

N° 110



UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI (UAC)

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE L'INGENIEUR « ED-SDI »

MASTER DE RECHERCHE RADIOBIOLOGIE- RADIOPROTECTION

RAPPORT DE STAGE

Pour l'obtention du diplôme de Master de recherche en Radiobiologie -Radioprotection

Thème

Caractérisation de la Radiosensibilité des Donneurs Volontaires Sains de Sang du Centre National de Transfusion Sanguine du Burkina Faso par Analyse Cytogénétique des Micronoyaux Radio-induits.

Présenté par:

Koudbi YAMEOGO

Technicien Supérieur en Imagerie Médicale

Sous la direction de :

Pr. Julien DOSSOU

Maître de Conférences des Universités (CAMES),

Enseignant chercheur à l'EPAC/UAC

Sous la co-direction de :

Dr Radhia M'KACHER

Directrice du Laboratoire Cytogénétique « *Cells*

Environment » Paul Brousse en France

Tableau I : Liste des enseignants de la formation de master de radiobiologie / radioprotection Années académiques 2015-2017

Nom et Prénom (s)	Qualification	Cours enseignés
AHISSOU Hyacinthe	Professeur Titulaire	Chimie sous rayonnements
DOSSOU Julien	Maître de conférences des Universités (CAMES)	Propriétés Physique des rayonnements ionisants, Radiotoxicologie et Contamination nucléaire, Réparations des lésions de l'ADN et Réparatose, Radiosensibilité et Courbe de survie cellulaire
FOURN Léonard	Professeur Titulaire	Biostatistique et Epidémiologie
KOUDANDE Delphin	Docteur	Animaux de laboratoire
LALEYE Anatole	Professeur Titulaire	Cytogénétique conventionnelle
M"KACHER Radhia	Docteur	Cytogénétique avancée et Dosimétrie biologique
MASLOKONON Vincent	Maître de conférences des universités (CAMES)	Histologie des tissus irradiés
MENSAH Guy Apollinaire		Méthodologie de la recherche
MONOTE Edmond	Ingenieur informaticien	Informatique
OLORY Bienvenu	Docteur	Anglais
ZOHOUN Sossa Isidore	Professeur Titulaire	Hématologie et Oncologie

DEDICACE

- A ma mère qui n'est plus de ce monde à titre posthume. Que le Père Céleste vous accueille dans son royaume. Amen !
- A mon père Kienga YAMEOGO, vous qui m'avez incarné l'esprit du sacrifice, de courage et surtout de combativité. Recevez ici mon amour de fils et ma profonde gratitude.
- A ma tendre épouse Adiaratou YAMEOGO, vous qui m'avez soutenu, encouragé et surtout compris et qui avez joué le rôle de père et de mère pour nos enfants durant mon absence. Recevez ici mes compliments les plus chaleureux.
- A mes enfants Reine et Cédric, qui m'avez compris pour mon absence à leur côté durant ces deux ans passés au BENIN. Je vous adore

REMERCIEMENTS

Nous rendons grâce au Seigneur tout puissant pour nous avoir permis de surmonter toutes les difficultés qui se sont présentées sur notre chemin durant ces deux ans et surtout dans la santé. Nous adressons nos sincères remerciements et notre gratitude à tous ceux qui de près ou de loin se sont investis dans notre formation. Nous pensons notamment à :

- Professeur Titulaire Antoine VIANOU, Directeur de l'Ecole Doctorale des Sciences de l'Ingénieur qui nous a toujours ouvert les portes de son Bureau pour nous écouter et prodiguer de sages conseils et surtout qui nous avez assisté dans l'accompagnement administratif de notre formation. Soyez en remercier.
- Notre Maître de mémoire Professeur Julien DOSSOU, maître de conférences des universités CAMES qui dès notre inscription au Master en Octobre 2015, s'était évertué à nous assister dans tous les plans malgré les nombreuses difficultés qui se présentaient chaque fois à nous. Vous nous avez toujours tendu l'oreille et donné des précieux conseils malgré vos multiples tâches d'enseignant. Veuillez recevoir nos sincères remerciements et reconnaissances.
- Dr Radhia M'KACHER-NAJAR, Radiobiologiste, Chercheur dans le laboratoire cytogénétique *Cells environment* Paul Brousse en France. Sans vous, nous n'allions jamais parvenir au bout du tunnel. Vous avez pris intégralement en charge le traitement de nos échantillons envoyés dans votre laboratoire avec vos propres réactifs et vos appareils sans aucun frais quelconque. Que le Seigneur Tout Puissant vous rende au centuple de vos espérances. Infiniment merci. Amen !
- Dr Salam SAWADOGO, Directeur du centre national de transfusion sanguine de OUAGADOUGOU ; vous qui nous avez accueilli favorablement et nous a permis d'avoir accès au service de transfusion sanguine, cadre de notre milieu d'étude, recevez notre profonde gratitude.
- Dr G Abdoul SAWADOGO, Médecin spécialiste en médecine transfusionnelle et drépanocytologue ; vous qui avez accepté d'être notre superviseur national et surtout vous qui nous avez assisté dans l'obtention de notre autorisation de prélèvement au niveau du comité d'éthique pour la recherche en santé, recevez notre profonde gratitude.
- Dr Zakaria SAWADOGO, Médecin conseiller en don de sang ; vous qui nous avez permis de rentrer en contact avec les donateurs volontaires de sang, soyez en remercier.
- Tous mes frères et sœurs Irène, Mariane, Edwige, Justine, Sylvie, Gilbert pour vos encouragements et surtout de vos prières.

- Mon oncle Frédéric YAMEOGO et son épouse pour vos encouragements et surtout vos précieux conseils.
- Mes camarades de classe Albert GUINGANI, Kayaba ZONGO, Issoufou KALAGA, Innocent NKENGURUTSE pour les batailles menées ensemble et surtout les conseils et les encouragements mutuels.
- Monsieur Rasmané COMPAORE, Président Directeur Général de I-MEDIC, vous qui nous avez assisté financièrement dans l'envoi de nos échantillons en France, recevez ici toute notre reconnaissance.
- Guy Mallet ABINDA, pour ton aide, tes conseils et surtout les sacrifices consentis pour nous aider à obtenir nos tubes de prélèvement. Tu es plus qu'un ami ; tu es plutôt un frère. Infiniment merci.
- Madame la Secrétaire de l'Ecole Doctorale des Sciences de l'Ingénieur pour sa disponibilité, vos conseils et pour votre sens très élevé de management qui nous a permis d'avoir des salles pour les cours. Infiniment merci.
- Dr Macaire AGBOMAHANE pour nous avoir consacré de votre temps à nous conseiller et surtout de nous avoir ouvert volontiers les portes de ton bureau. Infiniment merci.
- Dr Aimé BONOU pour votre disponibilité à nous accompagner dans la rédaction et surtout la correction de ce mémoire. Recevez nos gratitude.
- Tout le personnel du Centre National de Transfusion Sanguine du Burkina Faso pour votre accompagnement que nous avons bénéficié lors du recrutement de notre échantillon et surtout de la réalisation des prélèvements des volontaires.
- L'ensemble des donneurs volontaires de sang du Centre National de Transfusion Sanguine du Burkina Faso pour votre compréhension et votre acceptation à faire partir de notre projet d'étude.

HOMMAGES

A Monsieur le Président du Jury

Merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le Jury de la soutenance de ce rapport de stage. Nous vous assurons que vos conseils et recommandations seront pris en compte pour améliorer la qualité de ce travail. Veuillez recevoir, Monsieur le Président, l'expression de notre profonde gratitude.

A Mesdames et Messieurs les Membres du Jury

Nous vous sommes très reconnaissant pour avoir accepté de juger ce travail. Vos remarques et suggestions sont les bienvenues pour améliorer la qualité du travail. Recevez, chers Maîtres, notre grande reconnaissance.

SOMMAIRE

DEDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	V
HOMMAGES.....	VIII
SOMMAIRE	IX
LISTE DES ABBREVIATIONS ET SIGLES	X
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
RESUME.....	XIV
ABSTRACT	XV
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES	4
CHAPITRE II : CADRE D’ETUDE, MATERIELS ET METHODES.....	18
CHAPITRE III : RESULTATS.....	30
CHAPITRE IV : DISCUSSION	38
CONCLUSION	42
SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES	43
BIBLIOGRAPHIE	44
LES ANNEXES	49

LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES

A :	Adénine
AN :	Assemblée Nationale
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AIEA :	Agence internationale de l'énergie atomique
APC :	Anaphase Promoting Complex
ARSN :	Autorité de radioprotection et de sureté nucléaire
ASN :	Autorité de Sureté Nucléaire
BN :	Binucléé
BF :	Burkina Faso
CAMEG :	Central d'achat de médicaments essentiellement génériques
CAMES :	Conseil Africain et Malgache des Enseignements Supérieurs
CBMN Cyt :	Test cellulaire des micronoyaux par blocage de la cytokinèse
CERS :	Comité d'éthique pour la recherche en santé
CHU-YO :	Centre hospitalier universitaire Yalgado OUEDRAOGO
CIPR :	Commission internationale de protection radiologique
CNTS :	Centre national de transfusion sanguine
CO ₂ :	Dioxyde de carbone
C :	Cytosine
Cy 3 :	Cyanine
Cyto B :	Cytocholasine B
EPAC :	Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi
G0 :	Phase de quiescence
G1 :	Phase de croissance cellulaire et d'activités métaboliques normales
G2 :	Phase préparant la mitose (synthèses d'enzymes, d'organites...)
G :	Guanine
Gy :	Gray
H :	Hypothèse de recherche
IDN :	Indice de Division Nucléaire
INSD :	Institut national de la statistique et de la démographie
IRSN :	Institut de radioprotection et de sureté nucléaire
K Cl :	Chlorure de potassium
Min :	Minute

MN :	Micronoyaux
MN+ T :	Micronoyaux avec télomères
MN-T+C :	Micronoyaux avec télomères et centromère
MS :	Ministère de la santé
Na Cl :	Chlorure de sodium
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
OS:	Objectif Spécifique
OSL :	Optiquement stimulé par la luminescence
PBS :	Solution saline tamponnée au phosphate
PCC :	Condensation Prématurée des Chromosomes
pH :	Potentiel hydrogène
PHA :	Phyto hem agglutinin
PM :	Premier ministre
PNA:	Peptide nucleic acid,
PPD :	Para phemilène diamine
Pres :	Présidence du Faso
RPMI:	Roswell Park Memorial Institute medium
T :	Thymine
UAC :	Université d'Abomey-Calavi
V :	Volume
VIH :	Virus d'immuno déficience humaine
Rx :	Rayon X

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Cellule animale vue en trois dimensions (Khalifa, J., Borie, S., 2012).....	5
Figure 2: Structure hélicoïdale de l'ADN (National Institutes of Health, 2016).....	6
Figure 3 : Schéma illustratif de la septième paire de chromosome.....	7
Figure 4 : Illustration des étapes du cycle cellulaire (Neitzel, H., Trimborn M., 2007).....	8
Figure 5 : Schéma illustrant l'action directe et indirecte des rayonnements sur l'ADN (Ward, J., 1988).....	9
Figure 6: Schéma chronologique des évènements lors d'une interaction des RI avec la matière (Leonard, A. et Nordberg, G. 1988).....	11
Figure 7: Schéma du mécanisme de formation des micronoyaux par blocage de la cytokinèse. (Agence International de l'Energie Atomique, 2013).....	14
Figure 8 : Schéma illustratif de cellules binucléées avec un pont nucléo -plasmique lors d'une analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse (Agence International de l'Energie Atomique, 2013).....	15
Figure 9 : Portoir utilisé pour placer et maintenir des tubes à essai de 15 ml et des tubes Vacutainer de 10 ml contenant du sang destiné à être irradiés par des sources à rayons X.....	20
Figure 10: Bain-marie chauffé à 37°C et place devant une source à rayons x afin d'obtenir l'équilibre électronique, l'échantillon de sang se trouve à l'intérieur d'un support en plexiglas.....	20
Figure 11: Photo de l'emballage qui a servi pour l'envoi des échantillons sous le N° 147-89629470 du 16/04/2018.....	25
Figure 12: A : Courbe dose-effet des micronoyaux des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso (Fig. A) et B : courbe dose-effet des micronoyaux de l'AIEA de 2013 pour 47 sujets (Fig. B).....	36
Figure 13 : Illustration des différents types de micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso.....	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Liste des enseignants de la formation de master de radiobiologie / radioprotection Années académiques 2015-2017	I
Tableau II : Répartition des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso en fonction du sexe	31
Tableau III : Répartition des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso en fonction de l'âge.....	31
Tableau IV : Fréquence des micronoyaux radio-induits par donneur volontaire sain de sang du CNTS Burkina Faso en fonction des doses d'irradiation.....	32
Tableau V : Récapitulatif de la totalité des micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires sains de sang au CNTS BURKINA Faso en fonction des doses d'irradiation.....	33
Tableau VI: Fréquence des Micronoyaux recensés par cellule binucléée chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso en fonction de la dose d'irradiation.	33
Tableau VII: Fréquence des micronoyaux télomériques radio-induits par cellule binucléée chez des donneurs de sang en fonction des doses d'irradiation	34
Tableau VIII: Fréquence des micronoyaux télomériques avec centromères radio-induits par cellule binucléée chez des donneurs de sang en fonction des doses d'irradiation	35

RESUME

Dans le but d'installer un laboratoire de dosimétrie biologique au Burkina Faso qui optimisera les performances des services de cancérologie, notre étude a consisté à l'établissement de courbe dose-effet à partir des micronoyaux radio-induits dans les lymphocytes circulants des donateurs volontaires apparemment sains de sang du Centre National de Transfusion Sanguine Burkina Faso en fonction des doses d'irradiation. Ainsi Le sang périphérique de cinq donateurs volontaires apparemment sains dont 2 femmes et 3 hommes d'âge moyen de 32,2 ans a été irradié *in vitro* à différentes doses de rayons X (0 à 4 Grays) à l'aide d'un irradiateur à rayons RAD320 avec un débit de dose de 1 gray par minute. Les lymphocytes sanguins ont été cultivés pendant 48 heures. L'arrêt de la culture et la préparation des lames ont été réalisés conformément aux protocoles standards. Les micronoyaux dans la première mitose ont été dénombrés après la coloration des télomères et des centromères par des sondes PNA. Deux types de micronoyaux ont été observés : des micronoyaux avec des télomères (341) et des micronoyaux avec télomères plus centromères (87). Les résultats ont montré 17 micronoyaux observés à 0 Grays pour 1694 cellules binucléées, 46 micronoyaux pour 1763 cellules binucléées à 0,5 Gy, 91 micronoyaux pour 2025 cellules binucléées à 1 Gy, 130 micronoyaux pour 1857 cellules binucléées à 2 Gy et 144 micronoyaux pour 1016 cellules binucléées à 4 Gy après analyse de 456 métaphases de première division mitotique. Trois courbes dose-effet qui sont des linéaires quadratiques ont été obtenues à l'aide des de la totalité des micronoyaux observés, des micronoyaux avec télomères seulement et des micronoyaux avec télomères plus centromères des donateurs volontaires sains de sang du CNTS du Burkina Faso

L'établissement de la courbe d'étalonnage dose-effet des donateurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS au Burkina Faso a permis de caractériser la radiosensibilité des donateurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina et contribuera à l'établissement des normes de radioprotection pour le suivi de la population exposée aux rayonnements ionisants mais aussi à d'autres stress génotoxiques. Ainsi, l'étude suscite également l'intérêt pour la recherche en dosimétrie biologique en Afrique en général et au Burkina Faso en particulier.

Mots clés : cytogénétique, micronoyaux, radiosensibilité, cellules binucléées, rayons X, donateurs sains.

