

N° 109



UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI (UAC)

ECOLE DOCTORALE SCIENCE DE L'INGENIEUR « ED-SDI »

MASTER DE RECHERCHE EN RADIOBIOLOGIE-RADIOPROTECTION

RAPPORT DE STAGE

Pour l'obtention du Diplôme de Master de Recherche

En Radiobiologie-Radioprotection

Thème

**Dosimétrie biologique cytogénétique : Analyse des aberrations
chromosomiques instables radio-induites dans les lymphocytes circulants
des volontaires supposés sains burkinabé**

Présenté et soutenu par :

Albert GUINGANI

Technicien Supérieur en Imagerie Médicale

Sous la direction de :

Dr Julien DOSSOU

Maître de conférences des Universités
(CAMES) Enseignant-Chercheur à
l'EPAC/UAC Bénin

Sous la Co-direction de :

Dr Radhia M'KACHER

Directrice du laboratoire « Cell Environment »
de l'Hôpital Paul Brousse France

Liste des enseignants de la formation de Master Radiobiologie-radioprotection

GRADE/PRENOM (S)	NOM	MATIERES ENSEIGNEES
Mr Bienvenu	OLORY	Anglais et expression scientifique
Mr Edmond S.	MENOTE	Informatique générale Programmation
Pr. Guy Apollinaire	MENSAH	Méthodologie de recherche scientifique
Pr. Hyacinthe	AHISSOU	Chimie sous rayonnements ionisants
Pr. Isidore	SOSSA ZOHOUN	Hématologie et oncologie Propriétés physiques des rayonnements ionisants, Radio-toxicologie et contamination,
Dr Julien	DOSSOU	Réparation des lésions de l'ADN et réparatose, Radiosensibilité et courbe de survie cellulaire
Pr. Léonard	FOURN	Bio statistique et épidémiologie
Pr. O. Delphin	KOUDANDE	Animaux de laboratoire en radiobiologie
Pr. Anatole	LALEYE	Cytogénétique conventionnelle et cancer
Dr Radhia	M'KACHER	Cytogénétique avancée Dosimétrie biologique
Dr Vincent	MASLOKONON	Histologie des tissus irradiés
Experts AIEA s/c		
Dr Julien	DOSSOU	Urgence radiologique



DEDICACE

A mon père **Feu Moise GUINGANI**. Dieu a voulu que je m'adresse à vous à titre posthume. Depuis mon bas âge tu m'as appris que c'est dans le combat, la persévérance, l'humilité, l'amour du prochain que l'on peut bâtir son propre bonheur et celui de ses entrailles. Me voici aujourd'hui loin d'un rêve avec ce résultat fruit de tous les efforts consentis. Qu'il puisse être une source de bénédiction, de joie et de bonheur pour vous, loin de nous, et pour toute la famille.

A ma mère **Odette K. TARNAGDA**, Tes bénédictions sont pour moi une source intarissable de persévérance, de force et de succès dans mes différents projets. Reçois aujourd'hui encore le résultat de ce travail impérieux. Qu'il fasse ta joie et celle de toute la famille.

A mon épouse **Blandine NOMBRE**, pour tout le soutien et sacrifice consentis durant tout le temps qu'à pris cette formation. Tu es la seule à vivre de près toutes les réalités liées à cette formation. Je t'exprime à travers ce travail tout mon amour.

A mes enfants, mes frères et sœurs, et mes amis je vous remercie pour tous vos soutiens multiformes durant toute cette formation. Que ce travail soit une source d'inspiration pour chacun dans sa vie quotidienne.

Liste des enseignants de la formation de Master Radiobiologie-radioprotection

GRADE/PRENOM (S)	NOM	MATIERES ENSEIGNEES
Mr Bienvenu	OLORY	Anglais et expression scientifique
Mr Edmond S.	MENOTE	Informatique générale Programmation
Pr. Guy Apollinaire	MENSAH	Méthodologie de recherche scientifique
Pr. Hyacinthe	AHISSOU	Chimie sous rayonnements ionisants
Pr. Isidore	SOSSA ZOHOUN	Hématologie et oncologie Propriétés physiques des rayonnements ionisants, Radio-toxicologie et contamination,
Dr Julien	DOSSOU	Réparation des lésions de l'ADN et réparation, Radiosensibilité et courbe de survie cellulaire
Pr. Léonard	FOURN	Bio statistique et épidémiologie
Pr. O. Delphin	KOUDANDE	Animaux de laboratoire en radiobiologie
Pr. Anatole	LALEYE	Cytogénétique conventionnelle et cancer
Dr Radhia	M'KACHER	Cytogénétique avancée Dosimétrie biologique
Dr Vincent	MASLOKONON	Histologie des tissus irradiés
Experts AIEA s/c		
Dr Julien	DOSSOU	Urgence radiologique



DEDICACE

A mon père **Feu Moise GUINGANI**. Dieu a voulu que je m'adresse à vous à titre posthume. Depuis mon bas âge tu m'as appris que c'est dans le combat, la persévérance, l'humilité, l'amour du prochain que l'on peut bâtir son propre bonheur et celui de ses entrailles. Me voici aujourd'hui loin d'un rêve avec ce résultat fruit de tous les efforts consentis. Qu'il puisse être une source de bénédiction, de joie et de bonheur pour vous, loin de nous, et pour toute la famille.

A ma mère **Odette K. TARNAGDA**, Tes bénédictions sont pour moi une source intarissable de persévérance, de force et de succès dans mes différents projets. Reçois aujourd'hui encore le résultat de ce travail impérieux. Qu'il fasse ta joie et celle de toute la famille.

A mon épouse **Blandine NOMBRE**, pour tout le soutien et sacrifice consentis durant tout le temps qu'à pris cette formation. Tu es la seule à vivre de près toutes les réalités liées à cette formation. Je t'exprime à travers ce travail tout mon amour.

A mes enfants, mes frères et sœurs, et mes amis je vous remercie pour tous vos soutiens multiformes durant toute cette formation. Que ce travail soit une source d'inspiration pour chacun dans sa vie quotidienne.



REMERCIEMENTS

Gloire et louange à Dieu Tout Puissant pour cette grâce tant inattendue dans ma vie professionnelle. Qu'elle soit mon guide, ma lumière, ma force pour réussir dans cette nouvelle mission.

Au Docteur Julien DOSSOU, Maître de Conférences des Universités du CAMES, notre maître de mémoire et Coordonnateur de la formation Radiobiologie –Radioprotection, toute ma gratitude pour ces nouvelles connaissances dans ma vie professionnelle. Que Dieu vous donne la santé et longévité pour poursuivre cette noble tâche. Amen !

Au Professeur Antoine VIANOU, Professeur titulaire des Universités du CAMES, toute ma reconnaissance pour votre rigueur pour le travail bien fait ; votre sens d'écoute, votre engagement à nous aider et vos conseils chaque fois que vous nous recevez. Que Dieu vous donne toujours la force nécessaire pour continuer cette noble mission. Amen !

A l'ensemble du corps professoral mes sincères remerciements pour avoir accepté sacrifier de votre temps pour nous inculquer ce savoir malgré souvent vos calendriers chargés. Que Dieu récompense chacun au centuple de ses bienfaits afin que vous continuiez de nous assister. Amen !

Au Docteur Radhia M'KACHER, enseignante chercheuse au laboratoire « Cells Environment » en France grand merci pour votre détermination, votre engagement à toujours nous accompagner avec ces thèmes de laboratoire. Le rêve est devenu pour nous une réalité. Nous vous en remercions sincèrement. Que Dieu vous assiste et vous donne une santé de fer pour vos activités et que vous continuiez de nous assister. Amen !

Aux Professeurs Victor S. GBAGUIDI, Docteur Macaire AGBOMAHENA de l'Ecole Doctorale Sciences de l'Ingénieur (ED-SDI), grand merci pour le souci permanent à orienter les étudiants qui se confient à vous, la sollicitude aux différentes préoccupations qu'ils vous présentent et l'engagement à trouver une issue à toutes leurs préoccupations. Que Dieu vous comble au-delà de vos attentes. Que vos progénitures bénéficient en abondance des retombées. Amen !

A la secrétaire Madame Nathalie AHOMADIKPOHOU, merci pour tous les efforts consentis à notre égard durant toute la formation jusqu'à la soutenance. Amen !

Au Docteur Aimé BONOU, les mots me manquent pour m'adresser à vous. C'est Dieu seul qui saura vous combler au centuple de vos bienfaits. Amen !

Au Professeur Séni KOUANDA, Président du Comité d’Ethique pour la Recherche en Santé au Burkina Faso (CERS) merci pour la sollicitude, l’écoute et la prompte réaction au moment difficile de notre démarche auprès de votre structure. Que Dieu vous comble au-delà de vos attentes. Amen !

A tous les membres du comité d’éthique, à madame la secrétaire du comité d’éthique, merci pour vos multiples engagements à nous aider à avoir nos autorisations pour la collecte des données de nos mémoires. Amen !

A Madame la Directrice du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS), au Docteur SAWADOGO Salam, Docteur SAWADOGO Abdoul-G, Docteur SAWADOGO Zakaria, à Monsieur Ambroise BONKOUNGOU, au major du centre de transfusion et à l’ensemble du personnel administratif et médical, toutes nos sincères reconnaissances pour nous avoir accepté, dans votre service. Merci pour l’engagement à nous accompagner à travers toutes les étapes qui ont émaillées notre étude. Amen !

A tous les donateurs bénévoles du CNTS qui nous ont fait confiance, qui ont accepté sacrifier de leur temps chaque fois que nous avons besoin d’eux, tous nos sincères remerciements. Que Dieu vous donne la force nécessaire, la santé pour rester fidèle à votre engagement à sauver des vies. Amen !

Au Professeur Martial ZOUNGRANA, Directeur National de l’Autorité nationale de Radioprotection et Sûreté Nucléaire (ARSN) et l’ensemble de son personnel grand merci pour le soutien, la disponibilité à nous accompagner dans notre étude. Amen !

A Monsieur Rasmané OUEDRAOGO Président Directeur Générale de I-médic et son personnel, les mots me manquent pour vous traduire toute ma reconnaissance. Merci pour votre engagement à nous accompagner tout au long de notre étude au Burkina. Amen !

A Monsieur Yannick MANTORO par qui nos échantillons ont pu franchir le Burkina pour la France, grand merci pour tous les efforts déployés depuis la 1^{ère} prise de contact jusqu’à l’envoi effectif de nos échantillons en France. Que Dieu te donne la force, la santé car nous aurons toujours besoin de toi. Amen !

Au Professeur Rabiou CISSE, chef de département de l’imagerie Médicale du centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO), au Professeur Ousseni DIALLO et tout le

Dosimétrie biologique cytogénétique : Analyse des aberrations chromosomiques instables
radio-induites dans les lymphocytes circulants des volontaires sains burkinabé

personnel : Radiologues, DES en radiologie, Manipulateurs d'Etat en Electroradiologie médicale (MEER), secrétaires, anesthésistes, garçons et filles de salle, merci pour vos soutiens multiformes durant cette formation. Que Dieu récompense chacun au centuple de ses bienfaits. Amen !

SOMMAIRE

Liste des enseignants de la formation de Master Radiobiologie-radioprotection	I
DEDICACE.....	II
REMERCIEMENTS	IV
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES ABREVIATIONS	XII
RESUME.....	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
CHAPITRE 2 : METHODOLOGIE	29
CHAPITRE 3 :	41
RESULTATS ET DISCUSSION	41
CONCLUSION, SUGGESTIONS ETPERSPECTIVES.....	55
CONCLUSION	56
SUGGESTIONS.....	57
PERSPECTIVES.....	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59
ANNEXES	64
ANNEXES 1	64
ANNEXES 2	67
ANNEXE 3	69

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure de la molécule d'ADN (Crik, 1982)	11
Figure 2 : Les différents niveaux de condensation de la chromatine aux chromosomes métaphasiques, fortement condensés (reproduit avec l'aimable autorisation de REACT/TS, États-Unis).....	12
Figure 3: Caractéristiques d'ionisation des rayonnements à faible TLE et à TLE élevé (A) et lésions de l'ADN radio-induites (B). (AIEA, 2013)	13
Figure 4: Chromosome au microscope optique.....	15
Figure 5 : Etalement métaphysique des dicentriques, fragments acentriques et anneaux centriques (Sorokine <i>et al.</i> , 2002).....	16
Figure 6 : Étalement en métaphase des translocations suite à une « peinture » chromosomique par FISH (AIEA, 2013).....	17
Figure 7: Etalement métaphasique comportant une insertion. La paire de chromosomes 1 est peinte en jaune et tous les autres chromosomes sont contre-colorés à l'iodure de propidium (AIEA, 2013).....	17
Figure 8: Aberrations chromosomiques comportant des micronoyaux suite à la technique Giemsa (A) et au marquage centromère/téломère (B) (M'Kacher <i>et al.</i> , 2014).....	18
Figure 9 : Principales aberrations chromosomiques de structure incluant un brin ou les brins d'ADN (SOROKINE <i>et al.</i> , 2000).....	18
Figure 10: Chronologie de la survenue des effets dans l'organisme humaine suite à une exposition aux R.I. (Dossou <i>et al.</i> , 2000).....	20
Figure 11: Étalement en métaphase illustrant la « peinture » chromosomique par FISH utilisée pour détecter les translocations. Les paires de chromosomes 1, 2 et 4 sont « peintes » en rouge et les paires de chromosomes 3, 5 et 6 sont « peintes » en vert. Une translocation réciproque a eu lieu sur les deux chromosomes bicolores (2 et 5), lesquels ont échangé des segments aux extrémités de leur bras long (reproduit avec l'aimable autorisation de MM. Ramsey et Tucker, LLNL, États-Unis).	22
Figure 12 : Etalement par la technique de coloration Multi FISH.....	23
Figure 13 : Chromosomes condensés par PCC et colorés par la technique du marquage en bandes C. Deux dicentriques (d) apparaissent (AIEA, 2013).....	24
Figure 14: PCC de chromosomes humains en phase G0 produite par fusion en mitose. Certains fragments sont repérés par des flèches (AIEA, 2013).....	24
Figure 15. Photomicrographies montrant les chromosomes humains 1 (rouge) et 2 (vert) peints par la méthode FISH sur des lymphocytes en interphase irradiés par des rayons gamma émis par une source de cobalt 60 et auxquels on a appliqué le test RICA (Pathak, 2009). On observe des cellules normales qui forment deux taches rouges et deux taches vertes (a et b), un chromosome 1 aberrant qui forme plus de deux taches rouges (c), un chromosome 2 aberrant ¹²¹ qui forme plus de deux taches vertes (d) et des cellules qui forment plus de deux taches vertes et deux taches rouges (e et f) (reproduit avec l'aimable autorisation de Pathak et Prasanna, AFRRI, États-Unis)......	24
Figure 16: Courbe dose-effet des dicentriques par cellule.....	48
Figure 17: Courbe dose-effet des rings/cell par cellule.....	49
Figure 18: Courbe dose-effet des rings+Dic/Cell.....	49
Figure 19 : Courbe dose-effet des DSB/Cell.....	50
Figure 20 : courbe dose-effet des Dic + Ring et de CBD /Cell (Soumboundou <i>et al.</i> , 2019).....	50
Figure 21 : courbe dose-effet des dic et Ring /cell (Soumboundou <i>et al.</i> , 2019).....	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: valeurs du facteur de pondération radiologique W_R	7
Tableau II : Valeurs des facteurs de pondération tissulaire.....	8
Tableau III : Parcours et moyens de protection des R.I.	8
Tableau IV : Système de réparation de quelques lésions de L'ADN	14
Tableau V: comparaison des effets déterministes et stochastiques	19
Tableau VI : Répartition des volontaires sains Burkinabé par sexe	42
Tableau VII: Répartition des volontaires sains par tranche d'âge.....	42
Tableau VIII : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 1 ^{er} volontaire sain Burkinabé (VSBF1).....	43
Tableau IX : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 2 ^{ème} volontaire sain Burkinabé (VSBF2).....	43
Tableau X : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 3 ^{ème} volontaire sain Burkinabé (VSBF3).....	44
Tableau XI : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 4 ^{ème} volontaire sain Burkinabé (VSBF4).....	44
Tableau XII : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 5 ^{ème} volontaire sain Burkinabé (VSBF5).....	45
Tableau XIII : Récapitulatif de la distribution des différentes aberrations observées chez les 5 volontaires sains et calcul des CDB	45
Tableau XIV: Comparaison de la distribution des aberrations chromosomiques à 0Gy (dose témoin) de notre étude par rapport aux travaux de quelques auteurs	46
Tableau XV: distribution de la fréquence des chromosomes dicentriques des travaux de quelques auteurs par rapport aux différentes doses d'irradiation....	47
Tableau XVI : Fréquence des aberrations chromosomiques et des CDB ayant servi à l'établissement des courbes dose- réponse : les dic, les rings, et les dic + rings	47

Tableau XVII : comparaison des valeurs des coefficients linéaires quadratiques (α , β , α/β) de la courbe dose-effet des dic/cell des travaux de quelques auteurs.48

Tableau XVIII: Analyse statistique de la distribution cellulaire des dicentriques par rapport aux différentes doses d'irradiations des 5 volontaires sains

Burkinabé. 46

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Adénine

ace (-/-) : Fragment acentrique sans télomère

ace (+/-) : Fragment acentrique avec 2 télomères

ace (+/+) : Fragment acentrique avec 4 télomères

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AIEA: Agence Internationale de l'Energie Atomique

C : Cytosine

CDB: cassure double brin

chr (+/-) : Chromosome présentant deux télomères

CIPR : Commission Internationale de Protection Radiologique

CSB: cassure simple brin

FISH : Hybridation fluorescence in situ

G : Guanine

G0: phase de repos

G1: intervalle présynthèse

G2: intervalle post synthèse

GBq: Giga Becquerel

Gy : Gray

mSv : Milli sievert

PNA : Peptide Nucléique Acide

R.E.M: Rayonnement Electromagnétique

RI: Rayonnement Ionisant

RNI: Rayonnement non Ionisant

S: phase de synthèse

T : Thymine

VSBF : Volontaire sain du Burkina Faso

RESUME

La dosimétrie biologique Cytogénétique est aujourd'hui considérée comme un outil de routine médico-légale pour évaluer les doses moyennes d'irradiation supposées ou avérée reçues par des individus. Elle consiste à dénombrer des aberrations chromosomiques présentes dans les lymphocytes circulants des personnes irradiées et les comparer à des courbes dose-effet de référence réalisée in vitro. Au Burkina Faso, cinq (05) catégories de sources de rayonnement selon la nomenclature de l'AIEA ont été décelées par l'Autorité National de Radioprotection et de Sureté Nucléaire (ARSN). L'objectif de cette étude a été de réaliser des courbes doses effet spécifiques pour la population Burkinabé à travers le dénombrement des aberrations chromosomiques instables radio-induites dans les lymphocytes circulants. Pour se faire, 5 volontaires Burkinabés supposés sains du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) ont été prélevés. Le sang a été recueilli dans des tubes à héparine de lithium. Il a été ensuite expédié en France pour irradiation à des doses de 0 à 4 Gy avec un irradiateur X-RAD320 à 1Gy/min en suite mis en culture pendant 48 heures. L'analyse cytogénétique a porté sur les lames après coloration des centromères et des télomères par des sondes PNA (Peptid Nucleic acid). Le dénombrement des aberrations a concerné 1373 métaphases de la première mitose. Les résultats ont montrés après le décompte, 100 dicentriques, 1 tricentrique, 130 fragments acentriques (avec 4, 2 ou pas de télomères), 21 anneaux centrique (rings) et acentrique et 270 Cassures Double Brins (CDB) calculées. Le résultat statistique a été obtenu par le calcul de U de Papworth afin de vérifier l'homogénéité de l'irradiation des échantillons. Il a montré que, comparativement aux travaux menés par certains auteurs, la fréquence des dicentriques augmentait considérablement avec la dose d'irradiation. A partir de l'équation linéaire quadratique, quatre (04) courbes dose-effet ont été réalisées. En somme ce travail a permis pour la première fois d'établir des courbes dose-effet pour la population Burkinabé à partir des volontaires supposés sains. Toutefois, il est important de consolider ces courbes avec plusieurs volontaires et de les valider après des irradiations in vitro. Ces courbes dose-effet sont un atout majeur pour le Burkina Faso. Par conséquent elles peuvent servir de courbe de références pour évaluer les doses moyennes d'irradiation en cas d'urgence radiologique, permettre d'apprécier la radiosensibilité des volontaires supposés sains voire de la population Burkinabé (un apport pour la radiothérapie). En outre, elles peuvent servir de courbe de calibrage pour l'implantation d'un laboratoire de dosimétrie biologique. La différence relative entre les courbes dose-effet obtenues et celle de la littérature témoigne des caractéristiques interindividuelles et régionales.

Mots clés : dosimétrie biologique, cytogénétique, aberrations chromosomiques, courbe dose-effet, Burkina-Faso.

