

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ALA	: Acide Amino-levulinique
ALAD	: Acide Amino-levulinique deshydratase
APC	: Allophycocyanin
BCR	: B-Cell receptor
Ca²⁺	: Calcium
CCL2	: Chemokine Ligand 2 à motif C-C
CCL3	: Chemokine Ligand 2 à motif C-C
CCL4	: Chemokine Ligand 2 à motif C-C
CD	: Classe de différenciation
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CIRC	: Centre Internationale de Recherches sur le Cancer
CMH	: Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	: Cellules Présentatrices d'Antigène
CTL	: Cytotoxic T Lymphocytes
EDTA	: Acide Ethylène Diamine Tétracétique
FBS	: Fetal Bovine Serum
FITC	: Isothiocyanate de Fluorescéine
FSC	: Forward Scatter
IFNγ	: Interferon gamma
G-CSF	: Granulocyte Colony-Stimulating Factor
GM-CSF	: Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
IgA	: Immunoglobuline A
IgE	: Immunoglobuline E
IgG	: Immunoglobuline G
IgM	: Immunoglobuline M
IL	: Interleukine
NK	: Natural Killer (Tueuses naturelles)
NO	: Monoxyde d'Azote
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
Pb	: Plomb
PBMC	: Peripheral Blood Mononuclear Cell
PE	: Phycoérythrine

PerCP	: Peridinin-Chlorophyll-protein
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute medium
SD	: Standard de Déviation
SH	: Sulfhydrile
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
SSC	: Side Scatter
T.A	: Température ambiante
TCR	: T-Cell receptor
Th1	: Lymphocyte T helper 1
Th2	: Lymphocyte T helper 2
TNF	: Tumor Necrosis Factor
tpm	: Tours par minute

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

Figure 1 : Distribution, stockage et élimination du Plomb dans l'organisme.....	5
Figure 2 : Activation normale des lymphocytes T CD8 ⁺	14
Figure 3 : Sous-population de cellules T auxiliaires.....	15
Figure 4 : Tube de sang séparé par gradient de Ficoll.....	19
Figure 5 : FACSCalibur.....	21
Figure 6 : Stratégie de gating.....	22
Figure 7 : Distribution des lymphocytes totaux chez les cas et les témoins.....	24
Figure 8 : Distribution des lymphocytes TCD4 ⁺ et TCD8 ⁺ chez les cas et les témoins.....	24
Figure 9 : Distribution des lymphocytes B chez les cas et les témoins.....	25
Figure 10 : Distribution des lymphocytes NK chez les cas et les témoins.....	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques de la population d'étude.....	22
Tableau II : Signes cliniques chez les exposées.....	23
Tableau III : Moyenne des plombémies mesurées chez les exposées.....	24

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Première partie : GENERALITES SUR LE PLOMB ET LE SYSTEME IMMUNITAIRE	
I. Le Plomb.....	3
I.1. Propriétés physico-chimiques et sources d'exposition.....	3
I.2. Toxicocinétique.....	4
I.2.1. Absorption, distribution et stockage.....	4
I.2.2. Métabolisme et Excrétion.....	5
I. 3. Mécanismes de toxicité.....	5
I.3.1. Effets cardiovasculaires.....	6
I.3.2. Effets cancérogènes et génotoxiques.....	6
I.3.3. Effet sur le système nerveux.....	7
I.3.4. Effets rénaux.....	7
I.3.5. Effets sur la reproduction.....	7
I.3.6. Effets hématologiques	8
I.3.7. Effets immunotoxiques.....	8
II. Le système immunitaire.....	9
II.1. L'immunité innée.....	9
II.1.1. Les cellules NK.....	10
II.1.2. Les granulocytes.....	11
II.1.3. Les phagocytes.....	11
II.1.4. Les cellules présentatrices d'antigène.....	11
II.2. L'immunité adaptative.....	11
II.2.1. Les lymphocytes T.....	12
II.2.1.1. Les lymphocytes T CD8+.....	12
II.2.1.2. Les lymphocytes T CD4+.....	13
II.2.2. Les lymphocytes B.....	14
Deuxième partie : METHODOLOGIE, REUSLTATS, DISCUSSION	
I. Méthodologie.....	15
I.1. Type d'étude.....	15
I.2. Cadre d'étude.....	15

I.3. Population d'étude.....	15
I.4. Recueil des prélèvements.....	16
I.5. Matériel et méthode.....	16
I.5.1. La séparation et conservation des cellules.....	16
I.5.2. Décongélation des cellules.....	18
I.5.3 Marquage cellulaire.....	19
I.6. Stratégie de gating	
I.7. Analyse statistique.....	22
II. Résultats.....	23
II. 1. Caractéristiques de la population d'étude.....	23
II.2. Distribution des lymphocytes totaux.....	23
II.3. Distribution lymphocytes TCD4+ et TCD8+.....	24
II.4. Distribution des lymphocytes B.....	25
II.5 Distribution des lymphocytes NK.....	25
III. Discussion.....	26
Conclusion et perspective.....	29
REFERENCES.....	31
ANNEXE 1 : Fiche d'information du volontaire Fiche d'enquêtes	
ANNEXE 2 : Consentement libre et éclairé	
ANNEXE 3 : Fiches d'enquête	

INTRODUCTION

Introduction

L'immunotoxicologie étudie les interférences des xénobiotiques avec le système immunitaire. Les xénobiotiques sont des substances étrangères à l'organisme et n'ayant aucune valeur nutritive pour celui-ci. Ils incluent les médicaments, les polluants environnementaux, les toxiques naturels, les radiations ionisantes, les rayonnements ultraviolets etc, (Bounias, 1999 ; Viala et Botta, 2005 ; Skerfving et Bergdahl, 2015). Le plomb est un polluant environnemental possédant un très haut degré de toxicité.

Entre novembre 2007 et février 2008, une série de décès inexplicables était survenue chez certaines personnes de la population du quartier Ngagne Diaw à Thiaroye sur mer, Dakar (Sénégal). Au total 18 enfants avaient perdu la vie suite à des maladies liées à une atteinte du système nerveux central (Haeffliger et coll, 2009). Les enquêtes effectuées par les autorités sanitaires et environnementales avaient montré une forte contamination de la zone due au recyclage des batteries automobiles à base de plomb et des taux de plombémie très élevés. En raison de sa facilité d'extraction, de sa grande malléabilité et de son bas point de fusion, le plomb est facilement raffiné à partir des déchets, ce qui permet une forte capacité de production et assure aux acteurs un certain revenu (Cabral et coll, 2012). Ceci explique clairement que la cause de cette série de mort fut une intoxication collective au plomb (Camara et coll, 2010). La plombémie mesurée chez 50 enfants variait entre 39,8 et 613,9 $\mu\text{g/dL}$, avec une moyenne de $129,5 \pm 92,4 \mu\text{g/dL}$ (Haeffliger et coll, 2009). Le plomb est un toxique cumulatif, dont la durée de vie dans l'organisme se mesure en dizaines d'années. Après pénétration dans l'organisme, le plomb peut donc y demeurer pendant très longtemps et occasionner des dommages, notamment sur le système immunitaire, avant d'être éliminé complètement de l'organisme (Abadin et coll, 2007 ; Chanel et coll, 2000 ; Floraa et coll, 2006). Ceci laisse croire qu'il existe toujours des quantités importantes de plomb dans le sang de sujets de cette zone déjà exposée.

Les réponses du système immunitaire contre les xénobiotiques nécessitent une parfaite coordination entre les lymphocytes T, B et les macrophages. L'altération de l'un de ces éléments peut conduire à un dérèglement de la réponse immunitaire (Shen et coll, 2001 ; Lemahieu, 2004 ; Vodovotz1 et coll, 2017). Un grand nombre d'études expérimentales a montré qu'une plombémie élevée serait responsable d'une immunodépression dont la manifestation la plus visible serait une réduction considérable du taux de lymphocytes T CD4^+ ou « T helper », T CD8^+ et de lymphocytes Natural Killer (NK) (Krocova et coll, 2000 ; Rowley et coll, 2005 ; Floraa et coll, 2006). L'intoxication au plomb peut aussi entraîner une

diminution du taux des immunoglobulines sériques IgG, IgA et IgM dans l'organisme (Mishra et coll, 2003 ; Teijóna et coll, 2003).

Il a aussi été démontré dans des études chez les animaux et chez l'homme qu'une exposition à des métaux lourds tels que le plomb ou le mercure serait aussi capable d'entraîner des maladies auto-immunes qui ont pour cause une activation polyclonale des lymphocytes B (Bussolaro et coll, 2008). Le plomb peut aussi altérer d'autres fonctions du système immunitaire telle que la phagocytose (Shen et coll, 2001 ; Mishra et coll, 2009). Cependant les effets du plomb sur les fonctions immunitaires n'ont pas suffisamment été explorés dans cette population exposée. C'est ainsi que nous avons entrepris cette étude qui a comme objectif principal d'évaluer l'impact de l'exposition au Plomb sur le système immunitaire des sujets exposés dans le quartier Ngagne Diaw de Thiaroye sur mer. Les objectifs spécifiques étaient d'évaluer la fréquence des lymphocytes T (T helper (CD4⁺) et T cytotoxiques (CD8⁺), des lymphocytes B (CD19), et des lymphocytes NK (CD56⁺).

Ce travail est divisé en deux parties :

- ✓ Une première partie qui traite des généralités sur le système immunitaire et sur le plomb et ses mécanismes de toxicité ;
- ✓ Une deuxième partie consacrée à la méthodologie, aux résultats et à la discussion.

Première partie :

GENERALITES

I. Le Plomb

Les métaux lourds, comme le Plomb, sont naturellement présents dans l'environnement (les sols, l'eau et l'air). Ils s'y introduisent de diverses façons: extraction minière, utilisation de combustibles, combustion de déchets, feux de forêt, recyclage de batteries automobiles *etc.* La production de Plomb et son utilisation ont augmenté de façon spectaculaire avec l'avènement de la révolution industrielle, ce qui a entraîné une libération intense de ce métal indestructible et peu mobile dans l'environnement (Floraa et coll, 2006). L'accumulation massive de ce métal dans l'air, l'eau et le sol représente une menace permanente pour la santé des populations. De nos jours, une attention particulière est portée à ce métal du fait de sa forte toxicité qui peut causer dans l'organisme plusieurs effets délétères (Chanel et coll, 2000 ; Sarkar, 2002 ; Viala et Botta, 2005 ; Floraa et coll, 2006).

I.1. Propriétés physico-chimiques et sources d'exposition

Le plomb (Pb) est un métal bleu grisâtre, mou, malléable, flexible, facile à laminier et de faible conductivité. Il a une densité élevée de l'ordre de 11,34 et sa température de fusion s'élève à 327,43°C. Son numéro atomique est 82 et son poids atomique est de 207,2g/mol avec un point d'ébullition situé à 1740°C. Il s'oxyde à la température ordinaire et en présence d'eau, d'air et de gaz carbonique il se forme une couche protectrice d'oxycarbonate de plomb (Abadin et al. 2007). Le Plomb a longtemps été utilisé dans plusieurs domaines d'activités qu'il soit professionnel ou extra-professionnel et ceci a beaucoup contribué à son expansion dans l'environnement. (Chanel et coll, 2000 ; Floraa et coll, 2006 ; Silverman et Holladay, 2014).

Les sources d'exposition professionnelle au plomb concernent principalement l'activité industrielle avec la fabrication d'accumulateurs et de batteries automobiles, l'extraction de métal par fusion, le recyclage ou le décapage de peintures au plomb, l'utilisation de solvant pétroliers par les mécaniciens (Abadin et coll, 2007 ; Cabral et coll, 2012).

Pour l'exposition extra-professionnelle, le Plomb présent dans l'alimentation, les peintures, les essences et la pollution atmosphérique avec les rejets industriels en sont les principales sources d'exposition. (Chanel et coll, 2000). D'après le site du Ministère de la Santé Français dans un rapport publié en septembre 2001([://www.sante.gouv.fr](http://www.sante.gouv.fr), mai 2017),

l'utilisation de l'essence sans plomb dans les pays industrialisés depuis les années 1970 a permis de réduire de 70 à 85 % la concentration de plomb dans l'air en milieu urbain.

I.2. Toxicocinétique

La connaissance de la toxicocinétique du plomb est importante pour mieux comprendre les différentes étapes de sa biotransformation dans l'organisme.

