



Université d'Abomey-Calavi (UAC)

-----◇-----

Ecole Doctorale des Sciences de l'Ingénieur (ED-SDI)

-----◇-----

**Master de Recherche en Radiobiologie et Radioprotection**

## **RAPPORT DE STAGE**

**Thème :**

### **CARACTERISATION DES MICRONOYAUX DANS LES LYMPHOCYTES CIRCULANTS DANS UNE POPULATION BENINOISE**

**Présenté par :**

**Catherine DJEBOU HOUETO**

Ingénieur des Travaux en Imagerie Médicale

**Sous la direction de :**

**Prof. Julien DOSSOU**

Maître de Conférences (CAMES)

Département de Génie d'Imagerie Médicale et de Radiobiologie

Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi/UAC

Coordonnateur du Master de Radiobiologie/E.D.S.I

Administrateur Général du Centre Autonome de Dosimétrie OSL des RI/AIEA

## REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements à :

- Notre maître de mémoire DOSSOU Julien, Maître des Conférences des Universités du CAMES, en dirigeant ce travail, m'a fait bénéficier de ses conseils, de ses critiques et de son expérience. Qu'il trouve ici le témoignage de notre plus profonde gratitude;
- Madame M'KACHER Radhia, Maître de Conférences en cytogénétique pour la qualité de son encadrement scientifique, pour avoir aidé à faire la culture et l'analyse des échantillons dans son laboratoire et ses encouragements ;
- Monsieur FOURN Léonard, Professeur Titulaire des Universités du CAMES, qui nous a beaucoup encouragés dans l'élaboration de ce mémoire;
- Monsieur CHABI Nicodème, Professeur Titulaire des Universités du CAMES qui nous a apporté une aide indispensable dans l'élaboration de ce travail.  
Qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance;
- Nos remerciements vont également à l'endroit de tous les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous font en participant à l'examen de ce mémoire ;
- Nous tenons à remercier très sincèrement notre famille pour son soutien indéfectible de tous les jours ; ses conseils et pour l'intérêt qu'elle a toujours porté à ce travail;
- Un vif remerciement à tous ceux qui ont accepté participer à ce travail;
- Nous remercions très vivement Monsieur SOROHEYE Pascal pour les précieux renseignements qu'il nous a apportés dans la rédaction de ce mémoire ;
- Nous remercions très chaleureusement tout le personnel du service de l'Imagerie Médicale du Centre Hospitalier de Zone Suru Léré pour leur soutien et la bonne ambiance dans laquelle nous travaillons tous les jours;
- Il m'est enfin très agréable d'associer ma reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.



## **HOMMAGES**

Monsieur le président du jury ;

C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre soutenance de mémoire de fin de formation.

Soyez assuré que vos conseils et recommandations seront pris en compte pour améliorer ce travail.

Messieurs les membres du jury ;

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Nous restons persuadée que vos remarques seront pour nous une source de progrès.

Recevez chers Maîtres, nos hommages respectueux.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique

**AC:** Aberration chromosomique

**ARN:** Acide ribonucléique

**BN:** Cellule binucléée

**BDB :** Bris double-brin

**CYT:** Cytokinèse

**CBMN:** Cytokinesis-block Micronucleus

**ERO:** Espèces réactives de l'oxygène

**FISH:** Fluorescent in situ hybridization, hybridation *in situ* en fluorescence

**LT:** Lymphocytes

**MN:** Micronoyaux

**MN-T:** Micronoyaux avec télomère

**MN-T+C:** Micronoyaux avec télomères et centromères

**NPB:** Pont anaphasique

**NBUD:** Bourgeon

**NTIC:** Technologie de l'information et de la communication

**PCR:** Polymerase chain reaction, réaction de polymérisation en chaîne.

**RI:** Rayonnements ionisants

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : : Cellules binucléées contenant des MN. Les flèches pointent les MN (Source PHAM 2011)	7
Figure 2 : Schéma des lésions d'ADN engendrées par les rayons X (Lemort ; 2013-2014)	12
Figure 3 : Image des conséquences de l'irradiation cellulaire (Lemort ; 2013-2014)	13
Figure 4 : Irradiation délivrée par différents appareils radiologiques	15
Figure 5 : Différentes anomalies chromosomiques de structure. (PHAM, 2011)	17
Figure 6 : Lymphocyte, vu par un microscope électronique à balayage.(Guidos 2006)	19
Figure 7 : Lymphocyte normal coloration de May-GrünwaldGiemsa (Guidos 2006).	20
Figure 8 : Description de la structure d'un chromosome (Le caignec ; 2010-2011)	22
Figure 9 : : Une cellule binucléée respectant les critères de sélection. Source : Lemieux ; 2003.	27
Figure 10 : Une cellule binucléée contenant un MN. Source : Lemieux 2003	28
Figure 11: Schéma résumant les différentes étapes de l'analyse de la fréquence des MN dans les lymphocytes sanguins humains.	29
Figure 12 : Répartition selon le sexe	31
Figure 13 : Répartition selon l'âge	31
Figure 14 : Répartition selon l'ancienneté	32
Figure 15 : Homme apparemment sain âgé de 30 ans.	34
Figure 16 : Homme apparemment sain âgé de 35ans	34
Figure 17 : Femme apparemment saine âgée de 33ans	35
Figure 18 : Homme apparemment sain âgé de 34ans	35
Figure 19 : Homme apparemment sain âgé de 34ans	36
Figure 20 : Homme sous RX âgé de 50 ans et ayant 20 ans de service	37
Figure 21 : Homme sous RX âgé de 53 ans et ayant 20 ans de service	37
Figure 22 : : Femme sous RX âgée de 47 ans et ayant 20 ans de service	38
Figure 23 : Homme sous RX âgé de 45 ans et ayant 15ans de service	38
Figure 24 : Homme sous RX âgé de 42 ans et ayant 13 ans de service	39
Figure 25 : Micronoyaux avec pont anaphasique sans télomère et centromère	39

Figure 26: Micronoyaux avec pont anaphasique sans télomère , centromère et avec télomère,  
centromère..... 40

## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I : Types de rayonnement ionisant (www.insr.fr) Consulté le 10 Février 2021 .....	9
Tableau II : Effets des rayons X en fonction de la dose reçue et de la zone irradiée .....	15
Tableau III : Population apparemment saine .....	33
Tableau IV : Travailleur sous RI.....	36
Tableau V : Tableau résumant le nombre total de MN observé dans les deux groupes .....	41

## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS .....	i
HOMMAGES .....	ii
RESUME .....	viii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUCTION .....	1
1. GENERALITES.....	3
1.1 PROBLEMATIQUE.....	4
1.2 RAPPEL.....	7
1.3 Problématique de survenue des micronoyaux .....	17
2. CADRE, MATERIEL ET METHODES DE RECHERCHE.....	23
2.1 Cadre d'étude.....	24
2.2 Matériel et Méthodes.....	24
2.3 Type et période de l'étude.....	25
2.4 Obtention des MN dans les cellules binucléées .....	25
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS .....	30
3.1 Caractéristiques générales de la population.....	31
3.2 Résultats de l'étude Cytogénétique.....	32
CONCLUSION .....	45
ANNEXE.....	X

## RESUME

Le cancer est un désordre issu du métabolisme cellulaire. Il ne se déclare qu'après une perte de mémoire au cours de la division cellulaire, donc il est essentiel de développer des biomarqueurs précoces qui peuvent aider à déterminer et à prévenir les risques génotoxiques.

Le test des micronoyaux devient de plus en plus utilisé parce qu'il est plus facile à réaliser et parce que l'analyse des micronoyaux se fait plus rapidement que l'analyse des métaphases dans le test des anomalies chromosomiques. Ainsi notre objectif général est de comparer les micronoyaux dans les lymphocytes circulants des personnes travaillants ou non sous rayonnements ionisants. Pour y parvenir, notre étude a pour cible la ville de Cotonou.

Il s'agit d'une étude transversale, comparative et descriptive cas-témoins. La population d'étude est constituée de deux groupes : les personnes apparemment saines et les personnes travaillant sous rayonnements ionisants. Tous les individus ont été sélectionnés de façon aléatoire.

Au total, dix (10) personnes ont été explorées dont 05 non exposées aux rayonnements ionisants et 05 personnes exposées aux rayonnements ionisants.

La population des exposées et des non exposées est composée d'un groupe contenant 04 hommes et une femme. L'âge moyen des exposées est de 47,4 ans et l'âge moyen des non exposées est de 32,8 ans.

Le test des micronoyaux a été utilisé comme indicateur biologique des dommages produits à l'ADN suite à une exposition aux rayonnements ionisants. Le taux moyen des micronoyaux identifiés dans la population des non exposés est de 20 MN alors que ce taux est de 115 dans la population des exposés. Le taux moyen de micronoyaux est considérablement plus élevé chez la population exposée que chez la population non exposée.

En somme la génotoxicité des rayonnements ionisants est patente ; mais l'importance et la gravité des conséquences pour la santé restent actuellement difficiles à prévoir.

**MOTS CLES :** Micronoyaux, rayonnement ionisant, génotoxicité, Centromères, télomère, les lymphocytes, aberrations chromosomiques.

## ABSTRACT

Cancer is a disorder resulting from cellular metabolism. It only occurs after a latency period, so it is essential to develop early biomarkers that can help identify and prevent genotoxic risks.

The micronucleus test is becoming more and more popular because it is easier to perform and because the analysis of MN is done more quickly than the analysis of metaphases in the test for chromosomal abnormalities. Thus our general objective is to compare the micronuclei in the circulating lymphocytes of people working or not under ionizing radiation. To achieve this, our study targets the city of Cotonou.

This is a cross-sectional, comparative and descriptive case-control study. The study population consists of two groups: apparently healthy people and people working under ionizing radiation. All individuals were randomly selected.

A total of ten ( 10) people were explored, including 05 not exposed to ionizing radiation and 05 people exposed to ionizing radiation.

The exposed and unexposed population consists of a group containing 04 men and one woman. The average age of exposed is 47.4 years and the average age of unexposed is 32.8 years.

The micronucleus test has been used as a biological indicator of DNA damage resulting from exposure to ionizing radiation. The average rate of micronuclei identified in the population of unexposed is 20 MN while this rate is 115 in the population of exposed. The average micronucleus level is considerably higher in the exposed population (115 MN) than in the unexposed population (20 MN). This difference is very significant.

In short, the genotoxicity of ionizing radiation is obvious; but the magnitude and severity of the health consequences are currently difficult to predict.

**KEY WORDS:** Micronuclei, ionizing radiation, genotoxicity, Centromeres, telomere, chromosomal aberration, lymphocytes.

## INTRODUCTION

La présente étude a été motivée par le manque de documentation sur l'existence ou pas des micronoyaux dans une population béninoise apparemment saine. *Koughblenou et al. (2008)* avaient étudié les micronoyaux dans l'évaluation du risque de génotoxicité de l'eau et de la rivière Okpara à Kika au Bénin où ils avaient identifié la présence de quelques micronoyaux chez les personnes buvant de l'eau apparemment saine. Les rayonnements ionisants sont un type d'énergie libérée par les atomes sous forme d'ondes ou de particules. Les populations sont exposées à des sources naturelles de rayonnements ionisants tels que le sol, l'eau, la végétation, ainsi qu'à des sources artificielles telles que sources de rayon X. À mesure que l'usage des rayonnements ionisants se multiplie, les dangers pour la santé, s'ils ne sont pas correctement utilisés ou confinés, augmentent.

Au Bénin, les enjeux économiques liés à l'industrialisation du pays, les nouvelles technologies de communication peuvent avoir d'effets sur la population apparemment saine.

Dans ce contexte de santé publique, il a été envisagé de mener un sujet de recherche sur les micronoyaux dans la population béninoise qui permettrait d'étudier les anomalies chromosomiques qu'aurait engendrées une telle situation.

Notre objectif est alors d'identifier les micronoyaux dans une population apparemment saine et de voir s'il existe une corrélation entre l'exposition aux rayonnements ionisants et la survenue des micronoyaux conséquents dans les lymphocytes circulants. Les expositions aux sources naturelles peuvent avoir des conséquences sanitaires importantes sur la population. En effet, les lymphocytes sont issus d'un processus complexe de multiplication et de différenciation cellulaire. Chaque espèce est définie par le nombre et la forme des chromosomes contenus dans les noyaux lymphocytaires. A chaque génération des agressions externes modifiant le nombre ou la forme d'un ou de plusieurs chromosomes. Si les expositions aux sources naturelles d'irradiation peuvent avoir des conséquences sanitaires sur la population apparemment saine, qu'en

est-il alors de ceux qui sont exposés quotidiennement aux rayonnements ionisants, c'est-à-dire ceux qui travaillent sous les rayons X ?

Pour répondre à cette préoccupation nous allons identifier les micronoyaux dans la population des travailleurs sous rayonnements ionisants.

### **1. Objectif général**

L'objectif général est de comparer les micronoyaux dans les lymphocytes des personnes travaillant ou non sous rayonnements ionisants.

### **2. Objectifs spécifiques**

Pour atteindre l'objectif général, des objectifs spécifiques ont été définis.

Il s'agit ici de :

- ✚ rechercher les micronoyaux dans les lymphocytes circulants de quelques béninois apparemment sains;
- ✚ identifier les micronoyaux dans les lymphocytes circulants de quelques béninois travaillant sous rayonnements ionisants.

### **3. Hypothèses de recherche**

**3.1** En absence d'irradiation dans une population de Cotonou apparemment saine, il n'y a normalement pas plus de 0 à 40 micronoyaux pour 1 000 cellules binucléées.( Fenech , M.1994)

**3.2** On trouve des micronoyaux dans les lymphocytes circulants de quelques béninois travaillant sous rayonnements ionisants.

Notre travail de recherche s'articulera autour de quatre (04) chapitres.

Le premier chapitre abordera les généralités.

Le second chapitre sera consacré au cadre matériel et méthode de recherche.

Dans le troisième chapitre, nous présenterons les résultats obtenus assortis d'une discussion et nous ferons quelques suggestions.

## **1. GENERALITES**

## 1.1 PROBLEMATIQUE

L'utilisation fréquente de rayonnements ionisants pour des applications médicales, industrielles, agricoles, de recherche et militaires augmente le risque de surexposition des travailleurs et des personnes. Les rayonnements ionisants peuvent porter atteinte à la forme des chromosomes par suite de perturbations locales de la structure moléculaire de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Malgré des mécanismes de réparation efficaces, un nombre réduit de dommages peuvent subsister et entraîner l'apparition d'aberrations chromosomiques observables au sein des lymphocytes sanguins. (SAX, 1938)

Depuis des décennies, des efforts ont été fournis pour réduire les effets secondaires des rayonnements ionisants.

La découverte des dosimètres a permis de révolutionner la gestion de ces rayonnements. Si la dosimétrie physique permet de déterminer quantitativement la dose de rayonnement absorbée par un organisme vivant, elle ne permet pas de connaître les effets biologiques de ces rayonnements sur les tissus sanguins ou sur les chromosomes, d'où l'importance du test des micronoyaux. Les rayonnements ionisants induisent la formation de fragments chromosomiques acentriques et, de manière limitée, une mauvaise séparation de chromosomes entiers. Les fragments chromosomiques acentriques et les chromosomes entiers qui ne peuvent interagir avec le fuseau sont en retard lors de l'anaphase et, par conséquent, ne font pas partie du noyau principal des cellules filles. Un fragment chromosomique ou un chromosome entier en retard se transforme en petit noyau distinct, d'où le terme de micronoyau.

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

la cytokinèse, la cytochalasine B, a été développée. À l'aide de la cytochalasine B, *Fenech et Morley* en 1985, ont pu montrer que des cellules qui avaient subi une division nucléaire complète pouvaient s'accumuler et apparaître comme des cellules binucléées.

Il était alors possible de compter spécifiquement et efficacement les micronoyaux dans ces cellules binucléées tout en excluant les cellules mononucléées qui ne se divisaient pas et ne pouvaient provoquer l'apparition de micronoyaux *in vitro*.

L'analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse (CBMN) qui en a résulté est depuis devenue la méthode classique de comptage des micronoyaux dans des lymphocytes cultivés. Il a ainsi été établi que le comptage des micronoyaux présents dans des lymphocytes mononucléaires d'étalements sanguins classiques pouvait être particulièrement utile pour surveiller les lésions génétiques dans les populations exposées de manière chronique (*PHAM, 2011*). Il convient de souligner que la dosimétrie cytogénétique est utilisée comme un dosimètre et fournit l'un des éléments d'information nécessaires pour évaluer la sévérité d'un accident nucléaire ou d'exposition. Les sources des irradiations ne concernent pas seulement les sources professionnelles ou accidentelles, mais elles peuvent être naturelles. Les populations sont exposés à des sources de rayonnements naturelles comme le sol, l'eau, la végétation et les sources cosmiques. Depuis sa création, l'environnement a été exposé aux rayonnements provenant de l'espace et des matières radioactives présentes dans la croûte et le noyau terrestre. Il est impossible d'échapper à l'exposition de ces sources naturelles qui représentent en réalité la majorité des cas d'exposition aux rayonnements ionisants de la population mondiale. La dose efficace moyenne annuelle par personne est d'environ 2,4 msv et varie d'environ 1 à plus de 10 msv selon le lieu d'habitation. Les rayons cosmiques représentent la principale source naturelle d'exposition externe aux rayonnements ionisants ; certains sont émis par le soleil lors d'éruptions solaires. Ils irradient directement la terre et entrent en interaction avec l'atmosphère, produisant différents types de rayonnement et de substances radioactives (*PNUE, 2016*).

