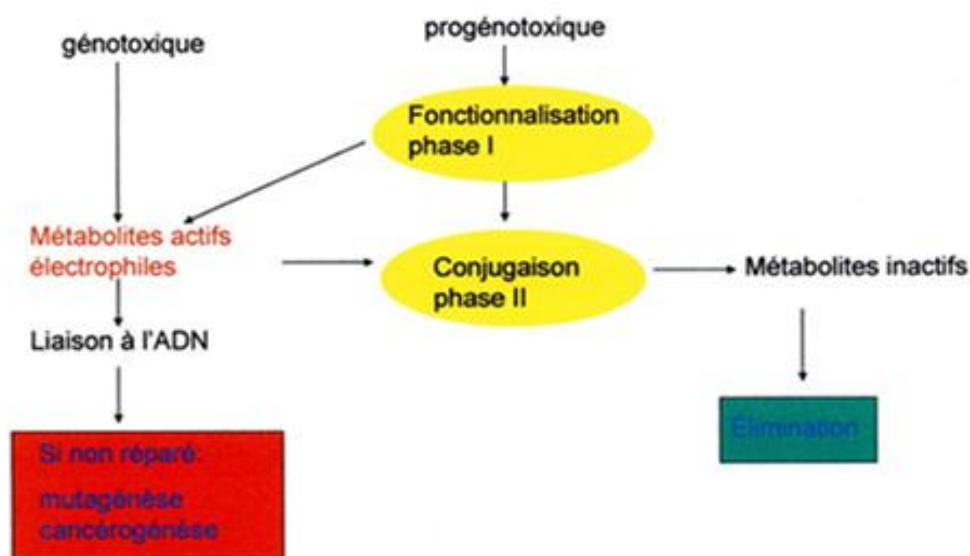


Figure 9 : L'activation des substances génotoxiques (Cachot et Cailleaud, 2009).

1.2.1. Nitrate et Nitrite de sodium

Les nitrates et nitrites de sodium sont largement utilisés dans la fabrication des charcuteries. Ceux-ci sont principalement utilisés comme un colorant alimentaire (E250, E251), agent antimicrobien, et fixateur de couleur qui fait croire que la viande est fraiche et la conserve. Or le nitrate et le nitrite de sodium se combinent avec les protéines de la viande pour donner des nitrosamines, hautement cancérigènes (Magdelaine, 2015).

Les nitrates et les nitrites utilisés dans la fabrication des produits transformés vont conduire à des réactions de nitrosation ou de nitrosylation en fonction du pH.

Les réactions de nitrosation : conduisent à la formation de nitrosamines ou de nitrosamides, il s'agit de l'ajout d'ions nitrosonium NO^+ sur une amine ou un amide. L'hème contenu dans les viandes rouges, est un cofacteur qui catalyserait cette réaction.

Les réactions de nitrosylation : dans la viande rouge, on retrouve des nitrosamines ou des nitrosamides car le pH est acide alors que les charcuteries, qui présentent un pH plus élevé que la viande rouge, vont être un support de réactions de nitrosylation. Les nitrites, utilisés sous forme d'acide nitreux, favorisent ce type de réaction (Malric, 2013).

1.2.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les amines hétérocycliques

La cuisson des viandes rouges provoque la formation d'amines hétérocycliques (AHCs) et d'hydrocarbures aromatiques polycycliques. Ces composés sont mutagènes et Cancérigènes et peuvent agir au niveau de la muqueuse colique (Stantarelli, 2010).

Les amines hétérocycliques et les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des Composés hautement cancérigènes chez les rongeurs, modèles expérimentaux de l'Homme (Sugimura *et al.*, 2004), et chez les singes. Leur présence dans la viande consommée augmente sous l'effet de la chaleur ce qui entraîne la formation d'une grande quantité de ces composés. De nombreuses études épidémiologiques ont établi un lien entre ces derniers et le cancer colorectal. (Zheng et Lee, 2009).

1.2.3. Traces d'antibiotiques

Les antibiotiques sont utilisés pour soigner des animaux infectés par des bactéries pathogènes, après la guérison de l'animal il est amené à l'abattoir mais ces chairs gardent des traces d'antibiotique dans les tissus et les aliments produits par ces animaux (Tab.3).

La présence de résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale peut être l'origine d'allergies, de cancers et de modifications de la flore intestinale (Mensah *et al* 2014).

Tableau3 : Effet des agents génotoxiques sur la santé (Stantarelli, 2010; Malric, 2013; Mensah, 2014).

Agents génotoxiques	Effet sur la santé
Nitrate et nitrite de sodium	<ul style="list-style-type: none"> ✓ la réduction de l'oxygénation ✓ coloration bleutée de la peau et des muqueuses ✓ l'asphyxie et la mort
Traces d'antibiotique	<ul style="list-style-type: none"> ✓ des modifications de la flore intestinale ✓ effets toxiques ou allergique ✓ La sélection de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques.
Hydrocarbure aromatique polycyclique	<ul style="list-style-type: none"> ✓ diminution de la réponse du système immunitaire ✓ formation des métabolites qui se lie avec ADN,ARN

1 3. Tests de génotoxicité

Pour évaluer le potentiel génotoxiques d'une molécule ou d'une famille de molécules, des tests *in vitro* ont été développés tels que le test d'Ames, le SOS Chromo test, test d'aberration chromosomique, test de micronoyau, test de comète. Ces tests ont permis de démontrer le caractère génotoxiques ou progénotoxique d'un grand nombre de polluants chimiques principalement de nature organique incluant notamment les HAP, les nitrosamines, les amines aromatiques, quelques pesticides, quelques solvants organiques et des molécules utilisées en chimiothérapie (Cachot et Cailleaud, 2009).

1.3.1 Test d'Ames

Le test d'Ames consiste à évaluer si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Ces souches sont porteuses d'une mutation préalablement induite dans un des gènes de la chaîne de biosynthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine, elles sont dites auxotrophes vis-à-vis de l'histidine(His). Le test évalue alors la capacité de la substance toxique à induire une nouvelle mutation dans cette même région de l'ADN qui se traduira par la réversion de l'auxotrophie de la souche bactérienne vis à-vis de l'histidine. Le nombre de clones bactériens His+, dits révertants, ayant poussé au bout de 48h sur le milieu de culture dépourvu d'histidine, est proportionnel au pouvoir mutagène de la substance testée. Les bactéries utilisées sont, contrairement aux cellules eucaryotes, dépourvues de système d'activation métabolique. Afin de pouvoir détecter les génotoxiques indirects dits progénotoxiques, un système d'activation métabolique, la fraction S9, est ajouté au milieu de culture. Cette fraction apporte les enzymes nécessaires (cytochromes P450) à l'activation métabolique des progénotoxiques.

-Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente sont utilisées (Maron et Ames, 1983). Le test réalisé avec et sans activation métabolique, inclut les souches TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537. Ces souches sont porteuses de mutations qui permettent de tester des agents mutagènes variés. En plus de ces mutations spécifiques ces souches possèdent des caractères génétiques, qui permettent d'augmenter leur sensibilité à l'agression génotoxiques (Cachot et Cailleaud, 2009) (Fig.10).