ABSTRACT

In order to install a biological dosimetry laboratory in Burkina Faso which will optimize the performance of cancer services our study consisted in establishment of dose – effect curves from the dose absorbed in vitro and the radio- induced micronuclei in the circulating lymphocytes of healthy voluntary blood donors from the national transfusion center in my country , peripheral blood from five healthy voluntary blood donors (2 women and 3 men, mean age 32.2 years) was exposed in vitro to different doses of x- rays (0 to 4 grays) using a RAD 320 irradiator with a dose rate of 0.1 Grays per minute. Blood lymphocytes were cultured for 48 hours. Culture termination and slide preparation were performed according to standard protocols. Micronuclei in the first mitosis were counted after telomere and centromere staining with PNA probes. Two types of micronuclei were observed: micronuclei with telomeres (341) and micronuclei with telomeres and centromeres (87). The results showed 17 micronuclei observed at 0 Grays for 1694 binucleate ,46 micronuclei for 1763 binucleated cells at 0,5 Gy 91 micronuclei for 2025 binucleated cells at 1 Gy, 130 micronuclei for 1857 binucleated cells at 2 Gy and 144 micronuclei for 1016 binucleated cells at 4 Gy after analysis of 456 metaphases of first mitotic division. The dose-effect curves, which are Linear quadratics, were obtained using totality of micronuclei observed, micronuclei with telomeres only and micronuclei with telomeres plus centromeres from healthy voluntary blood donors from the CNTS Burkina Faso. The establishment of three dose-effect calibration curves of healthy voluntary blood donors from CNTS Burkina Faso has made it possible to characterize the radiosensibility of healthy voluntary blood donors from CNTS Burkina Faso and will contribute to the establishment of radiation protection standards for follow-up of the population exposed to ionizing radiation but also to other genotoxic stresses. Thus, the study also arouses interest in biological dosimetry research in Africa in general and in Burkina Faso in particular.

Key words: cytogenetic, micronuclei, radio sensitivity, binucleate cells, x-rays, healthy donors

INTRODUCTION

Le 08 novembre 1895, un physicien allemand du nom de Friedrich Conrad Roentgen, découvrit un rayonnement électromagnétique qui a la particularité de traverser la matière et de laisser son ombre sur un négatif. Comme il ne trouvait pas de dénomination adéquate, Roentgen baptisa ce rayonnement électromagnétique « Rayon X ». Ce fût la naissance de la radiologie. Le 22 décembre 1895, un cliché de la main gauche de Constance Bertha, épouse de Friedrich Conrad Roentgen fut réalisé. Les doses délivrées étaient trop fortes puisque, Henri Simon photographe chargé de prendre les radiographies a laissé sa vie au bout de deux années de pratique au service de radiologie. Il a été d'abord amputé de la main qui était constamment en contact avec l'écran fluorescent pour ensuite développer un cancer généralisé. Les années qui suivirent plusieurs accidents cutanés étaient signalés et le premier cancer radio induit était rapporté en 1902 (Olaf, 1954). De 1902 à 1907, 170 cas de lésions diverses imputables aux radiations, tout particulièrement chez les médecins et les physiciens qui pratiquaient des examens radiographiques étaient recensés (Comité International Radioprotection, 1902). A partir de ce constat la communauté scientifique internationale découvrit que les rayonnements électromagnétiques pouvaient endommager les cellules de l'organisme principalement l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ainsi à chaque fois que des cellules sont endommagées, l'organisme développe des mécanismes extrêmement efficaces pour réparer les lésions. Mais, certaines erreurs peuvent être générées lors de ces processus. Ces erreurs sont observables lorsque les chromosomes sont condensés durant la phase de mitose du cycle cellulaire : Ce sont les aberrations chromosomiques (Maalem, 2016).

Les rayonnements ionisants induisent des fragments chromosomiques acentriques une et une mauvaise séparation de chromosomes lors de l'anaphase de la mitose. Ces fragments chromosomiques acentriques et les chromosomes entiers qui ne peuvent interagir avec le fuseau lors de l'anaphase du cycle cellulaire sont en retard et par conséquent, ne font pas partie du noyau principal des cellules filles. Un fragment chromosomique ou un chromosome entier en retard lors de l'anaphase du cycle cellulaire se transforme en petit noyau distinct, d'où le terme de micronoyau (Agence International de l'Energie Atomique, 2013).

L'analyse des aberrations chromosomiques est un des outils utilisés en dosimétrie biologique pour estimer les doses reçues lors d'une exposition accidentelle récente (Agence International de l'Energie Atomique, 2013). Les aberrations chromosomiques sont analysées

et quantifiées dans les métaphases issues des lymphocytes circulants. Les aberrations chromosomiques sont utilisées comme dosimètre en cas d'investigation liée à une situation d'urgence nucléaire ou radiologique (Turai *et al.*, 2000). Plusieurs techniques de dénombrement des aberrations chromosomiques au sein des lymphocytes du sang périphérique sont utilisées par l'agence internationale d'énergie atomique pour évaluer les dommages chromosomiques (Agence International de l'Energie Atomique, 2013). Parmi ces techniques, il y a celles des micronoyaux. C'est Countryman et Heddle qui ont présenté pour la première fois une analyse des micronoyaux dans les lymphocytes du sang périphérique (Countryman et Heddle, 1976). Dans une cellule, les lésions chromosomiques ne peuvent donner lieu à des micronoyaux que si la cellule se divise (Agence International de l'Energie Atomique, 2013). L'analyse des micronoyaux est l'une des références retenues par un grand nombre de laboratoires de dosimétrie biologique pour évaluer la radiosensibilité des êtres humains (Agence International de l'Energie Atomique, 2013). L'interprétation d'une dose à l'aide d'une courbe d'étalonnage peut différer d'une population à une autre. L'utilisation d'une courbe d'étalonnage dose-effet venant d'une population extérieure peut introduire une incertitude supplémentaire, par conséquent, il est recommandé à tout laboratoire qui envisage de travailler dans le domaine de la dosimétrie biologique, de se constituer ses propres données sur la relation dose-effet (Wilkins *et al.*, 2008).

Le 08 Juin 2012, l'Assemblée Nationale de mon pays a voté une loi pour permettre l'utilisation des rayonnements ionisants à des fins thérapeutiques afin de contribuer à la prise en charge des cancers qui sont en nette progrès dans la population burkinabè (Loi N° 032-2012/ An BF). En 2015 un projet de construction d'un centre de radiothérapie à Ouagadougou a été lancé par les premiers responsables de mon pays. En Mars 2021 un autre centre de radiothérapie construit et équipé par l'Arabie Saoudite ouvrit ses portes au centre hospitalier universitaire BOGODOGO. Ces centres ont besoin des données cytogénétiques de base pour la population burkinabè dans leur fonctionnement. En plus nous avons constaté que très peu d'auteurs se sont penchés sur l'étude de la radiosensibilité de la population africaine en générale et sur celle du Burkina Faso en particulier. La compréhension des effets biologiques des rayonnements ionisants reste encore de nos jours imparfaits et suscite toujours beaucoup d'intérêt dans la communauté des radio biologistes et, plus largement, des oncologues radiothérapeutes (Khalifa et Borie, 2012). C'est pourquoi nous avons porté notre choix sur le thème : « Caractérisation de la radiosensibilité des donneurs volontaires sains de sang du

Centre National de Transfusion Sanguine du Burkina Faso par analyse cytogénétique des micronoyaux radio-induits. »

L'objectif principal était de caractériser la radiosensibilité des donneurs volontaires apparemment sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso.

Les objectifs spécifiques ont été formulés :

- **OS1** : Dénombrer les micronoyaux radio-induits dans les lymphocytes circulants des donneurs volontaires sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso par des doses de 0 à 4 Grays de rayons X ;
- **OS2** : Réaliser une courbe dose/effet des micronoyaux radio-induits dans les lymphocytes circulants des donneurs volontaires sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso ;
- **OS3** : Analyser la courbe dose /effet des micronoyaux radio-induits des donneurs volontaires sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso à celle de l'Agence International de l'Energie Atomique et de la littérature.

Les hypothèses qui sous-tendent les trois objectifs spécifiques fixés ont été les suivants :

- **H1** : L'exposition des lymphocytes du sang périphérique circulant des donneurs volontaires sains de sang CNTS du Burkina Faso à des doses variables de rayonnements ionisants leur induit des micronoyaux.
- **H2** : La fréquence des micronoyaux radio-induits permet de construire une courbe dose/effet des micronoyaux des donneurs volontaires sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso.
- **H3** : La comparaison de la courbe dose/effet des micronoyaux radio-induits des donneurs volontaires sains de sang burkinabè à celle de l'AIEA permet de caractériser la radiosensibilité des donneurs volontaires sains de sang du centre national de transfusion sanguine du Burkina Faso

Le présent document en dehors de l'Introduction, de la Conclusion, des Suggestions et des Perspectives comporte quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré aux généralités. La deuxième traite de la méthodologie. Le troisième chapitre présente les résultats obtenus qui sont discutés dans le quatrième chapitre.

CHAPITRE I : GENERALITES

1.2 RAPPELS

1.2.1 Cellule

La cellule est l'unité structurale, fonctionnelle et reproductrice constituant tout ou partie d'un être vivant (Figure 1). La cellule, en latin s'appelle « cellula » signifie petite chambre (Khalifa et Borie, 2012)

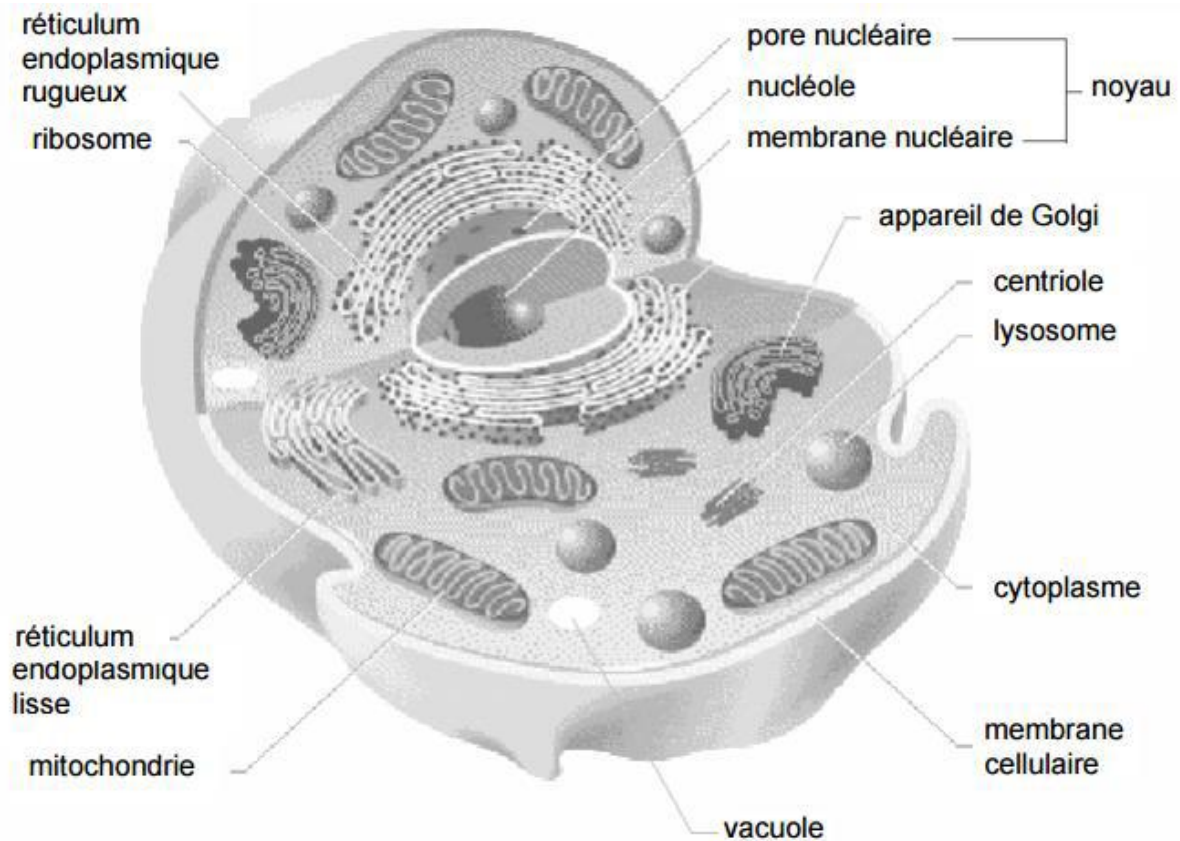


Figure 1 : Cellule animale vue en trois dimensions
Source : Khalifa et Borie, 2012

1.1.1.1 Noyau cellulaire

Le noyau est le plus gros des organites de la cellule. Il agit comme le centre de contrôle de la cellule et a deux fonctions principales :

- contrôler les réactions biochimiques du cytoplasme, telle la synthèse des protéines,
- Stocker l'information nécessaire à la division cellulaire, mitose ou méiose.

Le noyau contient le matériel génétique, l'ADN qui se présente sous forme de chromosomes ou de chromatines, ce dernier est entouré d'une membrane nucléaire (Khalifa et Borie, 2012)

1.1.1.1.1 Acide Désoxyribonucléique (ADN)

L'ADN est une longue molécule que l'on retrouve dans tous les organismes. La structure originale est formée de deux brins complémentaires enroulés en double hélice, lui permet de se dupliquer en deux molécules identiques entre elles et identiques à la molécule mère lors du phénomène de réplication ou duplication. L'ADN est le support de l'hérédité (National Institutes of Health, 2016). Chacun de ces brins est constitué d'un enchaînement de bases puriques (guanine : G ; adénine : A) et pyrimidiques (cytosine : C ; thymine : T). Les bases sont reliées entre elles à l'intérieur d'un brin d'ADN par des sucres appelés désoxyriboses, et par des acides phosphoriques.

Une base plus un sucre et un phosphate constituent un nucléotide. L'enchaînement des nucléotides forme un brin d'ADN. Cet enchaînement se fait dans un sens déterminé, opposé à celui de l'autre brin de l'hélice d'ADN : c'est l'antiparallélisme. L'appariement des deux brins qui composent l'hélice d'ADN est réalisé par les bases : l'adénine se lie par des liaisons faibles à la thymine (A-T), et la guanine fait de même avec la cytosine (G-C) (Figure 2). En aucun cas, thymine et guanine, ou cytosine et adénine, ne peuvent s'apparier.

L'ADN joue un rôle fondamental dans la réplication lors de la division cellulaire pendant la mitose ou de la méiose et dans la synthèse des protéines

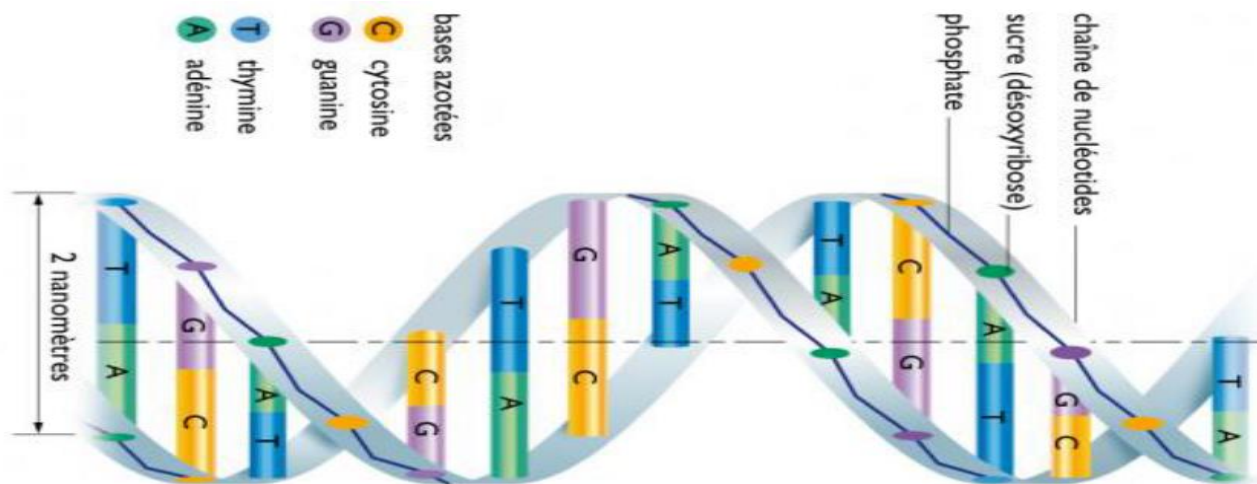


Figure 2: Structure hélicoïdale de l'ADN
Source: National Institutes of Health, 2016

1.1.1.1.1.1 Chromosome

Les chromosomes sont porteurs des gènes (National Institutes of Health, 2016). Une cellule somatique normale est composée de 46 chromosomes dont 22 paires d'autosomes et

une paire de chromosomes sexuels (2 chromosomes X chez la femme, un chromosome X et un chromosome Y chez l'homme) (National Institutes of Health, 2016).