Plusieurs travaux scientifiques ont montré que compte tenu de leur énergie, les rayonnements ionisants ont un effet néfaste sur les cellules vivantes et particulièrement sur l'ADN. Ces rayonnements peuvent ainsi induire des modifications ou ruptures de la chaîne d'ADN, réparables ou non. Les effets ainsi produits peuvent être :

- ✚ stochastiques (aléatoire) pour des faibles doses d'irradiation et dans le cas où la cellule a réussi à se réparer mais de manière incomplète, entraînant ainsi des modifications de sa fonction. Les effets sanitaires de ces atteintes à l'ADN sont peu étudiés au Bénin en particulier dans la population normale. Ce sont des effets rares qui apparaissent de façon aléatoire secondairement à des lésions non létales (mutations).
- ✚ déterministes pour des doses plus fortes, entraînant la mort de la cellule à plus ou moins court terme. Ils apparaissent au-delà d'une « dose seuil » dont la valeur est généralement connue pour une lésion donnée. Une fois que le seuil est atteint les effets apparaissent de façon obligatoire (*Haton, 2005*).

La fréquence de référence des micronoyaux est considérée comme assez variable, des valeurs comprises entre 0 et 40 micronoyaux pour 1000 cellules binucléées ayant été signalées. Les deux principaux facteurs qui influent sur cette fréquence, en plus de facteurs alimentaires et de l'exposition à toute une série d'agents clastogènes et aneugènes environnementaux, sont l'âge et le sexe.

Des études de biosurveillance à grande échelle ont montré que la fréquence naturelle des micronoyaux augmenterait systématiquement avec l'âge. Pour une population témoin masculine, des études sur les travailleurs d'une centrale nucléaire et d'un hôpital ont fait apparaître respectivement des hausses de 0,35 MN/1000 cellules binucléées/an et de 0,44 MN/1 000/an. Ces chiffres sont en accord avec les résultats obtenus par l'étude à grande échelle de *Fenech et Morley en 1985* sur les variables qui influent sur la fréquence de référence des micronoyaux : 0,31 MN/1 000/an. Pour une population témoin féminine, une augmentation plus importante de 0,58 MN/1 000/an a été constatée (*PHAM, 2011*). Le chromosome X est presque entièrement responsable

de ces pertes de chromosomes qui se produisent spontanément. Cela explique les différences entre les sexes pour la fréquence naturelle des micronoyaux (Fenech, 1993).

C'est pour apporter des réponses adéquates à ces préoccupations et combler un vide scientifique que nous avons jugé utile de mener la présente étude intitulée « Caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes circulants dans une population béninoise ». Les donneurs objets de cette étude sont ceux qui habitent régulièrement Cotonou depuis au moins deux ans.

Dans une population de Cotonou apparemment normale, pourrions-nous identifier des porteurs de micronoyaux ?

## 1.2 RAPPELS

### 1.2.1 Micronoyaux

Un micronoyau est dans une cellule vivante, une « entité nucléaire » qui s'est anormalement formée hors du noyau cellulaire (il peut y avoir plusieurs micronoyaux dans une cellule).

La figure suivante nous montre l'aspect de quelques cellules binucléées contenant des micronoyaux.

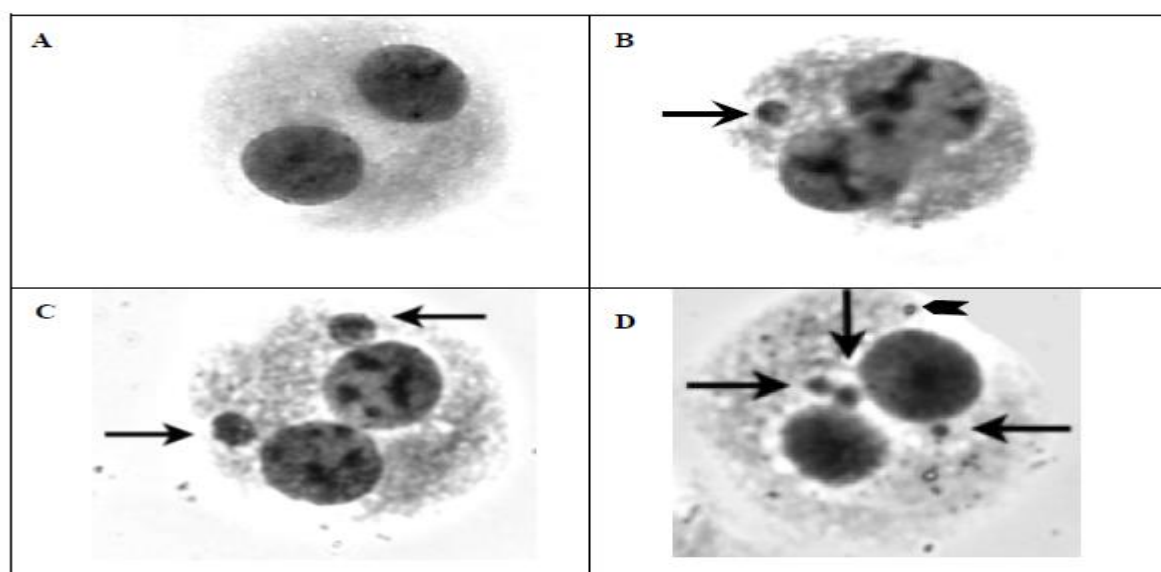


Figure 1 : Cellules binucléées contenant des MN. Les flèches pointent les MN (Source PHAM 2011)

**A** – Absence de MN dans une cellule BN. **B** – Présence d'un MN dans une cellule BN. **C** – Présence de deux MN. **D** – Présence de trois MN. La tête de flèche montre une inclusion cytoplasmique qui ne doit pas être comptabilisée comme un MN, car sa dimension est trop petite (moins de 1/16 du diamètre d'un des noyaux principaux).

### **1.2.1.1 Origine des micronoyaux**

Les micronoyaux se forment à partir d'une perte de fragments de chromosomes ou de chromosomes entiers au moment de la division nucléaire.

Cette perte peut être induite par un ou des agent(s) génotoxique(s) et clastogène(s) (c'est-à-dire responsable de cassures du double brin de la molécule d'ADN) ou induite par un agent « aneugène » (c'est-à-dire altérant l'appareil mitotique qui permet la division cellulaire) (Bonassi *et al.*,2006).

### **1.2.1.2 Test des micronoyaux**

Le test des micronoyaux (ou test de numération des micronoyaux) est un test écotoxicologique ou de biomonitoring très utilisé, basé sur la détection et le comptage des micronoyaux dans des cellules exposées (généralement *IN VITRO*) à un agent génotoxique ou supposé tel.

Le test des micronoyaux est l'une des déclinaisons des tests d'anomalie chromosomique. Il permet notamment d'évaluer une exposition récente (heures, jours).

## **1.2.2 Principaux rayonnements ionisants**

Les rayonnements les plus énergétiques transfèrent assez d'énergie aux électrons de la matière pour les arracher de leur atome. Les atomes ainsi privés de certains de leurs électrons sont alors chargés positivement. Les atomes voisins qui accueillent les électrons se chargent négativement. Les atomes chargés positivement ou négativement sont appelés ions. Les atomes qui ont perdu au moins un électron sont devenus des ions positifs (cations), tandis que les atomes qui ont reçu au moins un électron sont devenus des ions négatifs (anions). Les rayonnements capables de provoquer de telles réactions

sont dits ionisants. Par leur énergie, les rayonnements ionisants sont pénétrants, c'est-à-dire qu'ils peuvent traverser la matière. Le pouvoir de pénétration dépend du type de

rayonnement et du pouvoir d'arrêt de la matière. Cela définit des épaisseurs différentes de matériaux pour s'en protéger, si nécessaire et si possible ([www.insr.fr](http://www.insr.fr) consulté le 05 Janvier 2021)

Le tableau suivant montre les types de rayonnement ionisants, leurs charges élémentaires ainsi que leurs masses.

*Tableau 1 : Types de rayonnement ionisant ([www.insr.fr](http://www.insr.fr) Consulté le 10 Février 2021)*

Type de rayonnement		Rayonnement ionisant	Charge élémentaire	Masse (MeV/c <sup>2</sup> )
Rayonnements électromagnétiques	Indirectement ionisant	Rayonnement ultraviolet lointain	0	0
		Rayon X		
		Rayon gamma		
Rayonnements particulaires	Indirectement ionisant	Neutron	0	940
	Directement ionisant	Électron / particule $\beta^-$	-1	0,511
		Positron / particule $\beta^+$	+1	0,511
		Muon	-1	106
		Proton	+1	938
		Ion $^4\text{He}$ / particule $\alpha$	+2	3730
		Ion $^{12}\text{C}$	+6	11193
		Autres ions	Variable	Variable

### 1.2.2.1 Effets des rayonnements ionisants sur l'organisme

Un rayonnement qui pénètre dans la matière interagit avec les éléments du milieu et transfère de l'énergie. Un rayonnement ionisant possède assez d'énergie pour créer des

dommages dans la matière qu'il traverse. Un rayonnement ionisant atteignant un organisme vivant peut endommager ses constituants cellulaires (ADN, organites), alors que tous les jours, nous sommes exposés à une faible dose de rayonnement.

Heureusement, dans ces conditions, des mécanismes intracellulaires permettent de réparer les lésions produites. En revanche, en cas d'exposition à de fortes doses, ces mécanismes sont dépassés et peut alors apparaître un dysfonctionnement de l'organisme, une pathologie, voire la mort (*Haton, 2005*).

C'est pourquoi dans l'idéal, l'exposition aux rayonnements ionisants, lorsqu'elle est nécessaire ou inévitable, doit rester la plus faible possible en vertu des principes de radioprotection.

### **1.2.2.2 Effets biologiques associés aux rayons X**

#### **Effet pathologique par action directe**

Les photons des rayons X, ou électrons de haute énergie éjectés, ionisent et interagissent directement avec les macromolécules biologiques vitales telles que l'ADN, l'ARN, les protéines et les enzymes. Cette ionisation aboutit à la rupture des liaisons chimiques des macromolécules, qui deviennent des structures anormales, ce qui peut ensuite conduire à des réactions chimiques inappropriées. La rupture de l'une des liaisons chimiques dans une macromolécule d'ADN peut rompre l'un des deux brins de la structure en double hélice.

Ce type de lésion de l'ADN est appelé mutation ponctuelle.

Les effets chromosomiques consécutifs des dommages directs peuvent inclure :

- incapacité à transmettre l'information ;
- réplication anormale ;
- mort cellulaire ;
- dommages temporaires seulement, l'ADN étant réparé avant de nouvelles divisions cellulaires.

Si les rayonnements atteignent directement les cellules somatiques, les effets sur l'ADN (et par conséquent sur les chromosomes) pourraient résulter en une malignité radio-induite. Si le dommage atteint les cellules souches de la reproduction, la conséquence pourrait être une anomalie congénitale radio-induite.

La mutation atteint donc une cellule germinale (spermatozoïde ou ovule) et est compatible avec le processus de reproduction. [www.inrs.fr](http://www.inrs.fr) (Consulté le 15 Février 2020).

### **Effet pathologique par action indirecte**

Ce processus implique l'ionisation d'une molécule d'eau produisant à la fois des ions et des radicaux libres qui peuvent se combiner pour endommager les macromolécules biologiques vitales comme l'ADN. La séquence des événements impliqués. Les radicaux libres peuvent se recombinaison pour former du peroxyde d'hydrogène, un poison cellulaire, et un radical hydroperoxyde, autre substance toxique. Ces deux substances sont très réactives et produisent des effets biologiques. À eux seuls, les radicaux libres peuvent transférer l'énergie en excès aux autres molécules en cassant leurs liaisons chimiques, voire en occasionnant des effets encore plus importants. Comme 80 % du corps est constitué d'eau, la majeure partie des interactions avec les rayonnements ionisants sont indirectes (*PHAM, 2011*).

### **Les dangers**

Les rayonnements ionisants (RI) ont la capacité d'ioniser la matière, c'est-à-dire d'arracher des électrons aux atomes constituant les molécules. Ces lésions moléculaires vont avoir des conséquences au niveau cellulaire. Les tissus constitués par ces cellules vont alors subir des altérations qui vont se traduire par des effets sur la santé. Les rayons X (utilisés en imagerie médicale) font partie de ces rayons ionisants.

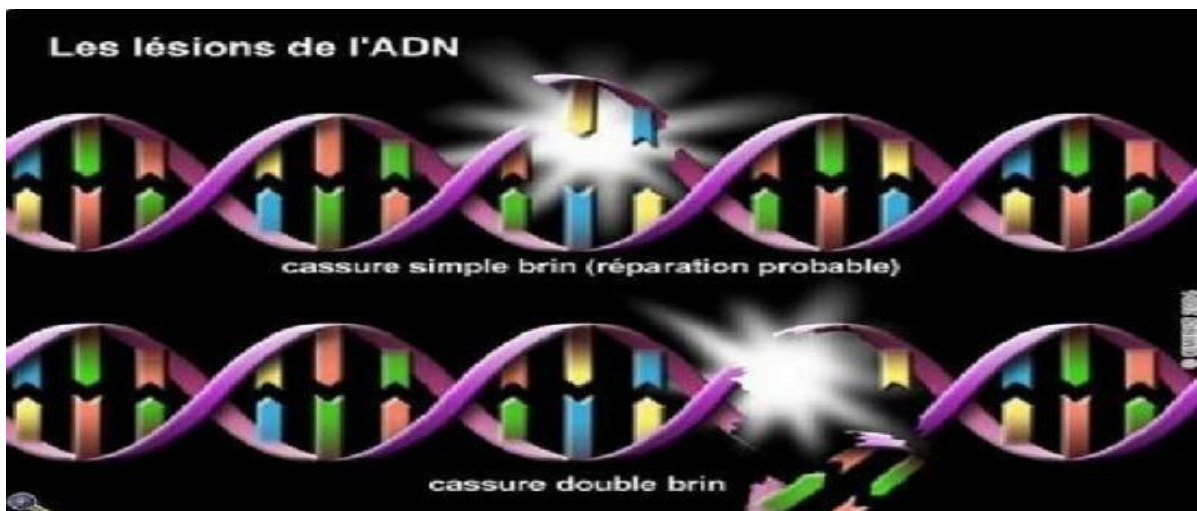
### **Les effets moléculaires**

Toutes les molécules de l'organisme peuvent être altérées par les rayonnements ionisants. Cependant une molécule présente dans l'organisme est particulièrement importante: La molécule d'ADN.

La molécule d'ADN est condensée sous forme de chromosomes dans chacune de nos cellules, elle est le support de l'information génétique. Les rayons ionisants provoquent des lésions aux molécules d'ADN quand celles-ci sont atteintes. On constate que la lésion la plus importante est la cassure des deux brins de la molécule. Cependant la grande majorité des lésions radio-induites (provoquées par une

radiographie) sont réparées efficacement par les systèmes de réparation de l'ADN. Ces systèmes sont présents dans chaque cellule. Ces systèmes de réparation sont sans cesse en activité car les cellules subissent chaque jour plusieurs milliers de lésions de l'ADN survenant spontanément, ou sous l'effet de l'environnement. On observe que certaines lésions peuvent toutefois être mal ou non réparées, ce qui aboutit à la survenue d'une mutation, c'est-à-dire une altération stable du génome transmissible à la descendance cellulaire.

La figure 2 ci-dessous montre les lésions d'ADN engendrées par les rayons.



*Figure 2 : Schéma des lésions d'ADN engendrées par les rayons X (Lemort ; 2013-2014)*

### Les effets cellulaires

Les dommages cellulaires provoqués par les rayonnements ionisants sont dus principalement à leurs effets sur l'ADN. L'origine des mutations ou de mort cellulaire provient de l'apparition de défauts dans le codage de l'ADN. Il s'agit en fait d'un mauvais appariement de nucléotides au sein de la molécule d'ADN.

Il y a trois possibilités pour la cellule irradiée dont l'ADN a subi des lésions :

- l'ADN est réparé efficacement et la cellule continue à vivre normalement ;

La réparation de l'ADN irradié se fait grâce à un système complexe d'enzymes.

Très schématiquement, l'erreur est d'abord repérée et signalée par une enzyme qui parcourt l'ADN. Puis une autre enzyme coupe un court fragment du brin d'ADN

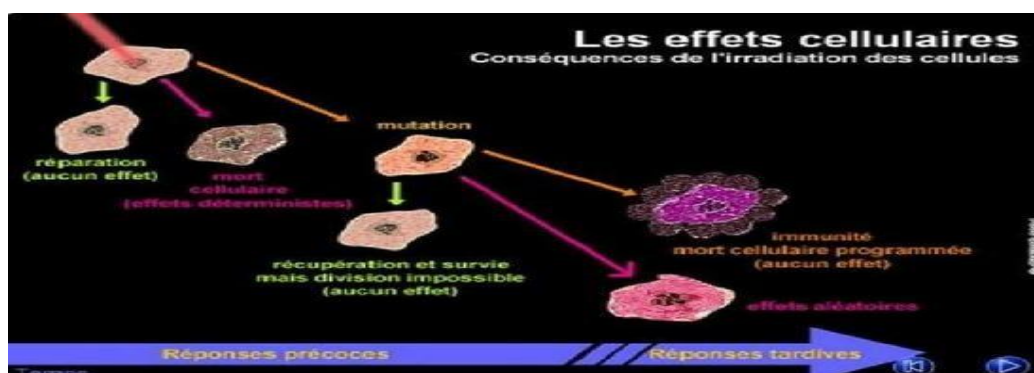
comportant l'erreur. L'ADN polymérase remplace alors les nucléotides du brin manquant par complémentarité avec le second brin.