ABSTRACT

The biological dosimetry Cytogenetics is considered today like a medico - legal routine tool to value the middle doses of irradiation either supposed established received by individuals. She/it consists in counting present chromosomal aberrations in the circulating lymphocytes of people radiated and to compare them to measure out - effect curves of reference achieved in vitro. To Burkina, five (05) categories of sources of radiance according to the nomenclature of the AIEA have been discovered by the National authority of Radioprotection and Nuclear Safety (ARSN). The objective of this survey was to achieve some curves doses effect specific for the Burkinabé population through the numbering of the aberrations chromosomal unsteady radio misled in the circulating lymphocytes. To make itself/themselves, 5 volunteers Burkinabés supposed healthy of the National Center of Blood Transfusion (CNTS) have been appropriated. Blood has been collected in tubes to heparin of lithium. He/it has been sent then in France for irradiation to doses of 0 in 4 Gies with an irradiateur X-RAD320 à 1Gy/min in continuation put in culture during 48 hours. The analysis cytogenetics was about the blades after coloration of the centromères and télomères by PNAS probes (Peptid Nucleic acid). The numbering of the aberrations concerned 1373 métaphases of the first mitosis. The results showed after the deduction, 100 dicentriques, 1 tricentrique, 130 fragments acentriques (with 4, 2 or not of télomères), 21 rings centrique (rings) and acentrique and 270 Breaks Duplicate Sprigs (CDB) calculated. The statistical result has been gotten by the calculation of U of Papworth in order to verify the homogeneity of the irradiation of the samples. He/it showed that, compared to works led by some authors, the frequency of the dicentriques increased considerably with the dose of irradiation. from the quadratic linear equation, four (04) measure out - effect curves has been achieved. In short this work permitted for the first time to establish the measure out - effect curves for the Burkinabé population from the volunteers supposed healthy. However, it is important to strengthen these curves with several volunteers and to validate them after in vitro irradiations. This measure out - effect curves is a major asset for Burkina. Therefore they can act as curve of references to value the middle doses of irradiation in radiological emergency case, to permit to appreciate the radiosensibilité of the volunteers supposed healthy or even of the Burkinabé population (a contribution for the radiotherapy). besides, they can act as curve of calibration for the implantation of a biologic dosimétrie laboratory. The relative difference between the gotten measure out - effect curves and the one of the literature reveals interpersonal and regional features.

Key words: biologic dosimétrie, cytogenetics, chromosomal aberrations, measure out - effect curve, Burkina - Faso,.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Nous vivons dans un bain de rayonnement d'origine diverse qui jadis était dominé par la source naturelle (Vianna, 2014). Il a fallu attendre l'année 1895 avec Wilhelm Conrad Roentgen (1845-1923) qui mis en évidence qu'une plaque photographique pouvait être impressionnée par des rayonnements traversant la matière pour que l'homme prenne conscience qu'il était réellement entouré de rayonnements invisibles. Il l'appela X (CEA, 2014). Une année après (en 1896) Henri Becquerel découvrit la radioactivité naturelle suivi en 1933 de la découverte de la radioactivité artificielle par les Joliot-Curie (Paoletti, 1960-1988 et 1990). A partir de ces instants, les chercheurs comprirent son intérêt particulièrement les médecins qui l'utilisèrent dans leurs recherches médicales : Ce fut le début de la radiologie (CEA, 2014). Cependant, les utilisateurs de ces rayonnements se rendirent compte que les rayonnements à forte dose n'étaient pas sans dangers sur la matière en témoigne la 1^{ère} expérience (involontaire) par Becquerel lorsqu'il découvrit le 13 avril 1896 de l'érythème sur son corps prenant l'aspect du tube se trouvant dans son gousset et où il avait mis quelques milligrammes d'uranium (Paoletti, 1960-1988 et 1990). Une 2^{ème} expérience (volontaire) fut reprise par Pierre Curie en 1901. Ces deux expériences marquèrent le début de la radiobiologie.

En 1902 le premier cas de cancer secondaire apparu sur une radiodermite professionnelle fut signalé (Clerc, 2019). Ainsi, par constatation de ces nuisances dues aux rayonnements ionisants, le premier congrès international de radiologie fut organisé en 1925 ; puis en 1928 (à Stockholm) où il fut créé le comité international de protection contre les rayons X et le radium (Paoletti, 1960-1988 et 1990 ; Clerc, 2019). Ce comité se transformera en 1950 pour devenir la Commission Internationale de Protection Radiologique (C. I. P. R.): ce fut la naissance de la radioprotection pour l'homme et l'environnement (Clerc, 2019). Malgré cette évolution nous sommes toujours victimes des effets pervers des rayonnements ionisants. En effet les rayonnements ionisants sont de plus en plus utilisés dans différents domaines telles que la médecine, l'industrie, l'agriculture, la recherche et l'armée augmentant ainsi le risque de surexposition des travailleurs et du public.

Si ailleurs on arrive aisément à avoir une idée sur le taux d'exposition annuelle moyenne de la population (4mSv/an en Belgique (Coequyt, 2005), 4,5 mSv/an en France dont 2,9 mSv/an dus aux sources naturelles et 1,6 mSv/an dus à l'exposition d'origine médicale (Djermil, 2015-16) en Afrique c'est le statu quo. Nos pays Africains qui ne sont pas du reste disposent pourtant de différentes sources artificielles de rayonnements ionisants. Mais peu d'études arrivent à nous révéler le taux d'exposition auquel nous sommes soumis, les types de dommages engendrés par leur utilisation et l'impact de ces effets sur la santé humaine.

Au Burkina Faso l'Autorité Nationale de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire (l'ARSN), est l'organe chargé de la régulation de la radioprotection. Elle a pour mission principale : la protection des personnes, des biens et de l'environnement tant pour les générations actuelles que pour les générations futures, des risques liés à l'utilisation des substances et matières nucléaires ainsi que des sources de rayonnements ionisants et non ionisants, conformément aux principes du développement durable « au titre 1, chapitre 1, article 1 de la LOI N° 032-2012/AN PORTANT SURETE, SECURITE NUCLEAIRES ET GARANTIES ». Selon ses inventaires et ses inspections annuelles menés, les cinq (5) catégories de sources de rayonnements ionisants selon la nomenclature de l'AIEA ont été décelées. Il s'agit :

Source de catégorie 1 : le césium 137, le cobalt 60 et américium 241

Source de catégorie 2 : l'iridium 192

Source de catégories 3 et 4 : les jauges à césium et les gamadensitomètrie

Source de catégorie 5 : paratonnerres, détecteur de fumée etc..

En plus le Burkina Faso en pleine évolution dans le domaine médicale précisément de l'imagerie médicale vient d'ouvrir son service de radiothérapie pour le traitement des cancers où il faut des doses assez fortes non plus des mSv (radiographie, scanner, médecine nucléaire) mais des Gray (Gy). Récemment et plus précisément le 23 octobre 2019 à Sotchi au sommet Russie-Afrique, le nucléaire civil a été au menu. Ce qui sous-entend que le Burkina Faso à l'instar des autres pays africains aspire un jour à l'énergie nucléaire. Toutes ces sources de rayonnements ionisants demandent des compétences pour l'évaluation des effets probables qui seraient liés à leur utilisation et surtout en cas d'accident.

Notre étude vient dans ce contexte en plus des études menées au Benin par Dossou (2000), en Algérie par Maalem (2016) et Messal (2018/2019) puis au Sénégal par Soumboundou (2019) pour au moins servir de faits tangibles dans la détection des aberrations chromosomiques instables radio-induites in vitro dans les lymphocytes circulants des donneurs volontaires sains Burkinabé. Elle nous permettra de réaliser des courbes dose-effet à partir de la fréquence des aberrations chromosomiques dénombrées. Lesquelles courbes vont nous permettre par la suite d'apprécier la radiosensibilité des volontaires saints Burkinabé aux R.I. voire de la population Burkinabé (un apport pour la radiothérapie au Burkina Faso). Elles peuvent en outre servir de courbe de référence pour la population Burkinabé en cas d'urgence radiologique : un projet d'étude qui pourra s'inscrire en étroite ligne avec celui élaboré par l'AIEA en vue de former les premiers intervenants en cas de situation d'urgence radiologique dans tous les pays membres de l'AIEA.

L'objectif général de l'étude était de réaliser des courbes dose-effet des volontaires supposés sains à partir du dénombrement des aberrations chromosomiques instables radio-induites in vitro à des doses de 0 – 0,5 – 1 – 2 – 4 Gy après marquage des télomères et centromères.

Les objectifs spécifiques (OS) ont été les suivants :

OS1 : Dénombrer les aberrations chromosomiques instables radio-induites telles que les dicentriques, les tricentriques, les anneaux ou rings, les fragments acentriques et les chromosomes anormaux et calculer les cassures doubles brins (CDB) ;

OS2 : Réaliser des courbes dose-effet des dicentriques, des rings, des dicentriques plus rings dénombrés par cellule et des cassures double brins calculées par cellule ;

OS3 : Analyser les courbes dose/effet réalisées par rapport à celle de la littérature.

Les questions de recherches (Q) suivantes ont été formulées afin de soutenir les objectifs spécifiques :

- Q1 : Le protocole de marquage centromères / télomères améliore-t-elle la détection des aberrations chromosomiques instables?
- Q2 : La fréquence des aberrations chromosomiques instables dénombrées influence-t-elle les courbes dose-effet réalisées?
- Q3 : Une différence existe-t-elle entre les courbes dose-effet construites par rapport à celle de la littérature ?

Le document est structuré en trois (03) chapitres en dehors de l'Introduction, de la Conclusion, des Suggestions et des Perspectives.

Le chapitre I aborde la synthèse bibliographique. Le chapitre II traite de la méthodologie et le chapitre III est consacré aux résultats et à leur discussion

CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Notion de radiobiologie

La radiobiologie est l'étude scientifique des actions des rayonnements (R.I.) sur les êtres vivants. Cette étude revêt une importance primordiale en ce sens qu'elle permet en pratique :

- D'assurer un comportement rationnel en matière de radioprotection tant individuelle, collective qu'environnementale.
- De comprendre et de prévoir les effets liés à l'utilisation de ces rayonnements ionisants.
- Enfin de suivre des traitements en cas d'irradiation (Vianna, 2014 ; <http://www.cnrtl.fr/definition/radiobiologie>, lu en octobre 2017)

Dans le but de fournir une mesure physique qui puisse être corrélée le mieux possible avec les effets de l'irradiation, des grandeurs dosimétriques ont été définies (ICRU, 2006).

1.1.1. Quelques grandeurs dosimétriques

➤ Dose absorbée (**D**)

Elle correspond à l'énergie cédée par le rayonnement incident par unité de masse en un point quand il traverse un milieu. Elle permet en outre de quantifier l'exposition aux rayonnements ionisants de tout système biologique ou matériau.

$$D = \frac{dE}{dm} \text{ en joule/kg (J/kg) ou joule.kg}^{-1} \text{ (J.kg}^{-1}\text{)}$$

dE est l'énergie cinétique de toutes les particules ionisantes (chargées ou non chargées). L'unité de dose absorbée est le gray (Gy). **1Gy = 1J / kilogramme**

➤ Débit de dose absorbée (**d**)

Il indique le temps qu'il a fallu pour délivrer une dose donnée. Le débit de dose est une grandeur considérable en radiobiologie. En effet pour une même dose délivrée à des débits de doses différents, la réponse biologique peut être différente (Vuillez, 2011/2012)

$$d = \frac{dD}{dT} \text{ en gray/seconde (Gy/s)}$$

➤ Dose équivalente (**H_{T,R}**)

Elle permet d'expliquer les effets biologiques des R.I. en tenant compte de la qualité du rayonnement ou pouvoir d'ionisation (TEL). Ainsi la dose équivalente dans un tissu ou organe **T**, irradié par un rayonnement **R**, est la dose absorbée moyenne **D_{T,R}**, dans ce tissu ou cet organe,

pondérée d'un facteur W_R pour la qualité du rayonnement (ICRP, 1991-2007 ; CE, 1996-1997) :

$$H_{T,R} = W_R D_T,$$

Dans le tableau I ont été présentés les différents facteurs de pondération radiologiques en fonction de chaque type de rayonnement.

Tableau I: valeurs du facteur de pondération radiologique W_R

Facteur de pondération	Qualité de rayonnement
$W_R = 1$	X ; γ et e- : toutes énergies
$W_R = 5$	Protons > 2MeV ; Neutrons < 10 keV et < 20 MeV
$W_R = 10$	Neutrons : 10 à 100 keV et de 2 à 20 MeV
$W_R = 20$	Alpha ; Neutrons : 100 keV à 2 MeV

Source : (Clerc, 1991)

➤ **Transfert linéique d'énergie (TEL)**

Il correspond à la quantité d'énergie cédée par un rayonnement lorsqu'il parcourt une distance dx et s'exprime en keV par micromètre ($\text{keV} \cdot \mu\text{m}^{-1}$):

$$\text{TEL} = - \frac{dE}{dx}$$

Le TEL détermine directement le parcours d'un rayonnement. Plus un rayonnement a un TLE élevé, plus il est ionisant, plus son parcours dans la matière est bref (Fleutot, 2015)

➤ **Dose efficace (H_e)**

En vue de tenir compte de la gravité de l'atteinte d'un organe (tissu) par les R.I., il a été attribué un facteur de pondération tissulaire W_T prenant en compte les radiosensibilités particulières des organes et les volumes (dimensions) des régions irradiées.

La dose efficace E (effective dose) correspond de ce fait à la somme des doses équivalentes H_T délivrées à tous les tissus/organes (T) du corps et des facteurs de pondération tissulaire W_T correspondants (Clerc, 1991).

$$E = \sum W_T H_T \text{ avec } H_T = W_R D_T \text{ alors } E = D \times W_R \times W_T$$

L'unité de dose efficace est le sievert (Sv), comme celle de dose équivalente.

Dans le tableau II ont été présentées les différentes valeurs des facteurs de pondération pour chaque tissu ou organe en fonction de leur radiosensibilité.

Tableau II : Valeurs des facteurs de pondération tissulaire

TISSU OU ORGANE	W_T	$\sum W_T$
Gonades	8	8
Moelle osseuse (rouge), colon, poumons, estomac, seins	12	60
Vessie, foie, œsophage, thyroïde	4	16
Peau, surface des os, cerveau, glandes salivaires	1	4
Autres tissus ou organes	12	12

Source : (Clerc, 1991)

Le tableau III a été résumé le parcours de chaque type de rayonnement et les différents moyens de protection

Tableau III : Parcours et moyens de protection des R.I.

Rayonnements	Air	Eau, Tissus	Moyen de protection
α	10 cm	Quelques μm	couche cornée de la peau ou feuille de papier
β	1 m	1 mm	feuille d'aluminium ou matériaux de faible poids atomique (le plexiglas)
Rx et R γ	>10 ou 100 m	10^{aine} cm	quelques mm de plomb pour les Rx et cm pour les R γ
Neutron	>10 ou 100 m	10^{aine} cm	arrêté par des écrans de paraffine

Source : (Çaoui, 2010-2011 ; Fleutot, 2015)

1.2. Interaction des rayonnements ionisants avec la matière

1.2.1. Action physico-chimique des R.I.

Les R.I. ont une efficacité importante pour créer des lésions sur toutes les structures cellulaires constituant la matière vivante directement et/ou indirectement. Dans le cas d'un rayonnement à faible TEL (rayon X et rayon gamma) environ 40% des lésions sont la conséquence directe de

dépôt d'énergie dans la matière biologique (effet direct) et 60% sont dues aux effets indirects de l'irradiation.

➤ **Effets directs des rayonnements**

Ils sont secondaires aux transferts directs de l'énergie du R.I sur les macromolécules provoquant ainsi de l'ionisation ou de l'excitation des composantes de la matière.

➤ **Effets indirects des rayonnements**

Ils correspondent aux effets secondaires des réactions physico- chimiques ayant lieu dans l'environnement proche des macromolécules (radiolyse de l'eau principalement). En effet l'eau représente environ 60 à 70% de la composition des tissus vivants humains (selon l'âge) et constitue de ce fait la cible initiale des rayonnements ionisants. L'irradiation de l'eau aboutit à la formation de radicaux libres de haute réactivité chimique à travers plusieurs étapes : à savoir

- ❖ Une étape initiale ou physique donnant lieu à l'excitation et à l'ionisation.
- ❖ Une étape pré-diffusionnelle où les molécules excitées et radicalaires donnent lieu à une chaîne de réactions.
- ❖ Une étape diffusionnelle où on a une recombinaison simultanée des produits de la radiolyse entre eux dans le milieu.
- ❖ Une étape chimique où les radicaux ainsi formés et hautement réactifs, peuvent modifier les liaisons chimiques et être responsables d'altérations moléculaires. Mais les conséquences biologiques de ces dommages moléculaires dépendent en partie du type de molécule, ou macromolécule, abîmé (protéines, lipides, l'eau, ADN).

Nous allons plus nous intéresser aux effets des R.I. à l'échelle cellulaire, moléculaire (ADN), et la radio-pathologie à l'échelle humaine.

1.2.2. Interactions des R.I. à l'échelle cellulaire

1.2.2.1. Quelques rappels sur la cellule humaine

La cellule est l'élément de base de tout être vivant (uni ou pluricellulaire); elle s'alimente, respire, se reproduit et meurt. Le cycle cellulaire décrit la vie d'une cellule. Classiquement il est constitué de deux phases principales:

- L'interphase où le matériel chromosomique (ADN et les protéines associées) se duplique. Cette période qui correspond à la phase synthétique (S) est précédée par un intervalle présynthèse (G1) suivi par un intervalle post-synthèse (G2) (AIEA, 2013).

- La mitose qui regroupe : la prophase, la métaphase, l'anaphase, et la télophase suivie de la cytotélerèse. Les cellules qui ne suivent pas le cycle cellulaire comme les lymphocytes restent bloquées en phase quiescente (G₀).
- ❖ Au microscope optique on retrouve dans une cellule les parties essentielles suivantes (<https://www.infirmier.com> : Ifsi-Biologie fondamentale-la cellule, parti 1, 14.10.2016, mise à jour le 22.10.16 vu le 15/01/2018)
- ❖ La membrane cytoplasmique en rapport avec le milieu extracellulaire
- ❖ Le cytoplasme présentant diverses inclusions ou organites
- ❖ Le noyau : Il est visible lorsque la cellule ne se divise pas (interphase). Il agit comme le centre de contrôle de la cellule à travers le matériel génétique qu'il contient sous forme d'ADN décondensé ou chromatine.

1.2.2.2. De l'ADN au chromosome

La molécule d'ADN a une structure en double hélice spiralée, complémentaire et antiparallèle (Watson et Crick, 1953). C'est un polymère localisé sur les chromosomes. Il est constitué comme suit:

- Des bases azotées (molécules planaires, aromatiques) dérivées de la purine et de la pyrimidine.
- Les bases puriques sont à l'origine de l'Adénine (A) et de la Guanine (G)
- Les bases pyrimidiques sont à l'origine de la Cytosine (C) et de la Thymine (T),
- De sucre (désoxyribose pour le cas de l'ADN)
- De phosphate (P).

L'association base azotée-sucre constitue un nucléoside et une liaison covalente relie la base au sucre.

L'association base-sucre-phosphate constitue un nucléotide et c'est la succession des nucléotides qui forme l'ADN.

Les bases des acides nucléiques s'apparient grâce à des liaisons H (hydrogène).

Sur la figure 1a été décrite la structure complète d'une molécule d'ADN en double hélice.

La molécule d'ADN

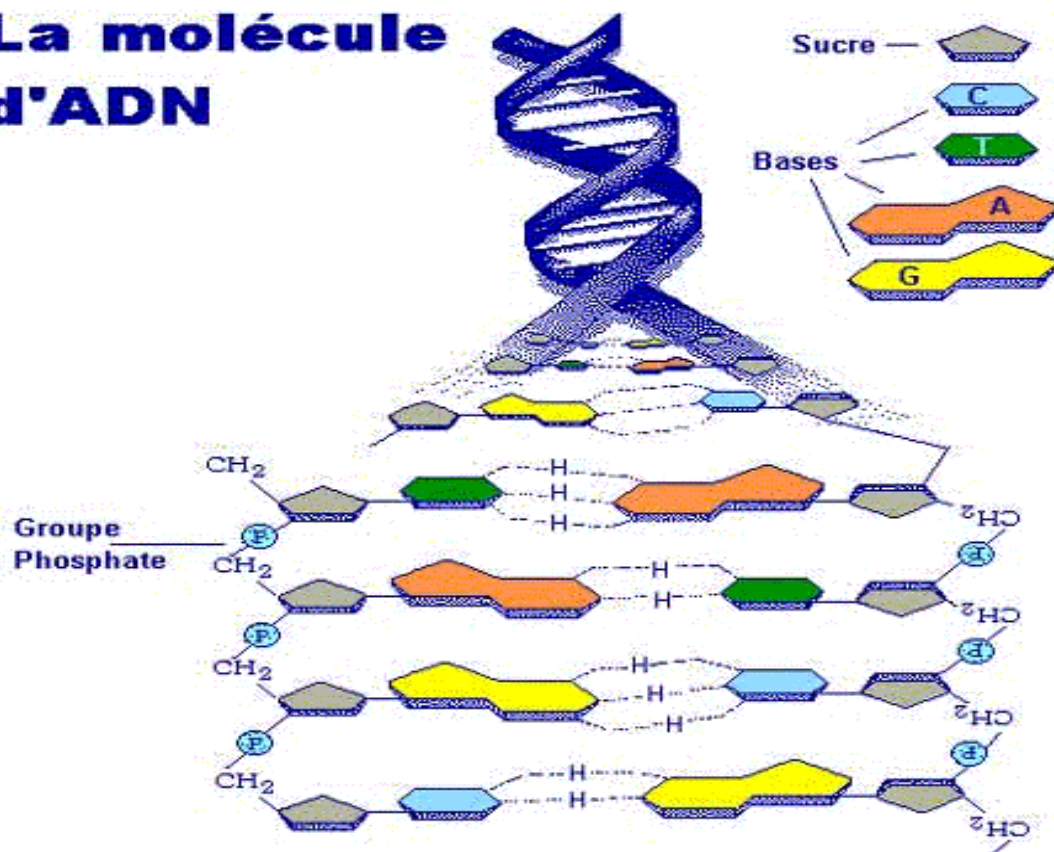


Figure 1 : Structure de la molécule d'ADN (Crik, 1982)

Dans le noyau d'une cellule humaine, les molécules d'ADN sont enroulées autour de protéines spécifiques appelées histones.

En dehors des périodes de mitose, l'enroulement est relativement lâche, on dit que l'ADN est décondensé.

L'association ADN-histone décondensé forme la chromatine diffuse du noyau : C'est le degré final de condensation qui conduit à la formation du chromosome.

Au début d'une division cellulaire, chaque chromosome visible est constitué de deux chromatides unies entre-elles au niveau d'une zone de constriction appelée centromère. Chaque chromatide est constituée d'une molécule d'ADN. Les télomères, qui terminent les bras ont la particularité d'empêcher les extrémités des bras de se "coller" à d'autres extrémités de bras.