Le chromosome est constitué de ce qui suit (Khalifa et Borie, 2012) :

- d'un centromère ;
- de bras ;
- de télomères qui terminent les bras et ont la particularité d'empêcher les extrémités des bras de se "coller" à d'autres extrémités de bras.

Sur la figure 3 a été illustrée la gène paire de chromosome.

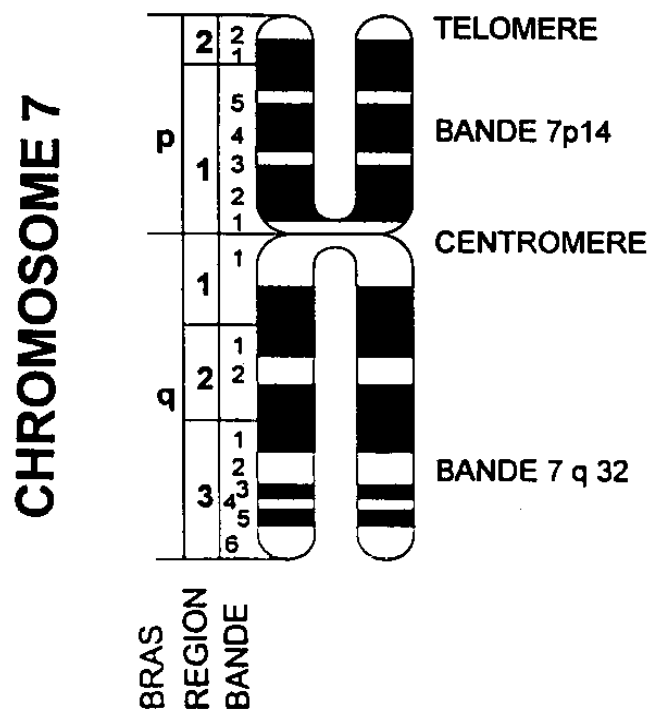


Figure 3 : Schéma illustratif de la septième paire de chromosome
Source : Khalifa et Borie, 2012

1.1.2 Cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes qui constituent et délimitent la vie d'une cellule. Ce cycle est composé de deux phases : l'interphase et la mitose.

En interphase, le matériel chromosomique (c'est-à-dire l'ADN et les protéines associées) se duplique. Cette période, appelée phase « S » (synthétique), est précédée d'une période appelée

G₁ (intervalle présynthèse) et est suivie par la phase G₂ (intervalle post synthèse). L'interphase représente 90% du cycle cellulaire.

La mitose comprend 4 phases différentes à savoir la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase. La télophase se termine par la cytotdièrèse qui divise le cytoplasme cellulaire (Figure 4). Le cytosquelette permet l'étranglement de la cellule et sa division en deux cellules filles. Les cellules issues de la mitose peuvent commencer un nouveau cycle cellulaire ou devenir quiescentes (Phase G₀). Par exemple les lymphocytes périphériques sont quiescents c'est à dire qu'ils stoppent leur métabolisme. La mitose permet le renouvellement des cellules somatiques (Morgan, 2010). La durée de chaque étape du cycle varie en fonction du type de cellule. En fonction de l'étape du cycle, une cellule n'a pas la même sensibilité aux agents chimiques et aux rayonnements. De plus, le type d'aberration chromosomique induit dépend de la phase où l'opération a été effectuée (Carrano, 1975) Les cellules filles reproduiront ce cycle et ainsi de suite (Khalifa et Borie ; 2012).

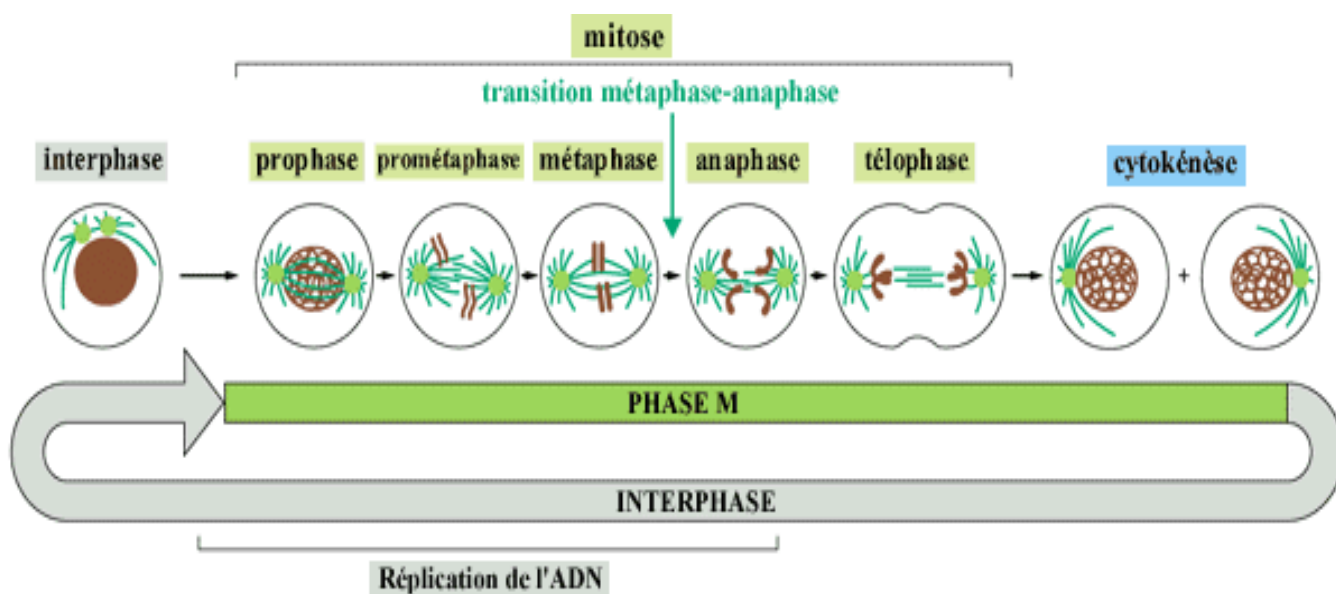


Figure 4 : Illustration des étapes du cycle cellulaire

Source : Neitzel et Trimborn , 2007)

1.2 MECANISME D'INTERACTIONS DES RAYONNEMENTS IONISANTS AVEC LA MATIERE

Les rayonnements ionisants excitent et ionisent les atomes des molécules irradiées. L'excitation et l'ionisation se font soit par effet direct ou indirect sur les molécules biologiques par l'intermédiaire de radicaux libres (Figure 5).

Les radicaux libres sont des molécules qui ont au moins un électron libre non appariés, c'est des molécules hautement instables et très réactifs.

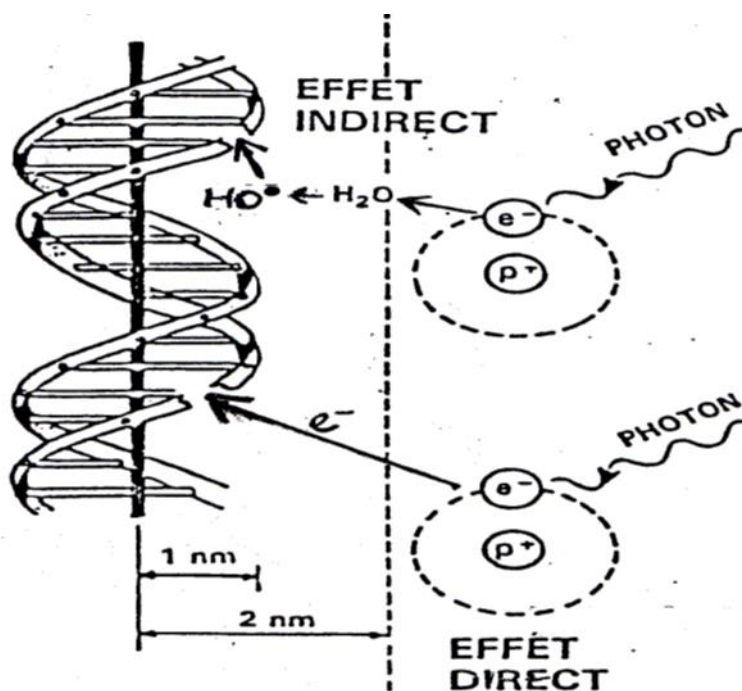


Figure 5 : Schéma illustrant l'action directe et indirecte des rayonnements sur l'ADN

Source : Ward, 1988

1.2.1 Réaction physico chimique

1.2.1.1 Radiolyse de l'eau

La matière est constituée de 65 % d'eau. L'irradiation d'une molécule d'eau provoque sa radiolyse qui aboutira à la formation de radicaux libres très réactifs.

L'irradiation de la molécule d'eau donne par :

- **Excitation** : $\text{photon} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{H}_2\text{O}^*$
- **Ionisation** : $\text{photon} + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow \text{H}_2\text{O}^{\cdot-} + e^-$

La molécule d'eau excitée donne deux radicaux à travers l'équation : $\text{H}_2\text{O}^* \Rightarrow \text{HO} \cdot + \text{H} \cdot$ (H. puissant réducteur)

Et l'eau ionisée donne aussi deux radicaux suivant l'équation $\text{H}_2\text{O}^{\cdot-} \Rightarrow \text{HO} \cdot + \text{H}^+$ (HO. Puissant oxydant)

Ces étapes sont extrêmement toxiques au niveau moléculaire et tissulaire. Les produits issus de la radiolyse de l'eau suivent deux étapes : l'étape diffusionnelle et l'étape chimique

- **Etape diffusionnelle** :

Les produits de la radiolyse de l'eau sont distribués de manière hétérogène autour de la trajectoire du rayonnement avec plusieurs recombinaisons possibles

$\text{HO} \cdot + \text{H} \cdot \Rightarrow \text{H}_2\text{O}$ (pas d'effet)

$\text{H} \cdot + \text{H} \cdot \Rightarrow \text{H}_2$ (hydrogène)

$\text{HO} \cdot + \text{HO} \cdot \Rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ (eau oxygénée, puissant oxydant très toxique)

➤ **Etape chimique :**

Les radicaux formés sont hautement réactifs et peuvent modifier les liaisons chimiques et entraîner des altérations moléculaires

Les radicaux OH entraînent une déshydrogénation ($\text{R-OH} + \text{OH} \cdot \Rightarrow \text{R} + \text{H}_2\text{O}$) et une hydroxylation ($\text{R} \cdot + \text{OH} \cdot \Rightarrow \text{ROH}$)

Les radicaux H entraînent une déshydrogénation ($\text{R-H} + \text{H} \cdot \Rightarrow \text{R} \cdot + \text{H}_2$) et une addition ($\text{R} \cdot + \text{R}' \cdot \Rightarrow \text{R-R}'$) (Figure 6)

1.2.2 Action des rayonnements ionisant au niveau moléculaire

Les molécules ionisées ou excitées sont très instables. Elles perdent leur excédant d'énergie par :

- émission d'un photon de fluorescence avec retour à l'état fondamental,
- rupture de liaison chimique covalente et destruction de molécules d'intérêt biologique :

$\text{R}' \cdot \rightarrow \text{R}^\circ + \text{R}'^\circ$ (R° : é célibataire : radical hautement réactif)

Les conséquences biologiques sont importantes pour l'ADN qui assure une fonction vitale.

1.2.2.1 Effets des rayonnements ionisants sur la molécule

Ce sont les effets de l'action des radicaux libres formés par radiolyse de l'eau. L'eau étant la principale cible initiale des rayonnements ionisants ; les Radicaux libres porteurs d'électron(s) célibataire(s) de haute réactivité chimique ont tendance à capturer un é pour ré appairer son é solitaire et compléter sa couche électronique. Réaction globale : $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HO}^\circ$ (oxydant) + H° (réducteur). Le bilan c'est l'apparition d'oxydants puissants, de réducteurs et d'électrons aqueux (Figure 6).

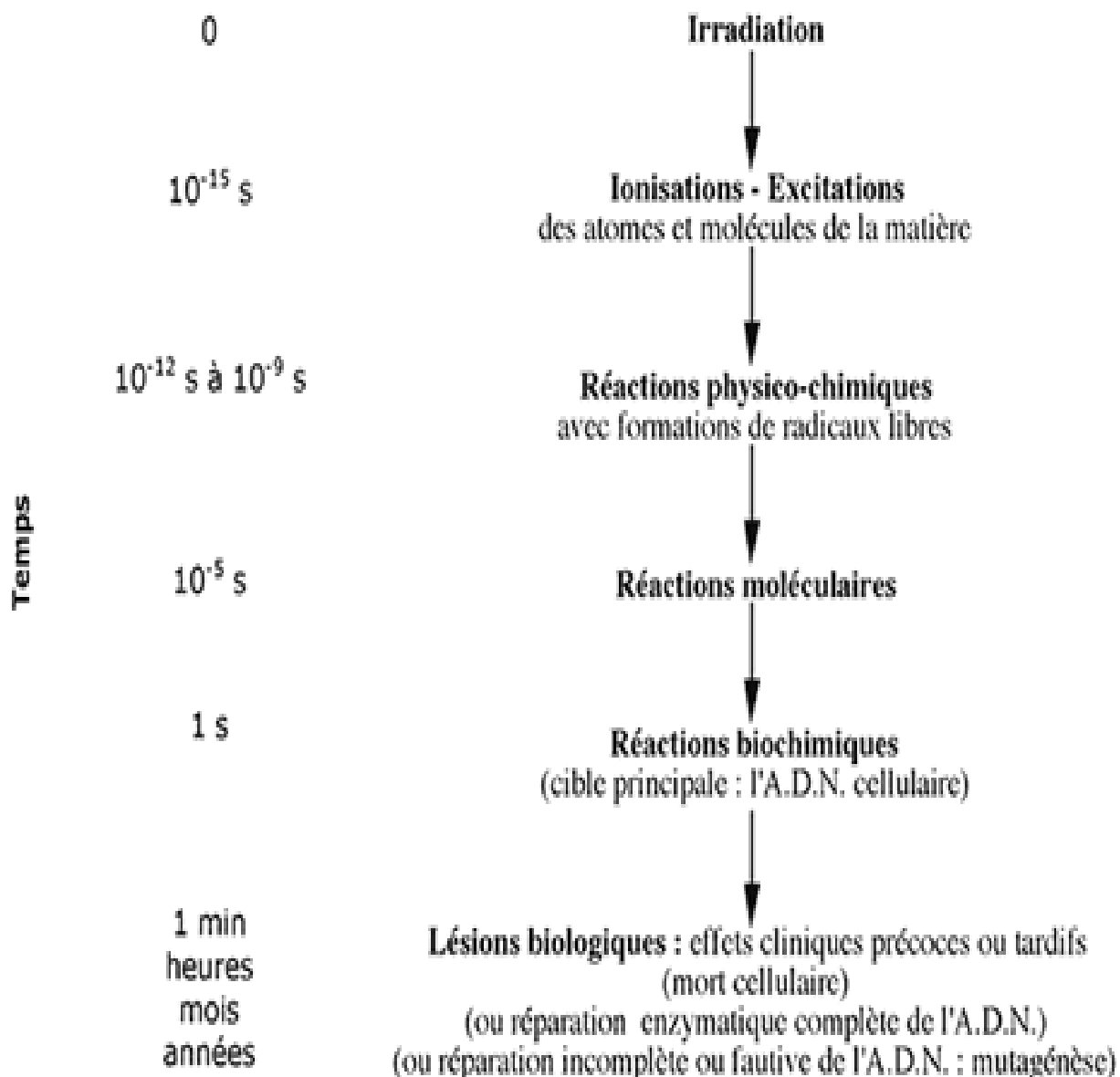


Figure 6: Schéma chronologique des événements lors d'une interaction des Rayonnements Ionisants avec la matière.