La cellule meurt de façon immédiate ou différée (après une ou quelques divisions cellulaires). Le cas de la mort de la cellule reste le plus simple. L'ADN trop endommagé par le rayonnement ionisant meurt. D'autres cas de mort de cellules sont dus au suicide de celles-ci. En effet certaines protéines produites, comme la protéine P53, possèdent deux modes d'action :

- Soit elle arrête le cycle cellulaire pour permettre la réparation de l'ADN (quand cela est possible) ;
- Soit elle déclenche le suicide de la cellule (apoptose) quand les dégâts ne sont pas réparables.

La cellule survit mais est porteuse d'une mutation (*Lemort , 2013-2014*).

On appelle alors mutation, une modification de la molécule d'ADN qui a échappé aux processus de réparation. La survie de cellules "mutées" est préoccupante car elle peut être à l'origine de la survenue d'effets stochastiques (ou aléatoires), ce terme regroupant les cancers et les effets héréditaires. En effet, des mutations touchant certains gènes impliqués dans le développement de cancers (cancérogenèse) peuvent constituer le point de départ de la transformation d'une cellule normale en une cellule cancéreuse. Cette cellule va proliférer de façon incontrôlée. Une prolifération incontrôlée aboutissant à un cancer. La figure suivante nous présente l'image des conséquences de l'irradiation cellulaire dans l'organisme humain (*Lemort , 2013-2014*).



*Figure 3* : Image des conséquences de l'irradiation cellulaire (*Lemort ; 2013-2014*)

Ce schéma nous montre les différentes phases des effets cellulaires. Mais la principale distinction à faire concernant les mutations est de savoir si elles affectent un tissu somatique ou germinale. En effet les mutations somatiques, c'est à dire celles qui ne concernent pas les cellules sexuelles, disparaîtront avec la mort de l'individu. Il est vrai qu'elles ne sont pas transmises à la descendance. Par contre les mutations germinales sont celles qui se produisent dans les cellules à l'origine des gamètes et sont au contraire transmissibles à la descendance de l'individu. En effet, une mutation portée par un spermatozoïde ou un ovule se retrouvera présente dans la cellule-œuf et par conséquent dans toutes les cellules du nouvel individu. Elle devient alors héréditaire. Ce facteur est donc fortement pris en compte lors de l'utilisation des rayons X en imagerie médicale. ( *P.Gaille et R. Paulin 1997*)

### **Les effets sur la santé**

Les effets des rayons X sur la santé sont classés en deux groupes :

- **Les effets déterministes (ou obligatoires)**

Ils sont liés à la mort cellulaire et apparaissent à partir d'un seuil qui correspond à une certaine proportion de cellules tuées au sein d'un tissu ou d'un organe. On constate que ce seuil est différent d'un tissu à l'autre et selon le type d'irradiation, aiguë (forte dose a cours terme) ou chronique (faible dose sur un délai prolongé). Ce seuil est d'autant plus bas qu'il s'agit d'un tissu dont les cellules se renouvellent rapidement. ((*P.Gaille et R. Paulin 1997*))

On appelle ces effets "obligatoires", car ils sont observés chez tous les individus ayant reçu une dose supérieure à cette dose seuil. Ils surviennent rapidement après une exposition aiguë à forte dose, mais peuvent mettre beaucoup plus longtemps à apparaître en cas d'exposition prolongée à des doses plus faibles. Tant que la dose seuil n'est pas atteinte, il n'y aura pas d'effet. Par contre dès que la dose reçue atteint ou dépasse une certaine valeur ces effets déterministes se manifestent. Il existe donc un seuil au-dessous duquel ces effets n'apparaissent pas. Leur gravité augmente avec la dose et ils peuvent être réversibles, dans un délai variable, après l'arrêt de l'exposition. Les dommages cellulaires provoqués par les rayonnements ionisants (vu ci-dessus)

sont considérés comme effets déterministes (obligatoires) bien que le fait qu'une modification de la molécule d'ADN n'aboutit pas obligatoirement à une mutation et donc une cancérisation de la cellule entraînant un cancer à l'échelle de l'organisme.

La figure suivante montre l'irradiation délivrée par différents appareils radiologiques.

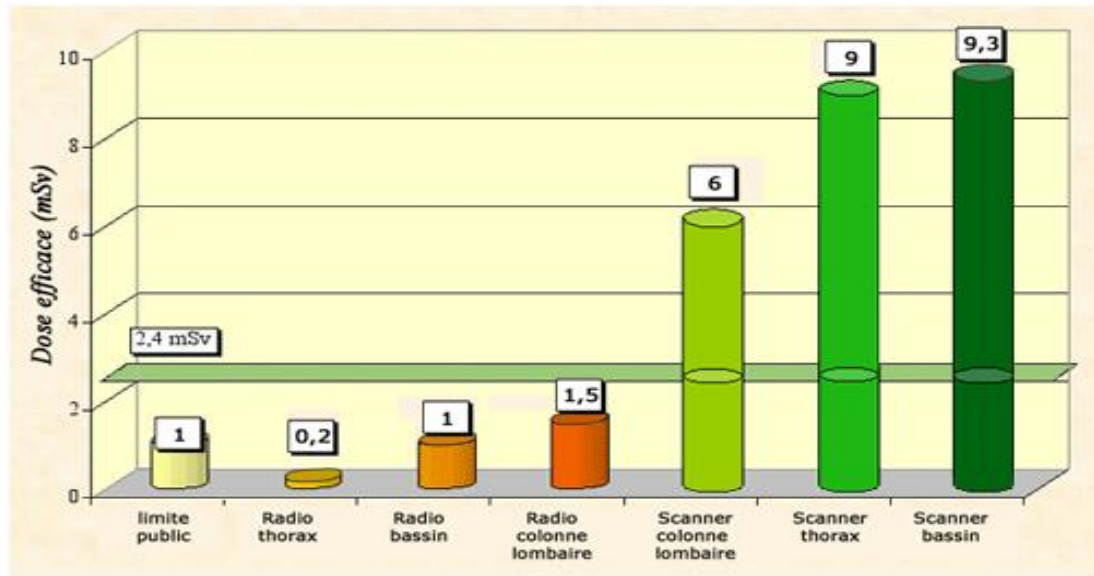


Figure 4 : Irradiation délivrée par différents appareils radiologiques

Source : ([www.laradioactivite.com](http://www.laradioactivite.com)) site visité le 15 Mars 2020

Le Tableau II ci-dessous fait un récapitulatif des effets des rayons X en fonction de la dose reçue et de la zone irradiée.

Tableau II : Effets des rayons X en fonction de la dose reçue et de la zone irradiée

Zone irradiée	Effet	Dose (seuil d'apparition)
Peau	<ul style="list-style-type: none"> <li>érythème (type coup de soleil)</li> <li>brûlure (nécrose)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1 Gy à quelques Gy</li> <li>10 Gy</li> </ul>
Testicules	<ul style="list-style-type: none"> <li>stérilité définitive</li> <li>stérilité transitoire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>6 Gy</li> <li>1 à 2 Gy</li> </ul>
Ovaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>stérilité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>6 à 12 Gy</li> </ul>
Œil	<ul style="list-style-type: none"> <li>cataracte (opacité du cristallin)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>10 Gy</li> </ul>
Corps entier	<ul style="list-style-type: none"> <li>baisse du nombre de cellules sanguines par atteinte de la moelle osseuse</li> <li>décès dans 50% des cas (en l'absence de traitement) par atteinte de la moelle osseuse</li> <li>atteintes digestives (perforations, hémorragies)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>0,25 à 0,5 Gy</li> <li>4 à 5 Gy</li> <li>10 Gy</li> </ul>

Source : d'après P. Gaille et R. Paulin (Biophysique - Radiobiologie - Radiopathologie Masson 1997)

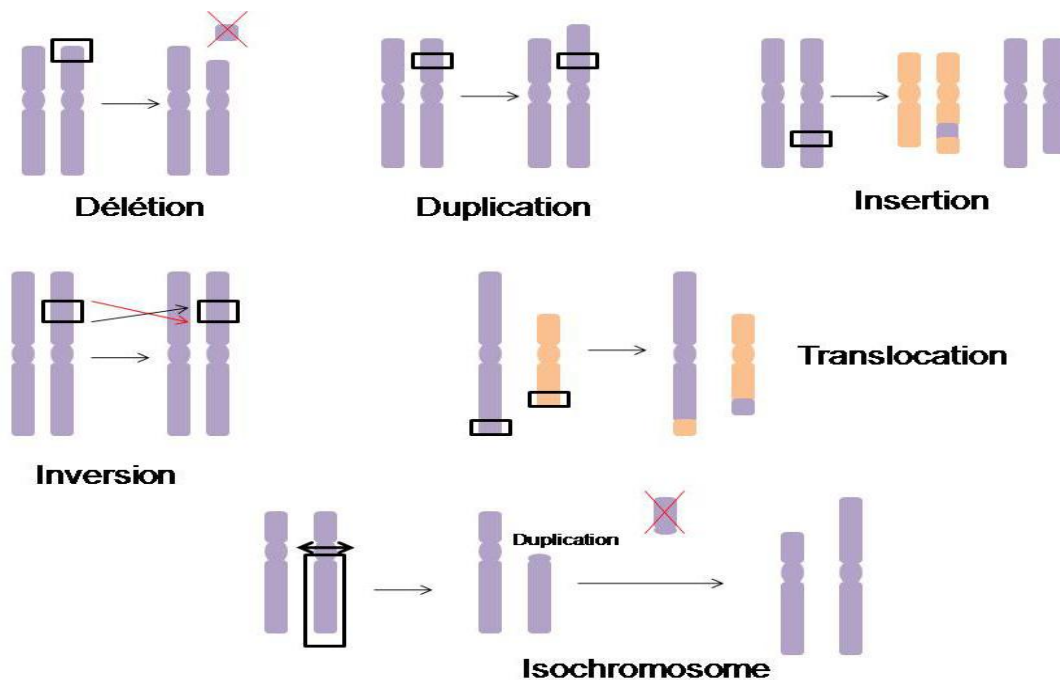
- **Les effets aléatoires (ou stochastiques)**

Ils sont liés à des mutations et regroupent les cancers radio-induits (imagerie médicale) et les effets héréditaires. On parle d'effets héréditaires quand les mutations se font au niveau des cellules de la reproduction et peuvent donc se transmettre à la descendance de l'individu.

Ces effets sont tardifs et peuvent même apparaître alors que l'exposition a cessé depuis plusieurs années, voire des dizaines d'années. A l'inverse des effets des fortes doses, les conséquences des faibles doses ne sont observées que très longtemps après l'exposition.

On dit que ces effets sont "aléatoires" car, pour un même niveau de dose, ils n'apparaissent que chez une faible proportion d'individus. Plus la dose est élevée, plus la proportion d'individus atteints est grande. Ces effets sont dits « sans seuil », car il n'y a pas de dose seuil en dessous de laquelle le risque serait nul. Même de faibles doses peuvent déclencher ces effets. Toutefois, les études de populations irradiées n'ont mis en évidence ces effets cancérogènes que pour des doses supérieures à 100-200 mSv; quant aux effets héréditaires, aucune des études menées jusqu'à présent n'a permis de les observer chez l'homme. Divers types de cancers peuvent être radio-induits mais ce sont les leucémies qui sont les plus fréquentes en raison de la sensibilité particulière de la moelle osseuse aux rayons X. De nos jours on ne peut pas différencier un cancer radio-induit d'un cancer d'une autre origine.

La figure suivante présente les différentes anomalies chromosomiques de structure.



*Figure 5 : Différentes anomalies chromosomiques de structure. (PHAM, 2011)*

### 1.3 Circonstances de survenue des micronoyaux

Les données relatives aux effets des rayonnements ionisants en général sont peu satisfaisantes et la situation est beaucoup plus préoccupante en ce qui concerne les rayonnements naturels.

Les informations relevées sur les conséquences de ces rayonnements naturels sur l'homme concernent les pays développés. Dans nos recherches, il est à constater qu'en Afrique en général et en Afrique Subsaharienne en particulier, les données sont presque inexistantes.

La fréquence des lésions est liée à la nature de la source d'irradiation, à l'intensité de l'irradiation et au débit de dose.

La radioprotection, ensemble des mesures prises pour assurer la protection de l'homme et de son environnement contre les effets néfastes des rayonnements ionisants est une

activité peu développée au Bénin à cause des applications presque inexistantes des sources de rayonnements artificiels. Mais en dehors de ces sources, les rayonnements naturels constituent aussi des sources importantes de radioactivité. Mener des études sur ces sources, et surtout à Cotonou revêt une importance capitale, au regard de l'évolution des taux de cancers enregistrés, malgré le faible taux de son industrialisation. De 2,6% en 1983, ce taux passe à 14% en 2003 (*Azon-Kouanou et al, 2015*). L'évolution de ces données est inquiétante et les causes méritent d'être recherchées.

Cependant la mise en œuvre des dispositions de la loi 2017-29 du 15 mars 2018 portant sûreté radiologique et sécurité nucléaire en République du Bénin devrait permettre de réduire les effets néfastes des rayonnements ionisants.

Contrairement à l'exposition subie lors d'une radiographie, qui est brève, l'exposition à la radioactivité naturelle est permanente. Etalée au fil des jours, des mois et des ans, elle se fait à faible débit de dose. Les cellules du corps humain réparent probablement mieux ses effets que ceux d'une irradiation équivalente mais concentrée dans un temps court (*Thomas et al, 2014*). Suite à un accident d'exposition aux rayonnements ionisants, une reconstitution précise du scénario d'irradiation est généralement difficile à effectuer d'emblée.

Dans ce cas, seule la caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes permet de confirmer le diagnostic clinique d'exposition. Elle est alors une aide indispensable à une prise en charge médicale adaptée des victimes (*Vaurijoux et al, 2010*). La mesure des grandeurs physiques seule ne permet plus de déterminer les effets des rayonnements ionisants sur les cellules du corps humain. Pour corriger cette insuffisance, la science a recours ces dernières années à la biologie à travers les Laboratoires de Génétique Moléculaire Appliquée.

La caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes dans la population béninoise est une discipline qui permet de déterminer la dose d'irradiation ionisante reçue par un individu (naturelle, accidentelle, professionnelle...) à partir de paramètres biologiques. Elle repose sur l'analyse des chromosomes dicentriques, qui sont considérés comme de véritables bio-indicateurs, car ils sont très rares à l'état naturel (*Natarajan, 2008*).

Les anomalies chromosomiques des cellules cancéreuses ont été analysées avec les méthodes modernes de la cytogénétique à partir des années 1960. Par la suite, l'introduction des techniques de production de « bandes » sur les chromosomes a permis de décrire un grand nombre d'anomalies chromosomiques des cellules leucémiques et cancéreuses. Parallèlement à ces progrès, des travaux de biologie moléculaire ont mis en valeur l'importance d'une « famille » de gènes, les proto-oncogènes, dans la prolifération maligne.

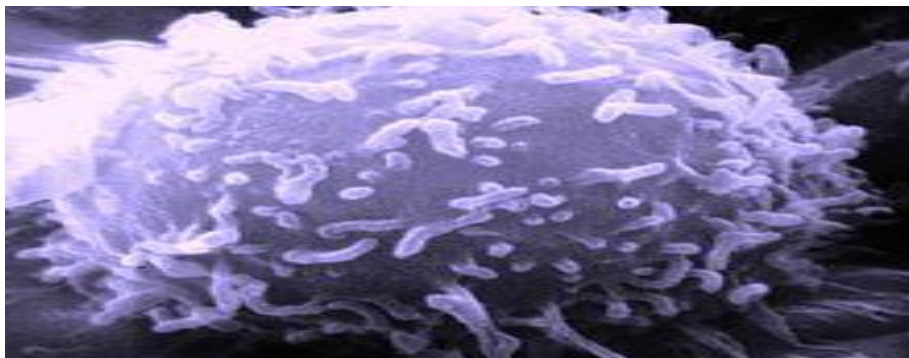
C'est l'emploi conjugué de techniques récentes, telles que l'hybridation *in situ* sur les chromosomes et le tri des chromosomes à l'aide de la cytométrie en flux, qui rend possible l'étude moléculaire des conséquences des remaniements chromosomiques (Stéhelin, 1985).

### 1.3.1 Les lymphocytes

Les lymphocytes sont des cellules qui ont un rôle majeur dans le système immunitaire. En matière de structure et de fonction, on distingue trois lignées lymphocytaires différentes : les lymphocytes B et T, de petite taille, et les lymphocytes NK, de grande taille et granuleux.

Les lymphocytes sont des leucocytes (globules blancs) de petite taille se trouvant principalement dans les ganglions lymphatiques et la rate.

La figure suivante nous montre un lymphocyte, vu au microscope électronique à balayage.



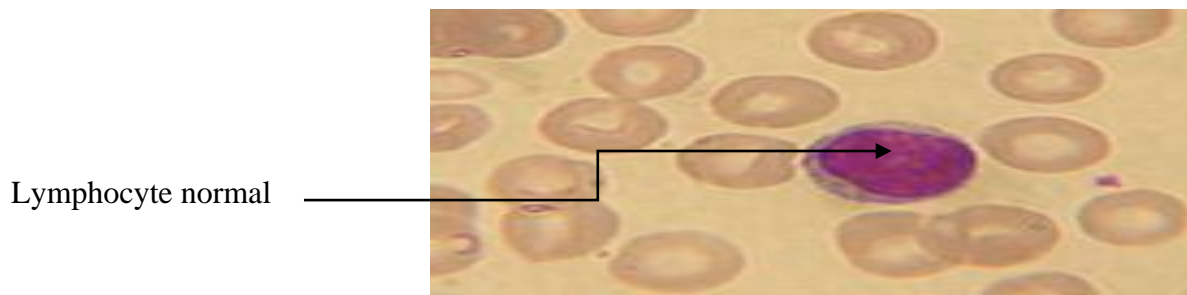
*Figure 6* : Lymphocyte, vu par un microscope électronique à balayage (Guidos , 2006 )

### 1.3.1.1 Structure des lymphocytes

Au microscope, les lymphocytes B et T apparaissent comme des cellules ovoïdes, nucléées, dont le noyau de grande taille (environ 7  $\mu\text{m}$ , soit le diamètre d'un globule rouge) occupe quasiment tout le corps cellulaire. Sa chromatine est disposée en mottes. Les lymphocytes B et T ne peuvent être différenciés sur de seuls critères morphologiques, mais par la nature de leurs récepteurs de surface qui déterminent leurs fonctions.

