

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Tahar Moulay de Saïda



Faculté des Sciences
Département de biologie



Mémoire présenté en vue de l'obtention d'un diplôme master

en biologie

Spécialité : Biochimie et physiologie cellulaire

Thème :

**Contribution à l'étude de l'effet de la tartrazine
sur la fonction hépatique des souris swiss**

Présenté par

Mr :Kadi Mejdoub

M^{lle} :El-mokretare Malika

Président : Mr : Benrguig Mokhtar Maitre de conférences B université de Saïda

Examineur: Mr : Ammam AEK Maitre assistant A université de Saïda

Promotrice : M^{me} : Alioui latifa. Maitre assistante A université de Saïda

Promotion 2014-2015

Résumé :

La tartrazine (E102) est un colorant alimentaire synthétique. Le but de notre travail est l'étude des effets de la toxicité de ce colorant aux doses de 0,005% et 0.05% sur les paramètres biochimiques, et sur la structure histologique du foie chez la souris Swiss. Les résultats obtenus indiquent qu'une agressivité remarquable a été notée chez les mâles traités à dose 0,05%, le gain pondéral est diminuée significativement par rapport aux témoins chez tous les souris de deux sexes traitées à dose de 0,05%.

Les dosages biochimiques du sang indiquent une augmentation des protéines totale et de la phosphatase alcaline chez les mâles et diminution chez les femelles du groupe à 0,05% ($p < 0,05$) ainsi qu'une hyperglycémie chez les mâles et les femelles du groupe à 0,05% ($p < 0,05$) par rapport au témoin. Egalement, une augmentation significative du taux d'albumine ($p < 0,05$) est observée chez tous les groupes expérimentaux. De même, une augmentation significative de la teneur en bilirubine totale, en bilirubine directe et en bilirubine indirecte ($p < 0,05$). Un accroissement des transaminases ($p < 0,05$) est noté chez les mâles et les femelles du groupe 0,05%. Cependant, une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux du cholestérol totale, du cholestérol-LDL, des triglycérides a été constaté chez les femelles et les mâles du groupe 0,05% ($p < 0,05$), avec une diminution de cholestérol-HDL. Ainsi une altération de la structure histologique du foie est révélée chez les deux sexes.

Mots clés: Tartrazine, toxicité , fonction hépatique, structures histologiques, souris swiss.

Summary:

Tartrazine (E102) is a synthetic food dye widely used in food, cosmetics and medicines. The toxic potential of this xenobiotic is not clearly established. The aim of our work is the study of the effects of sub-chronic consumption of this dye at doses 0,005% and 0.05% on biochemical parameters and on the histological structure of the liver in Swiss mice. The results obtained indicate that: A remarkable aggressiveness was observed in males in the groups treated with 0.05%. The weight sheath is significantly decreased compared to controls in all treated groups of females but also in males at 0.05%. Biochemical assays indicate an increase in total protein and alkaline phosphatase in males and decreased in females of the group 0.05% ($p < 0.05$) and a high blood sugar in males and females of the group 0.05% ($p < 0.05$) compared to control. In contrast, a significant increase in the albumin ($p < 0.05$) is observed in all the experimental groups. Similarly, a significant increase of total bilirubin, direct bilirubin, indirect bilirubin ($p < 0.05$), transaminases ($p < 0.05$) were noted in males and females of the group 0.05%. However, a significant increase ($p < 0.05$) in total cholesterol, LDL-cholesterol triglycerides were observed in females and males in the group 0.05% ($p < 0.05$), with a decrease in HDL cholesterol. An increase morphological abnormalities, and impaired the histological structure of the liver.

Keywords: Tartrazine, toxicity, liver function, histological structures, swiss mouse.

ملخص:

التارترازين (E102) هو ملون اصطناعي يستخدم على نطاق واسع في المنتوجات الغذائية ، ومستحضرات التجميل و الأدوية.

الهدف من عملنا هو دراسة الآثار المترتبة على استهلاك شبيه مزمن لهذه الصبغة في جرعات 0.005% و 0.05% على القياسات البيوكيميائية وعلى التركيب النسيجي لكبد الفئران السويسرية.

النتائج التي تم الحصول عليها تشير إلى:

- وجود عدوانية لدى الفئران الذكور المعالجة بجرعة 0.05%.

- انخفاض الوزن لكل من الذكور والإناث وهذا في المجموعة المعالجة بجرعة 0.05% مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

- أما بالنسبة للفحوصات الكيميائية الحيوية لوحظ زيادة في البروتين الكلي و الفوسفاتيز لدى الذكور وانخفاضها لدى الإناث من المجموعة 0.05% ($P<0.05$) وارتفاع نسبة السكر في الدم لدى الإناث و الذكور من المجموعة 0.05% ($P<0.05$) مقارنة مع الشاهد، في المقابل لوحظ عند الذكور والإناث زيادة كبيرة لكل من (الألبيمين،البيليروبين الكلي، البيليروبين المباشر، البيليروبين الغير المباشر،الترنساميناسات،الكولسترول الكلي،الكولسترول الضار،التريليغليسيريد) ($P<0.05$) مع إنخفاض في الكولسترول الحميد.

- زيادة في تشوهات الشكلية، وتلف التركيب النسيجي للكبد.

كلمات البحث: التارترازين، سمية ، وظيفة الكبد،البنية النسيجية ،الفئران السويسرية.

Sommaire

Liste des abréviations.....	iv
Liste des tableaux.....	v
Liste des figures.....	vi

Introduction	01
--------------------	----

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Le foie.....	02
I-1- Généralités	02
I-2- Anatomie.....	02
I-2-1- Les cellules hépatiques.....	05
a- Les cellules non parenchymateuses.....	05
b- Les hépatocytes.....	06
I-3- Les fonctions du foie.....	06
I-3-1- Fonction biliaires des hépatocytes.....	07
I-3-2- Fonctions métaboliques des hépatocytes.....	07
I-3-2-1- Métabolisme glucidique.....	07
I-3-2-2 -Métabolisme lipidique.....	07
I-3-2-3- Métabolisme protéique.....	08
I-3-3- Fonction de biotransformation des hépatocytes.....	08
II- Les xénobiotique.....	09
II-1- Généralité.....	09
II-2-Détoxification des xénobiotiques.....	09
II-2-1- Métabolisme de la phase 0.....	10
II-2-2- Métabolisme de la phase 1.....	10
II-2-3- Métabolisme de la phase 2.....	10
II-2-4- Métabolismes de phase 3 et 4.....	11
III- Les colorants alimentaires.....	13
III-1- Historique de l'utilisation des colorants alimentaires.....	13
III-2- Essai de classification.....	13
III-2-1- Colorants naturels.....	14
III-2-2- Colorants synthétiques.....	15
III-2-3- Avantages et inconvénients des colorants.....	16
III-2-4- La dose journalière admissible (DJA).....	17
IV- Tartrazine E102.....	18
IV-1- Définition.....	18
IV-2- Structure chimique.....	18
IV-3- Utilisation de la tartrazine.....	19

IV-4- Pharmacocinétique et métabolisme de tartrazine.....	19
IV-4-1- Action de la flore bactérienne.....	19
IV-4-2- Absorption intestinale.....	19
IV-4-3- Catabolisme hépatique.....	20
IV-5- Effet toxique de la tartrazine.....	20
IV-5-1- Effet allergique.....	20
IV-5-2- Hyperactivité.....	21
IV-5-3- Effet cancérigène.....	21

MATERIEL ET METHODES

I- Animaux.....	22
II- Tartrazine.....	22
III- La conception expérimentale.....	24
III-1- Toxicité subchronique de la tartrazine	24
III-2- La première phase.....	24
III-2-1-Répartition des animaux.....	24
III-2-2- L'observation et la mesure de la croissance pondérale.....	26
III-2-3- Évaluation de la consommation journalière de la tartrazine.....	26
III-3-La deuxième phase.....	26
III-3-1-Prélèvements sanguins et du foie.....	26
III-3-1-1- Prélèvement sanguin.....	26
III-3- 1- 1-1- Méthodes de dosage.....	26
III-3- 1- 1-1-1- Dosage de Glucose.....	27
III-3-1-1-1-2- Dosage du cholestérol total.....	27
III-3-1-1-1-3-Dosage du taux de HDL-cholestérol	28
III-3-1-1-1-4-Détermination du taux de LDL- cholestérol	28
III-3-1-1-1-5-Dosage des triglycérides.....	28
III-3-1-1-1-6-Dosage de GOT-ASAT.....	29
III-3-1-1-1-7-Dosage de GPT-ALAT.....	30
III-3-1-1-1-8-Dosage de bilirubine totale.....	30
III-3-1-1-1-9-Dosage de bilirubine directe.....	30
III-3-1-1-1-10-Détermination des teneuses de Bilirubine Indirecte.....	30
III-3-1-1-1-11-Dosage de La phosphatase alcaline.....	31
III-3-1-1-1-12-Dosage des Protéines totales.....	31
III-3-1-1-1-13-Dosage de l'Albumine.....	31
III-3-1-1-1-14-Analyses Statistiques.....	31
III-3-1-2-Etude histologique.....	32
III-3-1-2-1-Traitement des fragments de tissus.....	32
III-3-1-2-2-Traitement des lames.....	32

RESULTATS ET INTERPRETATION

I- Consommation moyenne journalière de l'aliment par souris.....	35
II- Consommation quotidienne de la solution de tartrazine par les souris.....	35
III- Croissance pondérale.....	36
IV- Le gain pondéral.....	38
V- Poids du foie.....	39
VI- Taux de mortalité et les transformations morphologiques et comportementales.....	40
VII- Paramètres biochimiques.....	41
VII-1- Teneurs en Glucose.....	41
VII-2- Teneurs en lipide.....	41
VII-2- 1- Teneurs en Cholestérol Total.....	41
VII-2- 2- Teneurs en Cholestérol-HDL.....	42
VII-2- 3- Teneurs en Cholestérol-LDL.....	43
VII-2-4- Teneurs en Triglycérides.....	44
VII-3- Teneurs en GOT-ASA.....	45
VII-4- Teneurs en GPT-ALAT.....	46
VII-5- Teneurs en Bilirubine totale.....	47
VII-6- Teneurs en Bilirubine directe.....	48
VII-7- Teneurs en Bilirubine indirecte.....	49
VII-8- Teneurs en Phosphatase alcaline.....	50
VII-9- Teneurs en Protéine totale.....	51
VII-10- Teneurs en Albumine.....	52
VIII- Résultats d'étude histologique.....	53
VIII-1- Effet de la tartrazine sur la structure histologique du foie.....	53
Discussion.....	55
Conclusion.....	60
Références bibliographiques.....	62
Annexe.....	67

Liste des abréviations

ALAT: ALanine Amino Transférase

ASAT: ASpartate Amino Transférase

CEE: Communauté économique européenne

CT : cholestérol total

DES : Dose sans effet

DJA: Dose journalière admissible

D.O: Densité optique

E102: tartrazine

FAD: [flavine adénine dinucléotide](#)

F_{0,05} : souris femelles traitées par 0,05%

F_{0,005} : souris femelles traitées par 0,005%

HDLc: High Density Lipoprotein cholesterol

GOT : Glutamique oxaloacétique transaminase

GPT : Glutamique-pyruvique Transaminase

g/l : gramme par litre

LDLc: Low Density Lipoprotein cholesterol

LD: lobe droit

LG: lobe gauche

LM: lobe médian

M_{0,05} : souris males traitées par 0,05%

M_{0,005} : souris males traitées par 0,005%

ONAB: Office national des aliments du bétail

PAL: phosphatase alcaline

PT : protéines totales

PMN : peace meal nécrosis

TG: Triglycérides

TF : souris femelles témoin

TM : souris males témoin

UI/L : Unité International par Litre.

VCL : veine centro lobulaire

VLDL : very low density lipoprotein, (lipoprotéines de très faible densité).

Liste des tableaux

Tableau 01 : Abondances des différents types cellulaires hépatiques.....	05
Tableau 02: Colorants naturels les plus utilisés.....	14
Tableau 03: Colorants synthétiques.....	15
Tableau 04: Avantages et inconvénients des colorants naturels.....	16
Tableau 05: Avantages et inconvénients des colorants synthétiques.....	16
Tableau 06: Composition de l'aliment pour rongeurs ONAB.....	22
Tableau 07: Spécifications de la tartrazine E102.....	23
Tableau 08 : Composition du colorant à l'hématoxyline de Harris.....	34
Tableau 09: Variation du poids corporel des souris et du poids du foie.....	40

Liste des figures

Figure 01: Vue antérieure du foie.....	03
Figure 02 : Vue inférieure du foie et de la vésicule biliaire.....	03
Figure 03: Vue postérieure du foie.....	04
Figure 04: Vue supérieure d'un foie de rat <i>in situ</i>	04
Figure 05 : Ultrastructure du parenchyme hépatique.....	06
Figure 06 : Les 5 phases de la biotransformation des xénobiotiques par les hépatocytes.....	12
Figure 07: Structure chimique de la tartrazine	18
Figure 08: Schéma de répartition des souris par différents groupes expérimentaux...	25
Figure.09 : Consommation journalière de l'aliment par souris.....	35
Figure10: Quantité d'eau consommée chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	36
Figure11 : Variation du poids corporel chez les souris males traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins	37
Figure12 : Variation du poids corporel chez les souris femelles traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins	38
Figure13 : Le gain pondéral	39
Figure14 : (a) le foie de la souris morte. (b) une souris morte.....	40
Figure15 : Teneurs du glucose chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	41
Figure16 : Teneurs du cholestérol total chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins	42
Figure17 : Teneurs du cholestérol-HDLc chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	43
Figure18 : Teneurs du cholestérol-LDLc chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	44

Figure 19: Teneurs de triglycéride chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	45
Figure 20 : Teneurs du GOT-ASAT chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	46
Figure21 : Teneurs du GPT-ALAT chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	47
Figure22 : Teneurs de la bilirubine totale chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	48
Figure23 : Teneurs de la bilirubine directe chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.	49
Figure24 : Teneurs de la bilirubine indirecte chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	50
Figure 25 : Teneurs de la phosphatase alcaline chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	51
Figure26 : Teneurs des protéines totales chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	52
Figure27 : Teneurs du l'albumine chez les souris traitées par tartrazine comparées avec les souris témoins.....	53
Figure28 : observation microscopique du foie	54

Introduction

Les additifs alimentaires constituent un large groupe de substances de structures chimiques et de rôles fonctionnels très diversifiés, qui sont ajoutés délibérément aux aliments pour assurer leur qualité. Les additifs alimentaires sont classifiés en fonction de leur rôle fonctionnel en une dizaine de classe incluant par exemple les conservateurs, les antioxydants, les édulcorants artificiels, les antimoussants etc... (Codex Alimentarius Commission, 1997).

Les colorants alimentaires constituent une classe d'additifs bien délimitée si bien qu'il est relativement aisé de réaliser une approche toxicologique. En outre, ces produits ont fait l'objet de nombreuses discussions et contestations dans les 10 dernières années, ce qui a permis d'en faire de bonnes évaluations. Il est sur que les colorants ne sont pas des additifs indispensables, car le seul but de leur emploi est d'agir sur la couleur de l'aliment. Parmi les colorants alimentaires qui sont largement utilisés est la Tartrazine (Derache, 1986). Ce colorant alimentaire est utilisé dans la cuisson au développement de nombreux pays comme un substitut pour le safran (Mehdi et *al.*, 2009).

Réellement, nous ne connaissons pas l'estimation de la consommation quotidienne de la population algérienne en tartrazine mais nous savons parfaitement que ce colorant est utilisé par la ménagère pour la préparation quotidienne des plats culinaires et que les colorants synthétiques représentent 90% des colorants utilisés dans les aliments industriels, dont la tartrazine, qui se trouve principalement dans les boissons et les jus de fruits (Husain et *al.*, 2006). Nous proposons dans ce travail d'étudier l'effet de la tartrazine sur la fonction hépatique des souris swiss à différentes doses.

L'objectif général de cette étude est donc d'évaluer les effets de l'ingestion subchronique de la tartrazine sur certaines fonctions et organes de la souris Swiss. Dans un premier temps, notre travail porte d'abord sur l'analyse des effets de la consommation orale subchronique de la tartrazine aux doses de 0,005%, 0,05 % sur la consommation journalière de l'aliment et la quantité d'eau consommée par souris. Dans un second temps, nous avons évalué les conséquences de la consommation subchronique de ce colorant sur les paramètres biochimiques. Enfin, la dernière partie de ce travail est consacrée à la recherche des anomalies affectés par la tartrazine sur la structure histologique du foie.

Au préalable, nous consacrons une partie de ce mémoire à une recherche bibliographique en rapport avec la tartrazine et notamment sur ses effets pathologiques.

Revue bibliographique

I. Le foie :

I.1 Généralités

Le foie représente l'organe interne le plus volumineux du corps humain et pèse en moyenne 1.5 kg chez l'adulte (2 à 5% du poids corporel). Chez le rat, il se caractérise par un poids moyen de 16 g, soit 4% de la masse corporelle totale, et de 3 à 5g chez la souris.

D'aspect rouge-brunâtre et de forme ovoïde, le foie se situe du côté supérieur droit de la cavité abdominale, entre le diaphragme et l'estomac, et s'avère responsable de plusieurs fonctions physiologiques vitales (Meeks *et al.*, 1991; Thomson et Shaffer, 2005).

I. 2. Anatomie

Le foie est le seul organe capable d'une régénération en masse, il possède toutes les caractéristiques d'une glande exocrine d'une part, en étant responsable de la sécrétion de la bile, et d'une glande endocrine d'autre part grâce à sa situation sur le courant sanguin et à la disposition particulière de sa vascularisation (Denis, 1991).

Le foie est divisé en deux gros lobes, un grand lobe hépatique droit et un plus petit lobe hépatique gauche. La plus grande partie du foie siège en dessous de la coupole diaphragmatique à la forme de laquelle il s'adapte. Le lobe hépatique gauche dépasse largement la ligne médiane et s'étend dans l'hypochondre gauche. Si l'on observe la surface du foie, on peut différencier la face diaphragmatique convexe de la face viscérale concave. Sur la face antérieure, on reconnaît, attaché solidement à la face inférieure du diaphragme, le ligament falciforme (en forme de faux) qui forme la limite entre le gros lobe hépatique droit et le petit lobe hépatique gauche. Si l'on observe le foie sur sa surface viscérale, on distingue encore deux d'autres lobes plus petits : le lobe carré et le lobe de spigel (ou lobe caudé). Entre ces deux petits lobes se trouve le sillon transverse ou hile du foie. Au niveau du hile, la veine porte et l'artère hépatique représentant les deux branches droite et gauche du canal hépatique, en provenance des deux lobes, le quittent. Le foie est recouvert sur sa face externe par une capsule de tissu conjonctif dense et est également quasi complètement entouré de péritoine (Schaffler et Schidi, 1999).

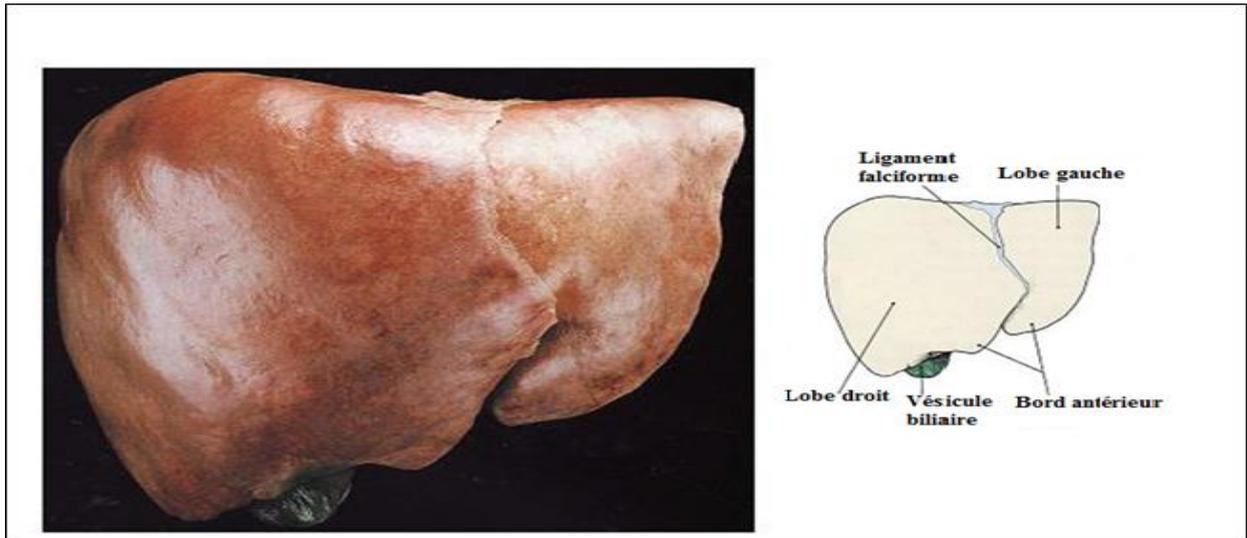


Figure 01: Vue antérieure du foie (Gosling et al., 2003).