Sur la figure 2 ont été représentés les différents niveaux de condensations de la molécule d'ADN de la chromatine au chromosomique métaphasique condensé.

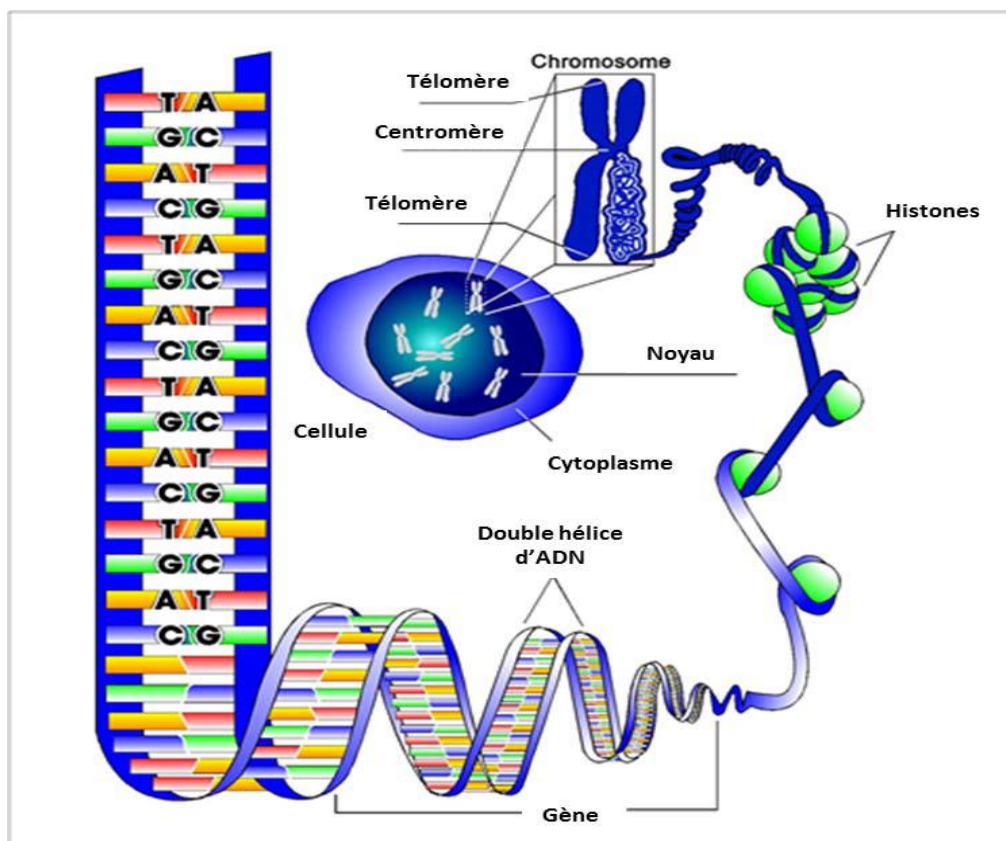


Figure 2 : Les différents niveaux de condensation de la chromatine aux chromosomes métaphasiques, fortement condensés (reproduit avec l'aimable autorisation de REACT/TS, États-Unis).

Les effets physico-chimiques des rayonnements ionisants, évoqués plus haut s'exercent sur l'ensemble des constituants de la cellule.

Les lésions cytoplasmiques : Elles sont à l'origine d'une déstabilisation de l'architecture cellulaire, par altération du cytosquelette. En fait elles pourraient avoir un rôle qui reste à préciser dans la dénaturation de molécules impliquées dans la communication entre cellules et les effets non ciblés.

Les lésions membranaires : les plus importantes seraient la peroxydation des acides gras. Elles peuvent conduire à des altérations des structures membranaires, des pontages lipides-protéines, en association avec des lésions des protéines.

La conséquence est la dégradation des récepteurs membranaires, des systèmes de transport et flux ioniques.

Les lésions du noyau : Le noyau, à travers le matériel génétique qu'il contient (ADN) sous forme décondensé ou chromatine, agit comme le centre de contrôle de la cellule (<https://www.infirmier.com>, Ifsi-biologie fondamentale-la cellule, parti 1, 14.10.2016, mise à jour le 22.10.16, consulté le 15/01/2018). L'action physico-chimique des R.I. sur le noyau se répercute

plus sur la molécule d'ADN en tant que vecteur des propriétés génétiques et métaboliques de la cellule. L'ADN devient de ce fait la cible critique des R.I

1.2.3. Effets des R.I. à l'échelle moléculaire : la molécule d'ADN

1.2.3.1. Lésions radio-induites

Selon le point d'impact sur la molécule d'ADN, les R.I. sont susceptibles de produire par effet direct ou indirect, multiples lésions: cassures simple brin (CSB), cassures double brin (CDB), lésions des bases (LB), lésion des sucres (LS), pontage ADN-ADN (PAA), pontages ADN-protéine (PAP), les sites abasiques (SA) etc. (Figure 3). Mais les CDB sont les plus caractéristiques du fait de leur faible niveau de réparation (Sorokine-Durm et al., 2002 ; Sari-Minodier et al., 2006). Elles constituent de ce fait la source efficace de production des effets biologiques ((Sari-Minodier et al., 2006). En effet une seule lésion double brin non ou mal réparée de la molécule d'ADN peut donner lieu soit à une mort cellulaire par apoptose (effets déterministes) soit être à l'origine d'une mutation susceptible d'initier le processus long et complexe de cancérogenèse (effets stochastiques) (Sari-Minodier et al., 2006).

Sur la figure 3 ont été illustrées les différentes lésions radio-induites sur la molécule d'ADN selon que le Tel du R.I. est faible ou élevé.

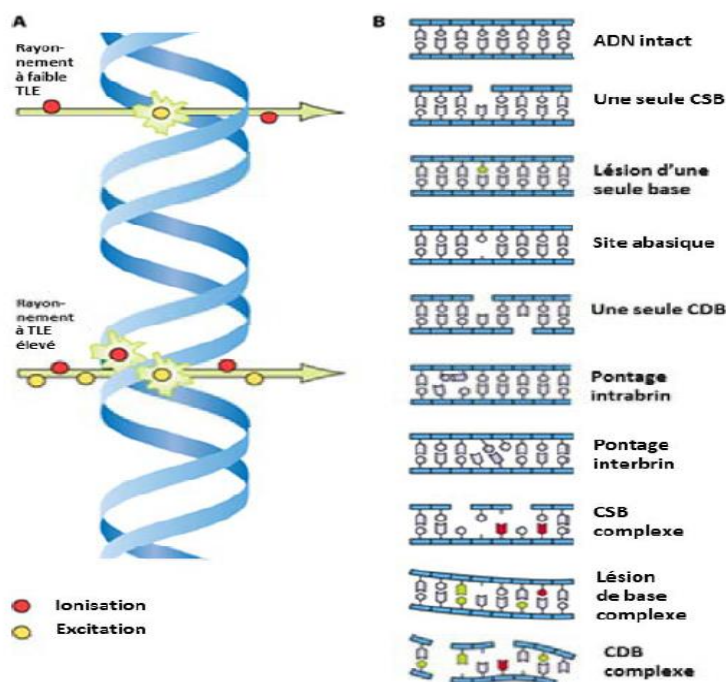


Figure 3: Caractéristiques d'ionisation des rayonnements à faible TLE et à TLE élevé (A) et lésions de l'ADN radio-induites (B). (AIEA, 2013)

1.2.3.2. Mécanismes de réparation

Des mécanismes de réparation efficaces sont apparus dès les premières espèces vivantes en raison de l'importance de l'intégrité du message génomique et de la fréquence des dommages induits au génome (agressions provenant du métabolisme endogène et de l'environnement etc.). La plus part de ces systèmes de réparation ont été bien conservés au cours de l'évolution et entre espèce, mais à des niveaux d'expressions variables (Friedberg *et al*, 2006).

Selon le type de dommage de l'ADN, il existe différentes voies de réparation. Globalement, la première étape consiste en la reconnaissance du dommage par les protéines détectrices (sensors). Ce qui va permettre le recrutement de protéines médiatrices (mediators) et transductrices (transducers) permettant la signalisation du dommage et l'activation des protéines effectrices (effectors) adaptées à la réparation du dommage détecté (Dossou *et al*, 2000 ; Biau *et al.*, 2016).

Dans le tableau VI ont été résumées les différentes voies de réparations en fonction des types de lésions créées sur la molécule d'ADN.

Tableau IV : Système de réparation de quelques lésions de l'ADN

Systèmes de réparation	Les types de lésions d'ADN
Réparation par excision de base (BER)	Les lésions de bases (LB), les sites abasiques (SA) et les cassures simple brins (CSB)
Réparation par excision de nucléotides (NER)	
Réparation des cassures simple brin (SSBR)	
Réparation par excision de nucléotides (NER)	Pontage ADN-Protéines (PAP)
Réparation par recombinaison homologue (HRR)	
Réparation par recombinaison homologue (HRR)	
Réligation non homologue (NHEJ)	Cassures double brins (CDB)

Source : (AIEA, 2013)

1.2.3.3. Formation des aberrations chromosomiques

En rappel, les R.I. sont des agents clastogènes indépendamment de la phase de la synthèse (S) de la mitose contrairement aux mutagènes chimiques et aux rayons ultraviolets (UV), qui eux en dépendent fortement (AIEA, 2013).

La population de lymphocytes périphériques stimulée par les mitogènes ne suit pas normalement le cycle cellulaire et se trouve au stade G0 de la division cellulaire. Par conséquent les aberrations radio induites sont de type chromosomique c'est-à-dire qu'elles concernent les deux chromatides d'un chromosome (AIEA, 2013). Ainsi toutes les aberrations induites par les RI seront de type chromosomique quand la cellule se trouve en G0 ou G1 et chromatidique quand la cellule se trouve en G2 ou S.

En revanche, les substances chimiques et les rayons Ultraviolets (UV) induiront d'emblée des aberrations chromatidiques à toutes les étapes du cycle cellulaire (AIEA, 2013).

La réparation d'une lésion radio induite aboutie la plus part du temps à un bilan lésionnel nul si elle est fidèle.

Par contre les lésions non réparées peuvent conduire à une mort mitotique de la cellule, à une instabilité génomique ou au cancer.

Les réparations infidèles ou fautives quant à elles peuvent se traduire soit par des modifications morphologiques intra chromosomiques soit par des échanges de matériel génétique entre différents chromosomes ou échange inter chromosomique (Sorokine, 2002).

La conséquence de ces réparations imparfaites est l'obtention de chromosomes de morphologie anormale : on parle d'anomalies chromosomiques de structurales ou encore des aberrations chromosomiques (Crik, 1982 ; Sorokine, 2002).

Sur la figure 4 ont été illustrés les différentes parties d'un chromosome observé au microscope optique.

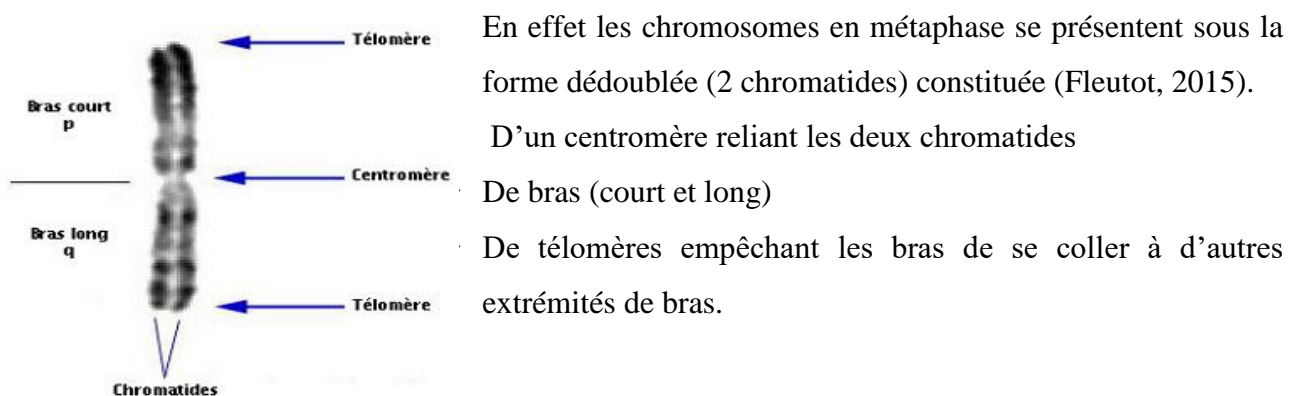


Figure 4: Chromosome au microscope optique

Si la réparation fautive des dommages à l'ADN inclut un seul chromosome, on obtient soit la production d'une paire de fragments soit la formation d'un anneau centrique accompagné de sa paire de fragments (Sorokine *et al.*, 2002)

Si par contre la réparation fautive inclut deux chromosomes différents, on peut s'attendre à la création des aberrations chromosomiques de types instables et stables (Fleutot *et al.*, 2015 ; Sorokine *et al.*, 2002).

➤ **Les aberrations chromosomiques instables**

- ❖ **Les dicentriques** : C'est un échange entre les parties centromerique de deux chromosomes cassés. Dans sa forme complète, le dicentrique est accompagné d'un fragment acentrique constitué des parties acentriques des chromosomes originaux. Sa présence spontanée dans une population normale est de 1 pour 1300 cellules (Dossou *et al.*, 2000 ; Tawn, 1987). Mais ce taux augmente avec la dose faisant aujourd'hui des dicentriques un outil de choix dans la biodosimétrie des irradiations récentes ((AIEA, 2013 ; Sorokine-Durm *et al.*, 2000).
- ❖ **Les anneaux centriques** : C'est le résultat d'un échange survenu à la suite de deux cassures sur des bras distincts du même chromosome et est également accompagné d'un fragment acentrique. Ils sont beaucoup plus rares que les dicentriques (AIEA, 2013).
- ❖ **Les fragments acentriques** : Généralement appelés fragments excédentaires. Il peut s'agir de délétions terminales ou interstitielles de taille variable (AIEA, 2013).

Sur la figure 5 a été illustré le résultat d'un dénombrement métaphasique où l'on peut distinguer les différentes aberrations chromosomiques instables énumérées ci-haut.

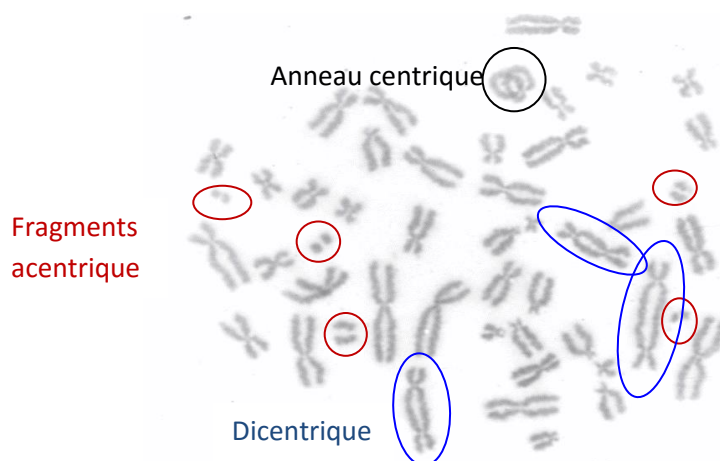


Figure 5 : Etallement métaphysique des dicentriques, fragments acentriques et anneaux centriques (Sorokine *et al.*, 2002)

➤ **Les aberrations chromosomiques stables**

- ❖ **Les translocations réciproques** : C'est un échange des parties terminales entre deux chromosomes distincts. Avec la méthode FISH ils apparaissent sous forme de chromosomes non centriques bicolores (AIEA, 2013).
- ❖ **Translocations non réciproques** : On parlera de chromosome non réciproque lorsqu'on n'observe qu'un seul chromosome bicolore (AIEA, 2013).

❖ **Translocations interstitielles** (insertion) : c'est une aberration qui se forme lorsqu'une partie acentrique d'un chromosome s'insère dans le bras d'un autre chromosome. Ce dernier apparaît bicolore (AIEA, 2013).

Sur les figures 6 et 7 a été illustré le dénombrement des aberrations stables évoquées ci-haut en métaphase (translocation, et insertion) par la technique FISH et multi FISH.

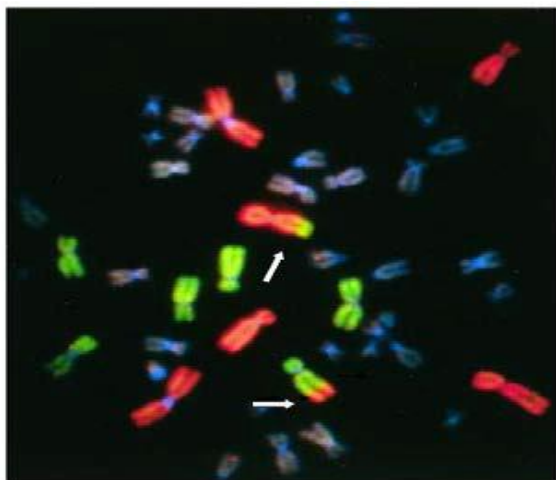


Figure 6 : Étalement en métaphase des translocations suite à une « peinture » chromosomique par FISH (AIEA, 2013)

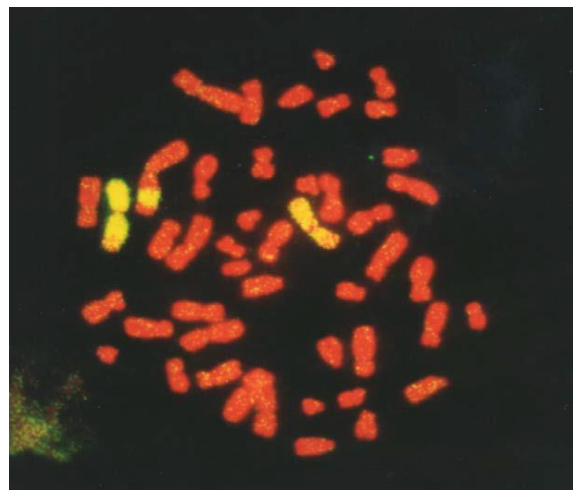


Figure 7: Étalement métaphasique comportant une insertion. La paire de chromosomes 1 est peinte en jaune et tous les autres chromosomes sont contre-colorés à l'iodure de propidium (AIEA, 2013)

Le centromère qui est la zone de constriction unissant les deux chromatides, est vital pour la cellule. Grâce aux centromères la cellule arrive à assurer une bonne répartition du matériel génétique pendant la mitose et la méiose.

Un chromosome qui perd son centromère sous l'action des R.I. devient un chromosome aberrant par conséquent ne pourra plus migrer correctement vers les pôles de la cellule. Il restera alors dans le noyau et pourra éventuellement former des micronoyaux c'est-à-dire des morceaux de chromosomes exclus de la cellule et qui apparaissent en fin de mitose (Savage, 1975).

Les micronoyaux sont aussi observables en métaphase par certains procédés cytogénétiques (Roy, 1999 ; Sorokine-Durm *et al.*, 2002). Sur la figure 8 A ont été illustrés les micronoyaux selon la technique Giemsa tandis que sur la figure 8 B ont été illustrés ces mêmes micronoyaux selon la technique de marquage des télomères et des centromères.

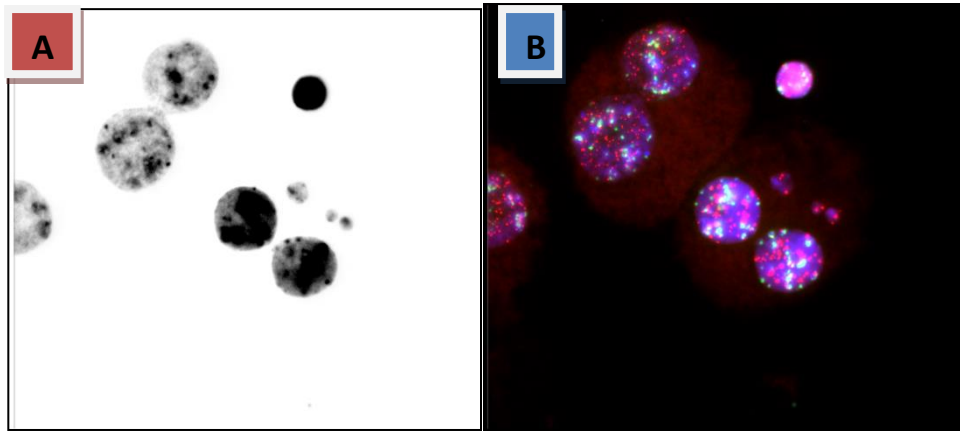


Figure 8: Aberrations chromosomiques comportant des micronoyaux suite à la technique Giemsa (A) et au marquage centromère/téломère (B) (M’Kacher *et al.*, 2014)

Sur la figure 9 ont été illustrées les différentes aberrations chromosomiques de structures (instables et stables) suivant l’impact des rayonnements sur un ou deux des brins d’ADN.

Domage subi par l’ADN								
Aberrations chromosomiques								
Noms	Restauration	Fragment	Anneau centrique	Inversion	Dicentrique	Translocation réciproque	Translocation terminale	Insertion

Figure 9 : Principales aberrations chromosomiques de structure incluant un brin ou les brins d’ADN (SOROKINE *et al.*, 2000)

1.2.4. Les effets des R.I. sur l’organisme ou la radio-pathologie

Les effets des R.I. sur l’organisme sont reconnus essentiellement à travers des d’observations telles que : Hiroshima et Nagasaki, des accidents (nucléaires ou radiologiques), l’expérimentation animale.