Les lymphocytes NK (ou LGL : Large Granular Lymphocyt), plus grands, présentent un rapport noyau/cellule inférieure. Son noyau est échancré, et son cytoplasme contient des granules azurophiles.

La figure suivante montre un lymphocyte normal (coloration de May-grünwaldGiemsa)



*Figure 7 : Lymphocyte normal coloration de May-Grünwald Giemsa (Guidos 2006).*

#### ❖ Lymphocyte T

Également appelé « thymocyte » ou « cellule T », ce type de lymphocytes joue un grand rôle dans les réponses immunitaires primaire et secondaire. « T » est l'abréviation de thymus, l'organe dans lequel leur développement s'achève.

Elles sont responsables de l'immunité cellulaire : les cellules (bactéries, cellules cancéreuses) reconnues comme étrangères (c'est-à-dire autres que celles que les cellules T ont appris à tolérer lors de leur maturation) sont détruites par un mécanisme complexe.

### ❖ **Lymphocyte B**

Les lymphocytes B sont des lymphocytes fabriqués dans le foie du fœtus puis dans la moelle osseuse après la naissance ; ils jouent un grand rôle dans l'immunité humorale, par opposition à l'immunité cellulaire induite par les lymphocytes T. L'appellation « B » vient de la bourse de Fabricius (Bursa cloacalis ou Bursa fabricii en latin) qui est un organe lymphoïde primaire que l'on retrouve uniquement chez les oiseaux. Cet organe est l'endroit où on a découvert les lymphocytes B. On pense parfois à tort que l'appellation « B » vient de bone marrow qui signifie en anglais « moelle osseuse » car c'est l'organe dans lequel les lymphocytes B arrivent à maturité et acquièrent leur immuno-compétence chez les mammifères. Ces globules blancs ont pour rôle de fabriquer des protéines de la famille des immunoglobulines appelées anticorps : ils sont donc responsables de l'immunité humorale. Pour être actifs, d'autres globules blancs tels que les macrophages, doivent leur présenter des fragments d'antigène, afin qu'ils se transforment en plasmocytes. Les plasmocytes possèdent bien plus de vésicules de Golgi, qui permettent de fabriquer des anticorps (jusqu'à 5000 anticorps par seconde), afin de neutraliser efficacement les antigènes. Les plasmocytes sont donc des lymphocytes B activés et capables de produire des anticorps dirigés contre l'antigène activateur (Guidos, 2006).

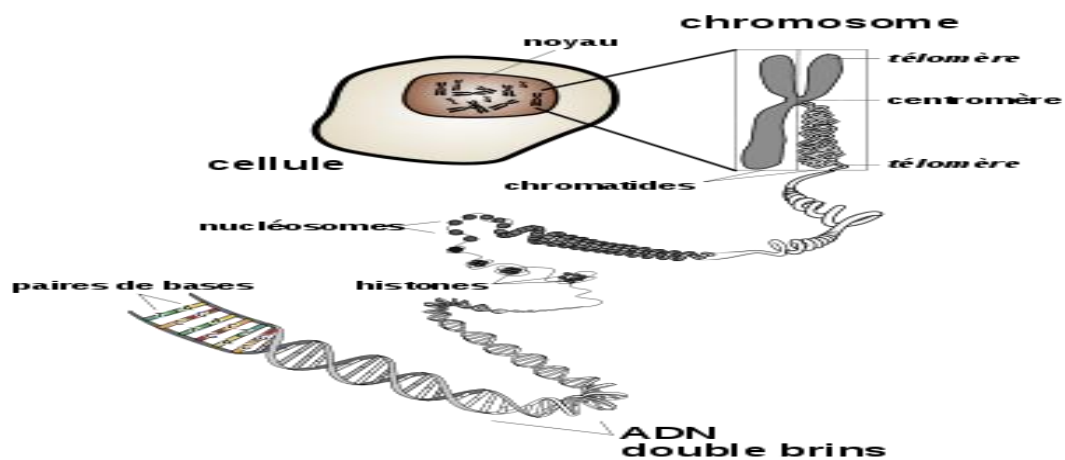
## **1.3.2 Chromosome**

### **1.3.2.1 Description de la structure d'un chromosome.**

Un chromosome est un élément microscopique constitué d'une molécule d'ADN et de protéines, les histones et les protéines non histones.

Il porte les gènes, supports de l'information génétique, transmis des cellules mères aux cellules filles lors des divisions cellulaires.

La figure suivante fait la description de la structure d'un chromosome.



*Figure 8 : Description de la structure d'un chromosome (SAX.K 1938 )*

Dans les cellules eucaryotes, les chromosomes se trouvent dans le noyau. Dans les cellules procaryotes, qui ne contiennent qu'un seul chromosome circulaire, ce dernier se trouve dans une région du cytoplasme appelée nucléoïde.

Entre deux divisions, les molécules d'ADN constituant les différents chromosomes d'une cellule ne sont pas visibles ; ADN, ARN et protéines forment un ensemble non structuré appelé chromatine.

L'ADN se condense progressivement au cours de la division cellulaire pour prendre lors de la métaphase une apparence caractéristique en forme de double bâtonnet, lié au centromère en forme de X.

L'ensemble des chromosomes est représenté sur un caryotype, ou carte de chromosomes, où les chromosomes sont habituellement présentés par paires, en parallèle avec leur homologue. Le caryotype représente les chromosomes sous leur forme condensée : les chromatides (SAX, 1938).

## **2. CADRE, MATERIEL ET METHODES DE RECHERCHE**

## 2.1 Cadre d'étude

Notre cadre d'étude est la ville de Cotonou. Capitale économique du Bénin, Cotonou, jadis un village de pêcheurs, a connu un très fort développement dans les dernières décennies, jusqu'à devenir un des pôles urbains majeurs d'Afrique de l'Ouest. Avec son port autonome et son marché, c'est une ville moderne et dynamique, reliée au monde, loin des caricatures parfois associées à cette région d'Afrique.

## 2.2 Matériel et Méthodes

Il s'agit d'une étude transversale, comparative et descriptive cas témoins. La population d'étude est constituée de deux groupes : les personnes travaillant sous rayonnements ionisants qui constituent la population exposée (PE) et celles apparemment saines formant la population non exposée (PNE). Toutes ces personnes ont été sélectionnées de façon aléatoire.

Les critères d'inclusion sont les suivants :

### **Pour la population apparemment saine :**

Est inclus dans cette étude, tout béninois ayant résidé à Cotonou pendant au moins 2 ans.

- être âgé entre 30 et 35 ans
- être ni fumeur ni chiqueur
- n'ayant jamais été lourdement irradié.
- n'ayant jamais subi un traitement de chimiothérapie

Après un entretien individuel et après avoir donné son consentement éclairé, chaque personne subit un prélèvement de 5 ml de sang veineux dans un tube hépariné.

Ce prélèvement a servi à une recherche de micronoyaux (MN) suivant la technique de Fenech et Morley.

Ces micronoyaux sont des marqueurs de génotoxicité stables permettant d'évaluer de façon efficiente les effets génotoxiques des métaux lourds à long terme.

### **Pour la population exposée**

Pour la population travaillant sous rayonnement ionisant, être technicien en Imagerie Médicale et ayant au moins 10 ans d'ancienneté

Les Critères de non inclusion sont les suivantes :

- Ne font pas partie de notre étude, tout béninois résidant à Cotonou ayant été fortement irradié dans sa vie (plus de deux radiographies standards, scanners, radiothérapie, travaillant sous rayonnement ionisants).
- Les considérations éthiques : toute personne n'ayant pas donné son accord lors du consentement libre et éclairé ne participera pas à notre étude. Les personnes ayant donné leur accord, ont signé une fiche de consentement éclairé. Les personnes ne sachant pas lire ou écrire le français ont eu droit à une traduction de la fiche par des parents proches.

### **2.3 Type et période de l'étude**

Il s'agit d'une étude transversale, comparative et descriptive cas témoins à visée diagnostique qui s'est déroulée de Juin 2020 à Mars 2021.

### **2.4 Obtention des MN dans les cellules binucléées**

Nous nous sommes basés sur les techniques *in vitro* du test des MN décrites par *Fenech en 2000*.

Nous décrirons brièvement ces techniques dans les paragraphes qui suivent.

#### **2.4.1 La culture**

Le sang de chaque sujet est prélevé par ponction veineuse dans des tubes héparinés au sodium de 10 mL. 0,35 mL de sang est mis en culture dans 5 mL de RPMI 1640 complet. Deux cultures sont faites par concentration pour chaque sujet. Le milieu RPMI 1640, en plus de contenir des composant 79 minéraux, des acides aminés essentiels, des acides aminés non essentiels et des vitamines, est complété, pour 500 mL, de 10 % de sérum de veau foetal (SVF), 1% de gentamycine, 1% de glutamax et 1% de phytohémagglutinine (PHA). Tous ces produits ajoutés proviennent d'Invitrogen Canada Inc., Burlington, Ontario, Canada. Les tubes sont ensuite placés sur des supports inclinés dans l'incubateur à 37°C pour une durée de 24 h.

### **2.4.2 Blocage de la cytocinèse**

L'utilisation de la Cyt B est nécessaire pour bloquer la division cellulaire. C'est une mycotoxine qui inhibe la division cellulaire par blocage de la formation des micro-filaments d'actine. La division cytoplasmique, appelée cytocinèse, est bloquée, mais pas la division nucléaire. Par conséquent, après l'ajout de cet agent, la cellule-mère ne se divise pas en deux cellules-filles distinctes et possède deux noyaux. La Cyt B est fournie sous la forme de poudre (10 mg) et est dissoute dans 4,67 mL de DMSO pour obtenir une concentration de 2,14 mg/mL ou de 47 µM de solution-mère.

Après 24 h d'exposition à 37°C, les tubes sont centrifugés à la vitesse de rotation de 1800 tours/minute. Ensuite, le surnageant est retiré. Les cellules sont lavées deux fois avec la solution saline équilibrée de Hank (Hank's Buffered Salt Solution (HBSS) ; Invitrogen Canada Inc.), afin d'enlever le BaP. Les cellules sont remises en culture dans 5 mL de RPMI 1640 complet, puis la Cyt B est ajoutée pour obtenir une concentration finale de 6 µg/mL.

La culture est poursuivie pour une autre durée de 24 h.

La culture, l'exposition et l'ajout de la Cyt B doivent se faire sous la hotte biologique pour minimiser la contamination par des agents exogènes.

### **2.4.3 Récolte**

Après le transfert des cultures dans des tubes coniques en plastique (SarstedtInc), un choc hypotonique est fait avec du KCL 0,56 % ou 0,075 M (Sigma-Aldrich-Canada Ltd) durant 5 minutes à 37°C. Après centrifugation, les cellules sont fixées deux fois avec du Carnoy I (méthanol et acide acétique dans les proportions 3:1 - Fisher Scientific Ltd). Dès la première fixation, la lyse des globules rouges est déclenchée par le Carnoy. Après la dernière centrifugation, la suspension cellulaire est étalée sur des lames propres préalablement chauffées à 37°C, afin de conserver le cytoplasme des cellules. Les lames sont séchées à la température de la pièce pour une nuit. Elles sont ensuite colorées avec du Giemsa à 2 % dilué dans du tampon Gurr's à pH 6,8 (ces deux solutions proviennent d'Invitrogen Canada Inc).

#### 2.4.4 Décompte des MN et les critères de sélection

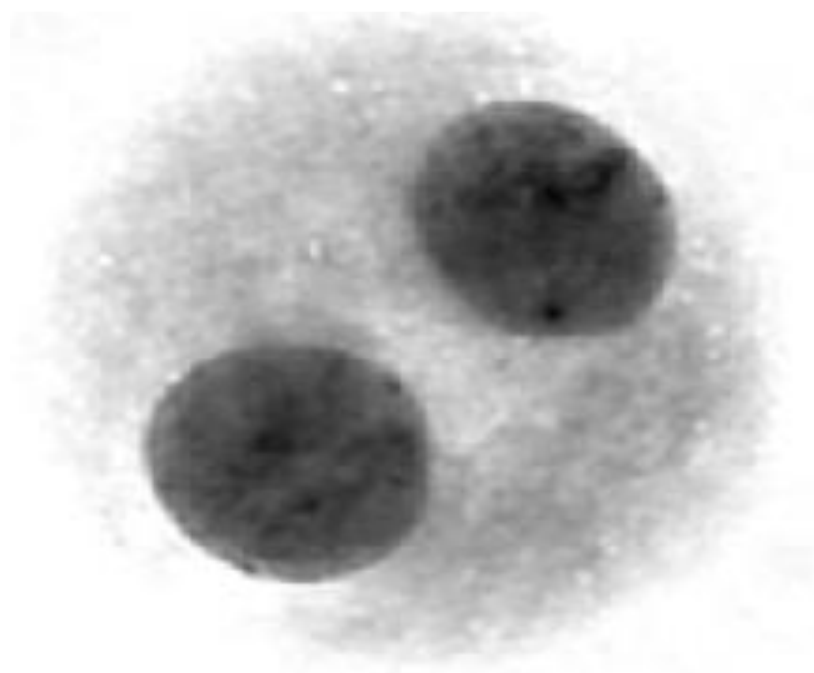
Pour chaque sujet, 2000 cellules sont analysées par concentration.

L'analyse se fait avec un microscope Leitz-Aristoplan à 1000X. Pour l'analyse des MN, nous avons suivi les critères de sélection des MN établis par le projet international de MN humains (HUMN project).

Tout d'abord le choix des cellules binucléées doit respecter les critères suivants :

- Les cellules doivent obligatoirement être binucléées.
- Les deux noyaux doivent avoir leur membrane nucléaire intacte (Figure 9, Ci-dessous), avoir approximativement la même taille, le même patron et la même intensité de coloration.

La figure suivante montre une cellule binucléée respectant les critères de sélection.



*Figure 9: Une cellule binucléée respectant les critères de sélection. Source : Lemieux, 2003.*

Les deux noyaux peuvent se toucher mais ne doivent pas se chevaucher. Les limites des deux noyaux doivent être nettement distinctes :

- La limite du cytoplasme doit être intacte et nettement distincte de celle des cellules adjacentes.

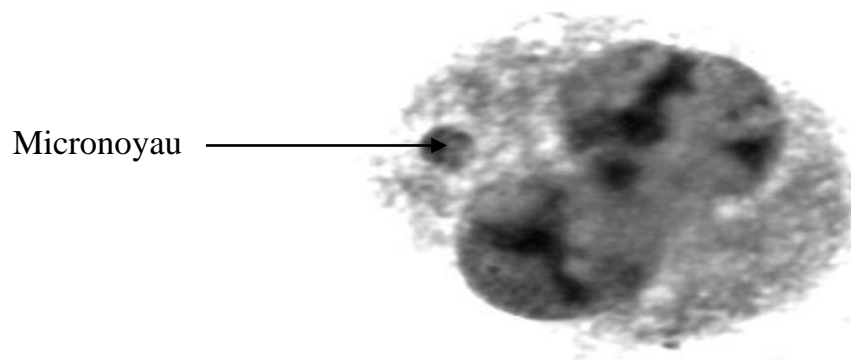
Les MN sont morphologiquement plus petits que les deux noyaux de la cellule binucléée et doivent avoir les caractéristiques suivantes (Figure ci-dessous) :

- Le diamètre du MN dans les lymphocytes humains varie généralement entre

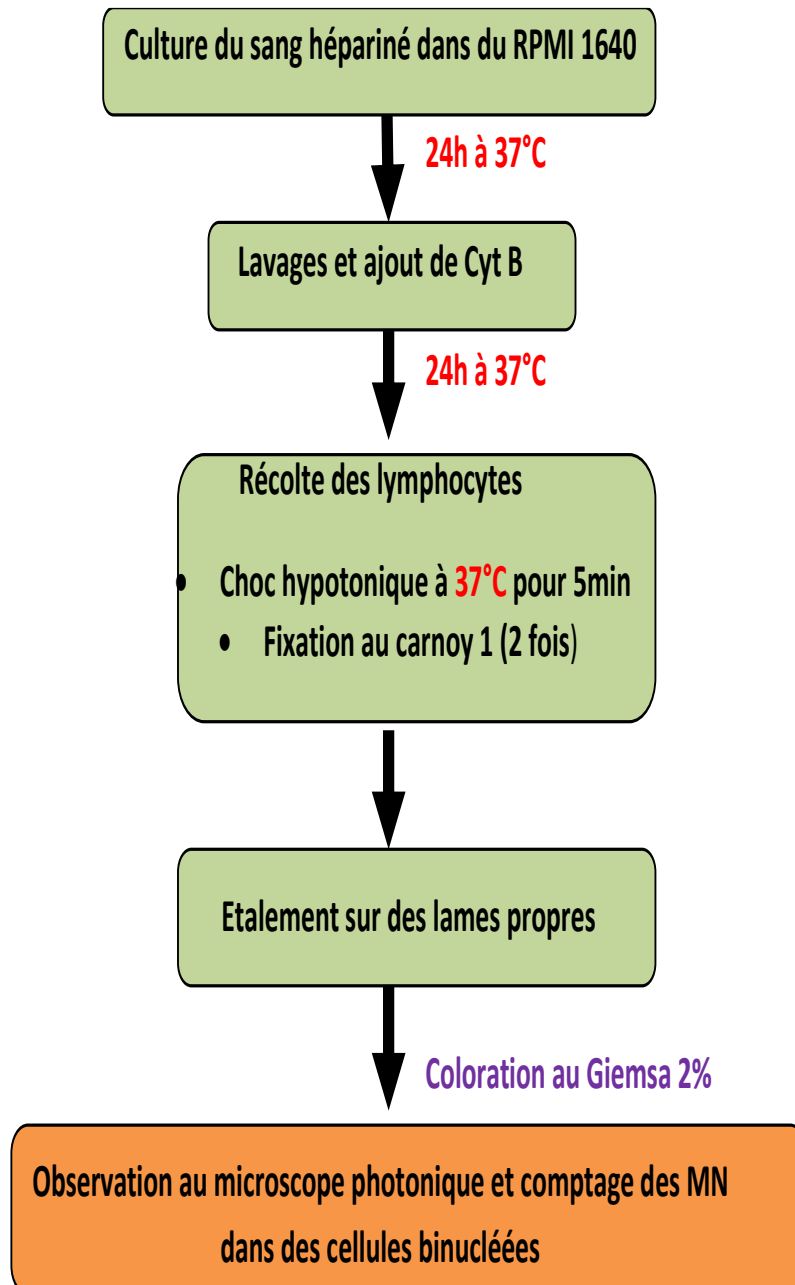
1/16 et 1/3 du diamètre du noyau principal ou des deux noyaux principaux de la cellule binucléée.