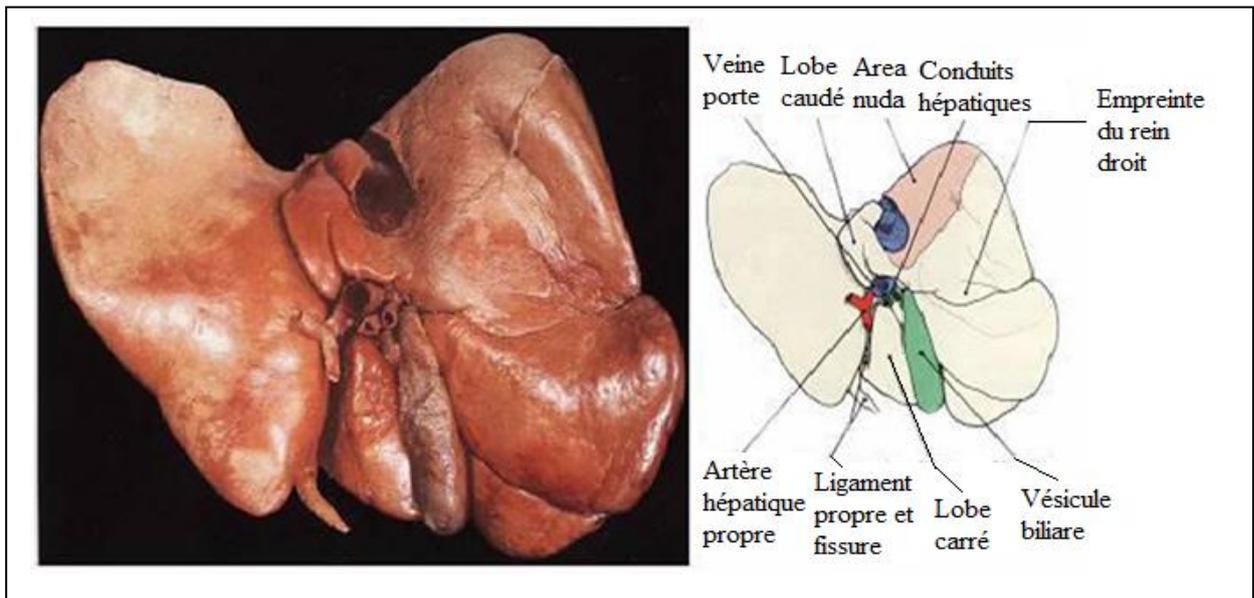


Figure 02 : Vue inférieure du foie et de la vésicule biliaire (Gosling et al., 2003).

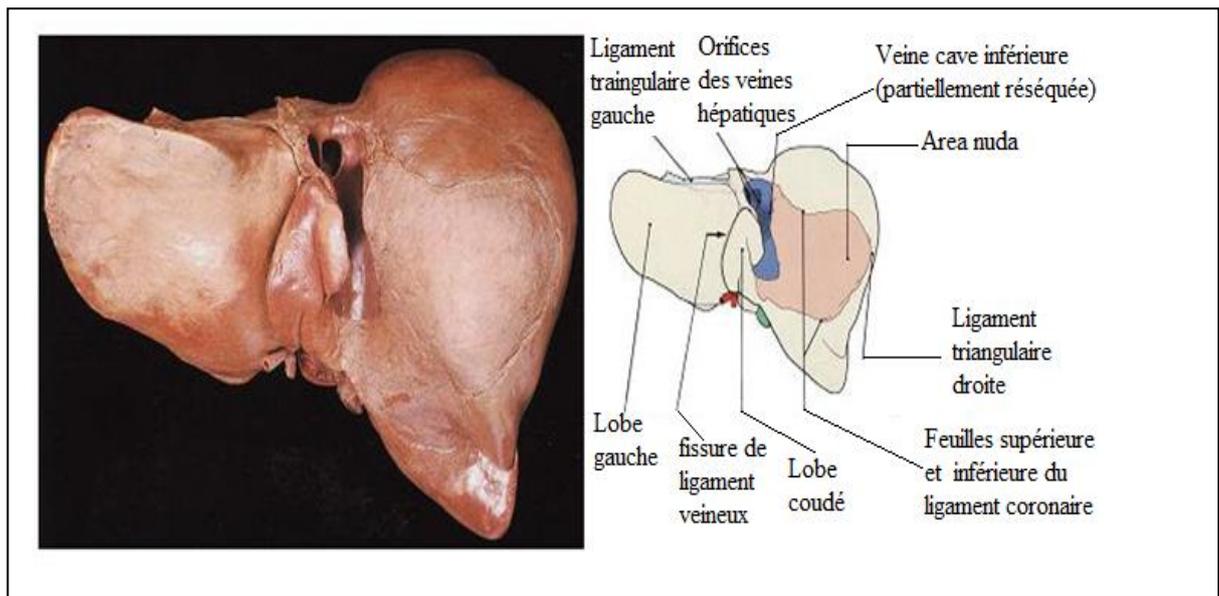


Figure 03: Vue postérieure du foie (Gosling et *al.*, 2003).

Le foie murin, à la différence du foie humain est anatomiquement plurilobé ; il est constitué de 5 lobes (**Figure 4**): le lobe gauche, le lobe médian, le lobe droit et les deux lobes caudaux. (Koniaris et *al.*, 2003).

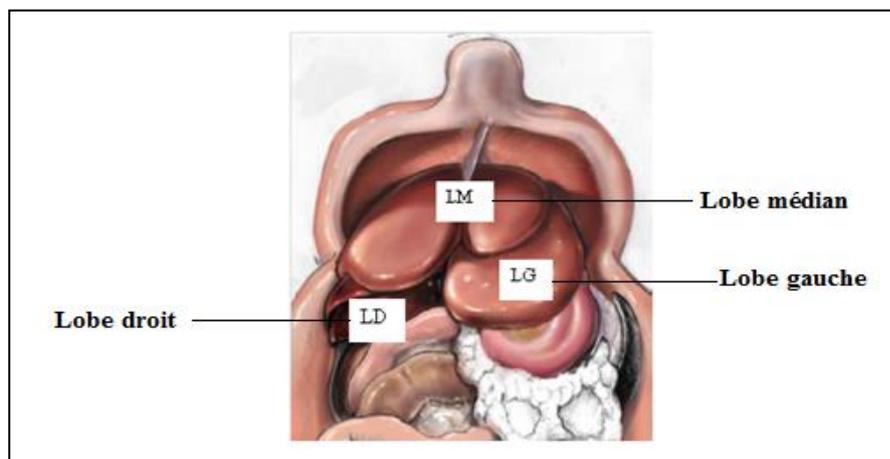


Figure 04: Vue supérieure d'un foie de rat *in situ* (Koniaris et *al.*, 2003).

I.2.1 Les cellules hépatiques

Le foie est doté de cellules parenchymateuses, les hépatocytes et de quatre types cellulaires non parenchymateux lui conférant une hétérogénéité cellulaire (**Tableau 1**).

Tableau 01 : Abondances des différents types cellulaires hépatiques (Benhamou et Erlinger, 2008).

Type cellulaire	Nombre (%)	Volume (%)
Hépatocytes	60-65	78
Cellules endothéliales	15-20	2,8
Cellules de Kuppfer	8-12	2,1
Cellule de Ito	3-8	1,4
"Pit cell"	<2	–

a- Les cellules non parenchymateuses

Différents types de cellules hépatiques contribuant à la régulation des fonctions hépatocytaires et réparent les lésions tissulaires (**figure 5**).

- **Cellules endothéliales sinusoidales** : ces cellules bordent la sinusoïde et permettant les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes.

- **Cellules kupffer** : (macrophage), ces cellules sécrètent des cytokines, des enzymes lysosomiales et génèrent des espèces activées de l'oxygène.

- **Cellules étoilées ou Ito**: les vacuoles lipidiques du cytoplasme sont riche en vitamines A, 80% de vit A ; différents constituants de la matrice extracellulaire sont synthétisés par ces cellules.

- **Cellules lymphocytes granulaires**: Elles sont impliquées dans la défense antivirale et anti-tumorale.

- **Les cellules épithéliales biliaires** : ce sont les cellules polarisées qui constituent le canal biliaire elles concourent à la sécrétion de la bile. (Benhamou et Erlinger, 2008).

b- Les hépatocytes

Les cellules principales fonctionnelles du foie. Elles sont en lieu étroit soit avec les sinusoides permettant des échanges avec le sang par l'espace de Disse et forment à une de leurs pôles avec un hépatocytes adjacent le canalicule biliaire (Stevens et Lowe, 2006).

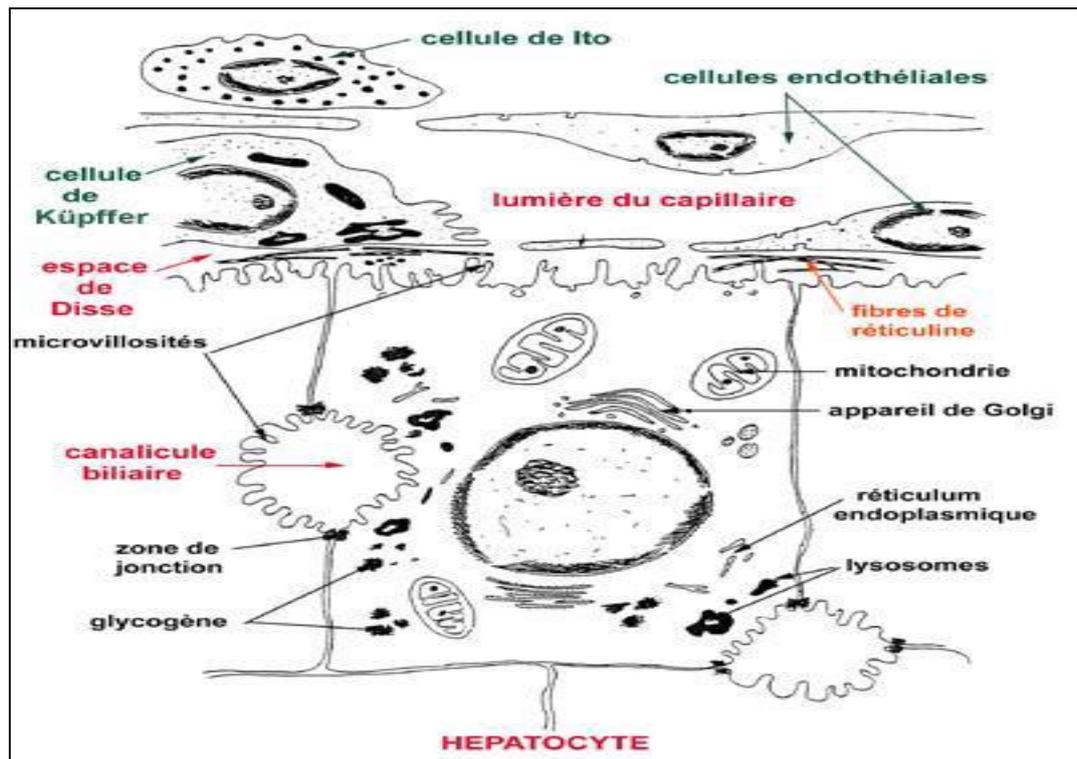


Figure 05 : Ultrastructure du parenchyme hépatique (Vacheret, 1999).

La paroi des capillaires sinusoides contient 4 types de cellules non parenchymateuses, soit les cellules endothéliales, celles de Kupffer, de Pit (non représentées sur ce schéma) et de Ito

I.3. Les fonctions du foie

Le foie exerce plusieurs fonctions physiologiques (métaboliques, immunitaires, digestive et de biotransformation) essentielles au bon fonctionnement de l'organisme, et un dysfonctionnement de cet organe peut mener à la mortalité. La plupart s'avèrent prises en charge par les hépatocytes, mis à part les fonctions immunitaires, qui sont attribuées aux cellules de Pit et de Kupffer (Meeks et *al.*, 1991).

I.3.1 Fonction biliaires des hépatocytes

Le foie est une glande digestive mixte (Jones et Spring-Mills, 1984). Les hépatocytes élaborent et sécrètent la bile, liquide jaunâtre et légèrement alcalin composé essentiellement d'eau, d'ions, d'acides et de sels biliaires, de cholestérol et de la bilirubine (pigment provenant surtout de la dégradation des hématies) (Jones et Spring-Mills, 1984; Jacquemin, 1998). Sécrétée de façon continue, la bile est emmagasinée et concentrée dans la vésicule biliaire en période de jeûne (Jones et Spring-Mills, 1984). En réponse à un stimulus hormonal (libération de la cholécystokinine du petit intestin), elle se trouve évacuée de la vésicule biliaire puis acheminée vers le duodénum (Jones and Spring-Mills, 1984). Là, les acides et les sels biliaires participent à l'émulsification des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles, facilitant ainsi leur digestion par les lipases pancréatiques et leur absorption (Meeks et *al.*, 1991).

I.3.2 Fonctions métaboliques des hépatocytes

I.3 .2.1 Métabolisme glucidique

Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des glucides en assurant le maintien d'une glycémie normale. Pour cela, lorsque la concentration sanguine en glucose atteint un niveau trop élevé, celui-ci est converti en glycogène (glycogénèse) et emmagasiné dans les hépatocytes; quand, au contraire, cette concentration devient trop faible, les cellules hépatocytaires dégradent en glucose les réserves intrahépatiques de glycogène (glycogénolyse) (Thomson et Shaffer, 2000). Également, les hépatocytes peuvent synthétiser le glycogène à partir des lipides ou des protides (néoglycogénèse), et convertir en glucose différentes substances non glucidiques telles que des acides aminés (gluconéogénèse) (Thomson et Shaffer, 2000).

I.3.2.2 Métabolisme lipidique

Les hépatocytes se montrent très actifs dans le métabolisme des lipides. Ils captent ainsi les acides gras et les estérifient en triglycérides qu'ils emmagasinent, et synthétisent du cholestérol, des phospholipides et des lipoprotéines plasmatiques (Thomson et Shaffer, 2005). Ces dernières s'avèrent composées des lipides ainsi que d'apolipoprotéines (Corvilain et *al.*, 1997; Thomson et Shaffer, 2005). Les hépatocytes servent, de plus, de lieu d'emmagasinage

des vitamines et d'oligo-éléments (ex. : fer, cuivre), et sont impliqués dans le métabolisme de certaines hormones (Marieb, 1999).

I.3.2.3 Métabolisme protéique

À partir des acides aminés puisés dans les capillaires, les hépatocytes synthétisent de façon continue la plupart des protéines du plasma sanguin, y compris l'albumine et la majorité des globulines autres que les gammaglobulines (Thomson et Shaffer, 2005). L'albumine est une protéine sérique synthétisée exclusivement par les hépatocytes, et il s'agit de la plus abondante du système sanguin (Carter et Ho, 1994; Thomson et Shaffer, 2000). Quant aux globulines, elles comprennent des facteurs de coagulation dépendants (prothrombine ou facteur II, facteurs VII, IX et X) ou indépendants (facteur V) de la vitamine K. Le foie s'avère de plus le siège du catabolisme des acides aminés en urée. Durant ce processus, appelé cycle de l'urée, l'ammoniaque, produit du métabolisme de l'azote et possible neurotoxine, est utilisé et par conséquent détoxiqué (Thomson et Shaffer, 2005).

I.3.3 Fonction de biotransformation des hépatocytes

Les hépatocytes s'avèrent responsables de la biotransformation des composés potentiellement toxiques en composés non toxiques, excrétés dans les sécrétions biliaires et l'urine. C'est en fait principalement le système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 qui permet la conversion des xénobiotiques, c'est-à-dire, de toutes les substances naturelles ou artificielles de faible poids moléculaire étrangères à l'organisme (médicaments, produits de l'alimentation, substances polluantes de l'environnement) et souvent hydrophobes, en composés hydrosolubles facilement éliminés (Jones et Spring-Mills, 1984 ; Meeks et *al.*, 1991). Le métabolisme des xénobiotiques sera expliqué de façon plus détaillée dans le chapitre qui suit.

II. Les xénobiotiques :

II.1. Généralité

L'absorption, distribution, métabolisme et excrétion de xénobiotique ont été largement étudié dans les animaux et les humains. Alors que la majorité des études sont les techniques et méthodes utilisées 40-50 ans pour l'identification du composé parent et de ses métabolites ont été ceux qui sont utilisés pour identifier et élucider les voies métaboliques de la plupart des xénobiotiques. (Aboel-Zahab et *al.*, 1997).

Ces xénobiotiques sont généralement des substances peu volatiles et peu précipitables. Ces propriétés rendent difficiles leur élimination urinaire. Ils ont une tendance naturelle à s'accumuler dans les phases lipidiques des membranes cellulaires engendrant ainsi une toxicité, voire une mort cellulaire inéluctable. Pour éviter cette accumulation, tous les organismes vivants ont développés, au cours de l'évolution, des systèmes enzymatiques de biotransformation et de détoxification. En effet, le processus de détoxification représente l'ensemble des réactions biochimiques que subissent les substances endogènes et exogènes (xénobiotiques) dans le but de faciliter leur biotransformation et leur excrétion hors de l'organisme (Dean et *al.*, 1995).

II.2. Détoxification des xénobiotiques

Le foie constitue le principal site de la biotransformation des xénobiotiques pénétrant intentionnellement (médicaments, produits de l'alimentation) ou non intentionnellement (ex. : polluants environnementaux) dans l'organisme, et ce processus se déroule spécifiquement dans les hépatocytes (Meeks et *al.*, 1991; Berry et Edwards, 2000). Certains xénobiotiques peuvent traverser la bicouche lipidique des cellules, et leur biotransformation a pour principale conséquence la formation de métabolites qui sont ensuite retirés du corps (Meeks et *al.*, 1991; Jacquemin, 1998; Berry et Edwards, 2000). Étant donné la variabilité importante de la nature chimique des xénobiotiques, de nombreuses enzymes et isoenzymes se montrent nécessaires pour leur métabolisme; il s'agit des enzymes du métabolisme et du transport des xénobiotiques (EMTX), réparties en différentes phases (Meeks et *al.*, 1991).

Habituellement, il y a premièrement transport du xénobiotique du sang vers l'intérieur de la cellule «(métabolisme de phase 0) (**Figure 6**) puis la substance est tout d'abord oxydée,

mais aussi parfois réduite ou hydrolysée, principalement par le système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 (métabolisme de phase 1) (**Figure 6**); elle est ensuite conjuguée à des molécules hautement polaires telles que le glutathion, la cystéine et le sulfate (métabolisme de phase 2) (**Figure 6**). Les métabolites, devenus hydrosolubles, sont ensuite transportés à l'aide de protéines de transport directement vers les canalicules biliaires puis excrétés dans la bile, ou sont à nouveau libérés dans le système sanguin et excrétés dans l'urine via les reins (métabolisme de phase 4) (**Figure 6**). De plus, le métabolisme de phase 3 correspond au transport intracellulaire des xénobiotiques (Petzinger et Geyer, 2006).

II.2.1 Métabolisme de la phase 0 :

La première phase du métabolisme des xénobiotiques, nommée phase 0, est médiée par les transporteurs «Solute carrier» (SLC), qui comprennent les «Organic anion transporters» (OATs), les «Organic anion transporting polypeptides» (OATPs), et les «Organic cation transporters» (OCTs). Il s'agit de l'étape initiale de l'élimination des xénobiotiques du sang aux hépatocytes, via le transport à travers la membrane basolatérale, ou de la première étape de l'absorption des xénobiotiques de l'intestin, c'est-à-dire, le transport à travers la membrane luminale vers les entérocytes (Petzinger et Geyer, 2006).

II.2.2 Métabolisme de la phase 1

Le métabolisme de la phase 1 a pour but la biotransformation des xénobiotiques en métabolites dotés d'une fonction réactive qui leur permettra de réagir avec un groupement polaire et de devenir ainsi plus hydrosolubles (Blake et *al.*, 1995). Ce métabolisme met en jeu la réduction, l'hydrolyse mais surtout l'oxydation des composés exogènes par des enzymes dites de fonctionnalisation (Meeks et *al.*, 1991). Parmi celles-ci, les isoenzymes du système enzymatique monooxygénase du cytochrome P450 prennent en charge 90% des réactions d'oxydation, les 10% restants pouvant être attribués principalement aux flavines monooxygénases (FMOs), puis aux molybdenum hydroxylases (Ziegler, 1988; Meeks et *al.*, 1991; Blake et *al.*, 1995).

II.2.3 Métabolisme de la phase 2

Lors des réactions de la phase 2, la molécule originale ou le métabolite de phase 1 est conjugué à des composés endogènes de haute polarité. Les métabolites obtenus se montrent

alors plus hydrosolubles et donc plus facilement excrétables (Meeks et *al.*, 1991; Berry et Edwards, 2000). Les réactions les plus importantes de biotransformation de phase II des xénobiotiques sont la glucuronidation, la sulfatation, la conjugaison du glutathion et l'acétylation, catalysées par différentes enzymes de conjugaison, soit respectivement les uridine diphosphate glucuronyltransférases (UDP-glucuronyltransférases), les sulfotransférases, les glutathion S-transférases (GST) et les N-acétyltransférases.