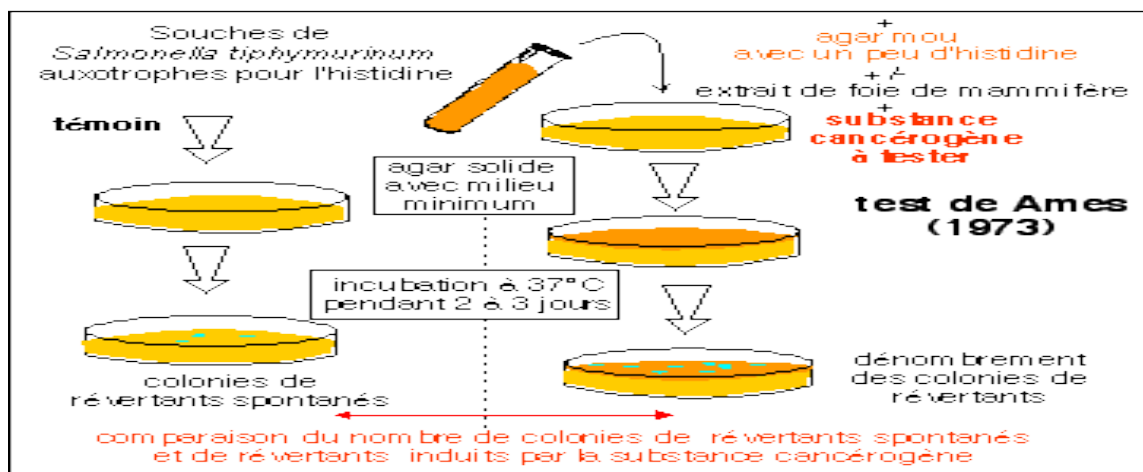


Figure 10 : Principe du test d'Ames (Maron et Ames, 1973).

- **Mutation his D 3052 :** mutation dans TA1538 et TA98, ces bactéries sont déficientes à l'enzyme histidinol déshydrogénase. La TA1538 et sa dérivée r-factor TA98, détectent des mutagènes de type « frameshift ». Cette mutation à la séquence (CGCGCGCG), est reversée par le frameshift (GCGCGCGC-) mutagènes tel que 2-nitrosofluorène et le daunomycine ce qui conduit à la restauration du cadre de lecture correct pour la synthèse de l'histidine.
- **Mutation his G 46 :** mutation présente dans TA100 et TA1535, ces bactéries sont déficientes à la première enzyme qui entre dans la synthèse de l'histidine. Elle est déterminée par la séquence -GGG- CCC-La TA1535 et sa dérivée r-factor TA100, détectent les mutagènes qui causent des substituants des paires de base.
- **Mutation his C 3076 :** C'est une mutation frameshift dans TA1537, elle n'est pas séquencée mais il est connu qu'elle contient une cytosine de plus dans une série d'au moins 4 cytosines.
- **Mutation rfa :** cette mutation cause la perte partielle des polysaccharides à la surface de la barrière cellulaire de la bactérie ce qui augmente sa perméabilité aux grandes molécules qui sont incapables de pénétrer dans la cellule normale.
- **Mutation uvrB :** c'est une délétion du gène codant pour le système de réparation « excision resynthèse », conférant une augmentation de la sensibilité à la détection des mutagènes. Pour des raisons techniques la délétion du gène uvrB s'étend jusqu'au gène biotine et par conséquent, la bactérie est aussi auxotrophe à la biotine pour croître.
- **Plasmide pKM 101 :** Ce plasmide porte le gène de résistance à l'ampicilline, il est présent dans les souches TA98 et TA100. ces souches portant le facteur de résistance se revertent par des mutagènes qui sont faiblement détectés par les autres souches, pKM 101 qui

contient deux gènes amplifiant le processus SOS de réparation responsable de la mutagenèse induite (Tabet, 2015).

Ce test est simple d'exécution, sensible, de coût modique, permet l'analyse d'échantillons variés et a été standardisé. Il donne une réponse semi-quantitative permettant des études comparatives mais aussi des indications mécanistiques en fonction des souches de *S. typhimurium* utilisées. Ce test de mutagenécité in vitro est le plus communément utilisé dans le monde (Cachot et Cailleaud, 2009).

1.4. Mutagenèse et cancérogenèse

La molécule d'ADN est une structure dynamique sujette à de constants changements. Ces variations sont consécutives, d'une part à des erreurs spontanées, d'autre part à des lésions de l'ADN induites par des agents physiques ou chimiques (UV, radiations ionisantes, produits chimiques) qualifiés de génotoxiques. La plupart de ces dommages génétiques sont réparés et sans conséquence. Quelquefois, si le dommage est trop important, les capacités de réparation de la cellule sont dépassées et la cellule peut mourir par apoptose. Cependant, des agressions répétées sur le génome augmentent la probabilité de survenue de lésions irréversibles et peuvent être à l'origine de l'initiation d'un processus cancérogène (Fig.11) (Gwenaëlle, 2008).

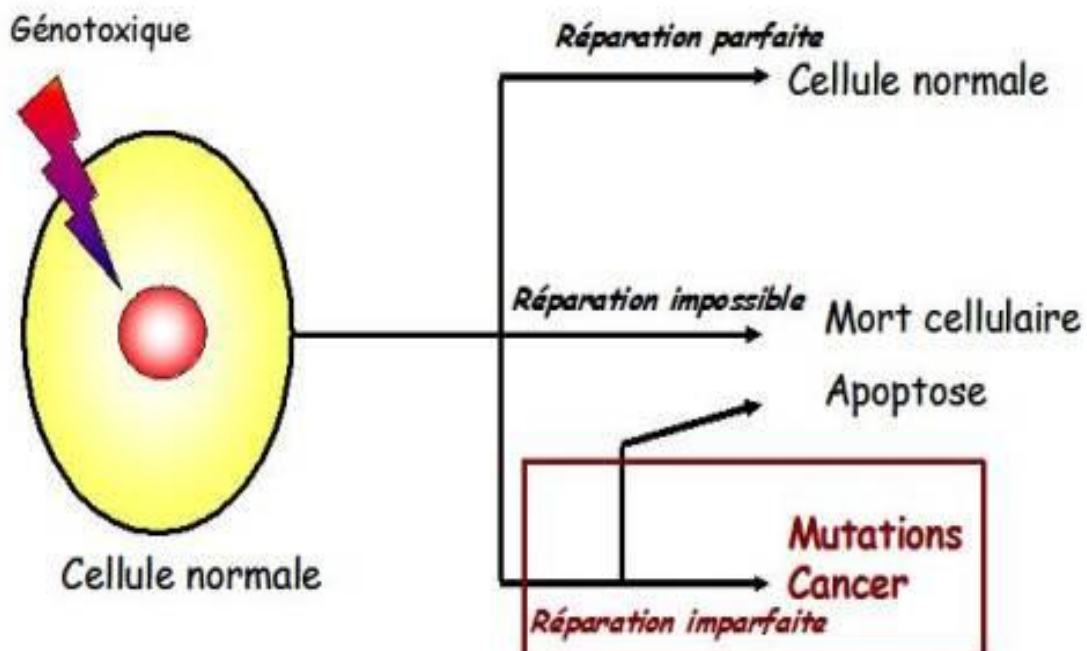


Figure 11 : Mutagenèse et cancérogenèse (Gwenaëlle, 2008).

2. Cancer colorectal

2.1. Viande transformée et le cancer

Les deux termes, cancérigène ou cancérogène sont souvent employés indifféremment l'un pour l'autre. Néanmoins, cancérogène désigne plutôt ce qui favorise l'apparition d'un cancer tandis que cancérigène désigne davantage ce qui favorise le développement d'un cancer.