Ils peuvent être effets regroupés en deux rubriques :

- Effets « obligatoire » ou déterministes
- Effets « aléatoires » ou stochastiques

Dans le tableau ci-dessous ont été résumés les aspects permettant de caractériser les effets déterministes et stochastiques

Tableau V: comparaison des effets déterministes et stochastiques

Effets déterministes	Effets stochastiques
Cause : destruction massive des cellules	Cause : lésions non réparées de l'ADN
Obligatoires (ils apparaissent toujours)	Aléatoire
Pathologies diverses	Cancer et effets génétiques
Dose seuil d'apparition : 0,2 - 0,3Gy	Pas de dose d'apparition
Manifestation précoce	Manifestation tardive
Gravité dépendante de la dose	Gravité indépendante de la dose
Réversibles	Irréversibles
Clairement décrits	Non spécifique
Irradiation globale# localisée	Pas de différence entre irradiation globale et localisée
Syndrome d'irradiation aigu : Brulures radiologiques Cataracte Grossesse Stérilité	Cancers radio-induits : mutation sur cellule somatique Effets génétiques : mutation sur cellule germinale

Sur la figure 10 a été illustrée la chronologie de la survenue des effets dans l'organisme humaine suite à une exposition aux R.I

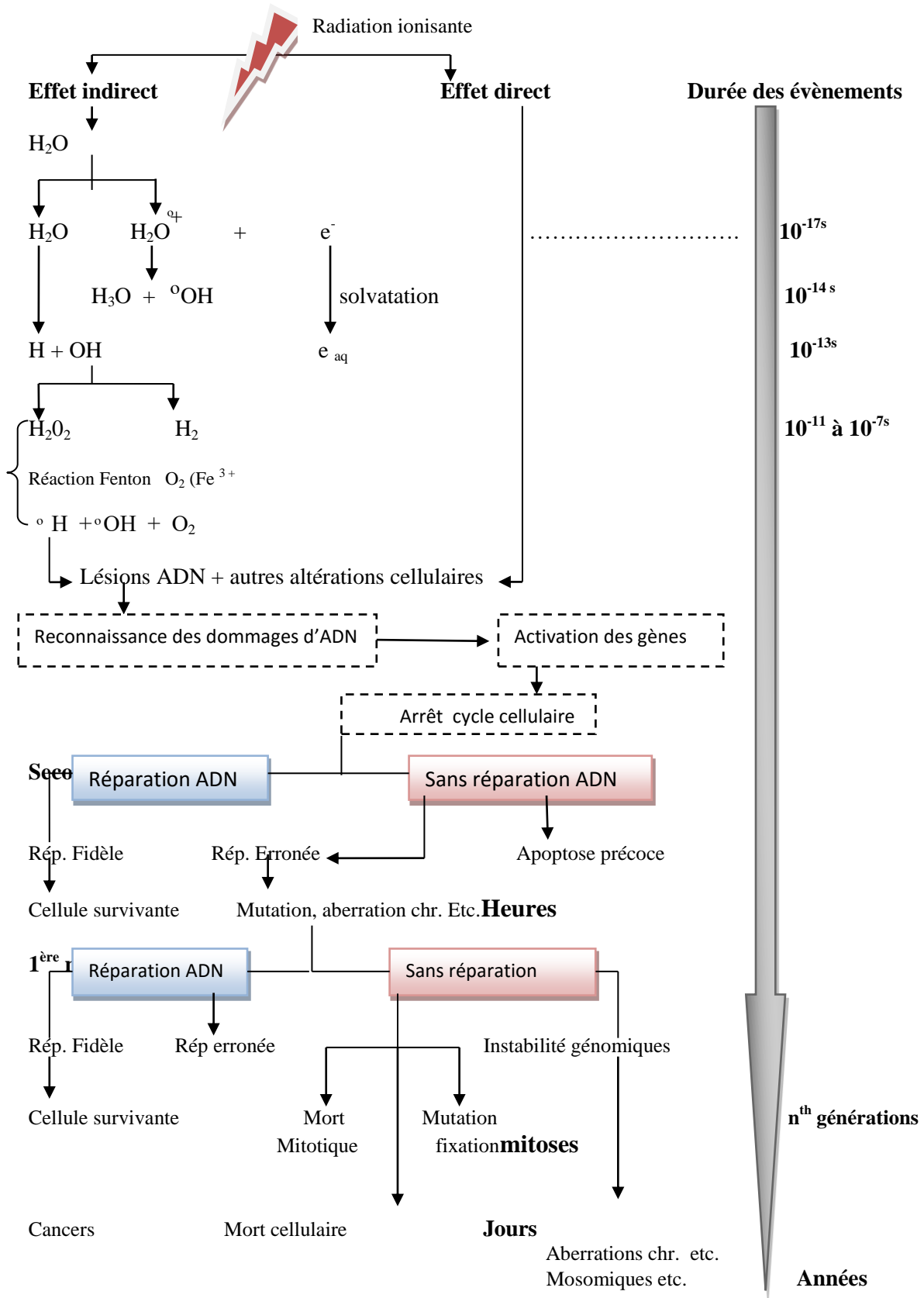


Figure 10: Chronologie de la survenue des effets dans l'organisme humaine suite à une exposition aux R.I. (Dossou *et al.*, 2000)

1.3. Notion de dosimétrie biologique

La dosimétrie biologique a vu le jour dans le but d'évaluer le risque associé au R.I. et avec précision la dose moyenne reçue en cas de suspicion d'irradiation naturelle, professionnelle ou accidentelle. Elle vient en complément au diagnostic clinique et à la dosimétrie physique (IRSN, 2006 ; Maalem *et al.*, 2016)).

1.3.1. Principe de la dosimétrie biologique

Son principe consiste à observer et à dénombrer les aberrations chromosomiques présentes dans les lymphocytes du sang périphérique des personnes irradiées en fonction du temps écoulé depuis l'irradiation. Ces aberrations seront ensuite comparées à des courbes dose-effet de référence construites in vitro à des doses d'irradiations croissantes. Cela est rendu possible du fait de la forte corrélation entre les taux d'aberrations chromosomiques produits dans les lymphocytes pour des irradiations in vitro et in vivo à une même dose (Dossou *et al.*, 2000).

Pour les irradiations récentes, la détection des aberrations de types instables (dicentriques, anneaux centrique ou ring) est considérée comme la méthode la plus sensible et la plus spécifique car à l'état naturel (cellule non irradiée) leur taux est de l'ordre de 1 pour 1300 cellules analysées (Dossou *et al.*, 2000 ; Tawn 1987).

Par contre les aberrations chromosomiques dites stables (translocations réciproques et terminales) qui semblent persistées plusieurs années après l'exposition sont utilisées pour estimer les doses d'irradiation ancienne ou assez lointaine (Sorokine-durm *et al.*, 2002 ; AIEA, 2013). Plusieurs procédés cytogénétiques sont utilisés aujourd'hui en dosimétrie biologique pour observer les aberrations chromosomiques radio-induites.

1.3.2. Différentes techniques cytogénétiques en dosimétrie biologique

1.3.2.1. Technique conventionnelle ou le Giemsa

C'est un procédé de la dosimétrie biologique utilisant le chromosome classique, l'analyse des aberrations dans les lymphocytes du sang périphérique en coloration uniforme. Il a montré sa fiabilité et son utilité dans la gestion médicale de victimes des accidents liés au R.I. (Bender *et al.*, 1988 ; Dolphin *et al.*, 1973 ; Sasaki *et al.*, 1968).

Sur les figures 11 et 12 ont été illustrées respectivement les aberrations chromosomiques suivant la coloration uniforme et suivant la technique Giemsa

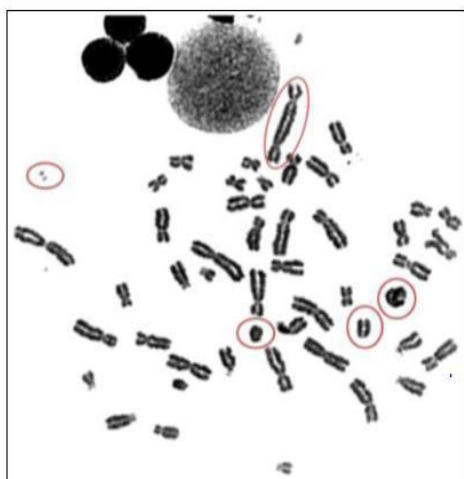


Figure 11: Métaphase en coloration uniforme montrant les aberrations chromosomiques (M’Kacher *et al.*, 2014)

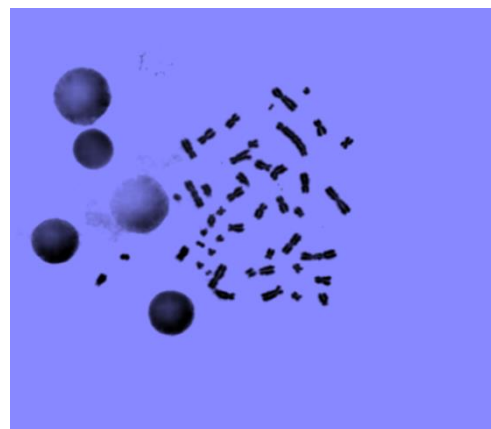


Figure 12: Étalement métaphysique par la coloration **au GIMSA** (M’kacher *et al.*, 2014)

1.3.2.2. Hybridation Fluorescente In Situ (FISH)

C’est une technique cytogénétique qui a permis aussi la détection rapide des chromosomes dicentriques et des translocations en même temps, en utilisant des sondes spécifiques de ces chromosomes (Lucas *et al.*, 1989). Mais elle est limitée quand il s’agit de détecter les aberrations impliquant un ou plusieurs changements chromosomiques, les échanges concernant des fragments de longueurs inférieures à la limite de la résolution de la technique ou échanges incomplets (Kodama *et al.*, 1997 ; Knerhr *et al.*, 1998 ; Fomina *et al.*, 2000). Sur la figure 11 ont été illustrées les aberrations suivant la technique FISH.

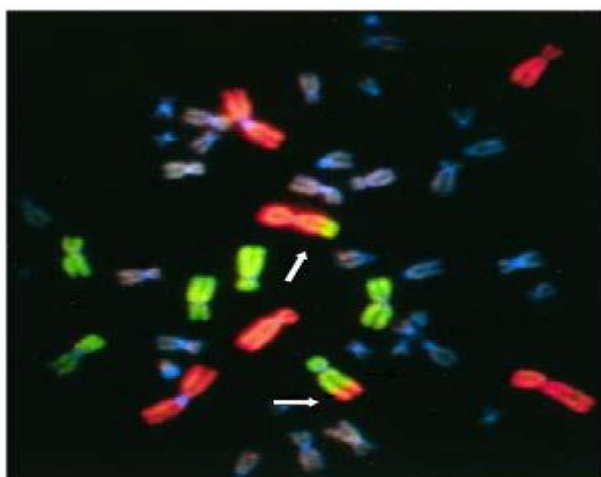


Figure 11: Étalement en métaphase illustrant la « peinture » chromosomique par FISH utilisée pour détecter les translocations. Les paires de chromosomes 1, 2 et 4 sont « peintes » en rouge et les paires de chromosomes 3, 5 et 6 sont « peintes » en vert. Une translocation réciproque a eu lieu sur les deux chromosomes bicolores (2 et 5), lesquels ont échangé des segments aux extrémités de leur bras long (reproduit avec l’aimable autorisation de MM. Ramsey et Tucker, LLNL, États-Unis).

1.3.2.3. Technique Multi FISH (Multifluorochrome FISH)

C'est une technique qui vient en complément à la technique FISH. La technique Multi FISH a la capacité de détecter les aberrations plus complexes par la coloration des paires chromosomiques avec des fluorochromes différents (Speicher *et al.*, 1996 ; Anderson *et al.*, 2003 ; Wu *et al.*, 2003). Sur la figure ci-dessous a été illustré un étalement des chromosomiques par la technique Multi FISH.

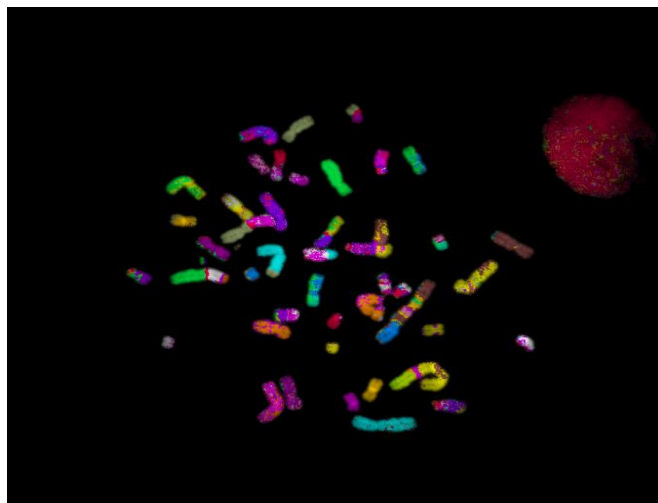


Figure 12 : Etalement par la technique de coloration Multi FISH

1.3.2.4. Condensation prématurée des chromosomes (PCC)

La technique de la Condensation Prématurée des Chromosomes (PCC) a permis de parer aux inconvénients souvent liés au retard et à la mort des cellules radio-induits qui ont lieu durant les deux jours de cultures surtout quand la dose reçue est élevée. Ce qui peut entraîner un notable sous-évaluation de cette dose. Pour ce faire c'est avant la première mitose qu'elle a eu lieu (AIEA, 2013).

➤ PCC par fusion en mitose

C'est une PCC qui en fusionnant des lymphocytes humains avec des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) en mitose en présence d'un agent de fusion, le polyéthylène glycol (PEG), permet de compter les aberrations chromosomiques tout de suite après une irradiation sans avoir besoin d'une stimulation mitogénique ni d'une mise en culture (AIEA, 2013). Sur les figures 13 et 14 ont été illustrées les aberrations chromosomiques par la technique de PCC par fusion en mitose.

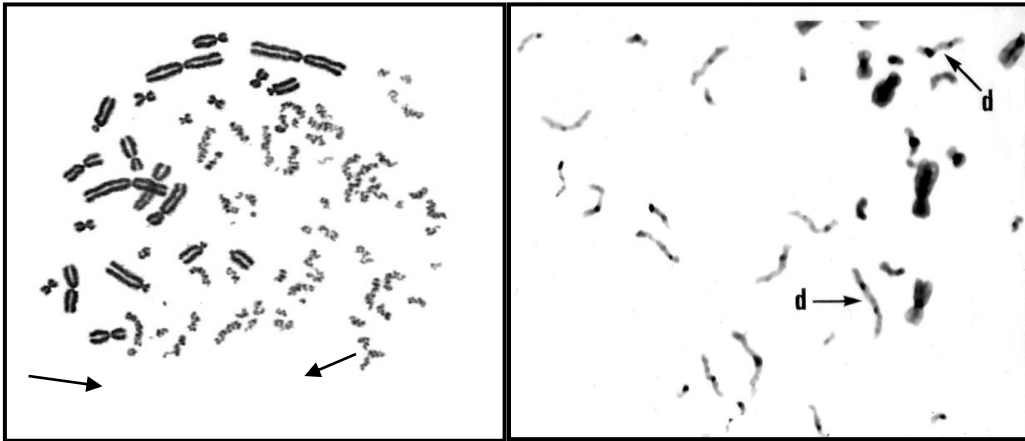


Figure 14: PCC de chromosomes humains en phase G0 produite par fusion en mitose. Certains fragments sont repérés par des flèches (AIEA, 2013)

Figure 13 : Chromosomes condensés par PCC et colorés par la technique du marquage en bandes C. Deux dicentriques (d) apparaissent (AIEA, 2013)

➤ **PCC chimio-induit : Test rapide sur des chromosomes inter phasiques (RICA)**

Ce test permet lui aussi de se dispenser d'une longue culture de cellules. Les lésions radio-induites sont alors analysées au microscope à fluorescence après hybridation *in situ* et peinture chromosomique. Sur la figure 15 ont été illustrées les aberrations par la technique de PCC chimio-induit.

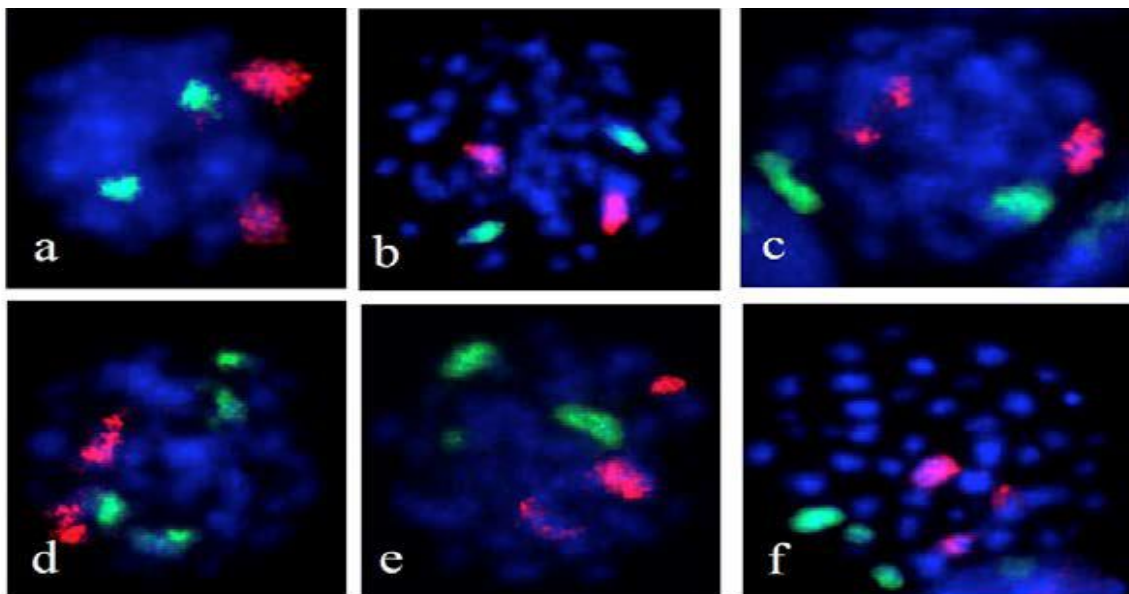


Figure 15. Photomicrographies montrant les chromosomes humains 1 (rouge) et 2 (vert) peints par la méthode FISH sur des lymphocytes en interphase irradiés par des rayons gamma émis par une source de cobalt 60 et auxquels on a appliqué le test RICA (Pathak, 2009). On observe des cellules normales qui forment deux taches rouges et deux taches vertes (a et b), un chromosome 1 aberrant qui forme plus de deux taches rouges (c), un chromosome 2 aberrant ^[2] qui forme plus de deux taches vertes (d) et des cellules qui forment plus de deux taches vertes et deux taches rouges (e et f) (reproduit avec l'aimable autorisation de Pathak et Prasanna, AFRRRI, États-Unis).

1.3.2.5. Protocole de marquage des télomères et des centromères par les sondes PNA

Le protocole de marquage des télomères et des centromères, fait partie des nouvelles procédures d'hybridation in situ de fluorescence quantitative développées utilisant l'acide nucléique peptidique marqué (C3TA2) 3 et la microscopie d'imagerie numérique, afin d'étudier la répétition des télomères au niveau des chromosomes individuels (Peter *et al.*, 1996).

Le protocole de marquage des télomères et des centromères apporte plus de détail et de précision dans la nomenclature des aberrations chromosomiques détectées. Sur la figure 18 a été illustrée la détection des aberrations chromosomiques suivant la technique conventionnelle (A) et la technique de marquage centromères/télomères.

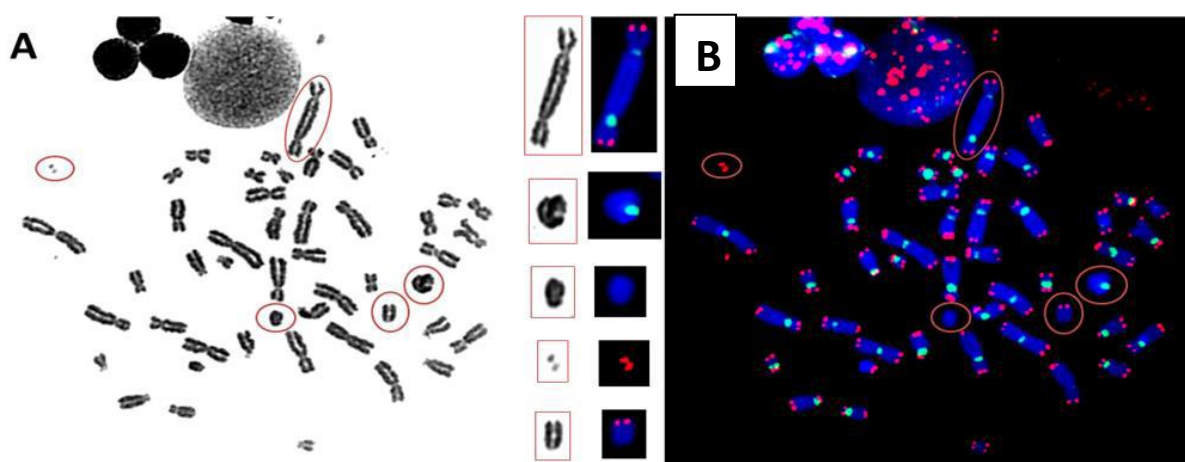


Figure 18 : Détection des aberrations chromosomiques suivant la méthode conventionnelle (A) et la technique de marquage centromère/télomère (B). (M'KACHER *et al.*, 2014)

De part les deux méthodes présentées ci-dessus, on remarque que le marquage centromère/télomère apporte plus de détail et de précision dans la nomenclature des aberrations chromosomiques détectées. Par contre La méthode conventionnelle semble plus être basée sur les critères morphologiques. Par conséquent l'évaluation des chromosomes dicentriques sera d'autant plus difficile.

1.3.3. Apport de la dosimétrie biologique en cas d'urgence radiologique

Dans la prise en charge des personnes lors d'une exposition accidentelle ou malveillante, on peut faire recours à différentes approches complémentaires afin d'améliorer la précision, l'efficacité du tri et assoir une stratégie thérapeutique appropriée (Alexander, 2006 et Clairant *et al.*, 2007).

1.3.3.1. Dosimétrie clinique

Elle est basée sur la symptomatologie qui constitue les effets déterministes des personnes irradiées. Ces symptômes apparaissent le plus souvent en fonction de la radiosensibilité des tissus concernés et du débit de dose ou dose seuil (Tubiana, 2005).