I.2.1. Absorption, distribution et stockage

Si les populations professionnelles sont le plus souvent exposées au plomb par inhalation, la population générale est aussi exposée par les voies digestive et cutanée ; cependant l'absorption par la voie cutanée est beaucoup plus rare (Abadin et coll, 2007 ; Mushak, 2011). Des facteurs, tels que la taille des particules et leur hydrosolubilité, favorisent l'absorption du plomb dans l'organisme (Bismuth et coll, 2000 ; Nemmar et coll, 2002 ; Silverman et Holladay, 2014). L'absorption par voie cutanée est très rare et est largement inférieure à celles observées par voies respiratoire et digestive. (Abadin et coll, 2007 ; Mushak, 2011). Le plomb absorbé par l'organisme passe dans tous les organes à travers le sang, avec un tropisme particulier pour le foie, les reins, la rate, la moelle osseuse et les os (Bismuth et coll, 2000 ; Silverman et Holladay, 2014). La distribution du plomb dans l'organisme est identique quel que soit la voie d'absorption. Dans le sang, le plomb est initialement transporté à 99% par les érythrocytes et le reste se retrouve dans le plasma et se fixe aux protéines circulantes (Sarkar, 2002). Le stockage du plomb dans l'organisme se fait à plus de 90% dans les os et le reste se trouve dans les autres tissus de l'organisme. La figure 3 résume la toxicocinétique du plomb de l'absorption à l'élimination.

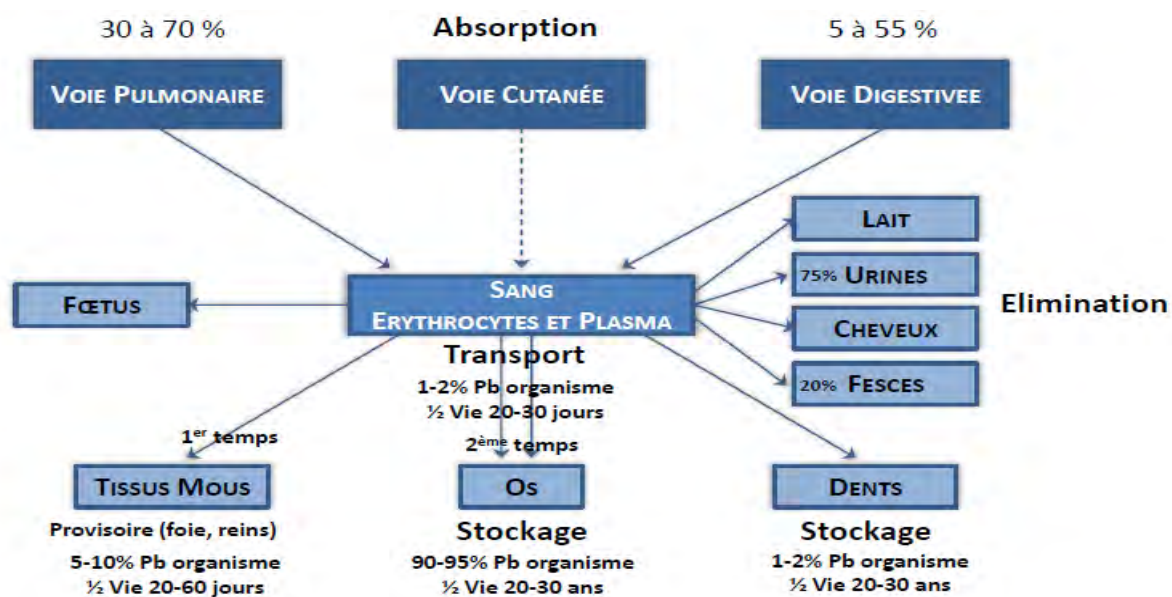


Figure 1 : Distribution, stockage et élimination du Plomb dans l'organisme (INSERM, Collective Expertise Center, 2000, Abadin et coll, 2007, Silverman et Holladay, 2014)

I.2.2. Métabolisme et Excrétion

Le plomb n'a pas de métabolite particulier dans l'organisme. Sa toxicité résulte d'une part de son analogie avec le calcium et le zinc et d'autre part de son affinité pour les groupements thiols (SH) présents dans l'organisme (Chanel et coll, 2000 ; Mushak, 2011). Ils subissent d'abord une réaction de fonctionnalisation avec les enzymes de la phase 1, puis une réaction de conjugaison avec les enzymes de la phase 2 pour produire des composés plus hydrophiles et certainement plus toxiques (Abadin et coll, 2007). L'ion Pb^{2+} et l'ion Ca^{2+} possèdent des rayons ioniques et des énergies d'hydratation relativement voisines. Ces ressemblances expliquent la grande affinité du plomb pour l'os dans lequel il peut remplacer le calcium et y atteindre des concentrations très élevées (Abadin et coll, 2007).

Le Pb inhibe aussi certaines enzymes telles que l'ALA déshydratase, la ferrochélatase et la coproporphyrinogène oxydase qui sont les principaux composants des groupements SH actifs (Chanel et coll, 2000). Après la phase de métabolisation, le Pb dans l'organisme n'a plus que deux issues. Il peut subir une bioactivation et devenir ainsi plus toxique ou une détoxification avant d'être éliminé par différentes voies (Chanel et coll, 2000 ; Abadin et coll, 2007 ; Mushak, 2011).

Indépendamment de la voie d'absorption, le Pb est excrété principalement dans l'urine et les fèces. Cependant, il existe d'autres voies d'élimination du Pb à savoir la sueur, la salive,

les cheveux, les ongles et le lait maternel ; cependant ces voies ont une importance moindre comparées aux deux premières (Kitman et Pouillot 2005, Abadin et coll, 2007). L'élimination du Pb dans l'urine se fait à travers la filtration glomérulaire avec les mécanismes de sécrétions et de réabsorption tubulaire. Cependant, l'élimination fécale se fait par le processus de la digestion (Abadin et coll, 2007 ; Mushak, 2011).

I. 3. Mécanismes de toxicité

Les facteurs qui favorisent la présence du Pb dans notre environnement sont aussi bien naturels qu'anthropiques. Les études montrent de plus en plus qu'il n'y a pas d'effet de seuil dans sa toxicité et que même des plombémies très basses peuvent avoir des effets délétères (Floraa et coll, 2006). Le plomb n'est pas un élément indispensable à la vie cellulaire. Une fois dans l'organisme, il peut perturber l'homéostasie du milieu intérieur et affecter ses cibles principales que sont le système cardiovasculaire, le système hématologique, le système nerveux, le système rénal, l'appareil reproducteur et le système immunitaire. (Chanel et coll, 2000 ; Floraa et coll, 2006, Silverman et Holladay, 2014 ; Skerfving et Bergdahl, 2015).

I.3.1. Effets cardiovasculaires

Une exposition chronique au plomb peut avoir un impact direct sur le cœur en perturbant le fonctionnement des systèmes hormonaux et neuronaux. Ces systèmes jouent un rôle essentiel dans la régulation de la fréquence cardiaque, des résistances vasculaires périphériques et du débit cardiaque et la moindre perturbation de l'une de ses variables pourrait aboutir à une hausse de la pression artérielle (Skerfving et Bergdahl, 2015). L'hypertension induite par une exposition au plomb est aussi favorisée par l'inhibition du monoxyde d'azote (NO), qui est un important régulateur de la pression artérielle en assurant le maintien d'un tonus vasodilatateur constant (Bismuth et coll, 2000 ; Chanel et coll, 2000 ; Abadin et coll, 2007). Une exposition chronique au plomb entraîne toujours une activation directe ou indirecte du système rénine-angiotensine-aldostérone qui est l'un des principaux régulateurs du système cardiovasculaire. (Abadin et coll, 2007 ; Skerfving et Bergdahl, 2015).

I.3.2. Effets cancérogènes et génotoxiques

Les études épidémiologiques ne montrent pas une augmentation significative du risque cancérigène lié à une exposition au plomb ou à l'un de ses dérivés. Toutefois, une analyse de l'ensemble des données traitant ce sujet a révélé une faible augmentation de l'incidence de certains cancers chez des sujets travaillant en particulier dans les fonderies et la fabrication de batteries. Ceci a permis au Centre Internationale de Recherches sur le Cancer (CIRC) de classer le plomb dans la catégorie 2B des substances cancérigènes en raison des données trouvées chez l'animal (CIRC, 1980). De nos jours, les résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* ne permettent pas de tirer des conclusions claires quant à la génotoxicité du plomb. L'hypothèse la plus fréquente dans la littérature est que le plomb entraînerait une altération de l'ADN en affectant la stabilité des complexes formés par les groupements phosphates et les bases (Abadin et coll, 2007).

I.3.3. Effet sur le système nerveux

L'action du plomb sur le système nerveux se manifeste principalement par une encéphalopathie et une neuropathie périphérique. Les études montrent que les effets centraux sont plus fréquents chez les jeunes tandis que les effets périphériques se manifestent le plus souvent chez l'adulte (Skerfving et Bergdahl, 2015). Le cerveau du fœtus est particulièrement sensible aux toxiques en raison d'une plus grande perméabilité de la barrière méningée. Ce qui fait que les conséquences exercées par le plomb sur cette zone sont plus intenses avec une diminution des connexions intercellulaires et de la libération des neurotransmetteurs tels que l'acétylcholine, la noradrénaline et la dopamine (Kitman et Pouillot, 2005).

Les conséquences du Pb sur le système nerveux, qu'elles soient morphologiques ou pharmacologiques, affectent le cerveau de manière générale (Floraa et *al.*, 2006 ; Haeffliger et *al.*, 2009 ; Skerfving et Bergdahl, 2015). Une plombémie au-dessus de 10µg/dL est associée chez l'enfant à une déficience intellectuelle qui, dans la majorité des cas, est irréversible (Bellinger et coll, 2003; Canfield et coll, 2003, Lanphear et coll, 2005 ; Kordas et coll, 2006; Skerfving et Bergdahl, 2015).

I.3.4. Effets rénaux

Le rein est l'un des principaux organes cibles du plomb. Son atteinte résulte d'une exposition chronique à ce métal et apparaît tardivement dans la plupart des cas. Une caractéristique constante de la néphropathie induite par le plomb consiste en des anomalies structurelles au niveau des cellules du tube contourné proximal (Chanel et coll, 2000 ; Abadin et coll, 2007). Après de longues périodes d'exposition au plomb, la plombémie mesurée dans le sang total peut évoluer jusqu'à atteindre 600µg/l (Haeffliger et coll, 2009). Ceci aurait pour conséquences des lésions glomérulaires et des tubulopathies pouvant aboutir à une insuffisance rénale modérée définitive, souvent associée à une hypertension artérielle (Chanel et coll, 2000, Kitman et Pouillot, 2005).

I.3.5. Effets sur la reproduction

Le plomb altère la fertilité chez la femme et entraîne une tératogenité chez le fœtus. Il traverse la barrière placentaire et provoque une fœto-létalité. Des effets tératogènes ont également été observés chez plusieurs espèces autres que l'homme. Il est admis que des intoxications aiguës ou subaiguës liées à de fortes expositions professionnelles au plomb peuvent être à l'origine d'un dysfonctionnement ovulatoire, de fausses couches mais aussi d'une augmentation de la mortalité postnatale (Abadin et coll, 2007). De nos jours, l'appareil reproducteur masculin fait l'objet de nombreuses explorations et certaines hypothèses telles qu'une altération de la qualité du sperme causée par une modification du taux d'hormones (testostérone) sont avancées (Chanel et coll, 2000).

I.3.6. Effets hématologiques

Au niveau hématologique, le plomb peut induire une anémie hypochrome de type microcytaire qui s'accompagne en général d'une augmentation du nombre de réticulocytes à granulation basophiles résultant de l'inhibition de la pyrimidine-5'-nucléotidase (Abadin et coll, 2007 ; Mushak, 2011). Une exposition prolongée au plomb peut conduire à une anémie qui s'installe progressivement du fait de la réduction de la durée de vie des érythrocytes et d'une baisse considérable de la synthèse de l'hème par inhibition enzymatique (Mushak, 2011 ; Skerfving et Bergdahl, 2015). Cette baisse de la synthèse de l'hème peut aussi être à l'origine d'une diminution du taux d'hémoglobine dans l'organisme surtout quand la plombémie atteint 400µg/l.