II.2.4 Métabolismes de phase 3 et 4

Alors que le métabolisme de la phase 3 se rapporte au transport intracellulaire cytoplasmique des xénobiotiques vers l'excrétion, la quatrième phase concerne l'élimination extracellulaire des métabolites des phases précédentes; elle est assurée par différentes protéines de transport, principalement les P-glycoprotéines (P-gps) et les « multidrug resistance-associated proteins» (MRPs). Il s'agit de protéines membranaires intégrales appartenant à la superfamille des ATPases « ATP-binding cassette» (ABC), et qui utilisent donc l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP afin d'expulser activement leurs substrats à l'extérieur des cellules. Exprimés entre autres au niveau du domaine canalaire des hépatocytes, ces transporteurs s'avèrent impliqués dans le passage transmembranaire des xénobiotiques (en particulier les médicaments) ou de leurs métabolites dans la bile et dans l'urine (Wandel et *al.*, 2000).

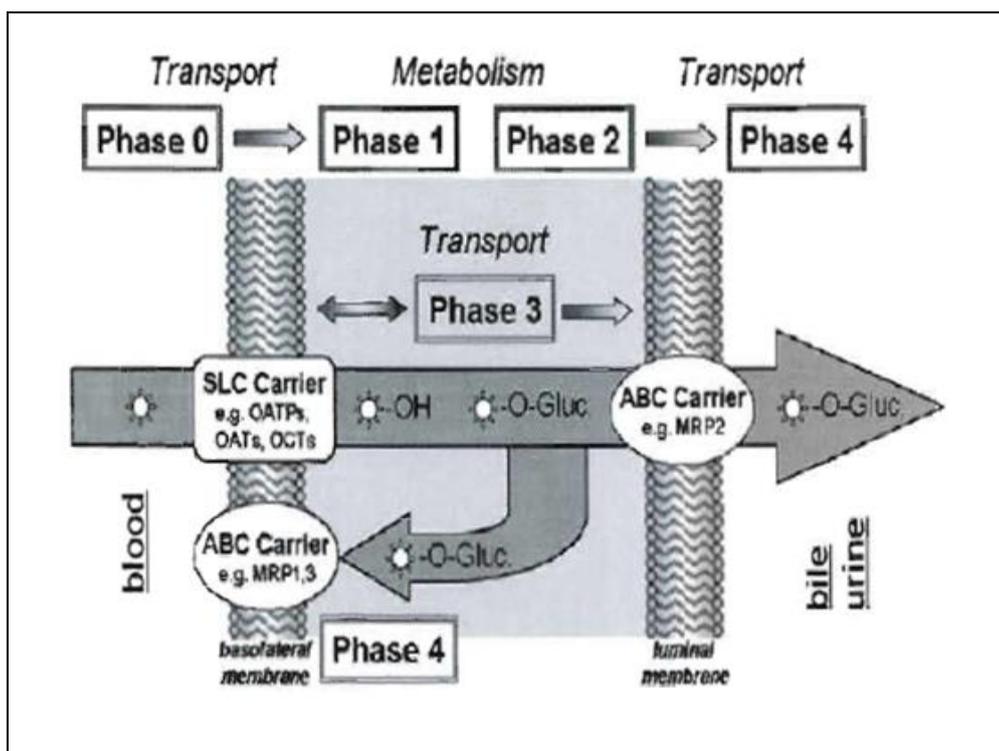


Figure 06 : Les 5 phases de la biotransformation des xénobiotiques par les hépatocytes. Les xénobiotiques subissent normalement un métabolisme en 5 phases: le transport, du sang vers l'intérieur de la cellule, par des protéines de transport SLC (ex. : OATPs; OATs; OCTs) (phase 0), la fonctionnalisation (phase 1), la conjugaison (phase 2), le transport intracellulaire (phase 3), et le transport de l'intérieur à l'extérieur de la cellule vers le sang ou vers les canalicules biliaires, via des protéines de transport ABC (ex. : MRP 1, 2, 3) (phase 4). ABC: «ATP-binding cassette»; MRP: «multidrug resistance-associated proteins»; OATs: «Organic anion transporters»; OATPs: «Organic anion transporting polypeptides»; OCTs: «Organic cation transporters»; O-Gluc: O-glucorinidated; OH: hydroxylated; SLC: «Solute carrier» (**Petzinger et Geyer, 2006**).

III. Les colorants alimentaires :

Les colorants étant des additifs purement « esthétiques » n'apportant aucune qualité supplémentaire aux aliments. Ils sont ajoutés avec un objectif principal de donner une couleur à un aliment, ou de restaurer sa couleur naturelle. L'aspect visuel est un facteur important pour le choix des produits par le consommateur (Denil et Lannoye, 2001).

III.1. Historique de l'utilisation des colorants alimentaires :

Le mélange de produits alimentaires ou l'incorporation de certaines épices ont été des moyens de colorer des mets depuis des temps reculés ; avant 1850, tous les colorants ajoutés dans l'alimentation étaient d'origine naturelle (safran, cochenille, caramel, curcuma, rouge de betterave) et ce n'est que vers la fin du XIX^e siècle qu'apparaissent les colorants de synthèse. Dans le monde, les pays réagissent différemment, mais la notion de liste positive fait vite son chemin pour être adoptée en France en 1912. De nombreux ajustements se succèdent à cause de problèmes toxicologiques, notamment avec l'interdiction du jaune de beurre et du ponceau 3M. En 1962, la CEE propose une liste de colorants, adoptée en France en 1946 puis régulièrement modifiée que ce soit pour les colorants eux-mêmes ou pour des restrictions d'emploi. En 1989, la liste CCE contient 42 produits dont la numérotation va de E 100 à E 180 mais une directive communautaire « colorants » est élaborée reprenant la liste avec certains modifications ou appellations (Multon, 2002).

III.2. Essais de classification :

Classer des colorants peut se faire de différents façons : la plus simple consiste à partir de leur caractéristique fondamentale ce qui revient à établir une classification selon la couleur. Mais on peut aussi tenir compte de la nature chimique, ce qui permet des rapprochements en fonction de leur solubilité ou de leur réactivité ; on aura ainsi, par exemple, les colorants azoïques, les dérivés polyphénoliques, les structures tétra-pyrroliques, etc. Enfin, nous pouvons considérer leur origine et distinguer les colorants naturels et les colorants synthétiques ou artificiels (Multon, 2002).

III.2.1. Colorants naturels :

Les colorants naturels sont extraits des plantes, des fruits, des arbres, des lichens, des insectes ou des mollusques par des procédés simples comme le chauffage ou le broyage.

Tableau 02: Colorants naturels les plus utilisés (Galtier, 1976).

REFERENCE	NOM	ORIGINE	COULEUR
E 100	Curcumine	Végétale : à partir du rhizome de curcuma.	Jaune
E 101	Riboflavine	Végétale : levure, germe de blé Animale : œufs, foie d'animaux	Jaune
E 120	Cochénille	Animale : à partir de d'un insecte la cochenille.	Rouge
E 121	Orseille	Végétale : lichens ou algues.	Rouge
E 140	Chlorophylles	Végétale : feuilles et parties vertes des plantes	Vert
E 141	Dérivés cuivriques de la chlorophylle	Végétale : feuilles et parties vertes des plantes	Vert
E 150	Caramel	Sucre brûlé.	Brun
E 153	Charbon végétal	Végétale : chauffage de bois.	Noir
E 160	Caroténoïdes	Végétale : extraits de nombreuses plantes, feuilles et fleurs.	Jaune orange
E 161	Xanthophylles	Végétale : dérivés des caroténoïdes.	Jaune orange
E 162	Rouge de betterave	Végétale : extrait de betterave.	Rouge
E 163	Anthocyanes	Végétale : extrait de divers fruits (cassis, myrtilles).	Bleu-rouge

III.2.2. Colorants synthétiques:

Ces colorants sont des molécules contenant du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène....obtenus par réaction à partir de produits chimiques dont la principale source est le pétrole.

Il existe aujourd'hui des centaines de colorants artificiels. Peu sont autorisés dans l'alimentation. Les voici regroupés dans un tableau avec leur code (Galtier, 1976).

Tableau 03: Colorants synthétiques.

REFERENCE	NOM	ORIGINE	COULEUR
E 102	Tartrazine	pétrole	Jaune
E 104	Jaune de quinoléine	pétrole	Jaune
E 105	Jaune solide	pétrole	Jaune
E 122	Azorubine	pétrole	Rouge
E 123	Amarante	pétrole	Rouge
E 125	Ecarlate GN	pétrole	Rouge
E 130	Bleu anthraquinonique	pétrole	Bleu
E 131	Bleu patenté V	pétrole	Bleu
E 132	Indigotine	pétrole	Bleu
E 142	Vert acide brillant	pétrole	Vert
E 151	Noir brillant BN	Pétrole	Noir
E 170	Carbonate de calcium	Minéral	Blanc
E 172	Oxydes de mercure et dioxydes de fer	Minéral	Brun
E 180	Pigment rubis	Minéral	Rouge

III.2.3 Avantages et inconvénients des colorants :

Aucun intérêt physiologique, ni technologique, l'utilisation des colorants dans l'alimentation répond au simple désir d'une meilleure présentation. Utilisation qui présente des avantages et des inconvénients aussi bien pour le fabricant que pour le consommateur (Galtier, 1976).

Tableau 04: Avantages et inconvénients des colorants naturels.

	Avantages	Inconvénients
Fabricant	Aucun.les fabricants les utilisent pour des raisons de législation et comme atout publicitaire. Indiquer qu'un produit est uniquement composé de produits naturels fait mieux vendre	-leur prix élevé. sans compter les frais supplémentaire de stockage et des opérations plus nombreuses donc plus coûteuses pour la fabrication. -Instable. Ils vieillissent mal. Perdant de leur intensité, ils se décomposent et précipitent.
consommateur	Une impression de sécurité.	-leur prix de revient plus élevé se répercute automatiquement sur le prix de vente au consommateur.

Tableau 05: Avantages et inconvénients des colorants synthétiques.

	Avantages	Inconvénients
Fabricant	- Prix de revient plus bas. -Stabilité du produit plus grande. -Dosages beaucoup plus faibles (d'où dépenses de stockage moins importantes).	-Aucun.
consommateur	-Prix de vente plus bas. -Doses inférieures utilisées.	-D'ordre psychologique exclusivement. (La psychose du colorant artificiel, générateur de cancer, devient un véritable handicap.)

III.2.4. La dose journalière admissible (DJA) :

La DJA est usuellement rapportée au kilo de poids corporel. C'est la dose de la substance susceptible d'être absorbée en une journée et par kilo de poids corporel par un individu sans entraîner d'effet toxiques, même si l'absorption a lieu quotidiennement toute la vie.

On choisit en général l'espèce la plus sensible pour définir ainsi la dose journalière admissible chez l'animal. Pour extrapoler à l'homme et déterminer la dose journalière admissible (DJA) pour l'homme, on divise la dose sans effet pour l'animal par un facteur arbitraire de sécurité 100 (10.10) :

-10 pour tenir compte de la différence de sensibilité entre espèces et de la synergie ou de l'antagonisme entre produits ;

-10 pour tenir compte des variations individuelles : état physiologique, état de nutrition, état sanitaire. Ce facteur peut être de 1000 pour les substances supposées plus toxiques.

Cependant la sécurité absolue n'existe pas. Le poids de référence est de soixante kilo et se pose donc le problème du dépassement de la DJA chez les enfants souvent consommateurs excessifs de certaines productions agro-alimentaires.

Il faut plutôt considérer la DJA comme la base d'un niveau d'ingestion en dessous duquel une sécurité relative est assurée (Leyral et Vierling, 2001).

IV. Tartrazine E102 :

IV.1. Définition :

La tartrazine est un colorant azoïque jaune obtenu par synthèse chimique, (Denil et Lannoye, 2001); il est utilisée fréquemment dans les années 1980 en raison de sa stabilité dans les enrobages de charcuterie, crème glacées, glace, confiseries, croutes de fromage. (Williams et *al.*, 1989).

Elle est classée sous différentes appellations suivant son usage :

- CI 19140 en tant que colorant des produits cosmétiques.
- Yellow 5 aux États-Unis.
- E102 en Europe comme colorant alimentaire (Chaveron, 1999).

IV.2. Structure chimique :

La tartrazine est un colorant jaune et se présente sous forme de poudre jaune orange ; bien soluble dans l'eau (150 g/l 20C°), elle devient rouge en milieu alcalin. Peu soluble dans l'éthanol (0,1 g/l).

Structure chimique : $C_{16}H_{12}N_4O_9S_2, 3Na$. PM : 534,4.

C'est l'acide 4,5-dihydro-5-oxo-1(4-sulfophényl)-4-[(4 sulfophényl)azol]1H-pyrazole-3 carboxylique, sel trisodique. (Multon, 2002).

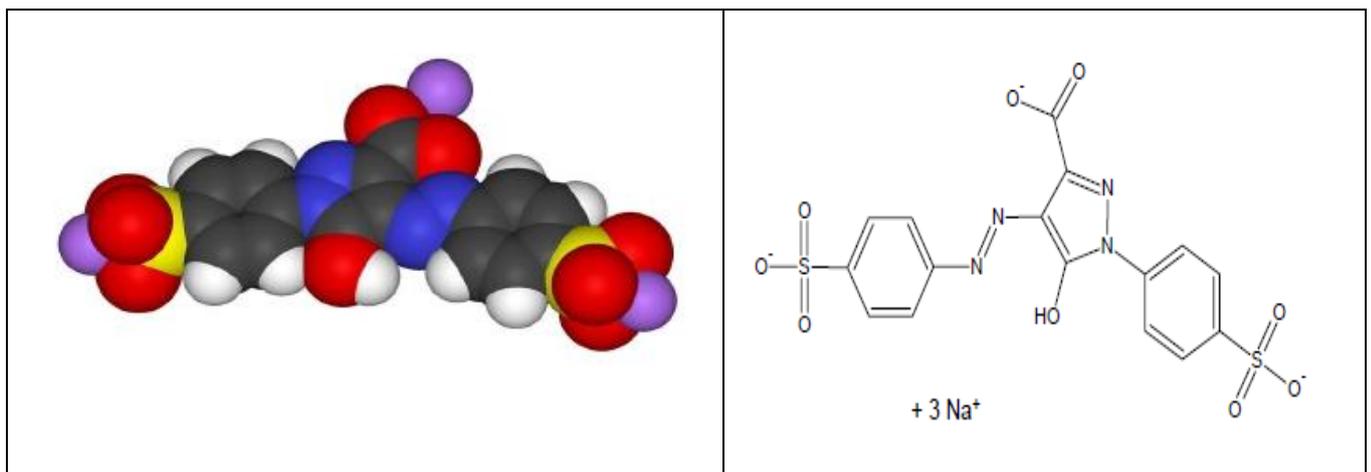


Figure 07: Structure chimique de la tartrazine (Mittal et *al.*, 2007)

IV.3. Utilisation de la tartrazine :

Parmi les colorants alimentaires les plus utilisés la tartrazine (**E102**). Ce colorant jaune orange est utilisé pour donner de belles couleurs aux chips, mélanges apéritifs, soupes instantanées, moutarde, sirops de menthe (mélangé à du bleu), petits pois en conserve, couscous, crèmes pâtisseries, glaces, confiseries (enrobages de sucreries), boissons à goût d'orange.

La tartrazine est également utilisé dans les produits cosmétiques en tant que base pour les colorants capillaires sous l'appellation "CI 19140" et dans certains produits pharmaceutiques comme agent colorant. (Dutau, 2012).

IV.4. Pharmacocinétique et métabolisme de tartrazine :

IV.4.1. Action de la flore bactérienne :

La tartrazine va se trouver dans le tube digestif où il va subir l'action de sucs digestifs et de la flore intestinale, la flore bactérienne semble jouer un rôle important grâce à la présence d'une activité azoréductasique dont le résultat est la rupture de la liaison $-N=N-$. cela fait apparaître des amines cycliques qui peuvent, à leur tour, être absorbées ou métabolisées.

La vitesse de dégradation est assez rapide, 41% de la tartrazine seraient dégradés en 4heurs (Multon, 2002).

IV.4.2. Absorption intestinale :

Il semblerait que chez l'être humain et les animaux de laboratoire, l'absorption orale de la tartrazine est extrêmement faible. Des études publiées dans littérature montrent que moins de 2% de la tartrazine ingérée sont absorbés (Murdoch *et al.*, 1987).

parce que la tartrazine est hautement chargée par des groupements du sulfonate qui empêchent l'absorption considérable quand celle-ci est administrée oralement (Phillips *et al.*, 1987).

IV.4.3. Catabolisme hépatique :

Lorsque la tartrazine arrive au foie, il peut subir des dégradations qui auront lieu essentiellement au niveau des microsomes ; ces réactions seront surtout des réductions, de N-désalkylations, des hydroxylations ou des conjugaisons :

-par **azo-réduction**, nous obtiendrons deux amines, l'une primaire, l'autre substituée ; cette réaction se fait avec un système enzymatique microsomal et le FAD comme coenzyme ;

-par **désalkylation**, nous obtiendrons des composés déméthylés ;

-l'**hydroxylation** peut devenir une voie importante si la réduction n'a pas lieu ;

-la **conjugaison** avec l'acide glycuronique favorise l'hydrosolubilité et l'excrétion (Multon, 2002).

La bile peut représenter une voie d'excrétion pour environ 5% de la dose ingérée. On y retrouve alors soit le composé d'origine, soit des dérivés conjugués qui seront hydrolysés par une glucuronidase ; les produits d'hydrolyse peuvent être ré-absorbés, si bien qu'une circulation entéro-hépatique s'établit (Derache, 1986).

IV.5. Effet toxique de la tartrazine:

La tartrazine est une substance allergisante pouvant provoquer de l'asthme, de l'urticaire ou de l'eczéma et qui est suspectée de jouer un rôle dans le syndrome d'hyperactivité. Comme tous les colorants azoïques, le tartrazine peut contenir des résidus de substances cancérigènes (certaines amines aromatiques). Certains tests *in vitro* lui attribuent un effet mutagène (Denil et Lannoye, 2001).

IV.5.1. Effet allergique :

De nombreuses observations ont été faites ; on en trouvera une analyse dans diverses revues. Chez certains individus, ce colorant azoïque développe un certain nombre de réactions adverses de type allergique comme du prurit, de l'œdème, de l'urticaire, de l'asthme, de la rhinite (Derache, 1986).

IV.5.2. Hyperactivité :

La controverse majeure dans le domaine des colorants alimentaires artificiels est la suggestion d'abord fait dans les années 1920 que les couleurs artificielles et additifs alimentaires, y compris la tartrazine, peuvent avoir des effets néfastes sur les enfants induisant «hyperactivité» (Burrows, 2009). Une hypothèse spécifique relative à cette relation a été développée en 1973 par Feingold (1975) qui ont proposé que l'hyperactivité et les problèmes d'apprentissage chez les enfants sont dus à certains aliments et additifs alimentaires ainsi que les aliments contenant des salicylates naturels (examiné en détail par Arnold *et al.*, 2012).

IV.5.3. Effet cancérigène :

Les colorants azoïques utilisés dans l'alimentation sont des composés sulfonés hydrosolubles. Ces composés ne seraient pas cancérigènes parce qu'ils sont éliminés rapidement et parce que leur métabolisme ne fait apparaître que des dérivés aminés, sulfonés, carboxylés ou hydrolysés. (Derache, 1986)

Matériels

et

méthodes

I. Animaux:

L'expérience est portée sur 48 souris swiss 4 semaines de poids de (17.15 ± 4.65) g. Ces animaux sont maintenus dans une pièce avec un rythme nyctéméral de 12 h/12h. Les souris sont ensuite réparties en 3 groupes :

- MT: est constitué de 8 souris males recevant l'eau à 0% de tartrazine
 - FT : est constitué de 8 souris femelles recevant l'eau à 0% de tartrazine
 - M_{0,005%} : est constitué de 8 souris males recevant l'eau à 0,005% de tartrazine
 - F_{0,005%} : est constitué de 8 souris femelles recevant l'eau à 0,005% de tartrazine
 - M_{0,05%} : est constitué de 8 souris males recevant l'eau à 0,05% de tartrazine
 - F_{0,05%} : est constitué de 8 souris femelles recevant l'eau à 0,05% de tartrazine
- **Tableau 06:** Composition de l'aliment pour rongeurs ONAB.

Composition
Mais Son Remoulage Soja

II. Tartrazine :

Le colorant alimentaire choisi est la tartrazine (E102), de pureté à 86.80 % du produit. La substance se présente sous un aspect de poudre très fine de couleur orange, inodore et de saveur âcre. Ses spécifications sont présentées dans (**tableau 7**).

Tableau 07: Spécifications de la tartrazine E102.

Caractéristique	Norme %	%
-Pureté	85	86.80
- Matières volatiles	15	8.85
- Matières insolubles.	0.20	0.07
- Plomb (ppm).	10	< 10 ppm
- Arsenic (ppm).	1	< 1 ppm
- métaux lourds (ppm).	40	< 40 ppm

III. La conception expérimentale

III.1. Toxicité subchronique de la tartrazine :

La tartrazine est administrée de façon répétée, quotidiennement, pendant une durée qui n'excède pas quatre vingt dix jours (quantité d'eau = 400 ml , quantité d'aliment = 100g) .