- Le MN doit avoir une forme ronde ou ovoïde ;
- Il ne doit pas être réfringent sous la lumière du microscope et doit être distinct des artéfacts, comme les dépôts de colorant et autres;
- Il ne doit pas être lié ou attaché au noyau principal;
- Le MN peut toucher mais non chevaucher le noyau principal et sa membrane nucléoplasmique doit être bien délimitée ;
- Le MN doit avoir la même intensité de coloration que celle du noyau principal mais occasionnellement, sa coloration peut être un peu plus intense.

La figure 10 suivante montre une cellule binucléée contenant un micronoyau



*Figure 10* : Une cellule binucléée contenant un MN. Source : lemieux 2003



*Figure 11* : Schéma résumant les différentes étapes de l'analyse de la fréquence des MN dans les lymphocytes sanguins humains . Source : Fenech, M ., 1993

### **3. RESULTATS ET DISCUSSION**

A l'issue de l'enquête que nous avons effectuée, 10 personnes ont été enquêtés dans la population de Cotonou dont deux (02) femmes et (08) hommes.

### 3.1 Caractéristiques générales de la population

#### 3.1.1 Le sexe

La figure 12 suivante montre la répartition des enquêtés suivant le sexe

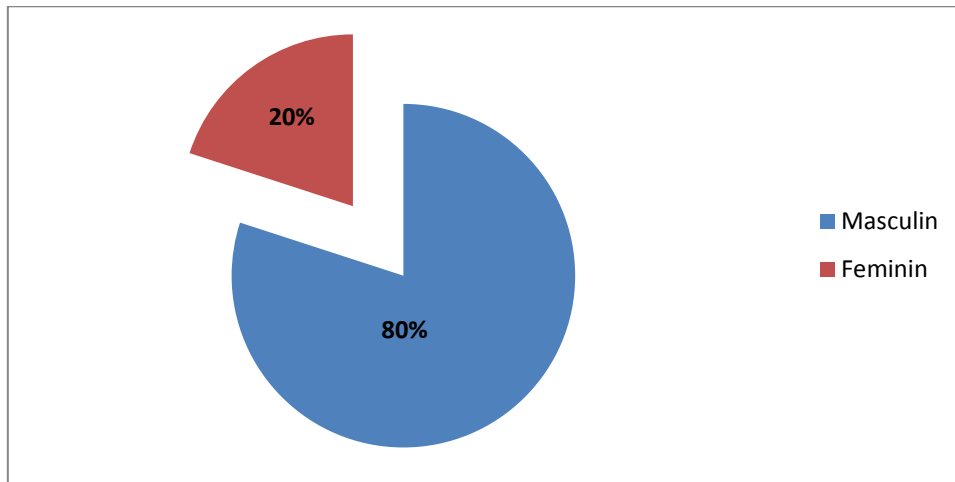


Figure 12: Répartition selon le sexe

Du graphe nous observons (20%) de femmes pour (80%) d'hommes

#### 3.1.2 Age

La figure 13 suivante indique la répartition des enquêtés suivant l'âge.

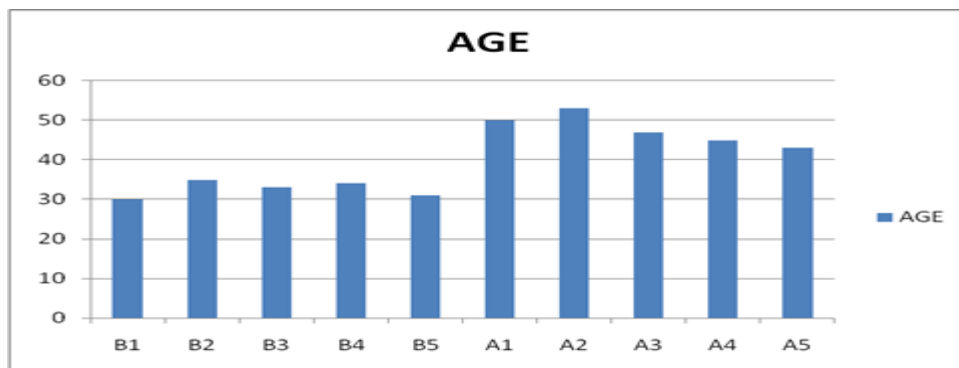


Figure 13: Répartition selon l'âge

Au niveau des enquêtés le plus jeune a 30 ans et le plus âgé a 53 ans.

### 3.1.3 L'ancienneté sous RI

La figure 14 ci-dessous révèle l'ancienneté des travailleurs sous RI

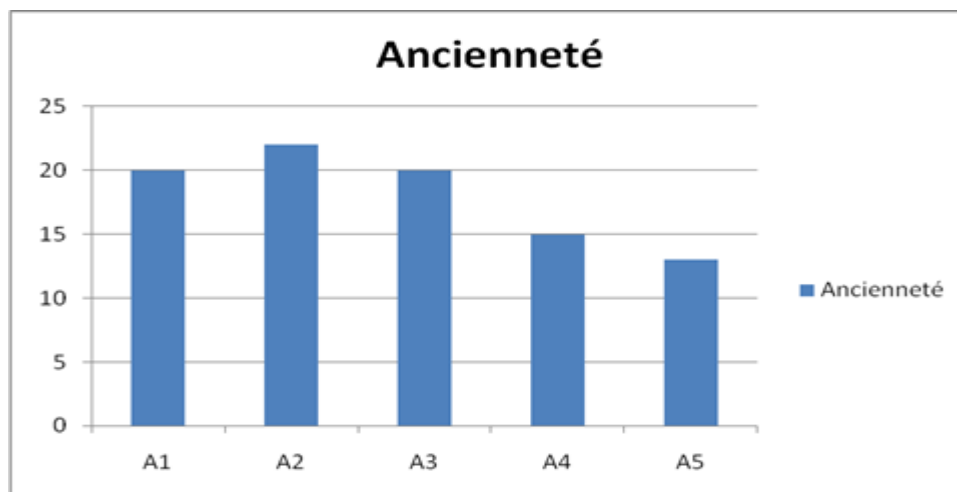


Figure 14 : Répartition selon l'ancienneté

Le plus exposé sous RI a 22 ans de service tandis que le moins exposés a 13ans de service.

## 3.2 Résultats de l'étude Cytogénétique

### 3.2.1 Résultats de la culture

Les échecs de culture peuvent être observés quelques fois. Mais en ce qui concerne notre travail, tous nos échantillons ont poussé.

Nous avons objectivé 400 cellules binucléées dans chaque échantillon.

### 3.2.2 Résultats des caractéristiques cytogénétiques

Les tableaux suivants regroupent les caractéristiques cytogénétiques de nos enquêtés.

Résultats des caractéristiques cytogénétiques dans la population apparemment saine.

*Tableau III : Population apparemment saine*

Donneur	Nb BN	MN	MN-T	MN-T+C	NPB	NBUD	Total
B1/30/M	400	8	2	6	5	2	23
B2/35/M	400	10	6	4	10	1	31
B3/33/F	400	13	6	7	10	3	39
B4/34/M	400	12	4	8	10	2	36
B5/31/M	400	6	2	4	4	3	19
<b>Total</b>		49	20	29	39	11	148

Il ressort de ce tableau que le plus âgé a 35 ans et le moins âgé a 30 ans. La seule femme du groupe est âgée de 33 ans.

Nous avons constaté qu'ils ont tous des MN dans leurs lymphocytes circulants avec une prédominance au niveau de la seule femme apparemment saine. Le taux moyen des micronoyaux observés ici est de 30 MN. Ce résultat est en accord avec l'hypothèse qui stipule que la fréquence de référence des MN est de 0 à 40 MN pour 1000 cellules binucléées dans une population apparemment normale et que les 2 facteurs qui influent cette fréquence naturelle en plus de facteurs alimentaires et de l'exposition à toute une série d'agents clastogènes et aneugènes environnementaux sont l'âge et le sexe.

C'est pour cette raison que notre travail a porté sur une population de 30 à 35 ans d'âge sur les 2 sexes. 30 à 35 ans d'âge révèle l'âge moyen de la population béninoise. A l'issue de notre étude, les résultats et les images des micronoyaux obtenus sont les suivants :

**BN** : cellule binucléé

**MN** : micronoyaux

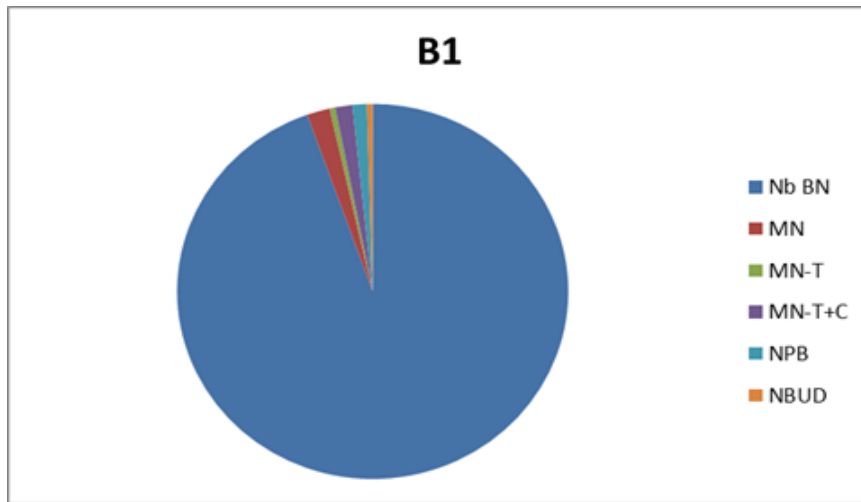
**MN-T** : micronoyaux avec télomère

**MN-T+C** : micronoyaux avec télomères et centromères

**NPB** : pont anaphasique

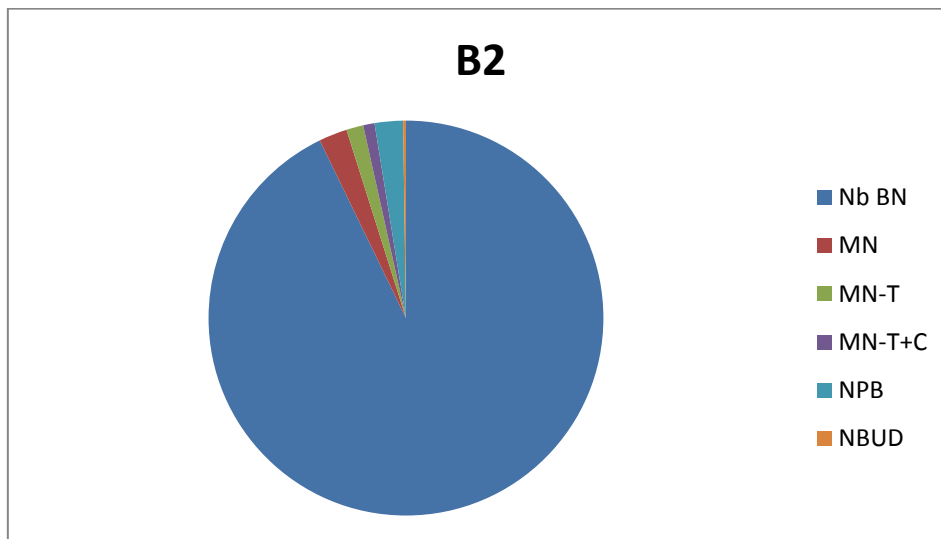
**NBUD** : bourgeon

La figure 15 suivante nous montre les résultats d'un homme apparemment sain âgé de 30 ans avec 8 MN, 2 MN-T , 6 MN-T+C, 5 NPB et 2 NBUD



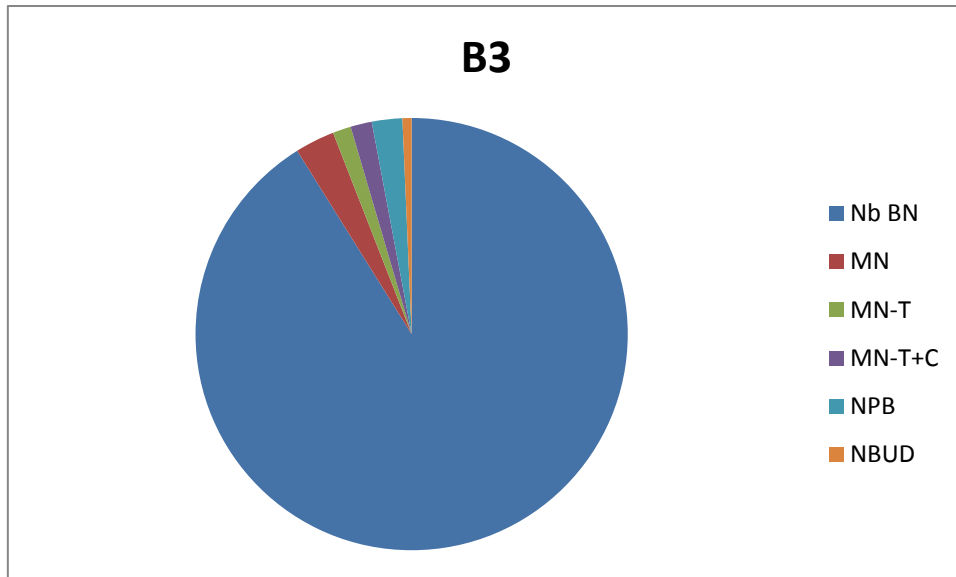
*Figure 15* : Homme apparemment sain âge de 30 ans

La figure 16 indique les résultats d'un homme apparemment sain âgé de 35 ans avec 10 MN , 6 MN-T , 4 MN-T+C, 10 NPB et 1 NBUD.



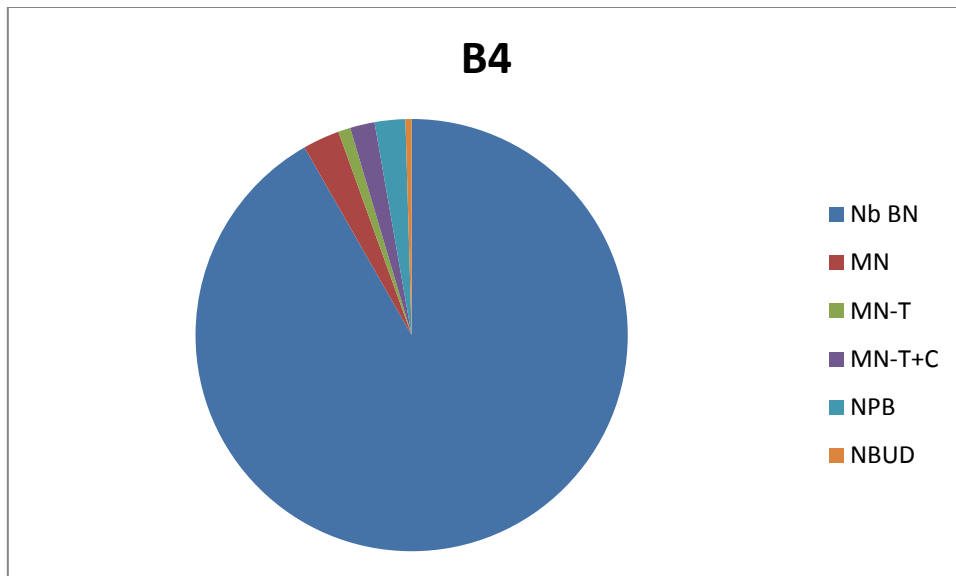
*Figure 16* : Homme apparemment sain âgé de 35ans

De la figure 17 il ressort, les résultats d'une femme apperement saine âgée de 33 ans avec 13 MN ,6 MN-T , 7 MN-T+C, 10 NPB et 3 NBUD.