Le plomb, dans son action toxique sur le système hématologique perturbe l'activité de trois enzymes que sont ALAS (Acide Amino-levulinique Synthétase), ALAD (Acide Amino-levulinique Déshydratase) et la ferrochélatase. L'ALAS et l'ALAD sont des enzymes qui catalysent la synthèse de l'acide amino-lévulinique qui est le premier précurseur de la biosynthèse de l'hème. La ferrochélatase est un enzyme qui intervient dans la dernière étape de la biosynthèse de l'hème en assurant la conversion de la protoporphyrine en hème (Floraa et coll, 2006 ; Abadin et coll, 2007; Mushak, 2011; Skerfving et Bergdahl, 2015).

I.3.7. Effets immunotoxiques

Les effets du plomb sur le système immunitaire concernent principalement les expositions chroniques et subchroniques à ce métal. Ils se manifestent le plus souvent par une diminution du taux de lymphocytes T, des lymphocytes B ou des lymphocytes NK pouvant aboutir à une immunosuppression, une baisse du taux d'immunoglobulines sériques ou encore l'avènement de maladies auto-immunes (Abadin et coll, 2007 ; Skerfving et Bergdahl, 2015). Il peut aussi entraîner une altération de la reconnaissance du non soi par les cellules du système immunitaire et inhiber la production d'interféron gamma et d'interleukine 2 qui ont pour rôle principale la communication entre les leucocytes pour activer la réponse immunitaire (Skerfving et Bergdahl, 2015). Ces effets auront comme conséquence majeure une altération de la fonction immunitaire rendant l'organisme vulnérable aux agents pathogènes.

II. Le système immunitaire

Le système immunitaire est un ensemble complexe de cellules, d'organes et de molécules. Toutes ces cellules proviennent de cellules souches pluripotentes (Pelus, 2017). Celles-ci donnent naissance à deux lignées distinctes, l'une lymphoïde, et l'autre myéloïde.

Le système immunitaire pour se défendre contre les agressions venant du milieu extérieur développe un système de défense appelé réponse immunitaire. Elle est vaste complexe et dépend de la voie de pénétration du pathogène. Elle est constituée de trois lignes de défense dont la première est constituée par les barrières naturelles que sont la peau, les sécrétions des muqueuses et les flores bactériennes.

La deuxième ligne de défense est assurée par les cellules phagocytaires, l'inflammation et les produits antimicrobiens. La troisième ligne de défense est constituée par les cellules spécialisées que sont les lymphocytes B et T (Bellanti, 2012). Les deux premières lignes constituent la réponse immunitaire innée tandis que la dernière ligne représente l'immunité adaptative ou acquise.

Les cellules du système immunitaire sont, pour la plupart, d'origine hématopoïétique. Seuls les lymphocytes T et B expriment respectivement à leurs surfaces des récepteurs d'antigènes, le TCR et le BCR, qui leur permettent d'assurer une réponse spécifique. Cependant, un grand nombre d'autres cellules hématopoïétiques participent directement à l'induction, à la régulation et à l'expression de la réponse immunitaire spécifique, en même temps qu'elles assurent l'immunité non spécifique. Il s'agit des cellules Natural Killer (NK), des polynucléaires, des mastocytes, des plaquettes et des cellules de la lignée monocyte/macrophage dont les multiples formes tissulaires constituent le système histiocytaire.

II.1. L'immunité innée

L'immunité innée représente un ensemble de mécanismes de défense présents dès la naissance et est génétiquement hérités. Les cellules de l'immunité innée possèdent un ensemble de récepteurs codés par des gènes de la lignée germinale de l'hôte et capables de reconnaître les agents pathogènes (Lemahieu, 2004 ; Hamona et Quintin, 2016).

Ces récepteurs reconnaissent des motifs moléculaires partagés par de nombreuses substances étrangères qui ne sont pas présents chez l'hôte (Hamona et Quintin, 2016).

La réponse immunitaire innée est assurée d'abord par certaines barrières physiques comme la peau et les muqueuses mais aussi par des mécanismes de défenses tels que la phagocytose qui permet l'ingestion et la destruction des pathogènes et la sécrétion de substances toxiques qui entraînent la destruction des pathogènes.

II.1.1. Les cellules NK

Les lymphocytes NK constituent le troisième type de lymphocytes après les lymphocytes T et B, avec une taille légèrement supérieure. Il représente 5 à 20% de la

population totale des lymphocytes humains, avec une demi-vie d'environ 17 jours en périphérie (Rouzaire et coll, 2012). Ces cellules tueuses résultent de la différenciation de cellules souches lymphoïdes produites par la moelle osseuse. Retrouvées principalement dans le sang circulant, les NK existent aussi dans les tissus (rate, poumon, utérus, ...) et renferment des granules chargés de molécules cytotoxiques.

Les NK appartiennent à l'immunité innée et ne possèdent donc pas de récepteurs spécifiques d'antigène. Contrairement aux lymphocytes T cytotoxiques (CTL), les gènes codant pour ses récepteurs ne sont pas réarrangés et n'expriment pas le CD3 qui est la sous-unité accompagnant le TCR (Schleinitz et coll, 2002).

Les NK jouent un rôle particulièrement important dans la réponse immunitaire. En effet, tout en épargnant les cellules saines du soi, les lymphocytes NK ont des fonctions multiples à savoir la destruction des cellules infectées, des cellules cancéreuses ou tumorales. Ils produisent des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interféron gamma (IFN- γ) qui participe à l'orientation de la réponse immunitaire adaptative, des cytokines immunosuppressives telles que l'interleukine IL-10, des facteurs de croissance (GM-CSF et G-CSF) ainsi que des chimiokines (CCL2, CCL3, CCL4) (Narni-Mancinelli et coll, 2013 ; Cooper et coll, 2009).

II.1.2. Les granulocytes

Ils sont encore appelés polynucléaires et appartiennent à l'immunité innée. Ils ont une fonction non spécifique à un antigène et sont surtout caractérisés par la présence de plusieurs noyaux. Ils renferment des granules contenant des enzymes destinées à être déversées lors d'infection, de réactions allergiques ou inflammatoires.

II.1.3. Les phagocytes

Ce sont des cellules capables d'ingérer et de détruire des particules de tailles variables et ont surtout une fonction essentiellement antibactérienne. Il s'agit principalement des macrophages et des monocytes.

II.1.4. Les cellules présentatrices d'antigène

Plusieurs cellules peuvent jouer ce rôle de présenter l'antigène au lymphocyte T CD4⁺ et T CD8⁺. Il s'agit entre autres des cellules dendritiques, des monocytes, des lymphocytes B et des macrophages. Elles ont aussi la capacité d'engendrer des effecteurs cytotoxiques spécifiques ou d'amplifier la réponse des lymphocytes T. Cependant, les cellules dendritiques représentent les CPA professionnelles.

II.2. L'immunité adaptative

L'immunité adaptative est un ensemble de mécanismes ne préexistant pas à la naissance. Elle est acquise spécifiquement face à un agent étranger dans l'organisme (Bluestone et Abbas, 2003). Les cellules de l'immunité adaptative ou acquise sont les lymphocytes T, médiateurs de l'immunité cellulaires, et les lymphocytes B, médiateurs de l'immunité humorale (Ddo et coll, 2003). Les lymphocytes sont les seules cellules qui portent des récepteurs spécifiques d'antigène. Aucun critère morphologique ne permet de distinguer leurs différentes classes et sous-classes. Néanmoins ils constituent une famille très hétérogène du point de vue fonctionnel.

Les lymphocytes possèdent des marqueurs ou antigènes de surface qui permettent de les identifier, de déterminer leur stade de différenciation et d'activation. Ces marqueurs de surfaces sont appelés CD ou « clusters of différenciation ».

II.2.1. Les lymphocytes T

Les lymphocytes T possèdent certaines caractéristiques particulières qui permettent leur identification :

- ✓ Ils sont particulièrement recirculant et représentent 60 à 80% des lymphocytes sanguins chez l'adulte ;
- ✓ Leur durée de vie est très longue,
- ✓ Le récepteur pour l'antigène s'appelle le TCR.

Le TCR est de nature hétérodimérique, formé par l'association de deux chaînes polypeptidiques glycosylées ancrées dans la membrane et produites par plusieurs gènes situés sur les chromosomes 7 et 14. Il constitue le site de reconnaissance de l'épitope à la surface

des CPA. Ce récepteur des lymphocytes T ne reconnaît que des antigènes protéiques. Ceux-ci ne sont jamais natifs : les protéines doivent être découpées en peptides qui sont ensuite associées à des molécules du CMH.

Les lymphocytes T expriment également à leur surface :

- ✓ La molécule CD3 qui assure la transduction du signal principal
- ✓ La molécule CD2 qui est un facteur d'adhésion
- ✓ La molécule CD28 ou CD40 ligand qui est une molécule de co-stimulation induisant le signal.

Il existe deux sous populations lymphocytaires T qui se distinguent par leurs corécepteurs : les lymphocytes T CD4⁺ ou lymphocytes T auxiliaires et les lymphocytes T CD8⁺ encore appelés lymphocytes T cytotoxiques.

II.2.1.1. Les lymphocytes T CD8⁺

Les lymphocytes T CD8⁺ ou T cytotoxiques (CTL) expriment l'antigène CD8 à leur surface. Ils reconnaissent l'antigène présenté par une molécule du CMH de classe I. Les antigènes présentés sont des antigènes endogènes, produits par la cellule. La reconnaissance est le premier signal d'activation. Un second signal permet l'expression du pouvoir cytotoxique de la cellule. Ces lymphocytes T reconnaissent et se lient à des cellules cibles infectées par des virus, des cellules cancéreuses ou du non soi, et libèrent des protéines effectrices telle que la perforine. Cette dernière provoque des trous dans la membrane de la cellule cible entraînant la sécrétion des granzymes qui détruisent la cellule infectée.

Celle-ci perd son cytoplasme et meurt en moins de deux heures. Une fois la perforine injectée, le lymphocyte se détache et se met à la recherche de nouvelles cellules cibles (Mosmann et coll, 1995).

Les lymphocytes T cytotoxiques sécrètent aussi le facteur nécrosant des tumeurs (TNF) qui tue lentement les cellules cibles en l'espace de 48 à 72 heures. Ils sécrètent également de nombreuses lymphokines qui interviennent de multiples façons pour amplifier la réponse immunitaire. Ils sont également impliqués dans la surveillance immunologique (Navarro et coll, 1999).

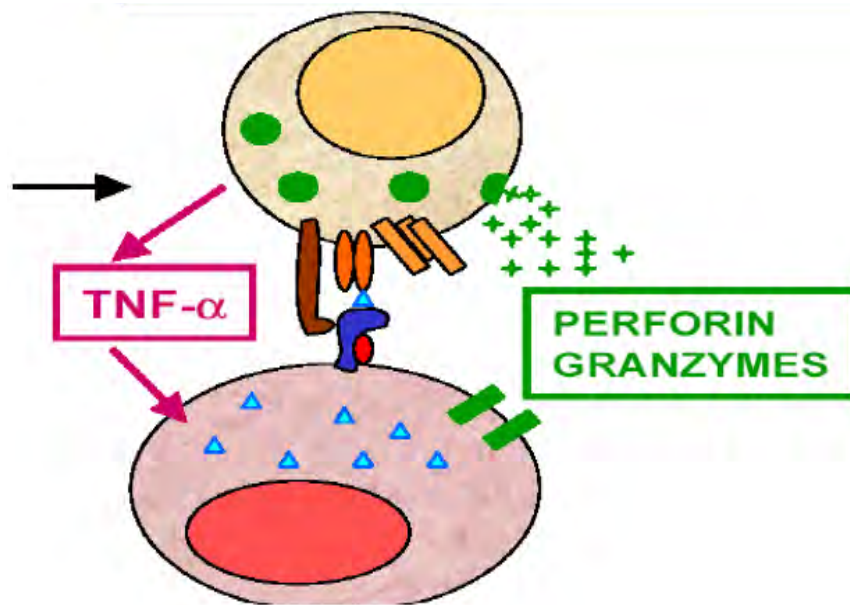


Figure 2 : Activation normale des lymphocytes T CD8 (Navarro et coll, 1999).

II.2.1.2. Les lymphocytes T CD4⁺

Les lymphocytes T auxiliaires, encore appelés lymphocytes T « helper », expriment l'antigène CD4 à leur surface. Ces lymphocytes jouent un important rôle de régulation dans la réaction immunitaire. Une fois activés, ils forment un clone de lymphocytes mémoires. Selon l'environnement où ils se trouvent, ils mobilisent toutes les voies du système immunitaire par la sécrétion d'interleukine 2 (IL-2). Ils peuvent se différencier en sous-populations dont chacune a une fonction spécifique (Mosmann, 1995).