L'espèce choisie en fonction des résultats d'études antérieures, est des souris swiss, un animal qui se prête facilement aux études toxicologiques.

La croissance, le comportement et la mortalité de l'animal sont analysés. On procède à de nombreuses exploitations biologiques. Les souris mortes font l'objet d'une autopsie qui permet divers examens histo-pathologiques d'organes et tissus. Cette phase d'étude a pour but d'établir des relations entre la dose administrée et les effets toxiques observés.

Le protocole expérimental est conduit en deux phases:

III.2. La première phase

III.2.1.Répartition des animaux

Les animaux ont été divisés en 3 groupes de 16 animaux chacun, 8 de chaque sexe. Ils sont ainsi retenus avec un poids moyen $20 \pm 2,28g$. Tous les animaux ont été traités par voie orale tous les jours pendant 90 jours. Tartrazine a été dilué dans de l'eau. Le premier groupe a reçu de l'eau potable comme un contrôle; le deuxième groupe eau potable qui contenait 0,005% de la tartrazine, dans le troisième, l'eau potable contenait 0.05% tartrazine.

groupe 1 (**témoins**) : comprenant 8 mâles et 8 femelles

groupe 2:comprenant 8 mâles et 8 femelles prennent Dose de tartrazine **0.005 %**

groupe 3 : comprenant 8 mâles et 8 femelles prennent Dose de tartrazine **0.05 %**

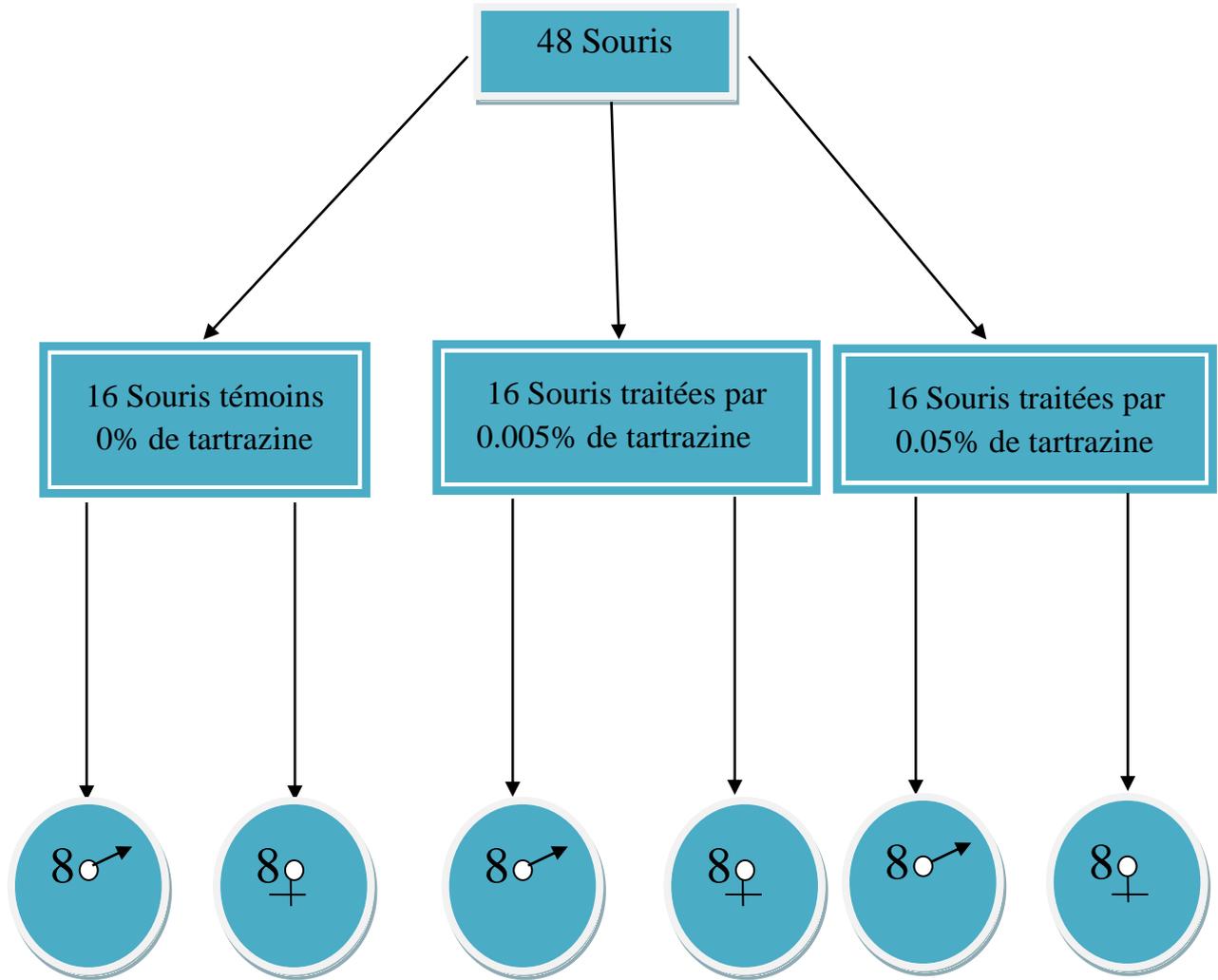


Figure 08: Schéma de répartition des souris par différents groupes expérimentaux recevant la tartrazine à 0.005 %,0.05% dans l'eau de robinet en plus le groupe témoin.

III.2.2. L'observation et la mesure de la croissance pondérale

Les animaux ont été observés quotidiennement pour les conditions générales. Ils étaient pesés chaque semaine, sur le premier et le dernier jour de la période d'administration, et le jour de sacrifice.

III.2.3 Évaluation de la consommation journalière de la tartrazine

L'alimentation ainsi que le volume quotidien d'eau ont été calculés comme un moyen de l'apport quotidien, suivie par l'observation quotidienne et de la mesure du volume effectivement prises par chaque animal.

III.3. La deuxième phase :

III.3. 1. Prélèvements sanguins et du foie

Après 90 jours, tous les animaux mis à jeun pendant 12 heures de leur sacrifice. Le sang a été prélevé à partir du sinus rétro-orbital, puis ces animaux sont sacrifiés par décapitation cervicale, le foie a été observé macroscopiquement et pesé. En outre. Il a été fixé dans une solution de formole à 10% pour réaliser une étude histologique.

III.3. 1.1. Prélèvement sanguin

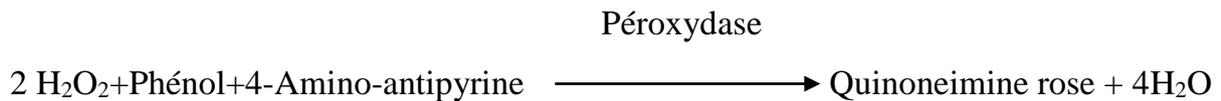
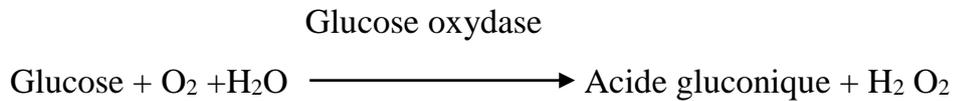
On réalise un prélèvement du sang oculaire dans des tubes héparinés. Le sang est centrifugé à 3000 tours/mn pendant 10 min et le plasma obtenu est utilisé pour le dosage des différents paramètres biochimiques : Les concentrations en protéines totales (PT), l'albumine, le cholestérol total (CT), les fractions lipoprotéiques HDLc et LDLc, le glucose, la GOT et la GPT, de triglycérides (TG), la bilirubine totale, bilirubine directe et indirecte et l'activité de la phosphatase alcaline (PAL).

III.3. 1. 1.1. Méthodes de dosage

Les différents dosages sont réalisés avec l'utilisation des kits Biomaghreb (Tunisie) par des méthodes colorimétriques et enzymatiques.

III.3. 1.1. 1.1. Dosage de Glucose

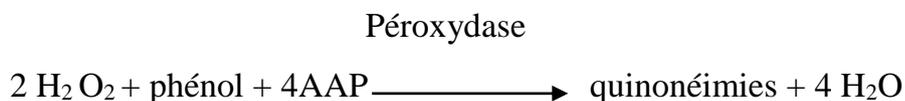
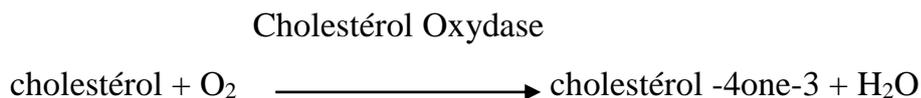
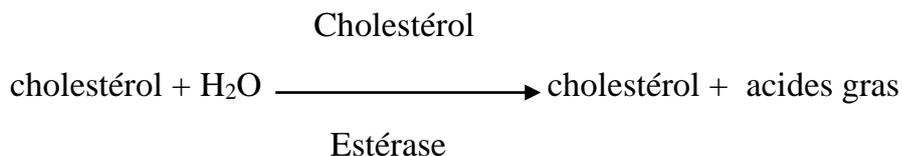
Principe : C'est une méthode colorimétrique enzymatique du glucose selon les réactions suivantes :



III.3. 1. 1.1.2. Dosage du cholestérol total

Principe : C'est une méthode colorimétrique enzymatique. Le cholestérol est déterminé après hydrolyse enzymatique et oxydation. L'indicateur quinonéimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du 4 aminophénazone, en présence du phénol et de la peroxydase.

Détermination enzymatique du cholestérol suivant les réactions suivantes :



4AAP : Amino-4-antipyrine

III.3. 1. 1. 1.3. Dosage du taux de HDL-cholestérol

Principe : Les fractions lipoprotéiques des LDLc et VLDLc sont précipitées par une technique de précipitation au moyen de l'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium, les lipoprotéines lourdes (HDL) contenues, dans le surnageant obtenu après centrifugation sont ensuite dosées par la même méthode enzymatique que celle utilisée dans celui du cholestérol totale.

III.3. 1. 1. 1.4. Détermination du taux de LDL-cholestérol

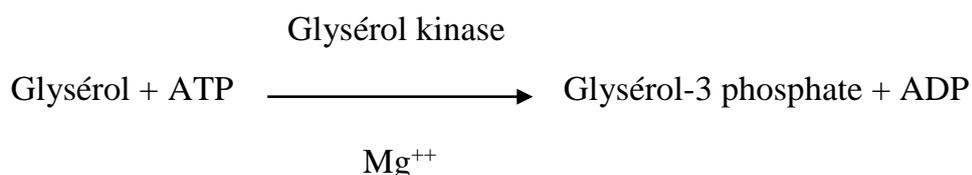
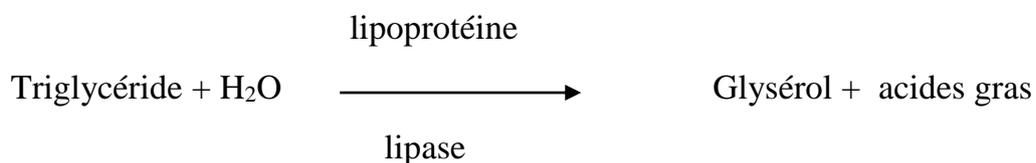
La concentration LDL-cholestérol est déterminée à partir de la formule de FRIEDEWALD (ceci l'est valable que si la teneur en triglycéride est inférieure à 4 g/l)

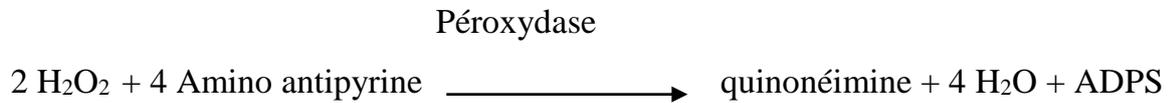
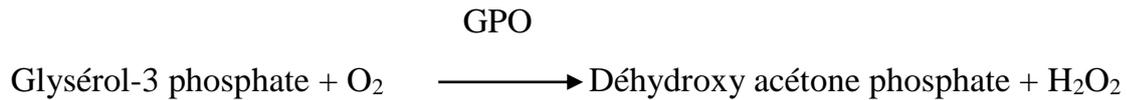
$$\text{LDL-chole} = \text{CT} - \text{HDL-chole} - \text{TG}/5 \text{ (en g/l)}$$

III.3. 1. 1.1.5. Dosage des triglycérides

Principe : C'est une méthode colorimétrique enzymatique, les triglycérides sont déterminés après une hydrolyse enzymatique en présence de lipase. L'indicateur est la quinonéimine formée à partir du peroxydase d'hydrogène, du 4-amino-antipyrine et du 4-chlorophénol sous l'action catalytique de la peroxydase.

Le dosage des triglycérides est effectué par voie entièrement enzymatique selon les réactions suivantes :



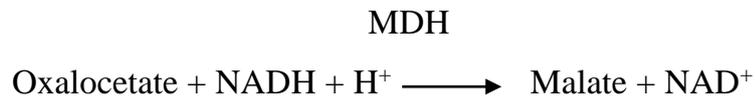
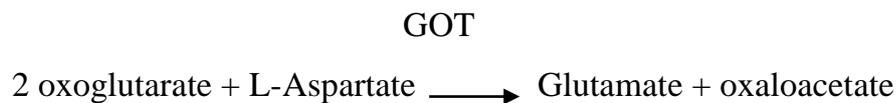


G.P.O: Glysérol-3-phosphate oxydase.

A.D.P.S: N-Etyl-N-sulfopropyl-N-méthoxy aniline.

III.3. 1.1. 1.6. Dosage de GOT-ASAT

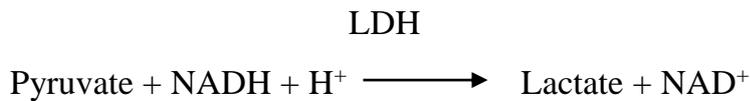
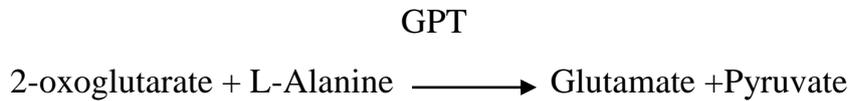
Principe : Détermination cinétique de l'activité aspartate aminotransférase. Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité d'aspartate amino transferase dans l'échantillon. GOT: Transaminase flutanique oxaloacétique MDH: Malate Dehydrogenase.

V.3.3.1.1.1 .7. Dosage de GPT-ALAT

Principe : Détermination cinétique de l'activité Alanine amino transférase. Le schéma réactionnel est le suivant:



Le taux de diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité alanine transférase dans l'échantillon. GPT: Transaminase Glutanique pyruvique
LDH: Lactate Dehydrogenase.

III.3. 1.1. 1.8. Dosage des bilirubines total

Principe : L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthyl sulfoxyde (DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azo-bilirubine.

III.3. 1. 1. 1.9. Dosage de bilirubine directe

Principe : L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En l'absence de diméthyl sulfoxyde seule la bilirubine directe se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'azo-bilirubine.

III.3. 1. 1. 1.10. Détermination des teneuses sériques de Bilirubine indirecte

La concentration sérique est déterminée à partir de la formule de suivant :

$$\text{BIN} = \text{BT} - \text{BD}$$

III.3. 1. 1.1.11. Dosage de La phosphatase alcaline :

Principe: La phosphatase alcaline (PAL) catalyse l'hydrolyse du p-nitrophénylphosphate (pNPP) à pH 10,4 libérant du p-nitrophénole et du phosphate en fonction de la réaction suivante:



La vitesse de formation du p-Nitrophénole, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

III.3. 1. 1. 1. 12. Dosage des Protéines totales

Principe: En milieu alcalin, Protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent du iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé.

V.3.3.1. 1. 1.13. Dosage d'Albumine

Principe : L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé.

V.3.3.1. 1. 1.14. Analyses Statistiques

Les résultats sont représentés en moyenne \pm SD (Excel). La comparaison entre les différents groupes est effectuée après une analyse de variance (ANOVA). Les moyennes

sont comparées par un test à l'aide d'un logiciel SigmaStat. Un $p < 0.05$ est considéré comme significatif.

III.3. 1.2. Etude histologique

L'objectif de cette étude est de vérifier l'existence de modification éventuelles dans la structure histologique du foie des souris swiss, par suite de l'ingestion subchronique de tartrazine pendant les 13 semaines. L'étude histologique est effectuée sur le foie des souris intoxiquées à la tartrazine aux teneurs de 0.005%, 0,05% et les résultats sont comparés à ceux du groupe témoin n'ayant pas consommé de tartrazine.

III.3.1.2.1. Traitement des fragments de tissus

a. Fixation

Les tissus sont fixés dans du formol tamponné à 10% ensuite dans du formol dilué au 1/10ème pendant 30 minutes.

b. Déshydratation

Après fixation, les tissus sont déshydratés dans 4 bains successifs d'éthanol à température ambiante. Chaque bain dure 45 minutes.

c. Clarification

Cette opération s'effectue après la déshydratation. Les pièces sont placées dans deux bains successifs de toluène à 45 minutes.

d. Inclusion

L'inclusion est effectuée avec de la paraffine, les échantillons sont placés dans deux bains successifs de paraffine pendant une heure chacun dans l'étuve à 56°C puis coulés dans des moules en plastique à température ambiante.

III.3.1.2.2. Traitement des lames

Après inclusion à la paraffine, les blocs contenant le fragment sont coupés à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 4 µm.

a. Etalement sur lames

Une fois les coupes terminées, elles sont mises sur une lame de verre recouvertes de colle (2 g d'albumine + 50 ml de glycérine dans 1000 ml d'eau distillée) puis placées sur une plaque chauffante réglée à une température convenable, inférieure à celle du point de

fusion de la paraffine. A l'aide d'une pince, les plis de la paraffine sont tirés légèrement de chaque côté. Ensuite, l'ensemble coupe-lame est retiré de la plaque et égoutté, essoré au papier Joseph et mis à sécher. Avant de procéder à la coloration des lames, il faut les déparaffiner et les réhydrater.

b. Déparaffinage

Pour déparaffiner les lames, il suffit de les placer dans deux bains successifs de toluène. Chaque bain dure 2 minutes.

c. Réhydratation

L'hydratation se fait dans 3 bains successifs d'alcool éthylique de degrés décroissants (100°, 95°, 90°, 70°). Chaque bain dure 2 minutes. Le dernier est suivi d'un rinçage à l'eau courante.

d. Coloration

Les lames sont colorées à l'hémalum-éosine, qui représente la plus simple des colorations combinées. La coloration du noyau est bleu-noir et le cytoplasme rose à rouge. La préparation du colorant hématoxyline de Harris (**tableau 8**). La coloration des lames est effectuée comme suit :

- Mettre les lames dans l'hématoxyline de Harris durant 2 à 3 minutes.
- Laver les lames à l'eau ordinaire.
- En cas de sur coloration, les lames sont trempées légèrement dans de l'alcool chlorhydrique pendant quelques secondes (100 ml d'alcool à 95°+ 5 gouttes de HCl à 1%).
- Bleuir dans une solution aqueuse saturée de carbonate de lithium (rinçage).
- Laver les lames à l'eau ordinaire.
- Mettre les lames dans un bain d'alcool éthylique 1 à 2 minutes.
- Colorer les lames à l'éosine alcoolisée (2g d'éosine dans 100 ml d'alcool éthylique)

pendant 5 minutes.

- Rinçage des lames dans deux bains successifs d'alcool éthylique à 70° puis à 95°.
- Mettre les lames dans du toluène pendant 1 minute.
- Mettre entre lame et lamelle une goutte de baume de Canada ou d'Eukitt.
- Laisser sécher puis observer au microscope.

Tableau 8. Composition du colorant à l'hématoxyline de Harris d'après (Hould, 1984).

Produits	Quantité
Hématoxyline	5 g
Ethanol	50 ml
Alun de potassium	100 ml
Oxyde mercurique	2.5 g
Eau Distillée	1000 ml

Résultats

I- Consommation moyenne journalière de l'aliment par souris

Les variations de la consommation journalière de l'aliment sont illustrées sur la **figure9**. On note une baisse significative ($p < 0,05$) de la consommation journalière de l'aliment par souris chez $M_{0,05}$ par rapport au TM: (5.25 ± 0) g/j/souris vs (5.90 ± 0.69) g/j/souris. Egalement pour $F_{0,05}$ par rapport TF : (5.25 ± 0) g/j/souris vs (5.65 ± 0.88) g/j/souris ($p < 0,05$).

On observe que les consommations journalières de l'aliment par souris diminuent 0,88 fois et 0,92 fois chez les $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ respectivement par rapport TM et TF.