Source : Leonard et Nordberg, 1988

1.3 LES DIFFERENTS TYPES DE DOSIMETRIE BIOLOGIQUE

1.3.1 Dosimétrie Clinique

La dosimétrie clinique se base sur la symptomatologie clinique des effets déterministes. A partir d'un certain seuil d'irradiation apparaissent des effets pathologiques directement liés aux lésions cellulaires. On distingue les effets liés à une irradiation partielle

ou globale (Comité International de Radio Protection, 2007). Selon la variabilité de la radiosensibilité des organes, les signes et les symptômes du syndrome aigu d'irradiation apparaissent en trois phases successives :

- Le syndrome initial se développant dans les premières heures après l'exposition et se caractérise chronologiquement par une fatigue, associée à des troubles du sommeil, l'anorexie, les nausées associées à des vomissements, la fièvre (Institut de Radioprotection de Sureté Nucléaire, 2002). Leur rapidité d'apparition et leur intensité sont signes de gravité (Tubiana *et al.*, 2008).
- La phase de rémission qui suit le syndrome initial est relativement asymptomatique. Elle peut s'étendre jusqu'au 20^{ème} jour après l'exposition. Elle traduit le délai entre le dommage cellulaire initial radio-induit et son expression clinique qui est sous la dépendance du renouvellement cellulaire de l'organe affecté.
- La phase d'état du syndrome aigu d'irradiation. Elle se caractérise par une dépression du nombre périphérique des globules blancs, des plaquettes et des globules rouges. Elle entraîne la mort chez 50 % des individus exposés à environ 3 Grays en l'absence de toute action thérapeutique.

En outre, la précocité, le degré et la durée d'apparition des paramètres cliniquement significatifs dépendent de la dose reçue et de la susceptibilité individuelle. Des séquelles peuvent se développer ultérieurement à moyen et long terme. On doit craindre une dose supérieure à une dizaine de gray qui est généralement mortelle car elle entraîne des perforations intestinales. L'existence des troubles neurologiques à savoir désorientation, convulsion, détresse respiratoire doit faire craindre des doses supérieures à 15 Grays qui sont au-delà de toute thérapeutique (Tubiana *et al.*, 2008).

1.3.2 Dosimétrie biologique hématologique

La dosimétrie biologique hématologique se base sur un prélèvement urgent du sang, après une irradiation accidentelle, pour numération de la formule sanguine (NFS) et une étude du caryotype car faute des lymphocytes, ces examens ne pourront plus être pratiqués ultérieurement. En effet, la lymphopénie est rapide et après une dose de 2 Grays ou plus, elle s'observe dès le premier jour. Les lymphocytes sont les cellules dont le nombre diminue le plus rapidement et fortement (Tubiana *et al.*, 2009). En général, pour un adulte en bonne santé, la plage normale de concentration des lymphocytes est comprise entre $1,5 \times 10^9/L$ et $4,0 \times 10^9/L$ (Dainiak *et al.*, 2003).

Les doses seuils pour la dépression du système immunitaire sont d'environ 0,3 à 0,5 Gy par an (Akleyev *et al.*, 1999). Il convient de garder à l'esprit ces éléments lorsque l'on prélève du sang sur des victimes des rayonnements à des fins de dosimétrie biologique peu de temps après qu'elles aient été exposées (Agence International de l'Energie Atomique, 2013 et Organisation Mondiale de la Santé, 1998).

1.3.3 Dosimétrie moléculaire

Les techniques moléculaires développées récemment permettent la quantification directe des modifications de la structure d'ADN, sans passer par la culture cellulaire. Cette méthode peut être utilisée avec des tissus autres que le sang, notamment la peau qui est l'organe le plus exposé aux RI (Sorokine-Durm *et al.*, 2002). Dans ce domaine, de nouvelles techniques apparaissent rapidement et plusieurs analyses qui se trouvent à différents stades de développement et de vérification existent (Bertho *et al.*, 2008). Les cassures double brins, très fréquentes suite à une irradiation, sont détectées par Immuno-Histo-Chimie en utilisant les anticorps dirigés contre le foyer du système de réparation, un complexe des protéines formé autour de la double cassure d'ADN. Ces foyers apparaissent quelques minutes après l'irradiation et sont détectables pendant plusieurs heures. Leur nombre est proportionnel à la dose absorbée (Sorokine-Durm *et al.*, 2002). La diversité des méthodes de dosimétrie biologique disponibles à l'heure actuelle a conduit à proposer une approche multi paramètre en cas d'investigation portant sur une personne surexposée (Bertho *et al.*, 2008).

1.3.4 Dosimétrie biologique cytogénétique

La dosimétrie biologique cytogénétique est une discipline qui permet de déterminer la dose d'irradiation ionisante reçue par un individu (naturelle, accidentelle, professionnelle...) à partir de paramètres biologiques. Cette estimation repose sur l'existence d'une courbe dose/effet entre les doses reçues et les indicateurs biologiques étudiés (Natarajan, 2002). Elle repose, en général, sur l'analyse des chromosomes dicentriques, les micronoyaux qui sont considérés comme de véritables bio-indicateurs, car ils sont très rares à l'état naturel (Agence International de l'Energie Atomique, 2013).

1.3.4.1 Le test des micronoyaux par blocage cytokinèse

1.3.4.1.1 Mécanisme de formation des micronoyaux

Les rayonnements ionisants induisent la formation de fragments chromosomiques acentriques et une mauvaise séparation de chromosomes entiers. Les fragments

chromosomiques acentriques et les chromosomes entiers qui ne peuvent interagir avec le fuseau sont en retard lors de l'anaphase et, par conséquent, ne font pas partie du noyau principal des cellules filles (Figure 7). Un fragment chromosomique ou un chromosome entier en retard se transforme en petit noyau distinct, d'où le terme de micronoyau. (Agence International de l'Energie Atomique, 2013)

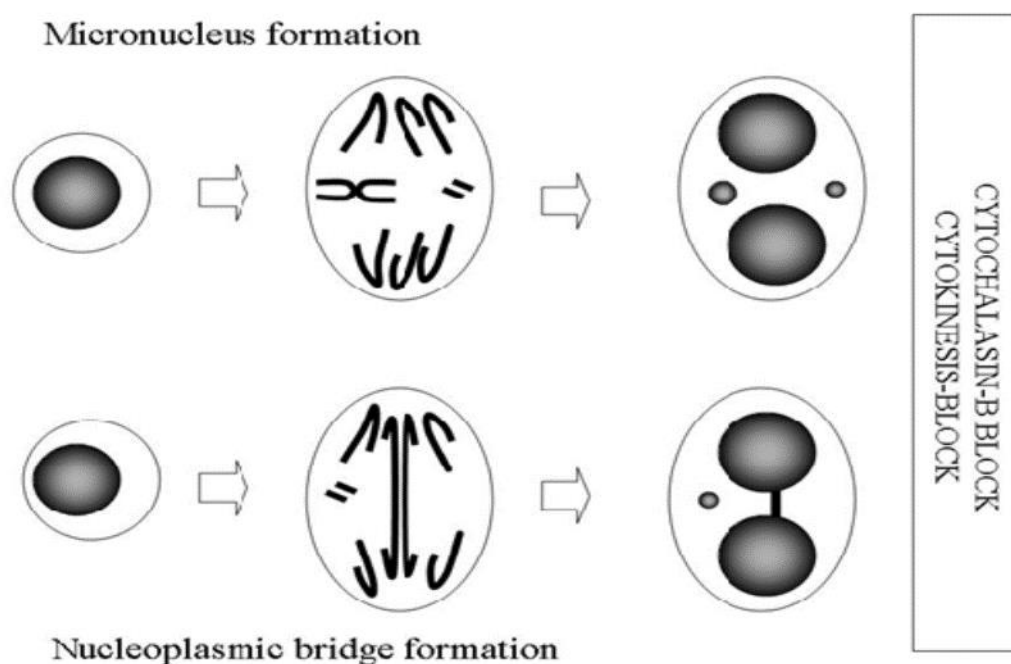


Figure 7: Schéma du mécanisme de formation des micronoyaux par blocage de la cytokinèse.

Source : Agence International de l'Energie Atomique, 2013

1.3.4.1.2 Utilisation du test des micronoyaux comme biomarqueur biologique

C'est Countryman et Heddle qui ont présenté pour la première fois une analyse des micronoyaux dans les lymphocytes du sang périphérique grâce à une mise en évidence de micronoyaux dans des cellules cultivées sur une courte durée (Countryman et Heddle, 1976). Néanmoins, lors de cette première expérience, ils n'ont pas cherché à déterminer si les cellules analysées avaient réellement effectué une division cellulaire *in vitro*, ce qui rendait le test peu fiable car, dans une cellule, les lésions chromosomiques ne peuvent donner lieu à des micronoyaux que si la cellule se divise. Par la suite, une technique plus fiable, basée sur l'utilisation d'un inhibiteur de la cytokinèse, la cytochalasine B, a été développée. A l'aide de la cytochalasine B, Fenech et Morley, (1985) ont pu montrer que

des cellules qui avaient subi une division nucléaire complète pouvaient s'accumuler et apparaître comme des cellules binucléées. Il était alors possible de compter spécifiquement et efficacement les micronoyaux dans ces cellules binucléées tout en excluant les cellules mononucléaires qui ne se divisaient pas et ne pouvaient provoquer l'apparition de micronoyaux *in vitro* (Figure 8). L'analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse (CBMN) est depuis devenue la méthode classique de comptage des micronoyaux dans des lymphocytes cultivés.

Les lymphocytes collectés dans un échantillon de sang sont eux-mêmes le résultat de divisions cellulaires qui se sont produites *in vivo*. On pourrait donc s'attendre à ce que certains contiennent déjà des micronoyaux. Il a ainsi été établi que le comptage des micronoyaux présents dans des lymphocytes mononucléaires d'étalements sanguins classiques pouvait être particulièrement utile pour surveiller les lésions génétiques dans les populations exposées de manière chronique aux rayonnements ionisants (Fenech *et al.*, 2000). Dans les années 1990, des chercheurs ont mis au point le test CBMN-centromères, test qui a recours à la méthode FISH et à une sonde centromériques pour faire apparaître les centromères. Cette technique permet de distinguer les micronoyaux qui contiennent des fragments acentriques de ceux qui contiennent des chromosomes entiers (Durante *et al.*, 1998 ; Vral *et al.*, 1997). Cette méthode permet d'accroître nettement la sensibilité du test CBMN à faible dose (Durante *et al.*, 1998).



**Figure 8 : Schéma illustratif de cellules binucléées avec un pont nucléo -plasmique lors d'une analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse.
Source : Agence International de l'Energie Atomique, 2013**

1.4 CHOIX DES LYMPHOCYTES

Les micronoyaux et les autres aberrations chromosomiques peuvent être observés dans les fibroblastes, dans les lymphocytes ou les cellules épithéliales. Dans notre étude nous avons choisi les lymphocytes pour plusieurs raisons à savoir que :

- Sous l'influence de la phytohémagglutinine (PHA), les lymphocytes se transforment en lymphoblastes et le volume du noyau et de l'ensemble de la cellule augmente. Quarante-huit heures après la stimulation, le volume de lymphocytes périphériques est d'environ $500 \mu\text{m}^3$ contre à peu près $110 \mu\text{m}^3$ avant la stimulation (OBE *et al.*, 1975).
- La plupart des lymphocytes périphériques se trouvent à l'état de quiescence (G0) et permettent de conserver les différentes anomalies et ont une même radiosensibilité.
- Ces cellules peuvent subir des divisions mitotiques *in vitro* si l'on introduit de la (PHA) (Carstairs, 1962).
- Les lymphocytes ont une longue durée de vie soit de 500 et 1500 jours par rapport aux autres types cellules.
- La fréquence des aberrations chromosomiques après irradiation *in vivo* et *in vitro* sont similaires. Il y a aussi une parfaite adéquation de la dose biologique mesurée par la cytogénétique classique et par le FISH avec la dosimétrie physique (Dossou *et al.*, 2000)
- Un recueil facile des lymphocytes circulants lors des prélèvements sanguins renforcent la justification de ce choix.

1.5 TRANSPORT DES ECHANTILLONS

Les échantillons de sang ont été contenus dans des emballages qui permettaient de maintenir leur contenu à température ambiante durant le transport.

Les échantillons ont été transportés conformément aux règles nationales et/ou internationales applicables au transport de matières infectieuses (Kierszenbaum , 2006). L'étiquette a porté mon nom, mon adresse et mon numéro de téléphone ainsi que le nom, l'adresse et le numéro de téléphone de M'kacher Radhia Najar (Kierszenbaum, 2006). Le laboratoire cytogénétique *cells environment* de l'hôpital Paul Brousse en France, destinataire des échantillons a été averti avant l'envoi des échantillons. Le transport des échantillons de sang a été réalisé par avion et les échantillons n'ont pas été radiographiés aux contrôles de sécurité car une étiquette « Ne Pas Radiographier » a été inscrite sur le colis. Cette condition a été également

mentionnée dans les documents d'accompagnement (Agence International de l'Energie Atomique, 2013). Le laboratoire cytogénétique de l'hôpital Paul Brousse en France a reçu les échantillons de prélèvement vingt-huit (28 h) après l'envoi.

CHAPITRE II : CADRE D'ETUDE, MATERIELS ET METHODES

2.1. CADRE D'ETUDE

L'étude a été réalisée au Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) du Burkina Faso. Le CNTS a été créé par décret N°2000-449/PRES/PM/MS du 26 septembre 2000, puis formalisé à travers le Projet BFK/004- BURKINA FASO ayant fait l'objet d'une convention entre le Burkina Faso et le Luxembourg. C'est finalement le 06 octobre 2005 qu'il a ouvert ses portes. Il est dirigé actuellement par le Dr Salam SAWADOGO, médecin spécialiste en médecine transfusionnelle. Le centre est limité à l'Est par la direction générale du Central d'Achat de Médicaments Essentiellement Génériques (CAMEG) à l'Ouest par l'avenue de la liberté au Nord par le Centre de Recherche et de Formation sur le Paludisme et au Sud par l'avenue Thomas SANKARA dans la ville de Ouagadougou. C'est le lieu où nous avons recensé notre population pour l'étude en tenant compte des critères spécifiques de notre étude.

La suite des travaux à savoir les irradiations, la mise en culture et la capture des images se sont réalisées au laboratoire biologique cytogénétique *cells environment* de l'hôpital Paul Brousse en France. IL est situé à Villejuif 12 Avenue Paul Vaillant Couturier 94804.