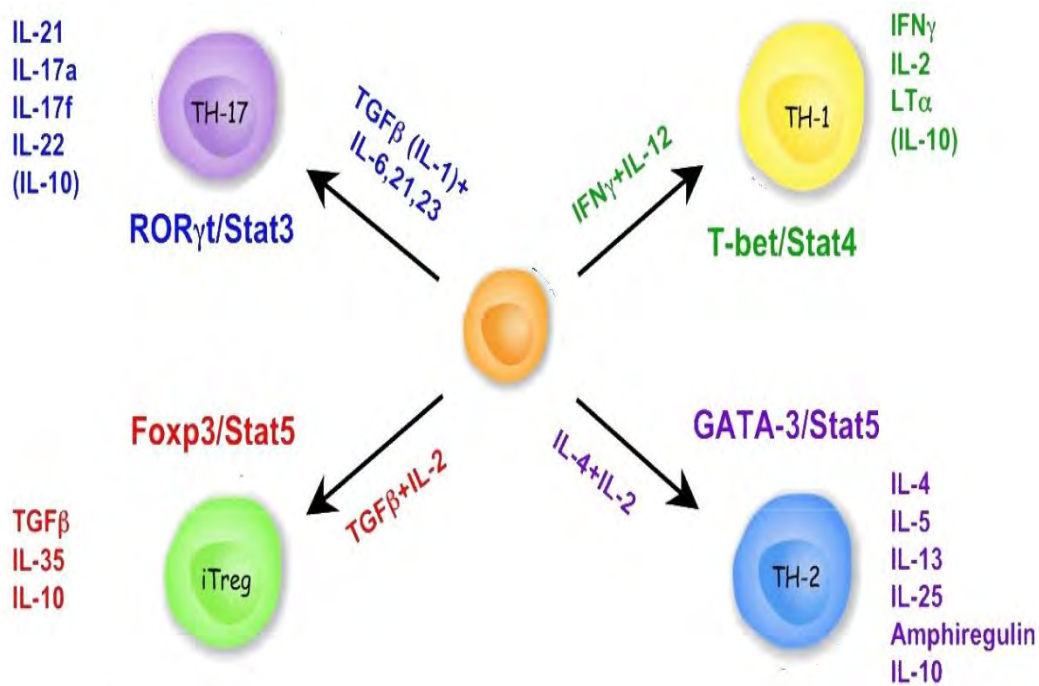


Figure 3 : Sous-population de cellules T auxiliaires (Maciulek et coll, 2014).

Les cellules T CD4⁺ présentent quatre sous-populations principales dont chacune est caractérisée par un facteur de transcription et une ou des cytokine(s) caractéristique : Les cellules Th1 sont caractérisées par le facteur de transcription T-bet et produisent principalement l'IFN- γ ; les cellules Th2 sont caractérisées par le facteur de transcription GATA-3 et produisent principalement l'IL-4, IL-5 et IL-13 ; les cellules Th17 sont caractérisées par le facteur de transcription ROR γ t et produisent principalement l'IL-17 ; et les cellules T régulatrices sont caractérisées par le facteur de transcription FOXP3 et produisent principalement l'IL-10.

II.2.2. Les lymphocytes B

La réponse immunitaire à médiation humorale est assurée par les lymphocytes B avec l'aide des lymphocytes Th2 (Lattanzi et coll, 2012). Cela se traduit par une expansion clonale des lymphocytes B responsables de la ségrégation des anticorps, principalement des IgM, et en fonction du stimulus, des IgG, IgA ou IgE (Weller, 2015).

Les cellules B mémoires ont une plus longue durée de vie et peuvent réagir rapidement lors d'une seconde exposition à leur antigène spécifique. Pour leur persistance, ces cellules mémoires nécessitent une exposition continue à l'antigène (Tangye et Tarlinton, 2009).

Deuxième partie :

METHODOLOGIE,
REUSLTATS, DISCUSSION

I. Méthodologie

I.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude exposée - non exposée. Les exposés sont constitués par un échantillon de 20 femmes exposées au plomb et les non exposés par échantillon de 20 femmes non exposés au plomb.

I.2. Cadre d'étude

Cette étude est entreprise dans le cadre de la surveillance de l'intoxication collective au plomb à Ngagne Diaw (Thiaroye su mer, Dakar). En effet, même si l'exposition au plomb à cesser, les habitants de ce quartier ressentent jusqu'à présent les effets néfastes de ce métal avec comme effet principal la détérioration progressive de leur état de santé. Cette étude est réalisée avec l'aide du Laboratoire de Toxicologie et Hydrologie de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et du Laboratoire d'Immunologie du Centre Hospitalier Universitaire Aristide Le Dantec.

I.3. Population d'étude

Avant l'enrôlement dans l'étude, chaque participant a reçu une fiche d'information et une fiche d'enquête (voir annexes) qui contiennent tous les détails relatifs à l'étude. Le recrutement des cas s'est fait avec l'aide du Programme de Micro-financement du Fonds pour l'Environnement Mondial qui finance dans la zone un projet servant d'alternative au recyclage informel du Pb pour les femmes. Les témoins ont été pris au hasard en respectant les critères de non inclusion.

La taille de notre échantillon était de 40 sujets répartis comme suit : 20 femmes exposées au plomb et ayant vécu dans le quartier Ngagne Diaw au moins pendant la période allant de 2006 à 2009 qui correspond à la période de forte exposition dans la zone. Les 20 femmes non exposées étaient constituées de sujets n'habitants pas le quartier Ngagne Diaw et n'ayant pas de signe d'immunodépression.

I.4. Recueil des prélèvements

Pour les cas, les prélèvements de sang ont été recueillis le 25 mai 2016 par une équipe de techniciens supérieur de laboratoire qui, après avoir coordonnée avec les participants, s'est rendu dans leur zone d'habitation pour effectuer les prélèvements sur place. Les témoins ont été prélevés au laboratoire. Les échantillons ont été recueillis dans des tubes EDTA de 10ml en respectant les conditions de conservation et de transport.

I.5. Matériel et méthode

I.5.1. La séparation et conservation des cellules

❖ Reactifs et consommables

- ✓ tubes Falcon 15ml,
- ✓ ficoll
- ✓ hotte à flux laminaire
- ✓ centrifugeuse
- ✓ microscope optique
- ✓ lame de Neubauer
- ✓ RPMI, FBS
- ✓ PS
- ✓ L-glu
- ✓ DMSO

❖ Principe de la séparation cellulaire

Les éléments figurés du sang périphérique, en milieu Ficoll-Trisil de haute densité, subissent durant la centrifugation une migration différentielle qui conduit à leur séparation en deux fractions : d'une part, les érythrocytes et les granulocytes qui sédimentent au fond du tube et d'autre part, les lymphocytes, les monocytes et les plaquettes qui restent à l'interface échantillon/milieu de séparation. Le milieu de séparation Ficoll-Trisil est une solution de densité 1,077 contenant :

- ✓ du Ficoll de haute masse moléculaire (400.000 Da), très soluble dans l'eau mais de faible viscosité intrinsèque, possède des propriétés agrégantes vis-à-vis des globules rouges,
- ✓ du Trisil, qui forme avec le Ficoll une solution de faible viscosité et de haute densité qui a pour rôle d'établir une osmolarité et une densité adaptées à la sédimentation des granulocytes.

Lors de la centrifugation, les cellules sédimentent vers l'interface échantillon/Ficoll-Trisil. A l'interface, les érythrocytes sont agrégés du fait de la présence de Ficoll. La densité des agrégats étant supérieure à celle du Ficoll-Trisil, les érythrocytes sédimentent au fond du tube. La densité des granulocytes (plus sensibles que les lymphocytes aux variations de pression osmotique) s'élève dans une solution hyperosmotique. Ils sédimentent donc, tandis que les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) demeurent à l'interface échantillon/milieu de séparation.

❖ **Mode opératoire**

La séparation cellulaire s'est faite en milieu stérile pour éviter toute contamination. Il a été mis 5 ml de Ficoll dans un tube Falcon de 15ml puis 10ml de sang y ont été ajoutés de manière à le faire déposer lentement sur le Ficoll. Les tubes ont ensuite été centrifugés pendant 20 mn à 2100 tpm. Après centrifugation, le plasma a été collecté et conservé au congélateur à -80°C. L'anneau cellulaire de PBMC a ensuite été récupéré au niveau de l'interface Ficoll-plasma, et transféré dans un autre tube Falcon de 15ml avant de le suspendre avec 14 ml de la solution RPMI/PS pour une étape de lavage par centrifugation pendant 10 mn à 1800 tpm. Au bout de la centrifugation, le surnageant a été jeté et le culot cellulaire resuspendu dans 10 ml de RPMI/PS. A partir de la suspension cellulaire, 50ul ont été dilués à volume égal avec du Bleu Trypan pour le comptage des cellules.

Pour le comptage, 10µl de la suspension contenant le Bleu Trypan ont été déposés sur une lame de Neubauer pour un décompte des cellules sur 16 carrés de la lame à l'objectif 40. Après comptage, les cellules ont été de nouveau lavées pour une conservation dans 10%DMSO/10%FBS/RPMI.

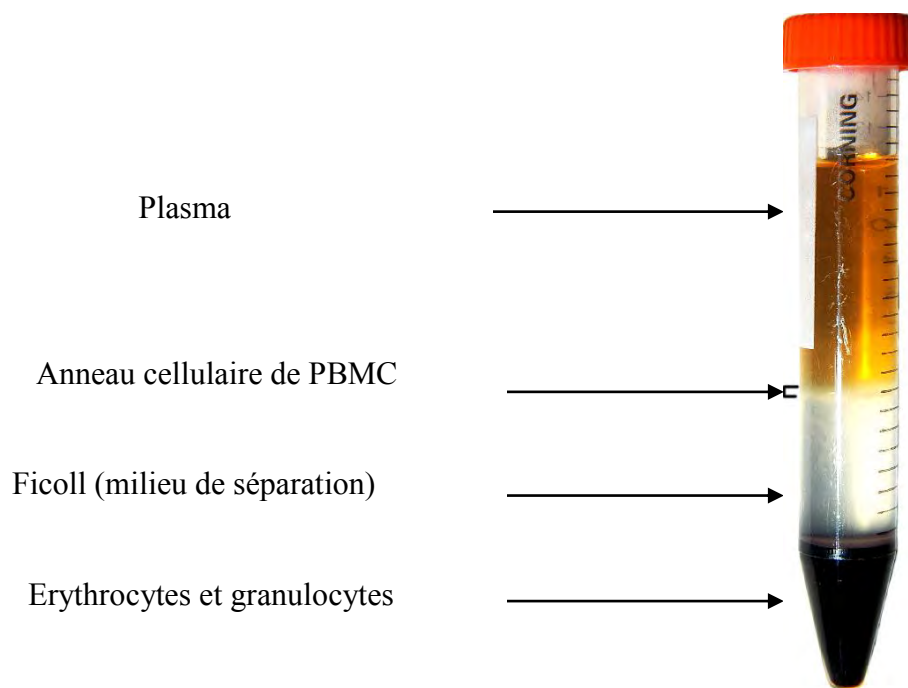


Figure 4 : Tube de sang séparé par gradient de Ficoll

I.5.2. Décongélation des cellules

Lorsque tous les échantillons ont été collectés, les cellules ont ensuite été décongelées pour procéder au marquage cellulaire. Pour la décongélation, préparer une solution 10%FBS/RPMI puis mettre 2ml de cette solution dans des FACS tubes stériles de 5ml. Sortir les cellules du congélateur -150° C et laisser dans la hotte jusqu'au début de décongélation. Prendre, avec une pipette P1000, 500ul de la solution de décongélation, ajouter dans le cryotube contenant les cellules et mélanger jusqu'à décongélation total. Prendre 500ul des cellules en suspension, mettre dans le FACS tube contenant la solution de décongélation et mélanger. A partir du FACS tube, prendre 500ul de solution, mettre dans le cryotube et mélanger. Prendre 1ml du cryotube, mettre dans le FACS tube et mélanger. Procéder de la même manière jusqu'à transfert total des cellules dans le FACS tube. Centrifuger pendant 5 min à 1800tpm à TA.

Verser le surnageant et resuspendre les cellules dans 2ml de 10%FBS/RPMI pour le comptage des cellules avec du BT. Après comptage (N), centrifuger pendant 5 min à 1800tpm, verser le surnageant puis ajouter le volume nécessaire pour obtenir $5 \cdot 10^6$ PBMC/ml (5/N).