Aucune différence significative de la consommation alimentaire n'est révélée entre les groupes $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$

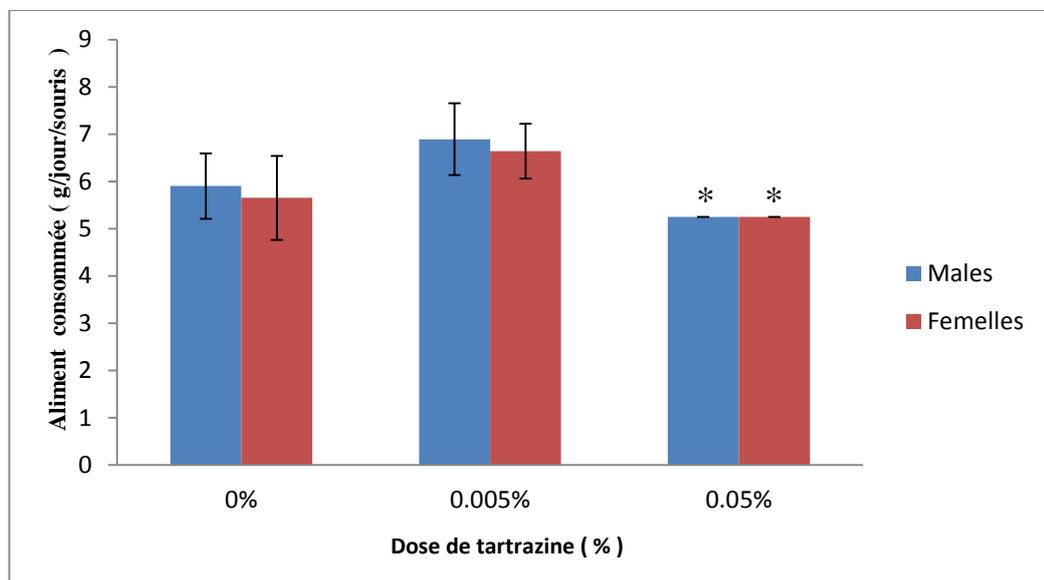


Figure 09: Consommation journalière de l'aliment par souris chez les souris males et femelles traitées par 0,005% et 0,05% de tartrazine comparées aux témoins

II- Consommation quotidienne de la solution de tartrazine par souris

La tartrazine est administrée aux différents groupes expérimentaux diluée dans l'eau de boisson.

La figure10 représente le score cumulé exprimé en volume d'eau consommé par les souris. On remarque une augmentation significative ($p < 0,05$) de la consommation

de la solution chez les souris traitées par la tartrazine à 0.05% par rapport aux groupes des souris témoins 0% de tartrazine.

La consommation de l'eau est importante chez $M_{0,05}$ ($7,9 \pm 0,8$) ml/j/souris et $F_{0,05}$ ($7,12 \pm 1,42$) ml/j/souris par rapport à celle des témoins TM ($6,46 \pm 2,16$) ml/j/souris et TF ($5,77 \pm 1,57$) ml/j/souris.

Nos résultats montrent qu'il y a une augmentation de la consommation de l'eau de 1.22 fois et 1.23 fois chez les $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ respectivement par rapport aux TM et TF. Alors qu'il n'y a aucune différence entre les $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$

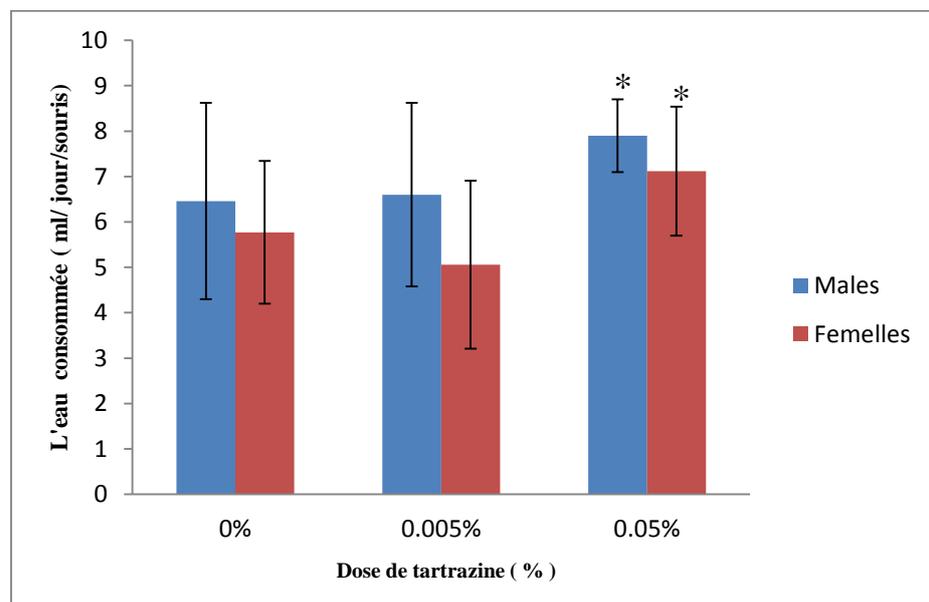


Figure10 : Consommation journalière de l'eau par souris chez les souris mâles et femelles traitées par 0,005% et 0,05% de tartrazine comparées aux témoins

III- Croissance pondérale

Dans cette partie de travail, nous avons évalué les conséquences de la consommation subchronique de la tartrazine aux doses de 0%, 0,005% et 0,05% sur l'évolution du poids corporel chez les souris swiss. Les résultats sont illustrés dans les **Fig 11 et 12**.

Nos résultats montrent que, aussi bien chez les mâles que chez les femelles, le poids corporel augmente progressivement en fonction du temps dans tous les groupes expérimentaux. Cependant, on note une diminution très significative du degré

d'évolution du poids corporel des souris $M_{0,05}$ de tartrazine ($p < 0,05$) au cours de la 5^{ème}, 7^{ème} et 8^{ème} semaine par rapport aux souris TM. Les valeurs sont : $(27 \pm 1,41)g$ vs $(39,37 \pm 0,91)g$, $(27,2 \pm 1,64)g$ vs $(39,75 \pm 0,88)g$, $(26,6 \pm 1,34)g$ vs $(38,5 \pm 1,19)g$.

De même, cette diminution d'évolution du poids corporel est significative chez les souris $F_{0,05}$ de tartrazine ($p < 0,05$) à partir de la 7^{ème} semaine jusqu'à la 13^{ème} semaine, par rapport aux souris TF. Les valeurs sont respectivement: $(32,71 \pm 5,05)g$ vs $(35,62 \pm 6,04)g$, $(33 \pm 4,86)g$ vs $(36,62 \pm 5,37)g$, $(32,57 \pm 4,64)g$ vs $(36,12 \pm 4,58)g$, $(33,14 \pm 3,89)g$ vs $(36 \pm 4,56)g$, $(32 \pm 4,89)g$ vs $(37 \pm 4,56)g$, $(32,42 \pm 4,64)g$ vs $(37,12 \pm 2,58)g$ et $(32 \pm 4,12)g$ vs $(38,75 \pm 2,96)g$.

En outre, une diminution très significative est signalée chez les souris $M_{0,005}$ à partir de la 11^{ème} semaine et jusqu'à la 13^{ème} semaine ($p < 0,05$) par rapport aux souris TM. Les valeurs sont respectivement $(28,87 \pm 1,42)g$, $(25,71 \pm 1,42)g$ et $(26,71 \pm 1,03)g$.

Les mêmes observations pour les $F_{0,005}$ une diminution significative est signalée à partir de la 8^{ème} semaine et jusqu'à la 13^{ème} semaine ($p < 0,05$) par rapport au groupe TF. Les valeurs sont respectivement $(26,57 \pm 1,32)g$, $(26,71 \pm 1,21)g$, $(27 \pm 1,34)g$, $(26,85 \pm 1,42)g$, $(25 \pm 1,42)g$ et $(26 \pm 1,03)g$.

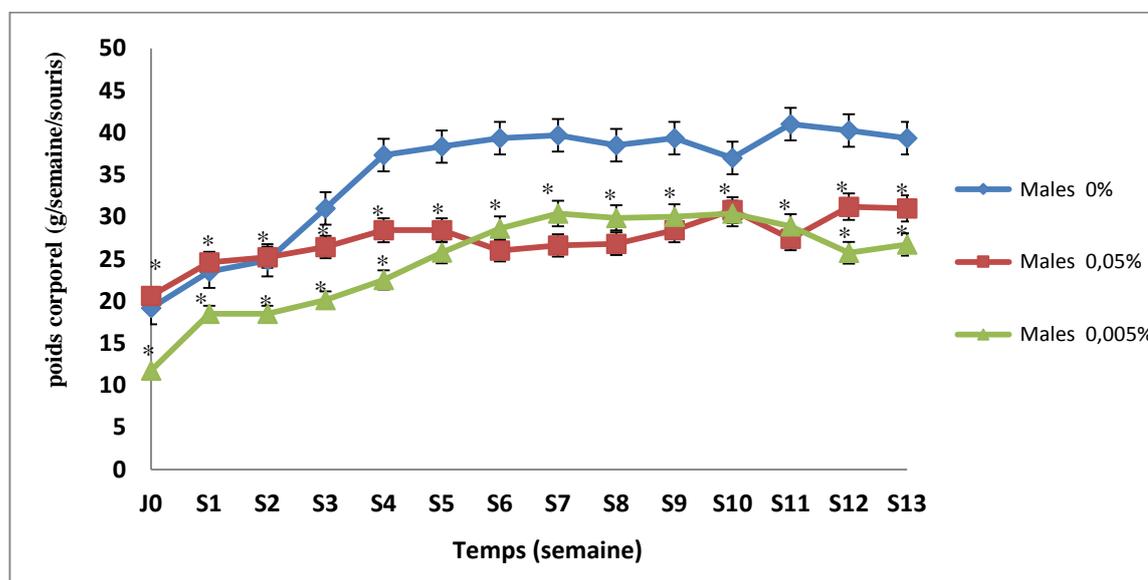


Figure 11 : Variation du poids corporel chez les souris males traitées par tartrazine 0.005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%

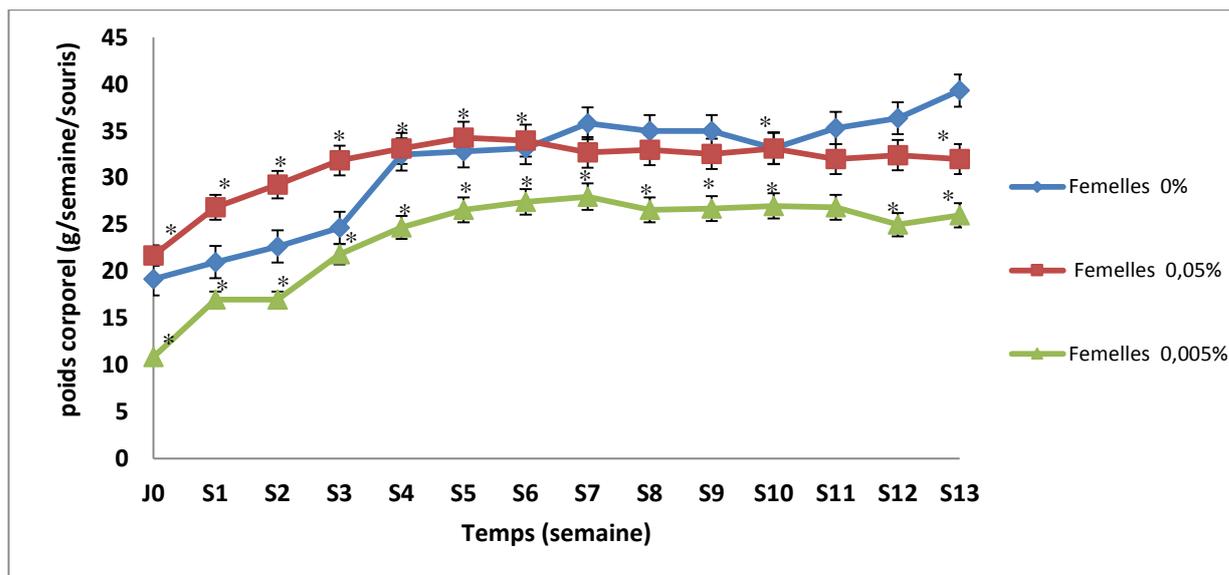


Figure 12 : Variation du poids corporel chez les souris femelles traitées par tartrazine 0.005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%

IV. Le gain pondéral

La **figure 13** montre une diminution du gain pondéral chez les souris traitées à 0.05 % de tartrazine comparées au groupe témoin.

Les gains pondéraux des $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ sont inférieurs à ceux des TM et TF ($p < 0,05$), ces diminutions sont importantes qui correspondent à 0.56 fois et 0.52 fois respectivement par rapport au TM et TF.

Le gain pondéral des souris $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ est identique.

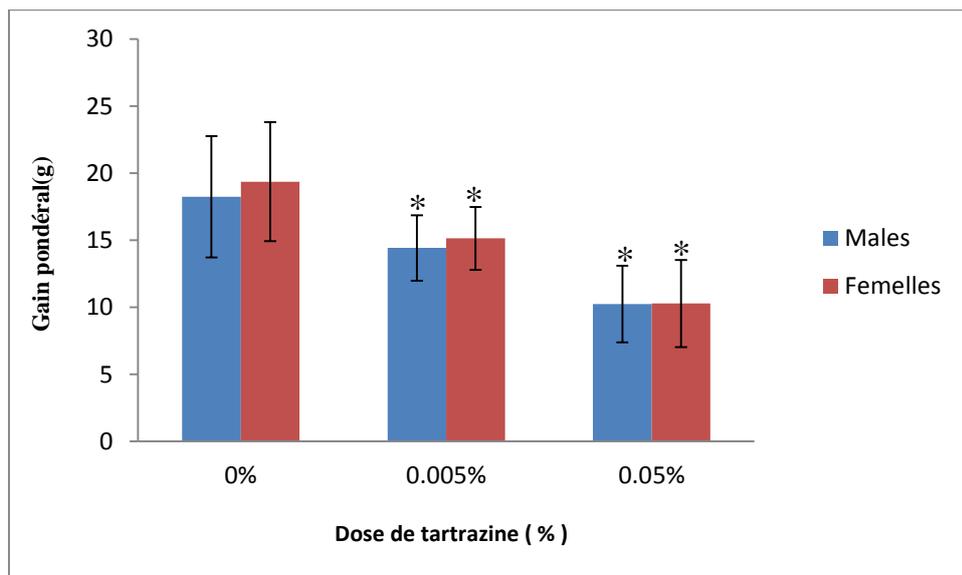


Figure 13 : gain pondéral chez les souris males et femelles traitées par 0,005% et 0,05% de tartrazine comparées aux témoins

V. Poids du foie :

Le poids relatif des organes renseigne sur l'évolution de l'organe par rapport à celui de l'organisme entier. A la fin de la période expérimentale, une différence significative est signalée pour le poids relatif du foie chez les souris traité à 0,05% de tartrazine par rapport aux témoins, nous avons noté une augmentation significative du poids relatif du foie chez les souris $M_{0,05}$ et les souris $M_{0,005}$ comparés aux souris TM ($p < 0,05$). Les valeurs exprimées en (%) sont : $M_{0,05}$ ($4,77 \pm 0,28$)% vs TM ($4,12 \pm 0,22$)% et $M_{0,005}$ ($5,40 \pm 0,38$)% vs TM ($4,12 \pm 0,22$)% (**Tableau 09**).

De même, nos résultats indique une augmentation significative du poids relatif du foie chez les souris $F_{0,05}$ et $F_{0,005}$ par rapport aux souris TF ($p < 0,05$). En effet les valeurs exprimées en (%) sont : $F_{0,05}$ ($4,43 \pm 0,63$) vs TF($3,33 \pm 0,42$) et $F_{0,005}$ ($4,84 \pm 0,53$) vs TF($3,33 \pm 0,42$) (**Tableau 09**).

Tableau 09 : Variation du poids corporel des souris et du poids du foie

	Poids corporel des souris (g)	Poids absolu du foie (g)	Poids relatif du foie (%)
TF	32.11 ± 6.46	1,22±0,21	3,33±0,42
TM	34.97±6.70	1,57±0,04	4,12±0,22
F _{0,005}	26±92	1.25±0.14	4,84±0,53
M _{0,005}	26.71±1.97	1.44±0.13	5,40±0,38
F _{0,05}	32.60±4.21	1,43±0.35	4,43±0,63
M _{0,05}	33.41±5.03	1.62±0.28	4,77±0,28

VI. Taux de mortalité et les transformations morphologiques et comportementales

Au cours de l'expérimentation, nous avons enregistré un taux de mortalité de 12,5% chez M_{0,05} (**Figure14**), ainsi qu'une agressivité et une agitation ont été observées chez les mâles du même groupe.

Une coloration et une odeur intense des urines a été observées chez les souris M_{0,05} et F_{0,05} par rapport aux témoins, en plus un changement de couleur du foie chez M_{0,05}.

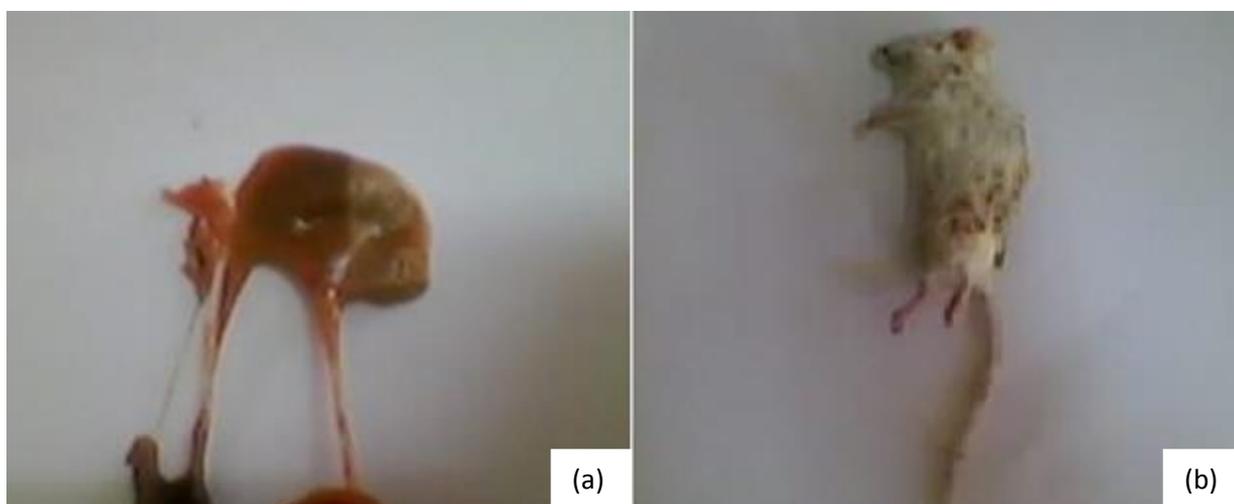


Figure 14 : (a) le foie de la souris morte. (b) une souris morte

VII. Paramètres biochimiques

VII -1- Teneurs en Glucose

D'après la **figure 15** , il y a une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux de glucose chez $M_{0,05}$ ($2 \pm 0,07$) g/l par rapport aux TM ($0,76 \pm 0,02$) g/l, la glycémie des $M_{0,05}$ est 2.62 fois plus élevée que celle des TM.

De même, la glycémie des $F_{0,05}$ a augmentée significativement ($p < 0,05$) avec un taux de ($1,63 \pm 0,13$) g/l par rapport au TF dont la glycémie est de ($0,78 \pm 0,12$) g/l, c'est à dire une augmentation à raison de 2.08fois la valeur de TF.

L'ingestion de tartrazine a augmenté la glycémie chez $M_{0,05}$ par rapport au $F_{0,05}$ ($p < 0,05$). Le taux de glucose des $M_{0,05}$ est de 1.22 fois supérieur que celui des $F_{0,05}$.

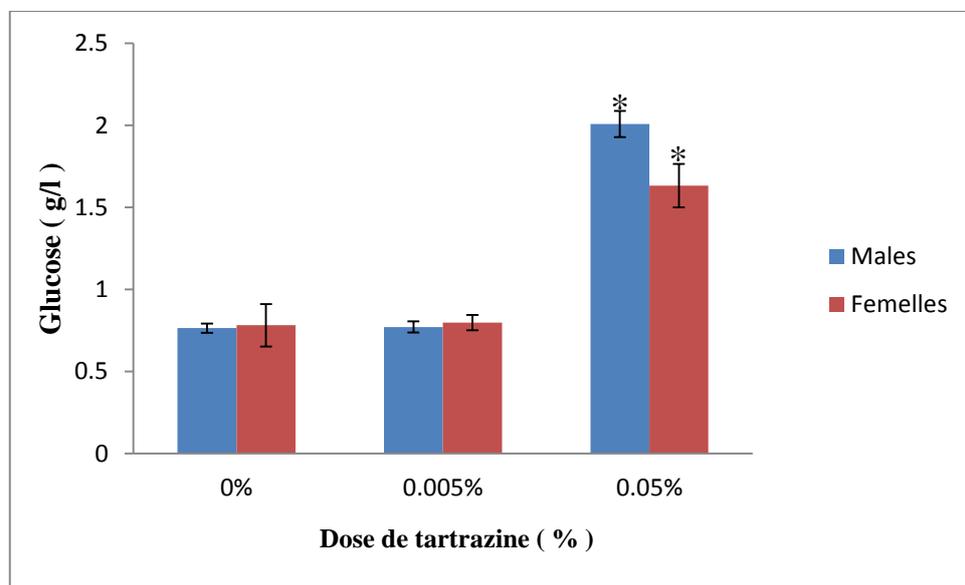


Figure15 : Teneurs du glucose chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%.