Selon la classification de l'Organisation mondiale de la Santé la viande rouge est probablement cancérogène alors que la viande transformée est certainement cancérogène. Les produits carnés transformés ont été placés dans le Groupe1 étant donné que des preuves scientifiques affirment qu'ils provoquent certainement le cancer. Le groupe 1 comprend notamment le tabac, l'alcool et le plutonium. La viande rouge est cependant dans le groupe A2, parce que l'OMS estime qu'il n'y a pas suffisamment de preuves pour se prononcer de façon définitive (OMS, 2016).

L'OMS, via le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), classe les agents dans l'un des cinq groupes :

Groupe1 : agents cancérogènes certains pour l'homme.

Groupe2A : cancérogène probable pour l'homme.

Groupe3B : cancérogène possible pour l'homme.

Groupe 3 : inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'homme.

Groupe 4 : probablement non cancérogène pour l'homme (OMS, 2016).

2.2. Définition du cancer

Un cancer est une prolifération anormale et incontrôlée de certaines cellules, qui se divisent jusqu'à former une tumeur. En temps normal, la division est régulée par des gènes dits (suppresseurs de tumeurs) ou (anti-oncogènes) qui empêchent la cellule de trop se diviser en contrôlant le cycle cellulaire (Erson et Petty, 2006).

2.3. Définition du cancer colorectal

Le cancer colorectal ou cancer du gros intestin est une tumeur maligne de la paroi du côlon ou du rectum (Fig.12). Le côlon et le rectum constituent la dernière partie du tube digestif.

D'après Garland (2007) une tumeur est une prolifération de cellules anormales qui crée une excroissance qui va peu à peu obstruer le côlon.

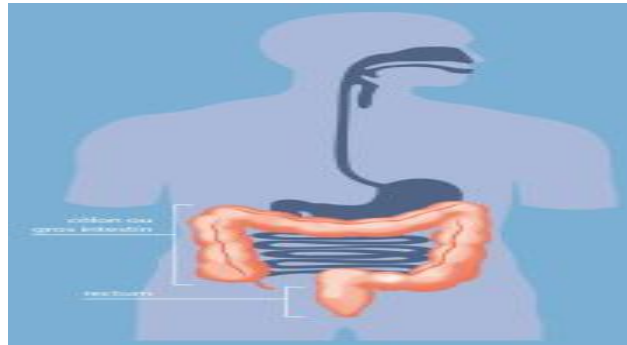


Figure 12 : structure du colon rectum (Garland, 2007).

2.3.1 Facteurs de risque du cancer colorectal

Il existe deux facteurs qui augmentent le risque du cancer colorectal :

Facteurs individuels : l'âge est un facteur de risque de cancer colorectal, Le risque augmente à partir de 50 ans jusqu'à 80 ans à cause de la consommation de graisse ou de viande, le risque augmente chez les personnes souffrant de l'obésité et les maladies inflammatoires (Blanc et Siproudhis, 2006).

Facteurs génétique : existe dans deux formes de cancers colorectaux la polypose dénominateuse familiale (mutation du gène APC) et le syndrome de Lynch. (Desseigne, 2015).

2.3.2 Développement du cancer du côlon

La consommation de charcuterie est associée au risque du cancer colorectal (Fig.13). Une consommation de 25-30g/j de charcuterie augmente le risque du cancer colorectal de 9 à 49%, alors que la consommation de 100-120g/j de viandes rouges l'augmente de 17 à 24%. Le risque attribué à la consommation de charcuteries est donc plus fort que celui attribué à la consommation de viande rouge (Santarelli, 2010).

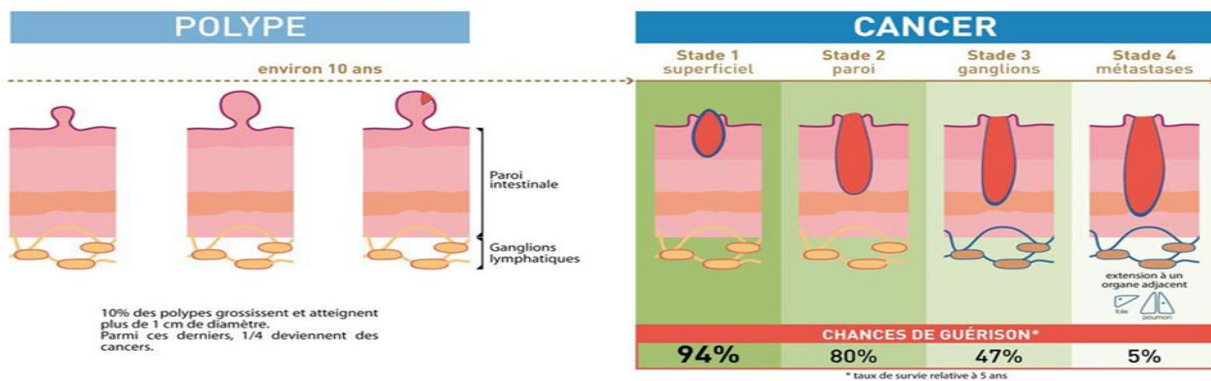


Figure 13 : le développement du cancer colorectal (Garland, 2007).

2.3.3. Etapes de la cancérogénèse

La cancérogénèse est définie comme la succession de plusieurs mécanismes responsables de l'apparition et du développement d'une tumeur on distingue quatre phases (Fig.14) :

- ❖ **Phase d'initiation** : Elle résulte d'une interaction entre un agent cancérogène et matériel génétique de la cellule. Suite à cette interaction, une lésion de l'ADN se forme et induit une mutation consécutive à l'absence de réparation de l'ADN ou à une réparation incomplète ou non efficace. Certains gènes, dits « suppresseurs » de tumeurs, permettent de limiter l'apparition des tumeurs. Cependant, lorsqu'ils sont mutés, ils deviennent des oncogènes : sans leur action limitative, les cellules anormales se multiplient.
- ❖ **Phase de promotion** : Elle résulte de la prolifération des cellules anormales sous l'action d'un agent promoteur. Lorsque l'action de ce dernier disparaît, ses effets disparaissent.
- ❖ **Phase de progression** : Les cellules tumorales se développent sous l'effet de Mécanismes mal connus et envahissent les tissus adjacents.
- ❖ **Phase d'invasion** : Les cellules tumorales disséminent dans le sang ou la lymphe et forment des métastases qui vont atteindre d'autres organes (Malric, 2013).

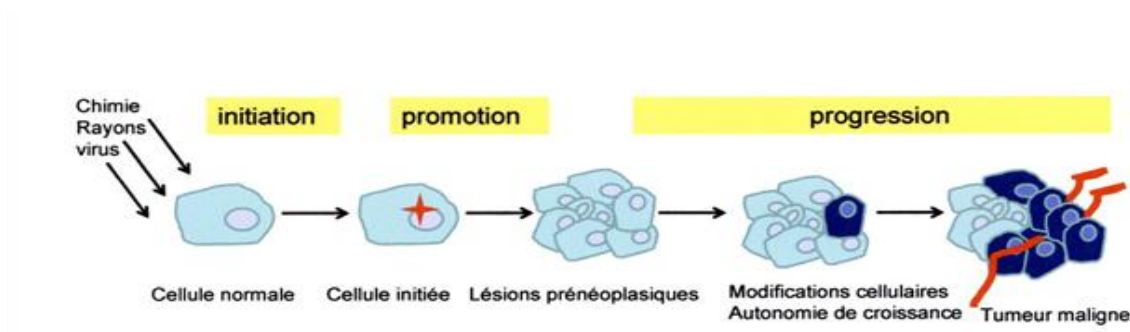


Figure 14: Processus multi-étape du développement d'un cancer (Garland, 2007).