I.5.3 Marquage cellulaire

❖ Réactifs et consommables

- ✓ Anticorps anti CD3- FiTC
- ✓ Anticorps anti CD4- PE
- ✓ Anticorps anti CD19- PerCP
- ✓ Anticorps anti CD56 – APC
- ✓ PS
- ✓ FBS
- ✓ FACSBUFFER

❖ Principe de la cytométrie

La cytométrie de flux est une technique d'analyse multiparamétrique sur plusieurs milliers de cellules isolées. Les mesures simultanées de caractéristiques physiques et biologiques des cellules sont effectuées isolément sur chacune d'entre-elles lorsque, entraînées par un fluide au centre d'une veine liquide, elles traversent le faisceau laser. Après intersection du rayon incident, la cellule diffracte la lumière. L'intensité de la lumière diffractée dans l'axe (angle $< 12^\circ$), est proportionnelle à la taille de la cellule (FSC : forward scatter); celle diffractée à 90° est représentative de son contenu cytoplasmique (SSC: side scatter).

Les signaux détectés par le système optique sont amplifiés, convertis en signaux électroniques puis en valeurs numériques. Elles sont analysées grâce à l'unité informatique du cymomètre. L'affichage simultané des paramètres, FSC, SSC traités par le logiciel, visualise chaque cellule sur l'écran sous forme de point. C'est le cytogramme, nuage de signaux punctiformes qui apparaît. Selon les deux paramètres, il est possible de distinguer différentes populations cellulaires et de tracer le contour de la population à étudier en excluant d'une part les débris sur les critères de petite taille (FSC) et petite granularité (SSC) et d'autre part les agrégats situés très haut dans la partie supérieure de l'écran. La zone d'intérêt ainsi délimitée (appelée gate ou fenêtre ou région) est la population cellulaire homogène. Seules les valeurs concernant cette région sont analysées par l'emploi du logiciel. D'autres paires de signaux comme FSC et la fluorescence peuvent être considérées, de nouveaux points apparaissent représentant chacun une cellule en fonction de sa taille et de la fluorescence qui lui est associée.

❖ Mode opératoire

Mettre 1.000.000 PBMC (200µl de la suspension de travail) dans un FACS tube en attendant le marquage avec les anticorps monoclonaux. Le mixte d'anticorps est composé de CD3-FITC pour le marquage des lymphocytes T, de CD4-PE pour le marquage des lymphocytes T-helper, de CD19-PerCP pour le marquage des lymphocytes B et de CD56-APC pour les lymphocytes NK. Ajouter dans chaque tube 100ul du mélange d'anticorps et incubé pendant 30min à l'obscurité et à TA. Après incubation, les tubes sont lavés avec 2ml de FACS buffer puis resuspendu dans 200ul de FACS buffer pour la lecture au cytomètre en flux.

❖ Lecture des échantillons au FACSCalibur

Pour la lecture des échantillons, il faut d'abord mettre le FACSCalibur en marche selon la procédure de mise en marche. Faire passer le tube marqué sous l'aiguille d'aspiration du cymomètre qui va lire l'échantillon en fonction du spectre de fluorochromes correspondant et présenter le résultat sous forme de graphique.

Les résultats ont été analysés avec le logiciel flowjo

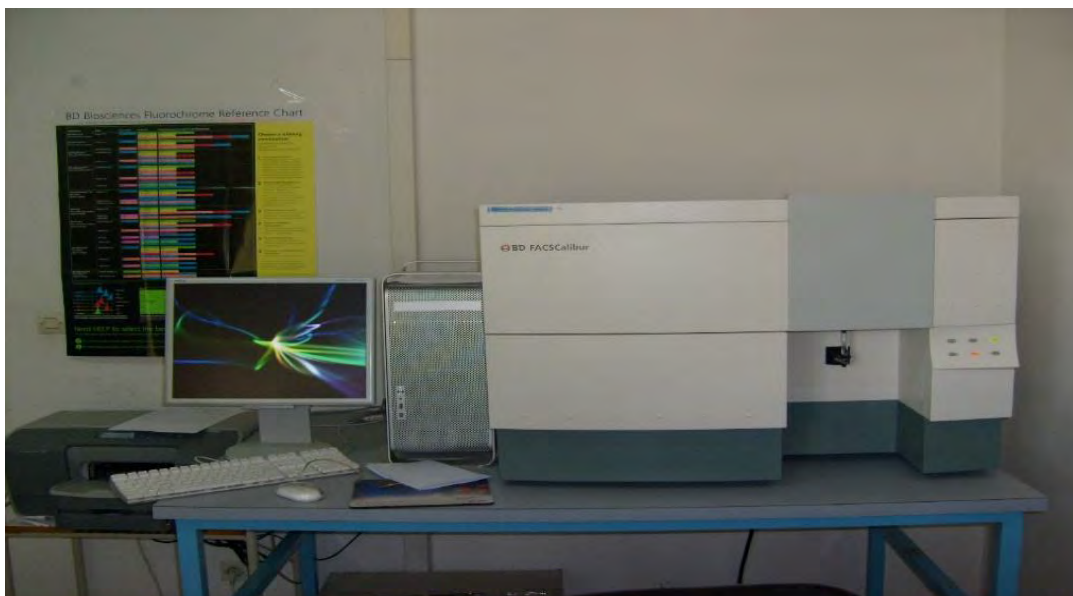


Figure 5 : FACSCalibur (Photo : B. DIAGNE).

I. 6. Stratégie de gating

Pour la lecture des échantillons au FACSCalibur, nous avons créé avec le logiciel «CellQuest Pro» quatre plots. Au niveau de la première plotte nous avons isolé et mesuré les lymphocytes totaux à partir des PBMC. Et c'est à partir de cette population des lymphocytes totaux que sont mesurés les populations de lymphocytes T (CD3, CD4 et CD8), les lymphocytes B (CD19) et les lymphocytes NK (CD56). La figure 6 illustre notre stratégie de gating et les plots obtenues.

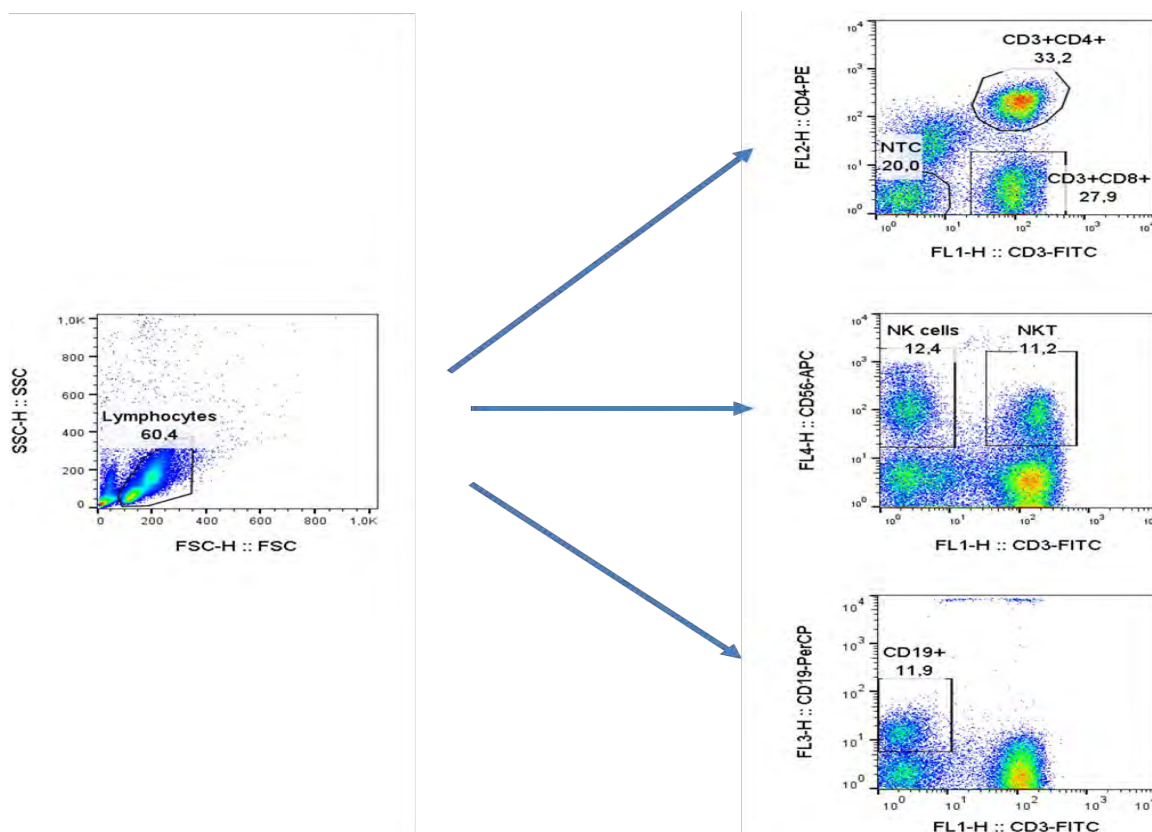


Figure 6 : Stratégie de gating

I.7. Analyses statistiques

Les données ont été saisies grâce au logiciel Excel et le traitement statistique de la base de données est effectué grâce à la version 20.0 du logiciel statistique SPSS. Les résultats sont donnés en médianes (écart interquartiles). La comparaison entre deux groupes se fait par le test non paramétrique de Mann-Whitney. L'analyse de corrélation a été réalisée par le test non paramétrique de Spearman. Un résultat est considéré statistiquement significatif quand la valeur du p-value est inférieure à 5% ($p < 0,05$). Seuls les P-values des différences significatives ont été illustrés au niveau des figures, avec les indications suivantes : *: P entre 0,05 et 0,01 ; **:P entre 0,01 et 0,001.

II. Résultats

II. 1. Caractéristiques de la population d'étude

Notre population d'étude était constituée de 40 sujets qui sont tous de sexe féminin. L'âge médian chez les exposées était de 43 ans encadré par un intervalle interquartile de 26 à 51, l'âge minimal était de 16 ans et l'âge maximal de 60 ans. La durée moyenne d'exposition en année était de 9,84 avec un standard de déviation (SD) très faible ce qui montre l'homogénéité du degré d'exposition chez les exposés. Chez les femmes non exposées l'âge médian était de 25 ans encadré par un intervalle interquartile de 21 à 34. L'âge minimal était de 21 ans et l'âge maximal de 53ans. Les caractéristiques de la population sont illustrées dans le tableau I

Tableau I : Caractéristiques de la population d'étude

	Exposées N= 20	Non exposées N= 20	P-Value
Age en année, Médiane [IQR]	43[26-51]	25[21-34]	0,015
Durée d'exposition en année, Moyenne (SD)	9,84	<u>NA</u>	<u>NA</u>

Les fiches d'enquêtes utilisées pour le recrutement des participants à l'étude ont montré que parmi les 20 femmes exposées au Pb : 20% présentaient des douleurs osseuses récurrentes, 65% avaient des céphalées fréquentes, 40% avaient des troubles de mémoires et 30% ont fait une fausse couche au moins une fois ou ont eu un enfant décédé à bas âge après l'exposition à ce métal. Les caractéristiques de la population sont illustrées dans le tableau I.

Tableau II : Signes cliniques chez les exposées

Signes cliniques	Exposées
Douleurs osseuses	20%
Céphalées fréquentes	65%
Trouble de mémoire	40%
Fausse couches ou post mortalité	30%

En collaboration avec le Centre Antipoison de Dakar qui avait participé activement dans les enquêtes lors de l'intoxication collective au Pb dans la zone, nous avons pu obtenir les plombémies de certains participants à notre étude, mesurées avant et après la décontamination de la zone et les probables plombémies actuelles par déduction avec la demi-vie du Pb. L'analyse de ces données est illustrée par le tableau III.

Tableau III : Moyenne des plombémies mesurées chez les exposées

	Plombémies de dépistage Mars 2008	Plombémie après la 1^{ère} phase de décontamination (Janvier-Février 2010)	Plombémie actuelle par déduction avec la demi-vie (Juin 2017)
Plombémie en µg/l, Médiane [IQR]	1326,8 [1307-1324]	319,75 [302-327]	> 100

II.2. Distribution des lymphocytes totaux

L'analyse statistique des résultats obtenus concernant les pourcentages de lymphocytes totaux mesurés à partir des PBMC est illustrée par la figure 7. Nous avons étudié chez les exposées et les non exposées la variation du pourcentage des lymphocytes totaux par rapport à l'ensemble des PBMC et aucune différence significative entre les deux groupes n'a été observée ($p = 0,903$). Mais on observe une légère hausse chez les non exposées.