Pour une irradiation forte, à fort débit, on distingue selon les descriptions habituelles quatre (4) phases :

- ❖ **Phase initiale ou prodromique** : Elle se développe quelques heures après l'irradiation et se manifeste le plus souvent par une fatigue associée à des troubles de sommeil, une diarrhée, nausée, vomissement, anorexie, érythème (IRSN, 2002)
- ❖ **Phase de latence ou de rémission clinique** : Elle est marquée par une atténuation des signes cliniques voire une disparition pour des doses $<$ à 10 Gy et est escamotée pour des doses $>$ à 10 ou 15 Gy. On doit bien comprendre qu'à ce stade, les lésions cellulaires sont constituées, que les compartiments souches sont atteints, mais que le délai nécessaire à une expression clinique n'est pas encore écoulé (IRSN, 2002). Cette phase, de façon globale, est d'autant plus tardive, courte et de mauvaise qualité que l'irradiation a été importante (Tubiana, 2005).
- ❖ **Phase d'état ou critique** : encore appelé "mal des rayons" (ancienne appellation), son délai d'apparition et sa forme clinique sont étroitement liés aux radiosensibilités et aux temps de transit cellulaires des différents tissus irradiés (essentiellement les tissus comportementaux).

Selon que l'irradiation soit partielle ou globale du corps, la phase d'état d'une irradiation aiguë se divise en trois syndromes :

Un syndrome hématopoïétique : Il apparaît pour une dose $>$ à 1Gy et se caractérise par de dépression des globules blancs, des plaquettes et des globules rouges. A environ 3 grays il entraîne la mort chez 50% des individus exposés.

Un syndrome gastro-intestinal : Il apparaît en 2 à 6 jours pour une dose $>$ à 6 grays. Il s'exprime par une atteinte de la flore intestinale causant la plupart du temps une infection avec une baisse de la défense immunologique chez l'individu. Les manifestations sont celles qu'on imagine sur un intestin dont la muqueuse a été décapée : Anorexie, diarrhées, infections à porte d'entrée digestive, déshydratation, pertes hydro-électrolytiques, hémorragies digestives, invaginations, occlusions, perforations (NUREG, 1997 et UNSCEAR, 1988).

Un syndrome neuro-vasculaire : Il apparaît pour une dose au-delà de 10-15 gray. Il se caractérise par de troubles de l'activité motrice, signes méningés, altérations sensorielles précédant un coma profond. La mort survient dans un délai qui peut être de l'ordre de 48

heures à une semaine. Ce syndrome est au-delà de tout recours thérapeutique (Lloyd *et al.*, 1986).

1.3.3.2. Dosimétrie biologique hématologique

Elle est basée sur l'analyse des paramètres hématologiques : Des numérations formules sanguines répétées sont nécessaires, de façon à saisir les modifications transitoires ou la dynamique de certains comptages.

- ❖ Un pic granulocytaire est visible dans les 24 premières heures,
- ❖ La chute des réticulocytes circulants dans les 48 heures est la première image de l'atteinte des lignées sanguines (réticulocytes = cellules en voie de maturation).
- ❖ La chute lymphocytaire en 48 heures. La pente de chute des lymphocytes est proportionnelle à la dose moyenne absorbée. Elle est déterminée par des numérations sanguines répétées toutes les 6 heures pendant les 48 premières heures après l'exposition (Tubiana, 2009).

1.3.3.3. Dosimétrie biologique cytogénétique

Communément appelée dosimétrie biologique elle est basée sur le dénombrement des aberrations chromosomiques dans les lymphocytes circulants (Sorokine *et al.*, 2002).

Plusieurs raisons expliquent le choix des lymphocytes périphériques en dosimétrie biologique pour analyser les aberrations chromosomiques :

- ❖ **Ils sont facilement accessibles et constituent un matériel biologique idéal** : 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 $4,0 \times 10^9/L$ soit $1,5 \times 10^6/ml$ et $4 \times 10^6/ml$ de sang (AIEA, 1986).
- ❖ **Ils ont une longue durée de vie (500 et 1500 jours)** : Le continuel renouvellement des lymphocytes (AIEA, 1986) favorise le remplacement des cellules atteintes par des cellules saines. Cependant, 90% des lymphocytes ont une demi-vie estimée à 3,5 ans (Bender *et al.*, 1988) ce qui confère au sang une sorte de mémoire par l'intermédiaire de ces lymphocytes. Il est ainsi possible d'effectuer une dosimétrie jusqu'à quelques semaines après l'irradiation, sans perdre d'informations.
- ❖ **Ils sont à l'état quiescente G0/G1** par conséquent ils partagent tous une radiosensibilité homogène et conserve les anomalies (Dufraïn *et al.*, 1980 ; AIEA, 2013).
- ❖ **On note une similitude de la fréquence des aberrations chromosomiques après irradiation in vivo et in vitro par 1 Gy** : En effet on estime qu'environ 80 % (soit 400×10^9) des lymphocytes appartiennent au « pool de redistribution » c'est à dire les lymphocytes qui

ont quitté le sang périphérique, traverser la rate, les ganglions lymphatiques et d'autres tissus, puis retourner dans le sang. Le délai de cette recirculation est d'environ 12 heures. Cela signifie que les lymphocytes qui comportent des aberrations chromosomiques induites dans n'importe quelle partie du corps se retrouvent *in fine* dans le sang périphérique. Ainsi, en analysant des lymphocytes humains, on peut non seulement détecter les aberrations chromosomiques induites dans les lymphocytes du sang périphérique (irradiation *in vitro* : cas de notre étude) mais aussi celles qui ont été induites dans les lymphocytes répartis dans différents organes du corps en cas d'irradiation *in vivo* (AIEA, 2013).

CHAPITRE 2 : METHODOLOGIE

2.1. CADRE DE L'ETUDE

Le Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) nous a servi de cadre idéal pour entrer en contact avec les donateurs volontaires sains qui répondent aux critères spécifiques de notre étude. La suite des travaux s'est poursuivie en France au laboratoire « Cell Environment ».

2.1.1. Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS)

Le CNTS comme son nom l'indique est le seul centre habilité à approvisionner les différentes formations sanitaires du pays en produit sanguin tant en quantité qu'en qualité. Il comprend une direction générale et des directions administratives et techniques. Il est situé côté nord de l'avenue du Président Thomas SANKARA (même alignement que l'Ecole Nationale de Santé Publique, le Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo) à Ouagadougou dans la province du Kadiogo. Le service de laboratoire semble déménagé dans les nouveaux locaux à Tengandogo sis côté sud du Centre Hospitalier Universitaire de Tengandogo (ex CHU Blaise COMPAORE).

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. En collaboration avec les structures opérationnelles : les Centres Régionaux de Transfusion Sanguine (CRTS).

2.1.2. Laboratoire « Cell Environment »

C'est un laboratoire de dosimétrie biologique cytogénétique de l'Hôpital Paul- Brousse en France 12, avenue Paul Vaillant Couturier 94804 Villejuif où nos échantillons ont été mis en culture après irradiation à l'institut Gustave Roussy Cancer Campus Paris Saclay suivant une procédure similaire à celle préconisée par le rapport technique de l'AIEA publié en 1996.

2.2. MATERIEL

2.2.1. Tubes à héparine de lithium

Pour recueillir le sang prélevé chez chacun des 05 volontaires supposés sains.

2.2.2. Matériel biologique

Cinq (05) ml de sang ont été prélevés chez chacun des 5 volontaires Burkinabé supposés sains (3 hommes et 2 femmes). Le sang recueilli a été conservé dans les tubes à héparine de lithium.

2.2.3. Matériel pour le transport des échantillons en France

Un emballage homologué par l'AIEA a servi pour le transport du matériel biologique.

2.2.4. Matériel pour l'irradiation des échantillons

Un irradiateur X-RAD320 a servi pour l'irradiation des échantillons de sang.

2.2.5. Matériel pour les examens cytogénétiques

Un laboratoire biologique cytogénétique muni : de plaque chauffante à 70°C, d'appareil de cultures, des flacons de cultures servant aussi de flacons d'irradiation, de système de refroidissement chromosomique, deux bains Marie, bain Marie (va et vient), une Centrifugeuse des hottes paillasse à Flux Laminaires, de microscope assisté par l'ordinateur, d'incubateur, des pipettes pour étalement, des lames, de solutions de culture de lymphocytes, réactifs de collations à Giemsa, sonde PNA de marquage centromérique et télomérique.

2.3. METHODE DE L'ETUDE

2.3.1. Type et période d'étude

Notre étude est de type transversal descriptif et analytique sur des lames préparées à partir du sang prélevé. La période de l'étude était de décembre 2017 à avril 2018.

2.3.2. Echantillonnage

➤ Population, échantillon et taille de l'étude

La population de l'étude est constituée par les donateurs volontaires supposés sains du CNTS. L'échantillon concerné est surtout les donateurs supposés sains répondant aux critères d'inclusion. 05 volontaires supposés sains dont 02 de sexe féminin et 03 de sexe masculin ont été considérés comme des répétitions tandis que la taille de l'échantillon est celle des métaphases ou cellules lues : 1373 dont 771 pour la dose témoin (0 Gy) et 602 pour les quatre doses d'irradiation (0,5 ; 1 ; 2 et 4 Gy).

➤ Critères d'inclusion

Vu que certains paramètres (tels que l'âge, les agents physiques, chimiques et génétiques) peuvent influencer nos résultats par augmentation de la radiosensibilité, nous avons retenu comme critères ce qui suit :

Etre donneur volontaire burkinabé supposé sain âgé de 30 à 35 ans

❖ Sans antécédent d'expositions aux R.I. et chimiques (pesticides, chimiothérapie etc.).

- ❖ Aucune prédisposition familiale liée aux cancers.
- ❖ N'étant pas sous traitement au moment de l'étude.
- ❖ Ne consommant pas l'alcool et cola.
- ❖ Ne fumant pas, ne chiquant pas le tabac.

➤ **Critères de non inclusion**

Tous les volontaires supposés sains ne remplissant pas les critères exigés.

➤ **Méthodes d'échantillonnage**

En collaboration avec le Centre National de Transfusion Sanguine, nous nous sommes intéressés aux donneurs supposés sains plus ou moins réguliers.

Le CNTS à travers sa base de données nous a permis de rentrer en contact avec les donneurs.

Après explication de notre projet d'étude, une notice d'information (annexe 2) conçu à cet effet a été remise à chacun afin de leurs permettre de mieux s'imprégner du contenu dudit projet d'étude et demander s'il ya lieu des explications sur les zones d'ombre ou d'incompréhension.

Sur place certains donneurs ont vite adhéré à notre projet d'étude et l'ont matérialisé par une signature sur le formulaire de recueil de consentement libre et éclairé (annexe 1). D'autres par contre ont demandé un temps de réflexion avant une prise de décision.

Au bout du compte tous ceux qui ont été contactés ou approchés ont tous adhéré à notre étude.

L'étape suivante à consister à soumettre un questionnaire (annexe 2) à tous ceux ayant exprimé leur consentement. Ce qui nous a permis en quatre (04) semaines de retenir trente (30) volontaires supposés sains dont 22 hommes et 8 femmes répondant aux critères spécifiques de l'étude. Un tirage aléatoire simple nous a permis enfin de retenir 05 volontaires supposés sains dont 3 hommes et 2 femmes.

➤ **Procédure du tirage aléatoire simple**

Nous avons établi d'abord 2 listes (femmes et hommes) des donneurs répondant aux critères.

Attribuer ensuite un numéro à chaque donneur.

Procéder ensuite par tirage aléatoire simple et retenir dans chaque liste le nombre de donneurs exigé : 3 pour le sexe masculin et 2 pour le sexe féminin.

Une liste d'attente a été prévue en vue de parer à d'éventuelle situation désagréable.

2.3.3. Considérations éthiques

Cette étude a été faite en tenant compte des dispositions éthiques en vigueur au Burkina Faso et sous l'approbation du Comité d'Ethique pour la Recherche en Santé au Burkina Faso (CERS) à travers un certificat éthique suite à la délibération N° 2017-12-179 (annexe 3).

2.3.4. Méthode d'obtention des aberrations chromosomiques

Un pré-test effectué au Laboratoire Cytogénétique de l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées du Bénin (ISBA) le 18 juillet 2017 sur des sujets de nationalité burkinabé, béninois et burundais nous a permis d'appréhender toutes les techniques et les conditions de prélèvement et d'envoi des échantillons sanguins suivant les règles prescrites par l'AIEA. Les prélèvements étant conditionnés dans des tubes à héparine de sodium et de lithium nous ont permis à l'issue des résultats de retenir les tubes à héparine de lithium comme les mieux adaptés à notre contexte.

➤ **Prélèvement sanguin des volontaires sains burkinabé (VSBF)**

Il s'est effectué au CNTS le lundi 16 avril 2018 en collaboration avec le personnel médical. Par ponction antécubitale, 5ml de sang ont été recueillis dans des tubes à héparine de lithium chez chacun des cinq (05) volontaires supposés sains et maintenu à une température ambiante.

➤ **Transport des échantillons**

Les prélèvements ainsi obtenus ont été conditionnés dans un emballage homologué conçu pour le transport de matière biologique où il est mentionné «NE PAS RADIOGRAPHIER ». L'expédition a eu lieu le même jour par Royal air Maroc sous la référence LTA N° 147-8962-9470 du 16 avril 2018. La réception du colis quant à elle s'est effectuée le mercredi 18 avril 2018 au environ de 14h GMT soit environ 28h après le prélèvement.

Le transport a été fait conformément aux règles nationales et internationales applicables au transport des matières infectieuses, comme l'indique le Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au transport des matières infectieuses publié par l'OMS (OMS, 2009-2010).

➤ **Irradiation des prélèvements sanguins**

Les tubes contenant les prélèvements ont été à l'arrivée codés ensuite répartis dans plusieurs tubes pour l'irradiation à des doses de 0 Gy (dose témoin) et 0,5 ; 1 ; 2 ; et 4 Gys à l'aide d'un irradiateur X-RAD 320 à un débit de dose de 1Gy/min avec une énergie photonique maximale de 250 kV (potentiel d'accélération de 250 kV, tube à rayons X Comet (Comet Technologies, Shelton, Connecticut, USA); irradiation aux rayons X de précision [PXi], North Branford, Connecticut, États-Unis). Les doses ont été délivrées aux tubes de sang à une température ambiante et sous une pression atmosphérique locale autour de 1 atmosphère suivant le protocole international de dosimétrie (Technical report IAEA n°277, 1987).

Les irradiations ont eu lieu à l'institut Gustave Roussy Cancer Campus Paris Saclay à l'aide d'un irradiateur.

Afin d'obtenir des courbes d'étalonnage *in vitro* applicables aux cas d'expositions accidentelles aiguës, le débit de dose a été choisi de telle sorte que les doses soient délivrées en moins de 15 minutes. Les différences entre les durées pendant lesquelles les diverses doses sont reçues étaient alors suffisamment faibles pour que β , le coefficient de la dose au carré pour le calcul de la fréquence des aberrations, ne varie pas de plus d'environ 4 % (Lloyd *et al.*, 1998).

➤ Etape de la culture

Après irradiation, les échantillons ont séjournés deux heures de plus à 37 °C. La culture a été faite suivant le protocole préconisé par l'AIEA publié en 2011 et actualisé en 2013. Plusieurs cultures dupliquées étaient cultivés (flacon témoin et flacons irradiés) pendant 48 heures à l'incubateur à 39°C.

En bref, 0,5 ml de sang sont mis en culture dans 5 ml du milieu RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, New York, États-Unis), supplémentés avec 10 % de sérum de veau foetal (SVF, Eurobio, Courtaboeuf, France), 1% d'antibiotiques (Gibco) et l'addition à ce milieu de culture de 1% de la bromodé oxyuridine (BrdU) (Thermo Fisher Scientific France, Illkirch-Grattenstaden, France) a permis de différencier les premières mitoses des secondes des lymphocytes T. Les lymphocytes T ont été stimulés par la phytohémagglutinine de forme M (Gibco) à savoir l'ajout dans chaque flacon de culture 100 μ l de phytohémagglutinine (PHA) forme M, afin de stimuler les lymphocytes circulants à l'état quiescent. La phytohémagglutinine est une lectine mitogène, c'est-à-dire une protéine qui reconnaît et relie entre eux des déterminants hydrocarbonés de la surface cellulaire des lymphocytes et déclenche une stimulation polyclonale (Stong *et al.*, 1985).

Arrêt de la culture : après 46 heures de culture à 39°C dans l'incubateur, l'ajout dans les flacons de cultures de 50 μ l de la Colcemid (Gibco KaryoMAX, Thermo Fisher Scientific France) a permis de bloquer les lymphocytes en métaphase et les cultures sont prolongées de 2 heures.

Les lymphocytes sont séparés par centrifugation à 1800 tours/minutes pendant 5 minutes, et ont subi un choc hypotonique au chlorure de potassium KCl à 0,075 M qui a mis fin à la culture. Pendant 20 minutes dans la solution de bain-marie, Cette solution de chlorure de potassium (KCl) a provoqué l'éclatement du cytoplasme, puis le gonflement des noyaux qui ont libéré les chromosomes.

➤ La fixation

Après centrifugation, les cellules sont fixées par l'ajout de méthanol / acide acétique (3 volumes / 1 volume). Les métaphases sont étalées par projection sur des lames de microscope propres et

humides. Ces lames sont séchées, puis stockées dix (10) à quinze (15) jours à -20°C à l'abri de toute humidité avant leur préparation pour la lecture au microscope.

➤ **La coloration au Giemsa**

La coloration des lames a été réalisée par la technique de fluorescence plus Giemsa (FPG) selon le protocole de PERRY (Perry *et al.*, 1974 ; Doloy *et al.*, 1977). Elle a permis de limiter l'analyse aux cellules en métaphase qui effectuent leur première division *in vitro* (M1) et de colorer une ou plusieurs lames dupliquées pour chaque culture.

Après immersion dans une solution de Hoechst 33258 (1 mg/mL) à 3 %, puis dans du tampon 2 x SSC pendant 12 minutes, les lames sont rincées à l'eau distillée. Elles sont ensuite disposées sur papier Whatmann humide, puis ont reçu quatre à cinq gouttes de 2 x SSC sur chaque spot avant de subir une photolyse par ultraviolets pendant 40 minutes. Les lames sont à nouveau rincées à l'eau du robinet, puis colorées dans une solution de Giemsa à 3 % dans du 0,4 xSSC.

➤ **La coloration des télomères et des centromères**

Le marquage des centromères et des télomères par des sondes PNA nous a permis de limiter l'analyse aux cellules en métaphase qui effectuaient leur première division *in vitro* (M1) suivant le protocole ci-dessous :

Marquage des télomères et des centromères par des sondes PNA

Les chromosomes des vertébrés se terminent par un nombre variables de répétitions de nucléotides T2AG3. Afin d'étudier la répétition des télomères au niveau des chromosomes individuels, nous avons développé de nouvelles procédures d'hybridation *in situ* de fluorescence quantitative en utilisant l'acide nucléique peptidique marqué (C3TA2) 3 et la microscopie d'imagerie numérique (Lansdrops *et al.*, 1996)

Les télomères et les centromères ont été colorés au moyen de la technique d'hybridation quantitative par fluorescence *in situ* (Q-FISH) avec une sonde PNA marquée au Cy-3 spécifique du TTAGGG pour les télomères et une sonde PNA marquée au FITC, spécifique des séquences du centromère (toutes deux de Eurogenetec, Liège, Belgique), suivant le protocole décrit dans M'Kacher *et al.*, 2014.

En bref, les lames ont été lavées avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pendant 5 minutes à température ambiante. La fixation a été effectuée avec du formaldéhyde à 4 % pendant 2 minutes à température ambiante et les lames ont été lavées trois fois avec du PBS pendant 5 minutes.

Après 7 minutes de traitement à la poudre de pepsine (0,5 mg mL⁻¹; Sigma Aldrich Chimie, Saint-Quentin-Fallavier, France) à 37 ° C, les lames ont été lavées dans du PBS et refixées dans du formaldéhyde à 4 % pendant 2 minutes. Après trois lavages au PBS pendant 5 minutes, les lames ont été déshydratées de manière séquentielle avec 50 %, 70 % et 100 % d'éthanol et séchées à l'air. La solution de sonde était composée en une sonde PNA de 50 ml (0,3 mg / ml de télomère et centromère). Laisser les lames sécher la nuit à l'air et à Température Ambiante (RT).

Les lames avec la solution de sonde ont été dénaturées sur une plaque chauffante à 80 ° C pendant 3 minutes et incubées à l'obscurité pendant 1 heure à température ambiante. Après hybridation, les lames ont été lavées (35 minutes) avec 70 % de formamide / Tris 10 mM, pH 7,2, puis dans du Tris 50 mM, pH 7,2 / NaCl 150 mM, pH 7,5 / entre -20 à 0,05 % (35 minutes). Après lavage avec du PBS, les lames ont été contre-colorées avec du 4, 6-diamidino-2-phénylindole (DAPI) et montées avec de la paraphénylènediamine (PPD). Après les colorations et l'étalement des lames, nous sommes passés à l'analyse des lames à l'aide du microscope.

➤ **Analyse cytogénétique des lames**

Elle s'est faite de façon méthodique au microscope électrique afin d'éviter tout biais au moment de la capture des images (les lames étaient munies d'un code). Les aberrations chromosomiques instables ont été détectées en fonction de la présence ou non de séquence de télomères et de centromères sur toutes les images capturées sur les lames colorées des centromères et des télomères. L'acquisition, la quantification et les analyses d'images ont été réalisées à l'aide du logiciel Isis (version 3.9.1; MetaSystems, Newton, Massachusetts,). Le logiciel Isis (version 3.9.1; Meta Systems, Newton, Massachusetts) a servi pour l'analyse et la quantification des images.