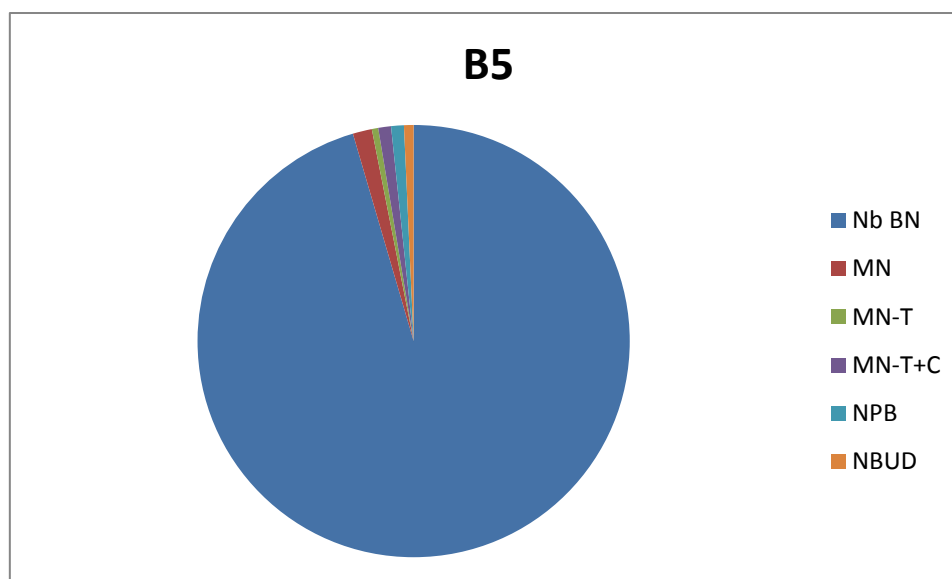
*Figure 17 : Femme apparemment saine âgée de 33ans*

La figure 18 dénote les résultats d'un homme apparemment sain âgé de 34 ans avec 12 MN , 4 MN-T , 8 MN-T+C, 10 NPB et 2 NBUD.



*Figure 18 : Homme apparemment sain âgé de 34ans*

La figure 19 reflète les résultats d'un homme apparemment sain âgé de 31 ans avec 6 MN , 20 MN-T , 4 MN-T+C, 4 NPB et 3 NBUD.



*Figure 19: Homme apparemment sain âgé de 34ans*

Résultats des caractéristiques cytogénétiques dans la population des travailleurs sous rayonnements ionisants.

*Tableau IV : Travailleur sous RI*

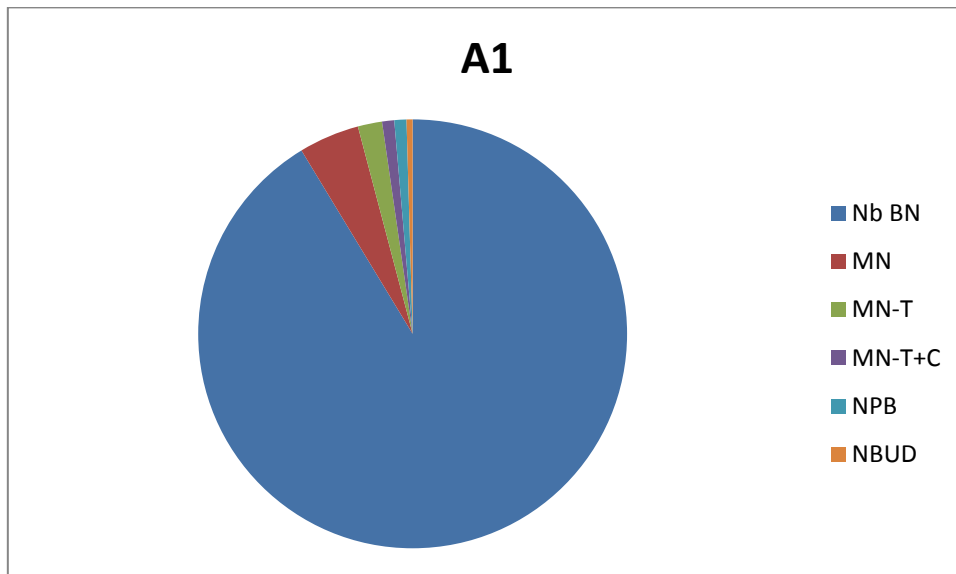
Donneur	Nb BN	MN	MN-T	MN-T+C	NPB	NBUD	Total
A1/50/M/20ans	400	20	8	4	4	2	38
A2/53/M/22ans	400	44	40	4	24	0	112
A3/47/F/20ans	400	60	36	24	68	8	196
A4/45/M/15ans	400	36	20	16	52	4	128
A5/42/M/13ans	400	28	12	16	44	0	100
<b>Total</b>		188	116	64	192	14	574

Il ressort de ce tableau que le plus âgé des travailleurs sous rayonnements a 53 ans et c'est un homme ayant 22 ans d'ancienneté. Le moins âgé a 42 ans et a 13 ans d'ancienneté.

Nous avons constaté une augmentation du nombre de MN dans cette population par rapport au nombre de MN dans la population saine avec toujours une prédominance chez la femme.

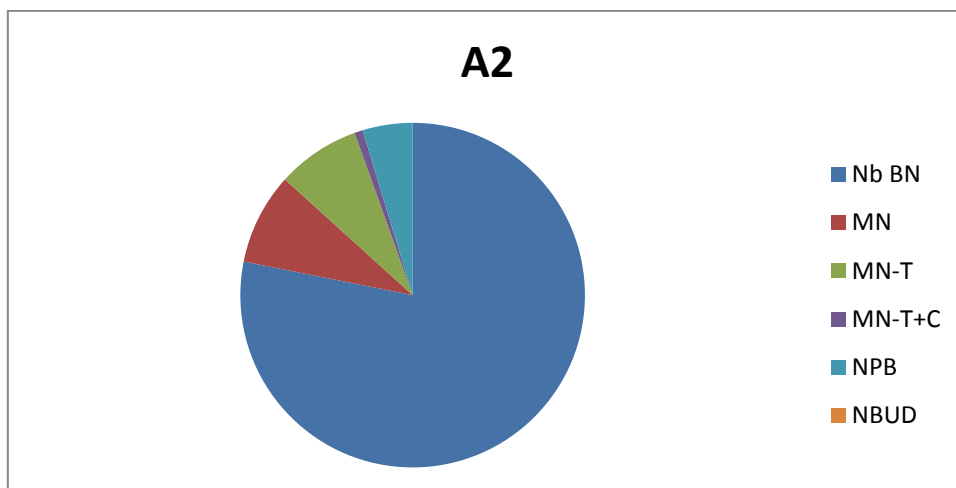
On constate une corrélation entre l'âge, l'ancienneté et la fréquence des MN; plus l'âge est avancé plus la fréquence des MN est élevée de même que le temps passé sous RI ce qui dénote de la dangerosité des RX sur l'organisme.

La figure 20 indique les résultats d'un homme sous RI âgé de 50 ans avec 20 ans d'ancienneté au service avec 20 MN , 8 MN-T , 4 MN-T+C, 4 NPB et 2 NBUD.



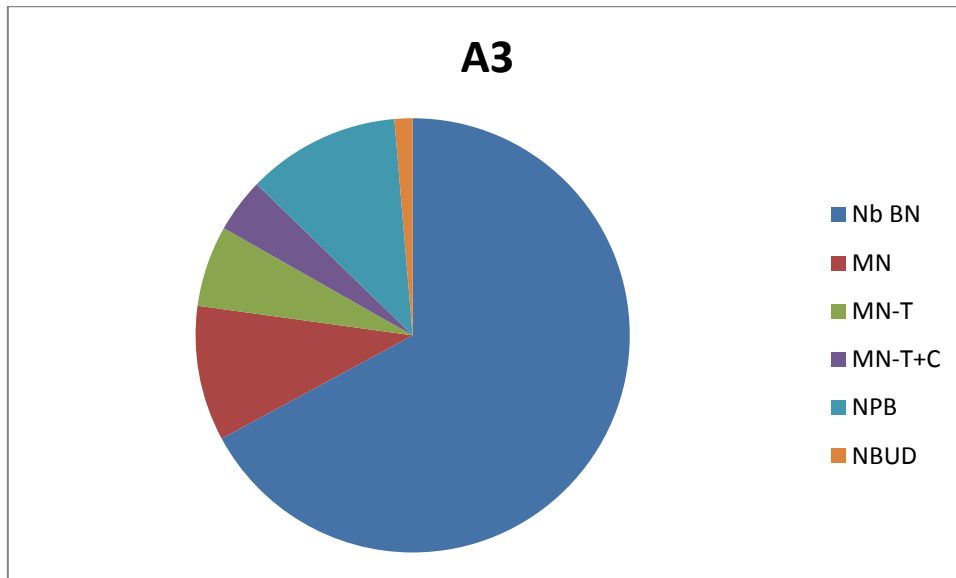
*Figure 20* : Homme sous RX âgé de 50 ans et 20 ans de service

La figure 21 suivante dévoile les résultats d'un homme sous RI âgé de 53 ans avec 22 ans d'ancienneté au service avec 44 MN , 40 MN-T , 4 MN-T+C, 24NPB et 0 NBUD.



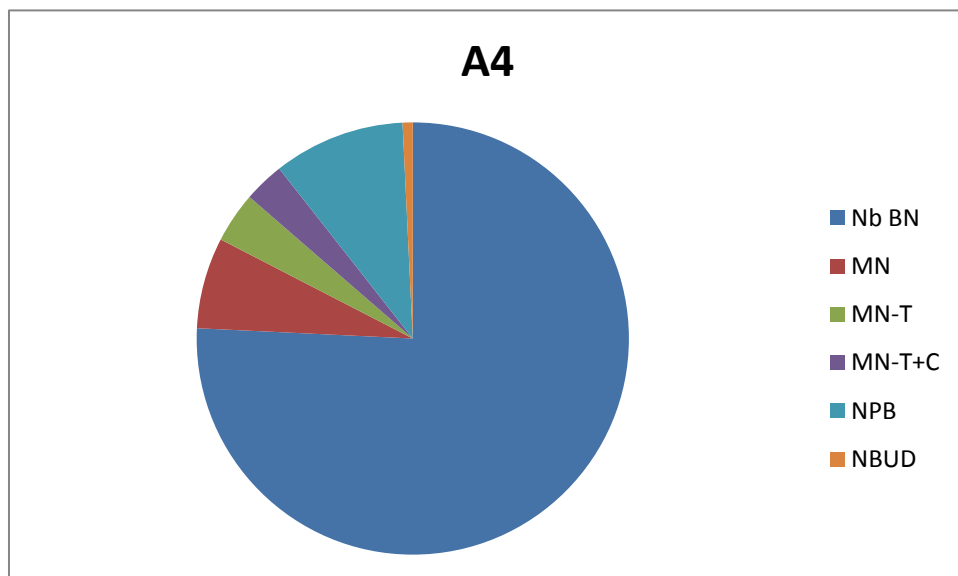
*Figure 21* : Homme sous RX âgé de 53 ans et 20 ans de service

La figure 22 ci-dessous révèle les résultats d'une femme sous RI âgée de 47 ans avec 20 ans d'ancienneté au service avec 60 MN , 36 MN-T , 24 MN-T+C, 68 NPB et 8 NBUD.



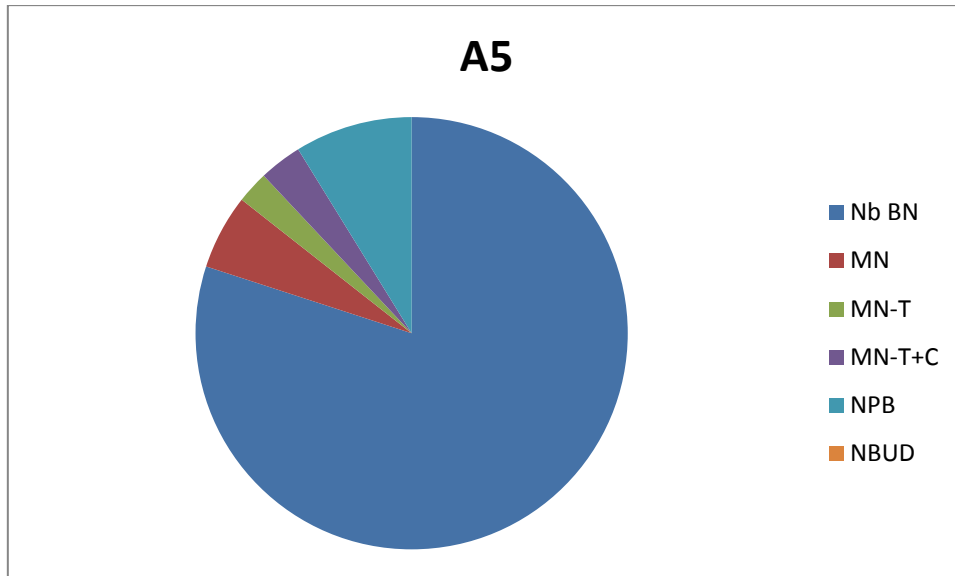
*Figure 22: Femme sous RX âgée de 47 ans et 20 ans de service*

La figure 23 ci après , montre les résultats d'un homme sous RI âgée de 45 ans avec 15 ans d'ancienneté de service avec 36 MN , 20 MN-T , 16 MN-T+C, 52 NPB et 4 NBUD.



*Figure 23: Homme sous RX âgé de 45 ans et 15ans de service*

La figure 24 en dessous, représente les résultats d'un homme sous RI âgé de 42 ans avec 13 ans d'ancienneté de service avec 28 MN , 12 MN-T , 16 MN-T+C, 44 NPB et 0 NBUD.

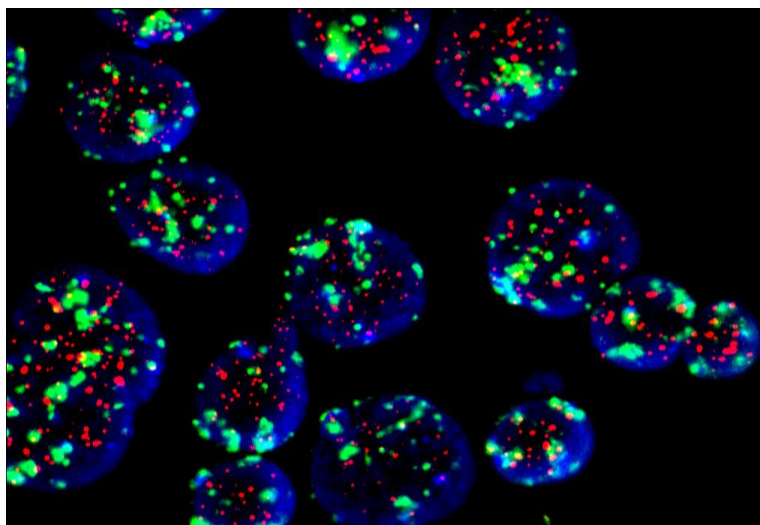


*Figure 24 : Homme sous RX âgé de 42 ans et 13 ans de service*



### **Image de quelques micronoyaux obtenus au cours de notre travail**

Les figures 25 et 256 présentent respectivement des micronoyaux avec pont anaphasique sans telomere-centromere et des micronoyaux avec pont anaphasique constitués a la fois de telomere-centromere puis sans telomere ni centromere.

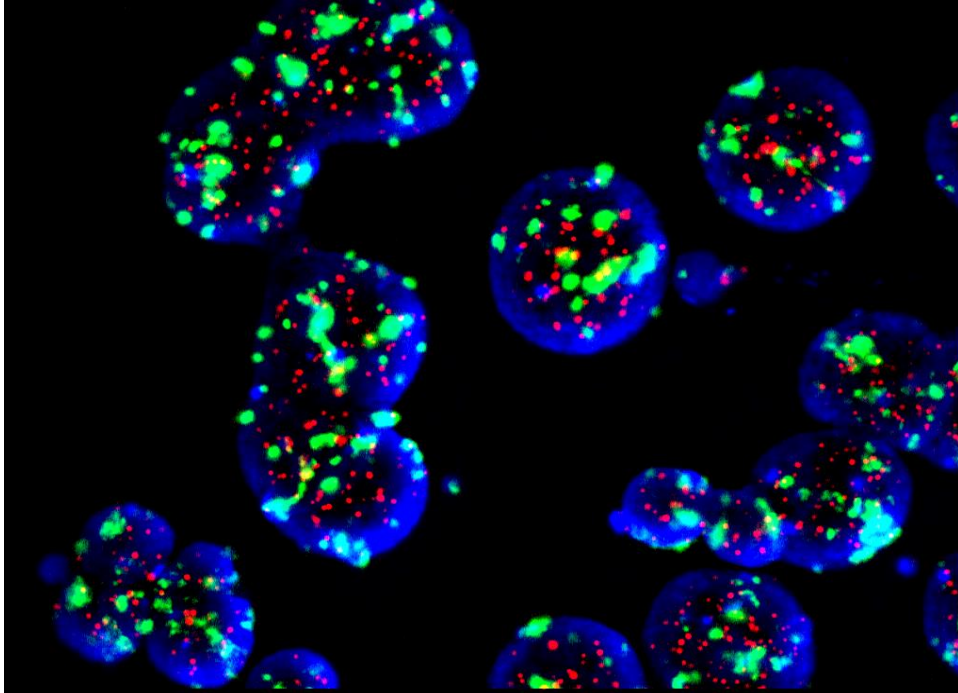
La figure 25 indique l'image de micronoyaux sans T+C et pont anaphasique observés dans nos echantillons .






*Figure25 : Micronoyaux avec pont anaphasique sans télomère et centromère*

-  Pont anaphasique
-  Micronoyaux sans T+C

La figure 26 dénote l'image de micronoyaux sans T+C et avec T+C avec pont anaphasique observés dans nos échantillons .



*Figure26* : Micronoyaux avec pont anaphasique sans télomère, centromère et avec télomère, centromère

-  Pont anaphasique
-  Micronoyaux sans T+C
-  Micronoyaux avec T+C

### Tableau résumant le nombre total de MN observé dans les deux groupes

Le tableau V suivant nous montre la compilation des résultats des MN observés dans les deux populations.