2.2 MATERIELS

2.2.1 Matériel pour le prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin s'est effectué à l'aide d'un garrot, des gants à usage unique, d'aiguilles vacutainers de prélèvement, de compresses stériles et des tubes à héparine de Lithium ou de Sodium

2.2.2 Matériel pour l'irradiation des échantillons

L'irradiation des échantillons a été réalisée *in vitro* dans des tubes sans addition de milieu de culture à l'aide d'un irradiateur à rayons X RAD 320 ayant un débit de dose de 1 Gy/min. (Figure 10)

2.2.3 Matériel pour la culture et l'analyse cytogénétique

Nous avons utilisé une plaque chauffante à 70°C ; un appareil de cultures ; des flacons T 25 classique servant à l'irradiation ; des flacons de cultures (Figure 9) ; un système de refroidissement chromosomique ; deux bains Marie (2 litres) ; un bain marie (va et vient) (40 litres) ; une centrifugeuse de paillasse ; un hôte à flux laminaire ; un microscope électronique

assisté par l'ordinateur ; un incubateur ; des pipettes pour étalement ; des lames ; une solution de culture de lymphocytes ; des réactifs de marquage centromères et télomères ;

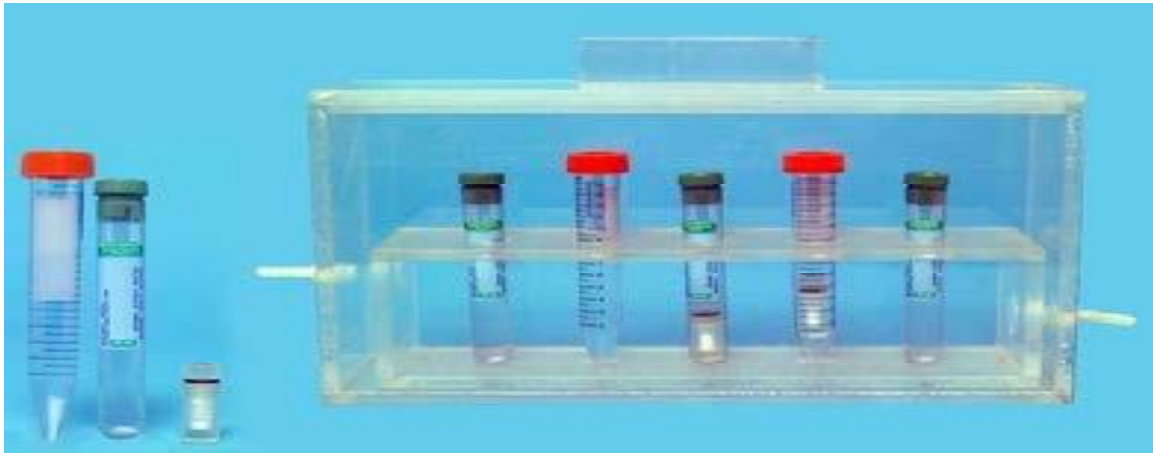


Figure 9 : Portoir utilisé pour placer et maintenir des tubes à essai de 15 ml et des tubes Vacutainer de 10 ml contenant du sang destiné à être irradiés par des sources à rayons X

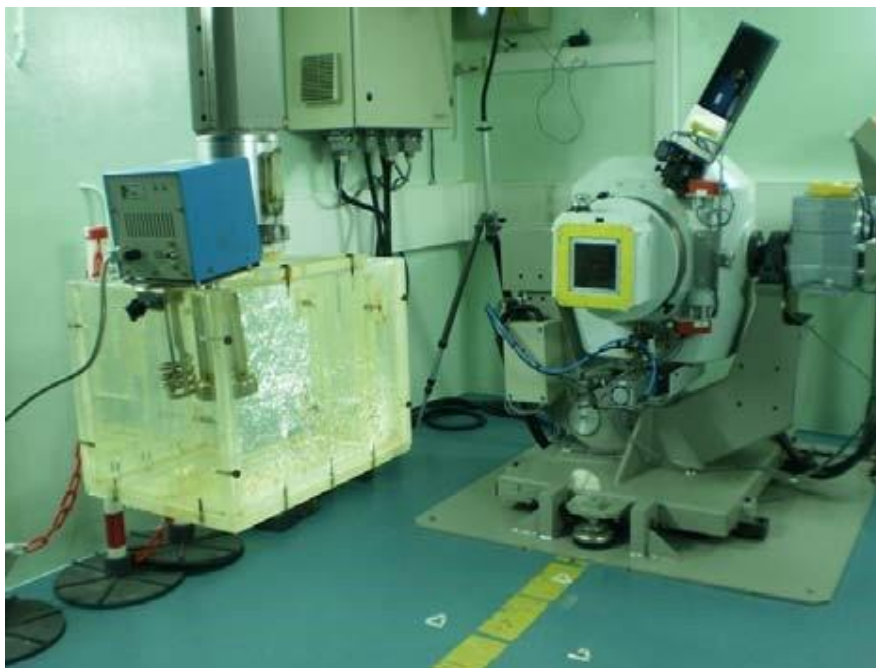


Figure 10: Bain-marie chauffé à 37°C et place devant une source à rayons x afin d'obtenir l'équilibre électronique, l'échantillon de sang se trouve à l'intérieur d'un support en plexiglas

2.3 METHODE DE L'ETUDE

2.3.1 Type et période d'étude

L'étude a été transversale, descriptive et analytique *in vitro* réalisée sur des lymphocytes de sang périphérique prélevé chez des donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina Faso. Elle s'était étalée de décembre 2017 à avril 2018.

2.3.2 Population, échantillon et taille de l'étude

Les prélèvements ont été réalisés chez cinq (05) donneurs volontaires apparemment sains de sang dont deux (02) de sexe féminin et trois (03) de sexe masculin qui répondaient à nos critères d'inclusion et considérés comme des répétitions. L'analyse a porté sur 200 lames, sur lesquelles la recherche et le décompte des micronoyaux ont concerné plus de 400 métaphases considérées comme la taille de l'échantillon. Parmi elles, 40 lames ont été irradiées pour une dose de 0,5 Gy, 40 lames pour une dose de 1 Gy ; 40 lames pour une dose 2 Gy ; 40 lames pour une dose de 4 Gy et enfin 40 lames n'ont subies aucune irradiation (0 Gy).

2.3.2.1 Critères d'inclusion

Des paramètres comme l'âge, certains agents physiques et chimiques et certaines affections virales comme l'hépatite B et C, le VIH augmenteraient la fréquence des micronoyaux. Pour se faire, nous avons retenu comme critères d'inclusion suivants :

- Etre de nationalité burkinabè
- Etre un(e) donneur volontaire apparemment sain de sang du CNTS Burkina Faso
- Etre âgé de 30 à 35 ans
- De Sexe masculin ou féminin
- Ne portant ni l'hépatite B, ni hépatite C et ni le VIH
- Sans antécédent d'expositions aux rayonnements ionisants (Rayon X, gamma, alpha etc.).
- Non exposé à certains produits chimiques (benzène, pesticides, chimiothérapie etc.).
- N'ayant pas de prédisposition familiale aux cancers.
- Ne consommant pas l'alcool, le cola.
- Ne fumant pas, ne chiquant pas le tabac.

2.3.2.2 Critères de non inclusion

- Etre de nationalité étrangère
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS âgé de moins de 30 ans et plus de 35ans.
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS retissant au prélèvement sanguin
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS refusant notre consentement libre et éclairé
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS consommant l'alcool, le cola
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS fumant, chiquant le tabac
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS travaillant sous rayonnements ionisants ou en contact permanent avec les produits chimiques comme le benzène, les pesticides etc.
- Tout donneur volontaire de sang du CNTS ayant subi un traitement chimio-thérapeutique.
- Tout donneur de sang du CNTS porteur de l'hépatite B ou C, le VIH

2.3.2.3 Méthode d'échantillonnage

En collaboration avec les responsables du CNTS Burkina Faso, nous sommes rentrés en contact avec les donneurs volontaires de sang à travers leur contact téléphonique à partir des registres du CNTS ou par approche directe après un don de sang. Nous leur avons remis la notice d'information de notre projet d'étude après lecture et explication. Un temps leur a été accordé afin qu'ils puissent réfléchir sur la décision à prendre. Ceux qui ont répondu favorablement à notre projet d'étude ont été retenus après signature d'un consentement libre et éclairé. A l'issu de ce consentement nous leur avons soumis le questionnaire conçu à cet effet. Les donneurs volontaires de sang qui remplissaient aux critères spécifiques de l'étude au nombre de trente (30) ont été retenus. Nous avons constitué notre échantillon d'étude à partir d'un tirage aléatoire. Cinq donneurs volontaires dont deux femmes et trois hommes ont été retenus pour être prélevés.

2.4 CONSIDERATIONS ETHIQUES

2.4.1 Autorisation du Comité d'Ethique pour la Recherche en Santé(CERS)

Nous avons soumis notre projet de recherche au Comité d'Ethique pour la Recherche en Santé du Burkina Faso, qui nous a donné un avis favorable par délibération N°2018-02-22. La délibération et le certificat d'éthique se trouvent en annexe de notre document.

2.4.2 Une note d'information

Une note d'information sur le projet de la recherche préétablie écrite en français a été présentée à la population de l'étude en avance. Un délai de deux semaines leur a été accordé afin de leur permettre de bien lire la note d'information et poser toutes questions utiles au chercheur principal avant de donner leur accord pour participer à notre projet de recherche. Des réponses satisfaisantes aux questions posées ont été apportées par l'investigateur principal.

2.4.3 Consentement éclairé

Pour participer à notre projet de recherche, l'enquêté après avoir eu deux semaines au moins pour réfléchir sur sa participation volontaire, a signé le consentement éclairé en deux exemplaires et nous lui en avons remis un exemplaire signé et daté. En plus de l'exemplaire du consentement éclairé, un engagement daté et signé du chercheur principal à respecter les principes d'éthiques scientifiques a été remise au participant.

2.4.4 Participation volontaire, possibilité de retrait et sceau confidentiel

La participation à l'étude a été volontaire. Le participant pourrait retirer son consentement à participer à l'étude à tout moment et sans donner de raison particulière. Cela n'aurait pas de conséquences sur sa vie ultérieure. En outre, nous avons donné aux participants à l'étude, l'identité complète ainsi que l'adresse du chercheur principal afin de faciliter au cas où un participant souhaite retirer son consentement plus tard ou s'il a des questions concernant l'étude. Notre étude s'est déroulée dans la stricte confidentialité de l'identité des participants.

2.4.5 Surveillance des aspects éthiques du projet de recherche

Le Comité d'éthique de recherche en santé du Burkina Faso a examiné notre projet de recherche et en a assuré le suivi. De plus, il a approuvé au préalable toute révision et toute modification apportée au formulaire d'information, de consentement et au protocole de recherche. Ainsi, en tant que chercheur principal de ce projet, nous avons signé une lettre d'engagement à respecter les principes d'éthique scientifique.

2.5 METHODE PROPREMENT DITE DE L'ETUDE

2.5.1 Pré-test des prélèvements, transport, irradiation et cultures des échantillons sanguins

Nous avons effectué un prélèvement sanguin pré-test avec deux compatriotes burkinabè vivants au Benin dans deux tubes de 5 ml à héparinate de sodium et deux tubes de 5 ml à héparinate de lithium le 18 juillet 2017 au Laboratoire Cytogénétique des Sciences Biomédicales Appliqués (ISBA) à Cotonou pour envoyer en France. Le prélèvement s'est fait par ponction veineuse antécubitale à l'aide des aiguilles vacutainers. Les deux volontaires apparemment sains burkinabè étaient un garçon de 27ans et une fille de 18 ans.

Les échantillons ont été transportés via DHL par un colis numéro 341004141 du 19 juillet 2017 vers le laboratoire cytogénétique *Cells Environment*, de l'hôpital Paul brousse en France où l'irradiation, la culture, préparation des lames pour le test micronoyaux radio-induits et captures des images sur les lames ont eu lieu.

2.5.2 Prélèvement sanguin proprement dit

Le prélèvement a été effectué le Lundi 16 avril 2018 au CNTS Burkina Faso en collaboration avec le personnel médical y travaillant sous la supervision de Dr G Abdoul SAWADOGO, Directeur de la coordination scientifique, de l'information sanitaire et des statistiques dudit centre. Ainsi, après avoir nettoyé l'antécubitale avec un tampon d'alcool, nous avons procédé par ponction veineuse avec des aiguilles vacutainers au niveau de l'antécubitale pour recueillir 05 ml de sang chez chacun des cinq (05) donateurs volontaires apparemment sains dans des tubes stériles à héparine de lithium que nous avons maintenu à une température ambiante dans un carton conçu pour l'exportation des prélèvements biologiques.

2.5.3 Transport des échantillons

Les échantillons de sang ont été contenus dans des emballages qui permettaient de maintenir leur contenu à température ambiante durant le transport. Le transport des échantillons de sang a été réalisé par avion. Le colis a été envoyé sous le N° 147-89629470 (Figure 11) et a été reçu le vingt-huit heures après le prélèvement. Les échantillons ont été transportés conformément aux règles nationales et/ou internationales applicables au transport

de matières infectieuses (Kierszenbaum, 2006). Le laboratoire cytogénétique *cells environment* de l'hôpital Paul Brousse en France, destinataire des échantillons a été averti avant l'envoi des échantillons.

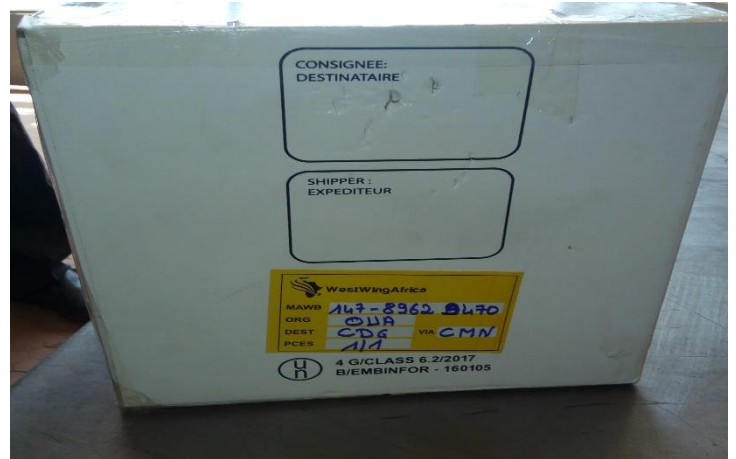


Figure 11: Photo de l'emballage qui a servi pour l'envoi des échantillons sous le N° 147-89629470 du 16/04/2018

2.5.4 Protocole d'irradiation des échantillons

Le sang des donneurs volontaires sains a été aliquoté dans les tubes classique T 25 préalablement codés et exposé à différentes doses de radiations : 0,5Gy ; 1Gy ; 2Gy et 4Gy à l'aide d'un irradiateur à rayons X RAD 320 avec un débit de dose de 1 Gy/min.

2.5.5 Protocole de mise en cultures des échantillons

Dans 5mL de milieu RPMI complété avec 10% de sérum de veau, 0.4% d'antibiotique et de la PhytoHemAgglutinin forme M(PHA), ont été rajoutés 500 µl de sang total. La PHA permet de stimuler la croissance des lymphocytes T. Le sang est cultivé dans des flacons de culture cellulaire à 37 °C avec 5 % de CO₂ en atmosphère humidifiée. Après 48 h de culture, les lymphocytes sont exposés aux produits chimiques.

2.5.6 Utilisation de cytochalasine B (Cyto B)

Pour la performance du test de micronoyaux *in vitro* il faut s'assurer que les cellules sont passées par la division mitotique pendant la période d'incubation après le traitement. On ajoute 20 µL de cytochalasine B (Cyt B) à la culture cellulaire 24 heures après la stimulation par la PHA de sorte que sa concentration finale soit de 6 µg/ml. La Cyto B qui est un inhibiteur de cytokinèse va bloquer les microfilaments d'actines ; ce qui permet de

différencier les cellules mononuclées qui ne sont pas divisées des cellules binuclées qui ont effectué une division cellulaire pendant la culture *in vitro*.

2.5.7 Préparation des lames

Après la culture, les cellules sont récupérées et centrifugées pendant 7 min à 1200 tours/mn, le surnageant est éliminé et les cellules sont remises en suspension dans une solution hypotonique de chlorure de potassium (KCl) (0,105M) et incubées pendant 15 min à température ambiante (choc hypotonique). Quelques gouttes de fixateur (3v/1v, Ethanol/Acide Acétique) sont ajoutées afin de pré-fixer les cellules. La préparation est ensuite centrifugée pendant 7 min à 1200 tours par min et le surnageant éliminé. Les noyaux, obtenu dans le culot, sont remis en suspension dans du fixateur. Cette opération est renouvelée à deux reprises afin d'éliminer un maximum de débris cellulaires et ne conserver que les noyaux. Les suspensions sont conservées ensuite dans le fixateur sur la nuit à 4°C, puis le lendemain, après une dernière étape de fixation, nous avons étalées sur des lames humides et froides.

2.5.8 Hybridation in situ Télomère-Centromère

La sonde PNA télomérique (CCCTAA)₃ marquée avec la Cyanine 3 (Cy3) de fluorescence rouge (Perceptive Biosystem) est complémentaire à la séquence répétitive télomérique (TTAGGG). La sonde centromérique PNA couplée à l'Isothiocyanate de Fluorescéine (FITC) de fluorescence verte, est spécifique à la séquence centromérique. Les cellules étalées sur lames sont décongelées la veille du marquage chromosomique.