2.3.4 Réaction de nitrosation et de nitrosylation des composés N-nitrosé dans le côlon

Les conditions anaérobiques ainsi que l'augmentation du pH induisent une dissociation des composés S-thionitrosés en disulfiques et en oxyde d'azote. L'hème issu de l'alimentation est présent au niveau colique peut donc être nitrosylé.

Certaines nitrosamines non absorbées peuvent se retrouver au niveau du côlon, et exercer leur effet potentiellement mutagène sur l'épithélium colique. Elles peuvent aussi induire des adduits à l'ADN. En revanche, le pH du côlon, qui est voisin de la neutralité ne permet pas des réactions de nitrosation (Santarelli, 2010).

Matériel et méthodes

Test d'Ames

1. Matériel biologique

Plusieurs travaux ont évalué le potentiel mutagène de différentes substances chimiques utilisées comme additifs des denrées alimentaires par des tests de génotoxicité; on a choisi le test d'Ames pour estimer le taux de génotoxicité des viandes transformée (Merguez, Cachir de bœuf, Corned bœuf et viande rouge surgelée).

Les composants des échantillons de Merguez Corned-bœuf et Cachir de bœuf

➤ **Merguez**

Normalement, selon (Colas, 2015) le Merguez doit contenir la viande de bœuf 76%, eau, gras de bœuf, viande d'agneau 4%, acidifiants: E326, E262, sel, dextrose de maïs, mélange d'épices et d'arômes cumin, ail, piment de Cayenne), conservateur: E250, antioxydants: E301, E300, colorants: E160c, E120, arômes, boyau naturel.

➤ **Cachir de bœuf**

Selon la composition qui figure sur l'emballage, le Cachir de bœuf testé est composé de viande de bœuf, eau, amidon de maïs, huile végétal, betterave, sel nitrite (0,6% de nitrite de sodium), protéines, extrait d'arômes (Di et Tri phosphates, glutamate monosodique) .

➤ **Corned-bœuf**

Selon la composition qui figure sur l'emballage, le Corned-bœuf testé est composé de viande de bœuf congelée, sel nitrité (0,6% de nitrite de sodium), additifs alimentaires gélifiant (Carraghénane-BPF), stabilisant : (Di, Tri et polyphosphate de sodium) 2000 mg/kg.

➤ **Viande rouge surgelée**

Congélation de la viande rouge (traitement physique).



1



2



3



4



5

Figure 15 : Les échantillons à tester : 1-Viande rouge 2- Merguez 3-Corned-beef 4-Cachir de bœuf
5-viande rouge surgelée.

2. Souches tests

La réalisation du test d'Ames nécessite deux souches bactériennes de *S. typhimurium* (TA98 et TA100) obtenues à partir du département de Biologie (faculté SNV/STU Université 8 mai 1945). Les souches utilisées dans le test sont porteuses d'une mutation dans l'un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine, ce qui les rend incapables de pousser sur un milieu sans histidine (auxotrophe à l'histidine His-), puisqu'elles ne sont plus capables de le synthétiser en plus des mutations spécifiques sur l'opéron His, ces souches possèdent des caractères génétiques qui permettent d'augmenter leur sensibilité à l'agression génotoxique (Tab 4).

Ces souches porte la mutation *rfa* qui affecte les lipolysaccharides de surface ce qui augmente la perméabilité des souches aux grandes molécules.

La présence du plasmide pKM101 dans ces souches leur confèrent une résistance à l'ampicilline, Une mutation par délétion du gène de la biotine rend les souches TA98 et TA100 biotine-dépendantes, et la mutation dans le gène *uvrB*-biotine dans ces souches bloque le processus de réparation par excision-synthèse des lésions de l'ADN (Cheriot, 2007).

Tableau 4 : Caractères génétiques des souches TA98 et TA100 (Cheriot, 2007).

Souches	Génotype	Nature de mutation	Défaut de la membrane lipolysaccharidique	plasmide
TA98	HisD3052	Mutation par délétion	<i>rfa</i>	PKM101
TA100	HisG46	Mutation par substitution de bases	<i>rfa</i>	PKM101

3. Réalisation du test

3.1 Activation des souches de *S. typhimurium* (TA100 et TA98)

❖ La pré culture de nuit

Des colonies ont été isolées à partir d'une gélose sélective Master Black et inoculées dans 5ml de bouillon nutritif, leur incubation se fait à 37°C avec agitation dans un bain Marie pendant 16 h.

3.2 Vérification des caractères génétiques

3.2.1. La culture

20µl de la culture de nuit est ajouté dans 5 ml de bouillon nutritif suivi d'une incubation dans un bain marie avec agitation pendant 2 h à 37°C. Le but de cette culture est d'arriver à la phase exponentielle de croissance.

3.2.2. 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 Gélose Minimale Agar (GMA) contenant obligatoirement la biotine.

- Sur des boites de pétries contenant la Gélose Minimale Agar on a étalé avec un râteau la solution stérile de la biotine.
- Avec un écouvillon on a fait une seule strie de chaque souche (TA100, TA98) sur la surface des boites.
- Sur d'autres boites de pétri contenant la Gélose Minimale Agar on a étalé avec un râteau la solution histidine /biotine et pour chaque souche on a fait une seule strie à l'aide d'un écouvillon sur ces boites.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24h (Maron et Ames, 1983).

3.2.3. La sensibilité aux UV

Le but de ce test est de vérifier l'existence de la mutation uvrB.

Les souches sont déposées en stries sur des boites de pétri contenant la Gélose Nutritive, la moitié de la boite est couverte par une plaque de verre et l'autre moitié est irradiée avec une lampe à UV ($\lambda = 360\text{nm}$) pendant 15 secondes. L'incubation de ces boites se fait à 37°C pendant 24H (Maron et Ames, 1983).

3.2.4 La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au cristal violet (CV)

Il faut s'assurer de la résistance à l'ampicilline pour vérifier la présence du plasmide pKM101 chez la TA98 et TA100 qui est instable. La sensibilité au CV est le résultat de la Mutation rfa. Ces deux caractéristiques sont testées simultanément. On a préparé 3 disques de papier Wattman, chaque disque est déposé sur boîte de gélose nutritive imbibé de 10µl d'une des solutions suivantes :

- Solution à 1mg/ml de CV ;
- Solution à 10 mg/ml d'ampicilline ;
- L'eau distillée stérile est utilisée comme témoin.

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

4. Procédure du test

Les échantillons de la viande transformée (Merguez, Corned -bœuf , Cachir de bœuf et viande rouge surgelée), viande rouge utilisée comme témoin (fig.16) .utilisés pour le test d'Ames ont été immédiatement broyés ensuite filtrés(filtration sous pression) avec un filtre de 0.45 µm afin d'éliminer les germes qui peuvent perturber les résultats (Jolibois *et al.*, 2009).

Le test est réalisé sans activation métabolique les différentes substances mélangées sont (Fig.17) :

- 100 µl de la culture de nuit (TA100 ou TA98).
- 100 µl de l'échantillon à tester (Merguez, Cachir de bœuf, Corned-bœuf, viande rouge surgelée et viande rouge utilisée comme témoin).