*Tableau V: Tableau résumant le nombre total de MN observé dans les deux groupes*

Donneur	MN	MN-T	MN-T+C	NPB	NBUD	Total
<b>SAINS</b>	49	20	29	39	11	148
<b>RI</b>	188	116	64	192	14	574

En analysant ce tableau nous remarquons une grande différence entre le nombre total des MN entre les deux groupes.

Le nombre total des micronoyaux obtenus est de **148** avec pont anaphasique sans telomere-centromere et des micronoyaux avec pont anaphasique constitués a la fois de telomere-centromere puis sans telomere ni centromere dans la population apparemment saine et **574** au niveau de la population travaillant sous RI .

Ces chiffres nous interpellent tres fortement , nous acteurs d'imagérie médicale et nous devons tout faire pour mettre en place les mesures de radioprotection dans nos services respectifs et faire une suggestion auprès des autorités en charge de la santé dans ce sens.

Les rayonnements ionisants impactent négativement la santé humaine. Ces rayonnements constituent souvent des agents mutagènes agissant à plus ou moins longue échéance. La recherche de micronoyaux (MN) constitue un marqueur biologique précoce de génotoxicité de ces rayons.

Les MN ont pour origine des fragments acentriques de chromosome (c'est-à-dire dépourvu de centromère) ou des chromosomes entiers incapable de migrer vers les pôles de la cellule au cours de l'anaphase.

Le test des micronoyaux permet de détecter l'activité de substances chimiques clastogènes et anagènes chez l'homme après exposition (*Bonassi et al. ;2006*).

L'âge moyen des personnes apparemment saines est de 32,6 ans ce qui reflète la jeunesse de la population béninoise et l'âge moyen des personnes sous rayonnement est de 47,7 ans ceci s'explique par notre critère de sélection qui est d'au moins 10 ans de service sous RI. Le plus jeune dans la population saine à 30 ans tandis que le plus jeune travailleur sous RX a 42 ans. La seule femme dans la population normale a 33 ans alors que chez les travailleurs sous RX elle a 47 ans. Dans la population de cette étude, il y a plus de MN chez les exposés que chez les non exposés. Le nombre moyen de MN observé chez les personnes non exposées (9 MN) est largement supérieur à celui trouvé chez les populations non exposées par (*Koughblenou et al.,2018*) qui avaient utilisé le test de MN pour l'évaluation du risque de génotoxicité de l'eau de la rivière OKPARA à Kika au Bénin.

Dans leurs travaux, le taux moyen des MN était de 03 chez les populations non exposées. La fréquence des micronoyaux augmente significativement avec l'âge et est également liée au sexe. L'occurrence des MN est particulièrement élevée chez les femmes. Ces résultats se rapprochent de (*Gouilb et al., 2006*). Cela serait dû à la variation de la concentration d'hormones circulantes, par exemple une diminution avec l'âge des œstrogènes, qui joue un rôle important dans l'aneuploïdie du chromosome X (*Wojda et Witt, 2003*). Les lésions de l'ADN générées par les rayonnements ionisants et les mutations qu'elles peuvent induire sont les cellules somatiques et germinales sont susceptibles d'entraîner l'apparition de pathologie pouvant résulter d'une atteinte de l'ADN, le cancer reste la principale hantise quant aux expositions aux rayonnements ionisants.

L'accumulation de mutation contribue également aux processus de vieillissement des populations, à la survenue des maladies neurodégénératives et cardio-vasculaires et l'induction de malformation et de pathologie diverses dans la descendance des personnes exposées (*Bonassi et al., 2008*). Dans cette étude, le marqueur de cytotoxicité utilisé est le test des micronoyaux parce que c'est un test stable reproductible et spécifique des effets clastogènes causé par les rayonnements ionisants (*Fenech, 2002*). L'organisme possède des mécanismes de protection cellulaire qui empêchent l'apparition de mutations. Le franchissement de cette première barrière de protection déclenche l'induction de signaux, tels ceux de la voie de signalisation MAP Kinase. Ces signaux conduisent à l'arrêt du cycle cellulaire au point de contrôle et à l'élimination des lésions de l'ADN. Ces mécanismes de protection efficace permettent le maintien de taux de mutations proche des taux spontanées lors de l'exposition à de faible dose (*Norppa et al.2015*). Ce n'est que lorsque ces mécanismes de protection cellulaire sont saturés dans le cas d'expositions à de plus fortes doses que le taux de mutation est augmenté.

Le test des micronoyaux a été utilisé comme indicateur biologique des dommages produit à l'ADN suite à une exposition aux rayonnements ionisants. Le taux moyen de micronoyaux est considérablement plus élevé chez la population exposée (115 MN) que chez la population non exposée (30 MN). Cette différence est très significative. Les figures 24 et 25 illustrent des images microscopiques de micronoyaux que nous avons obtenus lors de cette étude. Les nombres de micronoyau obtenu dans les deux populations sont résumés dans les tableaux III et IV. Le taux de micronoyau varie globalement de 11 à 49 chez la population non exposée et de 14 à 188 chez la population exposée, plus l'âge avance plus le nombre de micronoyau augmente.

Nous constatons également dans les deux groupes que le taux de micronoyaux est plus élevé chez la femme comparativement à l'homme. Le genre est une variable significative influençant le taux des MN et doit être pris en considération dans leur analyse (*Fenech et al, 1994*). Les résultats obtenus ont prouvé que la fréquence des MN est plus élevée chez ceux qui sont sous RI.

En comparant les résultats des sujets apparemment sains à ceux des travailleurs sous rayonnements ionisants, il ressort des raisons convaincantes pour appuyer notre assertion selon laquelle les RI peuvent induire les anomalies chromosomiques.

Suite aux résultats obtenus nous pensons sensibiliser la population sur le danger que constituent les rayonnements ionisés en général et les RX en particulier. Nul n'est épargné surtout avec le développement industriel et l'apparition des NTIC.

Seule une bonne application des normes de radio protection pourrait freiner quelque temps soit peu les effets potentiellement dangereux de ces irradiations. Alors que les âges moyens sont presque les mêmes, 32,6 ans chez notre étude et 33,50 ans pour (Kouglénou *et al.*, 2018).

Le nombre moyen des MN est de 3 MN chez les populations de Kika apparemment saine et de 20 MN dans la population dans la population de Cotonou apparemment saine. Cet état de chose peut s'expliquer par l'industrialisation de la ville de Cotonou et tous les produits contenant de l'engrais chimiques que nous ingurgitons dans notre organisme et les NTIC plus développées dans la ville de Cotonou.

Au niveau des exposés, (Kouglénou *et al.*, 2018) ont noté un nombre moyen de 63 MN chez la population de Kika buvant l'eau de la rivière alors que notre étude a révélé un nombre moyen de 115 MN dans la population des travailleurs sous RX. Ceci prouve le caractère très dangereux des RX pour l'organisme humain. Au total, au moyen du test des MN, la génotoxicité liée à l'exposition aux rayonnements ionisants a été mise en évidence.

Ces marqueurs biologiques constituent un moyen important d'évaluation des risques de génotoxicité chez l'Homme et sont déjà utilisés en routine dans plusieurs pays développés

## CONCLUSION

Les résultats de cette étude transversale à visée diagnostique cas témoins réalisée dans la population béninoise ont permis de mettre en évidence les MN chez les personnes apparemment saines et de trouver un nombre plus élevé de MN chez les travailleurs sous RX ce qui pose un véritable problème de santé publique. Au total, dix (10) personnes dont 05 exposées aux rayonnements ionisants et 05 personnes non exposées, ont été incluses dans chaque groupe. La population des exposées et des non exposées est composé d'un groupe contenant 04 hommes et une femme. L'âge moyen des exposées est 47,4 ans et l'âge moyen des non exposées est de 32,8 ans. 148 MN ont été identifiés chez les personnes normales contre 574 MN chez ceux qui sont sous RI. Nous avons observé 20 MN-T, 29 MN-T+C, 39 NPB et 11 NBVD chez les personnes apparemment saines contre 116 MN-T, 64 MN-T+C, 192 NPB et 14 NBVD chez les personnes exposées. Au vu de ces résultats nous proposons une surveillance sanitaire structurée à plus ou moins long terme de la population exposée.

Notre étude montre la présence de micronoyaux dans la population apparemment saine donc ceux qui n'ont jamais été irradiés. On note un important nombre de micronoyaux dans la population des travailleurs sous rayonnements.

Il en résulte que les RX provoquent d'énormes dégâts dans l'organisme humain.

La présente étude a prouvé que l'apparition des micronoyaux est corrélée avec la durée d'exposition aux rayonnements ionisants et à l'âge des travailleurs montrant ainsi un effet cumulatif.

Comme le test des micronoyaux est un bio marqueur de risques de cancer, en plus d'être un bio marqueur d'effets précoces d'agents cancérigènes et mutagènes, son utilisation combinée aux autres techniques cytogénétiques devient de plus en plus importante pour la prévention des risques de cancer dans les pays développés. Que les autres pays s'approprient petit à petit ces techniques pour le bonheur de la population en général et celle des travailleurs sous rayonnements en particulier.

Notre projet de recherche a montré l'utilité du test des micronoyaux pour la surveillance biologique de l'exposition aux rayonnements ionisants et aux produits environnementaux posant des risques pour la santé.

Ainsi, les objectifs de ce travail de recherche sont atteints, ce qui nous permet de formuler les suggestions suivantes pour une meilleure surveillance de la santé de la population béninoise.

## SUGGESTIONS

### **A l'intention des travailleurs sous rayonnements ionisants**

La protection contre le rayonnement X est donc impérative, tant par la prévention collective (vérification périodique des appareils, formation à leur utilisation, délimitation et signalisation des zones d'émission, écrans de protection...) que par la prévention individuelle (dosimétrie, surveillance médicale renforcée, port d'équipements de protection...).

### **A l'intention de la population en général :**

- Se protéger des rayons solaires
- Éviter de consommer des produits faits à base d'engrais chimiques
- Éviter de faire les examens de scanner à répétition
- Essayer de manger bio si possible

### **A l'intention des autorités:**

- Fournir une alternative sécurisée aux rayonnements ionisants
- Fournir tout le matériel de radioprotection nécessaire dans chaque centre de santé doté d'un appareil à rayons X
- Sensibiliser la population via les médias des dangers potentiels des rayonnements ionisants.

Les personnes qui doivent faire le plus attention sont les médecins et toutes les personnes qui manipulent fréquemment les appareils à rayons X, en effet ce sont eux qui sont les plus exposés aux effets des rayons X.

Les patients sont aussi exposés, c'est pourquoi les médecins doivent bien évaluer la dose de rayons X à utiliser dans le but de ne pas surexposer le patient.

**REFERENCES**

- **Azon-kouanou A.** 2015 Journal de la Société de Biologie Clinique du Bénin, N° 022 ; 51-56
- **Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W.P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M.P., Bolognesi, C., Cebulska-Wasilewska, A., Fabianova, E., Fucic, A., Hagmar, L., Jaksic, G., Martelli, A., Migliore, L., Mirkova, E., Scarfi, M.R., Zijno, A., Norppa, H., Fenech, M., 2007.**  
An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans . *Carcinogenesis* 28 :625-631.
- **Bonassi, S., Ugolini, D., Kirsch-Volders, M., Stromberg, U., Vermeulen, R., Tucker, J.D., 2005.**  
Human population studies with cytogenetic biomarkers : review of the literature and future perspectives. 45 :258-270..
- **Bonassi, S., Neri, M., Lando, C., 2003.**  
Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human Micronucleus
- **C. Haton. 2005**  
Thèse de doctorat de l'Université de PARIS VI .Effet des rayonnements ionisants sur la santé. Page 69
- **Countryman, P.I., Heddle, J.A., 1976.**  
*The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes.* Mutation Research **41** (2-3) :321-3
- **Duan, H., Leng, S., Pan, Z., Dai, Y., Niu, Y., Huang, C., Bin, P., Wang, Y., Liu, Q. Chen, W., Zheng, Y., 2009.**  
Biomarkers measured by cytokinesis-block micronucleus cytome assay for evaluating genetic damages induced by polycyclic aromatic hydrocarbons. Mutation Research **677** :93-99.
- **Fenech, M., 2002.**  
*Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer.* Drug Discovery Today **7**(22):1128-1137.

- **Fenech, M., Crott, J., Turner, J., Brown, S., 1999.**  
Necrosis, apoptosis, cytostasis and DNA damage in human lymphocytes measured simultaneously within the cytokinesis-block micronucleus assay : description of the method and results for hydrogen peroxide. *Mutagenesis* **14(6)** :605-612.
  
- **Fenech, M., 1993.**  
The cytokinesis-block micronucleus technique : a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research* **285(1)** :35-44.
  
- **Fenech, M., Neville, S., Rinaldi, J., 1994.**  
Sex is an important variable affecting spontaneous micronucleus frequency in cytokinesis-blocked lymphocytes .*Mutation Research* **313**:203-207.
  
- **Fenech, M., Morley, A.A., 1985.**  
Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research* **147(1-2)**:29-36.
  
- **Guidos C. 2006.**  
Thymus and T-lymphocyte development: what is new in the 21st century?  
*Immunol Rev* 2006 ;209, What do human micronuclei contain?
  
- **Kougblenou, S. Azonbakin, M. Acrombessi, B. Aguemon, M. Adjagba, B. Awede, M.P. Aina, R.B. Darboux et A. Laleye.**  
Evaluation du risque de génotoxicité de l'eau et de la rivière Okpara à Kika au Bénin
  
- **Lemieux, 2003**  
Increasing residual wage inequality: composition effects, noisy data, or rising demand for skill? *REV* 2008;198, *Mutation Research*
  
- **Lemort. M. 2013-2014**  
Eléments de radioprotection médicale Partie 2, Sciences dentaires
  
- **Natarajan, A.T., Palitti, F., 2008.**  
*DNA repair and chromosomal alterations. MutationResearch* **657**:3-7.

- **Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I.L., Hagmar, L., Stromberg, U., Rossner, P., 2006.**  
*Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk.*  
*Mutation Research* **600** (1-2) :37-45.
- **Programme des Nations Unies pour l'Environnement, 2016.**  
 Catalogue : Radiation : effets et sources
- **P. Gaille et R. Paulin (Biophysique –Radiologie Radiopathologie Masson 1997**
- **Sax K. 1938**  
 Chromosome aberrations induced by X-rays. *Genetics*, 23 ,494-516
- **Stehelin D, 1985.**  
 Les oncogènes cellulaires, clés de la cancérogénèse .Médecine et science  
*Journal volume 1: 12-6.*
- **Thomas L., Bottollier-Depois J. Véronique Lacoste, 2014**  
 Compte rendu d'activité du Bureau de Normalisation d'Equipements Nucléaires (BNEN), Critères de performance pour les laboratoires de service pratiquant la caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes dans la population béninoise par cytogénétique
- **Vaurijoux , A ., Voisin, P . , Roy,L.2010.**  
 Caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes dans la population béninoise en cas d'exposition radiologique d'un grand nombre d'individus : apport de la détection automatique des dicentriques ; *Journal de Radioprotection 2010. Vol 45.*
- **Thicam van PHAM, Avril 2011.**  
 Evaluation de la fréquence des micronoyaux et du potentiel clastogène et /ou aneugène du benzo-a-pyrene suite à une exposition in vitro des lymphocytes humains
- *www.insr.fr* Consulté le 15 février 2020
- <https://www.laradioactivite.com/site/pages/lesexpositionsnaturelles.htm>, site visité le 25 mars 2020 à 14h12 minutes

**ANNEXE**

## Définition des concepts

La compréhension d'un document scientifique nécessite la définition des concepts clés de la thématique en étude.

- ✓ **Aberration instable** : Réarrangement chromosomique qui peut être létal pour la cellule concernée ou ses cellules filles car il entraîne une perte de matériel génétique ou une transmission déséquilibrée du patrimoine génétique lors de la mitose.
- ✓ **Aberration stable** : Réarrangement ou échange chromosomique inter ou intra chromosomique non létal et qui n'entraîne pas de perte de matériel génétique lors de la mitose.
- ✓ **Accident** : Tout événement involontaire, y compris les fausses manœuvres, les défaillances d'équipements ou d'autres anomalies, dont les conséquences réelles ou potentielles ne sont pas négligeables du point de vue de la protection ou de la sûreté.
- ✓ **Acide désoxyribonucléique (ADN)** : Molécule contenue dans les chromosomes, elle code les gènes responsables de la structure et du fonctionnement d'un organisme et permet la transmission de l'information génétique d'une génération à l'autre.
- ✓ **Agent aneugène** : Mutagène indirect capable d'affecter la division cellulaire et le fuseau mitotique et d'entraîner la perte ou le gain de chromosomes entiers, ce qui provoque une aneuploidie (anomalie chromosomique du nombre un seuil d'innocuité peut être défini).
- ✓ **Agent clastogène** : agent susceptible d'induire des lésions de l'ADN à la base de cassures chromosomiques ; aucun seuil d'exposition ne peut être défini.
- ✓ **Binucléé** : Comportant deux noyaux. Les cellules binucléées apparaissent à la fin de la division nucléaire et peuvent s'accumuler si l'on utilise un inhibiteur de la cytokinèse comme la cytochalasine B. Lors d'une analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse, on examine ce type de cellule à la recherche des micronoyaux et des ponts nucléo plasmiques

- ✓ **Bio marqueur** : Indicateur d'un processus biologique normal ou pathogène. En dosimétrie biologique, ils sont utilisés pour distinguer les dommages biologiques radio-induits de ceux qui sont provoqués par d'autres facteurs.
- ✓ **Bourgeon nucléaire** : Corps semblable à un micronoyau et rattaché au noyau par une fine liaison nucléo plasmique. C'est une anomalie du noyau
- ✓ **Caryotype** : Arrangement systématique de paires de chromosomes homologues d'une cellule en fonction de leur taille, de la position du centromère et de la disposition des bandes, il est établi à partir d'une classification type.
- ✓ **Cellule instable** : Cellule qui comporte une aberration instable, par exemple une dicentrique, un anneau ou un fragment acentrique.
- ✓ **Cellule stable** : Cellule dépourvue d'aberrations instables. Elle peut être entièrement intacte ou ne contenir comme seules aberrations que des aberrations stables.
- ✓ **Centromère** : Région de constriction primaire d'un chromosome qui est visible durant la mitose et qui maintient ensemble les chromatides sœurs.
- ✓ **Clastrogène** : Caractérise un agent physique ou chimique qui casse l'ADN des chromosomes, ce qui conduit à des réarrangements comme les aberrations observées en métaphase.
- ✓ **Cytokinèse** : Division du cytoplasme dans les dernières phases de la méiose et de la mitose pour former des cellules filles.
- ✓ **Anaphase** : Troisième étape de la mitose entre la métaphase et la télophase au cours de laquelle les chromosomes divisés se séparent et migrent vers les deux pôles du fuseau.
- ✓ **Cytochalasine B** : Composé naturel d'origine fongique qui a la propriété unique d'inhiber la cytokinèse dans les cellules de mammifère et humaines. Il est utilisé pour l'analyse des micronoyaux par blocage de la cytokinèse.
- ✓ **Cytogénétique** : Branche de la génétique qui porte sur l'étude des chromosomes.