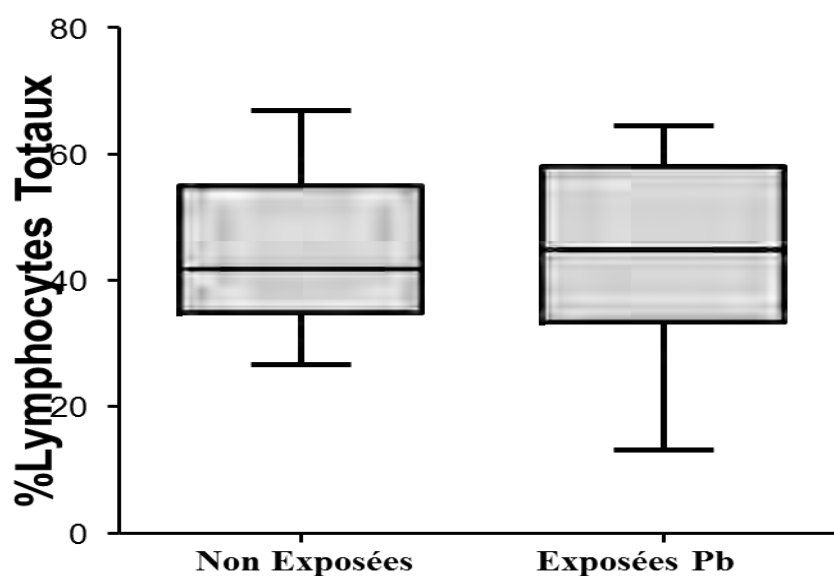


Figure 7 : Distribution des lymphocytes totaux chez les exposées et les non exposées

II.3. Distribution lymphocytes TCD4⁺ et TCD8⁺

La distribution des pourcentages de lymphocytes TCD4⁺ a aussi été étudiée et une augmentation significative a été observée chez les femmes exposées comparées aux femmes non exposées (figure 8A). Le pourcentage des lymphocytes TCD8⁺ était par contre significativement plus bas chez les exposées par rapport aux non exposées ($p = 0,02$) (figure 8B).

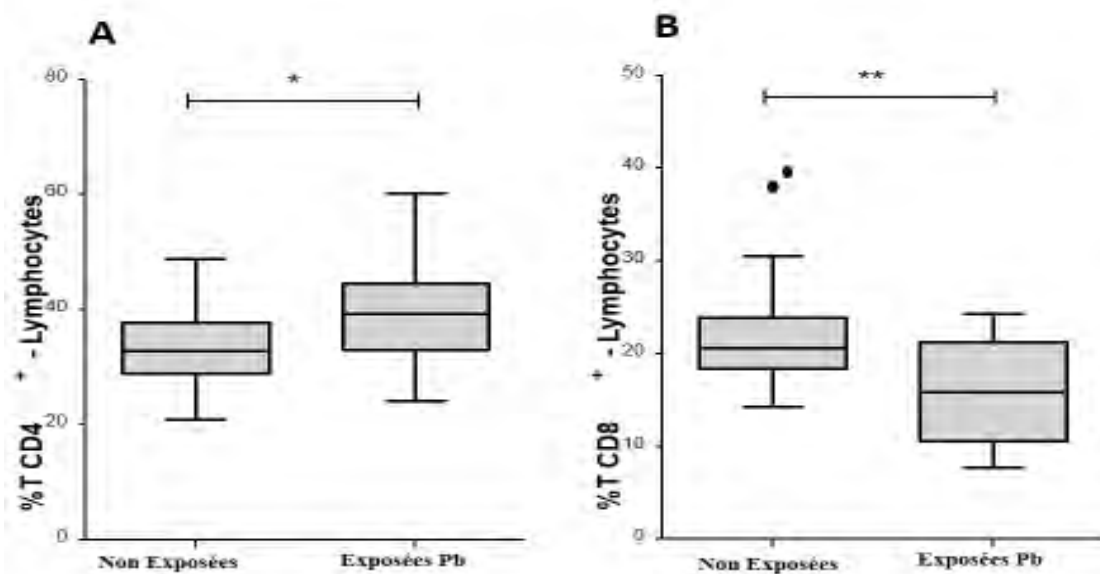


Figure 8 : Distribution des lymphocytes TCD4⁺ et TCD8⁺ chez les exposées et les non exposées

II.4. Distribution des lymphocytes B

L'analyse des pourcentages de cellules B n'a montré aucune différence significative entre les exposées et les non exposées ($p = 0,25$), suggérant que l'exposition au plomb de notre population d'étude n'a aucune incidence significative sur les lymphocytes B (figure 9).

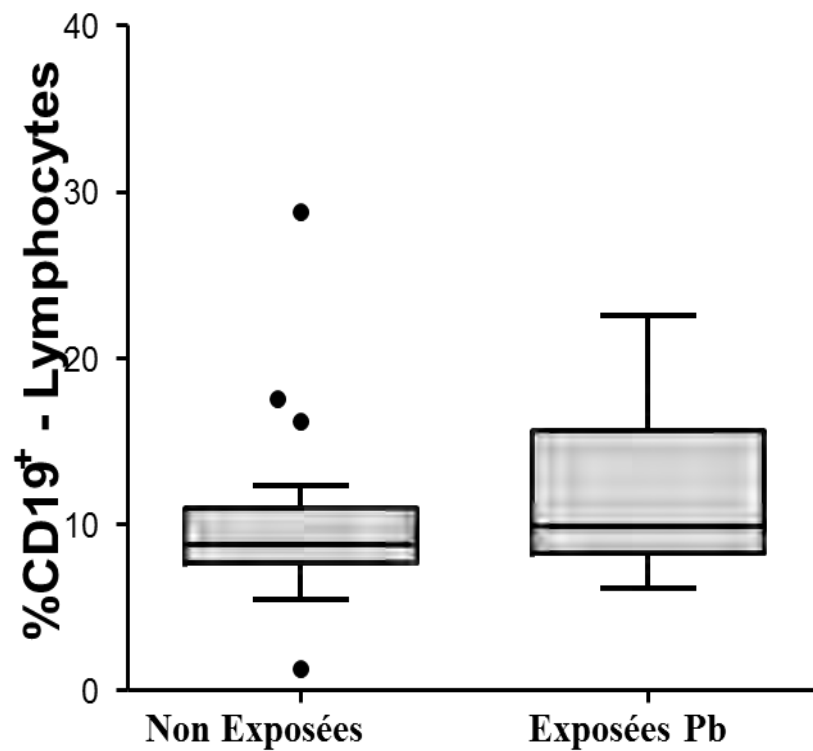


Figure 9 : Distribution des lymphocytes B chez les cas et les témoins

I. 5. Distribution des lymphocytes NK

Toujours à partir des lymphocytes totaux mesurés, nous avons étudié la variation du pourcentage des lymphocytes qui ne sont ni T ni B, c'est-à-dire les cellules Natural Killer. L'analyse des résultats a montré une différence significativement plus faible chez les exposées comparées aux non exposées ($p = 0,02$) (la figure 10).

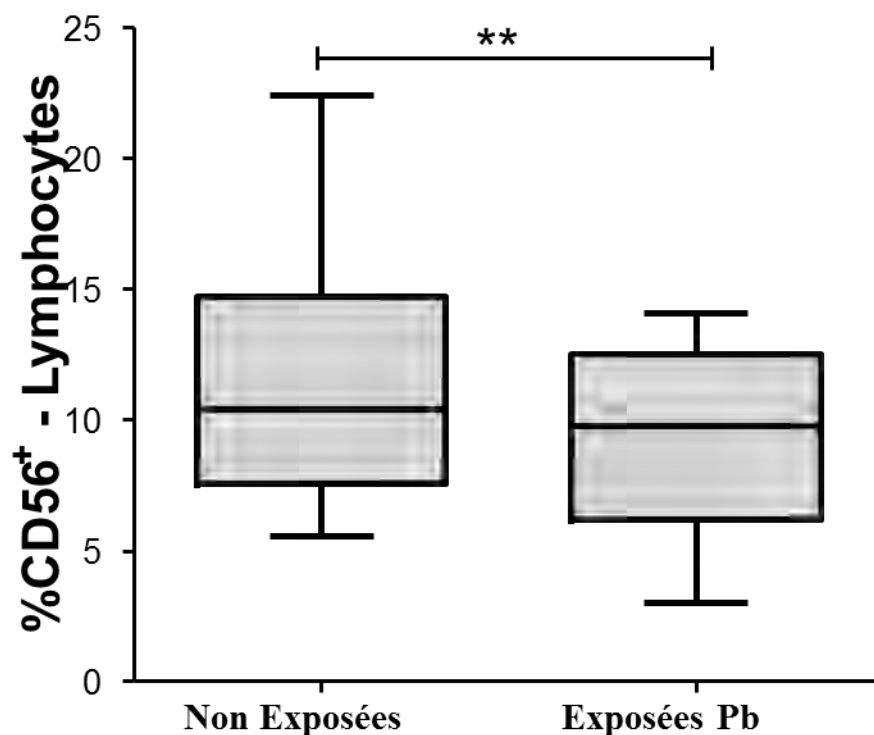


Figure 10: Distribution des lymphocytes NK chez les cas et les témoins.

III. Discussion

Dans la présente étude, nous avons essayé de montrer les manifestations immunotoxiques du Pb. Le système immunitaire, pour se protéger contre les agressions des agents du milieu extérieur va produire, par le biais des cellules immunitaires, des thiols qui sont soit des cystéines, des glutathions ou des métalloprotéines (Abadin et coll, 2007) qui sont des molécules possédant un fort pouvoir de neutralisation contre les métaux lourds. Ils se lient aux métaux et inhibent leurs effets néfastes sur l'organisme comme la dénaturation des protéines de faible poids moléculaire (Dickinson et Forman 2002a ; Dickinson et Forman 2002b ; Skerfving et Bergdahl, 2015).

Le recyclage des batteries d'alimentation automobile dans le but de récupérer le plomb est devenu une activité rentable en raison de la hausse du prix de ce métal sur le marché mondial. Au Sénégal l'exposition de la population au Pb s'accroît de jour en jour vu l'accroissement des activités de recyclage des batteries automobiles par diverses couches sociales (Cabral et coll, 2012). L'objectif principal de notre travail était d'évaluer l'impact de l'exposition au plomb sur le système immunitaire chez des femmes ex-transformatrices de batteries automobiles à base de Pb.

dans le quartier Ngagne Diaw de Thiaroye sur mer Dakar/Sénégal. Pour se faire on a mesuré les pourcentages des lymphocytes T, B et NK de ces sujets.

Beaucoup de travaux effectués sur la surveillance de l'exposition au plomb des populations dans le monde ont été menés sur des populations de composition et de tailles différentes. En effet, beaucoup ont porté sur des populations de taille relativement importante comme c'est le cas des études menées au Sénégal portant sur l'intoxication collective au plomb causé par le recyclage informel de batterie automobiles à Thiaroye qui a concerné 81 sujets (Haeffliger et coll, 2009). C'est aussi le cas des travaux menés par Sata et coll qui ont concerné 71 sujets travaillant dans une usine de fabrication de produits chimiques utilisant le plomb comme matière première (Sata et coll, 1998). L'âge moyen de la population exposée et la taille de l'échantillon des témoins utilisés sont comparables à ceux utilisés dans notre étude.

En considérant la demie vie du Pb dans les os qui est estimée à environ 10ans il ressort des plombémies mesurées lors de l'intoxication que ce métal est toujours présents dans l'organisme des populations du quartier Ngagne Diaw et probablement a des quantités susceptibles de causer ($>100\mu\text{g/l}$) des dommages à l'organisme du fait que la toxicité du plomb est sans seuil.

Parmi les 20 femmes exposées au Pb dans notre étude, 30% présentaient des douleurs articulaires fréquentes, ce qui est en phase avec les données de la littérature vu que le lieu principal de stockage du Pb dans l'organisme se trouve être les os où il est stocké à plus de 90% (Abadin et coll, 2007). Il a aussi été démontré qu'une exposition chronique au Pb pourrait être responsable d'une altération du système nerveux centrale et périphérique (Skerfving et Bergdahl, 2015). Ceci pourrait expliquer les céphalées et les troubles de mémoires récurrents dont sont respectivement victimes 65% et 40% de notre population exposée. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par plusieurs autres études (Floraa et coll, 2006 ; Haeffliger et coll, 2009 ; Skerfving et Bergdahl, 2015). Toujours parmi le groupe des sujets exposées, 30% des femmes ont au moins une fois fait une fausse couche ou eu un enfant décédé juste après la naissance ; ce résultat est corroboré par les travaux d'Abadin et coll qui ont montré qu'une intoxication aiguë ou chronique liées à de fortes expositions professionnelles au plomb pouvait être à l'origine d'un dysfonctionnement ovulatoire, de fausses couches mais aussi d'une augmentation de la mortalité postnatale (Abadin et coll, 2007).