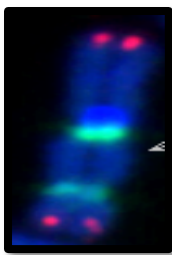
➤ **Critères d'analyse des préparations chromosomiques**

L'analyse cytogénétique des métaphases pour dénombrer les aberrations instables s'est fondée sur deux (2) aspects:

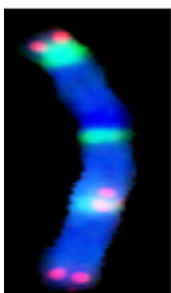
❖ Premièrement les critères de validité imposés en cytogénétique :

- Les chromosomes étudiés doivent indispensablement être issus des métaphases de la première division cellulaire et contenir 46 centromères ;

Le chromosome est considéré comme dicentrique quand il a 2 centromères. Il peut être accompagné ou pas d'un fragment acentrique.

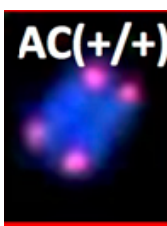


On parlera de tricentrique quand le chromosome a 3 centromères. Il peut être accompagné ou pas d'un fragment acentrique.



❖ Deuxièmement les critères propres au marquage des centromères et des télomères.

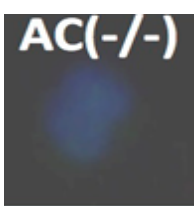
Un chromosome acentrique sans centromère et ayant 4 télomères est noté : **ace (+/+)**. Il est issu de la fusion de deux acentriques terminaux [ace (+/-)]



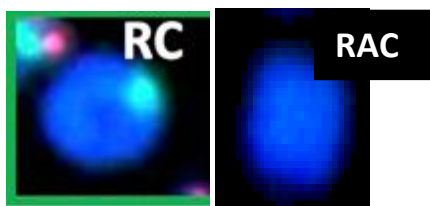
Un chromosome acentrique (sans centromère) et ayant 2 télomères est noté : **ace (+/-)**. C'est une délétion terminale.



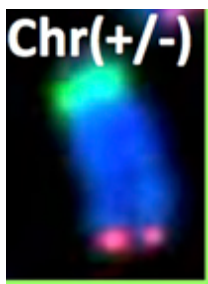
Un chromosome acentrique sans marquage télomérique est noté : **ace (-/-)**. C'est une délétion inertielle.



Un anneau centrique ou ring (**rc**) ou acentrique (**rac**). Il peut être accompagné ou pas d'un fragment



Un chromosome présentant uniquement deux télomères est considéré comme un chromosome anormal il est noté : **Chr (+/-)**. C'est un chromosome comportant une délétion.



➤ **Calcul des Cassures double brins à partir des aberrations chromosomiques instables dénombrées**

A l'aide des formules suivantes propres au protocole de marquage des télomères et centromères, nous pouvons calculer avec précision le nombre de cassures double brin ayant occasionné ces différentes aberrations chromosomiques instables.

- 1 dicentrique + 1 acentrique (+/+) = 2 CDB
- 1 ring + 1 acentrique (+/+) = 2 CDB
- 1 acentrique (+/-) = 1 CDB
- 1 acentrique (-/-) = 2 CDB
- 1 ring acentrique = 2 CDB
- 1 chromosome (+/-) = 1 CDB
- 1 tricentrique = deux dicentriques = 4 CDB

2.3.5. Obtention d'une courbe dose-effet

Le nombre de remaniements chromosomiques dans une population cellulaire irradiée est proportionnel à la dose. La forme de cette relation "dose-effet" dépend de la qualité du flux de

rayonnements incidents, en particulier de son TLE. Théoriquement l'expression de la relation dose absorbée et nombre d'anomalies produites est sous la forme suivante (IAEA, 1986) :

➤ Radiolésions à un « événement »

$$\diamond Y = C + \alpha D$$

➤ Radiolésions à deux « événements »

TEL élevé : $Y' = C' + \alpha D$ (une relation linéaire)

TEL faible (cas des rayons X et γ) : $Y' = C + \alpha D^2$

L'équation générale est la suivante : $Y = C + \alpha D + \beta D^2$ (une relation linéaire quadratique) où Y correspond au taux de dicentrique, D la dose absorbée, C le taux de dicentrique des sujets non irradiés, α le coefficient linéaire et β le coefficient du carré de la dose absorbée. Les paramètres C , α , β doivent être déterminés par le laboratoire in vitro.

2.3.6. Analyse statistique des données

Le test de Poisson constitue la méthode statistique actuellement la plus adaptée en dosimétrie biologique et surtout recommandée par l'AIEA (IAEA, 1986 et Clerc, 1991).

2.3.6.1. Distribution de poisson

Elle s'applique aux variables quantitatives discrètes définies par le nombre d'évènements observés dans le cas où ces évènements se produisent de manière indépendante et aléatoire dans le temps et dans l'espace. En effet la distribution de poisson décrit des processus pour lesquels la probabilité d'observer un évènement (remaniement chromosomique pour notre étude) est de taille petite, mais le nombre d'essais (expositions à des différentes doses d'irradiations) est très grand. Le seul paramètre qui va caractériser cette distribution sera μ qui est la moyenne et la variance pour tout X variable de poisson où X correspond au comptage dans l'intervalle considéré.

➤ Pour déterminer la probabilité de la réalisation d'un évènement par la distribution de poisson nous procéderons par le calcul des paramètres suivants : La variance, la fréquence, l'Index de dispersion (DI), l'Erreur standard (SE), et U de Papworth

➤ Quelque soit la variable d'origine, la variable centrée U est autour de 0 et a pour écart type 1.

On aboutit ainsi à une courbe dont 95% des valeurs sont comprises entre l'intervalle $[-1,96 ; +1,96]$. Si U calculer appartient à l'intervalle de confiance $[-1,96 ; +1,96]$ alors la distribution des dicentriques suit la distribution de poisson c'est-à-dire que les échantillons de sang ont été irradiés d'une manière homogène par conséquent nos résultats seront statistiquement validés.

2.3.7. Diffusion des résultats

Après validation de ce rapport de stage, des exemplaires seront déposés dans les bibliothèques accréditées du Bénin. Il en sera de même une fois au Burkina Faso. Nos résultats pourront en outre être présentés lors de congrès nationaux ou internationaux.

CHAPITRE 3 :

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. RESULTATS

3.1.1. Informations générales sur les volontaires supposés sains

Dans le tableau VI a été résumée la répartition des volontaires ayant participé à l'étude par sexe. Au total ils étaient 5 dont 2 de sexe féminin et 3 de sexe masculin.

Tableau VI : Répartition des volontaires sains Burkinabé par sexe

SEXE	Féminin	Masculin	Total
Fréquence absolue	02	03	05

Dans le tableau VII ont été résumés la moyenne d'âge des volontaires qui est de 33, l'âge minima 30 et le maxima 35.

Tableau VII: Répartition des volontaires sains par tranche d'âge

Tranche d'âge	Fréquence	Moyenne	Age minima - maxima
[30 -32[2		
[32 – 34[1		
[34 – 36[2		
Total	5	33	30 – 35

3.1.2. Résultats cytogénétique : Distribution des aberrations chromosomiques instables dénombrées chez les 5 volontaires sains

L'analyse cytogénétique des différentes lames ayant servi à l'étalement du sang prélevé et irradié après marquage des centromères et des télomères, a permis de dénombrer chez chacun des 5 volontaires supposés sains les aberrations chromosomiques instables suivantes:

- Des chromosomes polycentriques : dicentrique et tricentrique
- Des chromosomes acentriques (sans centromère) mais ayant 4 télomères; 2 télomères ; sans marquage de télomère.
- Des chromosomes en anneaux centrique (ring) et acentrique.

En rappel les échantillons ont été irradié à des doses de 0 Gy (dose témoin) 0,5Gy ; 1Gy ; 2Gy ; et 4Gy à l'aide d'un irradiateur X-RAD 320 à un débit de dose de 1 Gy/min.

Dans les tableaux VIII, IX, X, XI et XII ont été résumées respectivement les distributions des aberrations chromosomiques instables dénombrées chez les 5 volontaires supposés sains (VBF1, VBF2, VBF3, VBF4 et VBF5) en fonction des doses d'irradiation.

Tableau VIII : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 1^{er} volontaire sain Burkinabé (VBF1)

VBF1 Dose	Nb. Meta lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr (+/-)
				Ace (+/+)	Ace (+/-)	Ace (-/-)	Rc.	Rac.	
0	208	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	46	1	0	1	0	0	0	0	0
1	40	3	0	3	0	0	0	0	0
2	18	6	0	6	0	0	1	0	0
4	15	11	0	13	0	2	2	1	0
Total	327	21	0	23	0	2	3	1	0

Nb. Meta : nombre de métaphases, **dic :** chromosome dicentrique, **tric :** chromosome tricentrique, **Ace (+/+)** : fragment acentriques avec 4 télomères, **Ace (+/-)** : fragment acentriques avec 2 télomères, **Ace (-/-)** : fragment acentriques sans télomères, **Chr (+/-)** : chromosome anormal

Chez le 1^{er} volontaires supposé sain 327 métaphases ont été lues soit 208 pour la dose témoin et 119 pour les différentes doses d'irradiations. on a pu dénombrer : 21 dic, 25 fragments acentriques, et 4 anneaux centriques et acentriques. Aucun dic pour la dose témoin.

Tableau IX : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 2^{ème} volontaire sain Burkinabé (VBF2)

VBF2 Dose	Nbr Méta. lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr (+/-)
				Ace (+/+)	Ace (+/-)	Ace (-/-)	Rc.	Rac.	
0	200	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	34	1	0	1	0	0	0	0	0
1	29	2	0	3	0	1	1	0	0
2	13	4	0	4	0	0	0	0	0
4	7	4	0	5	0	0	1	0	0
Total	283	11	0	13	0	1	2	0	0

Sur un total de 283 métaphases lues chez le VBF2 soit 200 métaphases (dose témoin) et 83 métaphases pour les différentes doses d'irradiation, 11 dicentriques, 14 fragments acentriques et 2 anneaux centriques et acentriques ont été dénombrés. Aucun dic pour la dose témoin

Tableau X : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 3^{ème} volontaire sain Burkinabé (VBF3)

VBF3 Dose	Nbr Méta lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr. (+/-)
				<i>Ace</i> (+/+)	<i>Ace</i> (+/-)	<i>Ace</i> (-/-)	<i>Rc.</i>	<i>Rac.</i>	
0	150	0	0	0	0	0	0	0	0
0,5	80	1	0	1	0	0	0	0	0
1	25	3	0	3	0	0	0	0	0
2	15	5	0	5	0	0	1	0	0
4	10	9	0	10	0	2	1	1	0
Total	280	18	0	19	0	2	2	1	0

Pour le VBF3 sur 280 métaphases lues soit 150 (dose témoin) et 130 métaphases pour les doses d'irradiation, on a pu dénombrer : 18 dicentriques, 21 fragments centriques et 3 anneaux (ring). Aucun dic pour la dose témoin.

Tableau XI : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 4^{ème} volontaire sain Burkinabé (VBF4)

VBF4 Dose	Nbr. Méta. lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr. (+/-)
				<i>Ace</i> (+/+)	<i>Ace</i> (+/-)	<i>Ace</i> (-/-)	<i>Rc.</i>	<i>Rac.</i>	
0	124	0	0	0	0	1	0	0	0
0,5	70	2	0	2	0	0	0	0	0
1	11	2	0	2	0	0	0	0	0
2	20	5	0	5	0	0	1	0	0
4	10	9	1	12	2	1	1	2	0
Total	235	18	1	21	2	1	2	2	0

Pour VBF4, 235 métaphases ont été lues soit 124 (dose témoin) et 111 métaphases pour les différentes doses d'irradiations. Nous avons pu dénombrer : 18 dicentriques, 1 tricentrique; 24

fragments acentriques et 4 anneaux centrique et acentriques. Aucun dic aussi n'a été dénombré aussi à 0Gy.

Tableau XII : Distribution des aberrations chromosomiques instables du 5^{ème} volontaire sain Burkinabé (VBF5).

VBF5 Dose	Nbre. Méta. lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr. (+/-)
				Ace (+/+)	Ace (+/-)	Ace (-/-)	Rc.	Rac.	
0	89	0	0	0	1	0	0	0	0
0,5	58	1	0	1	1	0	0	1	0
1	52	6	0	7	0	0	1	0	0
2	34	9	0	10	0	1	1	1	0
4	15	16	0	19	2	3	3	1	0
Total	248	32	0	37	4	4	5	3	0

Enfin chez le 5^{ème} volontaire supposé sain 248 métaphases ont été lues, soit 89 (dose témoin) et 159 pour les différentes doses d'irradiation. Nous avons pu dénombrer 32 dicentriques, 45 fragments acentriques, 8 anneaux centriques et acentriques. Aucun dic pour la dose témoin.

Le tableau récapitulatif de la distribution des différentes aberrations chez les 5 volontaires supposés sains nous permettra d'avoir une idée sur le nombre total des aberrations instables dénombrées dans notre étude et faciliter le calcul des CDB. Dans le tableau XIII a été résumée le récapitulatif de la distribution des aberrations chez les 5 volontaires et le calcul des Cassures Double Brins (CDB)

Tableau XIII : Récapitulatif de la distribution des différentes aberrations observées chez les 5 volontaires sains et calcul des CDB

Dose en Gy	Nbre. Méta. lues	Dic.	Tric.	Fragments acentriques			Anneaux (ring)		Chr. (+/-)	CDB
				Ace (+/+)	Ace (+/-)	Ace (-/-)	Rc.	Rac.		
0	771	0	0	0	1	1	0	0	0	3
0,5	288	6	0	6	1	0	0	1	0	15
1	157	16	0	18	0	1	2	0	0	38
2	100	29	0	30	0	1	4	1	0	64
4	57	49	1	59	4	8	8	5	0	150
Total	1373	100	1	113	6	11	14	7	0	270

En tout, 1373 métaphases ont été lues pour l'ensemble des 5 volontaires supposés sains. Le nombre d'aberrations instables dénombrées : 100 dicentriques, 1 tricentrique, 130 fragments acentriques dont 113 ace (+/+); 6 ace (+/-); 11 ace (-/-) et 21 anneaux centriques (rings) dont 14 Rc et 7 Rac. 270 CDB ont été calculés pour l'ensemble des 5 volontaires supposés sains.

3.1.3. Analyse statistique

Dans le tableau XIV ont été résumées les valeurs calculées de U de Papworth à partir de la fréquence, la variance, et l'index de dispersion

Tableau XIV: Analyse statistique de la distribution cellulaire des dicentriques par rapport aux différentes doses d'irradiations des 5 volontaires sains Burkinabé.

Dose (Gy)	Nombre de métaphases analysées	Nombre de dicentriques dénombrés	Fréquence	Paramètres statistiques			
				Variance x	DI	U	SE
0	771	0	0	0	0	0	0
0,5	288	6	0,02	0,18	0,91	-0,05	0,39
1	157	16	0,10	0,09	0,95	-0,26	0,075
2	100	29	0,29	0,25	0,86	-0,03	0,05
4	57	49	0,86	0,56	0,67	-0,17	0,07

DI : index de dispersion, SE : erreur standard, U : paramètre de Papworth

Dans le tableau XV a été résumée la distribution des aberrations instables dénombrées à 0Gy (dose témoin) issue des travaux de quelques auteurs.

Tableau XIV: Distribution des aberrations chromosomiques à 0Gy (dose témoin) issue des travaux de quelques auteurs.

Auteurs	Dose	Nb. Cell	Nb. dic
<i>M KACHER et al. (2014)</i>	témoin	3244	0
<i>A. MAALEM, N. BOUNAB.(2016)</i>	Témoin	10	0
<i>D.A.N. MESSAL. (2018/2019)</i>	Témoin	10000	0
<i>SOUMBOUNDOU et al. (2019)</i>	Témoin	2669	0
<i>DOSSOU et al. (2000)</i>	Témoin	1090	0

Nb. Cell : nombre de cellule Nb. dic : nombre de dicentrique

Dans le tableau XVI a été résumée la distribution des aberrations instables dénombrées aux différentes doses d'irradiation des travaux de quelques auteurs.

Tableau XVI: distribution de la fréquence des chromosomes dicentriques issue des travaux de quelques auteurs par rapport aux différentes doses d'irradiation

Auteurs	Doses d'irradiation en Gy							
	0,1	0,5	1	1,5	2	3	4	5
D.A.N. MESSAL. (2018/2019)	-	0,03	0,12	0,31	0,66	1,28	2,19	2,91
A. MAALEM, N. BOUNAB.(2016)	-	-	-	0,4	-	-	-	2,06
M ⁿ KACHER <i>et al.</i> , 2014	0,0078	0,0562	0,1891	-	0,5774	-	1,684	-
ASAAD <i>et al.</i> , 2016	0,0060	0,0509	0,0533	-	0,1538	-	0,6078	-

3.1.4. Equations linéaires quadratiques des dicentriques, des rings, des dicentriques + rings, des CDB et la réalisation des courbes doses-effet correspondantes

Nous avons pu réaliser 4 courbes doses-effets (figures 19 ; 20 ; 21 ; 22) à partir de l'équation linéaire quadratique et de la fréquence des dic/cell, des rings/cell, des rings + dic/cel et des CDB/cell (tableau XVI). En effet L'équation linéaire quadratique exprime l'expression théorique reliant la fréquence des anomalies produites et la dose absorbée (Lloyd *et al.*, 1983) : $Y = C + \alpha D + \beta D^2$. Les paramètres **C**, **α** , **β** sont déterminés par le laboratoire in vitro.

Dans le tableau XVII a été résumée la fréquence par cellule des dic, des rings, des dic+rings, et des cassures doubles (CDB) ayant servi à la réalisation des (4) courbes dose-effet.

Tableau XVII : Fréquence des aberrations chromosomiques et des CDB ayant servi à l'établissement des courbes dose- réponse : les dic, les rings, et les dic + rings

Dose	Nb Meta	Dic	Dic/cell	Rc	Rc/Cell	Dic + Rc	Dic + Rc/cell	CDB	CDB/Cell
0	771	0	0	0	0	0	0	3	0,00389
0,5	288	6	0,02083	0	0	6	0,02083	15	0,05208
1	157	16	0,10191	2	0,01274	18	0,11465	38	0,24204
2	100	29	0,29	4	0,04	33	0,33	64	0,64
4	57	49	0,85965	8	0,14035	57	1	150	2,63158

Remarque : Nb Meta= nombre de métaphases lue ; dic/cel = fréquence des dic par cellule ; Rc/cel = fréquence des rings par cellule ; dic+Rc/ cell = fréquence des dic + ring par cellule ; CDB/cell= fréquence des CDB par cellule.

Sur les figures 16, 17, 18 et 19 ont été illustrées respectivement les 4 courbes dose-effet réalisées à partir de l'équation linéaire quadratique et de la fréquence des dic/cell, des rings/cell, des rings + dic/cell et des CDB/cell.

➤ **Equation linéaire et courbe dose-effet des dic/cell**

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2 \quad \text{avec : } \alpha = 0,04754905 ; \beta = 0,04308036 ; C = 0,0009755937 \quad \Rightarrow$$

$$Y = 0,0009755937 + 0,04754905D + 0,04308036D^2$$

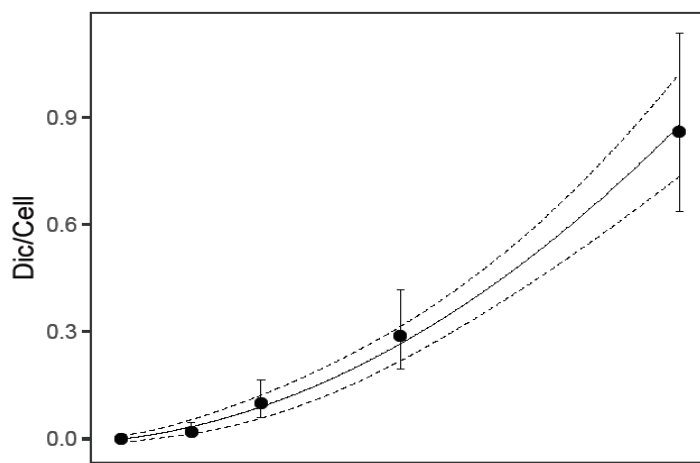


Figure 16: Courbe dose-effet des dicentriques par cellule

Dans le tableau XVIII ont été résumées les valeurs des coefficients (α , β , α/β) issues des travaux de quelques auteurs.