Les lames sont rincées 5 min avec du PBS 1 fois, puis fixées au formaldéhyde 4% (VWR Prolabo®) pendant 2 min, et à nouveau rincées 3 fois puis 5 min au PBS 1fois. Les lames sont incubées pendant 7 min à 37°C avec de la pepsine (0.5µg/ml). Cette enzyme hydrolyse les liaisons peptiques, ce qui permet de digérer les protéines interagissant avec l'ADN des cellules, et d'obtenir une meilleure accessibilité des sondes à l'ADN. Ensuite, les lames sont rincées 30 secondes au PBS 1 fois, et à nouveau fixées au formaldéhyde 4%, rincées 3 fois puis 5 min au PBS 1 fois, puis déshydratées dans des bains successifs d'éthanol (Prolabo®) à différentes concentrations (50% pour 5 min ,70% pour 5 min puis 100% pour 5 min). Les lames sont laissées 20 minutes à sécher à température ambiante, pour limiter le bruit de fond. Les deux sondes PNA (centromérique et télomérique) sont diluées dans un tampon d'hybridation (0,3ng de chaque sonde PNA/µl ; 70% formamide ; 10mM de Tris HCl à pH

7,2 ; 1% de blocking réagent :BR), et déposées sur les noyaux, puis l'ADN est dénaturé sur plaque chauffante à 80°C pendant 3 minutes, pour que les sondes puissent s'apparier. L'hybridation s'effectue ensuite durant 2h dans une chambre humide, noir et température ambiante. Les lames sont ensuite rincées 2 fois puis 15 min dans du formamide 70% ; 10mM de Tris HCl à pH 7,2, (lavage I) puis 3 fois puis 5 min dans du NaCl 150mM ; tween 20 à 0,05% ; 50mM de Tris HCl à pH 7,2 (lavage II). Enfin les lames sont rincées au PBS 1 fois et contre-colorées avec un intercalant de l'ADN, le DAPI (4',6'-diamidino-2-phénylindole) et à nouveau rincer avec du PBS 1fois. Les lames sont ensuite montées avec des lamelles et du PPD (Para-Phénylène Diamine) évitant la perte de fluorescence des sondes. Les cellules binucléées ont été recherchées automatiquement à l'aide du logiciel MN-Score (Metasystem®). Les micronoyaux sont dénombrés. La présence des séquences centromériques et télomériques dans les micronoyaux est effectué manuellement avec l'option relocate (Metasystems). Les diapositives ont été conservées à 4° C pendant un mois avant analyse au microscope. Tout cela s'est fait au laboratoire Cytogénétique *cells environment* de l'hôpital Paul Brousse en France par Dr Radhia M'KACHER et son équipe.

2.5.9 Analyse cytogénétique des lames

Les lames ont été analysées au microscope électronique suivi de capture des images. L'analyse s'est reposée sur la fréquence des micronoyaux au stade de la métaphase de la première mitose qui a suivi l'irradiation réalisée au stade G0. Les lames ont été codifiées afin d'éviter les biais lors du comptage et ont été observées méthodiquement afin que toute la surface soit analysée.

2.5.9.1 Critères de sélection des cellules binucléées qui peuvent être examinées afin de mesurer la fréquence des micronoyaux

Les cellules dont la cytokinèse a bloqué et qui peuvent être examinées afin d'évaluer la fréquence des micronoyaux doivent avoir les caractéristiques suivantes :

- Elles doivent être binucléées.
- La membrane nucléaire des deux noyaux d'une cellule binucléée doit être intacte et ces deux noyaux doivent se trouver dans le même espace cytoplasmique.
- La taille, le marquage et l'intensité de la coloration doivent être à peu près les mêmes pour les deux noyaux d'une cellule binucléée.

- Les deux noyaux d'une cellule binucléée peuvent être disjoints ou reliés par un ou plusieurs ponts nucléo plasmiques étroits et dont la largeur n'excède pas 1/4 du diamètre du noyau.
- Les deux noyaux d'une cellule binucléée peuvent se toucher mais, dans l'idéal, ils ne doivent pas se chevaucher. Une cellule dont les deux noyaux se chevauchent ne peut être examinée que si l'on peut distinguer les limites de chacun de ces noyaux.
- La membrane cytoplasmique d'une cellule binucléée doit être intacte et se distinguer nettement des limites cytoplasmiques des cellules adjacentes.

2.5.9.2 Critères d'examen des micronoyaux

Les micronoyaux sont des petits noyaux ont la même coloration que les noyaux des deux cellules filles. Ils ont également les caractéristiques suivantes :

- Le diamètre des micronoyaux dans les lymphocytes humains varie habituellement entre 1/16 et 1/3 du diamètre moyen des noyaux principaux, ce qui correspond respectivement à 1/256 et 1/9 du volume de l'un des principaux noyaux d'une cellule binucléée.
- Les micronoyaux ne sont pas réfrangibles et sont donc faciles à distinguer des artefacts comme les particules de colorant.
- Les micronoyaux ne sont pas reliés ou attachés aux noyaux principaux.
- Les micronoyaux peuvent se toucher mais ne doivent pas chevaucher les noyaux principaux et l'on doit pouvoir distinguer leurs limites et celles de ces noyaux.
- La coloration a généralement la même intensité pour les noyaux principaux et pour les micronoyaux mais est parfois plus intense pour ces derniers. (Agence International de l'Energie Atomique, 2013)
- L'analyse cytogénétique des métaphases sur les lames préparées doivent indispensablement être issus des métaphases de la première division cellulaire et qui contiennent 46 centromères Le chromosome tout entier ou tout fragment de chromosome est considéré comme étant un micronoyau lorsqu'il est expulsé du noyau cellulaire dans le cytoplasme. (Agence International de l'Energie Atomique, 2013)

2.5.9.3 Comptage automatique des micronoyaux

Plusieurs algorithmes d'analyse automatique des images pour le test CBMN avaient déjà été mis au point dans les années 1990 (Castelain *et al.*, 1993). Ces méthodes présentaient toutefois des limites, par exemple une imprécision relativement élevée concernant la

classification des cellules binucléées. A une période plus récente, des dispositifs d'analyse automatique d'images pour le test CBMN nouveaux et plus performants ont été développés. Le module logiciel MN intégré au détecteur de cellules en métaphase MSearch, mis au point et commercialisé par Metasystems (un fabricant de dispositifs d'imagerie microscopique), reconnaît automatiquement les cellules binucléées par des critères morphologiques, à savoir la présence de deux noyaux adjacents colorés de la même manière au DAPI. Dans une deuxième étape, il compte automatiquement les micronoyaux dans une zone circulaire définie autour des deux noyaux de la cellule binucléée (Verhaegen *et al.*, 1994 ; Schunk *et al.*, 2004).

CHAPITRE III : RESULTATS

3.1 INFORMATIONS GENERALES SUR LES PARTICIPANTS DE L'ETUDE

Les cinq donneurs volontaires apparemment sains de sang retenus pour participer aux prélèvements étaient composés de deux femmes et trois hommes apparemment sains qui remplissaient nos critères d'inclusion (Tableau II) .

Tableau II: Répartition des donneurs volontaires sains apparemment de sang du CNTS Burkina Faso en fonction du sexe

Sexe	Masculin	Féminin	Total
Fréquence absolue	03	02	05

2/3 des donneurs volontaires sains de sang CNTS Burkina Faso était de sexe masculin et 1/3 de sexe féminin.

Les donneurs volontaires de sang apparemment sains ont été regroupés par tranche d'âge dans le tableau le Tableau III.

Tableau III : Répartition des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso en fonction de l'âge

Age	Fréquence absolue	Fréquence en %	Age Mi- Max
[30- 32[2	40	
[32-34[1	20	
[34-36[2	40	
Total	5	100	30 - 34
		m= 33+/_ 2 ans	

La moyenne d'âge des donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina Faso était de 33 ans. Le plus jeune avait 30 ans et le plus âgé 34 ans.

3.2 ANALYSE DES DONNEES

3.2.1 Dénombrement des micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires de sang apparemment sains du CNTS Burkina Faso

Les micronoyaux radio-induits par donneur volontaire de sang apparemment sains ont été regroupés dans le tableau IV en fonction de la dose d'irradiation.

Tableau IV : Fréquence des micronoyaux radio-induits par donneur volontaire sain de sang du CNTS Burkina Faso en fonction des doses d'irradiation

Doses (Gy) M	Total BN	total MN	MN+T	MN-T+C
0	300	2	1	1
0,5	274	7	6	1
1	614	28	26	2
2	79	10	9	1
4	93	15	15	0
Doses (Gy) F	Total BN	total MN	MN+T	MN-T+C
0	431	8	5	3
0,5	148	4	3	1
1	489	21	20	1
2	640	39	36	3
4	483	32	32	0
Doses (Gy) F	Total BN	total MN	MN+T	MN-T+C
0	59	0	0	0
0,5	330	12	10	2
1	155	8	7	1
2	740	63	61	2
4	320	41	40	1
Doses (Gy) M	Total BN	total MN	MN+T	MN-T+C
0	570	2	1	1
0,5	172	3	2	1
1	533	23	21	2
2	276	11	11	0
4	69	14	14	0
Doses (Gy) M	Total BN	total MN	MN+T	MN-T+C
0	334	5	2	3
0,5	839	20	18	2
1	214	11	10	1
2	122	13	12	1
4	51	7	7	0

Remarque : BN : Cellules Binucléées ; MN : Micronoyaux ; MN+T : Micronoyaux Télomérique ; MN-T+C : Micronoyaux Télomérique avec Centromère

Les micronoyaux radio-induits de tous les donneurs volontaires de sang apparemment sains ont été regroupés dans le tableau V en fonction de la dose d'irradiation

Tableau V : Récapitulatif de la totalité des micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires sains de sang au CNTS BURKINA Faso en fonction des doses d'irradiation

Doses (Gy)	Cellules Binucléées	MN	MN+T	MN-T+C
0	1694	17	9	8
0,5	1763	46	40	6
1	2025	91	84	7
2	1857	130	100	30
4	1016	144	108	36
TOTAL	8335	428	341	87

REMARQUE : BN : Cellules Binucléées ; MN : Micronoyaux ; MN+T : Micronoyaux avec Télomères ; MN-T+C : Micronoyaux avec Centromères plus Télomères

Une faible fréquence des micronoyaux radio-induits a été enregistrée chez les donneurs volontaires de sang apparemment sains à 0 Grays soit 17 micronoyaux et une fréquence élevée de micronoyaux à 4 Grays soit 144 (le tableau V). Par conséquent le nombre de micronoyaux pourrait augmenter lorsque la dose d'irradiation augmentait.

Le nombre de micronoyaux par cellule binucléée en fonction des doses d'irradiation a été consigné dans le tableau VI ci-dessous.

Tableau VI: Fréquence des Micronoyaux recensés par cellule binucléée chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso en fonction de la dose d'irradiation.

Doses	Effectifs MN par cellule BN	Pourcentage en %
0	0,002	3,97
0,5	0,005	10,74
1	0,010	21,26
2	0,015	30,37
4	0,017	33,64
Total	0,049	99,97
	m=0,009 +/- 0,012	

Remarque : BN : Cellules Binucléées ; MN : Micronoyaux

Le tableau VI montre une relative augmentation du taux des micronoyaux lorsque les doses d'irradiation augmentent. Le plus faible a été observé à 0 Gy soit 3,97% et le plus fort taux à 4 Gy soit 33,64%.

Le nombre de micronoyaux télomériques par cellule binucléée en fonction des doses d'irradiation a été consigné dans le tableau VII ci-dessous.

Tableau VII: Fréquence des micronoyaux télomériques radio-induits par cellule binucléée chez des donneurs de sang en fonction des doses d'irradiation

Doses	Effectifs MN+T par cellule BN	Pourcentage en %
0	0,001	02,63
0,5	0,004	11,73
1	0,010	24,63
2	0,011	29,32
4	0,012	31,67
Total	0,038	99,98
	m=0,007 +/- 0,009	

Remarque : BN : Cellules Binucléées ; MN+T : Micronoyaux avec Télomères

Le tableau VII montre un faible taux de micronoyaux télomériques à 0 gray soit 2,63% et un fort taux à 4 Grays soit 31,67%.

Le nombre de micronoyaux qui possèdent un télomère et un centromère a été consigné par cellule binucléée dans le tableau VIII ci-dessous en fonction des doses d'irradiation.

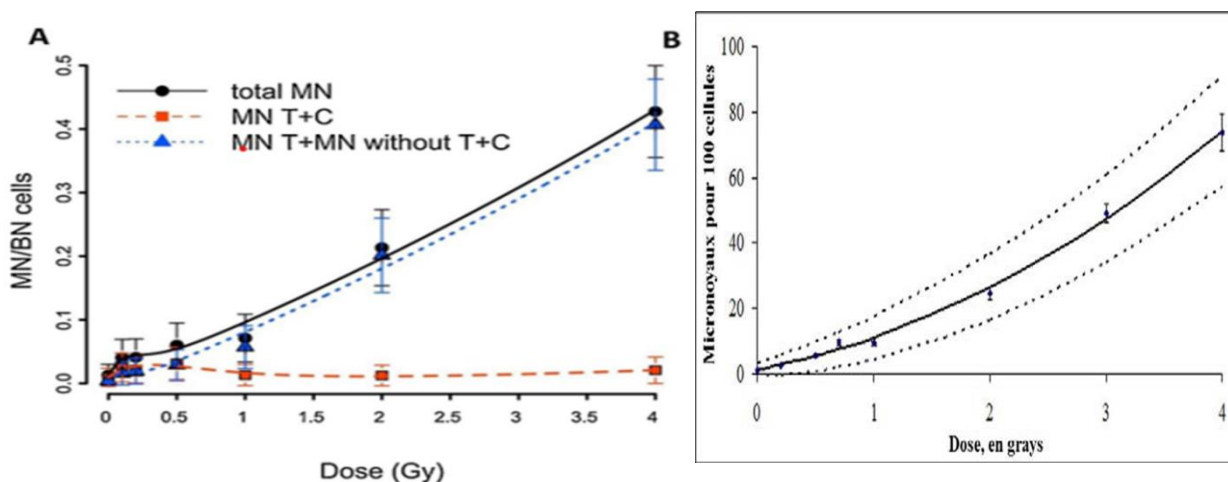
Tableau VIII: Fréquence des micronoyaux télomériques avec centromères radio-induits par cellule binucléée chez des donneurs de sang en fonction des doses d'irradiation

Doses	Effectifs MN-T+C par cellule BN	Pourcentage en %
0	0,0009	29,41
0,5	0,0008	23,52
1	0,0008	23,52
2	0,0004	17,64
4	0,0001	05,88
Total	0,003	99,97
	m= 0,0006 +/- 0,0005	

Le tableau VIII montre un plus fort taux des micronoyaux télomériques avec centromères à 0 Gy soit 29,41% et un faible à 4 Gy soit 5,88 %. Ce qui veut dire que la fréquence des micronoyaux avec et centromères diminue avec l'augmentation des doses d'irradiation.

3.2.2 Construction de la courbe dose-effet des donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina Faso

L'estimation de la dose nécessite l'établissement de courbe doses-effets de référence. La variation de la fréquence des micronoyaux en fonction de la dose peut être modélisée par l'équation linéaire quadratique suivante : $Y = a + bD + cD^2$ Où **a** est une constante, **D** représente la dose d'irradiation absorbée et **Y** la fréquence des micronoyaux (Agence International de l'Energie Atomique, 1986). Les facteurs **b** et **c** représentent les coefficients d'ajustement de la courbe (Figure 12).