- ✓ **Dosimétrie biologique** : Fait d'utiliser des bio marqueurs afin de vérifier si une exposition aux rayonnements a eu lieu et d'estimer la dose absorbée.
- ✓ **Effets biologiques** : Ensemble des conséquences possibles d'une lésion cellulaire qui peut être due à une exposition à un agent externe, par exemple un rayonnement ionisant, sur des matières vivantes, des organismes, des tissus ou des cellules, en fonction du type et du degré de cette lésion.
- ✓ **Effet déterministe** : Effet sanitaire des rayonnements pour lequel il existe généralement un niveau de dose seuil au-dessus duquel la gravité de l'effet augmente avec la dose. Un tel effet est dit « effet déterministe grave » s'il est mortel ou risque de l'être ou s'il entraîne une lésion permanente qui diminue la qualité de vie.
- ✓ **Effet stochastique (des rayonnements)** : Effet sanitaire des rayonnements dont la probabilité est proportionnelle à la dose et dont la gravité est indépendante de la dose. Les effets stochastiques peuvent être somatiques ou héréditaires et apparaissent généralement sans niveau de dose seuil. Le cancer de la thyroïde et la leucémie en sont des exemples.
- ✓ **Exposition externe** : Exposition à des rayonnements émis par une source se trouvant hors de l'organisme.
- ✓ **Exposition interne** : Exposition à des rayonnements émis par une source se trouvant dans l'organisme.
- ✓ **Génotoxine** : Agent chimique ou physique qui provoque une lésion ou une mutation du matériel génétique.
- ✓ **Gray (Gy)\*** : Unité SI de kerma et de dose absorbée, égale à 1 J/kg. Il a remplacé le rad. 1 Gy = 100 rad.
- ✓ **Fréquence naturelle** : Incidence des aberrations chromosomiques ou des micronoyaux relevés dans la population générale

- ✓ **Groupe témoin** : Groupe de cellules, d'animaux ou de sujets humains confrontés autant que possible à des conditions identiques à celles des individus exposés, sauf que le paramètre qui est étudié n'est pas appliqué.
- ✓ **Leucocyte** : Terme générique qui désigne tout type de globule blanc (par ex. les lymphocytes, les neutrophiles, les éosinophiles, les basophiles, les plasmocytes et les monocytes).
- ✓ **Lymphocytes** : Globules blancs que l'on trouve principalement dans le sang, la lymphe et les tissus lymphatiques, ce sont les cellules immunocompétentes de l'organisme et leurs précurseurs.
- ✓ **Micronoyau (MN)** : Type de petit noyau que l'on trouve dans les cellules où un chromosome a subi une lésion. Il résulte le plus souvent du retard pris par un chromosome entier ou par un fragment acentrique au cours de l'anaphase. Le diamètre d'un micronoyau est généralement compris entre 1/16 et 1/3 de celui des noyaux principaux d'une cellule mononucléaire ou binucléée. Les micronoyaux ont les mêmes propriétés de structure et de coloration que les noyaux.
- ✓ **Mitogène** : Réactif qui induit une prolifération des cellules.
- ✓ **Mitose** : Étape du processus de division cellulaire au cours de laquelle les chromosomes d'une cellule eucaryote se séparent en deux jeux identiques.
- ✓ **Mutagène** : Agent chimique ou physique doté de la propriété d'induire des mutations génétiques au niveau d'une séquence de base de la molécule d'ADN ou à l'échelle d'un chromosome.
- ✓ **Mutation** : Modification d'un gène par rapport à son état naturel. Peut-être pathogène ou constituer une variante normale et bénigne.
- ✓ **Rayonnement X** : Rayonnement électromagnétique à onde courte (photons) émis soit par des électrons dont l'orbital est éloignée du noyau, soit par des électrons qui subissent une accélération et qui provoquent l'émission d'un rayonnement de freinage. Sa longueur d'onde est plus courte que celle des

rayons ultraviolets et plus longue que celle des rayons gamma. Des matériaux lourds comme le plomb doivent être utilisés pour se protéger des rayons X.

- ✓ **Sievert (Sv)\*** : Unité SI de la dose équivalente et de la dose efficace, égale à 1 J/kg.
- ✓ **Exposition aiguë** : Exposition reçue pendant une courte durée. Se dit habituellement d'une exposition d'une durée suffisamment courte pour que les doses qui en résultent puissent être considérées comme instantanées (par ex. inférieure à une heure).
- ✓ **Exposition chronique** : Exposition persistante. L'adjectif « chronique » se rapporte uniquement à la durée de l'exposition et non à l'intensité des doses. Cette expression s'emploie habituellement pour des expositions qui durent de longues années car elles sont dues à des radionucléides de longue période dans l'environnement. La Commission internationale de protection radiologique parle d'exposition prolongée pour décrire ce concept. Ces deux expressions sont en opposition avec exposition aiguë.
- ✓ **Situation d'urgence** : Situation inhabituelle qui nécessite une action rapide pour atténuer un danger ou des conséquences néfastes pour la santé et la sûreté des personnes, la qualité de vie, les biens ou l'environnement. Il s'agit aussi bien de situations d'urgence nucléaire ou radiologique que de situations d'urgence classique telles que les incendies, le rejet de produits chimiques dangereux, les tempêtes ou les séismes. Sont incluses les situations dans lesquelles il est justifié d'entreprendre une action rapide pour atténuer les effets d'un danger perçu.
- ✓ **Situation d'urgence nucléaire ou radiologique** : Situation d'urgence dans laquelle la cause du danger réel ou perçu est :
  - L'énergie résultant d'une réaction nucléaire en chaîne ou de la décroissance de produits d'une réaction en chaîne ;
  - Une exposition à des rayonnements.

Les points a) et b) tendent à représenter respectivement les situations d'urgence nucléaire et radiologique. Toutefois, cette distinction n'est pas rigoureuse.

- ✓ **Télomère.** Extrémité de chaque bras de chromosome, il est constitué de séquences TTAGGG répétées en tandem qui prévient la fusion de chromosomes et la formation de dicentriques.

Les séquences télomériques peuvent être perdues à chaque cycle de réplication de l'ADN ou en cas de microdélétion affectant une séquence.

- ✓ **Test cellulaire des micronoyaux par blocage de la cytokinèse (CBMN Cyt).** CMBN Cyt est une version plus poussée du test CMBN dans laquelle une plus grande diversité de bio marqueurs des lésions chromosomiques (micronoyaux, ponts nucléo plasmiques et bourgeons nucléaires contenus dans les cellules binucléées), ainsi que la mort des cellules (cellules nécrotiques et apoptotiques) et la cytostase (indice de division nucléaire basé sur les proportions de cellules mononucléaires, binucléées et multi nucléées) sont mesurées. Dans ce test, les 240 micronoyaux et les ponts nucléo plasmiques constituent les bio marqueurs les mieux validés en caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes dans la population béninoise pour une exposition à des rayonnements ionisants. **(PHAM, Avril 2011)**

## **CONSIDERATION ETHIQUE**

### **Protection des données**

La présente proposition a été examinée et approuvée par la commission d'éthique du Ministère de la Santé. Cette commission a pour tâche de vérifier que les participants à l'étude bénéficient d'une protection. Les informations confidentielles ne seront pas communiquées.

### **Confidentialité**

Nous ne communiquerons à personne l'identité des participants à l'étude. Les informations que nous recueillerons dans le cadre de l'étude resteront confidentielles. Toute information concernant les participants à l'étude ne sera pas accompagnée de leur nom, mais d'un numéro. Nous serons seule à savoir à qui le numéro est destiné.

### **Bénéfices**

La participation à cette étude donnera des informations importantes sur l'état de santé des personnes sélectionnées par rapport aux effets des rayonnements ionisants malgré qu'ils soient apparemment bien portants.

### **Risques**

D'habitude, un prélèvement est un peu douloureux et peut entraîner des accidents très minimes. Nous prendrons toutes les précautions pour réduire cette douleur et annuler les risques d'éventuels accidents. Un pansement sera appliqué afin de protéger la partie ponctionnée contre de probables risques d'infection associées aux soins.

### **Avantages**

**Pour les volontaires :** Il est démontré que les personnes ayant des aberrations chromosomiques peuvent développer à la longue un cancer. La connaissance de la situation chromosomique des donneurs leur permettra de prendre des dispositions comportementales afin de réduire les risques liés à cette maladie. Ils seront accompagnés dans ce sens.

**Pour les institutions d'enseignement et de santé (EPAC- FSS-MS) :** cette étude aidera à vérifier que dans la population de Cotonou (personnes apparemment saines), il existe ou non des cas d'aberrations chromosomiques.

## FICHE DE COLLECTE DES DONNEES

### I- Identification

DATE : \_\_\_\_\_ N°  
 NOM : \_\_\_\_\_ Prénoms : \_\_\_\_\_  
 SEXE : Masculin  Féminin :  AGE 30-35 ans   
 N° DE LA CARTE NATIONALE D'IDENTITE \_\_\_\_\_

ADRESSE : RESIDENCE \_\_\_\_\_ Tél : \_\_\_\_\_ Mail \_\_\_\_\_

SITUATION MATRIMONIALE : CELIBATAIRE  MARIE

DIVORCE  VEUF/VEUVE  UNION LIBRE

### II- Signes vitaux

TEMPERATURE \_\_\_\_\_ °C ; POIDS \_\_\_\_\_ KG  
 TENSION \_\_\_\_\_ mmHG TAILLE \_\_\_\_\_ cm  
 POULS \_\_\_\_\_ batts/mn

### III- Expositions aux facteurs radio sensibilisateurs ou facteurs de confusion

• PEPTICIDES	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• BENZENE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• POLUTION INDUSTRIELLE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• AMIANTE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>

### IV- Habitude alimentaire

• ALCOOL	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• TABAC	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• COLAS	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>

### V- EXPOSITIONS AUX RAYONNEMENTS IONISANTS

• RADIOGRAPHIE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• SCANNER	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• PET	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• SINTIGRAPHIE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• MEDECINE NUCLEAIRE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>
• RADIOTHERAPIE	OUI	<input type="checkbox"/>	NON	<input type="checkbox"/>

**VI- Antécédents de profession exposant aux rayonnements ionisants ou autres radio sensibilisateurs**

- TECHNICIEN D'IMAGERIE MEDICALE OUI  NON
- EXPLOITATION DES MINES OUI  NON
- CONTROLEUR DE BAGAGES A L'AEROPORT OU AU PORT OUI   
NON
- TRAVAILLEUR DANS LES CIMENTERIES OUI  NON
- CULTIVATEUR DU COTON OUI  NON

**i. FORMULAIRE DE CONSENTEMENT**

La présente note d'information est destinée aux habitants de la population de Cotonou désireux de participer à l'étude notre étude. Ils sont invités à participer à une étude à visée académique (soutenance de master) qui consiste à l'analyse des aberrations chromosomiques dans leur population.

Nom de l'étudiante : DJEBOU CATHERINE .....

Nom de l'université : ...UNIVERSITE DE ABOMEY CALAVI

Nom de l'Expert : .....PROFESSEUR JULIEN DOSSOU.....

Intitulé de la proposition et de la version : caractérisation in vitro des aberrations chromosomiques dans la ville de Cotonou par la caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes circulants dans la population béninoise.

Le formulaire du consentement éclairé comporte deux parties :

I. Information générale (ayant pour objet de vous communiquer des informations sur l'étude menée)

II. Certificat de consentement/ (à signer, si vous acceptez de participer à l'étude)

Il vous sera remis un exemplaire du formulaire intégral de consentement éclairé. Le formulaire d'assentiment éclairé comporte la note d'information générale (ayant pour objet de vous communiquer des informations sur l'étude menée).

## **NOTE D'INFORMATION ET CONSENTEMENT ECLAIRE**

### **I. Note d'information aux volontaires**

---

Je m'appelle **Catherine DJEBOU HOUETO** et je suis étudiante en Master à l'Ecole doctorale des Sciences de l'Ingénieur de l'Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi. Je mène actuellement une étude sur la caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes dans la population béninoisechez les volontaires (sujets apparemment sains). Cette étude qui nécessite des analyses biologiques va nous conduire à faire des prélèvements sanguins.

Nous allons vous donner des informations en vous invitant à participer à l'étude. Avant de prendre votre décision, vous pouvez parler avec toute personne avec laquelle vous vous sentez à l'aise. Certains mots vous paraîtront peut-être difficiles à comprendre. N'hésitez pas à nous interrompre pendant la présentation et nous prendrons le temps de vous donner des explications. Si vous avez d'autres questions ultérieurement, vous pourrez nous les poser ou demander au personnel du Centre National de Transfusion Sanguine.

Votre participation à l'étude est entièrement volontaire. Que vous choisissiez de participer ou non, vous continuerez à bénéficier de tous les services du centre et rien ne va changer.

Vos données que nous allons prendre seront traitées de façon confidentielle.

Avant que l'étude ne soit rendue publique, nous vous communiquerons les connaissances que nous avons sur votre cas.

### **Objectif**

Evaluer les aberrations chromosomiques chez les sujets apparemment sains.

### **Méthode**

Votre participation à cette étude sera faite en trois étapes :

- un entretien direct avec vous ou vous devriez répondre à certaines questions ;
- un prélèvement sanguin vous sera fait ;
- le prélèvement sera convoyé dans un laboratoire français pour analyse.

Les prélèvements sanguins seront utilisés pour étudier les effets des rayonnements naturels sur vos cellules et ne seront servis que pour ce but.

## II. Formulaire de consentement pour le participant

J'ai été invité à participer à une étude portant sur la caractérisation des micronoyaux dans les lymphocytes circulants dans une population béninoise.

J'ai lu les informations qui précèdent ou elles m'ont été lues. J'ai eu l'occasion de poser des questions et il a été répondu de façon satisfaisante à toutes les questions que j'ai posées. Je consens librement à participer à l'étude.

Nom du participant :

Signature :

Date :

(jour/mois/année)

**Signature du témoin :** (La signature d'un témoin et l'empreinte digitale du participant ne sont nécessaires que si ce dernier ne sait pas lire et ni écrire. Dans ce cas, le certificat doit être signé par un témoin sachant lire et écrire. Si cela est possible, cette personne devrait être choisie par le participant, et ne devrait avoir aucun lien avec l'étudiante.

J'atteste que le formulaire de consentement a été lu fidèlement au participant potentiel, qui a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'il a donné son libre consentement.

Nom du témoin :

\_\_\_\_\_

et empreinte digitale

Signature du témoin :

Date :

(jour/mois/année)

### Signature de l'étudiante :

J'ai lu fidèlement le formulaire de consentement au participant potentiel, ou atteste que le texte de ce formulaire lui a été lu fidèlement et qu'il a eu la possibilité de poser des questions. Je confirme qu'il a donné son libre consentement.

Nom de l'étudiant :

Signature :

Date :

(jour/mois/année)

Une copie du présent formulaire de consentement éclairé a été remise au participant,  
\_\_\_\_\_ (paraphe de l'étudiant).

# Table des matières

REMERCIEMENTS .....	i
HOMMAGES.....	ii
LISTE DES ABREVIATIONS.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
SOMMAIRE .....	vii
RESUME.....	viii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUCTION.....	1
1. GENERALITES.....	3
1.1 PROBLEMATIQUE.....	4
1.2 RAPPELS .....	7
1.2.1 Micronoyaux.....	7
1.2.2 Principaux rayonnements ionisants.....	8
1.3 Problématique de survenue des micronoyaux .....	17
1.3.1 Les lymphocytes.....	19
1.3.2 Chromosome.....	21
2. CADRE, MATERIEL ET METHODES DE RECHERCHE.....	23
2.1 Cadre d'étude.....	24
2.2 Matériel et Méthodes.....	24
2.3 Type et période de l'étude.....	25
2.4 Obtention des MN dans les cellules binucléées .....	25
2.4.1 La culture .....	25
2.4.2 Blocage de la cytocinèse.....	26
2.4.3 Récolte.....	26
2.4.4 Décompte des MN et les critères de sélection .....	27
3. RESULTATS ET DISCUSSIONS .....	30
3.1 Caractéristiques générales de la population.....	31

3.1.1 Le sexe .....	31
3.1.2 Age .....	31
3.1.3 L'ancienneté sous RI.....	32
3.2 Résultats de l'étude Cytogénétique.....	32
3.2.1 Résultats de la culture .....	32
3.2.2 Résultats des caractéristiques cytogénétiques.....	32
CONCLUSION .....	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	48
ANNEXE.....	X