Tableau XVIII : Valeurs des coefficients linéaires quadratiques de la courbe dose-effet des dic/cell issues des travaux de quelques auteurs.

auteurs	radiation	$\alpha \pm SE$ (Gy ⁻¹)	$\beta \pm SE$ (Gy ⁻¹)	α/β
SOUMBOUNDOU et al., 2019	250 kV, 0.1 Gy/ mi	0.106 ± 0.02 0	0.078 ± 0.008	1.35
Lloyd et al. (1986)	250 kV, 1 Gy/ min	0.046 ± 0.005	0.065 ± 0.003	0.7
M'kacher et al. (2014)	137Cs, 0.69 Gy /mi	0.083 ± 0.02	0.085 ± 0.008	0.97

➤ Equation linéaire et courbe dose-effet des rings/cell

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2 \quad \text{avec : } \alpha = 0,00103484, \beta = 0,00871266 ; C = 0,000180 \Rightarrow$$

$$Y = 0,00018093 + 0,00103484D + 0,00871266 D^2$$

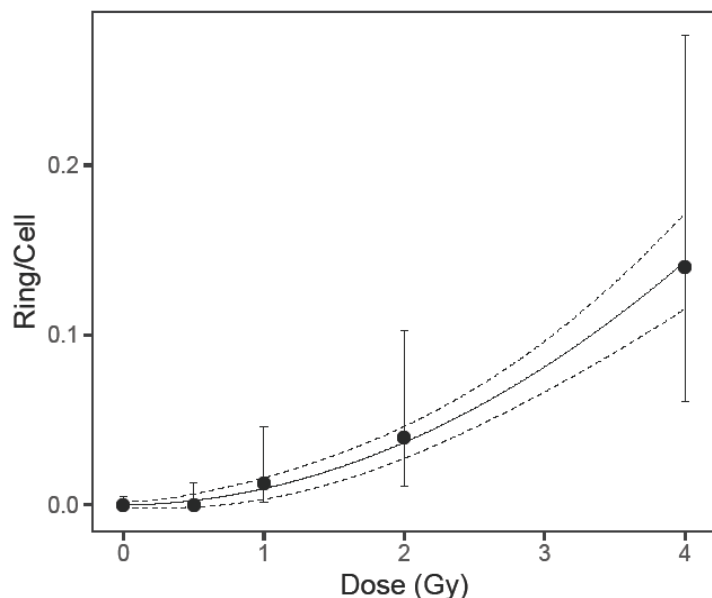


Figure 17: Courbe dose-effet des rings/cell par cellule

➤ Equation linéaire et courbe dose-effet des rings + dic/Cell

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2 \quad \text{avec : } \alpha = 0,04858389 ; \beta = 0,05179302 ; C = 0,001156528 \Rightarrow$$

$$Y = 0,001156528 + 0,04858389D + 0,05179302D^2$$

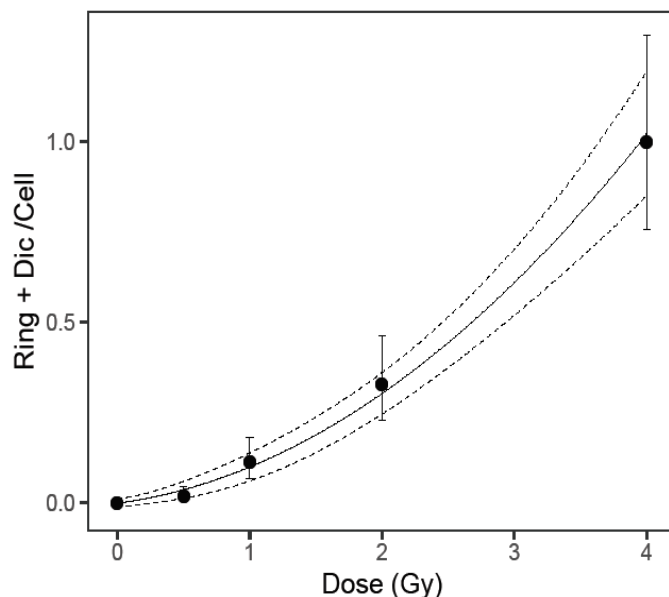


Figure 18: Courbe dose-effet des rings+Dic/Cell

➤ **Equation linéaire des DSB/Cell :**

$$Y = C + \alpha D + \beta D^2 \quad \text{avec : } \alpha = 0,0653215 ; \beta = 0,01422925 ; C = 0,00113948 \quad \Rightarrow$$

$$Y = 0,00113948 + 0,0653215D + 0,01422925 D^2$$

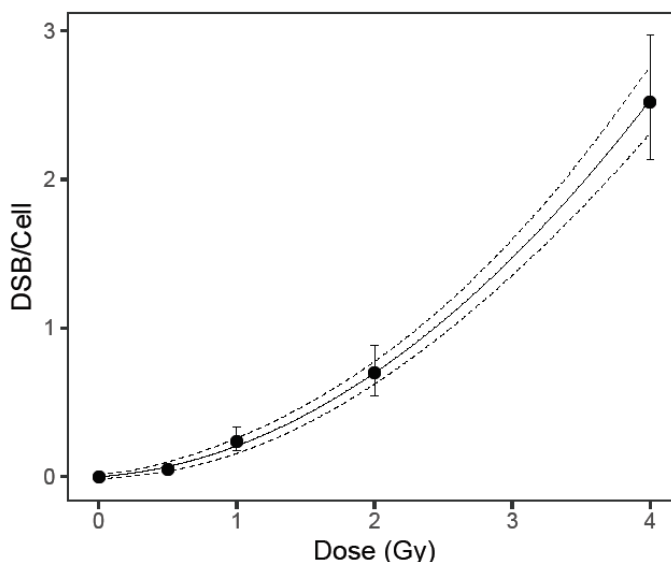


Figure 19 : Courbe dose-effet des DSB/Cell

3.1.4.1. Quelques courbe dose-effet issues des travaux de quelques auteurs

Sur les figures 20 et 21 sont illustrées les courbes dose-effets issues des travaux issues des travaux de quelques auteurs.

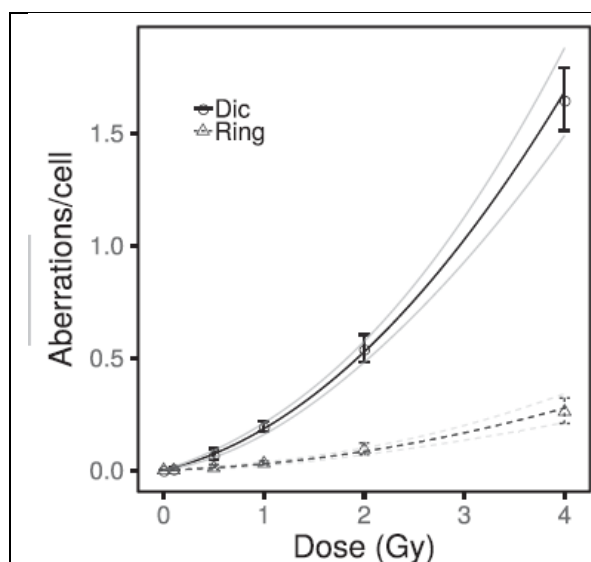


Figure 21 : courbe dose-effet des dic et Ring /cell (Soumboundou *et al.*, 2019)

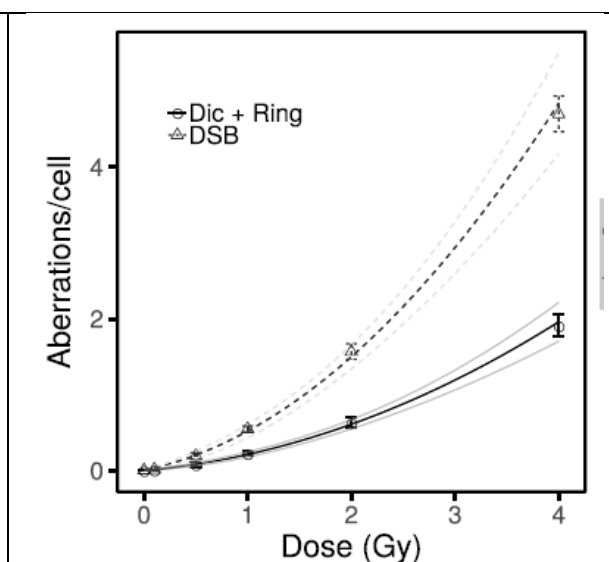


Figure 20 : courbe dose-effet des Dic + Ring et de CBD /Cell (Soumboundou *et al.*, 2019)

3.2. DISCUSSION

3.2.1. Analyse de la distribution des dicentriques dénombrés

➤ Pour la dose témoin (0Gy)

Sur un total de 1373 métaphases lues soit 771 pour la dose témoin, aucun dicentrique n'a été dénombré (tableau XIII). Ce résultat est similaire aux études menées par Dossou *et al.*, 2000, Soumboundou *et al.*, 2019, M'Kacher, *et al.*, 2014 qui ont trouvé respectivement, 0 dic pour 1090 cellules lues ; 0 dic pour 2669 cellules lues et 0 dic pour 3244 cellule Lues (tableau XV). En effet les dic sont très rares. Dans la population normal (sans irradiation) leur taux de présence spontanée est estimé à 1 pour 1300 (Dossou *et al.*, 2000 ; Tawn, 1987).

➤ Pour les différentes doses d'irradiations (0,5 – 1 – 2 et 4Gy)

Sur un total de 1373 métaphases ou cellules lues soit 602 pour les différentes doses d'irradiation, 100 dicentriques ont été dénombrées chez l'ensemble des 5 volontaires sains (tableau XIII). La distribution de la fréquence de ces dicentriques en fonction des doses d'irradiation se présente comme suit : 0,02 pour la dose 0,5 Gy ; 0,10 pour la dose 1 Gy ; 0,29 pour la dose 2 Gy et 0,86 pour la dose 4 Gy (tableau XIV). Nous constatons une croissance de la fréquence des chromosomes dicentriques en fonction des doses d'irradiations. Ce résultat corrobore avec les travaux menés par MessaL, 2018/2019 qui a trouvé 0,03 pour la dose 0,5 Gy ; 0,12 pour 1Gy ; 0,66 pour 2Gy ; et 2,19 pour 4Gy. Pareil pour les travaux menés par M'Kacher *et al.*, 2014 qui a trouvé une fréquence de 0,0562 pour une dose de 0,5Gy ; 0,1891 pour 1Gy ; 0,5774 pour 2 Gy et 1,684 pour 4Gy (tableau XVI). En effet, depuis le début du XX^{ème} siècle il a été reconnu que les aberrations chromosomiques radio-induites augmentaient quantitativement avec la dose d'irradiation. Ce qui fait de ces aberrations aujourd'hui un outil de choix dans le cadre de la bio-dosimétrie (évaluation des doses d'irradiation).

Pour les expositions récentes par exemple, le dénombrement des aberrations chromosomiques instables (dicentriques, et anneaux centriques) observés dans les lymphocytes bloqués en métaphase est la méthode de référence. Ce qui permet d'évaluer la dose moyenne reçue par des individus lors d'une exposition récente supposée ou avérée, de faire le tri et procéder à une meilleure prise en charge thérapeutique surtout en cas d'exposition aiguë (>1Gy), (MAALEM *et al.*, 2016 ; Lloyd *et al.*, 2000)

Pour les anciennes expositions datant de plusieurs mois voire des années, l'analyse des aberrations chromosomiques stables de type translocation (non dénombrées par notre étude) semblent être le mieux indiquer du fait de leur persistance plusieurs année après l'exposition.

Cette technique de dénombrement (aberration instables et stables) de la dosimétrie biologique est actuellement considérée comme la méthode la plus spécifique et la plus sensible ayant une valeur médico-légale (Sorokine-Durm, 2002).

Statistiquement, les valeurs de U de Papworth calculées à l'aide des paramètres tels que la fréquence des dicentriques, la fréquence, la variance et l'index de dispersion appartiennent à l'intervalle de confiance [-1,96 ; +1,96]. Ce qui justifie que les échantillons ont été irradiés de façon homogène par conséquent confirme bien l'augmentation considérable de la fréquence des dic avec la dose d'irradiation. Nous pouvons ainsi confirmer que la distribution des dicentriques suit la distribution de Poisson.

3.2.2. Fréquence de la distribution des anneaux centriques et fragments acentriques

En plus des chromosomes polycentriques nous avons dénombré :

- Des anneaux acentriques (**rac**) au nombre de 7, des anneaux centrique (rings) au nombre de 14 soit 14% par rapport au taux des dicentrique. Les anneaux centriques en plus des dicentriques font partie d'un maillon important dans la bio- dosimétrie des récentes irradiations. Cette fréquence est supérieure à celle de la littérature estimée à 5%. Les anneaux centriques en effet sont beaucoup plus rares dans les lymphocytes humains.
- des chromosomes acentriques liés : à une délétion terminales [ace (+/-)] au nombre de 06 et ceux issus de la fusion de deux acentriques terminaux [ace (+/+)] au nombre de 113. Ce nombre des ace (+/+) est sensiblement égale au nombre des dic + rings (100 + 14). Ce qui signifie que les échanges chromosomiques ont été complets entre dic + ace (+/+) et ring + ace (+/+) et très peu d'échanges incomplets ont été dénombrés. Ce résultat est similaire à l'études menée par Soumboundou *et al.*, 2019. En effet, les chromosomes acentriques ou fragments acentriques sont accompagnateurs des dicentriques et des rings. Appelés souvent fragments excédentaires, ils peuvent aussi se former indépendamment des échanges survenus à la suite de cassure sur les bras de deux chromosomes distincts. Ils peuvent aussi être induits par des agents mutagènes non radioactifs d'où souvent leur présence chez des personnes non exposées (Lloyd, 1983).

A partir de toutes ces aberrations chromosomiques instables nous avons pu calculer 270 CDB chez l'ensemble des 5 volontaires sains ayant occasionnée toutes ces aberrations (tableau XIII).

En effet la possibilité de pouvoir calculer les CDB à partir des aberrations chromosomiques instables dénombrées est l'un des avantages qu'offre le protocole de marquage des centromères et des télomères. Ce qui apporte plus de détail et de précision dans la

nomenclature des aberrations chromosomiques détectées. Par contre La méthode conventionnelle qui semble être plus basée sur les critères morphologiques rend l'évaluation des chromosomes dicentriques plus difficile. En d'autres termes le protocole de marquage centromère/téломère en dosimétrie biologique contribue à améliorer l'optimisation du dénombrement des aberrations chromosomiques M'Kacher et al., 2014

3.2. 3. Analyse des courbes dose-effet réalisées

En dosimétrie biologique, l'estimation de la dose moyenne suite à une irradiation accidentelle nécessite la réalisation de courbes de référence préalablement établies *in vitro*. Ces courbes qui varient selon le type de rayonnement, sont propres à chaque laboratoire (Sorokine-Durm, 2002 ; IRSN, 2006). Le dénombrement des aberrations étant réalisé sur les lymphocytes circulants, alors l'estimation des doses correspondre bien au corps entier (Sorokine-Durm, 2002 ; IRSN, 2006).

A travers cette étude, nous avons pu réaliser quatre (4) courbes dose-effet à partir de l'équation linéaire quadratique et de la fréquence des dic/cell, rings/cell, dic+rings/cell et CDB/cell. Par rapport aux travaux menés par Soumboundou et al., 2019 ; M'Kacher et al., 2014 ; Beinke et al., 2010 nous remarquons d'une part que les courbes sont d'une allure linéaire quadratique (Figures 20 à 25). Ce qui vient valider les courbes réalisées à travers cette étude. Il reste à les consolider à travers une cohorte plus large.

D'autre part, en analysant les coefficients linéaires quadratiques (α , β ,) qui caractérisent ces différentes courbes dose-effet (tableau XVIII) nous remarquons une différence relative d'une étude à une autre : M'Kacher *et al.*, 2014 $\alpha = 0.083 \pm 0.02$ et $\beta = 0.085 \pm 0.008$; Soumboundou *et al.*, 2019 : $\alpha = 0.106 \pm 0.02$ et $\beta = 0.78 \pm 0.008$; Lloyd *et al.*, 1986 : $\alpha = 0.046 \pm 0.005$ et $\beta = 0.065 \pm 0.003$ cela pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs pouvant influencer la radiosensibilité cellulaire: Les facteurs extrinsèques (le débit de dose, la dose reçue, le degré d'oxygénation etc..) au cours de l'irradiation des échantillons et les facteurs intrinsèques (les variabilités biologiques individuelles, les prédisposition génétiques et..) propres à chaque sujet testé.

En effet selon Loucas et al., 2004 , la valeur du bruit de fond (constante « C » de la courbe dose-réponse) qui représente le taux basal des dicentriques pourrait avoir une influence sur les courbes dose-réponse (Loucas *et al.*, 2004).

Les limites ou contraintes liés à la réalisation de cette étude :

- Le manque de laboratoire de dosimétrie biologique cytogénétique dans la sous-région a été d'un impact sur concrétisation rapide de cette étude.
- Le manque de structure appropriée pouvant faciliter l'envoi de nos échantillons à l'extérieur a été aussi d'un coup dur à supporter financièrement du fait de l'échec de la 1^{ère} tentative d'envoi.
- Les mesures barrières liées à la pandémie de la Covid-19 ont bloqué à un certain moment l'accès au territoire Béninois.

CONCLUSION, SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSION

La présente étude, nous a permis d'expérimenter l'action des rayonnements ionisants in vitro sur le sang périphérique des volontaires supposés sains Burkinabé. L'analyse cytogénétique des métaphases après le marquage des centromères et des télomères a permis de dénombrer avec plus de détail et de précision les aberrations chromosomiques instables : des dicentriques, des tricentriques, des chromosomes acentriques (sans centromère) ayant 4 télomères (ace +/+); 2 télomères (ace +/-); sans marquage de télomère (ace -/-) et des chromosomes en anneaux centrique ou ring (Rc) et acentrique (Rac). Il nous a permis entre autre de calculer les cassures doubles brins (CDB) ayant occasionnées tous ces dégâts. Les dicentriques, du fait de leur faible spontanéité dans la population normale (1 pour 1300), constituent un élément essentiel dans la biodosimétrie. La technique de leur dénombrement constitue un indicateur spécifique pour les irradiations récentes (professionnelle, accidentelle, naturelle) et est aujourd'hui considérée comme la méthode de dosimétrie biologique la plus spécifique et la plus sensible. Elle a une valeur médico-légale (Sorokine *et al.*, 2002 ; AIEA, 2013).

A l'aide des tests de Poisson et de Papworth qui constituent la méthode statistique actuellement la plus adaptée en dosimétrie biologique et surtout recommandée par l'AIEA nous avons pu valider statistiquement cette étude par le calcul des valeurs U de Papworth qui appartiennent toutes à l'intervalle de confiance [-1,96 ; +1,96]. Ce qui signifie que les échantillons sanguins ayant servi à l'aboutissement de ce travail ont été irradiés de façon homogène par conséquent, la distribution des dicentriques suit la distribution de Poisson.

A partir de la fréquence des aberrations dénombrées et de l'équation linéaire quadratique reliant la dose d'irradiation au nombre d'anomalies produites, nous avons pu construire des quatre (04) courbes dose-effets spécifiques pour les volontaires supposés sains voire de la population Burkinabé. Ces courbes dose-effet vont servir de courbe de référence pour la population Burkinabé : un complément à la dosimétrie physique déjà existante pour le suivi et l'évaluation des doses d'irradiation en cas de suspicion d'exposition professionnelle, accidentelle ou malveillante. Elles peuvent permettre d'apprécier la radiosensibilité des volontaires supposés sains voire de la population Burkinabé (un apport pour la radiothérapie en marche). Enfin, elles peuvent entre autre servir de courbe de calibration en cas d'implantation d'un laboratoire de dosimétrie biologique au Burkina Faso.

SUGGESTIONS

Au ministère de la santé

Soutenir toutes les initiatives de recherche dans le cadre de la radiobiologie radioprotection en disponibilisant des bourses de formation.

A l'autorité nationale de radioprotection et de sureté nucléaire

- Plus de vigilance dans le contrôle des sources de rayonnements ionisants surtout dans le domaine médical et des cours de radioprotection dispensés surtout dans les structures privées.
- Exiger au préalable avant toute autorisation d'importation et d'utilisation de source de rayonnements ionisants la désignation :
- D'une Personne Compétente en Radioprotection (PCR) pour la formation et le suivi du personnel
- D'un physicien médical pour le contrôle qualité des appareils

A tous les services détenteurs de source de rayonnement ionisants

- Se conformer au projet de l'autorité national de radioprotection et de sureté nucléaire (ARSN):
- Le respect strict des dispositions réglementaires en matière de sûreté, sécurité nucléaires à savoir que tout équipement susceptible d'émettre un rayonnement ionisant doit être soumis à une autorisation d'importation et à une autorisation d'utilisation.
- Le choix des personnes qualifiées pour l'utilisation des sources émettrices de rayonnement
- La désignation d'une Personnes Compétentes en Radioprotection (PCR) pour un meilleur suivi de la radioprotection des travailleurs et de tous les usagers du service
- Le recrutement d'un physicien médical pour l'assurance qualité (ensemble des opérations destinées à évaluer le maintien des performances revendiquées par le fabricant)
- Une équipe efficace de maintenance pour les interventions préventives (ensembles des activités destinées à maintenir ou à rétablir un dispositif médical dans un état ou dans des conditions de sureté de fonctionnement pour accomplir une fonction requise).