Courbe A a pour pente 0,1

Courbe B a pour pente 0,06

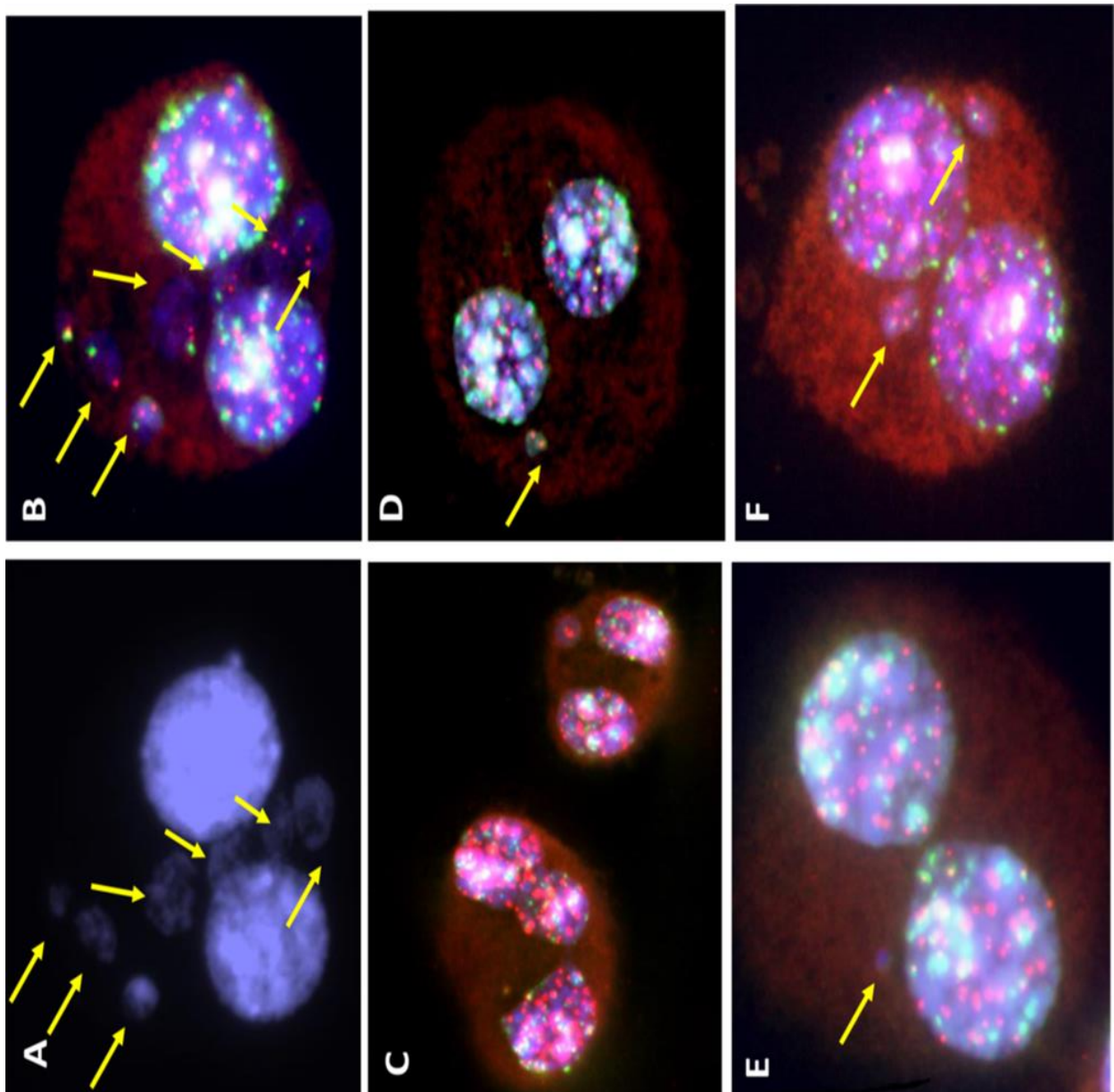
Figure 12: A : Courbe dose-effet des micronoyaux des donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina Faso (Fig. A) et B : courbe dose-effet des micronoyaux de l'AIEA de 2013 pour 47 sujets (Fig. B)

La courbe dose -effet des micronoyaux radio-induits des donneurs volontaires de sang apparemment sains du CNTS Burkina Faso est relativement croissante comme celle de l'AIEA. Ce qui veut dire que la fréquence des micronoyaux augmente lorsque la dose d'irradiation augmente. La courbe dose- effet des micronoyaux radio-induits des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso présente une pente élevée que celle de l'AIEA.

3.3. Iconographies des différents types de micronoyaux observés chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS du Burkina Faso

Sur la Figure 13 ont été illustrés les différents types de micronoyaux radio-induits obtenu chez les donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS du Burkina Faso

Figure 13 : Illustration des différents types de micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS du Burkina Faso.



Avec le test de marquage télomères centromères, les télomères se voient en couleur orange, le cytoplasme en rouge sombre et les centromères en couleur verte. Illustration ici des différents micronoyaux radio-induits observés dans les lymphocytes des donneurs volontaires de sang au CNTS du Burkina Faso lors de l'analyse cytogénétique des échantillons.

CHAPITRE IV : DISCUSSION

4.1 DISCUSSION

Plusieurs méthodes cytogénétiques ont été utilisées pour évaluer la radiosensibilité des différentes cellules humaines depuis plus d'une trentaine d'année (Shirai *et al.*, 2006). Dans notre étude, nous avons utilisé le test des micronoyaux comme bio indicateur des dommages produits à L'ADN suite à l'exposition aux agents génotoxiques. L'étude menée s'est focalisée sur l'analyse des micronoyaux radio-induits dans les lymphocytes circulant des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso à l'aide d'un irradiateur à rayons X RAD 320 avec un débit de dose de 1 Gy/min. Pour considérer et apprécier les conséquences des irradiations au niveau moléculaire, nous avons procédé à la recherche des micronoyaux en analysant des métaphases sur les lymphocytes irradiés à une dose de 0 Gy, 0,5 Gy, 1 Gy, 2 Gy, et 4 Gy. Notre tableau V a montré qu'à la dose témoin de 0 Gy, nous avons 17 micronoyaux pour 1694 cellules binucléées. Ces résultats sont en accord avec ceux de Koteles,(1996) qui avait trouvé des valeurs comprises entre 0 et 40 micronoyaux pour 1 000 cellules binucléées pour la même dose témoin.

Nous avons constaté que la fréquence des micronoyaux à 0 Gray chez la femme était plus élevée que chez l'homme soit 15 contre 6 pour 1000 cellules binucléées. Ces résultats sont corroborés par Theriens *et al.*, (2000) qui avait trouvé que la fréquence naturelle moyenne des micronoyaux est de 16,4 pour 1 000 cellules binucléées chez les hommes et de 23,5 chez les femmes. Ce qui veut dire que le genre influence la fréquence des micronoyaux. Catalan, J., *et al.*, (1998) avaient aussi trouvé que le chromosome X est presque entièrement responsable des pertes de chromosomes qui se produisent spontanément. Ce qui expliquerait la différence naturelle des micronoyaux observée à 0 Gy entre les hommes et les femmes. Le tableau IV a montré une augmentation progressive de la fréquence des micronoyaux au fur et à mesure que la dose augmentait soit 17 micronoyaux à 0 Gy et 144 micronoyaux à 4 Gy. Nos résultats sont en phase avec ceux de Willems *et al.*, (2010) qui avaient trouvé que la fréquence des micronoyaux radio-induits est fortement corrélée à la dose et à la qualité du rayonnement reçue. Fenech *et al.*, (1986) avaient démontré que l'exposition à toute série d'agents clastogènes et aneugènes environnementaux influait sur la fréquence des micronoyaux. Dans notre étude, nous avons constaté une très faible fréquence des micronoyaux télomériques avec centromères par rapport aux micronoyaux télomériques seulement. Cela s'explique par le fait que les radiations induisent de très nombreuses cassures de brins dont beaucoup ne seront pas réparés et se transformeraient plus facilement en micronoyaux télomériques. Nos résultats ne

contredisent pas ceux de Fenech *et al.*, (1986) qui avait montré que la plupart des micronoyaux radio-induits sont principalement issus de fragments acentriques alors que les micronoyaux spontanés contiennent surtout des chromosomes entiers.

La courbe dose – effet des micronoyaux radio-induits chez des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso est croissante. Elle présente une similitude avec celle de l'Agence International de l'Energie Atomique de 2013 car elles sont toutes croissantes. Seulement leur pente diffère. Notre courbe a une pente de 0,1, par contre celle construite par l'AIEA en 2013 est de 0,06. La pente de notre courbe est abrupte par rapport à celle de l'AIEA construite en 2013. Cela dénoterait que les donneurs volontaires sains du CNTS Burkina Faso sont moins radiosensible que celle de la population étudiée par l'AIEA en 2013, car plus la pente de la courbe dose-effet est forte, faible est la radiosensibilité. La différence de la pente pourrait se justifier avec la taille de notre échantillon qui était très inférieur à celle de l'AIEA de 2013. Néanmoins cela traduirait l'universalité du test cytogénétique des micronoyaux radio-induits par blocage à cytochalasine B. Cependant il faut ajouter que La radiosensibilité dépend de la phase dans laquelle la cellule se trouve au moment de l'exposition. Une cellule différenciée quiescente en phase G0 est moins sensible qu'en phase de mitose (Fenech et Morley, 1986 ; Lliakis ,1991). La radiosensibilité dépend également du type cellule. Généralement, une cellule est d'autant plus sensible qu'elle est peu différenciée et à forte activité mitotique (Carrano , 1975). Par exemple, les cellules souches hématopoïétiques, les cellules souches intestinales et les lymphocytes ont une radiosensibilité plus importante que les fibroblastes, les cellules hépatiques ou nerveuses. Chaque individu, chaque organe possède sa propre radiosensibilité *in vitro* corrélée aux observations cliniques (Bourguignon, 2019). Ce qui explique la différence de la fréquence des micronoyaux entre donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso (tableau IV).

Nous avons rencontré plusieurs difficultés dont les principales sont entre autre :

- L'absence d'irradiateur au Burkina Faso et au Benin pour nous permettre de réaliser l'irradiation de nos échantillons sur place. Il a fallu le concours et l'assistance de Dr M'KACHER pour réaliser l'irradiation, la mise en culture, la coloration, la capture des images en France pour nous les envoyer. Cela a eu un impact négatif dans l'obtention des résultats dans un délai raisonnable ;
- L'absence d'un laboratoire de radiobiologie au Burkina et au Benin a retardé de deux années à l'aboutissement de notre projet de recherche. Il a fallu attendre la disponibilité du

laboratoire de *Cells Environnent* à Paris en France pour obtenir le traitement de nos échantillons ;

- L'apparition du coronavirus en Mars 2020 au Burkina a entraîné une fermeture des frontières entre le Benin et le Burkina nous empêchant de pouvoir revenir au Benin pour finaliser notre rapport de stage ;
- L'insuffisance des moyens financiers a retardé l'envoi de nos échantillons en France et a surtout limité nos déplacements entre le Benin et le Burkina.

CONCLUSION

Plusieurs techniques cytogénétiques permettent d'évaluer les dommages causés par les rayonnements ionisants sur les êtres vivants. Parmi ces différentes techniques il y a le test des micronoyaux par blocage à la cytochalasine B. A travers le test des micronoyaux par blocage à la cytochalasine B, nous sommes parvenus à établir une courbe dose-effet de calibrage des donneurs volontaires sains de sang du CNTS Burkina Faso à partir de l'irradiation des prélèvements de 05 donneurs volontaires sains de sang avec un irradiateur à rayons x RAD 320 avec un débit de dose de 1 Gy/min.

Nos résultats ont montré une augmentation de la fréquence des micronoyaux avec l'augmentation progressive des doses d'irradiation. Notre étude a obtenu une courbe dose-effet relativement similaire à celle de l'AIEA réalisée en 2013 avec des échantillons de 47 personnes exposés aux rayonnements ionisants à des doses variées. A travers nos résultats, les prémices pour la mise en place d'un laboratoire cytogénétique sont lancées au Burkina Faso. Nos résultats seront d'un apport très capital dans la prise en charge des cancers dans les services de radiothérapie de BOGODOGO et de TINGANDOGO au Burkina Faso. Avec la collaboration des collègues de sous-région ouest africaine, nous avons l'ambition de mettre en place un laboratoire cytogénétique sous régional qui aidera à la prise en charge des différents cancers dont les fréquences ne font qu'exploser ces dernières décennies. En plus, il fournira des informations aux décideurs et aux responsables de la santé publique qui pourront s'en servir pour évaluer l'ampleur de l'irradiation publique, médicale et professionnelle.

SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

- Avec la construction de deux centres de radiothérapie dans mon pays, nous suggérons à l'Etat burkinabè de soutenir les étudiants qui font des recherches en cytogénétique à travers des bourses. Cela permettra de disponibiliser des résultats probants qui permettront d'optimiser la prise en charge des patients atteints de cancers dans les différents centres de cancérologie au Burkina Faso.
- Nous suggérons à notre Etat de construire un laboratoire de dosimétrie biologique pour compléter le laboratoire national de santé publique.
- Nous souhaiterions que notre Etat nous accompagne avec des ressources financières et matériels suffisantes dans la réalisation d'une thèse en radiobiologie.
- Comme perspective nous souhaiterions faire une caractérisation de la radiosensibilité des burkinabè aux rayonnements ionisants à l'échelle du pays à travers le test de micronoyaux afin de mettre en place un référentiel d'étalonnage des micronoyaux pour le Burkina Faso.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABRAHAM L. KIERSZENBAUM, Histologie et biologie cellulaire, Une introduction à l'anatomie pathologique, traduction de la 1 ère édition américaine par Pierre Validire et Patricia Validire-Charpy Paris, 2006.
2. Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA), Dosimétrie cytogénétique : applications à la préparation et à la conduite des interventions d'urgence radiologique, 2013.
3. AITIO, A., ANGLETTI, C.A., AHOTUPA, M., HIETANEN, E.; Indicators for assessing exposure and biological effects of genotoxic chemical. European Commission, EUR 11642, 1988, EN p191. Article
4. AKLEYEV, A.V., GALINA, A., SILKINA, L.A., VOZILOVA, A.V., VEREMEYEVA; Long-term hemopoiesis and immunity status after chronic radiation exposure of red bone marrow in humans. Central European Journal of Occ. And Env. Médecine 5,1999, 113-129. Article.
5. BERTHO, J. M. ROY, L., SOUIDI, M., BENDERITTER, M.; New biological indicators to evaluate and monitor radiation induced damage: an accident case report, Radiat. Res. 169, 2008, 543–550. Article.
6. BOURGUIGNON, M. Prise en compte de La radiosensibilité individuelle, 2019 Université Paris Saclay/ UVSQ pr.michel.bourguignon@gmail.com consulté le 16 Mars 2022.
7. CARERE, A., ANTOCCIA, A., CIMINI, D., CREBELLI, R.; Analysis of chromosome loss and non-disjunction in cytokinesis-block lymphocytes of 24 male subjects, Mutagenesis 14, 1999, 491–496, Article.
8. CARRANO, A. Induction of chromosomal aberrations in human lymphocytes by X rays and fission neutrons: Dependence on cell cycle stage, Radiat. Res. 63, 1975, 403-421
9. CARSTAIRS, K., The human small lymphocyte. its possible pluripotential quality, Lancet,1962, 829–832
10. CASTELAIN, P., HUMMELEN, P. V., DELEENER, A., Automated detection of cytochalasin-B blocked binucleated lymphocytes for scoring micronuclei, Mutagenesis, 1993, 285–293