VII -2-Teneurs en lipides

VII -2- 1- Teneurs en Cholestérol Total

Les résultats du cholestérol total sont illustrés sur la **Figure 16**. La consommation quotidienne de la tartrazine à raison de 0,05% augmente les taux du cholestérol total chez les deux sexes par rapport aux témoins.

Chez les $M_{0,05}$, le cholestérolémie totale est 2.66 fois plus élevée que celle des TM ($p < 0,05$) avec un taux de cholestérol de (2.56 ± 0.06) g/l vs (0.96 ± 0.09) g/l respectivement.

Le taux du cholestérol a subi une élévation significative ($p < 0,05$) chez les $F_{0,05}$ (2.62 ± 0.26) g/l par rapport au TF (0.97 ± 0.16)g/l. Le taux du cholestérol total chez les $F_{0,05}$ est 2.7 fois plus élevé que celui des TF.

Il n'y a aucune différence significative de la cholestérolémie entre $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$

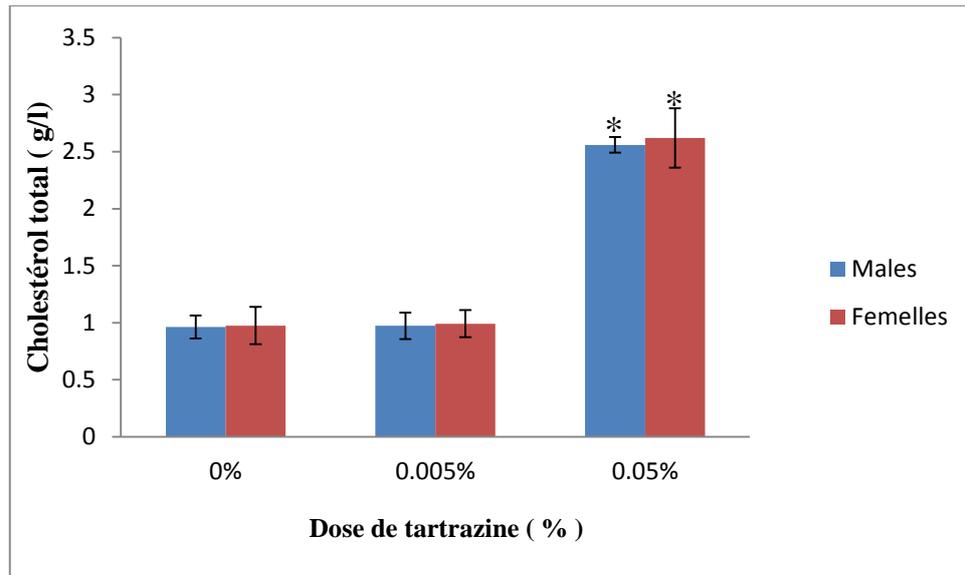


Figure 16 : Teneurs du cholestérol total chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%.

VII -2- 2- Teneurs en Cholestérol-HDL

Après un traitement à raison de 0.05% et 0,005% de tartrazine, nous avons remarqué une égalité du taux de HDLc des lots TF, TM, $F_{0,005}$ et $M_{0,005}$ (**figure 17**). Alors que les souris traitées par 0.05 % de tartrazine ont un taux de HDLc bas par rapport aux lots précédents.

Chez les souris $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$, les taux de HDLc sont respectivement (0.31 ± 0.02) g/l et (0.42 ± 0.18) g/l. Ainsi que ces deux lots ont des taux de HDLc 1.93 et 1.45 fois inférieur à ceux des TM et TF ($p < 0.05$).

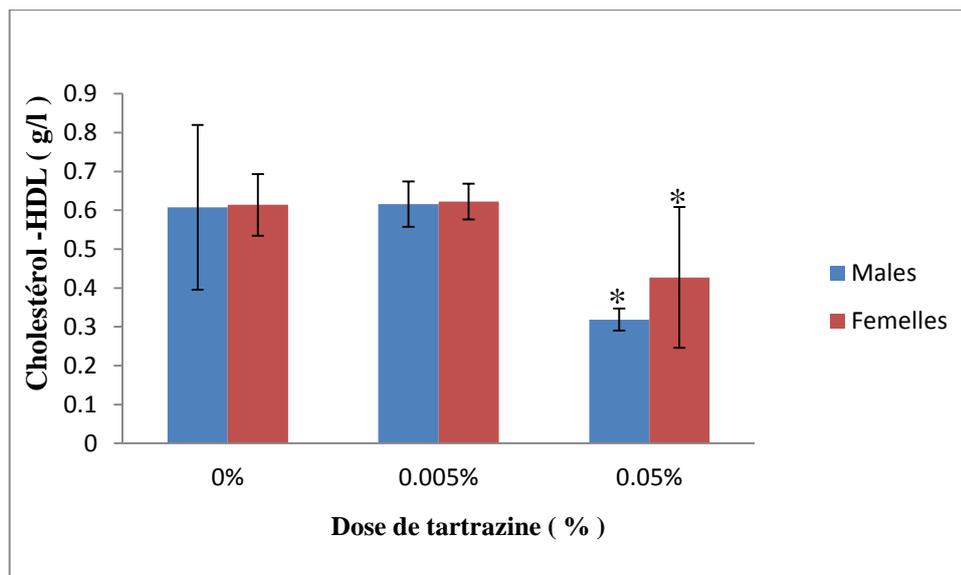


Figure17 : Teneurs du cholestérol-HDL chez les souris traitées par tartrazine

0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -2- 3- Teneurs en Cholestérol-LDL

Les résultats du taux de LDLc sont figurés sur l'histogramme (**figure 18**). Comme le cholestérol, le taux de LDLc est également élevé chez les groupes $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ par rapport aux TM, TF, $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$.

Chez les $M_{0,05}$, nous avons noté un accroissement significatif ($p < 0,05$) du taux de LDLc (1.89 ± 0.11)g/l par rapport au TM ($0,32 \pm 0.07$) g/l qui correspond à une augmentation de 5,9 fois.. Le taux de LDLc des $F_{0,05}$ est également élevé (1.95 ± 0.18) g/l par rapport au TF (0.27 ± 0.05) g/l avec une signification de ($p < 0,05$) donc cette élévation est de 7,22.

Le taux de LDLc des $M_{0,05}$ est diminuée de 0.96 fois par rapport à celui des $F_{0,05}$.

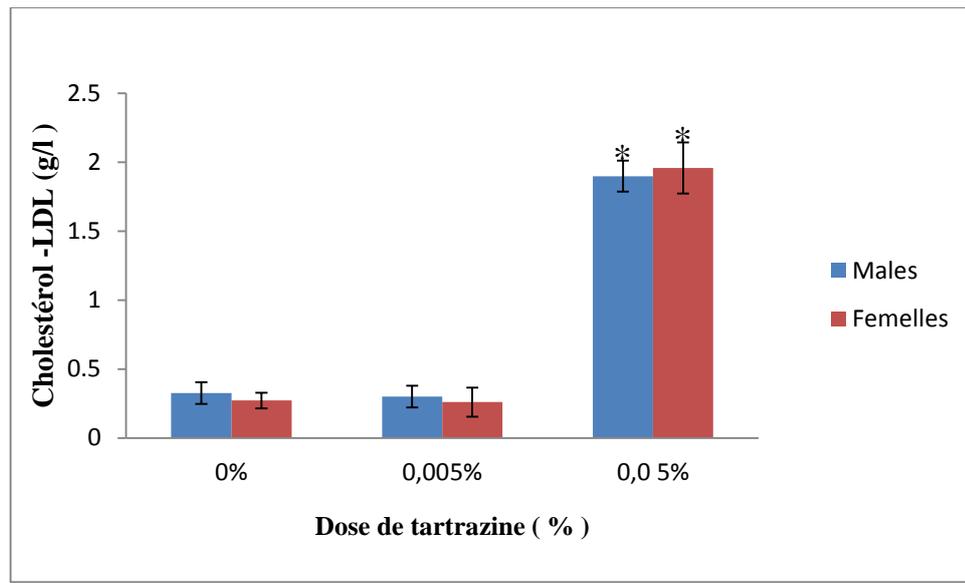


Figure 18 : Teneurs du cholestérol-LDL chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%.

VII -2-4-Teneurs en Triglycérides

Les résultats obtenus montrent qu'il existe une augmentation significative de triglycérides chez les souris traitées par 0.05 % de tartrazine par rapport aux témoins et aux souris traitées par 0,005% de tartrazine (**Figure 19**).

Une hypertiglycéridémie est installée chez les lots $M_{0,05}$ et des $F_{0,05}$ avec des taux de TG sont respectivement (2.03 ± 0.14) g/l et (1.78 ± 0.15) g/l

Alors l'ingestion subchronique de tartrazine à raison de 0,05% entraîne une augmentation de TG chez les souris $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ de 4,31 fois et 3,70 fois, respectivement par rapport aux groupes témoins TM et TF.

Le taux de TG des $M_{0,05}$ est 1.14 fois élevé par rapport à celui des $F_{0,05}$ ($p < 0,05$).

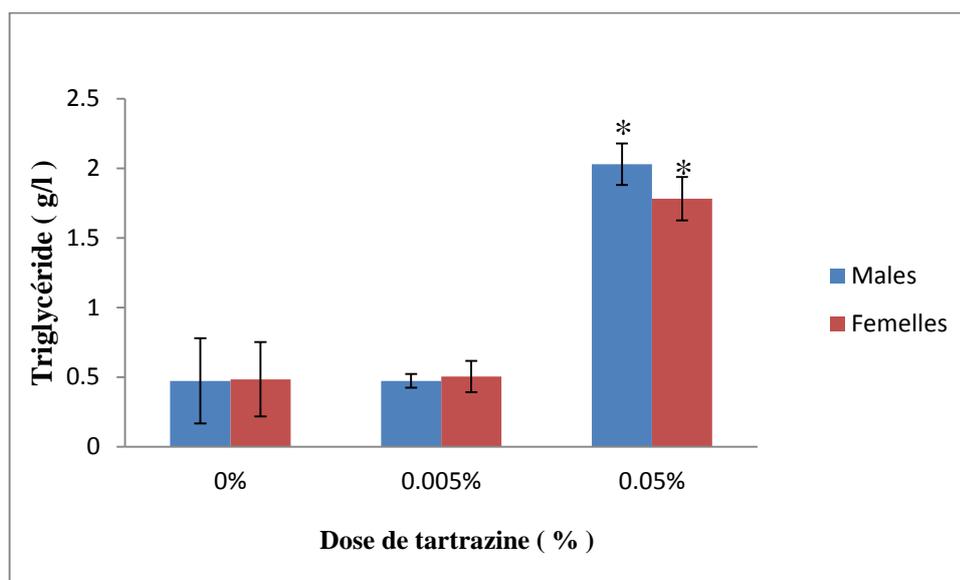


Figure 19 : Teneurs de triglycéride chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -3- Teneurs en GOT-ASAT

La **figure 20** résume les résultats de l'activité enzymatique des souris males et femelles traitées par la tartrazine à raison de 0%, 0,005% et 0,05%.

Aucune différence significative n'est notée entre les valeurs de GOT des $M_{0,005}$, $F_{0,005}$, TM et TF

Chez les $M_{0,05}$, L'activité de GOT est supérieure significativement ($p < 0,05$) par rapport au TM : (57.6 ± 2.67) UI/L vs $(30,54 \pm 4.59)$ UI/L. L'activité enzymatique de TGO des $F_{0,05}$ est également accrue (48.82 ± 4.57) UI/L par rapport au TF $(27.74 \pm 4,42)$ UI/L

Les $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ ont des activités enzymatiques des GOT plus élevées de 1.88fois et 1.75fois par rapport aux TM et TF respectivement ($p < 0,05$).

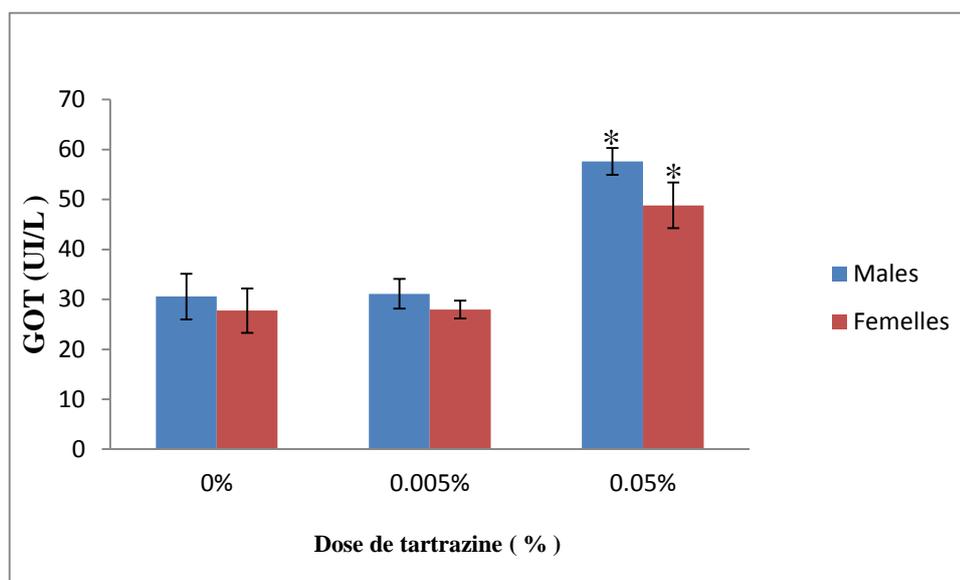


Figure 20 : Teneurs du GOT chez les souris traitées par tartrazine

0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -4- Teneurs en GPT-ALAT

La **figure 21** montre les variations du taux de GPT des souris males et femelles exposées à différentes concentrations de tartrazine 0%, 0,005% et 0,05 % durant la période d'expérimentation de 90 jours.

Nos résultats révèlent, l'existence d'une différence significative du taux de du GPT-ALAT chez les souris $M_{0,05}$ ($64.04 \pm 5,32$) UI/L et $F_{0,05}$ ($57.4 \pm 3,04$) UI/L par rapport aux souris TM ($27,89 \pm 7$) UI/L et TF (28.81 ± 4.79) UI/L ($p < 0,05$). L'accroissement de GPT est de 2.29 fois et 1.99fois chez $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ respectivement par rapport TM et TF.

Les souris $M_{0,05}$ ont un taux de GPT 1,1 fois plus important que celui des $F_{0,05}$ ($p < 0,05$).

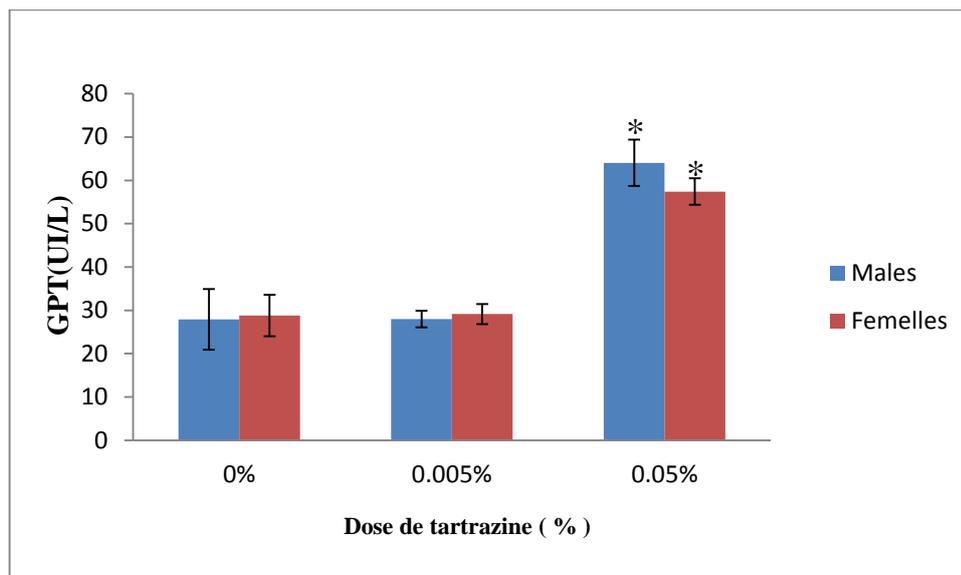


Figure21 : Teneurs du GPT chez les souris traitées par tartrazine

0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%.

VII -5 Teneurs en Bilirubine totale

D'après l'analyse de ces résultats (**figure 22**), une augmentation significative du taux de la bilirubine totale est notée chez les souris de $M_{0,05}$ ($25.45 \pm 1,75$) mg/l et les souris de $F_{0,05}$ ($20.14 \pm 1,02$) mg/l par rapport témoins TM ($7,86 \pm 2,19$) mg/l et TF ($9,55 \pm 1,85$) mg/l ($p < 0,05$).

L'accroissement de la teneur en bilirubine est de l'ordre de 3.23 fois et de 2.1 fois chez les souris de $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ par rapport aux TM et TF.

La teneur en bilirubine directe des $M_{0,05}$ est 1.26 fois élevé par rapport à celle des $F_{0,05}$ ($p < 0,05$).

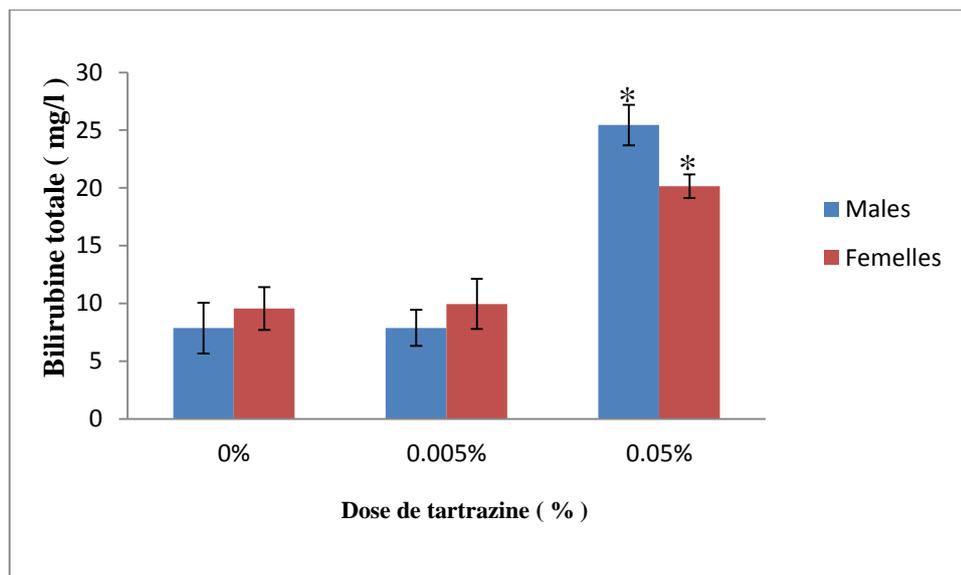


Figure 22 : Teneurs de la bilirubine totale chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%.

VII -6- Teneurs en Bilirubine directe

Les résultats obtenus indiquent une augmentation significative de la Bilirubine directe chez les souris traitées par 0.05 % de tartrazine par rapport aux souris traitées par à 0% et 0,005% de tartrazine (**Figure 23**).

Les groupes $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ représentent des teneurs en bilirubine directe plus élevées de 3,03fois et 3,70fois que celles des TM et TF ($p < 0,05$).

La teneur en bilirubine directe des $M_{0,05}$ est 1.27 fois plus importante que celle des $F_{0,05}$ ($p < 0,05$).

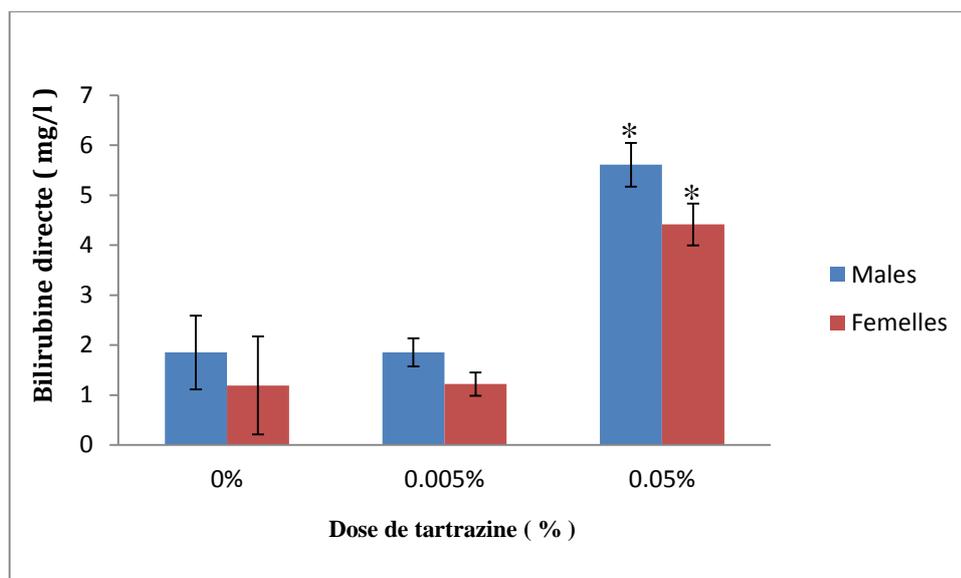


Figure 23 : Teneurs du bilirubine directe chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -7- Teneurs en Bilirubine indirecte

Les résultats du dosage de la Bilirubine indirecte sont présentés dans la **figure 24**. Comme la bilirubine directe, les valeurs de la bilirubine indirecte des M_{0,05} (21.15 ± 2.77) mg/l et des F_{0,05} (15.67 ± 0.82) mg/l sont très élevés de 3.51fois et 1.87 fois par rapport à celles des TM et TF (p <0,05).