Ce mélange est ensuite incubé pendant 25 min à 37 °C puis 2 ml de « top Agar » et 200 µl de la solution histidine/biotine sont ajoutés juste avant dépôt sur les boîtes de Pétri. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 37 °C pendant 48 h (Mortelmans et Zeiger, 2000; Cheriote, 2007).

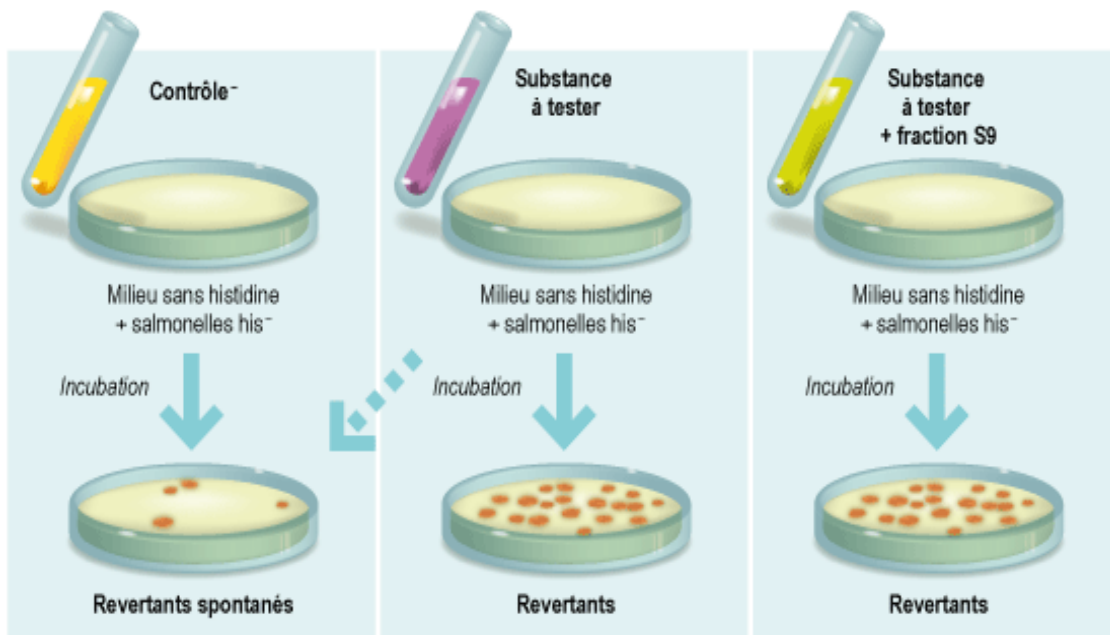


Figure16 : Protocole du test de mutagenèse (test d'Ames) (Mortelmans et Zeiger, 2000).

Le test d'Ames peut être réalisés par activation métabolique ou sans activation métabolique ; Certains composés ne sont mutagènes qu'après activation métabolique ou au contraire sont inactivés lors de leur métabolisation.

Il est donc important de tester le pouvoir mutagène des composés chimiques en présence et en l'absence d'activation métabolique. Les bactéries ne possédant pas de système d'oxydation métabolique, une source exogène d'origine mammifère d'activation métabolique doit être ajoutée lors du contact entre les bactéries et les mutagènes potentiels. Pour cela, un système d'oxydation métabolique extrait de rongeurs a été introduit dans le test d'Ames (Mortelmans et Zeiger, 2000).

Résultats et discussion

Résultats du Test d'Ames

1. Confirmation des caractères génétiques

Les résultats des caractères génétiques des souches *S. typhimurium* (TA100, TA98) sont présentés dans les figures (fig.17, 18, 19).

1.1. Réclamation de l'histidine

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

Ces résultats confirment que les souches sont auxotrophes à l'histidine donc elles possèdent la mutation his G 46 chez la souche TA100 et la mutation his D3052 chez la souche TA98 (Mortelmans et Zeiger, 2000).

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, 1983; Mortelmans et Zeiger, 2000).

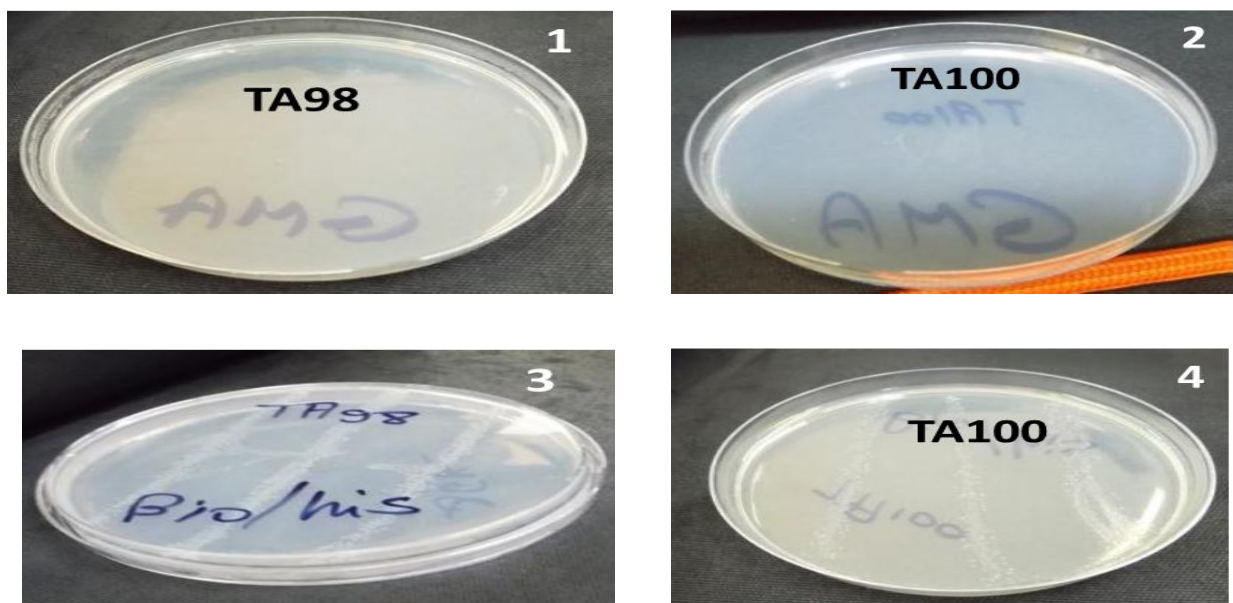


Figure 17 : réclamation de l'histidine 1 et 2 sans histidine, 3 et 4 avec histidine.

1.2 Sensibilité aux UV

Après irradiation des boîtes dont la moitié est couverte par une plaque de verre par la lampe UV ($\lambda = 360\text{nm}$) et une incubation de 24h à 37 C, les souches d'Ames poussent tout au long des boîtes même dans les parties exposées aux UV. Normalement dans ce type de test, les souches tests ne doivent pas pousser dans la moitié non couverte à cause de la mutation (*uvrA*, *uvrB* et *uvrC*).

Ce résultat obtenu (poussée des souches test dans les deux moitiés de la boîte) peut être expliqué par la longue durée de conservation des souches, par le nombre de repiquage et aussi suite à l'exposition des tubes contenant les souches à la lumière ambiante (Fig.18).