Le pourcentage de lymphocyte total aussi bien chez la population exposée que chez les femmes non exposées ne montre aucune différence significative. Pour notre population d'étude, leur exposition au plomb n'a pas d'incidence remarquable sur la population lymphocytaire prise globalement, mais on a observé une légère hausse de leur fréquence chez les femmes non exposées.

Cependant en considérant les sous populations de lymphocytes, nous avons observé une augmentation significative du pourcentage de lymphocytes T CD4⁺ chez les femmes exposées par rapport aux femmes non exposées. Ce résultat est en opposition avec la majorité des études menées sur les effets délétères du Pb sur le système immunitaire qui ont montré qu'une plombémie élevée serait responsable d'une immunodépression dont la manifestation la plus visible est une réduction considérable du taux de lymphocytes T CD4⁺ ou «T helper» (Krocova et coll, 2000 ; Rowley et coll, 2005 ; Floraa et coll, 2006). Cependant, bien que la proportion des cellules T CD4⁺ par rapport aux lymphocytes soit plus importante, ceci n'est pas le cas quand on considère leurs proportions par rapport aux PBMC totale. Ceci suggère que leur proportion au niveau périphérique reste normale. L'augmentation du pourcentage des cellules T CD4⁺ chez les femmes exposées pourrait aussi indiquer une auto-immunité du fait que les éléments traces métallique sont susceptibles d'entraîner des maladies auto-immune qui ont pour cause une activation des lymphocytes (Bussolaro et coll, 2008).

Contrairement aux lymphocytes T auxiliaires, une baisse du pourcentage de lymphocytes T CD8⁺ a été observée chez les femmes exposées au plomb par rapport aux contrôles. Ce qui est en accord avec des travaux qui ont mis en évidence une corrélation positive entre l'exposition au plomb et la diminution des lymphocytes TCD8⁺ (Sata et coll, 1998). Ces données semblent associer l'exposition au plomb à une diminution des cellules T CD8⁺. Cependant d'autres études n'ont pas trouvé d'impact de l'exposition au plomb sur les lymphocytes TCD8⁺ (Mishra, 2009).

Concernant les lymphocytes B, nous n'avons pas trouvée de différence significative de leur fréquence entre les exposées et les non exposées. La majorité des études menées sur des sujets exposés au plomb ont montrés qu'une intoxication entraine une altération de la réponse immunitaire à médiation cellulaire et humorale dont la manifestation la plus visibles est une baisse du taux de lymphocytes B avec comme conséquences une diminution du taux des immunoglobulines sériques IgG, IgA et IgM dans l'organisme (Mishra et coll, 2003 ; Teijóna et coll, 2003). Ces résultats ne sont pas comparables à ceux de notre étude. Cette discordance

pourrait être imputée à la différence des objectifs d'étude. Dans ces études les auteurs ont exploré la fonctionnalité des cellules alors que nous nous sommes limités au comptage des pourcentages de cellules.

A l'instar des cellules T CD8⁺, nos résultats ont montré une diminution considérable du pourcentage des lymphocytes NK chez les femmes exposées. Ces résultats sont similaires aux travaux de Kamla et coll menés sur des bijoutiers et des recycleurs de batteries automobiles (Kamla et coll, 2003). Dans l'évaluation de l'impact de l'exposition au plomb sur le système immunitaire, des auteurs ont mis en évidence une baisse des cellules NK par rapport aux lymphocytes totaux (Mishra et coll, 2009). Ces résultats sont en phase avec les nôtres qui ont aussi montré que l'exposition des femmes au Pb entraîne une diminution des cellules NK. Ces données, combinées à la diminution de la fréquence des lymphocytes T CD8⁺ chez les femmes exposées, montrent l'impact de cette exposition sur les cellules cytotoxiques. Les différences constatées entre les résultats dissonants de ces études par rapport aux nôtres pourraient s'expliquer par le fait que ces travaux ont été effectués sur des sujets présentant des taux de plombémie moins élevés que ceux trouvés à Ngagne Diaw après l'intoxication collective.

Conclusion et perspective

De nos jours, l'exposition des populations à des polluants environnementaux toxiques tels que le plomb, est devenue un réel problème de santé publique d'envergure mondiale. Au Sénégal, l'exposition des populations au plomb ne cesse d'augmenter du fait des activités comme le recyclage informel de batterie automobile et des déchets d'équipements électriques et électroniques contenant du plomb, l'utilisation de produits toxiques contenant du plomb par certains ouvriers comme les mécaniciens etc.

Plusieurs travaux ont été menés sur l'impact du plomb sur le système immunitaire et il a été prouvé que l'exposition à ce métal entraîne une diminution du nombre des cellules immunitaires et occasionne par conséquent une altération du système immunitaire.

Au Sénégal plusieurs études sur diverses populations exposées ou potentiellement exposées ont été menées dans le cadre de la surveillance de l'exposition des populations au Pb mais les effets de ce toxique sur la fonction immunitaire n'ont jamais été explorés au Sénégal. Notre travail constitue la première étude qui s'intéresse à l'aspect immunologique des individus exposés au plomb.

Il ressort de nos résultats que seul les pourcentages des cellules TCD8⁺ et NK, qui ont des fonctions cytotoxiques, étaient diminués chez les femmes exposées par rapport aux témoins.

Ceci suggère que l'exposition au plomb de la population du quartier Ngagne Diaw est associée à une altération des fonctions cytotoxiques du système immunitaire.

Il semble ainsi que les effets du Pb sur le système immunitaire peuvent, à long terme, affecter l'immunité et aboutir à altération de certaines fonctions cellulaires.

Notre étude étant purement descriptive, il serait important en perspectives d'explorer les fonctions des cellules de l'immunité à travers leur capacité de libération de cytokines telles que l'interféron gamma. Mais aussi à l'avenir on pourrait augmenter la taille de la population d'étude et inclure les enfants dans l'étude du fait qu'ils présentaient des plombémies plus élevées que ceux mesurées chez les adultes lors de l'intoxication collective au Pb.

REFERENCES

1. Abadin H, Ashizawa A, Stevens YW, et al. Toxicological profile for lead. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, August 2007.
2. Abbas, A. K. et A. H. Lichtman. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Ed Elsevier SAS, 2005.
3. Alejandro EG, Sigifredo PS, Joseh-Roberto AR. Innate immunity. In: Immunology IV. 4e Ed. Washington DC: I Care Press; 2012 p.71.
4. Baraut J, Farge D, Jean-Louis F, Kesmandt H, Durant C, Verrecchia F, Michel L. Cytokines in systemic sclerosis. Ed Masson, 2010.
5. Bellanti JA. Overview of immunology. In: Immunology IV. 4e Ed. Washington DC: I Care Press; 2012 p.3.
6. Bellinger DC, Needleman HL, Eden AN, Donohoe MT, Canfield RL, Henderson CR, et al. Intellectual impairment and blood lead levels. *New Engl. J. Med.* 2003; 349:500–502.
7. Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Fréjaville JP, Garnier R, Jaeger A. Toxicologie clinique. Ed Flammarion Méd-Sciences, 5e édition, Paris 2000.
8. Bluestone JA et Abbas AK, 2003. Natural versus adaptive regulatory T cells. *Nature Reviews Immunology*, 3:253-257.
9. Bounias M. Traité de toxicologie générale. Berlin : Ed Spring, 1999.
10. Burmester GR et Pezzutto A. Atlas de poche d'Immunologie. Bases, analyses, pathologies. Ed Méd-Sciences Flammarion, 2000.
11. Bussolaro D, Filipak FN, Gargioni R, Fernandes LC, Randi MAF, Pelletier E, Oliveira Ribeiro C.A. The immune response of peritoneal macrophages due to exposure to inorganic lead in the house mouse *Mus musculus*. *Ed Toxicol in Vitro* 2008; 22(1): 254-260.
12. Cabral M, Dieme D, Touré A, Diop C, Jichi F, Cazier F, Fall M, Diouf A. Impact du recyclage des batteries de véhicules sur la santé humaine et l'environnement : étude pilote effectuée sur des femmes de Colobane et des mécaniciens de Médina. *Ann Toxicol Anal.* 2012; 24(1): 1-7..
13. Camara B, Lam A, Faye PM, Ndior Cabral M, Fall M, Toure A, Ndiaye M, Sene Mbaye M, Diouf A. Récupération du plomb de batteries et saturnisme à Dakar, Sénégal. *Arch Péd.* 2010; 17: 91.

14. Canfield RL, Henderson CR.Jr, Cory-Slechta DA, Cox C, Jusko T, Lanphear BP. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10ug/dL. Ed New Engl J Med, 2003; 348: 1517-1526.
15. Cheng Y, Willett WC, Schawartz J, Sparrow D, Weiss H. Relation of Nutrition to Bone and Blood Lead Levels in Middle-aged to Ederly men. Ed Epidemiol 1998, 147:1162-1174.
16. CIRC: Monographs on the evaluation of carcinogen risk of chemical to humans. Some metals and metallic compound. Lyon, Centre international de recherche sur le cancer, 1980; 23: 325-415.
17. Cooper MA, Elliott JM, Keyel PA, Yang L, Carrero JA, Yokoyama WM. Cytokine-induced memory-like natural killer cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2009 Feb 10;106 (6):1915-9.
18. Ddo SR, de CCR, Kallas EG, Salomao R. Distribution of naive and memory/effector CD4 + T lymphocytes and expression of CD38 on CD8 + T lymphocytes in AIDS patients with tuberculosis. Braz J Infect Dis 2003 Apr; 7(2):161-5.
19. Dickinson AD, Forman HJ. Cellular glutathione and thiols metabolism. Ed Bioch Pharm, 2002a; 64: 1019-1026.
20. Dickinson AD and Forman H.J. Glutathione in defense and signaling: lessons from a small thiol. Ed Bioch Pharm. 2002b; 973:488-504.
21. Farber D. Chapter7, T Lymphocytes and Cell-Mediated Immunity In: Immunology IV. 4e Ed. Washington DC: I Care Press; 2012 p.209.
22. Floraa S.J.S, Florab G, Saxenaa G. Environmental occurrence, health effects and management of lead poisoning In: Lead: Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impact and Health Effects? 2006, 158–228.
23. Haeffliger P, Mathieu-Nolf M, Lociciro S, Ndiaye C, Coly M, Diouf A, Lam A, Sow A, Tempowski J, Pronczuk J, Filipe J. A.P, Bertollini R, Maria MN. Mass Lead Intoxication from Informal Used Lead Acid Battery Recycling in Dakar, Senegal. Ed Environ Health Perspect, 2009.
24. Heinze I, Gross R, Stehle P, Dillon D. Assessment of lead exposure in schoolchildren from Jakarta. Environ. Health Perspect, 1998; 106(8):499-501.
25. Hamona A.M, Quintin J. Innate immune memory in mammals. Seminars in Immunology, 2016. 28(4): 351–358.

26. INSERM, Expertise Collective. Plomb dans l'environnement: quels risques pour la santé? Paris : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, 2000.
27. Kelly A, Houston S.A, Sherwood E, Casulli J, Travis M.A. Regulation of Innate and Adaptive Immunity by TGF β . *Advances in Immunology*; 2017.
28. Kitrnan JL, Pouillot A. L'histoire secrète du plomb. Ed Allia. Paris, 2005.
29. Koller D.L, Immunotoxicology of heavy metals. Pergamon Press Great Britain, 1980.
30. Kordas K, Canfield RL, Lopez P, Rosado JL, Garcia GV, Cebrian ME, et al. Deficits in cognitive function and achievement in Mexican first-graders with low blood lead concentrations. *Environ Research*, 2006; 100:371-386.
31. Krocova Z, Macela A, Kroca M, Hernychova L. The Immunomodulatory Effect of Lead and Cadmium on the Cells of Immune System in Vitro. *Toxicol in Vitro*, 2000; 14:33-40.
32. Lemahieu JC. Le système immunitaire: cellules, molécules et organes de l'immunité, 2004. Sur <http://anne.decoستر.free.fr/immuno/orgcelri/orgce.htm> (accès le 10/05/2017).
33. Lanphear BP, Hornung R, Khoury J, Yolton K, Baghurst P, Bellinger DC, et al. Low level environmental lead exposure and children's intellectual function: an international pooled analysis. *Environ Health Perspect*, 2005; 113:894-899.
34. Langrand J, Scarnera S..Antoine, Villa A, Garnier R. Surveillance et prise en charge des femmes enceintes, allaitantes ou en âge de procréer exposées professionnellement au plomb. In : *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 2016. 77(3) : 484-485.
35. Lattanzi M, Rappuoli R, Stadler K. The Use of Vaccine and Antibody Preparations. In: *Immunology IV.4e Ed.* Washington DC: I Care Press; 2012 p.891.
36. Laurewys RR. Biological monitoring of exposure to inorganic and organometallic substances: Lead Industrial Chemical Exposure Guideline for Biological Monitoring. *Biomedical Publi*, 1983; 27-38.
37. Maciolek JA, Pasternak JA, Wilson HL. Metabolism of activated T lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 2014 Apr;27:60-74.
38. Mishra KP. Lead exposure and its impact on immune system: A review. *Toxicol in Vitro*, 2009; 23:969-72.