11. CATALAN, J., AUTIO, K., KUOSMA, E., NORPPA, H.; Age-dependent inclusion of sex chromosomes in lymphocyte micronuclei of man, *Am. J. Hum. Genet.* 63, 1998, 1464–1472. DOI: 10.1086/302092.
12. COUNTRYMAN, P.I., HEDDLE, J.A. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes, *Mutat. Res.* 41, 1976, 321–331
13. DAINIAK, N., WASELENKO, J., K., O'ARMITAGE, J., MACVITTIE, T.J., FARESE, A. M.; The hematologist and radiation casualties, *Hematology*, 2003, 473–496. DOI:10.1182/asheducation-2003.1.473.
14. Dictionnaire Médical, Elsevier Masson, 6e édition ,2009
15. DURANTE, M., FURUSAWA, Y., GOTOH, E., A simple method for simultaneous interphase-metaphase chromosome analysis in biodosimetry, *Int. J. Radiat. Biol.* 74, 1998, 457–462
16. EASTMOND, D.A., TUCKER, J.D., Identification of aneuploidy-inducing agents using cytokinesis-block human lymphocytes and an antikinetochores antibody, *Environ. Mol. Mutagen.* 13, 1989, 34–43
17. FENECH, J., MORLEY, A., A., Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of in vivo ageing and low-dose X-irradiation, *Mutat. Res.* 161, 1986, 193–198
18. FENECH, J., MORLEY, A., A., Measurement of micronuclei in lymphocytes, *Mutat. Res.* 147, 1985, 29–36
19. FENECH, M., Cytokinesis-block micronucleus cytome assay, *Nat. Protoc.* 2007, 1084–1104
20. FENECH, M., PEREPETSKAYA, G., MIKHALEVICH, L., A more comprehensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations — Experiences from the Chernobyl catastrophe, *Environ. Mol. Mutagen.* 30, 1997, 112–118
21. OLAF PETRSEN, Radiation cancer, *Acta Radiologica* 1954, 42: 3, 221-236, article
22. INSTITUT de RADIOPROTECTION et de SECURITE NUCLEAIRE, Rapport scientifique et technique ,2002. <https://www.irsn.fr>, consulté le 12 Octobre 2021

23. JONATHAN KHALIFA, SABRINA BOYRIE, ÉLISABETH MOYAL Réparation des lésions de l'ADN radio-induites et radiosensibilité, Correspondances en Onco-Théranostic-vol. I-n°4 Octobre-novembre-décembre 2012
24. KOTELES, G.J. The human lymphocyte micronucleus assay. A review on its applicabilities in occupational and environmental medicine, *Centr. Europ. J. Occup. Environ. Med.* 2, 1996, 12–30
25. LARTIGAU, E. DOSSOU, J., M'KACHER, LEGAL, J.D., BRIDIER, U., GUICHARD, M., ESCHWEGE, F., PARMENTIER, C.; Biological dosimetry after total body irradiation (TBI) for hematologic malignancy patients. *Int. J. Radiat. Oncology Biol. Phys.* 2000, Vol. 46, N° 1: pp 123-129. DOI: 10.1016/s0360-3016(99)00378-8.
26. LLIAKIS G The role of DNA double strand breaks in Ionizing radiation induced killing of eukaryotic cells. *Bio-Assays* 13, 1991, 641-648
27. Loi N° 032-2012/An Portant Sureté, Sécurité Nucléaires Et Garanties
28. MAALEM, A. B., Contribution de la Dosimétrie dans l'Analyse Cytogénétique des Aberrations Radio-induites, par une Dose de 1,5 et 5 Gy de Rayonnements Gamma, 2016
29. MORGAN O. D., *Le cycle cellulaire*, 2010, 1^{ère} édition / 295 Pages ISBN-13
30. NATARAJAN A. T., Chromosome aberrations: past, present and future, *Mutat Res.* 2002 juillet 25, 504(1-3): 3-16 DOI: 10.1016/s0027-27-5107(02)00075-1
31. NEITZEL, H., TRIMBORN, M., *Human Chromosomes: Structural and Functional Aspects*, 2007 Article Universitaire. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> consulté 18 Décembre 2020
32. OBE, G., BEEK, B., DUDIN, G., The human leukocyte test system: V. DNA synthesis and mitoses in PHA-stimulated 3-day cultures, *Human genetik* 28, 1975, 295–302
33. Organisation Mondiale de la Santé (OMS), *Le Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au transport des matières infectieuses*, 2019. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/328930>. Licence :BY-NC-SA 3.0/ GO
34. CHARLESWORTH, B. ; *Population genetics from 1966 to 2016*; 2016
35. SCHUNK, C., JOHANNES, T., VARGA, D., LORCH, T., PLESCH, U.; New developments in automated cytogenetic imaging: unattended scoring of dicentric chromosomes,

- micronuclei, single cell gel electrophoresis, and fluorescence signals, *Cytogenet. Genome Res.* 104, 2004, 383–389, DOI: 10.1159/000077/520.
36. SHIRAI, K., MIZUI, T., SUZUKI, Y., KOBOYASHI, Y.; Differential effects of x-irradiation on immature and mature hippocampal neurons in vitro. *Neuroscience letters* 399, 2006, 57-60. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.01.048
37. SOROKINE-DURM, I., DURAND. V., DELBOS, M.; A French view on FISH painting as a bio dosimetry. *Radiation Protection Dosimetry* 88, 2000, 35-44
38. SYMONS, M.C.R; Direct and indirect damage to DNA by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry*; 1994; ISSN0969-806X; CODEN RPCHDM; v.43(4); p. 403-405, RN: 25025232, article.
39. THIERENS, H., VRAL.A., MORTHER. R., AOUSALAH.B.; Cytogenetic monitoring of hospital workers occupationally exposed to ionizing radiation using the micronucleus-centromere assay, *Mutagenesis*, 2000, 245–249
40. THOMAS, P., UMEKAGI, K., FENECH, M., Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay, *Mutagenesis*, 2003, 187–194
41. TUBIANA, M., *Radiobiologie ; Radiothérapie et Radioprotection ; Bases fondamentales*, 2008, vol.502, P171
42. TURAI, I., The IAEA sco-ordinated research project on bio dosimetry *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 2000
43. VARGA, D., JOHANNES. T, JAINTA. S, SCHUSTER, S.; An automated scoring procedure for the micronucleus test by image analysis, *Mutagenesis*, 2004, 391–397
44. VERHAEGEN, F., VRAL, A., SEUNTJENS, J.; Scoring of radiation-induced micronuclei in cytokinesis block human lymphocytes by automated image analysis, *Cytometry* 7, 1994, 119–127. Article.
45. VRAL, A., THIERENS, H., DE RIDDER, L., In vitro micronucleus centromere assay to detect radiation-damage induced by low doses in human lymphocytes, *Int. J. Radiat. Biol.* 7, 1997, 61–68

46. WARD, J., Damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability, *Prog Nucleic Acid Res Mol BIOL.* 1988
47. WILKINS, R.C., ROMM.H, KAO.T.C, AWA.A.A.; Interlaboratory comparison of the dicentric chromosome assay for radiation biodosimetry in mass casualty events, *Radiat. Res.* 169, 2008, 551–560
48. WILLEMS, P., AUSGUST. L, SLABBERT.J, ROMM.H. Automated micronucleus (MN) scoring for population triage in case of large scale radiation events, *Int. J. Radiat. Biol.* 86, 2010
49. Y.S. CORDOLIANI, Y.S., FOEHRENBACH, H., *Radioprotection en milieu médical. Principes et mise en pratique*, 2014, 3e édition. 227

LES ANNEXES

Annexe I : Formulaire de consentement éclairé

Je déclare avoir lu et compris la note d'information. J'ai également compris la nature et le motif de ma participation au projet, ainsi que les risques et inconvénients auxquels je m'expose. J'ai eu l'occasion de poser des questions concernant les différents aspects de l'étude auxquelles les réponses données m'ont satisfait. J'accepte volontairement et librement de participer à cette étude. Je peux me retirer à tout moment sans aucun préjudice. Je certifie qu'on m'a laissé tout le temps d'y réfléchir et sans avoir subi de pression à cet effet. Une copie signée de ce formulaire d'information et de consentement me sera remise.

Nom et Prénom du participant.....
Lu et approuvé Signature.....
Signé àle20.....

Déclaration de responsabilité du chercheur de l'étude

J'ai expliqué les conditions de participation au projet de recherche au participant. J'ai répondu selon la limite de mes connaissances aux questions qui m'ont été posées et je me suis assuré de la compréhension du participant.

Moi, **Koudbi YAMEOGO** chercheur principal de l'étude, déclare que moi-même et mon équipe de recherche sommes responsables du déroulement du présent projet de recherche. Je m'engage, avec mon équipe de recherche, à respecter les obligations énoncées dans ce document et à vous informer de tout élément qui serait susceptible de modifier la nature de votre consentement.

Signature du chercheur principal de l'étude :

Signé à Ouagadougou le.....20.....

Annexe II : Fiche de recrutement de l'échantillon d'étude

Identification

N° :

Age : / /

Sexe : masculin féminin

Adresse :

Localité :

Profession :

Province d'origine :

EXPOSITION AUX FACTEURS RADIOSENSIBILISATEURS OU FACTEURS DE CONFUSION :

- Pesticides : oui non
- Benzène : oui non
- Métaux lourds : oui non

HABITUDES ALIMENTAIRES

- Alcool : oui non
- Tabac : oui non
- Cola : oui non

AVEZ-VOUS SUBI DES EXAMENS UTILISANT LES RAYONS IONISANTS

- Radiographie : oui non
- Scanner : oui non
- Scintigraphie : oui non
- Radiothérapie : oui non

ANTECEDENT DE PROFESSION EXPOSANT AUX RAYONNEMENTS IONISANTS OU AUTRES RADIOSENSIBILISATEURS

- Technicien d'imagerie médicale : oui non
- Concacage de granite : oui non
- Exploitation des mines : oui non

Caractérisation de la Radiosensibilité des Donneurs Volontaires Sains de Sang du Centre National de Transfusion Sanguine du Burkina Faso par Analyse Cytogénétique des Micronoyaux Radio-induits

- Travailleur dans une cimenterie : oui non
- Cultivateur du coton : oui non
- Pompiste de carburant : oui non

**Annexe III : Avis favorable du comité d'éthique pour la recherche en santé du
Burkina Faso**



MINISTERE DE LA SANTE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR, DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET DE L'INNOVATION

COMITE D'ETHIQUE POUR
LA RECHERCHE EN SANTE

BURKINA FASO
UNITE - PROGRES - JUSTICE

07 FEV 2018

CERTIFICAT ETHIQUE

Le Président du Comité d'éthique
pour la recherche en santé

A

Monsieur Koudbi YAMEOGO
Étudiant

Je voudrais par le présent porter à votre connaissance que le **Comité d'éthique pour la recherche en santé** (CERS), par délibération N° 2018-02-022, après examen de votre protocole intitulé : « Caractérisation de la radiosensibilité des donneurs volontaires sains du CNTS du Burkina Faso à travers l'analyse cytogénétique des micronoyaux radio-induits »,

- **a émis un avis favorable.**

Ce certificat est valable pour une durée de un (01) an, renouvelable sur demande accompagnée d'un rapport annuel.

Aussi, un rapport d'exécution de fin d'étude sera transmis au CERS.

Veuillez agréer, Monsieur, l'expression de ma parfaite collaboration.


Dr Germaine MINOUNGOU/COMPAORE

ANNEXE IV : Définition des concepts

La définition des concepts clés de la thématique est très nécessaire pour la compréhension du document scientifique.

- Don de sang : C'est un processus par lequel un donneur de sang est volontaire pour se voir prélever du sang qui sera gardé dans une banque du sang avant de transfuser une personne malade lors d'une transfusion sanguine.
- Donneur : Celui qui donne
- Volontaire : Qui se fait sans contrainte
- Micronoyaux : fragments chromatiniens ou chromosomiques ou de chromosomes entiers laissés en amas dans la cellule après la disparition du fuseau mitotique.
- La radiothérapie est un emploi thérapeutique des rayonnements ionisants
- Rayonnement ionisant : c'est tout rayonnement électromagnétique ou corpusculaire possédant une énergie suffisante pour produire, directement ou indirectement, des ions en traversant la matière
- Cellule Binucléé : Celle Comportant deux noyaux. Les cellules binucléées apparaissent à la fin de la division nucléaire et peuvent s'accumuler si l'on utilise un inhibiteur de la cytokinèse comme la cytochalasine B.
- La radiosensibilité cellulaire se définit comme la probabilité de perte de la capacité de prolifération (ou mort clonogénique) par unité de dose d'une cellule soumise à un rayonnement.

Table des matières

DEDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	V
HOMMAGES.....	VIII
SOMMAIRE	IX
LISTE DES ABREVIATIONS ET SIGLES	X
LISTE DES FIGURES.....	XII
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
RESUME.....	XIV
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : GENERALITES	4
1.2 RAPPELS.....	5
1.2.1 Cellule.....	5
1.1.1.1 Noyau cellulaire	5
1.1.1.1.1 Acide Désoxyribonucléique (ADN).....	6
1.1.1.1.1.1 Chromosome	6
1.1.2 Cycle cellulaire.....	7
1.2 MECANISME D’INTERACTIONS DES RAYONNEMENTS IONISANTS AVEC LA MATIERE	8
1.2.1 Réaction physico chimique	9
1.2.1.1 Radiolyse de l’eau	9
1.2.2 Action des rayonnements ionisant au niveau moléculaire	10
1.3 LES DIFFERENTS TYPES DE DOSIMETRIE BIOLOGIQUE.....	11
1.3.1 Dosimétrie Clinique	11
1.3.2 Dosimétrie biologique hématologique	12
1.3.3 Dosimétrie moléculaire	13
1.3.4 Dosimétrie biologique cytogénétique.....	13

1.3.4.1 Le test des micronoyaux par blocage cytokinèse	13
1.3.4.1.1 Mécanisme de formation des micronoyaux	13
1.3.4.1.2 Utilisation du test des micronoyaux comme biomarqueur biologique.....	14
1.4 CHOIX DES LYMPHOCYTES	16
1.5 TRANSPORT DES ECHANTILLONS.....	16
CHAPITRE II : CADRE D’ETUDE, MATERIELS ET METHODES.....	18
2.1. CADRE D’ETUDE	19
2.2 MATERIELS	19
2.2.1 Matériel pour le prélèvement sanguin	19
2.2.2 Matériel pour l’irradiation des échantillons	19
2.2.3 Matériel pour la culture et l’analyse cytogénétique	19
2.3 METHODE DE L’ETUDE	21
2.3.1 Type et période d’étude.....	21
2.3.2 Population, échantillon et taille de l’étude	21
2.3.2.1 Critères d’inclusion	21
2.3.2.2 Critères de non inclusion.....	22
2.3.2.3 Méthode d’échantillonnage	22
2.4 CONSIDERATIONS ETHIQUES.....	22
2.4.1 Autorisation du Comité d’Ethique pour la Recherche en Santé(CERS).....	22
2.4.2 Une note d’information	23
2.4.3 Consentement éclairé	23
2.4.4 Participation volontaire, possibilité de retrait et sceau confidentiel.....	23
2.4.5 Surveillance des aspects éthiques du projet de recherche	23
2.5 METHODE PROPREMENT DITE DE L’ETUDE.....	24
2.5.1 Pré-test des prélèvements, transport, irradiation et cultures des échantillons sanguins ..	24
2.5.2 Prélèvement sanguin proprement dit.....	24
2.5.3 Transport des échantillons.....	24

2.5.4 Protocole d'irradiation des échantillons	25
2.5.5 Protocole de mise en cultures des échantillons	25
2.5.6 Utilisation de cytochalasine B (Cyto B).....	25
2.5.7 Préparation des lames.....	26
2.5.8 Hybridation in situ Télomère-Centromère	26
2.5.9 Analyse cytogénétique des lames.....	27
2.5.9.1 Critères de sélection des cellules binucléées qui peuvent être examinées afin de mesurer la fréquence des micronoyaux	27
2.5.9.2 Critères d'examen des micronoyaux	28
2.5.9.3 Comptage automatique des micronoyaux	28
CHAPITRE III : RESULTATS.....	30
3.1 INFORMATIONS GENERALES SUR LES PARTICIPANTS DE L'ETUDE.....	31
3.2 ANALYSE DES DONNEES	32
3.2.1 Dénombrement des micronoyaux radio-induits observés chez les donneurs volontaires de sang apparemment sains du CNTS Burkina Faso	32
3.2.2 Construction de la courbe dose-effet des donneurs volontaires apparemment sains de sang du CNTS Burkina Faso.....	35
3.3. Iconographies des différents types de micronoyaux observés chez les donneurs volontaires sains de sang du CNTS du Burkina Faso	36
CHAPITRE IV : DISCUSSION	38
4.1 DISCUSSION	39
CONCLUSION	42
SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES	43
BIBLIOGRAPHIE	44
LES ANNEXES	49