La consommation subchronique de tartrazine à raison de 0,05% durant 90 jours entraine un accroissement de la teneur en bilirubine indirecte de 1, 34 fois chez les M_{0,05} par rapport au F_{0,05} (p<0,05).

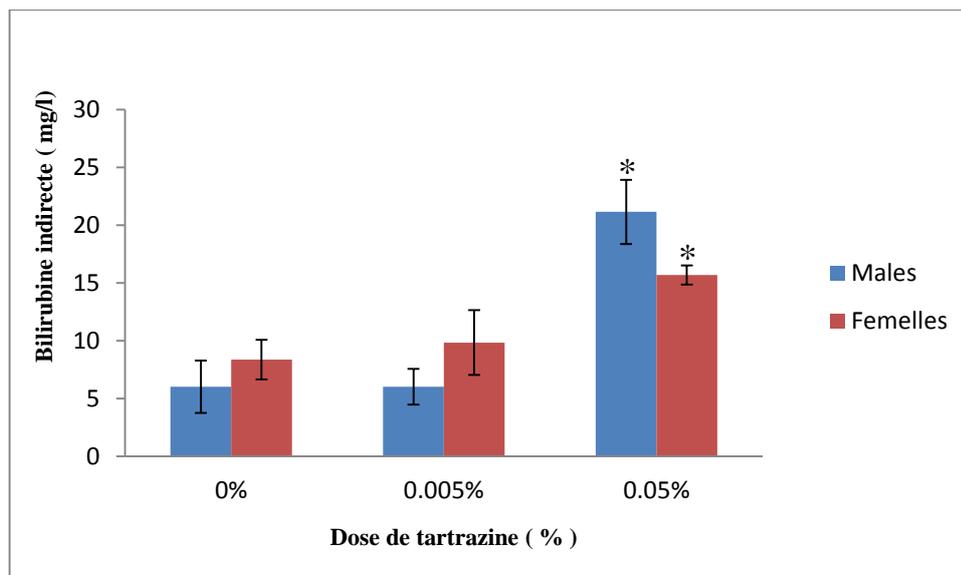


Figure 24 : Teneurs du bilirubine indirecte chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -8- Teneurs en Phosphatase alcaline

Les résultats (**Figure 25**) montrent une augmentation significative du taux de phosphatase alcaline chez les $M_{0,05}$ ($119 \pm 11,31$)UI/l et $M_{0,005}$ ($100,66 \pm 21,82$)UI/l par rapport aux TM ($64,33 \pm 31,56$)UI/l ($p < 0,05$). Par contre, il existe une diminution du taux de PAL chez les $F_{0,05}$ (54 ± 11)UI/l et $F_{0,005}$ ($94,83 \pm 17,96$) UI/l par rapport aux TF ($104,07 \pm 21,10$)UI/l ($p < 0,05$).

Le taux de PAL chez les $M_{0,05}$ et les $M_{0,005}$ est plus élevé de 1,84 fois et 1,56fois respectivement par rapport aux TM. En revanche, ce taux est diminué chez les $F_{0,05}$ et $F_{0,005}$ de 0.51fois et 0.90fois respectivement par rapport aux TF.

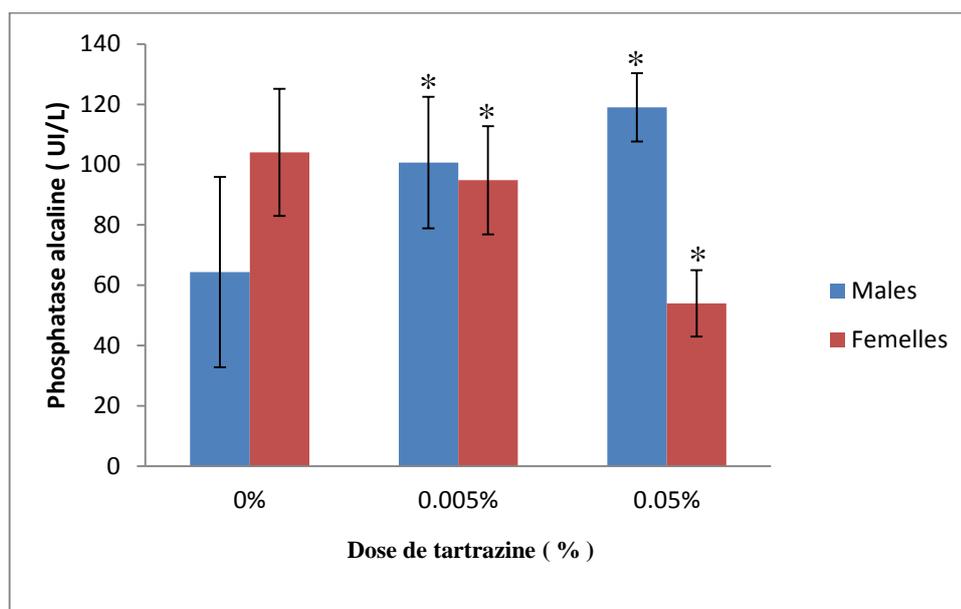


Figure 25 : Teneurs du phosphatase alcaline chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -9- Teneurs en Protéines totales

Les résultats obtenus (**figure 26**) montrent une augmentation significative de la teneur en protéines totales chez les $M_{0,05}$ ($79 \pm 5,43$) g/l par rapport aux TM ($57,83 \pm 2,31$) g/l ($p < 0,05$). Par contre il n'existe pas une différence significative entre Le taux de protéines totales des souris $F_{0,05}$ ($66,8 \pm 4,96$) g/l et celui des souris TF ($60.33 \pm 9,07$) g/l.

Egalement, aucune différence significative n'est révélée entre $M_{0,005}$, $F_{0,005}$ et TM, TF respectivement. Le taux de PT chez les $M_{0,05}$ est plus élevé de 1,36fois par rapport aux TM.

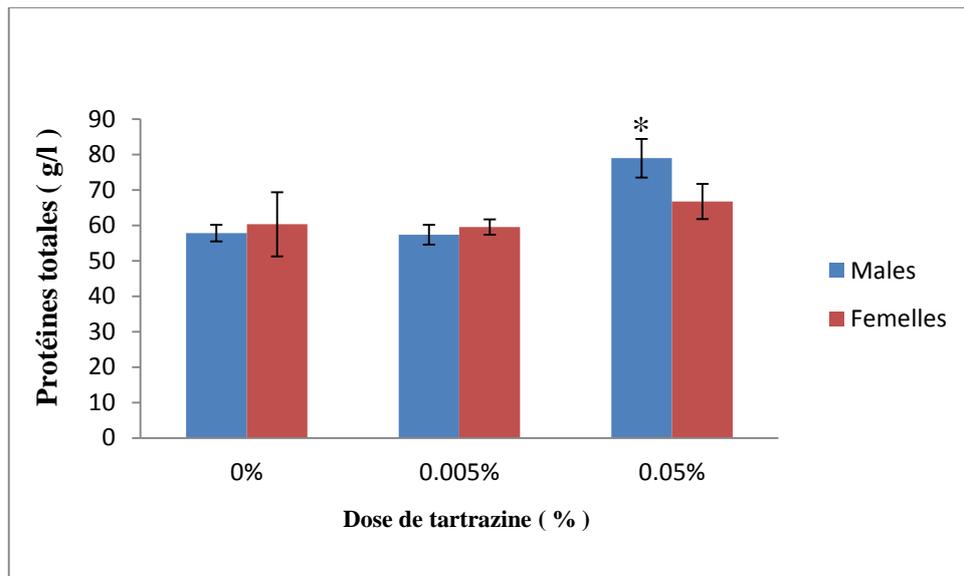


Figure 26 : Teneurs du protéines totales chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0% .

VII -10- Teneurs en Albumine

La figure 27 indiquent une augmentation significative du taux d'albumine chez les $M_{0,05}$ ($42,18 \pm 3,76$) g/l par rapport aux TM ($10,44 \pm 0,97$) g/l, et pour les $F_{0,05}$ ($43,35 \pm 2,81$) g/l par rapport aux TF ($13,8 \pm 0,69$) g/l ($p < 0,05$). Alors que la teneur en albumine des souris des $M_{0,005}$ ($29,6 \pm 2,14$) est similaire à celle des souris $F_{0,005}$. Le taux des albumines des souris $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ est de 4,04fois et 3,14fois plus important respectivement par rapport aux TM et TF.

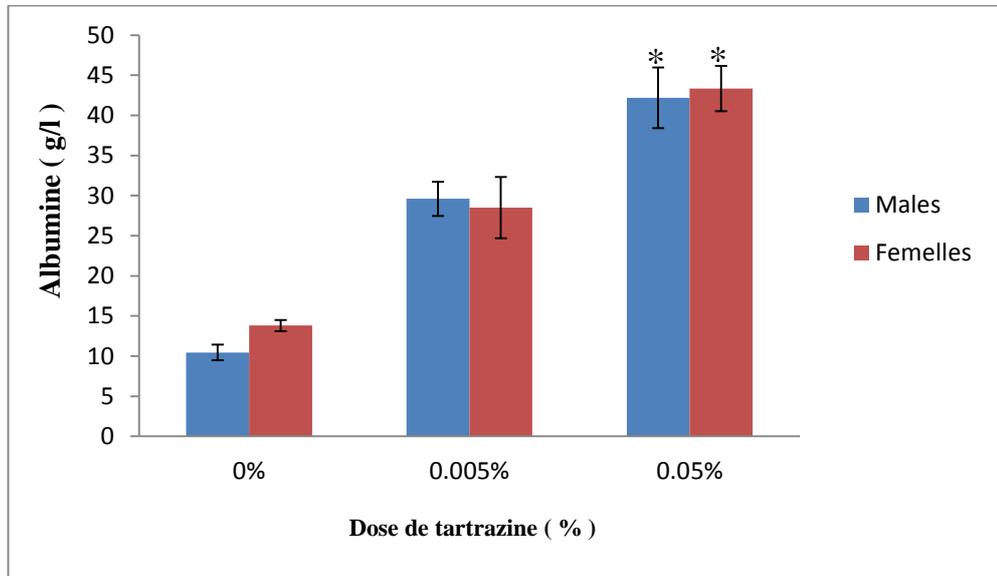


Figure 27 : Teneurs en albumine chez les souris traitées par tartrazine 0,005% et 0.05% comparées avec les souris témoins 0%

VIII-Résultats d'étude histologique

Dans le but de vérifier l'action toxique de la tartrazine sur l'architecture tissulaire des organes, nous avons réalisé des coupes histologiques au niveau du foie chez les souris témoins et traitées à la tartrazine à raison de 0.05%. Les résultats sont illustrés dans la **figure 28**.

VIII -1- Effet de la tartrazine sur la structure histologique du foie

L'observation microscopique réalisée sur la coloration topographique des coupes histologiques révèle une dystrophie cellulaire modérée chez les souris mâles et femelles traités à la dose 0.05% de tartrazine. Ces observations concordent les résultats des dosages biochimiques qui montrent une atteinte de la fonction hépatique, suite à une augmentation de la phosphatase alcaline chez les $M_{0,05}$ et l'augmentation de TGO et TGP chez les groupes des deux sexes. Chez les animaux traités à la dose de 0.05%, la majorité des hépatocytes présentent des noyaux hyperplasiques (hépatocytes dystrophiques).

Une congestion des vaisseaux des espaces portes et des veines centro lobulaires associant des territoires de peace meal nécrosis sont également observés chez les groupes traités à 0.05%.

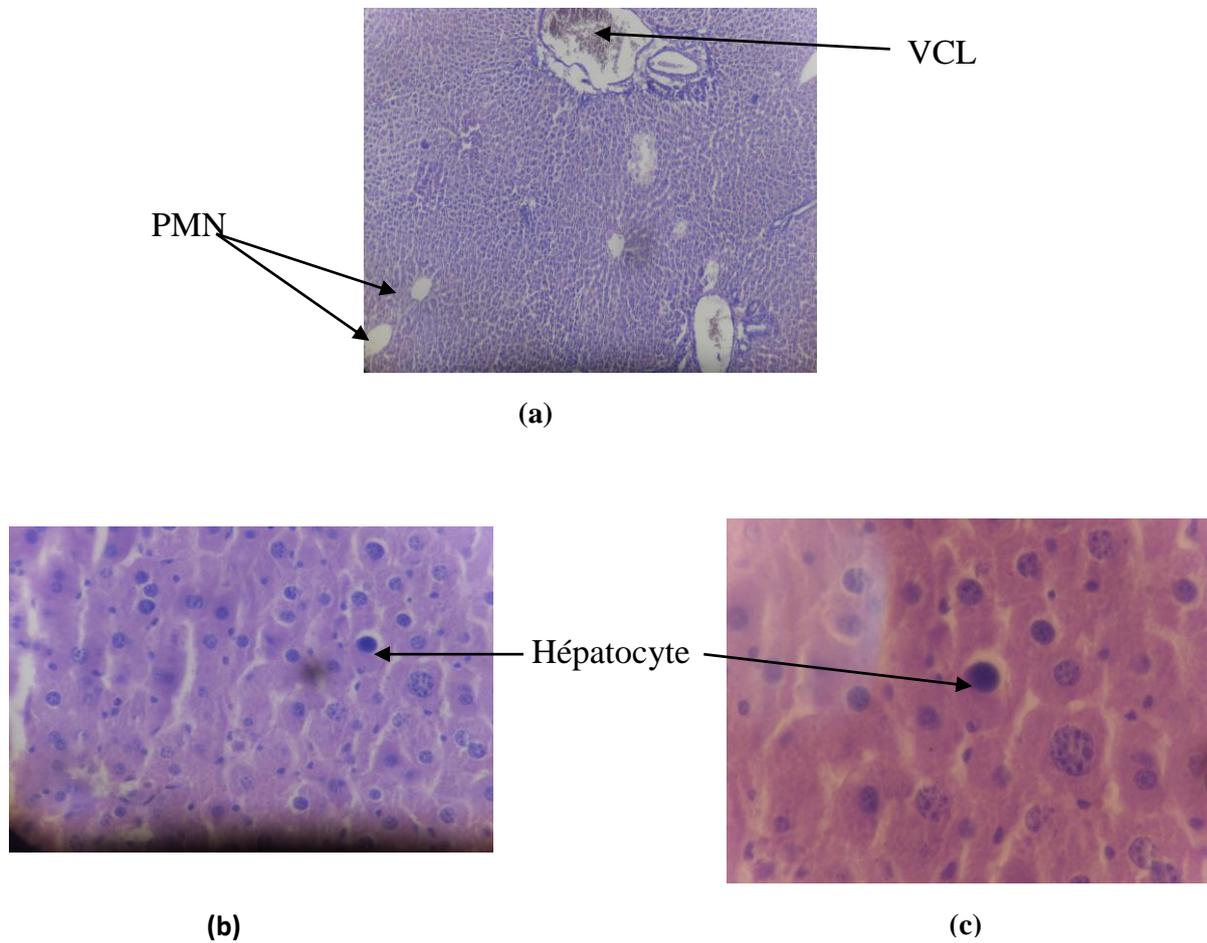


Figure 28: observation microscopique du foie, (a)souris males traitées par 0,05% de tartrazine GX 40, (b) souris femelles traitées par 0,05% GX100 et (c) souris males traitées par 0,05% de tartrazine GX100. VCL : veines centro lobulaires, PMN : peace meal nécrosis

Discussion

Notre travail a pour but d'étudier les propriétés toxicologiques de la tartrazine sur certaines fonctions et organes chez la souris Swiss. Nous avons analysé l'impact de la consommation subchronique de la tartrazine aux doses de 0%, 0.005% et 0.05% sur le poids corporel, les paramètres biochimiques et la structure histologique du foie.

Les paramètres recueillis durant toute la période de notre expérimentation sont la quantité d'aliment consommé, le volume de la solution de tartrazine bue, le poids corporel, les signes cliniques et le taux de mortalité. Le jour du sacrifice, les poids absolu et relatif des organes sont mesurés. Une modification de tous les paramètres cités est un signe de toxicité.

L'effet de la tartrazine sur la prise alimentaire se traduit par une diminution de la consommation d'aliment chez les groupes $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$ de souris consommant la tartrazine. Cet effet pourrait être le résultat d'une anorexie associée à l'augmentation de la prise de la solution (tartrazine/eau) observée chez ces souris.

Nous avons relevé, lors de notre expérimentation, qu'à partir de la 7^{ème} semaine de consommation subchronique de tartrazine, les souris traitées à 0.05% montrent une agressivité et une forte agitation en plus d'une irritation de la peau, suite à l'ingestion du colorant alimentaire synthétique, la tartrazine.

La cinétique de la croissance pondérale évolue de façon similaire chez tous les animaux traités. En revanche, le gain pondéral est diminué significativement chez les groupes $M_{0,05}$ et $F_{0,05}$. Cette diminution semble être dépendante de la dose de tartrazine ingérée et est due à la baisse de consommation de l'aliment. La dépression du poids ou du gain pondéral est un signe de toxicité (Ezeuko et *al.*, 2007).

Dans notre étude, l'augmentation observée des poids absolu et relatif du foie, chez

les animaux traités respectivement à 0,005% et 0,05% de tartrazine peuvent être attribués à des troubles du métabolisme.

De même, les travaux entrepris par Osman et *al.*, (1995), rapportent que les colorants synthétiques (Fast green, Sunset yellow) administrés quotidiennement par voie orale respectivement à des doses de 12,5 mg/kg et 5 mg/kg pendant un mois augmentent le poids des organes particulièrement le foie chez les souris.

L'étude de l'effet de la tartrazine sur les paramètres biochimiques porte sur le dosage de la glycémie, du cholestérol total, des fractions lipoprotéiques HDL_c et LDL_c, le taux des triglycérides, la teneur en bilirubine totale, en bilirubine directe et indirecte, le taux des protéines totales, le taux d'albumine, et l'activité enzymatique des TGP (ALAT), TGO (ASAT), phosphatase alcaline.

Une hyperglycémie et une hypercholestérolémie sont installées chez les M_{0,05} et F_{0,05}. Ces résultats indiquent une altération du métabolisme lipidique et glucidique.

Les variations de la glycémie peuvent être induites par plusieurs composés étrangers et peuvent impliquer différents mécanismes. Certaines substances toxiques induisent en premier lieu une hyperglycémie due à la mobilisation du glycogène hépatique puis une hypoglycémie due à l'épuisement des réserves de glycogène et à l'inhibition de la néoglucogenèse (Timbrell, 2009).

De même, Miyauchi et *al.*, (1999) notent une hypercholestérolémie chez les rats mâles nourris avec le colorant alimentaire synthétique l'orangé à la concentration de 1,66% et 5% chez les femelles à la concentration de 0,55%, 1,66% et 5% pendant 13 semaines.

Les résultats obtenus au cours de la toxicité subchronique de tartrazine montrent une augmentation significative du taux LDL_c, avec une diminution du taux de HDL_c chez les deux sexes traités par 0,05%.

Des études ont montré que l'hypercholestérolémie induite expérimentalement entraîne une augmentation du LDLc et une diminution du HDLc (Maruthappan et Shree, 2010), tous deux responsables de l'augmentation du risque des maladies cardiovasculaires (Ono, 2012).

Les résultats révèlent une hypertriglycéridémie chez les souris des M_{0,05} et F_{0,05} de tartrazine. Les triglycérides constituent la principale réserve énergétique de l'organisme. Leur origine plasmatique est alimentaire et ils sont synthétisés au niveau intestinal et hépatique. Le taux de triglycérides permet d'évaluer soit des risque athérogène avec atteinte cardiovasculaire, un diabète méconnu ou aussi un risque athérogène (formation de caillots) (Argmann et *al.*, 2004).

L'exploration biologique occupe une place essentielle en raison du grand nombre d'informations qu'elle est susceptible de fournir de manière non invasive. Un ensemble de tests sanguins permettent d'évaluer le fonctionnement du foie (bilirubine totale et conjuguée, transaminases et phosphatase alcaline) (Brissot et *al.*, 2007).