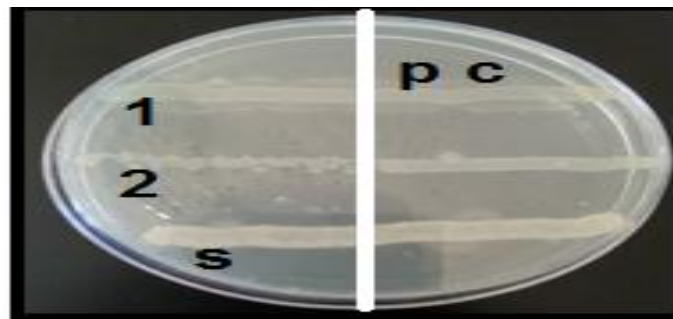


Figure 18 : la sensibilité aux UV; 1 : TA100, 2 : TA98, S : Souche sauvage; pc : partie cachée.

1.3 La résistance à l'ampicilline et la sensibilité au CV

Après incubation, nous avons constaté une poussée des souches TA98 et TA100 autour des disques imbibés par l'ampicilline et l'eau distillée et des zones claires autour des disques imbibés par le CV. Ces résultats démontrent que les deux souches possèdent à la fois le plasmide pKM101 qui rend les souches résistantes à l'ampicilline, et de la mutation *rfa* qui permet d'augmenter la perméabilité des parois des souches au CV qui est une macromolécule, d'où la formation de la zone d'inhibition. Ces résultats se concordent avec les travaux de Mortelmans et Zeiger (2000) (Fig.19).



Figure 19 : la résistance et la sensibilité des souches (TA100, TA98) à l'ampicilline et au CV.

2. Résultats du test d'Ames

Les résultats obtenus du test d'Ames durant notre étude sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats du test d Ames sans activation métabolique.

Échantillons	TA98 (M±E)	TA100 (M±E)
Viandes rouge fraiche TN	28, 66 ± 3, 21	233, 33 ± 68, 39
NPD TP	1485,4±134,61	
SA TP		1876,2±109.34
Merguez	106 ± 10, 58	504, 33 ± 246, 41
Cachir de bœuf	378, 33 ± 57, 04	241, 66 ± 107, 54
Corned bœuf	270 ± 14	221, 66 ± 80, 59
Viande rouge surgelée	18, 66 ± 16, 16	4 ± 3

M : moyenne du nombre des révertants E : écart type SA : sodium azide TN : témoins négatif
NPD : 4-nitro-o-phenylenediamine TP : témoins positif.

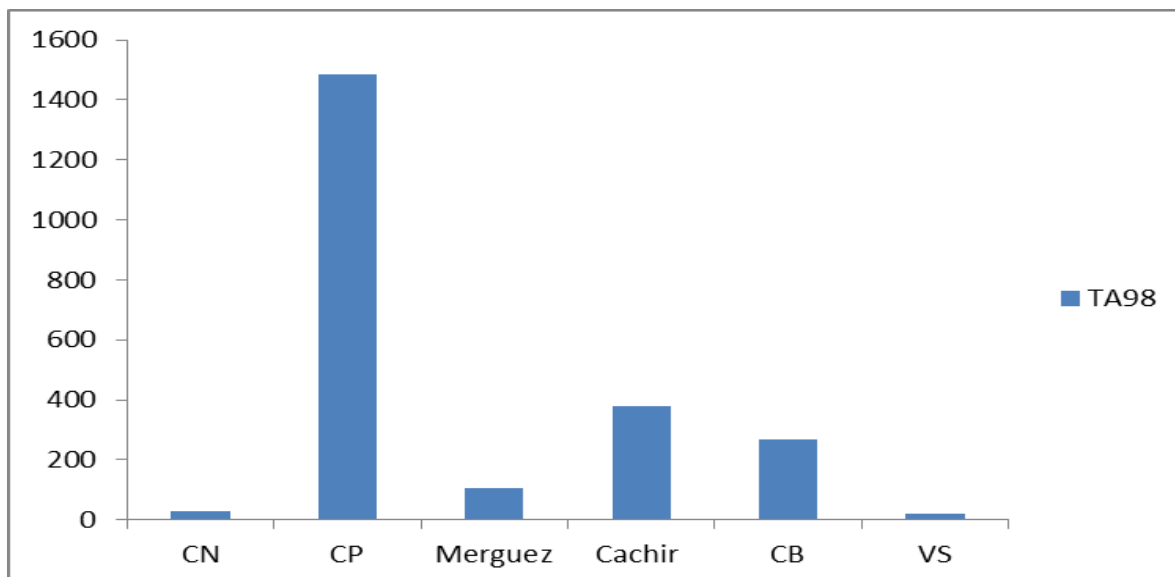


Figure 20 : résultats du test d'Ames pour la souche TA98. CP : contrôle positif, CN : contrôle négatif, CB : Corned-Boeuf, VS : Viande surgelée.

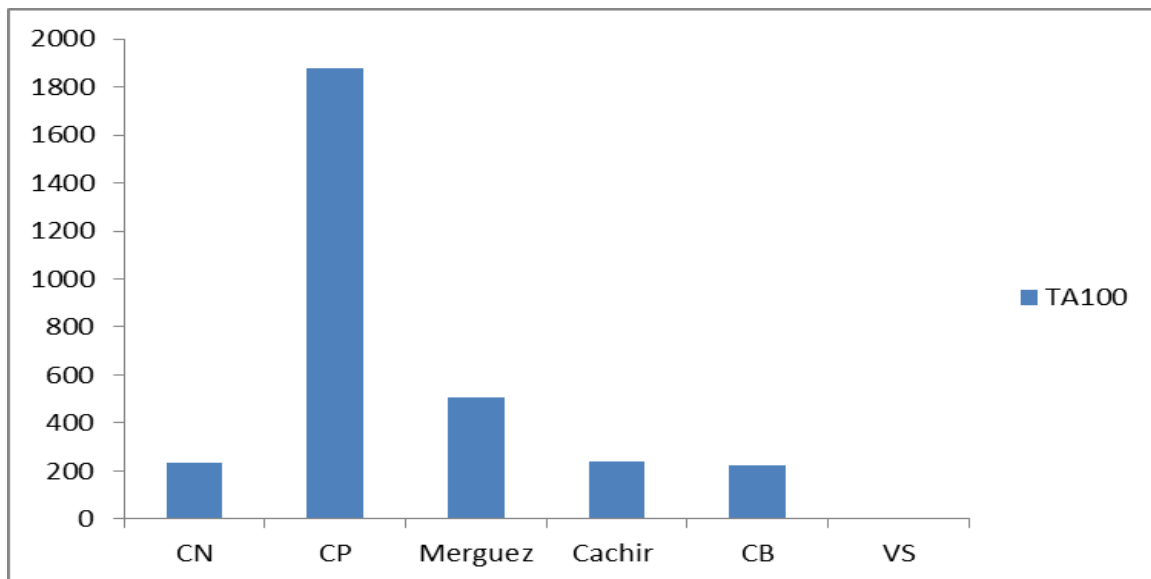


Figure 21 : résultats du test d'Ames pour la souche TA100. CP : contrôle positif, CN : contrôle négatif, CB : Corned-Boeuf, VS : Viande surgelée.

Ces résultats ont été interprétés selon le principe de Mortelmans et Zeiger (2000), qui suppose qu'un potentiel mutagène est probable si le nombre des révertants obtenus est le double du nombre des révertants du contrôle négatif (Liman *et al.*, 2010).