39. Mishra KP, Singh KV, Rani R, Yadav SV, Chandran V, Srivastava PS, Seth KP. Effect of lead exposure on the immune response of some occupationally exposed individuals. *Toxicology*.2003, 188: 251-259.
40. Mosmann TR, Sad S, Krishnan L, Wegmann TG, Guilbert LJ, Belosevic M. Differentiation of subsets of CD4+ and CD8+ T cells. *Ciba Found Symp* 1995; 195:42-50.
41. Mosmann TR. Cytokines, differentiation and functions of subsets of CD4 and CD8 T cells. *Behring Inst Mitt* 1995 Jun ;(96):1-6.
42. Mushak P. Lead Exposure in Human Populations: Lead Toxicokinetics and Biomarkers of Lead Exposure In: *Trace Metals and other Contaminants in the Environment. Lead and Public Health — Science, Risk and Regulation*, 2011. 10: 243–316.
43. Mushak P. Hematological Effects of Lead in Human Populations In: *Trace Metals and other Contaminants in the Environment. Lead and Public Health Science, Risk and Regulation*, 2011. 10: 597–633.
44. Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. [Natural killer cells: adaptation and memory in innate immunity]. *Med Sci (Paris)* 2013 Apr;29(4):389-95.
45. Navarro F, Llano M, Bellon T, Colonna M, Geraghty DE, Lopez-Botet M. The ILT2(LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur J Immunol* 1999 Jan;29(1):277-83.
46. Nemmar A, Hoet PH, Vanquickenbome B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts MF, Vanbilloen H, Mortelmans L, Nemery B. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *Circulation*. 2002; 105: 411-414.
47. Pelus LM. Stem Cell Reviews and Reports: Cell Trafficking, Stem Cell Mobilization and Homing, and Hematopoiesis Section. *Stem Cell Rev* 2017 Feb;13(1):5.
48. Rouzaire P, Mayol K, Viel S, Bienvenu J, Walzer T. Homéostasie des cellules natural killer. *médecine/sciences* 2012 ; 28(4): 403-8.
49. Rowley B, Monestier M. Mechanisms of heavy metal-induced autoimmunity. *Molecular Immunol*. 2005. 42:833-838.

50. Sata F, Araki S, Tanigawa T, Morita Y, Sakurai S, Nakata A, Katsuno N. Changes in T Cell Subpopulations in Lead Workers. ENVIRONMENTAL RESEARCH, SECTION A, 1998 76: 61–64.
51. Sarkar B. Heavy metals in the environment. Floride, CRC Press, 2002.
52. Schleinitz N, Dignat-George F, Sampol J, Harlé J-R, Vivier E. Les cellules Natural Killer. Elsevier, Paris 2002 ; 341 :23-30.
53. Sébahoun G. Hématologie clinique et biologique. In: Arnette, 1999; 6: 11-57.
54. Shen X, Lee K, Koni R. Effects of heavy metal ions on resting and antigen-activated CD4+ T cells. Toxicology, 2001; 169: 67-80.
55. Silverman B.S et Holladay M.W, Lead Discovery and Lead Modification In: The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action. 3e Ed. ACADEMIC PRESS; 2014. 19–122.
56. Site du Ministère de la Santé Français. Saturnisme: le dépister et le prévenir. Septembre 2001, sur [http://www.sante.gouv.fr/ htm/point sur/saturn/index.htm](http://www.sante.gouv.fr/htm/point_sur/saturn/index.htm) consulté le 04 Mai 2017.
57. Skerfving S et Bergdahl I.A, Chapter 43 – Lead In: Handbook on the Toxicology of Metals. 4e Ed. ACADEMIC PRESS, 2015. 2:911–967.
58. Tangye SG, Tarlinton DM. Memory B cells: effectors of long-lived immune responses. Eur J Immunol 2009 Aug; 39 (8):2065-75.
59. Teijóna C, Olmob R, Dolores MB, Romeroc A, Maria JT. Effects of lead administration at low doses by different routes on rat spleens. Study of response of splenic lymphocytes and tissue lysozyme. Toxicology, 2003; 191 (2–3): 245-258.
60. Viala A et Botta A. Toxicologie. 2ém Edition. Paris : Lavoisier, 2005.
61. Vondenhoff MF, Kraal G, Mebius RE. Lymphoid organogenesis in brief. Ed Eur J Immunol, 2007
62. Vodovotz1 Y, Xia A, Read E.L, Bassaganya-Riera J, Hafler D.A, Sontag E, Wang J, John S. Tsang J.S, Day J.D, Kleinstein S.H, Buttel A.J, Altman M.C, Hammond R, Sealfon S.C. Solving Immunology In: Trends in Immunology. Cell PRESS, 2017. 38(2): 116–127.
63. Weller S, Descatoire M. [IgM+IgD+CD27+ B cells in human: an essential role in the protection against encapsulated bacteria]. Med Sci (Paris) 2015 Jun; 31 (67):647-53

ANNEXES

Université Cheikh Anta DIOP

CHNU Le Dantec

Laboratoire de Bactériologie et Virologie (LBV)/Unité d'immunologie

Fiche d'information du volontaire

Titre de l'étude : Evaluation du phénotype lymphocytaire chez des femmes du quartier de Ngagne Diaw, Dakar (Sénégal).

Invitation

Monsieur ou Mme,

Nous sollicitons votre participation à cette étude conduite par l'Unité d'Immunologie du Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHNU Aristide Le Dentec. Au préalable il est important que vous ayez connaissance de certains éléments importants avant que vous preniez toute décision de participation à l'étude :

- La participation à cette étude est entièrement volontaire.
- Vous pouvez vous retirer de cette l'étude à tout moment sans aucune perte de bénéfices auxquels vous aurez droit en dehors de l'étude. Si vous prenez une telle décision, nous vous prions d'informer un membre de notre équipe.

Cette fiche d'informations peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous prions de bien vouloir demander aux biologistes responsables de cette étude de vous expliquer tous mots ou toutes informations que vous ne comprendrez pas. Vous pouvez emporter chez vous un exemplaire non signé du formulaire de consentement pour y réfléchir ou pour en discuter avec des membres de votre famille ou des amis avant de prendre une décision. Ne signez pas le formulaire de consentement avant d'avoir au préalable reçu les réponses à toutes vos questions

Introduction

Entre le mois de novembre 2007 et février 2008, une série de mort inexpliqués est survenue chez certaines personnes de la population du quartier de Ngagne Diaw à Thiaroye sur mer, Dakar (Sénégal). Les enquêtes effectuées par les autorités sanitaires et environnementales ont montré une forte contamination de la zone en question par le recyclage de batteries au plomb. D'où la conclusion que la cause de cette série de mort fut une intoxication au plomb.

Procédures

La raison pour laquelle nous sollicitons votre participation à cette étude est que deux échantillons de 5 ml chacun de votre sang seront prélevés et acheminés au laboratoire pour étudier comment votre organisme, en particulier, votre système immunitaire réagit face au plomb qui se trouve toujours probablement dans votre organisme. La durée maximale prévue pour cette étude est de six mois.

Risques

Les risques potentiels comprennent ceux qui sont associés à la prise de sang. Les risques associés au prélèvement de sang sont rares et incluent la contusion, la saignée ou l'infection. Nous nettoierons le lieu de prise de sang avec une solution antiseptique (alcool à 70°) lors des prélèvements, et nous utiliserons des aiguilles et seringues stériles pour les prélèvements. Tous les échantillons et les renseignements relevant de l'étude seront codés.

Les bénéfices

Vous ne recevrez pas un bénéfice direct de cette étude. Cependant, cette étude permettra d'améliorer la prise en charge de l'intoxication au plomb qui a eu lieu dans le quartier et d'élargir certaines connaissances qui profiteront à autrui. Les réponses aux questions soulevées par cette recherche aideront à l'amélioration de nos connaissances actuelles dans le domaine.

La participation volontaire

Vous avez le droit de refuser de participer à cette étude, aussi vous pouvez vous retirer de l'étude à tout moment.

La confidentialité

Les échantillons collectés seront codés. Les noms des volontaires ne seront mentionnés dans aucun rapport. Les informations spécifiques que nous obtiendrons ne seront pas partagées avec une tierce personne, excepté les investigateurs de l'étude. Les résultats de cette étude pourraient être publiés dans des rencontres ou dans des revues scientifiques, mais votre nom ne paraîtra pas. L'accès à votre dossier sera limité aux chercheurs autorisés de notre équipe mais aussi aux promoteurs de l'étude.

CONSENTEMENT LIBRE ET ECLAIRE

Consentement du volontaire :

Je, soussigné(e),, déclare avoir compris les objectifs de l'étude. J'accepte de donner deux échantillons de 5 ml chacun de mon sang, et de répondre aux questions dans le questionnaire.

Date :/...../ 20..... Signature du volontaire :

Déclaration du chercheur ou technicien :

Je, soussigné(e),, déclare que le volontaire a reçu toutes les informations nécessaires sur les objectifs des recherches en cours et qu'il accepte de participer volontairement à l'étude. Je garantis de respecter le caractère confidentiel de l'étude à tout moment.

Date :/...../ 20.....Signature du chercheur ou technicien :

Université Cheikh Anta DIOP

CHNU Le Dantec

Laboratoire de Bactériologie et Virologie (LBV)/Unité d'immunologie

Fiche d'enquête/témoins

Prénom(s) Nom.....

Date de naissance.....

Adresse

N° Téléphone

Etes- vous professionnellement exposé au Plomb dans votre travail?

OUI ☐

NON ☐

Habitez-vous ou avez-vous fréquenté le quartier Ngagne Diaw de Thiaroye sur mer durant la période allant de 2006 à 2009 ?

OUI ☐

NON ☐

La raison pour laquelle nous sollicitons votre participation à cette étude est que deux échantillons de 5 ml chacun de votre sang seront prélevés et acheminés au laboratoire et seront pris comme des témoins par rapport aux cas dont on étudie comment leur organisme, en particulier, leur système immunitaire réagit face au plomb ou au benzène qui se trouve dans leur organisme.

Etes-vous prêt à participer à l'étude ? OUI ☐

NON ☐

Moi....., je donne mon consentement éclairé et décide de participer à l'étude portant sur : « : Evaluation du phénotype lymphocytaire chez des femmes du quartier de Ngagne Diaw, Dakar (Sénégal) »

Signature

Université Cheikh Anta DIOP
CHNU Le Dantec
Laboratoire de Bactériologie et Virologie (LBV)/Unité d'immunologie
Fiche d'enquête/Cas

Prénom(s) Nom.....

Date de naissance.....

Adresse

N° Téléphone

Etes- vous au courant de l'intoxication au plomb qui avait lieu dans votre quartier?

OUI ☐

NON ☐

Depuis quand habitez-vous le quartier Ngagne Diaw?

OUI ☐

NON ☐

Habitez-vous le quartier Ngagne Diaw de Thiaroye sur mer durant la période allant de 2006 à 2009 ? OUI ☐

NON ☐

Ressentez-vous l'un des signes cliniques suivants :

Douleurs articulaire ☐

Fausse couche ou décès poste natale ☐

Troubles mentaux ☐

Céphalées ☐

Avez-vous lu et compris la fiche d'information du volontaire?

OUI ☐

NON ☐

Moi....., je donne mon consentement éclairé et décide de participer à
l'étude portant sur : « : Evaluation du phénotype lymphocytaire chez des femmes du quartier de
Ngagne Diaw, Dakar (Sénégal).»

Signature