PERSPECTIVES

Les perspectives qui se dégagent à l'issu des résultats de cette étude sont les suivantes :

- Pouvoir mener une étude similaire pour tous ceux qui faisaient partie de nos critères de non inclusions (les fumeurs, les consommateurs d'alcool de kola etc.) avec une cohorte plus large. Cette étude nous permettra d'apprécier la radiosensibilité de ces personnes avec la radiothérapie en marche dans notre pays le Burkina Faso.
- Pouvoir réaliser un Background de la population burkinabé en vue d'apprécier le niveau d'exposition de notre pays au cœur de l'Afrique et au sud du Sahara.
- Pouvoir réaliser plus de courbe dose/effet des différentes sources d'exposition dont dispose le Burkina Faso selon les inspections et inventaires de l'Autorité de Radioprotection et de Sureté Nucléaire (ARSN) susceptible d'irradiation à tout moment les utilisateurs ou la population surtout avec l'insécurité grandissante : le cobalt 60, le césium 137, l'iridium 192 etc.
- A travers une coopération sous régionale œuvrer à la concrétisation d'un réseau de dosimétrie biologique en plus des laboratoires de dosimétrie physique existants dans chaque pays. Ce qui sera un atout pour une meilleure surveillance et suivi des travailleurs et des usagers de tous les services détenteurs de sources de rayonnements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA)**, Dosimétrie cytogénétique : Applications à la préparation et à la conduite des interventions d'urgence radiologique AIEA, VIENNE, 2013.
2. **ANDERSON R.M., MARSDEN, S.J, PAICE, S.J, BRISTOW, A.E, KADHIM, M.A, GRIFFIN, C.S, GOODHEAD, D.T.** Transmissible and non-transmissible complex chromosome aberrations characterized by three-color and mFISH define a biomarker of exposure to high-LET alpha particles. *Radiation Research*. 159:40 – 48. (2003).
3. **BENDER, M. A., AWA, A. A., BROOKS, A. L., EVANS, H. J., GROER, P. G., LITTLEFIELD, L. G., PEREIRA, C., PRESTON, R. J. and BUCHHOLZ, B. W.** Article universitaire, Etat actuel des procédures cytogénétiques pour détecter et quantifier les expositions antérieures aux rayonnements, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 196 (2), 1988, 103-159.
4. **Biau J., DEVUN F., VERELLE P., DUTREIX M.**, Dbait : Un concept innovant pour inhiber la réparation de l'ADN et contribuer aux traitements des cancers, *Bull Cancer*, 103 (3), 227-235, 2016,
5. **ÇAOUI M.**, Médecine Nucléaire- Hôpital International et Universitaire Cheikh Zaid Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, effet des rayonnements ionisants (RI), 2010-201
6. IRSN, Rapport scientifique et technique, L'homme et les rayonnements ionisants, 2007
7. **CLERC H.**, Commissariat à l'Energie Atomique, Direction des Applications Militaires Centre d'Etudes de Bruyères-le-Châte, Service Protection contre les Rayonnements, Effets biologiques des rayonnements ionisants et normes de radioprotection, Mars 1991
8. **COEQUYT S.**, Faculté de Médecine de LILLE, Effets biologiques des rayonnements, 2005.
9. **Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives**, De la radiologie à la radioprotection 3 > L'homme et les rayonnements, 2014
10. **Commissariat à l'Energie Atomique et aux énergies alternatives**, l'homme et les rayonnements, 2014.
11. **Cordoliani Y.S., Foehrenbach H.**, Radioprotection en milieu médical, Principes et mise en pratique, 3e édition, 2014, 227p.
12. **CRICK F.**, *Journal of Molecular Biology*, 38 ;1968, p367 – M.Shimizu, *Journal of Molecular Evolution*, 18, , p297, 1982
13. **DJEMIL T.**, 1ère ANNEE MEDECINE, Année 2015-16.
14. **DOLPHIN G.W., AGUILERA A., GELLERT M., HANAWALT PC., HAVS JB.**, Analyse des aberrations chromosomiques comme technique dosimétrique en radioprotection, *Physique de santé* 25 (1), 1973, 7-15

15. **DOSSOU J., LARTIGAU E., M'KACHER R., LEGAL J. D., BRIDIER A., GUICHARD M., ESCHWGE F., PARMENTIER C.**, Biological dosimetry after total body irradiation (TBI) for hematologic malignancy patients. *Int.J.Radiat. Oncology Biol. Phys.* Vol. 46, N°1, 2000, pp 123-129.
16. **DuFrain R.J., LITTLEFIELD LG., JOINER EE., FROME EI.**, Base médicale pour préparer aux accidents radiologique, 1980.
17. rayonnements 160 (4), 2003, 425-435
18. **FLEUTOT J.B.**, Les effets des rayonnements ionisants sur la sante (2015) 129
19. **FLEUTOT J.B.**, Les effets des rayonnements ionisants sur la sante, 2015, 129p.
20. **FOMINA J., DARROUDI F., BOEL JJWA., NATARAJAN AT.**, discrimination entre les échanges chromosomiques complets et incomplets dans les lymphocytes humains irradiés aux X à l'aide de FISH avec des sondes d'ADN pan-centromerique et spécifiques des chromosomes dans....., *Journal International de biologie des rayonnements* 76 (6), 2000, 867-813, 2000
21. **FRIEDBERG E.C., AGUILERA A., MARTIN G., HANAWALT P.C., HAYS J.B., LEHMANN A.R., LINDAHL T., LOWNDES N., SARASIN A., WOOD R.D.**, Réparation de l'ADN du mécanisme moléculaire à la maladie humaine 5(8), 13 Aout 2006, 986-96
22. **Ifsi-Biologie fondamentale – la cellule** (partie 1) 14.10.2016 Mise à jour le 22.10.16
[Https ://www.infirmier.com](https://www.infirmier.com) visité le 02/02/2018
23. **INSTITUT DE RADIOPROTECTION ET DE SURETE NUCLEAIRE (IRSN)**, Direction de la communication/CPRP.Création et PAO, La dosimétrie biologique par les aberrations chromosomiques radio induites, 2006, F4.V1.
24. **Institut de Radioprotection et de Sureté Nucléaire (IRSN)**, Evaluation par la dosimétrie biologique la dose reçue par une personne accidentellement irradiée, 2006
25. **International Atomic Energy Agency (IAEA)**, Technical Biological Domestry chromosomal Aberratio analysis for dose Assesement. Technical Report Vienna 10; 1986
26. **IRSN**, Le programme d'inter comparaison internationale de dosimétrie d'accident, 2002, p1-17.
27. **KADDOUR A., COLICCHIO B., BURON E., MAALOUF E., LAPLAGNE E., BORIE C.**, Transmission of Induced Chromosomal Aberrations through Successive Mitotic Divisions in Human Lymphocytes after In Vitro and In Vivo Radiation, 12 june 2017.
28. **KIAM M., MENGUE N., DEFFO G.**, SVT TC, structure de la cellule, tome 1, chapitre 1
29. **KNERHR S., ZITZELSBERGER., H, BAUCHINGER., M**, FISH-based analysis of radiation-induced chromosomal aberrations using different nomenclature systems, 135–141.*Int. J. Radiat. Biol*73. (1998).

30. **KODAMA Y., NAKANO M., OHTAKI K., DELONGCHAMP R., AWA AA., et NAKAMURA N.**, Estimation de la taille minimale des segments chromosomiques transloqués détectables par Hybridation In Situ en Fluorescence, *Revue Internationale de radiobiologie* 71 (1), 1997, 35-39
31. **LEFRANCOIS D., ACHKAR W.A.I., AURIAS A., COUTURIER J.**, Aberrations chromosomiques induites par l'étude d'irradiation gamma à faible dose des chromosomes en bande R de lymphocytes humains, *Recherche sur les mutations/Mécanismes fondamentaux et moléculaires de la mutagenèse* 212 (2), 1989, 167-172
32. **LLOYD D. C., EDWARDS A. A., PROSSER J. S.**, Chromosome aberrations induced in human lymphocytes by in vitro acute X-and gamma-radiation. *Radiat Protect Dosim* 15:83-88; 1986
33. **LLOYD D.C., EDWARDS, A.A.**, "Chromosome aberrations in human lymphocytes: effect of radiation quality, dose and dose rate", *Radiation Induced Chromosome Damage in Man* (ISHIHARA, T., SASAKI, M.S., EDS), ALAN R. LISS, New York 23-49. (1983).
34. **LLOYD DC., EDWARDS AA, Moquet JE, GUERREO-CARBAJAL** The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties, *Appl Radiat Isot* 52, 2000, 1107-1112.
35. **LOUCAS V. et al.**, Traitement initial du lymphome agressif avec une chimiothérapie à haute dose et un support de cellule souche autologues, *journal de médecine de la Nouvelle Angleterre*, 350 (13), 2004, 1287-1295.
36. **LUCAS G.S., PADOUE RA., MASTERS GS., OSCIER DG., JACOBS A.** L'application des sondes génétiques du chromosome X au diagnostic de la maladie proliférative, *Journal Britannique d'hématologie* 72 (4), 1989, 530-533
37. **M'KACHER R., LEGAL JD., SCHLUMBERGER M., VOISIN P., BERNHEIM A., AUBERT B., BERON N.**, Dosimétrie biologique séquentielle chez des patients traités par l'iode¹³¹ pour cancer différencié de la thyroïde, *Médecine Nucléaire* 7 (20), 1996, 476
38. **MAALEM A., BOUNAB N.**, Mémoire : Contribution de la Dosimétrie dans l'Analyse Cytogénétique des Aberrations Radio-induites, par une Dose de 1,5 et 5 Gy de Rayonnements Gamma, octobre 2016
39. **MESSAL D.A.N.**, Contribution au développement de la dosimétrie biologique en Algérie par les méthodes de cytogénétique, le 31 Octobre 2018
40. **M'KACHER R., EL MAALOUF E., TERZOUDI G., RICOUL M., HEIDINGSFELDER L., KARACHRISTOU I., LAPLAGNE E., HEMPEL W. M., COLICCHIO B., DIETERLEN A., PANTELIAS G., SABATIER L.**, Detection and automated scoring of dicentric chromosomes in non-stimulated lymphocyte prematurely condensed chromosomes after telomere and centromere staining. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 91:640-9; 2015

41. **M'KACHER R., MAALOUF E. E., RICOUL M., HEIDINGSFELDER L., LAPLAGNE E., CUCEU C., HEMPEL W.M., COLICCHIO B., DIETERLEN A., SABATIER L.,** New tool for biological dosimetry: reevaluation and automation of the gold standard method following telomere and centromere staining. *Mutat Res* 770:45-53; 2014.
42. **NCRP,** Radiological factors affecting decision-making in a nuclear attack. [Facteurs radiologiques ayant un impact sur la prise de décision lors d'une attaque nucléaire.] Rapport n° 42. Conseil national de protection radiologique et de mesures, Bethesda, MD ; 1974.
43. **NUREG,** Probabilistic accident consequence uncertainty analysis Early health effects uncertainty assessment. [Analyse des incertitudes sur les conséquences probabilistes d'accident : évaluation des incertitudes des effets précoces sur la santé.] CR-6545/EUR 16775. Commission de régulation de l'énergie nucléaire américaine, Washington DC, États-Unis, et Commission des Communautés européennes, Bruxelles, Belgique, 1997.
44. **ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ,** Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au transport des matières infectieuses, 2009-2010.
45. **PAOLETTI H.,** thèse de doctorat en médecine, Radioprotection-historique-surveillance dosimétrique du personnel d.a.t.r. du centre I berard de 1960 à 1988 et 6 septembre 1990.
46. **PATHAK, R., RAMAKUMAR, A., SUBRAMANIAN, U., and PRASANNA, P.G.S.,** Differential radio-sensitivities of human chromosomes 1 and 2 in interphase- and metaphase-spreads after ⁶⁰Co γ -irradiation in one human donor, *BMC Med. Phys.* **9** (2009) 1–8.
47. **PETER M.L. et al,** “ Hétérogénéité de la longueur des télomères des chromosomes humains,” *La Génétique Moléculaire Humaine (Human Molecular Genetics)*, no 5 (1996), 685-691
48. **PRASANNA P. G. S., KOLANKO C. J., GERSTENBERG H. M., BLAKELY W. F.,** Laboratory automation for Cytogenetic biodosimetry and Inter-Laboratory Comparaison of the Dicentric Assay, *Radioprotection*, 2008.
49. **Protection contre les Rayonnements,** Effets biologiques des rayonnements ionisants et normes de radioprotection, Mars 1991.
50. **ROY L.G.T.,** l'hybridation in situ fluorescente appliquée à la dosimétrie biologique : apport de l'automatisation dans le dénombrement des aberrations chromosomiques radio-induites, mai 1999.
51. **SARI-MINODIER I., PAUL D., COLETTI F., ORSIERE T., BOTTA A.,** Evaluation dosimétrique et biogénotoxique de l'exposition aux rayonnements ionisants, *Radioprotection* Vol 41, n°5, 2006, pages S209 à S226.
52. **SASAKI M.S., MIYATA H.,** Dosimétrie biologique chez les survivants de la bombe atomique, *Nature* 220 (5173), 1968, 1189-1193

53. **SOROKINE-DURM I.** (IPSN), **VOISIN P.** (IRSN), Les aberrations chromosomiques stables en dosimétrie rapport scientifique et technique 2 0 0 2
54. **SOUMBOUNDOU M., NKENGURUTSE I., DOSSOU J., COLICCHIO B., DJEBOU C., GADJI M., HOUENON G., DEM A., DEDJAN A, DIARRA M., ADJIBADE R., FINOT F., HEMPEL W., DIETERLEN A., ERIC J. D., RODRIGUEZ-LAFRASSE C., AND M'KACHER R.,** biological dosimetry network in Africa : establishment of a dose-response curve using telomere and centromere staining, 2019 volume 117
55. **SPEICHER M.R., GWYN BALLARD S, WARD, D.C.** Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nature Genetics* 12:368 – 375. Stephens, J.C, Cavanaugh, M.L, Gradie, M.I, Mador, M.L, Kidd, K.K. 1990. Mapping the human genome: Current status. *Science*.250:237 – 244. (1996).
56. **TUBIANA M.,** La prévention du cancer et la relation dose–effet : l’effet cancérigène des rayonnements ionisants, *Cancer/Radiothérapie* 13, 2009, 238–258.
57. **TUBIANA M., M.D.,** Dose–effect relationship and estimation of the carcinogenic effects of low doses of ionizing radiation: the joint report of the academie des sciences (paris) and of the academie nationale de médecine. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* Vol. 63, 2005, 317–319.
58. **TUBIANA M.,** Radiobiologie, Radioprotection, Bases fondamentales, Paris, 2008
59. **UNSCEAR,** Comité scientifique des Nations unies pour l’étude des effets des rayonnements ionisants. Sources, Effects and Risks of Ionizing Radiation.[Sources, effets et risques des rayonnements ionisants.] Rapport de 1988 à l’Assemblée générale avec des annexes, Nations unies, New York, 1988
60. **VIANNA F.** thèse de doctorat, université de Bordeaux, micro-irradiation ciblée par faisceau d’ions pour la radiobiologie in vitro et in vivo 26 mars 2014
61. **Victor J. M.,** Structure de l’Acide Désoxyribonucléique, 2012
62. **www.cnrtl.fr/definition/radiobiologie** consulté le 10 Février 2019
63. **[www.http://Atlasgeneticsoncology.org/Educ/StructurChrom ID 30063FS.html](http://Atlasgeneticsoncology.org/Educ/StructurChrom ID 30063FS.html)** vu le 12/06/2017
64. **[www.http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p100/cours_1.pdf](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p100/cours_1.pdf)** consulté le 20 mars 2018
65. **www.IRSN et www.sante public LU « radioactivité »** consulté le 20/09/2016
66. **WATSON JD., FRANCIS HC.,** A structure for desoxyribose Nucleic Acid, *Nature*, 171p. 737-738 (1953).



ANNEXES

ANNEXES 1

Formulaire de recueil du consentement libre et éclairé des participants lettrés

(En 2 exemplaires)

Je, _____ (*nom en caractères d'imprimerie*),
déclare avoir lu et/ou compris le présent formulaire et j'en ai reçu un exemplaire. Je comprends la nature et le motif de ma participation au projet. J'ai eu l'occasion de poser des questions auxquelles on a répondu, à ma satisfaction.

Par la présente, j'accepte librement de participer au projet.

Fait à Ouagadougou, le

2018

« *Signature du participant précédé
de la mention « lu et approuvé »* »

Déclaration de responsabilité de l'investigateur principal de l'étude

J'ai expliqué les conditions de participation au projet de recherche au participant. J'ai répondu selon ma connaissance aux questions qui me sont posées et je me suis assuré de la compréhension du participant.

Moi, Albert GUINGANI investigateur principal de l'étude, déclare que je suis responsable du déroulement du présent projet de recherche. Je m'engage, 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 de l'investigateur principal

Formulaire de recueil du consentement libre et éclairé des participants illettrés

(en 2 exemplaires)

Je, _____ (*nom en caractères d'imprimerie*), déclare après les explications reçues, avoir compris le présent formulaire et j'en ai reçu un exemplaire. Je comprends la nature et le motif de ma participation au projet. J'ai eu l'occasion de poser des questions auxquelles on a répondu, à ma satisfaction.

Par la présente, j'accepte librement de participer au projet.

Fait à Ouagadougou, le.....2018

Signature du ou de la participant(e)

Je, témoin principal, certifie avoir expliqué à la participante ou au participant intéressé(e) les termes du présent formulaire, avoir répondu aux questions qu'il ou qu'elle m'a posées à cet égard et lui avoir clairement indiqué qu'il ou qu'elle reste, à tout moment, libre de mettre un terme à sa participation au projet de recherche décrit ci-dessus. Je m'engage à garantir le respect des objectifs de l'étude et à respecter la confidentialité.

Signature du témoin principal

Déclaration de responsabilité de l'investigateur principal de l'étude

Je, _____ investigateur principal de l'étude, déclare que : moi et mon collaborateur (témoin principal) sommes responsables du déroulement du présent projet de recherche. Nous nous engageons à respecter les obligations énoncées dans ce document et également à vous informer de tout élément qui serait susceptible de modifier la nature de votre consentement.

Signature de l'investigateur principal

ANNEXES 2

FORMULAIRE DE RECRUTEMENT DES DONNEURS VOLONTAIRES SAINS

Dans le cadre de la rédaction de notre mémoire de fin d'étude en master de recherche Radiobiologie /Radioprotection dont le thème est **l'analyse des aberrations chromosomiques radio-induites par la dosimétrie biologique cytogénétique des lymphocytes circulants des donneurs volontaires sains burkinabé**, nous venons par ce présent questionnaire solliciter votre franche participation à notre projet d'étude en vue d'un aboutissement heureux de ce travail qui certes sera d'un atout considérable pour notre très chère patrie qu'est le Burkina-Faso.

Nous vous rassurons que toutes les informations recueillies vous concernant seront conservées de façon confidentielle et leurs transmission pour l'expertise ou pour la publication scientifique sera elle aussi anonyme.

I.IDENTITE

- ❖ CODE DU DONNEUR:.....Sexe.....Age.....
- ❖ ADRESSE : Tel:
Email :.....
- ❖ OCCUPATION PRINCIPALE :.....
- ❖ OCCUPATION SECONDAIRE :.....
- ❖ NIVEAU D'ETUDE : Non scolarisé (e) Primaire
secondaire Universitaire

II.HABITUDES ALIMENTAIRES :

- ❖ ALCOOL : OUI NON
- ❖ TABAC : OUI NON
- ❖ COLA : OUI NON

III.EXPOSITIONS AUX RAYONNEMENTS IONISANTS

- ❖ RADIOGRAPHIE SCANNER
- ❖ IRM SCINTIGRPHIE
- ❖ RADIOTHERAPIE CHIMIOOTHERAPIE

**IV.CONTACT AVEC LES FACTEURS RADIOSENSIBILISATEURS OU FACTEURS
DE CONFUSION**

- ❖ PESTICIDES : OUI NON
- ❖ POLLUTION INDUSTRIELLE : OUI NON

Merci pour votre participation à notre projet d'étude.

Fait à Ouagadougou, le.....2018

SIGNATURE DU VOLONTAIRE SAIN

ANNEXE 3

MINISTRE DE LA SANTE

MINISTRE DES ENSEIGNEMENTS
SUPERIEURS, DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE ET DE L'INNOVATION

COMITE D'ETHIQUE POUR
LA RECHERCHE EN SANTE (CERS)

BURKINA FASO
UNITE - PROGRES - JUSTICE

CERTIFICAT ETHIQUE

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

Au

Monsieur GUINGANI Albert
Etudiant

Je voudrais par le présent porter à votre connaissance que le **Comité d'éthique pour la recherche en santé (CERS)**, par délibération N° 2017-12-179, après examen de votre protocole intitulé : «Analyse des aberrations chromosomiques radio-induites dans les lymphocytes circulants des donneurs volontaires sains burkinabé par la dosimétrie biologique cytogénétique»,

- 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



* Pr. Sani KODANDA, Directeur de recherche
Membre de l'Ordre des Palmes Académiques

TABLE DES MATIERES

Liste des enseignants de la formation de Master Radiobiologie-radioprotection	I
DEDICACE.....	II
REMERCIEMENTS	IV
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES ABREVIATIONS	XII
RESUME.....	XIII
ABSTRACT	XIV
INTRODUCTION.....	2
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1.1.1. Quelques grandeurs dosimétriques	6
1.2. Interaction des rayonnements ionisants avec la matière.....	8
1.2.1. Action physico-chimique des R.I.....	8
1.2.2. Interactions des R.I. à l'échelle cellulaire	9
1.2.3. Effets des R.I. à l'échelle moléculaire : la molécule d'ADN.....	13
1.2.4. Les effets des R.I. sur l'organisme ou la radio-pathologie	18
1.3. Notion de dosimétrie biologique	21
1.3.1. Principe de la dosimétrie biologique.....	21
1.3.2. Différentes techniques cytogénétiques en dosimétrie biologique.....	21
1.3.3. Apport de la dosimétrie biologique en cas d'urgence radiologique.....	25
CHAPITRE 2 : METHODOLOGIE	29
2.1. CADRE DE L'ETUDE	30
2.1.1. Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS).....	30
2.1.2. Laboratoire « Cell Environment »	30
2.2. MATERIEL	30
2.2.1. Tubes à héparine de lithium	30
2.2.2. Matériel biologique	30
2.2.3. Matériel pour le transport des échantillons en France	31
2.2.4. Matériel pour l'irradiation des échantillons	31
2.2.5. Matériel pour les examens cytogénétiques	31
2.3. METHODE DE L'ETUDE	31
2.3.1. Type et période d'étude	31

2.3.2. Echantillonnage.....	31
2.3.3. Considérations éthiques	32
2.3.4. Méthode d'obtention des aberrations chromosomiques	33
2.3.5. Obtention d'une courbe dose-effet.....	38
2.3.6. Analyse statistique des données	39
2.3.7. Diffusion des résultats.....	40
CHAPITRE 3 :	41
RESULTATS ET DISCUSSION.....	41
3.1. RESULTATS.....	42
3.1.1. Informations générales sur les volontaires supposés sains	42
3.1.2. Résultats cytogénétique : Distribution des aberrations chromosomiques instables dénombrées chez les 5 volontaires sains.....	42
3.1.4. Equations linéaires quadratiques des dicentriques, des rings, des dicentriques + rings, des CDB et la réalisation des courbes doses-effet correspondantes	47
3.2. DISCUSSION.....	51
3.2.2. Fréquence de la distribution des anneaux centriques et fragments acentriques.....	52
3.2. 3. Analyse des courbes dose-effet réalisées	53
Les limites ou contraintes liés à la réalisation de cette étude :	54
□ Le manque de laboratoire de dosimétrie biologique cytogénétique dans la sous- région à été d'un impact sur concrétisation rapide de cette étude.	54
CONCLUSION, SUGGESTIONS ETPERSPECTIVES.....	55
CONCLUSION	56
SUGGESTIONS.....	57
PERSPECTIVES.....	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59
ANNEXES	64
ANNEXES 1	64
ANNEXES 2	67
ANNEXE 3	69