Ainsi, le nombre de révertants du contrôle négatif (viande rouge fraîche) sans activation métabolique a donné les valeurs moyennes suivantes : 28, 66 ± 3, 21 pour TA98 et 233, 33 ± 68, 39 pour TA100. Les valeurs des révertants spontanés obtenues avec les deux souches sont dans les normes selon Mortelmans et Zeiger (2000).

Les résultats du test ont montré que tous les échantillons de la viande transformée ont un potentiel mutagène avec TA98 dont les valeurs moyennes sont les suivantes : Merguez 106 ± 10,58; Corned bœuf 270 ± 14; Cachir de bœuf 378,33 ± 57,04 ; (sauf la viande surgelée qui a donné une valeur moyenne de 18,66 ± 16,16) ; tandis que les valeurs moyennes des échantillons avec TA100 ; Merguez 504,33 ± 246,41 ; Cachir de bœuf 241, 66 ± 107, 54 sont mutagènes contrairement au valeurs moyennes de Corned de bœuf 221, 66 ± 80, 59 et la viande surgelée 4 ± 3 qui ne sont pas mutagènes.

Les échantillons de Merguez de Corned bœuf et du Cachir de bœuf sont mutagènes pour TA98 et TA100 probablement à cause de la présence d'une substance chimique (nitrite de sodium) qui est utilisée dans la préparation de ces derniers, alors que la viande cependant surgelée, qui a subi uniquement un traitement physique a donné des valeurs de révertants

inférieurs au témoin négatif Ces résultats sont en accord avec ceux obtenues par Ishidate et yochikawa , (1980) qui ont démontré par le test d'Ames que le nitrite de sodium donne un résultat positif pour les deux souches de *S.typhimurium* (TA98,TA100), également ils ont démontré par le même test que le nitrate de sodium en se combinant avec l'HCl de l'estomac, peut former des nitrosamines mutagènes pour l'Homme.

D'après (OMS) (2016) plusieurs études ont démontré que la viande transformée est génotoxique à cause du nitrite de sodium et nitrates de sodium (E250 et E251) utilisés comme additifs alimentaire pour la conservation de la viande. Ces derniers deviennent des composés mutagène suite à des réactions avec les protéines de la viande et conduisant à la formation des nitrosamines hautement cancérigène. Il est à rappeler également que la présence des nitrites et des nitrates dans la viande transformée est capable d'induire des lésions primaires telles que les Adduits à l'ADN qui sont responsables de l'apparition de cancer.

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS, 2016) a déclaré que la viande rouge est probablement cancérigène tandis que la viande transformée l'est certainement. De même les experts du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) mettent ainsi en garde contre la consommation élevée de la viande rouge transformée. À ce propos le risque de développer un cancer colorectal augmente avec la quantité de viande consommée, les experts ont conclu que chaque portion de 50 grammes de viande transformée consommée quotidiennement accroît le risque de cancer colorectal de 18%. Ces chiffres inquiétants interviennent au moment où le cancer est parmi les premières causes de mortalité en Algérie : au moins 50 algériens meurent chaque jour à cause du cancer d'après l'association de lutte contre le cancer El Amel (2014).

La production algérienne arrive difficilement à satisfaire la demande croissante en viandes. Globalement, l'Algérien serait un des plus faibles consommateurs de viande au Maghreb en comparaison aux standards mondiaux, en raison de la faible production aussi en raison des prix élevés des viandes rouges (Legrand et Martini, 2016), cette situation conduit une grande majorité de la population à s'orienter vers la viande transformée ce qui constitue donc un risque pour la santé humaine.

Ce travail a pour but l'évaluation du pouvoir génotoxique et cancérigène de la viande transformée (Cachir, Merguez, Corned-bœuf et viande surgelé) la confirmation de cette hypothèse nécessite un test qui permet d'estimer le potentiel cancérigène d'une substance génotoxique. Le test le plus convenable est le test d'Ames.

Les résultats obtenus par l'utilisation du test d'Ames ont démontré que le Merguez, le Cachir de bœuf sont mutagènes pour TA98 et TA100 alors que le Corned-bœuf est mutagène uniquement pour TA98. Concernant la viande rouge surgelé les résultats ont montrés qu'elle n'a pas un effet mutagène pour les deux souches TA100 et TA98.

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

- Un dosage des nitrates et le nitrite présent dans la viande transformée ;
- Dosage des autres additifs utilisés ;
- Réalisation le test d'Ames avec activation métabolique ;
- Réalisation le test d'Ames avec la viande cuite ;

➤ Réalisation des tests eucaryotes.

Ainsi, l'apparition de cancer provoqué par la consommation de la viande transformée et de charcuteries 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

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

Agence fédérale pour la sécurité alimentaire (AFSCA), 2016. Denrée alimentaires. Bruxelles union européenne.

Blanc B et Siproudhis L., 2005. Pelvi-Périnéologie. Paris, Springer Science & Business Media , p. 619. ISBN 10 : 2287005013 ; ISBN 13 : 9782287005015.

Bricas N., 1998. Conceptuel et méthodologie pour l'analyse de la consommation alimentaire urbaine en Afrique. Montpellier, Cirad.

Cachot J. et Cailleaud K., 2009. La Génotoxicité. In gouvernement d'intérêt public (GIP) seine Aval Rouen, AAZ Consultants, p.36.

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 enzymique des phénols et des lipides. Thèse de doctorat soutenue à l'école doctorale sous la direction de Nicolas Jacques. Option Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et Santé (AABES), AroParisTech.

Dupin H., 1992. Alimentation et nutrition humaines. Paris, Esf Editeur, ISBN 710108925, 9782710108924, p.1183-1192.

European Food Information Council (EUFIC), 2010. La meilleure invention depuis le pain en tranches. - Présentation des avantages des aliments transformés. Bruxelles.

Garland C., 2007. Le cancer colorectal, c'est quoi ? In Nutrition Reviews, Canada, p.30

Henry C.J.K et Chapman C., 2002. The nutrition handbook for food processors. In Woodhead Publishing Ltd.

Iarmarcovai G, 2008. Mutagenèse et cancérogenèse. Article présenté au colloque : La Vie et le Temps. In Sens-Public.

Ishidate M and yochikawa K., 1977. Chromosomes Aberration tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro –a screening for chemical carcinogens. *Mutation Research* 1977 jul ; , 48 (3-4) p.337-354.

Jacotot B et Parco J-C., 1983. Nutrition et alimentation. Paris. Masson, p.119, 120, 148, 151, 154.

Jolibois B and Guerbet M., 2005. Evaluation of industrial, hospital and domestic wastewater genotoxicity with the Salmonella fluctuation test and the SOS Chromotest. *Mutation Research*, 565(2), p.151-162.

Kuhnle G. G and Bingham S. A., 2007. Dietary meat, endogenous nitrosation and colorectal cancer. In *Biochem Soc Trans.*, 35(Pt5), p. 1355-7.

Latham M. C., 2001. Human nutrition in the developing World - FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Serie n° 29, Cornell University, Ithaca, New York USA, ISBN 1014-3181, Rome, 1977.

Legrand G et Martini H ., 2016. Le marché de la filière viande en Algérie 2015. In *Le petit Export 2016*, Paris, la Librairie du Commerce International, en ligne, BusinessFrance, p.48. Le site : <http://export.businessfrance.fr>.