L'élévation des activités des transaminases peut être due à des lésions tissulaires en particulier dans le foie (Varely et *al.*, 1988). Et l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire ou une augmentation de synthèse ou diminution de catabolisme des transaminases peut être impliqué (Malik et *al.*, 1980), également Westlake et *al.* (1981) ont mentionné que la libération de taux anormalement élevés des enzymes dans la circulation sanguine dépend à la fois du degré et le type de dommages exercée par l'administration du composé toxique.

L'élévation significative des transaminases (GOT-GTP) chez les M_{0,05%} et F_{0,05%} peut être attribué à ce que communiquée par Shakoori et *al.* (1987) qui a révélé que dans des conditions pathologiques les cellules parenchymales des lobules hépatiques ne parviennent pas à exercer des fonctions vitales, ce qui entraîne généralement dans le métabolisme

perturbée ou déséquilibrée, comme un résultat de dommages cellulaires, plusieurs enzymes comme GOT, GPT et PAL sortir dans le sérum et donc leur niveau indiquent le type et l'ampleur des dommages infligés.

Une augmentation significative du taux de la phosphatase alcaline chez les mâles du groupe traité à 0,005% et 0.05% de tartrazine peut être un signe d'atteintes hépatiques et des voies biliaires consécutives à l'intoxication par la tartrazine.

La phosphatase alcaline permet de dépister toute pathologie se rapportant à l'os au foie, son dosage est souvent associé à celui de la gamma glutamyl transférase qui est spécifique aux intoxication hépatiques et celle des voies biliaires (Millan, 2005).

Nos résultats indiquent une augmentation significative du taux des protéines totales chez les M_{0,05} témoignant ainsi une hyperprotéinémie.

Les protéines totales plasmatiques sont principalement synthétisées dans le foie ; il s'agit essentiellement de l'albumine et de la globuline en tant que protéines volumineuses. Par contre, une hyperprotéinémie est due à des phénomènes d'hémoconcentration et surtout à des hypergammaglobulinémies (inflammation ou altération des défenses immunitaires) (Sato et *al.*, 2007).

En effet, ces animaux consommaient moins d'aliment et, par conséquent, ils avaient un gain pondéral diminué comparé aux témoins. L'hyperprotéinémie constatée chez les mâles est une conséquence du phénomène d'hémoconcentration (diminution de la volémie), observée le plus fréquemment lors des déshydratations (Biou, 2007).

Nos résultats indiquent une augmentation significative du taux de l'albumine chez tous les groupes expérimentaux, mais il est plus important chez les sujets de deux sexes traités à 0,05%. Cette augmentation traduit une déshydratation car elle est consécutive à une hémoconcentration (Biou, 2007). Ces résultats sont concordants avec ceux d'Amin et *al.* (2010) qui montrent une augmentation de l'albumine suite à l'ingestion de la tartrazine.

L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées au niveau du foie des souris swiss traitées pendant 13 semaines avec la tartrazine à raison de 0.005%, 0.05% par jour, révèle une action toxique due à la tartrazine.

La dystrophie hépatocytaire est due à l'accumulation d'eau et des électrolytes consécutive aux altérations précoces des enzymes de la pompe à sodium membranaire (Stevans et al., 2004). Ces anomalies morphologiques confirment les résultats biochimiques traduisant une atteinte de la fonction hépatique.

Conclusion

Notre travail s'inscrit dans le contexte d'une évaluation du risque de la tartrazine sur la fonction du foie chez la souris Swiss. Nous avons analysé l'impact de la consommation subchronique de la tartrazine aux doses 0,005% et 0,05% sur les paramètres biochimiques, et sur la structure histologique du foie. Les résultats de la toxicité orale subchronique de la tartrazine obtenus lors du suivi des animaux indiquent que la tartrazine diminue le gain pondéral chez tous les groupes de souris femelles traitées ainsi que chez les mâles traités à 0,05%. Elle augmente la consommation des liquides (solution de tartrazine) et diminue celle de l'aliment chez les souris traités à 0,05%. Ce colorant provoque une forte agressivité et une agitation chez les souris mâles traitées à 0,05%. La tartrazine induit également une augmentation du poids relatif et absolu du foie.

Les dosages biochimiques du sang montrent une hyperglycémie chez les deux sexes traités à 0,05%, une augmentation des triglycérides, cholestérol total, cholestérol-LDL, une augmentation de l'albumine, de la bilirubine totale, bilirubine directe, bilirubine indirecte, des transaminases TGP (ALAT), TGO (ASAT), avec une diminution de cholestérol-HDL.

On note également, une augmentation de la phosphatase alcaline et des protéines totales constatées chez les mâles traités à 0,05% de tartrazine. Ces résultats traduisent donc une altération de la fonction hépatique et perturbation des métabolismes glucidiques et lipidiques.

Les résultats de l'étude des conséquences de l'ingestion subchronique de la tartrazine à dose 0,05% induit une altération de la structure histologique du foie chez les mâles et femelles. Les résultats de l'étude histologique révèlent:

Au niveau hépatique, une dystrophie cellulaire modérée chez les groupes à 0,05%. Ces anomalies traduisent une atteinte de la fonction hépatique.

L'ensemble de ces résultats suggère qu'au-delà de la DJA, la tartrazine a un potentiel toxique très important car elle modifie le comportement des animaux, induit un phénomène de dysfonctionnement hépatique.

La poursuite des recherches peut se décliner en plusieurs points :

- 1) Estimer la concentration de la tartrazine dans les jus de fruit et les boissons commercialisés dans notre pays sachant que ces types de produits sont très appréciés par les jeunes enfants et les adolescents.
- 2) Effectuer des enquêtes alimentaires pour estimer la consommation journalière de ce colorant par la population algérienne particulièrement par les enfants.
- 3) Etudier l'effet génotoxique de la tartrazine sur le foie.

Références bibliographique

- **Arnold L.E., Lofthouse N. and Hurt E., 2012:** Artificial food colors and attention-deficit/hyperactivity symptoms: conclusions to dye for. *Neurotherapeutics*. 9: 599–609.
- **Aboel-Zahab H., el-Khyat Z., Sidhom G., Awadallah R., Abdel-al W and Mahdy K., 1997:** Physiological effects of some synthetic food colouring additives on rats. *Boll.Chim. Farm.*136, 615-627.
- **Amin K.A., Abdel Hameid H., Abd Elsttar AH., 2010:** Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food Chem Toxicol*, 48: 2994-2999.
- **Argmann C.A., Sawyez C.G., Li S., Nong Z., Hegele R.A., Pickering J.G., Huff M.W., 2004:** Human smooth muscle cell subpopulations differentially accumulate cholesteryl ester when exposed to native and oxidized lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 24:1290-6
- **Benhamou J.P. et Erlinger S., 2008 :** Maladie du foie et des voies biliaires. 5ème édition.Paris : *Flammarion médecine science*, p220.
- **Berry M.N. and Edwards A.M., 2000:** The Hepatocyte Review, *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht /Boston/London*, p. 391-410. Pays-Bas.
- **Blake B.L., Rose R.L., Mailman R.B., Levi P.E., Hodgson E., 1995:** Metabolism of thioridazine by microsomal monooxygenases: relative roles of P450 and flavin-containing monooxygenase. *Xenobiotica*, 25:377-393.
- **Biou D., 2007 :** Anomalies qualitatives et quantitatives des protéines plasmatiques: Biochimie Hématologie, *Vaubourdolle M, édition le moniteur*, tome 2, Paris.pp:583-613.
- **Burrows A., 2009:** Palette of our palates: a brief history of food coloring and its regulation. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 8:394–408.
- **Brissot P., Ropert-Bouchet M., Troadec MB., Lorho R., Guyader D., Loréal O., 2007:** Exploration biologique hépatique. *EMC (Elsevier Masson SAS,Paris)*, *Hépatologie*, 7-007-B-10.

- **Codex Alimentarius Commission.** Report of the 29th session of the CODEX Committee on food additives and contaminants. The Hague, the Netherlands, 17-21 March 1997 (*ALINORM* 97/12).
- **Carter D.C. and Ho JX., 1994:** Structure of serum albumin. *Adv Protein Chem* 45: 153-203.
- **Chaveron H., 1999 :** Introduction à la toxicologie nutritionnelle. *Technique et Documentation* ; 214p.
- **Corvilain B., 1997:** «Lipoprotein metabolism». *Rev Med Brux*; vol. 18, p. 3-9.
- **Derache R., 1986 :** Toxicologie et sécurité des aliments. *Edition La voisier*.p265-268.
- **Dean R., Zhang J., Brzezinski M.A., 1995:** Tissue distribution of cocaine methyl esterase and ethyl transferase activities: correlation with carboxylesterase protein. *J. Pharmacol. Exp.* pp. 965-971.
- **Denis D., 1991 :** Biochimie clinique. *Maloine* (Ed). Paris, 451-537.
- **Dufour DR., Lott JA., Nottle FS., Gretch DR., Koff RS., Seeff LB., 2000:** Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin Chem*, 46: 2027-49.
- **Dutau, 2012: G.** Le dictionnaire des allergènes. 6ème édition *PhaseV* edit. pp. 335.
- **Denil M. et Lannoye P., 2001 :** Guide des additifs alimentaires-les précautions à prendre. *Edition Frison-Roche*.
- **Ezeuko V.C., Nwokocha C.R., Mounmbegna P.E., Nriagu C.C., 2007:** Effect of Zingiber officinale on liver function of mercuric chloride induced hepatotoxicity in adult male Wistar rats. *Electron J Biomed*, 3, 40-45.
- **Feingold B.F., 1975:** Hyperkinesis and learning disabilities linked to artificial food flavors and colours. *Am J Nurs.* 75: 797–803.
- **Jones A. L., Spring-Mills E., 1984:** «The liver and gallbladder». In *Modern Concepts of Gastrointestinal Histology*, Weiss L. (éd.), p. 706-748. New York: Elsevier.
- **Jacquemin E., 1998 :** «Sécrétion biliaire». *MT Pédiatrie*, vol. 1, p. 179-85.

- **Husain A., Sawaya W., Al-Omair A., Al-Zenki S., Al-Amiri H., Ahmed N., Al-Sinan M., 2006:** Estimates of dietary exposure of children to artificial food colours in Kuwait. *Food Addit Contaminants*, 23: 245-251.
- **Hould R., 1984 :** Techniques d'histopathologie et de cytopathologie. Edition *Décarie-Maloine*, Paris- Montréal, 313p.
- **Galtier F., 1976 :** Guide des arômes, colorants, additifs alimentaires « votre santé ». *Edition Delarge*. Paris. p18-19-36-37.
- **Gosling J.A., Harris P.F., Whitmon I. and al., 2003:** Anatomie humaine atlas en couleurs : 2^{ème} édition française : *de boeck*, 377p.
- **Koniaris L.G., McKillop I.H., Schwartz S.I., Zimmers T.A, 2003:** Liver regeneration. *J. Am. Coll. Surg.* 197:634-659.
- **Leyral G. et Vierling E., 2001 :** Microbiologie et toxicologie des aliments « Hygiène et sécurité alimentaire ». 2^{ème} édition. *Rucil-Malmaison*. p234-235.
- **Murdoch R.D., Pollock I., Naeem S., 1987:** Tartrazine induced histamine release in vivo in normal subjects. *J R Coll Physicians Lond*; 21: 257–261.
- **Meeks R.G., Harrison S.D., Bull R.J., 1991:** Hepatotoxicology. *Boca Raton (Florida): CRC Press*, 700 p.
- **Mittal A., Kurup L., Mittal J., 2007:** Freundlich and Langmuir adsorption Isotherms and kinetics for the removal of Tartrazine from aqueous solutions using hen feathers. *J Hazard Mater*, 146(1/2): 243-248.
- **Millan Jose Luis, 2005:** Alkaline phosphatases structure, substrate specificity and functional relatedness to other members of a large superfamily of enzymes. *purinergic signalling* ; 2:335-341.
- **Marieb É.N., 1999 :** Anatomie et physiologie humaines, 2^{ème} éd. Saint-Laurent (Québec): Éditions du *Renouveau Pédagogique*, 1194 p.
- **Malik J.K., Singh R.V., Gupta R.C., Varman P.N., Pauls B.S., 1980:** Influence of fenitrothion on in vitro incorporation of acetate-14 in liver lipids and on various tissue enzymes in rats. *J. Nucl. Agric. Biol.* 9, 25–28.

- **Miyauchi M., Furukawa F., Nishikawa A., Nakamura H., Imazawa, Hirose T., 1999:** A 13-week subchronic oral toxicity study of orange color in F344 rats. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku (in Japanese)*, 117: 123-1280.
- **Multon J.L., 2002 :** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 3^{ème} éd. *Lavoisier*. P358-366-381.
- **Maruthappan V.G and Shree K.S., 2010:** Blood cholesterol lowering effect of *Adenantha pavonina* seed extract on atherogenic diet induced hyperlipidemia rats. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 1(7): 87-94.
- **N. Mehedi, S. Ainad-Tabet, N. Mokrane, S. Addou, C. Zaoui, O.Kheroua and D. Saidi, 2009:** Reproductive Toxicology of Tartrazine (FD and C Yellow No. 5) in Swiss Albino Mice. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*; 4 (4): 128-133.
- **Osman M.A., Afifi A., Hussein R.M., Kamilia B., Abdel Aziz and Salah S.H., 1995:** Long-term biochemical and genotoxicity studies of four synthetic food and drug colorants in mice. *Bull. Fac. Pharm*; 33:13-21.
- **Ono K., 2012:** Current concept of reverse cholesterol transport and novel strategy for atheroprotection. *J Cardiol*. (12): 194-3.
- **Phillips J.C., Bex C.S., Mendis D., Walters D.G., Gaunt I.F., 1987 :**Metabolic disposition of 14C-labelled amaranth in the rat, mouse and guinea-pig. *Food Chem. Toxicol*; 25: 947–954.
- **Petzinger E., Geyer 1., 2006:** «Drug transporters in pharmacokinetics». *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, vol. 372, p. 465-475.
- **Sato S., Kitamura H., Chino M., Takei Y., Hiruma M., Nomura M., 2007:** A 13-week oral dose subchronic toxicity study of gardenia yellow containing geniposide in rats. *Food Chem Toxicol*; 45:1537-44.
- **Schaffler A. et Schidi S., 1999:** Anatomie Physiologie Biologie. *Maloine* (Ed). Paris, 338 p.
- **Stevens A. et Lowe J., 2006:** Histologie humaine 3^{ème} édition. Paris : *Elsevier*, p459.
- **Stevens A., Lowe J.S., Young B., 2004 :** Anatomie pathologique, Atlas de Whlateral, 4^{ème} éditions, *De Boeck, Bruxelles*, 295p.

- **Shakoori A.R., Khan M.T., Hac R., Ali S.S., 1987:** Haematological and biochemical changes induced in rabbit blood by chronic doses of thioactamide. *Pak. J. Zool.* 19 (3), 273–282.
- **Timbrell J.A., 2009:** Principles of biochemical toxicology. Fourth edition, *Informa Healthcare*, USA, 453p.
- **Thomson A. B. R., Shaffer E. A., 2005:** Principes fondamentaux de gastro-entérologie États pathologiques et démarches thérapeutiques, 5^e éd. *Association canadienne de gastroentérologie, AstraZeneca Inc.*, 972 p.
- **Thomson A. B. R., Shaffer E. A., 2000:** First principles of gastroenterology: the basis of disease and an approach to management, 3^{eme} éd. *Canadian Association of Gastroenterology, AstraZeneca Canada Inc.*, 662 p.
- **Vacheret N., 1999 :** «Ultrastructure du parenchyme hépatique». *Edi Dunod*, Paris.
- **Varely H., Gowenlock A.H., Bell M., 1988:** Practical Clinical Biochemistry, eighthed. William Heinmann, *Medical Books Ltd.*, London. 1:262.
- **Wandel C., Kim R.B., Guengerich P. and Wood A.I., 2000:** Mibefradil is a P-glycoprotein substrate and a potent inhibitor of both P-glycoprotein and CYP3A in vitro. *Drug Metab Dispos* 28: 895-98.
- **Williams W.R., Pawlowicz A., Davies B.H., 1989:** Aspirin-like effects of selected food additives and industrial sensitizing agents. *Clin Exp Allergy*.
- **Westlake G.E., Bunyan P.J., Martin A.D., Stanley P.I., Steed L.C., 1981:** Organophosphate poisoning effects of selected esterases of Japanese quail. *J. Agric. Food Chem.* 29, 272–778.
- **Ziegler D.M., 1988:** «Flavin-containing monooxygenases: catalytic mechanism and substrate specificities». *Drug Metabol Rev.*, vol. 19, p. 1-32.1

Arrêtent :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 7 du décret exécutif n° 92-25 du 8 Rajab 1412 correspondant au 13 janvier 1992 susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer la liste des additifs qui peuvent être incorporés dans les denrées alimentaires.

Art. 2. — Les additifs, dont la liste est annexée au présent arrêté,

sont classés par catégorie d'emploi comme suit :

- * Colorants ;
- * Conservateurs ;
- * Antioxygènes ;
- * Epaississants et gélifiants ;
- * Acidifiants et correcteurs d'acidité ;
- * Emulsifiants ;
- * Stabilisants ;
- * Antiagglomérants ;
- * Exhausteurs de goût ;
- * Agents d'enrobage ;
- * Sels de fonte ;
- * Poudres à lever
- * Edulcorants.

Art. 3. — Les additifs, cités à l'article 2 ci-dessus, doivent répondre aux spécifications d'identité et de pureté fixées par les normes

algériennes.

Art. 4. — Outre les mentions prévues par l'article 6 du décret exécutif n° 92-25 du 8 Rajab 1412 correspondant au 13 janvier 1992 susvisé, l'étiquetage des additifs alimentaires préemballés

destinés à la vente au détail doit comporter les mentions suivantes :

- le pays d'origine ;
- le numéro du lot ;
- les instructions de conservation du produit ainsi que le mode d'emploi ;
- la mention "à des fins alimentaires".

Pour les additifs préemballés non destinés à la vente en l'état au détail, les mentions figurant à l'alinéa ci-dessus doivent être mentionnées soit sur l'emballage, soit dans les documents d'accompagnement du produit, à l'exception de la dénomination du produit, de la date de fabrication et de la date limite de consommation qui doivent figurer sur l'emballage.

Art. 5. — L'entrée en vigueur du présent arrêté est fixée à six (6) mois à partir de la date de sa publication au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Art. 6. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 2 Dhou El Hidja 1422 correspondant au 14 février 2002.

Le ministre du commerce, Hamid TEMAR Le ministre de la santé et de la population,

Abdelhamid ABERKANE

Le ministre de l'industrie et de la restructuration,

Abdelmadjid MENASRA

ANNEXE

LISTE DES ADDITIFS AUTORISES DANS LES DENREES ALIMENTAIRES

Tableau I Colorants

NUMERO DU SYSTEME DE COORDINATION INTERNATIONALE	DENOMINATION
JAUNE	
100	Curcumine
101 i	Lactoflavine (ou Riboflavine)
101 ii	Riboflavine - 5' - phosphate sodique
102	Tartrazine
104	Jaune de quinoléine
ORANGE	
110	Jaune orangé sunset ou jaune soleil FCF
ROUGE	
120	Cochénille
122	Azorubine
123	Amarante
124	Rouge cochenille A
127	Erythrosine
BLEU	
131	Bleu patenté v
132	Indigotine
VERT	
140	Chlorophylles
141 i	Complexe chlorophylle cuivre
141 ii	Complexe chlorophylle cuivre, Sels de sodium et de potassium
142	Vert acide brillant
BRUN	
150	Caramel
NOIR	
151	Noir brillant
153	Carbo medecinalis vegetalis (charbon végétal)
NUANCES DIVERSES	
160	Caroténoïdes
160 a	Carotènes
160 b	Bixinne norbixine ou extraits de Rocou
160 c	Oléorésines de Paprika
160 d	Lycopène
160 e	Bêta-apo-Caroténal
160 f	Acide-bêta-apo-8'-Caroténique, Ester méthylique ou éthylique

Table 1. Spécifications pour tartrazine conformément à la directive 2008/128 / CE de la Commission et par le JECFA (JECFA,2006)

Pureté	directive de la Commission 2008/128 // CE	JECFA (2006)
Matières insolubles	≤ 0.2 %	≤ 0.2 %
Matières colorantes accessoires	≤ 1.0 %	≤ 1.0 %
- Acide sulfonique 4 hydrazinobenzene - 4-aminobenzène-1-sulfonique-acide -5-oxo 1- (4-sulfophényl) -2-acide carboxylique- 3- pyrazoline - 4,4 diazoaminodi (benzène acide sulfonique) - L'acide Tetrahydrosuccinic	≤ 0.5 %	≤ 0.5 %
Amines aromatiques primaires non sulfonées	≤ 0.01 % (calculated a aniline)	≤ 0.01 % (calculated as aniline)
Ether extractable matter	≤ 0.2 % (under neutral conditions)	≤ 0.2 %
arsenic	≤ 3 mg/kg	-
plomb	≤ 10 mg/kg	≤ 2 mg/kg
Mercuré	≤ 1 mg/kg	-
Cadmium	≤ 1 mg/kg	-
Les métaux lourds (comme Pb)	≤ 40 mg/kg	-