Liman R., Akyl D., Eren Y and Konuk M., (2010). Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and Allium test. *Chemosphere*, 80(9), p.1056–1061.doi : 10 1016.

Mac Evilly C et Peltola K., 2003. The effect of agronomy, storage, processing and cooking on bioactive substances in food. In *Plants, Diet and Health*. New York, Gail Goldberg &Blackwell Science Publishing.

Magdelaine Ch., 2015. Consommer de la viande est cancérigène pour l'Homme. In *notre-planete.info*.

Malric A., 2013. Viandes et cancérogénèse colorectale chez le rat chimio-induit et la souris min : effet de l'hème. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier – Toulouse, École Nationale de Vétérinaire de Toulouse – ENVT, p.114.

Maron D. M and Ames B. N.,(1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113(3-4), p.173-215. .

Maron M. D. and Ames B. N. (1973). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, *Mutation Research*, 113 : 133-213.

Mensah S.E.P et Koudandé O.D., 2014. Résidus d'antibiotiques et denrées d'origine animale en Afrique : risques de santé publique. Article n° 10062014-00034-FR. In *Revue Scientifique Technique (International Office of Epizotics)*, Volume 33 (3). Institut national des recherches ariocoles du Bénin.

Mills EN., Sancho AI., Rigby NM., Jenkins JA and Mackie AR., 2009. Impact of food processing on the structural and allergenic properties of food allergens. In *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(8), p.963-969, doi : 10 100.

Mortelmans K and Zeiger E., (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mecanisms of Mutagenesis*, Volume 445, Issues 1-2, p.29–60.

Nout M.J.R., 2003. Les aliments : Transformation, conservation et qualité. Backhuys Publishers, ISBN 9057821249, 9789057821240.

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

Paschke A., 2009. Aspects of food processing and its effect on allergen structure. In *Molecular Nutrition & Food Research*,. Special Issue : Food Processing and Allergenicity, Volume 53 (8), p.959-962. Version of record online, doi 10 1002/mnfr.200800187 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KaA Weinheim.

Santarelli R., 2010. Charcuteries et cancérogenèse colorectale. Additifs alimentaires et procédés de fabrication inhibant la promotion chez le rat. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III -, École doctorale Sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénierie (SEVAB), p.184

Schottenfeld D and Fraumeni J. F. Jr., 2006. Cancer Epidemiology and Prevention (3rd Édition), New York: Oxford University Press. 4, p.47-64.

Simmonds G., 2015. Une consommation excessive de viande grillée pourrait favoriser le cancer du rein. In Santé, Médecine et Sciences du Vivant. In RTFLASH Recherche &Technologie.

Straif Kurt., 2015. La viande transformée cancérogène, selon l’OMS. In RADIO-Canada, Montréal, p.122.

Sugimura T., Wakabayashi K., Nakagama H and Nagao M., 2004. Heterocyclic amines: Mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish. In Cancer Sci, 95(4), p.290-9.

Tabet M., 2015. Étude physico-chimique et microbiologique des eaux usées et évaluation du traitement d’épuration eaux usées et évaluation du traitement d’épuration, Thèse doctorat, Université 8 mai 1945 Guelma, p.160.

Zhenz W., Lee SA., 2009. Well-done meat intake, heterocyclic amine exposure, and cancer risk. In Nutr Cancer. 61(4), p.437-46. Doi : 1080.

Sites Web :

[1] <http://www.lapetitecuisinedenat.com/2014/11/salaison-maison-magret-coppa-lomo-boeuf.html>. Consulté le 19/03/2015.

[2] <http://www.passionlachasse.com/t17486-fumer-son-gibier-et-son-poisson>. Consulté le 05/17/2016.

Annexe

❖ Préparation de solutions du test

Master black (BHA)

Agar	5 g
Eau distillé stérile	860 ml
VB×50	20 ml
Glucose×20%	100 ml
Histidine	10 ml
Biotine (0,5Mm)	6 ml
(0,8/0,02 NaoH) Amp	3150 µl

Gélose Minimale Agar (GMA)

Agar	15 g
Eau distillé stérile	880 ml
VB×50	20 ml
Glucose×20%	100 ml

Glucose×20%

Glucose(C ₆ H ₁₂ O ₆)	20 g
Eau distillé stérile	100 ml

Milieu VOGEL- BONNERE×50 (VB)

Magnesium sulfate (MgSO ₄ H ₂ O).....	10 g
Citric acid monohydrate.....	100 g
Potassium phosphate, dibasic, anhydrous (K ₂ HPO ₄)	500 g
Sodium ammonium phosphate (Na ₂ NH ₂ PO ₄ 4H ₂ O).....	175 g

H₂O distillé670 ml

Solution histidine/ biotine

Histidine0,0309 g

Biotine0,024 g

Eau distillé stérile250 ml

Solution histidine

Histidine0,5 ml

Eau distillé stérile100 ml

Solution biotine

Biotine0,0013g

Eau distillé stérile100 ml

Solution Na OH /Amp

Ampicilline0,8 g

Na OH0,002 g

Eau distillé stérile100 ml

Top Agar

Agar6 g

Na Cl5 g

Eau distillée stérile1000 ml

Résumé

L'objectif de notre travail consiste à évaluer les pouvoirs génotoxique et mutagène des viandes transformées par le test d'Ames. Les viandes concernées sont : le Merguez, le Cachir de viande de bœuf, le Corned-bœuf et la viande rouge surgelée. Dans ce test nous avons utilisé deux souches de *Salmonella typhimurium* TA98 et TA100 en absence d'activation métabolique.

Les résultats du test ont montré que la plupart des échantillons de viande transformée révèlent une activité mutagène vis-à-vis les souches test. Cette activité est due vraisemblablement à la présence de nitrite et de nitrate de sodium dans la viande transformée, composés souvent incriminés comme composés cancérigènes.

Mots clés :

Viande transformée, Test d'Ames, Génotoxicité, cancérigène.

Abstract

The objective of the present work is to assess the genotoxic and mutagenic potential of the processed meat using *Salmonella mutatest* Ames test. The concerned meats are: the merguez, the Cachir of beef and frozen red meat. In this test we used strains of *Salmonella typhymurium* TA 98 and TA 100 in absence of metabolic activation. The obtained results have shown that most processed meat samples revealed a mutagenic activity with the used strains. This activity is likely due to the presence of sodium nitrite and nitrate in processed meat, compounds often designated as carcinogenic compounds.

Key words

Processed meat, Ames test, genotoxicity, carcinogenicity

الملخص:

الهدف من عملنا هو تقييم مدى امكانية اللحوم المحولة في احداث السمية الوراثية و ذلك باستخدام : اختبار Ames. عينات اللحوم المعنية هي : النقانق، كاشير لحم البقر، لحم البقر الحفوظ و اللحوم الحمراء المبردة استعملنا في هذا الاختبار سلالتين من *Salmonella typhimurium* TA98 و TA100 وهذا في غياب تفعيل الأيض.

نتائج هذا الاختبار اظهرت أن أغلبية عينات اللحوم المحولة تسبب نشاطات سمية وراثية بالنسبة لكل من السلالتين TA98 و TA100 هذا النشاط هو على الأرجح بسبب وجود نيترات و نيتريت الصوديوم في اللحوم المحولة وهي مركب كيميائي غالبا ما يعتبر كمركب مسبب للسرطان.

الكلمات المفتاحية:

اللحوم المحولة، اختبار Ames. السمية الوراثية ، المسبب للسرطان.